

# INOVASI TEKNOLOGI BIOHIDROGEN DARI LIMBAH BIOMASA KE ENERGI LISTRIK DENGAN TEKNOLOGI *FUEL-CELL*

Mahyudin Abdul Rahman <sup>1,\*</sup> dan Eniya Dewi <sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Peneliti di Pusat Teknologi Bioindustri

<sup>2)</sup> Peneliti di Pusat Teknologi Material  
Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi

## Abstrak

*Enterobacter aerogenes* ADH-43, *Bacillus pumillus* Asp-8 and co-culture of both microorganism was inoculated and fermented by using molasses as by product of sugar factory, sugar starch, and glycerol as by product of biodiesel into hydrogen gas (H<sub>2</sub>). Both producing double mutant bacteria as a facultative anaerobe and who was obtained by classical mutagenetically treated in order to enhance H<sub>2</sub> producing. We have obtained that *E. aerogenes* ADH-43 has highest ability for molasses fermentation, and the volume H<sub>2</sub> reached 4,0 l H<sub>2</sub>/l molasses. The fermentation was carried out in 50 ml vial bottle, 37 oC, pH 5.8 and 20 hrs. Optimization of molasses concentration was performed in order to study the inhibition, and finally, 2 % of molasses was found. To enhance the yield and H<sub>2</sub> flow rate, the fed-batch system was applied into 6 l Stirred Tank Fermentor (STR). Ininitial volume 2 l of medium was fermented, 1 l fresh medium was added into reactor at 6 and 9 hrs of fermentation time. Finally the achieved volume H<sub>2</sub> was 6,5 l H<sub>2</sub>/l molasses, the remained molasses was 0,2 %, and the fermentation time could be prolonged 4 hrs compare to batch fermentation. We have also found the relationship between the H<sub>2</sub> evolution rate and the voltage of electrical formed when we connected into 7 stack of fuel-cell.

**Key-words:** *Enterobacter aerogenes*, Hydrogen gas (H<sub>2</sub>), Fuel Cell, fed-batch.

## 1. PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Saat ini, kebutuhan energi dunia telah meningkat secara eksponensial, sedangkan ketersediaan bahan bakar fosil semakin menurun, selain itu pembakaran bahan bakar fosil tersebut mempunyai pengaruh negatif terhadap lingkungan karena adanya emisi gas CO<sub>2</sub>. Untuk alasan tersebut, banyak peneliti telah mengeksplorasi sumber energi baru yang berkelanjutan yang dapat menggantikan bahan bakar fosil. Gas hidrogen (H<sub>2</sub>) yang dihasilkan melalui aktivitas mikroorganisme, dianggap sebagai bahan bakar alternatif dan membawa

harapan sebagai energi alternatif untuk masa depan. Dibandingkan gas hidrogen non-bio yang diproduksi melalui proses kimia/fisika, biohidrogen dipandang lebih ramah lingkungan karena di dalam proses produksinya tidak memerlukan energi yang besar serta tidak ada emisi karbon yang dihasilkan. Hasil pembakaran biohidrogen maupun gas hidrogen non-bio adalah berupa air dan energi tanpa menghasilkan limbah hasil pembakaran sebagaimana pada penggunaan bahan bakar fosil maupun biomassa.<sup>1)</sup>

Energi hasil pembakaran bio-H<sub>2</sub> dengan mudah disalurkan dalam teknologi *fuel cell* menjadi energi listrik yang dapat disimpan. Pada prinsipnya *fuel cell* adalah suatu peralatan yang bekerja berdasarkan proses elektrokimia, yang mampu mempertemukan antara hidrogen dengan oksigen untuk menghasilkan energi listrik menjadi air dan panas. Penggunaan teknologi *fuel cell* untuk pembangkit listrik dari sumber terbarukan telah berkembang secara cepat<sup>2)</sup>.

Bio- H<sub>2</sub> dapat diproduksi dari limbah organik dan hasil samping agroindustri seperti *lignosellulosa* dari limbah kayu, gliserol kasar dari industri biodiesel, tetes tebu (*cane molasses*), dan gula hidrolisat dari bahan berkarbohidrat seperti gula singkong. Bahan-bahan tersebut bersifat mudah diperbarui (*renewable*), melimpah dan relatif mudah didapat<sup>3)</sup>. Karakteristik yang berbeda dari berbagai jenis bahan di atas diperkirakan akan mempengaruhi metabolisme mikroorganisme yang digunakan untuk produksi biohidrogen. Oleh karena itu, perbedaan komposisi bahan baku diperkirakan akan mempengaruhi efisiensi konversi substrat menjadi biohidrogen.

