



Produksi Biohidrogen dari Limbah Organik Cair Molase dan Vinasas Menggunakan Bakteri *Rhodobium marinum*

Saeful Anhari^{✉ 1)}, Siti Harnina Bintari²⁾, Ibnul Mubarak³⁾, Dwi Susilaningih⁴⁾

^{1),2),3)}Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang, Indonesia

⁴⁾Laboratorium Bioenergi dan Bioproses, Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Bogor, Indonesia

Info Artikel

Diterima: 1 Januari 2016
Disetujui: 1 Februari 2016
Dipublikasikan: 1 Agustus 2016

Keywords:

Rhodobium marinum;
biohidrogen; organic
wastewater; photofermentative

Abstrak

Biohidrogen merupakan salah satu sumber energi alternatif terbarukan yang dihasilkan melalui proses biologis menggunakan bahan baku biomassa organik dengan melibatkan mikroorganisme penghasil gas hidrogen. Penelitian ini bertujuan menentukan dan membandingkan rasio kebaruan terhadap produksi gas biohidrogen dari limbah organik cair molase dan vinasas selama fotofermentasi menggunakan *Rhodobium marinum*. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap tiga faktor, terdiri dari jenis limbah (molase dan vinasas), konsentrasi limbah (10%, 50%, 100%) dan pH limbah (6, 7, 8), pola perlakuan 2x3x3 dengan tiga kali ulangan. Penelitian ini memiliki alur penelitian: pembuatan media tumbuh bakteri, kultivasi bakteri, persiapan media produksi, karakterisasi media produksi, fotofermentasi, dan pengukuran kadar biohidrogen. Rerata hasil produksi gas biohidrogen limbah molase signifikan berturut-turut pada K₁P₃, K₂P₃, K₃P₃ sebesar 86/10⁻¹ L kultur, 146/10⁻¹ L kultur, 188/10⁻¹ L kultur dan produksi gas biohidrogen limbah vinasas berturut-turut pada K₂P₃, K₃P₃ sebesar 86/10⁻¹ L kultur, 110/10⁻¹ L kultur. Kesimpulan yang diperoleh bahwa rasio kebaruan produksi gas biohidrogen molase:vinasas sebesar 27:20. Produksi gas biohidrogen tertinggi pada limbah molase sebesar 188/10⁻¹ L kultur dan limbah vinasas sebesar 110/10⁻¹ L kultur.

Abstract

Biohydrogen is one alternative renewable energy sources produced through biological processes using organic biomass feedstocks involve hydrogen gas-producing microorganisms. This study aims to determine and compare the recency ratio biohydrogen to gas production from organic waste liquid molasses and vinasse by *Rhodobium marinum* photofermentation. This study used a completely randomized design of three factors, comprised of the types of waste (molasses and vinasse), effluent concentration (10%, 50%, 100%) and a pH of waste (6, 7, 8) with a pattern of treatment 2x3x3 in three replications. The stages of research were: creation of bacterial growth media, bacteria cultivation, preparation of media production, media characterization of production, photofermentation, and measurement of biohydrogen. Average results of biohydrogen gas production waste molasses for K₁P₃, K₂P₃, K₃P₃ as amount of 86 / 10⁻¹ L culture, 146 / 10⁻¹ L culture, 188 / 10⁻¹ L culture, respectively and production biohydrogen gas of vinasse waste of K₂P₃, K₃P₃ by 86 / 10⁻¹ L culture, 110 / 10⁻¹ L culture, respectively. The conclusion that the newness ratio of biohydrogen production molasses: vinasse was at 27:20. The highest gas production biohydrogen on molasses waste by 188 / 10⁻¹ l culture and vinasse waste by 110 / 10⁻¹ L culture.

© 2016 Universitas Negeri Semarang

[✉] Alamat korespondensi:
Gedung D6 Lt.1 Jl Raya Sekaran Gunungpati, Semarang
E-mail: s.anhary94@gmail.com

p-ISSN 2252-6277

e-ISSN 2528-5009

PENDAHULUAN

Pemakaian bahan bakar fosil di Indonesia yang berlebihan dan terjadi sejak dahulu telah mengakibatkan semakin langkanya persediaan bahan bakar. Adanya krisis energi dan masalah lingkungan yang ditimbulkan, maka perlu dikembangkan suatu energi alternatif yang dapat menggantikan peran bahan bakar berbasis fosil (Anam *et al.* 2012).

Hidrogen merupakan sumber energi yang bersih, efisien, dan dapat diperbaharui karena proses pembakaran hidrogen di udara hanya menghasilkan uap air dan energi panas (Mahyudin & Koesnandar 2006). Hidrogen adalah gas yang tidak berwarna, tidak berbau dan tidak larut di dalam air. Produksi hidrogen secara biologis (biohidrogen) berbeda dari cara kimia atau elektrokimia, yaitu dapat dilakukan dengan bahan baku biomassa atau substrat melalui peran bakteri (Miyake 1998; Kotay & Das 2008).

