

# Pengaruh Variasi Mikroorganisme dan Pelarut Dalam Produksi Etanol dari Nira Tebu (*Sachharum officinarum*) dengan Proses Fermentasi Ekstraktif

Yusfa Anugrah Baihaki, Rana Rahdiana, Tri Widjaja

Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS),

Jl. Arief Rahman Hakim, Surabaya, 60111 Indonesia

Phone :031-5940374, Fax :031-5999282

email : kajur\_tkimia@its.ac.id

**Abstrak**—Kebutuhan energi dari bahan bakar minyak bumi (BBM) didunia semakin tahun mengalami peningkatan tajam. Salah satu energi alternatif yang didorong pemerintah Indonesia adalah dengan memproduksi bioetanol. Salah satu bahan yang sangat berpotensi sebagai bahan baku utama dalam pembuatan bioetanol adalah nira batang tebu. Upaya peningkatan produktivitas etanol dilakukan secara kontinyu dikarenakan pada fermentasi konvensional terdapat kendala pada produktivitas dan konsentrasi etanol yang rendah. Untuk itu perlu dilakukan penelitian untuk produksi etanol dengan keunggulan keterpaduan proses dan rendah energi yang selanjutnya dapat dijadikan sebagai dasar desain untuk rancang bangun skala industri kecil. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui performa terbaik dari variasi mikroorganisme dan pelarut yang digunakan dalam memproduksi etanol dengan proses fermentasi ekstraktif dan untuk mengetahui karakteristik kinerja sistem fermentasi kontinyu dalam bioreaktor packed bed dengan variasi mikroorganisme. Dalam penelitian ini digunakan macam variasi mikroorganisme *Zymomonas mobilis* A3 termutasi dan campuran *Saccharomyces cerevisiae* dan *Pichia stipitis* dengan sistem tanpa recycle dan pelarut n-Amyl Alkohol. Dari penelitian yang telah dilakukan diperoleh kesimpulan bahwa proses fermentasi kontinyu dan ekstraksi tanpa recycle menggunakan *Zymomonas mobilis* A3 dan pelarut n-Amyl Alkohol memberikan hasil produktivitas dan yield yang terbaik, yaitu sebesar 133,417 g/l.jam dan 35,049%.

**Kata Kunci**—Etanol, fermentasi ekstraktif, immobilisasi sel, nira tebu, *Zymomonas mobilis*.

## I. PENDAHULUAN

**K**EBUTUHAN energi dari bahan bakar minyak bumi (BBM) berbasis fosil seperti solar, bensin dan minyak tanah di berbagai negara di dunia dalam tahun terakhir ini mengalami peningkatan tajam. Sedangkan ketersediaan cadangan sumber BBM semakin terbatas. Seperti diketahui bersama, produksi minyak di Indonesia saat ini per tahunnya sebesar 55 juta ton, dimana produksi ini diperkirakan hanya dapat mencukupi kebutuhan BBM di Indonesia selama 10 tahun kedepan. Dari sumber lain juga disebutkan jika kebutuhan energi akan meningkat 3,6% pada tahun 2030. Di samping itu, tingkat pencemaran udara dari gas buang hasil pembakaran bahan bakar fosil

yang semakin memprihatinkan dan patut memperoleh penanganan.

Proses fermentasi dilakukan terpadu dengan proses ekstraksi yang diharapkan mampu mengurangi beban energi saat melakukan proses distilasi. Untuk melakukan proses ekstraksi perlu digunakan pelarut yang baik dalam purifikasinya. Alkohol adalah salah satu kelas solven yang lebih baik. Pemilihan pelarut pada proses ekstraksi etanol dari *broth* sintesis dan *broth* fermentasi dengan menggunakan pelarut n-amyl alkohol, 1-dodekanol, dan 1-oktanol pada *packed column* ekstraktor menunjukkan hasil bahwa performa solven untuk ekstraksi yang paling baik adalah pelarut n-amyl alkohol [1].

Ada beberapa karakteristik mikroorganisme yang digunakan untuk fermentasi antara lain mempunyai kemampuan tumbuh dan berkembang biak dengan cepat dalam substrat yang sesuai, dapat menghasilkan enzim dengan cepat untuk mengubah glukosa menjadi alkohol, mempunyai daya fermentasi yang tinggi terhadap glukosa, fruktosa, galaktosa dan maltosa, mempunyai daya tahan dalam lingkungan di kadar alkohol yang relatif tinggi, serta tahan terhadap mikroba lain. Dalam proses fermentasi untuk menghasilkan etanol salah satunya dapat memakai ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*) [2] dan *Zymomonas mobilis* adalah kandidat mikroorganisme yang terbaik untuk industri alkohol [3].