Mikroorganisme penghasil bio-H<sub>2</sub> umumnya dari kelompok bakteri, yang dapat diklasifikasikan menjadi tiga kelompok yaitu: (i) *obligat anaerob* (*clostridia*, *thermofilik*, bakteri rumen, metanogen); (ii) *fakultatif anaerob* (*enterobacter*, *E. coli*, *Citrobacter*) dan (iii) *aerob* (*Alcaligene* dan *Bacillus*.<sup>4)</sup>

Di antara kelompok *Bacillus* yang digunakan, *Bacillus subtilis* tergolong bakteri yang paling banyak digunakan. Rachman<sup>5)</sup> melaporkan penggunaan *Bacillus pumilus* yang telah dimutasi. Bakteri mutan ini dilaporkan mampu menghasilkan hidrogen dari *wild type* nya yang sama sekali tidak mampu menghasilkan hidrogen dari substrat gliserol. Belum diketahui sejauh mana kinerjanya apabila digunakan substrat sumber karbon yang lain. *Bacillus* merupakan bakteri hasil mutasi EMS dan

PSM untuk mendapatkan produktivitas H<sub>2</sub> lebih tinggi dengan menghambat jalur metabolik pembentukan asam laktat. Dari penelitian sebelumnya diperoleh informasi bahwa produktivitas H<sub>2</sub> oleh mutan *Bacillus pumilus* ASP8 memiliki produktivitas H<sub>2</sub> lebih tinggi yaitu sebesar 0.0368 mol H<sub>2</sub>/mol gliserol dari nilai produksi H<sub>2</sub> oleh *wild type Bacillus pumilus*<sup>6)</sup>.

*Enterobacter aerogenes* (*E. aerogenes*) dapat menghasilkan H<sub>2</sub> melalui fermentasi gelap, sehingga tidak tergantung pada cahaya matahari. *E. aerogenes* juga dapat menghasilkan H<sub>2</sub> lebih cepat dari mikroorganisme fotosintetik dan dapat bertahan hidup pada konsentrasi H<sub>2</sub> yang tinggi.<sup>7)</sup> *E. aerogenes* mampu memanfaatkan berbagai macam substrat, misalnya gliserol, substrat tersebut dapat diperoleh dari limbah biodiesel karena merupakan salah satu komponen utama penyusun limbah tersebut<sup>8)</sup>. *E. aerogenes* AD-H43 merupakan mutan ganda hasil mutasi dari mutan *E. aerogenes* AY-2 menggunakan *mutagenesis Ethyl Methane Sulfonate* (EMS) sehingga terjadi perubahan jalur metabolisme pada dengan memproduksi asam laktat lebih rendah dari sebelumnya, dan memiliki produktivitas H<sub>2</sub> lebih tinggi yaitu sebesar 20% dari nilai produksi mutan *E. aerogenes* AY-2 pada skala vial botol (50 ml).<sup>9)</sup>

Penelitian ini ditujukan untuk meningkatkan produksi biohidrogen melalui optimasi jenis bakteri menggunakan kultur tunggal *Bacillus pumilus* ASP8 dan *Enterobacter aerogenes* ADH43, serta kultur campuran (*co-culture*) *B. pumilus* ASP8 dan *E. aerogenes* ADH43, jenis substrat, dan konsentrasi substrat di dalam botol serum. Selanjutnya dilakukan *scale up* di dalam *batch stirred tank reactor* dan bio-H<sub>2</sub> yang dihasilkan langsung disalurkan ke *fuel cell* menghasilkan listrik.

## 1.2. Tujuan Penelitian

Tujuan akhir dari penelitian ini adalah untuk menghasilkan bio-H<sub>2</sub> sebagai bahan bakar terbarukan yang ramah lingkungan

dengan memanfaatkan berbagai jenis substrat organik yang difermentasikan dengan sistem *fed-batch* sebagai modifikasi sistem peningkatan produksi dibanding *batch*. Selain itu, aplikasi bio-H<sub>2</sub> ke dalam *fuel cell* untuk menghasilkan listrik

## 2. BAHAN DAN METODA

### 2.1. Mikroorganisme dan Substrat

Mikroorganisme yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri mutan *Bacillus pumilus* ASP-8 dan *Enterobacter aerogenes* ADH43. Kultur bakteri ini merupakan koleksi dari Laboratorium Teknologi Bioindustri (LTB), BPPT Pupiptek, Serpong, Tangerang, Banten.

Substrat yang digunakan adalah limbah biodiesel, tetes tebu (*cane molasses*), gula singkong, glukosa, dan gliserol. Untuk substrat limbah biodiesel dilakukan purifikasi terlebih dahulu dengan cara memanaskan limbah biodiesel sambil dihomogenkan dengan pengaduk bermagnet hingga mencapai suhu  $\pm 40^{\circ}\text{C}$  kemudian ditambahkan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat dengan menggunakan pipet 2.5% v/v. Sehingga dari hasil purifikasi ini diperoleh gliserol dan garam pospat