Indonesia memiliki sumber daya alam dalam bidang industri hasil pertanian yang tinggi, salah satunya adalah tanaman tebu yang digunakan untuk industri gula. Kementerian Perindustrian pada tahun 2016 mencatat jumlah pabrik gula di Indonesia berjumlah 62 unit pabrik, 50 unit pabrik milik Badan Usaha Milik Negara (BUMN) sedangkan 12 unit pabrik milik swasta. Banyaknya jumlah pabrik gula menghasilkan limbah organik yang banyak dan harus ditangani. Limbah organik tersebut mengandung gula, asam-asam organik sebagai sumber karbon sebagai donor elektron dalam metabolisme bakteri untuk menghasilkan biohidrogen (Kapdan & Kargi 2006). Adapun limbah organik yang digunakan dalam penelitian ini adalah limbah organik cair yang berasal dari industri pembuatan gula yaitu limbah organik cair molase dan limbah organik cair vinasse.

Molase merupakan produk samping dari industri pengolahan gula tebu lokal yang mengandung substrat gula tinggi sebagai sumber karbon dalam proses pembuatan bioenergi namun belum banyak dimanfaatkan (Sebayang 2006). Vinasse merupakan produk hasil industri pembuatan etanol dan spiritus yang memiliki potensi untuk menghasilkan energi alternatif terbarukan dengan memanfaatkan kandungan substrat asam organik-nya yang tinggi sebagai sumber karbon (Iqbal *et al.* 2016). Keuntungan dari pemakaian limbah sebagai media pembuatan biohidrogen, selain merupakan bahan baku murah, pemanfaatan limbah untuk menghasilkan energi dapat mengurangi biaya untuk pengolahan limbah dan mengurangi dampak lingkungan akibat limbah yang terbuang.

METODE

Pengambilan sampel limbah organik cair molase dan vinasse dilakukan di PT. Madu Baru PG-PS Madukismo, Kasihan, Bantul, Yogyakarta. Penelitian dilakukan di Laboratorium Bioenergi dan Bioproses, Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI). Jl. Raya Bogor KM. 46, Cibinong, Bogor. Penelitian dilakukan pada bulan Juni 2016 sampai Agustus 2016. Penelitian ini dilakukan dengan cara eksperimen kuantitatif dengan Rancangan Acak Lengkap tiga faktor, terdiri dari jenis limbah (molase dan vinasse), konsentrasi limbah (10%, 50%, 100%) dan pH limbah (6, 7, 8) dengan pola perlakuan 2x3x3 pada tiga kali ulangan. Prosedur penelitian yaitu: pembuatan media tumbuh bakteri, kultivasi bakteri, persiapan media produksi, karakterisasi media produksi, fotofermentasi, dan pengukuran kadar biohidrogen

Pembuatan media tumbuh bakteri

Pembuatan medium aSy-Broth (Li & Fang 2008) dengan *yeast extract* 1 gr, disodium succinat 3,5 gr, ammonium sulfat 2,75 gr, basal medium 10 ml. Melarutkan masing-masing pada akuades sampai 1000 ml pada botol duran 1000 ml, kemudian disterilisasi dengan autoklaf dengan suhu 121°C selama 20 menit.

Kultivasi bakteri

Media tumbuh (MT) ditambahkan stok kultur bakteri *R. marinum* dengan absorbansi (OD) 0,2. Stok bakteri tersebut ditambahkan sebanyak sepersepuluh dari media tumbuh (MT) aSy-B secara aseptis pada *laminar air flow* (LAF), kemudian dikultivasi dengan *magnetic stirrer* agitasi 1, disertai lampu TL (*tubular lamp*) 4 x 15 watt dalam suhu kamar. Kultur sel dipanen setelah mencapai stasioner OD \pm 1 atau 2 minggu dengan

mencari OD bakteri pada hasil media menggunakan metode spektrofotometri panjang gelombang 680 nm (Anam 2012).

Persiapan media produksi

Persiapan pertama adalah preparasi sampel limbah organik cair. Sebelum digunakan sebagai media produksi (MP) terlebih dahulu dipreparasi dengan proses filtrasi, *adjust* pH, dan sterilisasi. Setelah proses filtrasi, limbah (molase & vinasse) dimasukkan masing-masing sebanyak 500 ml pada 3 botol duran 500 ml (molase); 500 ml pada 3 botol duran 500 ml (vinasse). Pengukuran pH limbah dilakukan dengan pH meter dengan indeks pH antara 6-8. Botol ke-1 di *adjust* pH 6; botol ke-2 di *adjust* pH 7, dan botol ke-3 di *adjust* pH 8 dengan katalis NaOH 1N atau HCl 1N. Kemudian ke-6 (enam) botol yang berisi limbah disterilisasi pada autoklaf suhu 121°C selama 20 menit.

Persiapan kedua adalah pembuatan media produksi untuk fotofermentasi secara aseptis di dalam LAF dengan masing-masing limbah menggunakan botol vial 120 ml steril. Volume kerja yang digunakan pada botol vial sebanyak 80 ml. Limbah organik cair molase dan vinasse yang sudah disterilisasi sebelumnya pada autoklaf, yaitu 3 botol duran 500 ml pH (6,7,8) molase dan 3 botol duran 500 ml pH (6,7,8) vinasse, digunakan untuk pembuatan MP fotofermentasi dengan konsentrasi limbah 10 %, 50 %, dan 100% pada botol vial masing-masing perlakuan.