Penelitian ini mengenai proses fermentasi-ekstraktif yang dilakukan secara kontinyu dan terpadu dalam reaktor *packed bed* (fermentor) menggunakan teknik imobilisasi sel pada  $\kappa$ -karaginan sebagai *supporting matrice*, dengan bahan baku nira tebu.

## II. METODE PENELITIAN

### Bahan

Bahan nira tebu yang digunakan adalah nira tebu hijau. Nira ini didapatkan dari pusat pemerasan nira tebu di daerah dekat Suramadu. Untuk bakteri *Zymomonas mobilis* A3 dan yeast campuran *Saccharomyces cerevisiae* dan *Pichia stipitis* sudah terdapat di Laboratorium Teknologi Biokimia, Jurusan Teknik Kimia FTI-ITS

### Peralatan

Peralatan yang digunakan adalah *Packed Bed* Bioreaktor, Pompa Peristaltik, Spektrophotometer, *Gas Chromatography*, Inkubator Shaker, *Autoclave*, Analytical Balance, Hot Plate stirer, Erlenmeyer, *Beaker Glass*, Gelas Ukur, Kawat Ose, Corong Pemisah, Labu Ukur, dan Kolom Ekstaraktor.

### Kondisi Operasi

Kondisi operasi dan dimensi peralatan penelitian yang digunakan adalah seperti tabel berikut:

Tabel 1.

Kondisi Operasi dan Dimensi Peralatan Penelitian

Keterangan	Kondisi Operasi
Proses	Fermentasi kontinyu
Konsentrasi Glukosa	152,3284028 g/L
pH	(15%)
Suhu	4 (suhu ruangan)
<i>Carrier</i> immobilisasi	$\kappa$ -karaginan
Berat <i>bead</i>	250 gram
Konsentrasi $\kappa$ -karaginan	3%
Laju alir <i>feed</i>	10 mL/menit
Laju alir pelarut	20 mL/menit
<i>Dillution rate</i>	2,45 jam <sup>-1</sup>
<i>Recycle ratio</i>	tanpa <i>recycle</i>
Periode pengambilan <i>sample</i>	6 jam selama 90 jam
<i>Fermentor</i>	
Tipe reaktor	<i>Packed bed</i>
Volume <i>liquid</i> dalam reaktor	245 mL
Volume <i>bead</i> dalam reaktor	314 mL
Tinggi Reaktor	52 cm
Diameter Reaktor	3,7 cm
<i>Kolom Ekstraksi</i>	
Tinggi kolom	45 cm
Diameter	3,2 cm
Diameter <i>Packing</i>	2,5 cm
Tinggi <i>Packing</i> dalam kolom	35 cm

### Cara Kerja

#### *Pre-treatment Nira Tebu*

Pretreatment nira siwalan dilakukan dengan jalan memanaskan nira pada suhu 80°C selama 20 menit, kemudian mendinginkannya hingga suhu ruangan. Kemudian disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C dan tekanan 15 psia selama 15 menit, kemudian mendinginkannya hingga suhu ruangan. Lalu menambahkan 5,19 g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1,53 g, MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 0.55 gram sebagai media nutrisi [4].

#### *Pengembangan Kultur*

Untuk membiakkan campuran *Saccharomyces cerevisiae* dan *Pichia stipitis* langkah pertama yang perlu disiapkan adalah nira siwalan sebanyak 100 mL dalam erlenmeyer lalu dipanaskan hingga suhunya 80°C selama 10 menit lalu mendinginkan hingga suhunya 30°C. Lalu

nira siwalan ditambah dengan media nutrisi (1 g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1 g, MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 0.5 gram, *yeast* ekstrak 10 gram) [7]. Sebanyak 3 gram fermipan ditimbang di neraca analitik kemudian dimasukkan ke dalam 100 mL nira siwalan. Setelah nira siwalan dan fermipan tercampur, erlemeyer tersebut diinkubasi dalam incubator shaker pada suhu 36°C selama 15 jam. Sedangkan untuk *Zymomonas mobilis* termutasi dilakukan dengan jalan menggoreskannya secara zig-zag pada media PDA (*Potato Dextrose Agar*) yang miring pada tabung reaksi. Kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 35°C.