### 2.2. Pembuatan media kompleks

Media kompleks (per 100 ml) mengandung 0.5 g ekstrak khamir, 0.5 g tripton, 1 ml unsur makro {(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O, Fe(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.6H<sub>2</sub>O}, dan 1 ml unsur mikro {Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>, NiCl<sub>2</sub>, MnCl<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, AlK(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>.12 H<sub>2</sub>O, CuCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, Na<sub>2</sub>EDTA.2H<sub>2</sub>O dan nicotinic acid} dimasukkan dalam botol dan dilarutkan dalam aquades hingga volume 90 ml<sup>10)</sup>, dihomogenkan dengan pengaduk bermagnet dan pH ditetapkan menjadi 6.8 dengan penambahan NaOH 0.1N. Sterilisasi dilakukan di autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Media yang sudah steril dan dingin ditambahkan 10 ml larutan glukosa (1% glukosa (w/v)) dan 10 ml buffer fosfat pH 6.8 yang juga sudah disterilisasi.<sup>10)</sup>

### 2.3. Pembuatan kultur awal (*pre culture*)

Sebanyak 10% kultur bakteri diinokulasikan ke dalam media kompleks steril. Kemudian diinkubasi dalam shaker 120 rpm suhu 37°C selama 3 jam

### 2.4. Pembuatan starter

Sebanyak 10% 11) *preculture* diinokulasikan ke dalam media kompleks steril yang mengandung 1% (v/v) substrat terbaik penghasil H<sub>2</sub> terbanyak. Kemudian diinkubasi dalam shaker 120 rpm suhu 37°C selama 8 jam

### 2.5. Produksi bio--H<sub>2</sub> vial botol

1. Optimasi jenis isolat dan jenis substrat

Medium produksi H<sub>2</sub> dibuat berdasarkan metode hungate<sup>12)</sup> yang dimodifikasi dan dikombinasikan menggunakan botol serum untuk menciptakan kondisi *anaerob*. Sebanyak 35 ml medium kompleks tanpa *buffer* dan glukosa dididihkan selama 20 menit, didinginkan dalam klistral es kemudian disemprotkan gas N<sub>2</sub>. Selanjutnya medium tersebut dimasukkan dalam botol serum 125 ml disegel dengan sumbat karet, dan disterilkan (15 menit 121°C). Larutan buffer fosfat steril 5 ml disuntikkan ke dalam medium menggunakan jarum suntik. Setelah itu substrat limbah biodiesel, gula singkong, *cane molasses*, glukosa, dan gliserol yang sudah disteril masing-masing secara terpisah disuntikkan sebanyak 5 ml (1% (v/v)) ke dalam medium dengan jarum suntik. Kemudian 5 ml *pre culture* berisi kultur tunggal (*E.aerogenes* ADH43 atau *B. pumilus* ASP<sup>8)</sup>) dan kultur campuran (*E.aerogenes* ADH43 dan *B. pumilus* ASP<sup>8)</sup>) masing-masing diinokulasikan ke dalam botol serum, lalu diinkubasi pada suhu 37°C dengan agitasi 120 rpm selama 24 jam. Pada awal dan akhir fermentasi dilakukan pengukuran volume H<sub>2</sub>, pH, dan jumlah koloni sel. Jenis substrat dan jenis isolat terbaik yang menghasilkan H<sub>2</sub> terbanyak selanjutnya dilakukan optimasi konsentrasi substrat.

## 2. Optimasi konsentrasi substrat (substrat inhibition)

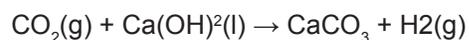
Medium kompleks untuk optimasi konsentrasi substrat dibuat sama seperti media kompleks untuk optimasi jenis isolat dan jenis substrat untuk menciptakan kondisi anaerob. Botol serum yang mengandung 35 ml medium kompleks yang sudah steril disuntikkan 5 ml larutan buffer fosfat steril pH 6.8. Kemudian substrat terbaik penghasil H<sub>2</sub> terbanyak yang telah steril disuntikkan dengan konsentrasi masing-masing 0; 1; 2; 3; 4; 5 (% (v/v)<sup>9</sup>) ke dalam 50 ml media dalam botol serum. Selanjutnya, sebanyak 10% media *pre culture* yang mengandung kultur terbaik penghasil H<sub>2</sub> diinokulasikan ke dalam 50 ml media fermentasi dalam botol serum. Fermentasi dilakukan di dalam shaker dengan kecepatan 120 rpm dengan suhu 37°C<sup>13</sup>) selama 24 jam. Pada awal dan akhir fermentasi dilakukan pengukuran volume H<sub>2</sub>, pH, dan jumlah koloni sel. Konsentrasi substrat terbaik kemudian dilakukan scale up ke dalam Reaktor berpengaduk dengan sistem batch (tertutup) dan *fed-bacth* (semi terbuka dengan pengumpanan media segar pada jam-jam tertentu)