Perlakuan pada penelitian ini selanjutnya ditandai dengan K₁P₁=konsentrasi limbah 10% pH 6; K₁P₂= konsentrasi limbah 10% pH 7; K₁P₃=konsentrasi limbah 10% pH 8; K₂P₁= konsentrasi limbah 50% pH 6; K₂P₂=konsentrasi limbah 50% pH 7; K₂P₃= konsentrasi limbah 50% pH 8; K₃P₁=konsentrasi limbah 100% pH 6; K₃P₂= konsentrasi limbah 100% pH 7; K₃P₃= konsentrasi limbah 100% pH 8.

Karakterisasi media produksi

Karakterisasi kandungan gula pada limbah organik cair molase menggunakan metode Fenol-Asam sulfat dan limbah organik cair vinasse dikarakterisasi asam organik yang terkandung di dalam limbah menggunakan metode Reaksi Silver-sulfat. Analisis gula menggunakan metode Fenol-Asam sulfat (Dubois 1965), dengan standar gula dan uji gula sampel untuk mendapatkan persamaan matematis analisis gula. Sampel uji limbah molase sebanyak 0,5 ml dipersiapkan pada lemari asam, sampel uji tersebut ditambahkan larutan 0,5 ml fenol 5 % dan 2,5 ml H₂SO₄ pekat.

Campuran tersebut kemudian di-*vortex* lalu dipanaskan dengan *waterbath* pada suhu 40°C selama 20 menit, lalu didiamkan 10 menit. Sampel diperiksa dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 490 nm. Standar gula total dibuat dengan menggunakan larutan glukosa pada kisaran kadar 10-100 ppm untuk mendapatkan persamaan matematis dengan regresi *linier* agar nilai absorbansi sampel gula dapat diubah menjadi ppm. Untuk mengubah ppm menjadi g/l, nilai ppm dibagi dengan 1000. Adapun untuk mengubah ppm menjadi mmol maka kadar gula dalam bentuk ppm dibagi 180 (BM glukosa) lalu dikalikan 1000 (mol ke mmol) dan dibagi 80 (volume media produksi). Untuk mengkonversi ppm menjadi mili mol (mmol) digunakan rumus:

$$\text{Kadar gula (mmol)} = \frac{\text{Kadar gula sampel}}{\text{BM (glukosa)} \times \text{Vol MP}} \times 1000$$

Keterangan:

BM: berat molekul glukosa (g/L)

Vol MP: volume media produksi (ml)

Pengukuran asam organik metode Reaksi-silver sulfat (Lin *et al.* 2012) dari COD limbah organik cair vinasse menggunakan reagen kalium dikromat anhidrat (K₂Cr₂), silver sulfat Ag₂SO₄, dan kalium hidrogen petalat (KHP) sebagai larutan standar. Standar COD menggunakan larutan KHP dengan konsentrasi 100, 200, 400, 800, 1600, 3200 ppm. Uji COD sampel dilakukan di dalam lemari asam dengan mengambil larutan limbah organik cair vinasse 1,25 ml ditambahkan reagen K₂Cr₂ 0,75 ml dan Ag₂SO₄ 1,75 ml. Larutan sampel

ditampung dalam tabung reaksi ulir tertutup kemudian di-*vortex*. Larutan sampel dipanaskan dengan menggunakan *drybath* selama 2 jam pada suhu 120°C. Larutan sampel yang sudah di-*drybath* kemudian didinginkan untuk diuji absorbansi dengan spektrofotometer panjang gelombang $\lambda = 600$ nm. Untuk mendapatkan hidrogen dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut.

$$HY = \text{Kadar COD awal} - \text{Kadar COD akhir}$$

Keterangan:

HY (Kadar COD): hydrogen yield production, mmol H₂/g COD

Kadar COD awal & akhir dalam g COD/l

Fotofermentasi

Fotofermentasi dilakukan pada kondisi penggoyangan menggunakan *shaker* kecepatan 120 rpm. Penggoyangan dilakukan untuk menjaga aerasi dalam larutan. Inkubasi pada suhu ruang $\pm 30^\circ\text{C}$ dan pencahayaan lampu TL (*tubular lamp*) intensitas cahaya 60 watt sebagai sumber energi pengganti sinar matahari seperti kondisi lingkungan asli (Anam 2012; Habibi *et al.* 2010).

Pengukuran kadar biohidrogen

Volume gas yang terbentuk dicatat pada setiap waktu pengambilan sampel masing-masing diukur berdasar skala yang ada pada *syringe gas*. Gas hidrogen yang diperoleh dari proses fermentasi ditentukan persentasenya dengan menggunakan kromatografi gas yang dilengkapi dengan *thermal conductivity detector* (TCD) dan kolom kromatografi gas (*packed column*). Suhu oven diset kemudian dijaga di sekitar 80°C, sedangkan suhu untuk *injector* dan *detector* masing-masing sebesar 150°C dan 250°C.

