

Isolation Protein Hidrolyzat from Microalga *Nitzschia* sp. as A new AntimicrobialSakinah Nur Fadillah¹, Ahyar Ahmad^{2*}, Hasnah Natsir², FAbdul Karim², Paulina Taba²¹Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Sandi Karsa, Indonesia²Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Indonesia**Article Info****Article History:**

Received

2021-09-01

Accepted

2021-10-02

Published

2021-12-31

Keywords:bioethanol,
microbial fuel cell (mfc),
molasses, electrical energy,
saccharomyces cerevisiae**Abstract**

Microbial Fuel Cell (MFC) adalah alat yang mengubah energi kimia menjadi energi listrik melalui metabolisme mikroba. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh larutan elektrolit terhadap produksi listrik dan mengetahui kandungan bioetanol menggunakan Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) dan refraktometer melalui proses fermentasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* pada substrat molases. Metode penelitian ini menggunakan bilik ganda yang terdiri dari ruang anoda dan ruang katoda yang dihubungkan melalui membran pertukaran proton (PEM). Penelitian ini menunjukkan bahwa penambahan larutan elektrolit KMnO_4 0,2 M menghasilkan arus maksimum 1,20 mA dan tegangan 480 mV dengan kerapatan daya 2935 mW/cm² menghasilkan nilai kerapatan daya yang lebih tinggi dibandingkan penambahan larutan elektrolit $\text{K}_3(\text{Fe}(\text{CN})_6$ 0,2 M yang hanya menghasilkan arus maksimum 1,65 mA dan tegangan 320 mV dengan kerapatan daya 2690 mW/cm². Hasil analisis GC-MS menunjukkan adanya bioetanol dan kadar bioetanol yang dihasilkan adalah 28,44%. Sistem MFC dengan substrat molase memiliki potensi untuk menghasilkan listrik dan menghasilkan bioetanol pada saat yang bersamaan.

Abstract

Microbial Fuel Cell (MFC) is a device that converts chemical energy to electrical energy through microbial metabolism. This research aimed to investigate the effect of electrolyte solution on electricity production and determine the content of bioethanol using Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) and refractometer through the fermentation process using *Saccharomyces cerevisiae* in molasses substrate. The method of this research uses a double chamber consisting of an anode and a cathode chambers connected through a proton exchange membrane (PEM). This research showed that the addition of KMnO_4 0.2 M electrolyte solution generated a maximum current of 1.20 mA and a voltage of 480 mV with a power density of 2935 mW/cm² resulted in a higher power density value than the addition of $\text{K}_3(\text{Fe}(\text{CN})_6$ 0.2 M electrolyte solution which only generated a maximum current of 1.65 mA and a voltage of 320 mV with a power density of 2690 mW/cm². The results of the GC-MS analysis showed the presence of bioethanol and resulting bioethanol levels is 28.44%. The MFC system with molasses substrate has the potential to generate electricity and produce bioethanol at the same time.

Corresponding author

: Ahyar Ahmad

Email: ahyarahmad@gmail.com

Pendahuluan

Energi listrik merupakan salah satu kebutuhan penting dalam masyarakat yang mendukung berbagai aktivitas manusia. Energi listrik digunakan sebagai sumber cahaya (lampu), sumber energi gerak (kipas) dan sumber energi panas pada water heater. Namun, 80% sumber energi konvensional digunakan untuk memenuhi kebutuhan masyarakat umum dan industri (Handayani & Ariyanti, 2012) seperti bahan bakar fosil (Kholiq, 2012) yaitu gas alam, minyak dan batu bara. Penggunaan bahan bakar fosil secara terus menerus tanpa upaya untuk meregenerasinya dapat memicu krisis energi, pencemaran lingkungan, pemanasan global, dan polusi udara. Salah satu teknologi yang dapat digunakan agar energi yang digunakan tidak sepenuhnya berasal dari bahan bakar fosil adalah MFC. MFC merupakan teknologi terbarukan yang memiliki keunggulan ramah lingkungan, biasanya dioperasikan pada suhu lingkungan dan bekerja pada pH netral atau hanya kondisi sedikit asam (Balat, 2010).

Teknologi MFC memiliki kemampuan untuk mengubah energi kimia menjadi energi listrik (Kanani, 2017; Parkash, 2016; Singh & Dharmendra, 2020) dan bioetanol (Permana et al., 2015; Yuan et al., 2020). Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi sistem MFC dalam menghasilkan listrik dan bioetanol adalah jenis mikroorganisme, substrat, larutan elektrolit dan mediator elektron. Mikroorganisme yang dapat digunakan dalam sistem MFC adalah bakteri seperti *Pseudomonas aeruginosa* (Ali et al., 2017), *Klebsiella variicola* (Sarmin et al., 2021), *Lactobacillus bulgaricus* (Arbianti et al., 2013; Sulistiyawati et al., 2020), *Xanthomonas translucens* (Khoirunnisa et al., 2020) dan *Shewanella putrefaciens* (Kim et al., 2002), ragi seperti *Saccharomyces cerevisiae* (Sarmin et al., 2021) dan kapang seperti *Gloeophyllum* dan *Rhizopus* (Bakar et al., 2012). Substrat yang digunakan dalam sistem MFC dapat diperoleh dari senyawa murni sederhana yang terdiri dari satu komponen seperti glukosa (Chae et al., 2009; Christwardana et al., 2018; Sayed et al., 2012), sukrosa (Behera & Ghangrekar, 2009), pati (Niessen et al., 2004), asetat, butirat, propionat (Chae et al., 2009) dan senyawa kompleks yang terdiri dari beberapa komponen seperti air limbah pembuatan bir (Feng et al., 2008), air limbah daur ulang kertas (Huang & Logan, 2008), air limbah dari pengolahan makanan (Mansoorian et al., 2013) dan air limbah molase (Zhong et al., 2011). Molase adalah cairan kental berwarna coklat yang merupakan produk sampingan dari pembuatan gula (Mardhiyah & Irwan, 2019; Saric et al., 2016; Senthikumar et al., 2016) yang mengandung 13% yang tidak diketahui, abu 13%, senyawa nitrogen organik 10,1%, pati 1,5%, rafinosa 0,3%, fruktosa 0,2%, sukrosa 60% (Sjölin et al., 2020), 32% dan total gula 49% (Yang, 2017).