### 2.6. Produksi bio--H<sub>2</sub> di dalam *batch stirred tank reactor* dan aplikasi ke *fuel cell*

Sebanyak 10% media *pre culture* yang berisi *E. aerogenes* ADH43 diinokulasikan ke dalam 400 ml media starter, selanjutnya media starter diinokulasikan ke dalam 4L media fermentasi yang mengandung cane molasses 2% (v/v). Fermentasi dilakukan di dalam fermentor 6L dengan sistem batch dengan pengontrolan suhu 37°C dan agitasi 40 rpm. Analisa dilakukan setiap 2 jam sekali mulai dari jam ke-0 sampai jam ke-16, analisa yang dilakukan yaitu pengukuran gas H<sub>2</sub>, pH, jumlah sel, dan gula reduksi dan total gula. Gas -H<sub>2</sub> yang dihasilkan disalurkan ke dalam *fuelcell*. Kemudian dilakukan pengukuran volume -H<sub>2</sub> flowrate -H<sub>2</sub>, tegangan listrik yang dihasilkan

## 2.7 Analisa

Jumlah koloni bakteri diukur dengan metode total plate count (TPC). Pengukuran volume hidrogen dilakukan dengan menggunakan respirometer yang dihubungkan dengan lubang pada bagian atas fermentor. Gas CO<sub>2</sub> dan H<sub>2</sub> yang terbentuk akan mengalir melalui selang tersebut ke erlenmeyer yang berisi larutan Ca(OH)<sub>2</sub>. Gas CO<sub>2</sub> akan bereaksi dengan Ca(OH)<sub>2</sub> membentuk CaCO<sub>3</sub><sup>14</sup>), sedangkan H<sub>2</sub> akan masuk ke dalam tabung respirometer yang berisi NaCl jenuh. Reaksinya sebagai berikut:



Jumlah H<sub>2</sub> yang dihasilkan ditunjukkan oleh perbedaan volume larutan NaCl antara silinder dalam (silinder kecil) dengan silinder luar (silinder besar) pada respirometer.<sup>11</sup>) Volume H<sub>2</sub> yang terukur dihitung berdasarkan perbedaan volume yang terjadi akibat tekanan gas H<sub>2</sub> antara silinder besar dan silinder kecil. Produksi H<sub>2</sub> diukur perhitungan berikut :

$$\text{Mol H}_2 = \frac{pV}{RT}$$

$$\text{Mol substrat (mol)} = \frac{\text{massa gliserol (g)}}{\text{Massa Relatif substrat}}$$

$$\text{Produktivitas H}_2 = \frac{\text{mol H}_2}{\text{Mol substrat}}$$

Pengukuran konsentrasi gliserol, asam laktat, etanol, asetat dan 2,3-butandiol dengan HPLC. Sebanyak 1 ml sampel dimasukkan ke dalam tabung mikrosentrifuse steril dan kemudian disentrifugasi pada 5000 rpm selama 15 menit. Supernatan hasil sentrifugasi dipindahkan ke tabung mikrosentrifus yang lain dan kemudian disaring menggunakan mikrofilter 0.2 µm. Larutan standar asam laktat 100 mM diinjeksi ke HPLC dan setelah injeksi tersebut supernatan hasil sentrifugasi diinjeksikan ke HPLC.

Total gula diukur dengan metode anthrone<sup>11</sup>), sedangkan gula reduksi diukur dengan metode DNS.

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN.

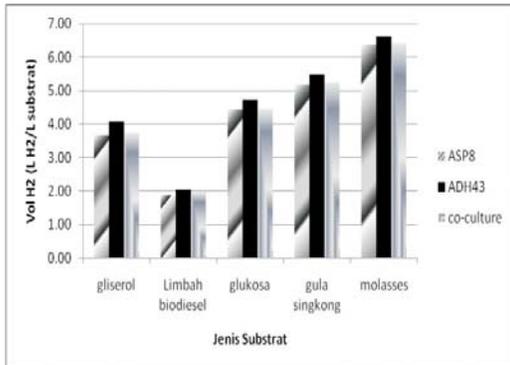
#### 3.1 Optimasi Jenis substrat dan jenis Isolat pada vial bottle 50 ml

Karakteristik yang berbeda dari berbagai jenis substrat diperkirakan akan mempengaruhi metabolisme mikroba yang digunakan untuk produksi bio-H<sub>2</sub>. Selain itu jenis isolat baik kultur tunggal maupun kultur campuran juga mempunyai jalur metabolisme yang berbeda sehingga berpengaruh terhadap produksi H<sub>2</sub>. Substrat limbah biodiesel, gliserol, gula singkong, *cane molasses*, dan glukosa mengandung unsur utama berupa karbon yang sangat penting bagi proses metabolisme sel. Namun sumber karbon yang digunakan dari substrat gliserol dan limbah biodiesel berbeda dengan sumber karbon yang digunakan dari substrat gula singkong, *cane molasses*, dan glukosa. Gliserol dan limbah biodiesel mengandung sumber karbon dari gliserol, sedangkan gula singkong, *cane molasses*, dan glukosa mengandung sumber karbon dari gula-gula sederhana.