Gas yang digunakan sebagai pembawa adalah nitrogen *ultra high purity* (UHP) dengan kecepatan 8 ml per menit. Volume gas yang diinjeksikan setiap sampel substrat limbah adalah 1 ml. Hidrogen murni digunakan sebagai standar perhitungan kadar hidrogen. Perhitungan kadar gas hidrogen dari hasil fotofermentasi dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut.

$$\frac{\text{Luas area sampel}}{\text{Luas area standar hidrogen}} \times 22,4 \times \text{Volume gas}$$

Keterangan:

22,4= koefisien volume gas pada tekanan dan temperatur standar

HASIL DAN PEMBAHASAN

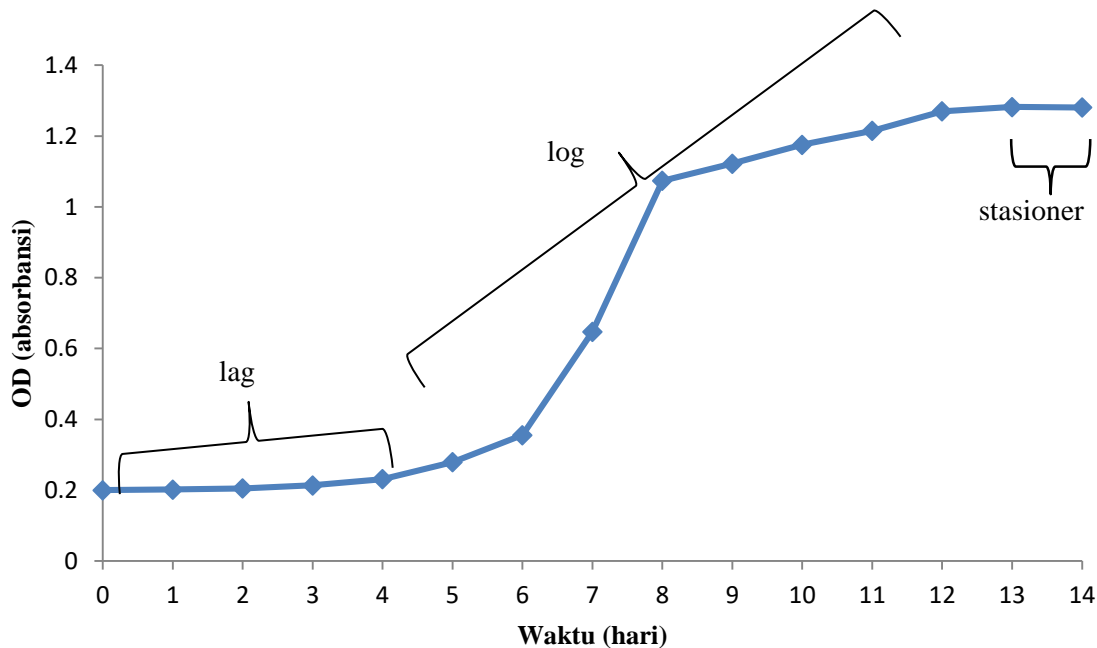
Hasil kultivasi bakteri diukur melalui pengecekan (OD) pada spektrofotometer selama 14 hari dari fase lag sampai fase stasioner. Fase lag dimulai pada hari ke-0 dengan OD 0,200 sampai hari ke-4 yaitu OD 0,231. Fase log berada pada hari ke-5 dengan OD 0,279 sampai hari ke-12 yaitu OD 1,270. Fase stasioner dimulai pada hari ke-13 dengan OD 1,282 dan berakhir sampai hari ke-14 dengan OD 1,282. Bakteri *R. marinum* dari kultur baru akan menghasilkan gas biohidrogen yang lebih optimal (Kawaguchi *et al.* 2002). Rerata kurva pertumbuhan dapat dilihat pada Gambar 1.

Fase lag adalah kondisi setelah sel bakteri dipindahkan ke dalam media tumbuh baru (Purwoko 2007; Prescott 1999; Madigan & Martinko 2006). Sel bakteri *R. marinum* pada fase lag melakukan proses adaptasi sistem metabolisme sel dan melakukan sintesis enzim baru. Sintesis enzim baru pada sel bakteri *R. marinum* adalah enzim hidrogenase dan enzim nitrogenase (Anam 2012). Sel bakteri pada fase ini mengalami pertambahan volume sel saat kultivasi yang ditandai dengan nilai rentang OD 0,200 sampai 0,231 dari hari ke-0 menuju hari ke-4.

Fase log merupakan kondisi ideal saat sel bakteri bakteri *R. marinum* mengalami peningkatan jumlah sel yang konstan, hal ini dikarenakan sel bakteri mengkonsumsi nutrisi yang banyak terdapat pada media

tumbuh sehingga mengakibatkan aktivitas metabolisme seimbang dengan bertambahnya populasi sel secara teratur. Peningkatan jumlah sel saat kultivasi ditandai dengan nilai rentang OD 0,279 sampai 1,270 dari hari ke-5 menuju hari ke-12. Fase stasioner merupakan kondisi saat sel bakteri sudah tidak melakukan pembelahan sel karena ketersediaan nutrisi mulai berkurang pada media tumbuh (Purwoko 2007; Prescott 1999; Madigan & Martinko 2006).

Sel bakteri *R. marinum* mengalami kondisi kurang menguntungkan karena nutrisi yang dikonsumsi bakteri dari media tumbuh telah habis. Kondisi lainnya akibat nutrisi telah habis adalah diproduksi senyawa yang bersifat toksik sehingga menyebabkan beberapa sel bakteri mati sedangkan sel bakteri lain dan tumbuh secara teratur dan jumlah sel yang hidup menjadi tetap (Pelczar & Chan 2008).