#### *Pembuatan Starter dan Immobilisasi Sel*

Sebelum proses fermentasi dan ekstraksi dilakukan, *starter* pelu dibuat dan sel diimmobilisasikan terlebih dahulu. Langkah yang dilakukan ialah mengambil biakan *Zymomonas mobilis* termutasi dengan kawat ose steril pada biakan agar miring yang telah diinokulasikan. Menanamkan biakan tersebut sebanyak 5 ose ke dalam 100 mL nira ditambah media nutrisi (1 g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1 g, MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 0.5 gram, *yeast* ekstrak 10 gram). Proses ini disebut pembuatan *starter*. Kemudian membiakkan dalam inkubator *shaker* pada suhu 30°C selama 15 jam. Melarutkan 10 gram karaginan dalam 450 mL *aquadest*, kemudian memanaskannya pada suhu 70°C sampai mulai terbentuk gel (pemanasan selama 15 menit). Mendinginkan larutan Karaginan hingga suhu 50°C. Mencampur 50 ml *starter* dengan 450 ml larutan karaginan sehingga konsentrasi larutan campuran menjadi 2%.50 mL larutan campuran tersebut dicetak dalam 1000 mL larutan KCl 3,5%, hingga terbentuk *bead* yang diinginkan. *Bead* tersebut mengeras dalam waktu 15 menit. Mencuci *bead* dengan larutan NaCl 0,85%. Untuk meningkatkan pertumbuhan sel, *bead* dimasukkan dalam *production medium* (nira untuk *feed*) kemudian diinkubasi di dalam inkubator *shaker* selama 24 jam. *Bead* disimpan pada temperatur 4°C sampai sel digunakan.

#### *Proses Fermentasi Ekstraktif*

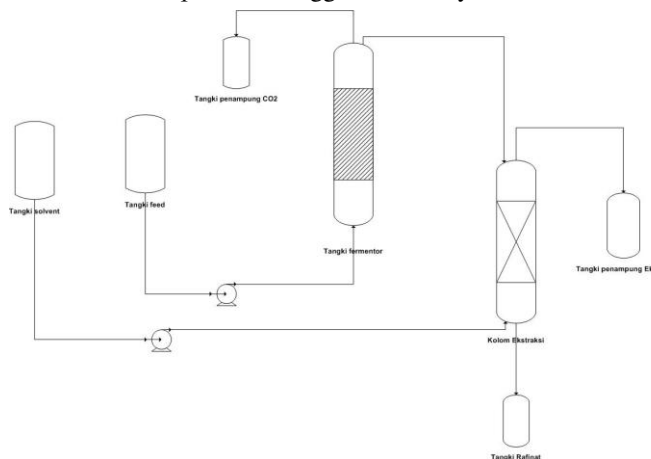
Pertama kali yang dilakukan ialah *bead* immobilisasi sel dimasukkan dalam fermentor. Nira steril dialirkan dengan pompa peristaltik ke dalam fermentor (bioreaktor *packed bed*), dan aliran keluar dari fermentor dialirkan ke ekstraktor. Mengalirkan *n-amyl alcohol* yang digunakan sebagai pelarut ke dalam *packed column* secara *counter-current*. Rafinat dari kolom ekstaktor ditampung lalu dialirkan ke ekstraktor. Mengambil *sample* hasil fermentasi (*broth*), ekstrak, dan rafinat sebagai sampel setiap 6 jam selama 90 jam. Menganalisa kadar glukosa sisa pada *sample (broth)* dengan metode DNS. Menganalisa kadar etanol hasil ekstrak dengan metode GC.

### III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui performa terbaik dari varias imikroorganisme dan pelarut yang digunakan dalam memproduksi etanol dengan proses fermentasi ekstraktif dan untuk mengetahui karakteristik kinerja sistem fermentasi kontinyu dalam bioreaktor *packed bed* dengan variasi mikroorganisme. Dalam hal ini, variasi mikroorganisme yang digunakan adalah

*Zymomonas mobilis* termutasi A3 dan campuran *Saccharomyces cerevisiae* dan *Pichia stipitis*. Proses fermentasi yang digunakan adalah fermentasi kontinu dan ekstraksi secara terintegrasi dengan immobilisasi sel. Immobilisasi merupakan metode penjebakan (entrapment) dalam matriks berpori yaitu  $\kappa$ -karaginan.