Gambar 1 menunjukkan jenis substrat berupa gula singkong, *cane molasses*, dan glukosa dapat menghasilkan H<sub>2</sub> lebih tinggi dibandingkan dengan gliserol dan limbah biodiesel. Hal ini dikarenakan gula singkong, *cane molasses*, dan glukosa mengandung sumber karbon yang berasal dari gula-gula sederhana terutama glukosa dimana 1 mol glukosa mengandung 6 atom C yang kemudian akan termetabolisme menjadi 4 mol H<sub>2</sub>/ mol substrat pada fermentasi asetat (secara stokiometri). Sedangkan untuk substrat Gliserol dan limbah biodiesel mengandung sumber karbon yang berasal dari gliserol dimana 1 mol gliserol mengandung 3 atom C yang kemudian termetabolisme menjadi 1 mol H<sub>2</sub>/ mol substrat (secara teoritis). Dari masing-masing substrat, *cane molasses* menghasilkan jumlah H<sub>2</sub> paling tinggi berkisar antara 6.37-6.61 (L H<sub>2</sub>/ L substrat), sedangkan limbah biodiesel menghasilkan jumlah H<sub>2</sub> paling rendah berkisar antara 1.89-2.04 (L H<sub>2</sub>/ L substrat). *Cane molasses* dan

jenis isolat berpengaruh terhadap produksi H<sub>2</sub>. Jenis substrat *cane molasses* merupakan hasil samping dari pembuatan gula kristal dari sari tebu yang sudah tidak dikristalkan lagi, dan masih memiliki kandungan gula yang cukup tinggi terutama sukrosa. Sukrosa ini merupakan gula disakarida non reduksi yang selama fermentasi akan dipecah menjadi gula-gula reduksi yaitu glukosa dan fruktosa yang selanjutnya siap digunakan oleh bakteri sebagai sumber karbon atau sumber energi untuk pertumbuhan dan perbanyakan sel serta menghasilkan senyawa-senyawa metabolit termasuk gas hidrogen. Selain kandungan gula yang sangat tinggi, *molasses* juga masih memiliki kandungan nitrogen (N) dibandingkan dengan substrat-substrat yang lain. Unsur nitrogen sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan bakteri sebagai pembentukan dinding sel. Menurut Fardiaz (2003), nutrisi bagi mikroba berfungsi sebagai sumber energi untuk pertumbuhan membentuk sel dan biosintesis produk-produk metabolit. Nutrisi yang dibutuhkan oleh mikroba meliputi air, sumber karbon, sumber nitrogen, vitamin dan mineral. Sedangkan pada substrat gula singkong, glukosa, limbah biodiesel, dan glukosa tidak mengandung unsur N, sehingga unsur N hanya tersedia pada media kompleks yaitu *yeast* ekstrak dan tripton. Hasil H<sub>2</sub> pada Limbah biodiesel paling rendah karena limbah biodiesel mengandung gliserol kasar hasil samping dari proses pembuatan biodiesel dengan cara mengkonversi minyak trigliserida menjadi metil atau etil ester dengan cara transesterifikasi, yaitu dengan mereaksikan alkohol dengan minyak untuk menghasilkan tiga rantai ester dari gliserin.<sup>4)</sup> Sehingga gliserol kasar ini masih tercampur dengan tercampur dengan sisa proses transesterifikasi antara lain sisa katalis, metanol dan sabun. Di samping methanol dan sabun, gliserol kasar juga mengandung berbagai elemen seperti kalsium, magnesium, fosfor, atau sulfur.<sup>15)</sup> Kandungan impurities yang banyak tersebut dapat menghambat sel untuk tumbuh.<sup>7)</sup> Sedangkan pada substrat gliserol, volume H<sub>2</sub> yang dihasilkan lebih

tinggi dibandingkan limbah biodiesel, karena gliserol merupakan substrat murni sehingga lebih mudah dimanfaatkan oleh bakteri untuk proses metabolismenya.



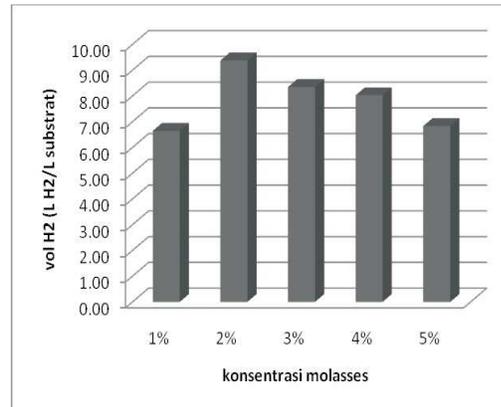
Gambar 1. Grafik Pengaruh Jenis substrat dan Jenis Isolat terhadap Produksi Bio-H<sub>2</sub> dikhir fermentasi (Jam ke-24)