Penggunaan larutan elektrolit dan mediator elektron juga dapat mempengaruhi produksi listrik yang dihasilkan. Larutan elektrolit yang digunakan adalah KMnO_4 (Baharuddin et al., 2020), $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ dan $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ (Li et al., 2009). (Yuan et al., 2020) Melakukan penelitian energi listrik berbasis MFC dengan glukosa sebagai substrat menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* dan larutan elektrolit $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ yang menghasilkan nilai kerapatan daya maksimum $5,2 \pm 0,5$ W/m^3 . Menurut (Permana et al., 2015), yang juga menghasilkan energi listrik berbasis MFC, menggunakan larutan elektrolit KMnO_4 menghasilkan arus $5,5 \times 10^{-5} \text{ A}$, tegangan 0,886 V dan kepadatan daya $4,48 \times 10^{-3} \text{ W/m}^2$. Penambahan mediator elektron dalam sistem MFC dapat meningkatkan daya rasi (Yuan et al., 2020) dan transfer elektron ke elektroda (Gunawardana et al., 2008). Mediator elektron yang dapat digunakan adalah metilen biru (Yuan et al., 2020) dan merah netral (Fathey et al., 2016). Sistem MFC bekerja dengan cara mengoksidasi substrat berupa bahan organik pada anoda menggunakan mikroorganisme yang akan menghasilkan CO_2 , proton (H^+) dan elektron. Elektron yang dihasilkan akan ditransfer ke ruang katoda melalui sirkuit eksternal yang menghasilkan muatan listrik eksternal, sedangkan proton ditransfer melalui *Proton Exchange Membrane* (PEM). Elektron dan proton akan bereaksi di ruang katoda untuk mereduksi oksigen dan menghasilkan listrik (Utami et al., 2020). Penerapan teknologi MFC digunakan sebagai biosensor dalam analisis toksisitas lingkungan (Sun et al., 2015) dan pengukuran Biochemical Oxygen Demand (Tardy et al., 2021) dan sebagai bioremediasi (Pisciotta & Dolceamore Jr, 2016).

Dalam makalah ini, penerapan teknologi MFC pada substrat molase digunakan untuk menghasilkan listrik dan bioetanol. Dihipotesiskan bahwa ada efek penambahan larutan elektrolit KMnO_4 0,2 M dan $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 0,2 M terhadap listrik yang dihasilkan. Selanjutnya, pertumbuhan ragi pada anolit diukur untuk menunjukkan kinerja sistem ragi-MFC. Akhirnya, setelah menghasilkan listrik, produk bioetanol sebagai produk sampingan diukur secara kualitatif menggunakan GC-MS dan secara kuantitatif menggunakan refraktometer untuk menunjukkan potensi untuk menghasilkan bioetanol dalam teknologi MFC.

Metode

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain aquadest (H_2O) (PT. Source of Endless Blessing), yeast ekstrak (PT. Merck), elektroda grafit, hidrogen peroksida (H_2O_2) (PT. Merck), asam klorida (HCl) (PT. Merck), asam sulfat (H_2SO_4) (PT. Merck), kalium dihidrogen fosfat (KH_2PO_4) (PT. Merck), kalium permanganat (KMnO_4) (PT. Merck), kalium hexacyanoferrat (III) ($\text{K}_3(\text{Fe}(\text{CN})_6)$) (PT. Merck), molase (Pabrik Gula Takalar), methylene blue (PT. Merck), Nafion 117 (Shanghai Macklin Biochemical Technology Co., Ltd), natrium hidroksida (NaOH) (PT. Merck) dan pepton (PT. Merck). Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain GC-MS (Thermo Scientific Trace 1310), Spektrofotometer Tampak (Thermo Scientific Genesys 20), Refraktometer, Inkubator Shaker (Thermo Scientific MaxQ4000), Inkubator (Heracus Thermo Scientific TYP B6120), Multimeter digital (Aneng A830L) dan neraca analitik (Kern).

Konstruksi MFC

Alat MFC terbuat dari bahan akrilik dengan ukuran 10 x 10 x 10 cm. Reaktor MFC terdiri dari dua kompartemen yaitu ruang anoda dan ruang katoda yang dipisahkan oleh PEM yaitu Nafion 117. Masing-masing kompartemen menampung 1 L yang memiliki lubang berdiameter 3,5 cm di setiap kompartemen dan dipasangkan PEM sebagai proton situs perpindahan. Selanjutnya, 5 elektroda grafit dipasang pada setiap kompartemen dan dihubungkan ke serangkaian kabel pada multimeter digital yang dimodifikasi (Yuan et al., 2020).

Persiapan Elektroda dan PEM

Preparasi elektroda dilakukan dengan cara merendam batang elektroda grafit dengan asam klorida (HCl) 1 M selama 1 x 24 jam, kemudian dibilas dengan aquades sulingan (H_2O). Setelah itu elektroda grafit direndam kembali dengan natrium hidroksida (NaOH) 1 M selama 1 x 24 jam. Selanjutnya elektroda grafit dibilas dengan aquades sulingan (H_2O) hingga netral (Baharuddin dkk., 2020). Sedangkan pembuatan PEM dilakukan dengan menggunakan membran berupa Nafion 117 yang dipanaskan menggunakan aquadest (H_2O) pada suhu 80°C selama 1 jam, kemudian dipanaskan menggunakan H_2O_2 3% 80°C selama 1 jam dan dibilas dengan aquadest (H_2O). Selanjutnya membran Nafion 117 dipanaskan kembali dengan larutan H_2SO_4 1 M selama 1 jam dan dicuci dengan aquadest (H_2O) sebanyak 3 kali. Membran direndam dengan aquades hingga siap digunakan. Membran diangin-anginkan sebelum diaplikasikan pada reaktor MFC (Utami et al., 2020).