Gambar 1. Rerata kurva pertumbuhan bakteri *R. marinum*

Karakterisasi media produksi meliputi pengukuran uji awal total dan uji akhir total limbah. Pengukuran uji awal pada limbah organik cair molase berupa uji kadar gula total awal dengan hasil nilai paling tinggi berturut-turut 2,025 g/l, 2,029 g/l dan 2,022 g/l pada perlakuan K_3P_1 , K_3P_2 , dan K_3P_3 . Pengukuran uji awal pada limbah organik cair vinasse berupa uji kadar COD total awal dengan hasil nilai paling tinggi berturut-turut 17,796 g COD/l pada K_3P_2 , 17,773 g COD/l pada K_3P_3 , dan 17,396 g COD/l pada K_3P_1 . Pengukuran uji awal total pada karakterisasi media produksi limbah molase dan vinasse dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengukuran uji awal total pada karakterisasi media produksi limbah molase dan vinasse dan produksi limbah molase dan vinasse

Jenis limbah	Sampel (Konsentrasi dan pH)	Ulangan			Rata-rata (absorbansi)	Kadar perlakuan	
		I	II	III		Gula (g/L)	COD (g COD/L)
Molase	K ₁ P ₁	1,631	1,606	1,586	1,608	1,650	-
	K ₁ P ₂	1,625	1,573	1,625	1,608	1,650	-
	K ₁ P ₃	1,52	1,52	1,791	1,610	1,652	-
	K ₂ P ₁	1,898	1,812	1,822	1,844	1,893	-
	K ₂ P ₂	1,853	1,837	1,854	1,848	1,897	-
	K ₂ P ₃	1,818	1,88	1,851	1,850	1,899	-
	K ₃ P ₁	1,987	1,955	1,973	1,972	2,025	-
	K ₃ P ₂	1,970	1,97	1,986	1,975	2,029	-
	K ₃ P ₃	1,954	1,93	2,017	1,967	2,022	-
Vinasse	K ₁ P ₁	0,031	0,034	0,035	0,033	-	1,604
	K ₁ P ₂	0,032	0,031	0,037	0,033	-	1,604
	K ₁ P ₃	0,033	0,031	0,036	0,033	-	1,604
	K ₂ P ₁	0,159	0,184	0,158	0,167	-	7,307
	K ₂ P ₂	0,145	0,178	0,182	0,168	-	7,396
	K ₂ P ₃	0,149	0,172	0,183	0,168	-	7,373
	K ₃ P ₁	0,324	0,316	0,329	0,323	-	17,396
	K ₃ P ₂	0,314	0,324	0,335	0,324	-	17,796
	K ₃ P ₃	0,326	0,329	0,317	0,324	-	17,773

Keterangan: (-) = tidak dilakukan uji

Hasil karakterisasi limbah organik cair molase dan vinasse yang ditunjukkan pada Tabel 1 menunjukkan kandungan gula total awal yang terdapat pada perlakuan limbah molase dan kandungan COD total asam organik pada limbah vinasse. Pemakaian limbah sebagai substrat organik dengan konsentrasi tertentu dapat menguji signifikansi terhadap hasil gas biohidrogen yang diproduksi oleh bakteri fotosintetik (Yetis *et al.* 2000), maka dari itu penelitian ini menggunakan berbagai konsentrasi limbah organik cair molase dan vinasse untuk menghasilkan gas biohidrogen.

Kandungan gula total awal dalam limbah molase dan COD asam organik total awal dalam limbah vinasse pada perlakuan K₃ memiliki kadar tertinggi dikarenakan limbah masih dalam keadaan asli atau tidak ditambahkan akuades untuk mengencerkan limbah seperti pada konsentrasi limbah perlakuan K₁ dan K₂. Pengukuran uji akhir pada limbah organik cair molase berupa uji kadar gula total akhir dan uji kadar COD total akhir. Semua perlakuan mengalami penurunan pemakaian asam organik oleh bakteri *R. marinum* dari COD limbah vinasse setelah fotofermentasi kadar gula total akhir.

Pemakaian gula paling signifikan yang digunakan oleh bakteri *R. marinum* dari uji awal sebelumnya berturut-turut terjadi pada perlakuan K₁P₃ sebesar 1,172 g/l, K₂P₃ sebesar 1,445 g/l, dan K₃P₃ sebesar 1,365 g/l. Pemakaian kadar COD total akhir juga mengalami penurunan pemakaian asam organik oleh bakteri *R. marinum* dengan penurunan paling signifikan pada kadar COD dari uji awal sebelumnya terjadi pada perlakuan K₂P₃ sebesar 3,862 g COD/l dan K₃P₃ sebesar 11,196 g COD/l. Pengukuran uji akhir total pada karakterisasi media produksi limbah molase dan vinasse dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Pengukuran uji akhir total pada karakterisasi media produksi limbah molase dan vinassedan