Dari grafik diatas, *Enterobacter aerogenes* ADH 43 memiliki potensi produksi biohidrogen paling tinggi dibandingkan dengan *B. pumilus* ASP8 dan *co culutre* (ADH43+ASP8) yaitu . Namun H<sub>2</sub> yang dihasilkan dari masing-masing isolat (*E. aerogenes* ADH 43 atau *B. pumilus* ASP8) maupun kombinasi diantara keduanya atau *co-culture* (ADH43+ASP8) tidak mempunyai perbedaan yang signifikan. Untuk *co-culture* tidak ada efek sinergis atau hubungan yang saling menguntungkan diantara kedua isolat dalam produktifitas H<sub>2</sub>. Hasil H<sub>2</sub> tertinggi diperoleh dari kombinasi fermentasi *cane molasses* oleh *E. aerogenes* ADH43 yaitu 6.61 l H<sub>2</sub>/l molasses

### 3.2. Optimasi konsentrasi substrat

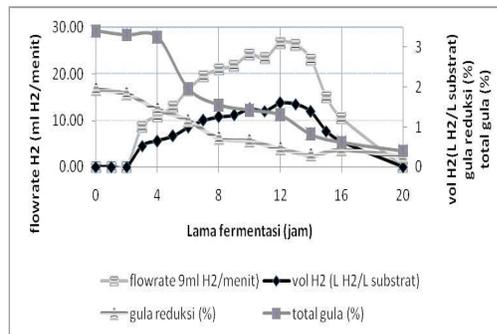
Dari *molasses* dan *E. aerogenes* yang terbaik masing-masing sebagai sumber karbon dan mikrobanya maka Berdasarkan Grafik 2 peningkatan biohidrogen semakin tinggi seiring dengan meningkatnya konsentrasi *molasses*, namun hanya sampai pada konsentrasi 2 % yaitu 9.38 L H<sub>2</sub>/L substrat, sedangkan pada konsentrasi 3%-5 % mengalami penurunan produksi biohidrogen yang disebut dengan substrat inhibisi

Menurut<sup>6)</sup>, apabila konsentrasi nutrisi semakin tinggi tidak selalu menyebabkan perombakan nutrisi tersebut, hal ini berkaitan dengan aktifitas bakteri untuk menggunakan nutrisi yang tersedia. Jika mikroorganisme mempunyai kemampuan perombakan yang rendah dan berada pada konsentrasi substrat tinggi maka laju perombakan akan diperlambat. Dalam hal ini kemungkinan *E. aerogenes* ADH-43 tidak semua karbon sebagai nutrisi pada konsentrasi 3%-5%.

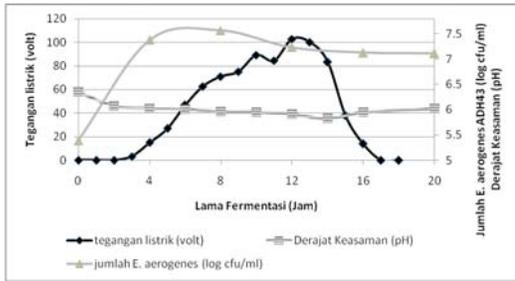


Gambar 2. Grafik Pengaruh Konsentrasi Molasses terhadap Produksi Bio-H<sub>2</sub> oleh *E. aerogenes* ADH43 Akhir Fermentasi (Jam ke-24)

### 3.3. Produksi bio-H<sub>2</sub> di dalam batch stirred tank reactor dan Aplikasi ke fuel cell



Gambar 3. Grafik Volume H<sub>2</sub>, flowrate H<sub>2</sub>, Gula Reduksi, dan Total Gula selama Proses Fermentasi Batch



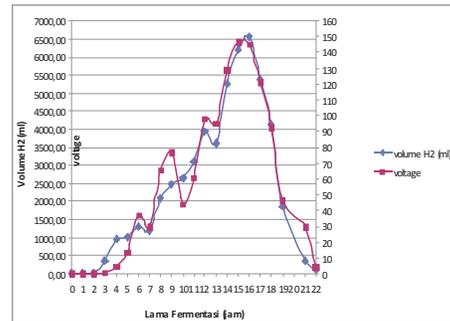
Gambar 4. Grafik Jumlah *E. aerogenes* ADH43, Derajat Keasaman (pH), dan Tegangan Listrik (Volt)