MFC Experiment

Sebanyak 40 mL molase, 5 g pepton, 5 g ekstrak ragi, 5 g KH_2PO_4 , dan 2 mL MB dalam 800 mL ditambahkan ke dalam ruang anolit. Nilai pH anolit awalnya disesuaikan menjadi 7,0 dengan NaOH 5 M. Larutan anolit diautoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit secara terpisah dan disinari di bawah sinar UV di dalam tudung laminar sebelum digunakan. Kemudian 1 g ragi kering dicampur dengan 20 g glukosa dalam 50 mL dan disimpan selama 1 jam pada suhu 37°C . Setelah itu larutan ragi dimasukkan ke dalam anolit dan diaduk. Kemudian 800 mL KMnO_4 0,2 M dimasukkan ke dalam ruang katolit. Setelah itu, penutup ruang dipasang dan dihubungkan dengan multimeter untuk mengukur arus dan tegangan yang dihasilkan setiap jam ke-4 selama jam ke-48. Untuk larutan elektrolit $\text{K}_3(\text{Fe}(\text{CN})_6)$ 0,2 M, hal yang sama juga dilakukan pada uraian sebelumnya, dimana larutan KMnO_4 0,2 M diganti dengan larutan $\text{K}_3(\text{Fe}(\text{CN})_6)$ 0,2 M.

Setelah itu energi listrik diukur setiap jam ke 4 selama jam ke 48 menggunakan multimeter digital. Selanjutnya proses fermentasi dilakukan hingga 6 hari. Cairan hasil proses fermentasi molase disuling untuk memisahkan bioetanol yang dihasilkan dengan menggunakan alat destilasi yang dimodifikasi (Yuan et al., 2020).

Data Analysis

Nilai rapat daya diperoleh dari data kuat arus dan tegangan yang dihitung menggunakan persamaan pada rumus 1:

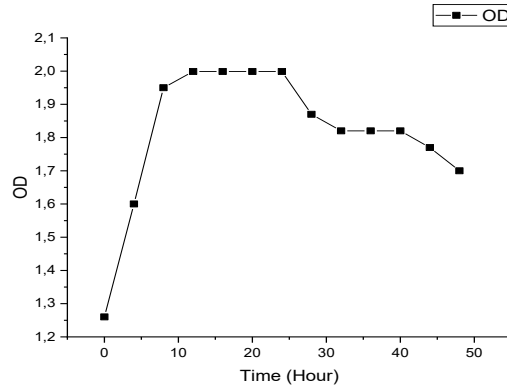
$$Power\ Density\ (mW/cm^2) = \frac{V \times I}{A} \quad (1)$$

Konsentrasi ragi dalam larutan MFC ditentukan dengan mengukur kerapatan optik menggunakan spektrofotometer tampak dengan panjang gelombang maksimum 600 nm. Identifikasi senyawa bioetanol diukur menggunakan GC-MS dan kadar bioetanol diukur menggunakan refraktometer.

Hasil Dan Pembahasan

Pengukuran Kurva Pertumbuhan Ragi *Saccharomyces cerevisiae*

Pola pertumbuhan mikroba digunakan untuk melihat kemampuan sel ragi *Saccharomyces cerevisiae* dalam mendegradasi bahan organik (Baharuddin et al., 2019). Dalam mengukur kurva pertumbuhan sel ragi yang dimasukkan ke dalam media fermentasi, ditemukan bahwa kurva pertumbuhan terdiri dari fase lag, fase eksponensial, fase diam dan fase kematian (Yuan et al., 2020). Pola pertumbuhan ragi ditunjukkan pada Gambar. 1.

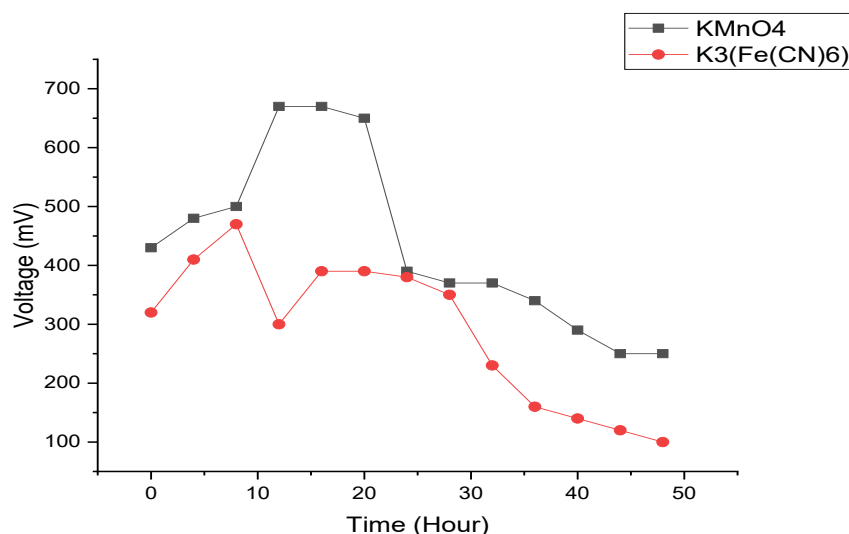


Gambar 1. Kurva Pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* Tumbuh di Media

Pada Gambar 1, fase eksponensial *Saccharomyces cerevisiae* yang tumbuh di media diproduksi pada jam 0 hingga 12. Hal ini sesuai dengan penelitian oleh (Permana et al., 2015) bahwa fase eksponensial ragi dimulai pada jam ke-4 hingga ke-12. Menurut (Olivares-Marin et al., 2018), pola pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* menunjukkan fase lag pendek dan laju pertumbuhan yang cepat selama fase eksponensial. Ketika memasuki fase eksponensial, pembelahan sel akan terjadi dan peningkatan jumlah sel akan berjalan sangat cepat. Pada fase ini, sel ragi dapat menghasilkan lebih banyak listrik (Baharuddin et al., 2019).