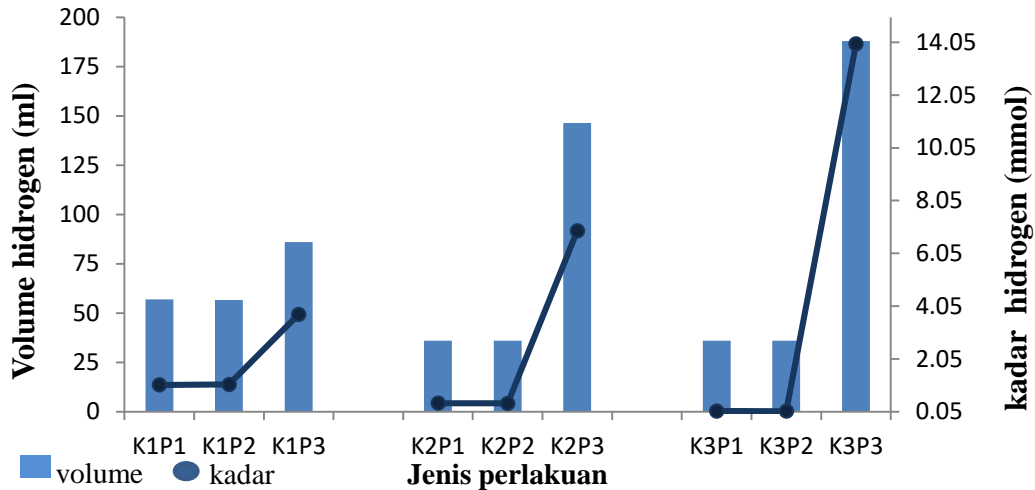
Jenis limbah	Sampel (Konsentrasi dan pH)	Ulangan			Rata-rata (absorbansi)	Kadar perlakuan	
		I	II	III		Gula (g/L)	COD (g COD/L)
Molase	K1P1	1,343	1,359	1,345	1,349	1,383	-
	K1P2	1,367	1,325	1,397	1,363	1,397	-
	K1P3	1,184	1,127	1,205	1,172	1,201	-
	K2P1	1,42	1,625	1,653	1,566	1,607	-
	K2P2	1,334	1,671	1,846	1,634	1,676	-
	K2P3	1,335	1,352	1,539	1,409	1,445	-
	K3P1	1,739	1,753	1,773	1,755	1,802	-
	K3P2	1,73	1,839	1,753	1,774	1,821	-
	K3P3	1,306	1,395	1,395	1,365	1,365	-
Vinasse	K1P1	0,01	0,019	0,029	0,019	-	0,957
	K1P2	0,009	0,011	0,019	0,013	-	0,957
	K1P3	0,027	0,031	0,036	0,031	-	0,957
	K2P1	0,122	0,103	0,152	0,126	-	4,551
	K2P2	0,126	0,134	0,109	0,123	-	4,373
	K2P3	0,119	0,109	0,118	0,115	-	3,862
	K3P1	0,273	0,263	0,272	0,269	-	14,129
	K3P2	0,231	0,229	0,310	0,257	-	13,284
	K3P3	0,233	0,220	0,223	0,225	-	11,196

Karakterisasi setelah fotofermentasi pada yaitu uji gula total akhir dalam limbah molase dan uji COD asam organik akhir dalam limbah vinasse pada perlakuan K₃ menghasilkan dua macam kondisi. Kondisi pertama terlihat pada perlakuan K₁ dan K₂ telah terjadi penurunan kadar antara kedua limbah yang tidak terpaut jauh, tetapi pada kondisi kedua terlihat pada perlakuan K₃ terjadi penurunan kadar antara kedua limbah yang terpaut jauh dari perlakuan kondisi pertama.

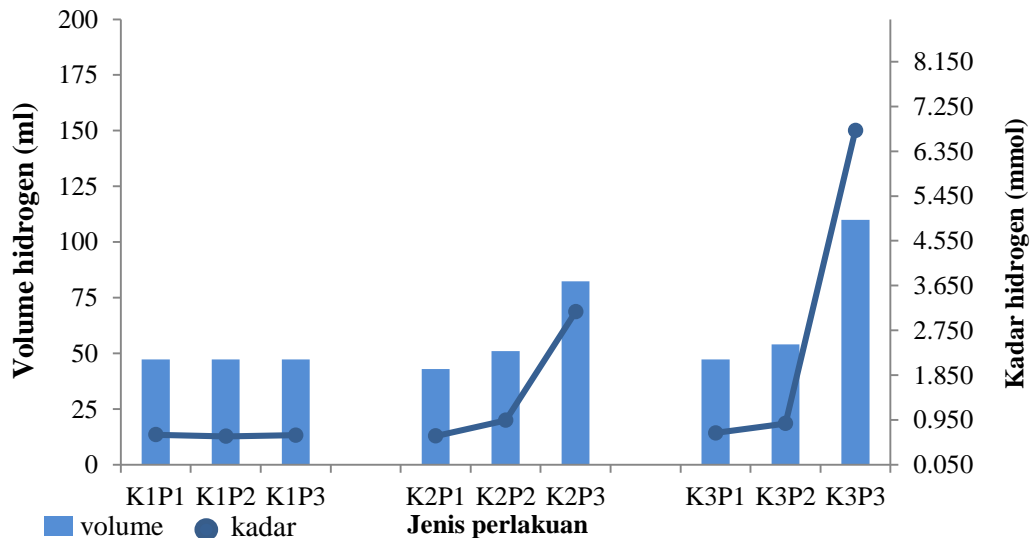
Kedua kondisi tersebut terjadi karena perbedaan pH yang telah disesuaikan sebelumnya pada uji awal limbah masing-masing konsentrasi, konsentrasi limbah organik pada penelitian ini mendapatkan nilai paling signifikan pada perlakuan P₃ atau pH 8. Hal ini dikarenakan bakteri *R. marinum* pada pH tersebut dalam memanfaatkan substrat gula glukosa dari limbah molase dan substrat asam organik dari COD limbah vinasse akan lebih optimal memanfaatkan ATP dan senyawa hasil fermentasi (metabolit) sebagai sumber energi dan donor elektron dalam proses produksi biohidrogen (Koku *et al.* 2002; Chen *et al.* 2006).