Fermentasi *cane molasses* oleh *E. aerogenes* dilakukan secara *batch stirred tank reactor* selama 24 jam dengan pengontrolan suhu 37 °C, dan agitasi 40 rpm. Gas hidrogen yang dihasilkan langsung dihubungkan ke *fuel cell*. Di dalam *fuel cell* terjadi reaksi elektrokimia, dimana H<sub>2</sub> akan bereaksi dengan O<sub>2</sub> menghasilkan energi berupa listrik dan air. Energi listrik ini kemudian diukur tegangan listriknya dengan menggunakan voltmeter setiap jam. Dari Gambar 3 dan 4 dapat dilihat bahwa pembentukan gas H<sub>2</sub> dimulai antara jam ke 2 sampai jam ke 3 sekitar 0.52 L H<sub>2</sub>/ L substrat ketika bakteri masuk pada awal fase log. Sedangkan pada jam ke 1 gula reduksi mengalami penurunan. Hal ini menunjukkan bahwa *E. aerogenes* ADH43 mengkonsumsi sumber karbon untuk pertumbuhan selnya pada jam ke 0 sampai jam ke 2 kemudian mulai memetabolisme sumber karbon tersebut menjadi gas H<sub>2</sub> pada awal jam ke 2 sampai jam ke 3 dimana sel berada pada awal fase log. Kemudian produktifitas H<sub>2</sub> mengalami kenaikan terus menerus dari jam ke 3 sampai jam ke 12, kemudian mengalami penurunan pada jam ke 13 sampai jam ke 20. Hal ini ditunjukkan dengan volume H<sub>2</sub> yang semakin meningkat diiringi dengan flowrate produksi H<sub>2</sub> dan tegangan listrik yang semakin meningkat pula. Volume H<sub>2</sub> maksimum tercapai pada jam ke 12 yaitu 1.60 L H<sub>2</sub>/ L substrat dengan flowrate 26.68 ml H<sub>2</sub>/ menit, dengan tegangan listrik sebesar 102.79 volt, dimana sel berada pada fase akhir stasioner 1.7 x 10<sup>7</sup> cfu/

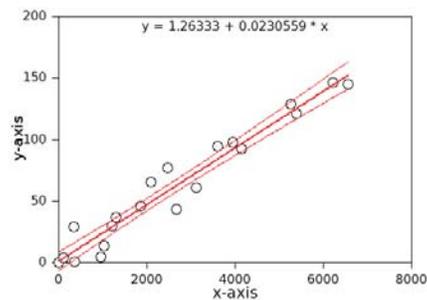
ml. Kemudian ketika sel berada pada fase kematian, produktifitas H<sub>2</sub> juga mengalami penurunan, sehingga tegangan listrik yang ditimbulkan juga mengalami penurunan. Hal ini dikarenakan substrat yang tersedia telah mengalami penurunan dan tidak cukup digunakan untuk kelangsungan hidup sel, sehingga sel-sel mengalami kematian<sup>15)</sup>. Hal ini dapat dilihat pada grafik dimana sisa total gula dan gula reduksi pada fase kematian berkisar antara 0.82-0.40 (%) dan 0.30-0.27(%). Total volume H<sub>2</sub> yang diperoleh selama proses fermentasi dengan sistem BSTR yaitu 9.13 L H<sub>2</sub>/ L substrat, yield H<sub>2</sub> 3.40 mol H<sub>2</sub>/ mol substrat, flowrate produksi H<sub>2</sub> 0.59 L H<sub>2</sub>/ L substrat/ jam, dan tegangan listrik yang ditimbulkan 813 volt, dengan efisiensi substrat berkisar 88.27%

Tabel 1 menunjukkan bahwa fermentasi *cane molasses* oleh *E. aerogenes* ADH43 dapat menghasilkan produktifitas bio-H<sub>2</sub> yang cukup tinggi dibandingkan dengan hasil referensi. Oleh karena itu, fermentasi *cane molasses* oleh *E. aerogenes* ADH43 berpotensi menghasilkan bio-H<sub>2</sub> sebagai sumber bahan bakar yang terbarukan dan ramah lingkungan untuk masa depan.

(a)



(b)



Gambar 5 : Grafik hubungan antara lama fermentasi, volume H<sub>2</sub> dan *voltage* (a) dan secara matematis didapatkan hubungan Vol H<sub>2</sub> (x-absis) dan *voltage* (y-ordinat) dengan sistem *fed-batch*. (b)

Pada Gambar 5 diilustrasikan dengan sistem *fed-batch* didapatkan kenaikan 2,5 liter dari 4 l sistem *batch* ke 6,5 l H<sub>2</sub>/l molases untk volume akhir fermentor yakni 4 liter medium molases, secara linear energi listerik juga naik secara linear.

Di Tabel 1. Kemampuan bakteri hasil isolasi dari limbah biodiesel yang telah ditingkatkan kemampuannya (*E. aerogenes* ADH-43) dan diatur strategi sistem fermentasi dapat memberikan kontribusi terhadap penggunaan limbah pencemar lingkungan untuk pembangkit listrik.