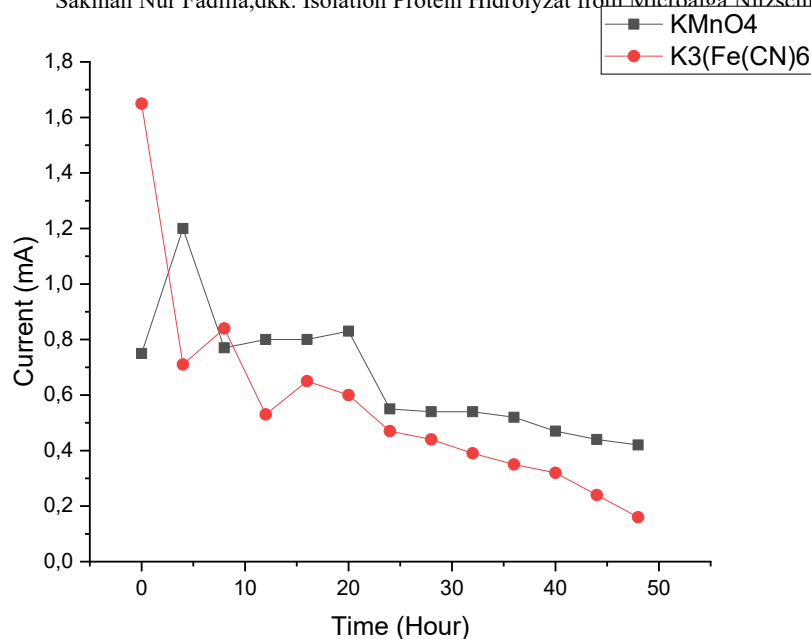
Efek Penambahan Larutan Elektrolit

Pengukuran tegangan pada sistem MFC dengan substrat molase menggunakan yeast *Saccharomyces cerevisiae* dengan penambahan larutan elektrolit $KMnO_4$ 0,2 M dan $K_3(Fe(CN)_6)$ 0,2 M ditunjukkan pada Gambar. 2.



Gambar 2. Tegangan pada substrat molase dengan larutan elektrolit KMnO₄ 0,2 M dan K₃(Fe(CN)₆) 0,2 M

Tegangan maksimum yang dihasilkan pada penelitian ini dengan penambahan larutan elektrolit KMnO₄ 0,2 M sebesar 670 mV pada jam ke-12 dan larutan elektrolit K₃(Fe(CN)₆) 0,2 M sebesar 470 mV pada jam ke-8. Hal ini sesuai dengan pola pertumbuhan khamir dengan fase eksponensial yang dimulai pada jam ke-0 hingga jam ke-12. Nilai tegangan yang dihasilkan pada penambahan larutan elektrolit KMnO₄ 0,2 M lebih tinggi dibandingkan dengan penambahan larutan elektrolit K₃(Fe(CN)₆) 0,2 M. Hal ini dikarenakan penggunaan larutan elektrolit KMnO₄ sebagai akseptor elektron mempunyai kemampuan meningkatkan arus, tegangan dan daya pada proses MFC (Najafpour et al., 2011) karena mempunyai kapasitas oksidasi, ramah lingkungan (Putra et al., 2018) dan nilai potensi reduksi standar KMnO₄ lebih tinggi dibandingkan K₃(Fe(CN)₆). Nilai yang dihasilkan pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan nilai tegangan yang diperoleh (Muftiana dkk., 2018) dengan substrat whey tahu dengan penggunaan larutan elektrolit KMnO₄ 0,2 M sebesar 99,2 mV dan larutan elektrolit K₃(Fe(CN)₆) 0,2 M kali 48,6 mV, (Inayati et al., 2015) dengan substrat whey tahu 25,5 mV. Hal ini dikarenakan efek substrat yang digunakan berbeda-beda. Whey tahu mengandung karbohidrat dari golongan oligosakarida, sehingga memerlukan waktu yang cukup lama untuk memecah molekul dari oligosakarida menjadi molekul sederhana (Ismawati et al., 2015). Penelitian yang dilakukan oleh (Öztürk & Onat, 2017) dengan substrat molase tanpa mediator sebesar 375,4 mV lebih rendah dibandingkan penelitian ini. Hal ini dikarenakan pada penelitian ini menggunakan mediator elektron berupa MB yang dapat meningkatkan nilai tegangan pada sistem MFC (AP et al., 2018; Öztürk & Onat, 2017). MB dapat berdifusi dan mengantarkan elektron ke permukaan elektroda tanpa memerlukan sel ragi untuk menempel pada permukaan elektroda (Yuan et al., 2020). Namun penelitian yang dilakukan (Öztürk & Onat, 2017) dengan molase sebagai substrat menggunakan mediator metilen biru menghasilkan energi listrik sebesar 492,2 mV, lebih tinggi dibandingkan hasil penelitian ini dengan penambahan larutan elektrolit K₃(Fe(CN)₆) 0,2 M Hal ini mungkin disebabkan karena volume substrat molase yang digunakan lebih besar 80 mL dibandingkan volume substrat molase yang digunakan pada penelitian ini. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan (Kusuma et al., 2018) bahwa konsentrasi substrat mempengaruhi tegangan yang dihasilkan pada sistem MFC. Pengukuran arus pada sistem MFC dengan substrat molase menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* dengan penambahan larutan elektrolit KMnO₄ 0,2 M dan K₃(Fe(CN)₆) 0,2 M ditunjukkan pada Gambar. 3.