Kadar gas biohidrogen yang didapatkan dari media produksi masing-masing limbah diukur setelah fotofermentasi hari ke-7. Produksi gas biohidrogen paling signifikan dari hasil fotofermentasi limbah molase berturut-turut pada perlakuan K₃P₃ sebesar 188 ml; konsentrasi hidrogen 13, 983 mmol, K₂P₃ sebesar 146 ml; konsentrasi hidrogen 6,903 mmol, dan K₁P₃ sebesar 86 ml; konsentrasi hidrogen 3,742 mmol.

Produksi biohidrogen pada fotofermentasi limbah molase dan vinasse dari jenis perlakuan volume dan kadar gas biohidrogen ditunjukkan pada Gambar 2 dan Gambar 3.



Gambar 2. Produksi biohidrogen pada fotofermentasi limbah molase pada jenis perlakuan volume dan kadar biohidrogen perlakuan volume dan kadar gas biohidrogen



Gambar 3. Produksi biohidrogen pada fotofermentasi limbah vinasse pada jenis perlakuan volume dan kadar biohidrogen perlakuan volume dan ka

Produksi gas biohidrogen paling signifikan dari hasil fotofermentasi limbah vinasse berturut-turut pada perlakuan K₃P₃ sebesar 110 ml; konsentrasi hidrogen 6,765 mmol H₂/g COD dan K₂P₃ sebesar 82 ml; konsentrasi hidrogen 3,125 mmol H₂/g COD.

Volume gas dari hasil fotofermentasi limbah molase pada perlakuan konsentrasi K₃, K₂, dan K₁ dengan pH 8, menghasilkan volume gas total yang lebih banyak dibandingkan volume gas yang dihasilkan oleh limbah vinasse pada perlakuan yang sama. Kadar gas biohidrogen dari limbah molase yang dihasilkan dari penelitian ini juga lebih tinggi dibandingkan limbah vinasse. Hal ini karena kandungan substrat limbah molase lebih banyak mengandung sumber C dalam bentuk gula glukosa sehingga bakteri lebih mudah mengkonversi substrat tersebut menjadi biohidrogen (Ike *et al.* 1999).

Perbandingan kebaharuan terhadap produksi biohidrogen limbah didapatkan dari efisiensi produk dari substrat yang dikonversi menjadi biohidrogen dengan perhitungan hidrogen secara teoritis. Hasil data hidrogen teoritis pada limbah organik cair molase mendapatkan nilai efisiensi produk tertinggi berturut-turut sebesar 54,592 mmol pada perlakuan K₃P₃, 37,887 mmol pada perlakuan K₂P₃. Hasil data limbah organik

cair vinasse hidrogen teoritis mendapatkan nilai efisiensi produk tertinggi sebesar 80,052 mmol pada K_3P_3 dan 39,826 pada perlakuan K_2P_3 . Perbandingan kebaruaran produksi biohidrogen ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Perbandingan kebaruaran hidrogen limbah molase dan vinasse produksi limbah molase dan vinasse

Jenis limbah	Sampel (Konsentrasi dan pH)	Gula total terpakai (mmol)	Hidrogen yield (mmol H_2 /g COD)	Hidrogen teoritis (mmol)
Molase	K_1P_1	1,852	-	22,222
	K_1P_2	1,752	-	21,019
	K_1P_3	3,138	-	37,658
	K_2P_1	1,990	-	23,883
	K_2P_2	1,534	-	18,414
	K_2P_3	3,157	-	37,887
	K_3P_1	1,551	-	18,614
	K_3P_2	1,441	-	17,297
	K_3P_3	4,549	-	54,592
Vinasse	K_1P_1	-	0,647	3,882
	K_1P_2	-	0,647	3,882
	K_1P_3	-	0,647	3,882
	K_2P_1	-	0,630	3,780
	K_2P_2	-	0,945	5,670
	K_2P_3	-	3,125	18,750
	K_3P_1	-	0,691	4,146
	K_3P_2	-	0,878	5,268
	K_3P_3	-	6,765	40,590

Keterangan: (-) = tidak dilakukan uji

Perbandingan kebaruaran efisiensi produk gas biohidrogen dari limbah pada penelitian ini mendapat nilai rasio perbandingan untuk molase:vinasse 27:20 pada perlakuan K_3P_3 . Kebaruaran dalam penelitian ini termasuk dalam jenis penelitian kebaruaran *improvement* yang berarti unsur kebaruaran atau temuan dalam penelitian ini merupakan peningkatan dari prinsip sebelumnya atau bersifat perbaikan dari penelitian yang sudah ada sebelumnya. Berdasarkan data hasil rasio perbandingan kebaruaran pada Tabel 3, menunjukkan bahwa perbandingan kebaruaran produksi biohidrogen diperoleh dari hidrogen teoritis, dimana limbah molase dijadikan acuan sebagai kontrol terhadap vinasse. Kebaruaran produksi biohidrogen dari hidrogen teoritis limbah vinasse pada perlakuan K_3P_3 memiliki potensi lebih besar untuk lebih memanfaatkan banyaknya substrat asam organik dari perlakuan K_3 limbah vinasse (Tabel 3). Substrat asam organik tersebut masih belum terkonversi maksimal dalam media produksi ketika perlakuan K_3 limbah vinasse menghasilkan gas biohidrogen dari 7 hari proses fotofermentasi.