Tabel 1. Hasil Produksi Bio-H<sub>2</sub> melalui Fermentasi Gelap dengan Sistem Batch

Organisme	Sumber karbon	Flowrate H <sub>2</sub>	Ref
<i>Klebsiella oxytoca</i> HP1	Glukosa (50 mM)	87.5 mL/L/jam	9)
<i>E. cloacae</i> IIT-BT 08	Glukosa (1%)	447 mL/L/jam	8)
<i>C. pasteurium</i>	Sukrosa (20 g COD/L)	270 mmol/L/hari 660 mL/L/jam	
<i>E. cloacae</i> IIT-BT 08	Sukrosa (10 g/L) Molasses (2% sukrosa)	138 mL/L/jam	
<i>E. aerogenes</i> ADH43	Molasses 2%	593 mL/L/jam	6) 14, 15)
			Rise t ini

Fermentasi biohidrogen secara kontinyu perlu dilakukan untuk meningkatkan produktivitas biohidrogen. Selain itu diperlukan teknologi penyimpanan biohidrogen (*biohydrogen storage*) sehingga nantinya dapat dengan mudah diaplikasikan. Teknologi pemanfaatan limbah sebagai pencemar lingkungan seperti limbah biodiesel untuk segera diantisipasi dengan tujuan peningkatan H<sub>2</sub> sebagai sumber energi alternatif.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Reungsang, Alissara, Sangyoka, Suksaman, Imai, Tsuyoshi, dan Pawinee Chairasert. 2004. *Biohydrogen Production from Cassava Starch Manufacturing Wastewater*. Hua Hin, Thailand
2. Danl Agus dan Gumono. 2006. *Fuel cell sebagai Alternatif Energi Pengganti BBM*. Politeknik Negeri Malang, Malang
3. Apriyantono A., Fardiaz N.L., Puspita S., Sedarwati S. dan Budiyanto. 1989. *Analisa Pangan*. IPB Press. Bogor
4. Reith, J.H., Wijffels, R.H., dan Barten, H., 2003. *Biomethane and BioHydrogen*. The Dutch Biological Hydrogen Foundation, Netherlands
5. Rachman, M.A., Furutani, Y., Nakashimada, Y., Kakizono, T., and Nishio, N., 1997. *Enhanced hydrogen production in altered mixed acid fermentation of glucose by Enterobacter aerogenes*. J. of Ferm. And Bioeng. 83, 358-363.
6. Pratiwi, A.S., 2008. *Mutasi Bacillus Pumilus Dengan Mutagen EMS Dan PSM Menggunakan Substrat Gliserol Untuk Peningkatan Produksi Gas Hidrogen-Etanol*. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Al Azhar Indonesia, Jakarta
7. Claassen, P.A.M., van Lier, J.B., A.M.L., Contreras, van Niel, E.W.J., Sijtsma, L., Stams, A.J.M, de Vries, S.S., & Weusthuis, R.A., 1999. *Utilisation of biomass for the supply of energy carriers*. Applied. Microbiology Biotechnology 52: 741—755
8. Fardiaz, S., 2003. *Mikrobiologi Pangan*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta
9. Kumar, N., Das, D., 2000. *Enhancement of hydrogen Production by Enterobacter cloacae IIT-BT 08*. Process Biochem., 35, 589-593
10. Said, A., 2007. *Perlakuan Ethyl Methane Sulfonate (EMS) pada Enterobacter aerogenes untuk Peningkatan Produksi Gas Hidrogen (H<sub>2</sub>)*. Skripsi S1 Departemen Biologi FMIPA UI, Depok. Tidak dipublikasikan
11. Lin, CY, Chang, RC., 2004. *Fermentative Hydrogen Production at ambient Temperature*. Int J Hydrogen Energy
12. Miller, T.L., & Wolin, M.J., 1974. *serum bottle modification of the hungate technique for cultivating obligate anaerobes*. Applied Microbiology 27(5): 985—987.
13. Minnan, L., Jinli, H., Xiobin, W., Huijuan, X., Jinzao, C., Chuannan, L., Fengzhang, Z., Liangshu, X., 2005. *Isolation and Characterization of a High H<sub>2</sub>-producing Strain Klebsiella oxytoca HP1 from a Hot Spring*. Research in Microbiol., 156, 76-81
14. Tanisho, S., Ishiwata, Y., 1994. *Continuous Hydrogen Production from Molasses by bacterium Enterobacter aerogenes*. Inter J of Hydrog Energy, 19, 807-812
15. Tanisho, S., Suzuki Y., dan Wakao, N., 1987. *Fermentative Hydrogen Evolution by Enterobacter aerogenes strain E 82005*. Int. J. Hydrogen Energy

# **JURNAL REKAYASA LINGKUNGAN**

ISSN :2085-3866

Akreditasi :

Skep Kepala LIPI No: 1417/D/2008, Kpts Dirjen Dikti Depdiknas RI No : 34/DIKTI/Kep/2003

Alamat Redaksi : Pusat Teknologi Lingkungan

Gedung BPPT II Lantai 20, Telp. 021 3169755 Faks. 021 3169760

---

---

## **Undangan Menulis**

**JRL**, Jurnal Ilmiah Terakreditasi terbit 3X setahun memberi kesempatan bagi Anda untuk mempublikasikan temuan dan pemikiran yang berkaitan tentang penguasaan IPTEK bidang Teknologi Pengembangan Sumberdaya Alam.

Informasi Pendaftaran  
dan Penerimaan Makalah:

**Rosita**

Gedung II Lantai 20 Telp. 3169755