Gambar 3. Arus pada substrat molase dengan larutan elektrolit KMnO_4 0,2 M dan $\text{K}_3(\text{Fe}(\text{CN})_6)$ 0,2 M

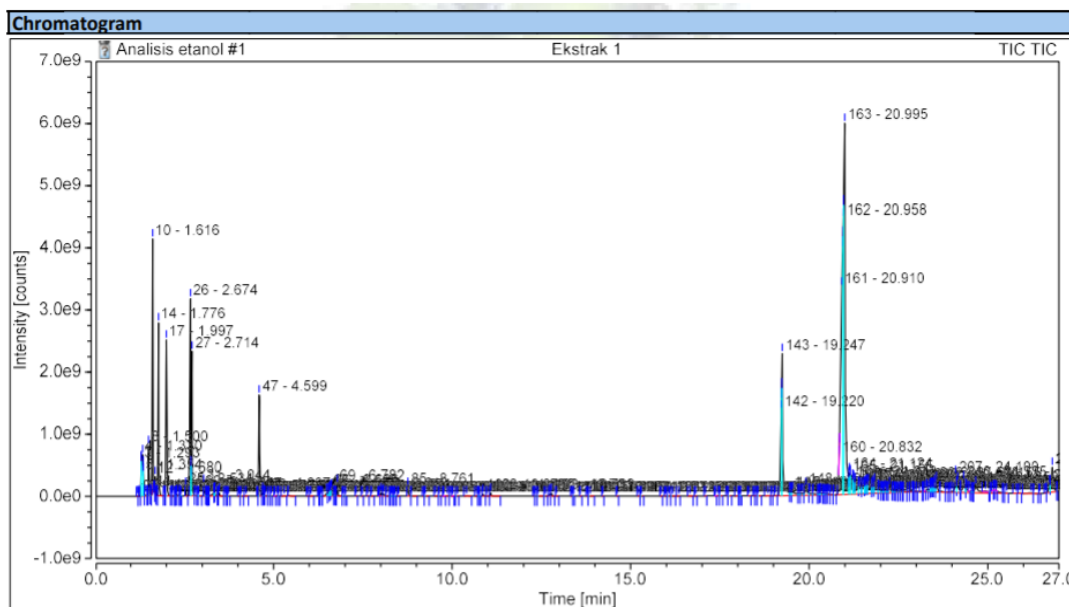
Arus maksimum yang dihasilkan pada penelitian ini dengan penambahan larutan elektrolit KMnO_4 0,2 M sebesar 1,20 mA pada jam ke-4 sedangkan larutan elektrolit $\text{K}_3(\text{Fe}(\text{CN})_6)$ sebesar 0,2 M sebesar 1,65 mA pada jam 0. Pola peningkatan dan penurunan arus yang dihasilkan disebabkan oleh aktivitas metabolisme mikroba untuk menguraikan senyawa kompleks dari substrat menjadi molekul sederhana (Ibrahim & Suptijah, 2014). Nilai arus yang dihasilkan dalam penelitian ini lebih tinggi dari penelitian yang diperoleh (Baharuddin et al., 2020) dengan substrat molases menggunakan jembatan garam dengan penambahan $\text{K}_3(\text{Fe}(\text{CN})_6)$ larutan elektrolit 0,2 M sebesar 0,64 mA. Hal ini dikarenakan penggunaan PEM yaitu Nafion 117 dalam penelitian ini memiliki sifat elektrokimia yang tinggi seperti proton yang tinggi sehingga dapat mempengaruhi produksi listrik yang dihasilkan (Sarirchi & Rowshanzamir, 2017). Selain itu, (Baharuddin et al., 2019) nilai arus yang diperoleh dalam penelitian tanpa penambahan larutan elektrolit lebih rendah dibandingkan dengan penelitian ini sebesar 0,11 mA. Hal ini dikarenakan efek penambahan larutan elektrolit dapat meningkatkan nilai arus yang dihasilkan pada sistem MFC (Baharuddin et al., 2019, 2020). Kesesuaian penggunaan mikroba dengan substrat tertentu berperan sangat penting dalam menghasilkan arus dan tegangan yang besar. Hasil penelitian oleh (Baharuddin et al., 2020) menggunakan molase sebagai substrat dengan bakteri *Pseudomonas* sp dengan arus maksimum 1,44 mA dan tegangan 0,55 V lebih kecil dari hasil penelitian ini dengan nilai arus maksimum 1,65 mA dan tegangan 670 mV. Hal ini dikarenakan *Pseudomonas* sp termasuk bakteri selulolitik menghasilkan enzim selulase yang hanya dapat mengubah selulosa, pati dan xilan menjadi glukosa sehingga sukrosa yang terkandung dalam molase tidak dapat dipecah menjadi glukosa oleh bakteri *Pseudomonas* sp.

Kepadatan Daya

Berdasarkan nilai arus maksimum 1,20 mA dan tegangan 480 mV yang dihasilkan dalam larutan elektrolit KMnO_4 0,2 M, nilai efisiensi Power Density (mW/cm^2) adalah 2935 mW/cm^2 sedangkan nilai arus maksimum adalah 1,65 mA dan tegangan 320 mV dalam larutan elektrolit $\text{K}_3(\text{Fe}(\text{CN})_6)$ 0,2 M, nilai efisiensi Power Density (mW/cm^2) adalah 2690 mW/cm^2 . Nilai kerapatan daya menggunakan larutan elektrolit KMnO_4 0,2 M lebih tinggi dari larutan elektrolit $\text{K}_3(\text{Fe}(\text{CN})_6)$ karena nilai potensial reduksi KMnO_4 standar 1,70 V lebih tinggi dari $\text{K}_3(\text{Fe}(\text{CN})_6)$ yaitu 0,36 V (Muftiana et al., 2018).

Produksi dan Analisis Bioetanol

Untuk meneliti pengaruh MFC pada produksi bioetanol, identifikasi senyawa bioetanol dan kandungan bioetanol diselidiki. Gas oksigen (O₂) yang berasal dari ruang anoda berperan dalam meningkatkan kinerja pertumbuhan ragi-MFC dan ragi. Ragi menggunakan glukosa sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan sel dan pembentukan bioetanol sebagai produk sampingan dari produksi listrik (Yuan et al., 2020). Senyawa yang dihasilkan dari penelitian ini mengandung senyawa bioetanol. Hal ini dapat dilihat pada uji kualitatif untuk mengetahui keberadaan senyawa bioetanol menggunakan GC-MS yang ditunjukkan pada Gambar 4 dan Tabel 2 menunjukkan tingkat produksi bioetanol.