SIMPULAN

Kebaruaran dalam penelitian ini adalah kebaruaran *improvement* yang didapatkan dari perhitungan stiokiometri hidrogen teoritis limbah organik cair molase dan limbah organik cair vinasse dari perlakuan K_3P_3 dengan rasio perbandingan molase:vinasse yaitu 27:20. Produksi gas biohidrogen dari limbah organik cair molase terbesar pada perlakuan media produksi K_3P_3 dengan volume sebesar $189/10^{-1}$ L kultur dan

limbah organik cair vinasse memproduksi gas biohidrogen terbesar pada perlakuan media produksi K_3P_3 dengan volume sebesar $110/10^{-1}$ L kultur.

DAFTAR PUSTAKA

- Anam K, Habibi MS, Herawati TU, Susilaningih D. 2012. Photofermentative hydrogen production using *Rhodobium marinum* from bagasse and soy sauce wastewater. *Int J Hydrogen Energy* 37(20): 15436-15442.
- Chen X, Sun Y, Xiu ZL, Li X & Zhang D. 2006. Stoichiometric analysis of biological hydrogen production by fermentative bacteria. *Int J Hydrogen Energy* 31: 539-549.
- Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers DA & Smith F. 1965. Calorimetric methode for determination of sugar and related substrat. *J Anal Chem* 28(3): 350-356.
- Habibi MS, Anam K & Susilaningih D. 2010. Environmental factors optimization in photo-fermentation to produce biohydrogen by Sanur consortia. Di dalam: Yopi, Editor. *ASEAN-Korea Symposium and Workshop on Biorefinery Technology*. Jakarta: LIPI Press.
- Ike A, Murakawa T, Kawaguchi H, Hirata K & Miyamoto K. 1999. Photoproduction of hydrogen from raw starch using a halophilic bacterial community. *J Biosci Bioeng* 88: 72-77.
- Iqbal SB, Fauzi M & Ismail T. 2016. Desain proses pengelolaan limbah vinasse dengan metode pemekatan dan pembakaran pada pabrik gula-alkohol terintegrasi. *J Teknik POMITS* 1(1): 1-6.
- Kapdan IK & Kargi F. 2006. Bio-hydrogen production from waste materials. *Enzyme Microb Technol* 38(5): 569-582.
- Kawaguchi H, Nagase H, Hashimoto K, Kimata S & Doi M. 2002. Effect of algal extract on H_2 production by a photosynthetic bacterium *Rhodobium marinum* A-501: analysis of stimulating effect using a kinetic model. *J Biosci Bioeng* 94: 62-69
- Koku H, Inci E, Ufuk G, Meral Y & Lemi T. 2002. Aspect of the metabolism of hydrogen production by *Rhodobacter sphaeroides*. *Int J Hydrogen Energy* 27: 1315-1329.
- Kotay SM & Das D. 2008. Biohydrogen as a renewable energy resource: prospect and potentials. *Int J Hydrogen Energy* 33:258-263.
- Li RY & Fang HHP. 2008. Hydrogen production characteristics of photoheterotrophic *Rubrivivax gelatinosus* L31. *Int J Hydrogen Energy* 33: 974-980.
- Lin CY, Lay CH, Biswarup S, Chu CY, Gopalakrishnan K, Chen CC & Chang JS. 2012. Fermentative hydrogen production from wastewaters: A review and pragnosis. *Int J Hydrogen Energy* 15632:2-37.
- Lutoslawski K, Luty RA, Cibis E, Krzywonos M, Miskiewicz T. 2010. Biodegradation of beet molasses vinasses by a mixed culture of microorganism: Effect of Aeration conditions and pH control. *Int J Envir Sci* 23:1823-1830.
- Madigan MT & Martinko JM. 2006. *Brock Biology of Microorganism 11th Edition*. New York: The Pearson Practice Hal, Inc.
- Mahyudin AR & Koesnandar. 2006. Biohydrogen production: prospects and limitations to practical application. *Akta Kimindo* 1:73-77.
- Miyake J. 1998. The science of biohydrogen. Di dalam: Zaborsky OR, Editor. *Biohydrogen*. New York: Plenum Press.
- Pelczar MJ & Chan ECS. 2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Diterjemahkan oleh R.S. Hadioetomo, S.T. Imas, S. Tjitrosomo, dan S. Lestari. Jakarta: UI Press.
- Prescott LM. 1999. *Microbiology Fourth Edition*. New York: The McGraw-Hill Companies: 99-100.
- Purwoko T. 2007. *Fisiologi Mikrobial*. Jakarta: Bumi Aksara
- Sebayang F. 2006. Pembuatan etanol dari molase secara fermentasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* yang termobilisasi pada kalsium alginat. *J Teknologi Proses*. 5(2): 68-74.
- Yetis M, Gu U, Eroglu I, Yu M & Tu L. 2000. Photoproduction of hydrogen from sugar refinery wastewater by *Rhodobacter sphaeroides* O.U.001. *Int J Hydrogen Energy* 25: 1035-1041.