Gambar 4. Kromatogram GC-MS Hasil Fermentasi Molase Substrat MFC

TABLE 1. Chemical Compounds Identified in Molasses Substrate

Peak	Retention Time (min)	Compounds	%
1	1.184	(2-Aziridinylethyl)amine	0.02
2	1.238	Acetaldehyde	0.05
3	1.293	Ethanol	1.29
3	1.330	Ethanol	1.53
4	1.354	Ethanol	0.84
5	1.402	Ethanol	0.06
6	1.473	3-Methyloxirane-2-carboxylic acid	0.04
7	1.500	1-Propanol	1.85

Tabel 2. Data Indeks bias dan kandungan etanol standar untuk analisis produk sampingan etanol dalam sistem MFC

Refractive Index	Level of Bioetanol (%)
1.3470	28.44

Pada Gbr.4, kromatogram GC/MS substrat molase menunjukkan adanya senyawa bioetanol. Puncak yang membuktikan adanya senyawa bioetanol pada kromatogram Gambar 4 adalah puncak basa dengan ion molekuler (M⁺) dengan m/z 45 dengan waktu retensi 1,293, 1,330, 1,354 dan 1,402 menit pada Tabel 1. Hal ini sesuai dengan penelitian oleh (Murniati et al., 2018) dengan limbah biji durian yang menghasilkan tiga fragmen m/z 27, 38 dan 45. Tabel 1 menunjukkan senyawa: (2-Aziridinylethyl) amina (0,02%), asetaldehida (0,05%), etanol (1,29,

1,53, 0,84 dan 0,06%), asam 3-metiloksisina-2-karboksilat (0,04%) dan 1-propanol (1,85). Pada tabel 2 kadar bioetanol yang diperoleh dengan menggunakan refraktometer adalah 28,44% dengan waktu fermentasi 6 hari. Kandungan bioetanol yang dihasilkan lebih tinggi dari penelitian oleh (Permana et al., 2015) dengan glukosa sebagai substrat menghasilkan kandungan bioetanol sebesar 0,74% dengan waktu fermentasi 2 hari dan oleh (Okawanti et al., 2020) dengan substrat pulp tahu menghasilkan kadar bioetanol sebesar 22,67%. Hal ini dikarenakan jenis dan konsentrasi substrat yang digunakan berbeda dengan penelitian yang dilakukan dan lamanya proses fermentasi (Okawanti et al., 2020). Penambahan mediator elektron, yaitu MB di ruang anolit sistem MFC, dapat mempengaruhi produksi bioetanol. MB dalam dosis tertentu dapat mengurangi rasio NADH/NAD⁺ sehingga dapat mengatur metabolisme ragi untuk meningkatkan produk fermentasi dan mengurangi bioproduk. Namun, penggunaan metilen biru yang berlebihan dapat mengganggu sintesis bioetanol dari asetaldehida dan produksi listrik. Saran dalam penelitian ini untuk penelitian lebih lanjut adalah untuk memvariasikan konsentrasi penambahan mediator elektron untuk melihat efek pada produksi listrik dan bioetanol yang dihasilkan dan untuk menambahkan larutan buffer fosfat dalam ruang katolit untuk menentukan efek listrik yang dihasilkan. Implikasi dari penelitian ini adalah teknologi MFC dapat menghasilkan energi listrik seperti halnya bioetanol.

Kesimpulan

Dalam makalah ini, listrik dan bioetanol diproduksi menggunakan sistem MFC. Penambahan larutan elektrolit KMnO₄ 0,2 M menghasilkan nilai arus dan tegangan maksimum 1,20 mA dan 670 mV. Sedangkan penambahan larutan elektrolit K₃(Fe(CN)₆) 0,2 M menghasilkan nilai arus dan tegangan maksimum sebesar 1,65 mA dan 470 mV. Nilai efisiensi Densitas Daya (mW/cm²) menggunakan larutan elektrolit KMnO₄ 0,2 M dengan nilai arus maksimum 1,20 mA dan tegangan 480 mV adalah 2935 mW/cm² yang lebih tinggi dari penambahan larutan elektrolit K₃(Fe(CN)₆) 0,2 M dengan nilai arus maksimum 1,65 mA dan tegangan 320 mV yang menghasilkan kerapatan daya sebesar 2690 mW/cm². Analisis GC-MS menunjukkan adanya senyawa bioetanol dan kadar bioetanol yang dihasilkan sebesar 28,44%.

Daftar Pustaka

- Ali, N., Anam, M., Yousaf, S., Maleeha, S., & Bangash, Z. (2017). Characterization of the electric current generation potential of the *Pseudomonas aeruginosa* using glucose, fructose, and sucrose in double chamber microbial fuel cell. *Iranian Journal of Biotechnology*, 15(4), 216–223. <https://doi.org/10.15171/ijb.1608>
- AP, A., BI, A., & AA, A. (2018). Improving Bioelectricity Generation of Microbial Fuel Cell (MFC) With Mediators Using Kitchen Waste as Substrate. *Annals of Applied Microbiology & Biotechnology Journal*, 2(1), 1–5. <https://doi.org/10.36876/aamb.1008>
- Arbianti, R., Utami, T. S., Hermansyah, H., Novitasari, D., Kristin, E., & Trisnawati, I. (2013). Performance Optimization of Microbial Fuel Cell (MFC) Using *Lactobacillus bulgaricus*. *MAKARA Journal of Technology Series*, 17(1), 32–38. <https://doi.org/10.7454/mst.v17i1.1925>
- Baharuddin, M., Heriyono, H., Wali, S., & Zahra, U. (2019). Diversification of Renewable Energy Sources Utilizing *Eceng Gondok Eichhornia crassipes* in Microbial Fuel Cells. <https://doi.org/10.4108/eai.2-5-2019.2284698>
- Baharuddin, M., Rajib, M., Sappewali, & Zahra, U. (2020). Effect of combination of electrolyte and buffer on electrical production in fuel cell microbial system with *Pseudomonas* sp. In molasses substrate. *E3S Web of Conferences*, 211, 1–7. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202021103001>
- Bakar, A. S. A., Othman, R., Yahya, M. Z. A., Othman, R., & Nik Din, N. M. S. (2012). Bioenergy from *Gloeophyllum-Rhizopus* fungal biofuel cell. *Advanced Materials Research*, 512–515, 1461–1465. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.512-515.1461>

- Balat, M. (2010). Microbial fuel cells as an alternative energy option. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization and Environmental Effects*, 32(1), 26–35. <https://doi.org/10.1080/15567030802466045>
- Behera, M., & Ghangrekar, M. M. (2009). Performance of microbial fuel cell in response to change in sludge loading rate at different anodic feed pH. *Bioresource Technology*, 100(21), 5114–5121. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.05.020>
- Chae, K. J., Choi, M. J., Lee, J. W., Kim, K. Y., & Kim, I. S. (2009). Effect of different substrates on the performance, bacterial diversity, and bacterial viability in microbial fuel cells. *Bioresource Technology*, 100(14), 3518–3525. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.02.065>
- Christwardana, M., Frattini, D., Accardo, G., Yoon, S. P., & Kwon, Y. (2018). Early-stage performance evaluation of flowing microbial fuel cells using chemically treated carbon felt and yeast biocatalyst. *Applied Energy*, 222(November 2017), 369–382. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2018.03.193>
- Fathey, R., Gomaa, O. M., Ali, A. E. H., El Kareem, H. A., & Zaid, M. A. (2016). Neutral red as a mediator for the enhancement of electricity production using a domestic wastewater double chamber microbial fuel cell. *Annals of Microbiology*, 66(2), 695–702. <https://doi.org/10.1007/s13213-015-1152-8>
- Feng, Y., Wang, X., Logan, B. E., & Lee, H. (2008). Brewery wastewater treatment using air-cathode microbial fuel cells. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 78(5), 873–880. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1360-2>
- Gunawardena, A., Fernando, S., & To, F. (2008). Performance of a yeast-mediated biological fuel cell. *International Journal of Molecular Sciences*, 9(10), 1893–1907. <https://doi.org/10.3390/ijms9101893>
- Handayani, N. A., & Ariyanti, D. (2012). Potency of solar energy applications in Indonesia. *International Journal of Renewable Energy Development*, 1(2), 33–38. <https://doi.org/10.14710/ijred.1.2.33-38>
- Huang, L., & Logan, B. E. (2008). Electricity generation and treatment of paper recycling wastewater using a microbial fuel cell. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 80(2), 349–355. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1546-7>
- Ibrahim, B., & Suptijah, P. (2014). *PERIKANAN The Performance of Series Circuits in Microbial Fuel Cell 's System from the Fisheries Wastewater*. 17, 71–79.
- Inayati, N., Aminin, A., & Suyati, L. (2015). the Bioelectricity of Tofu Whey in Microbial Fuel Cell System With Lactobacillus Bulgaricus. *Jurnal Sains Dan Matematika*, 23(1), 32–38–38.
- Ismawati, N., Aminin, A., & Suyati, L. (2015). Whey Tahu Sebagai Penghasil Bioelektrisitas Pada Sistem Microbial Fuel Cell Dengan Lactobacillus Plantarum. *Jurnal Sains Dan Matematika*, 23(2), 43–49.
- Kanani, B. (2017). Microbial Fuel Cell, New Technologies in the Field of Green Energy and Wastewater Treatment. *Anatomy Physiology & Biochemistry International Journal*, 2(5), 87–90. <https://doi.org/10.19080/apbij.2017.02.555597>
- Khoirunnisa, N. S., Anwar, S., & Santosa, D. A. (2020). Isolation and selection of cellulolytic bacteria from rice straw for consortium of microbial fuel cell. *Biodiversitas*, 21(4), 1686–1696. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d210450>
- Kholiq, I. (2012). Editorial Board. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 4(1), i. [https://doi.org/10.1016/s1877-3435\(12\)00021-8](https://doi.org/10.1016/s1877-3435(12)00021-8)
- Kim, H. J., Park, H. S., Hyun, M. S., Chang, I. S., Kim, M., & Kim, B. H. (2002). A mediator-less microbial fuel cell using a metal reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens*. *Enzyme and Microbial Technology*, 30(2), 145–152. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(01\)00478-1](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(01)00478-1)
- Kusuma, R. A., Suyati, L., & Rahmanto, W. H. (2018). Effect of Lactose Concentration as Lactobacillus bulgaricus Substrate on Potential Cells Produced in Microbial Fuel Cell Systems. *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 21(3), 144–148.

- <https://doi.org/10.14710/jksa.21.3.144-148>
- Li, J., Fu, Q., Liao, Q., Zhu, X., Ye, D. ding, & Tian, X. (2009). Persulfate: A self-activated cathodic electron acceptor for microbial fuel cells. *Journal of Power Sources*, 194(1), 269–274. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2009.04.055>
- Mansoorian, H. J., Mahvi, A. H., Jafari, A. J., Amin, M. M., Rajabizadeh, A., & Khanjani, N. (2013). Bioelectricity generation using two chamber microbial fuel cell treating wastewater from food processing. *Enzyme and Microbial Technology*, 52(6–7), 352–357. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2013.03.004>
- Mardhiyah, N., & Irwan, M. (2019). Citric Acid Production From Molasses Use Biosynthesis *Aspergillus Niger*. *International Journal of Scientific & Technology Research*, 8(6), 357–360.
- Muftiana, I., Suyati, L., & Setiyo, D. (2018). 18558-47154-2-Pb. 21(1), 49–53.
- Murniati, M., Handayani, S. S., & Risfianty, D. K. (2018). BIOETANOL DARI LIMBAH BIJI DURIAN (*Durio zibethinus*). *Jurnal Pijar Mipa*, 13(2), 155. <https://doi.org/10.29303/jpm.v13i2.761>
- Najafpour, G., Rahimnejad, M., & Ghoreishi, A. (2011). The enhancement of a microbial fuel cell for electrical output using mediators and oxidizing agents. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization and Environmental Effects*, 33(24), 2239–2248. <https://doi.org/10.1080/15567036.2010.518223>
- Niessen, J., Schröder, U., & Scholz, F. (2004). Exploiting complex carbohydrates for microbial electricity generation - A bacterial fuel cell operating on starch. *Electrochemistry Communications*, 6(9), 955–958. <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2004.07.010>
- Okawanti, R. V., Astuti, W., & Kartika, R. (2020). The ethanol making out of cempedak seeds (*Artocarpus champedan*) with tofu dregs addition as fermentation nutrition. *International Journal of Scientific and Technology Research*, 9(2), 622–625.
- Olivares-Marin, I. K., González-Hernández, J. C., Regalado-Gonzalez, C., & Madrigal-Perez, L. A. (2018). *Saccharomyces cerevisiae* exponential growth kinetics in batch culture to analyze respiratory and fermentative metabolism. *Journal of Visualized Experiments*, 2018(139). <https://doi.org/10.3791/58192>
- Öztürk, M., & Onat, T. A. (2017). *The Usage of Molasses and Mediators in Microbial Fuel Cells*. 5, 77–84.
- Parkash, A. (2016). Microbial Fuel Cells: A Source of Bioenergy. *Journal of Microbial & Biochemical Technology*, 8(3), 247–255. <https://doi.org/10.4172/1948-5948.1000293>
- Permana, D., Rosdianti, D., Ishmayana, S., Rachman, S. D., Putra, H. E., Rahayuningwulan, D., & Hariyadi, H. R. (2015). Preliminary Investigation of Electricity Production Using Dual Chamber Microbial Fuel Cell (DCMFC) with *Saccharomyces Cerevisiae* as Biocatalyst and Methylene Blue as an Electron Mediator. *Procedia Chemistry*, 17, 36–43. <https://doi.org/10.1016/j.proche.2015.12.123>
- Pisciotta, J. M., & Dolceamore Jr, J. J. (2016). Bioelectrochemical and Conventional Bioremediation of Environmental Pollutants. *Journal of Microbial & Biochemical Technology*, 8(4). <https://doi.org/10.4172/1948-5948.1000306>
- Putra, H. E., Permana, D., & Djaenudin. (2018). Preliminary study of the use of sulfonated polyether ether ketone (SPEEK) as proton exchange membrane for microbial fuel cell (MFC). *International Journal of Renewable Energy Development*, 7(1), 7–12. <https://doi.org/10.14710/ijred.7.1.7-12>
- Saric, L., Filipcevic, B., Simurina, O., Plavsic, D., Saric, B., Lazarevic, J., & Milovanovic, I. (2016). Sugar beet molasses: Properties and applications in osmotic dehydration of fruits and vegetables. *Food and Feed Research*, 43(2), 135–144. <https://doi.org/10.5937/ffr1602135s>
- Sarirchi, S., & Rowshanzamir, S. (2017). An Overview of Organic/Inorganic Membranes Based on Sulfonated Poly Ether Ether Ketone for Application in Proton Exchange Membrane Fuel Cells. *Jree*, 4(1), 46–60.
- Sarmin, S., Tarek, M., Roopan, S. M., Cheng, C. K., & Rahman Khan, M. M. (2021).

- Significant improvement of power generation through effective substrate-inoculum interaction mechanism in microbial fuel cell. *Journal of Power Sources*, 484(June 2020), 229285. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2020.229285>
- Sayed, E. T., Tsujiguchi, T., & Nakagawa, N. (2012). Catalytic activity of baker's yeast in a mediatorless microbial fuel cell. *Bioelectrochemistry*, 86, 97–101. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2012.02.001>
- Senthilkumar, S., Suganya, T., Deepa, K., Muralidharan, J., & Sasikala, K. (2016). *Supplementation of Molasses in Livestock Feed*. 5(3), 1243–1250.
- Singh, K., & Dharmendra. (2020). Microbial fuel cell: An emerging technology for wastewater treatment and energy generation. *Journal of Environmental Treatment Techniques*, 8(3), 915–924.
- Sjölin, M., Thuvander, J., Wallberg, O., & Lipnizki, F. (2020). Purification of sucrose in sugar beet molasses by utilizing ceramic nanofiltration and ultrafiltration membranes. *Membranes*, 10(1). <https://doi.org/10.3390/membranes10010005>
- Sulistiyawati, I., Rahayu, N. L., & Purwitaningrum, F. S. (2020). Produksi Biolistrik menggunakan Microbial Fuel Cell (MFC) *Lactobacillus bulgaricus* dengan Substrat Limbah Tempe dan Tahu. *Biosfera: A Scientific Journal*, 37(2), 112–117. <https://doi.org/10.20884/1.mib.2020.37.2.1147>
- Sun, J. Z., Kingori, G. P., Si, R. W., Zhai, D. D., Liao, Z. H., Sun, D. Z., Zheng, T., & Yong, Y. C. (2015). Microbial fuel cell-based biosensors for environmental monitoring: A review. *Water Science and Technology*, 71(6), 801–809. <https://doi.org/10.2166/wst.2015.035>
- Tardy, G. M., Lóránt, B., Gyalai-Korpos, M., Bakos, V., Simpson, D., & Goryanin, I. (2021). Microbial fuel cell biosensor for the determination of biochemical oxygen demand of wastewater samples containing readily and slowly biodegradable organics. *Biotechnology Letters*, 43(2), 445–454. <https://doi.org/10.1007/s10529-020-03050-5>
- Utami, L., Lazulva, L., & Fatisa, Y. (2020). Electricity Production From Peat Water Uses Microbial Fuel Cells Technology. *Indonesian Journal of Chemical Science and Technology (IJCST)*, 2(1), 55. <https://doi.org/10.24114/ijcst.v2i1.12371>
- Yang, R. (2017). Production of Ethanol from Sudanese Sugar Cane Molasses and Evaluation of Its Quality. *Journal of Food Processing & Technology*, 03(07). <https://doi.org/10.4172/2157-7110.1000163>
- Yuan, J., Liu, S., Jia, L., Ji, A., & Chatterjee, S. G. (2020). Co-Generation System of Bioethanol and Electricity with Microbial Fuel Cell Technology. *Energy and Fuels*, 34(5), 6414–6422. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.0c00749>
- Zhong, C., Zhang, B., Kong, L., Xue, A., & Ni, J. (2011). Electricity generation from molasses wastewater by an anaerobic baffled stacking microbial fuel cell. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 86(3), 406–413. <https://doi.org/10.1002/jctb.2531>