Percobaan fermentasi kontinu diawali dengan *set up* alat fermentor yang kemudian sel yang diimmobilisasi dimasukkan ke dalam kolom fermentor tersebut. Sebelum percobaan dilakukan, terlebih dahulu dilakukan pengukuran kadar glukosa dalam nira tebu dengan menggunakan metode DNS (asam 3,5-dinitrosalisilat) dan didapatkan kadar glukosa sebesar g/L. Untuk memperoleh kadar glukosa pada *feed* sebesar 15% nira siwalan ditambahkan *aquadest* hingga volumenya 1 liter. *Feed*



Gambar 1. Set-Up Peralatan Fermentasi-Ekstraktif Kontinu Terpadu dalam Reactor Packed-Bed Tanpa Recycle

yang sudah steril kemudian diumpungkan melalui bagian bawah fermentor secara kontinu.

Larutan effluent overflow dari titik keluaran di bagian atas bioreaktor Packed bed. Untuk mencegah agar bead tidak terikut keluar, bead ditahan dengan kawat jaring penahan dengan diameter yang kecil di bagian atas fermentor dan bagian bawah fermentor juga diberi kawat jaring penyangga agar penyaring tidak bergeser. Broth dari fermentor diambil setiap 6 jam selama 90 jam. Setelah 90 jam, broth dialirkan ke dalam kolom ekstraksi dan dibiarkan untuk memenuhi  $\frac{3}{4}$  dari kolom. Selanjutnya broth dalam kolom ekstraksi dikontakkan dengan solven yang dialirkan secara countercurrent. Solven yang digunakan dalam penelitian ini adalah N -amyl alcohol dengan rate 20 mL/menit. N - amyl alcohol merupakan alkohol dengan jumlah atom C5, dimana alkohol dengan atom C1-C10 dapat bersifat toksik terhadap mikroorganisme fermentasi [6]. Namun n-amyl alcohol tetap digunakan sebagai pelarut dalam proses ekstraksi ini sebab dapat melakukan proses purifikasi etanol hasil fermentasi dengan lebih baik dibandingkan solven yang lain [3].

#### Pengaruh Jenis Mikroorganisme terhadap Yield dan Produktivitas Etanol yang Dihasilkan

Berdasarkan hasil penelitian terdapat selisih yang cukup jauh baik untuk *yield* dan produktivitas etanol yang dihasilkan oleh *Z.mobilis* dan campuran *S.cerevisiae* dan *P.stipitis*. Selain karena kelebihan dari *Z.mobilis* yang telah dijelaskan pada poin sebelumnya, faktor kondisi operasi

saat fermentasi juga menjadi salah satu penyebabnya. Berdasarkan penelitian Arroyo-Lopez et al [8] mengenai efek suhu, pH dan konsentrasi gula terhadap parameter pertumbuhan *Sachharomyces cerevisiae* disebutkan bahwa pH optimum pertumbuhan dari *yeast* ini adalah 4,6. Sedangkan pada kondisi operasi penelitian ini, pH yang digunakan adalah 4. Karena sifat tidak tahan asam dari *Sachharomycess cerevisiae* ini yang menyebabkan produktivitas dan *yield* yang dihasilkan dari campuran *Saccharomyces cerevisiae* dan *Pichia stipitis* ini tergolong rendah jika dibandingkan dengan *Zymomonas mobilis*.

#### IV. KESIMPULAN

Kesimpulan penelitian ini adalah proses fermentasi kontinu dengan ekstraksi secara terintegrasi dengan konsentrasasi awal substrat 15% menggunakan *Zymomonas mobilis* termutasi A3 dengan pelarut *N-amyl alcohol* memberikan *yield* dan produktivitas yang lebih baik jika dibandingkan dengan campuran *Saccharomyces cerevisiae* dan *Pichia stipitis* yaitu masing-masing sebesar 35,049% dan 133,417 gram/L.jam.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis Y.A.B dan R.R mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia yang telah memberikan dukungan finansial melalui Dana Hibah Penelitian tahun 2013-2014.

#### DAFTAR PUSTAKA

- [1] Widjaja, T., Altway, A., Purwantiningsih, I., Praba, A., 2012. Liquid-liquid Extraction to Separate Ethanol from Synthetic Broth Using n-Amyl Alcohol and 1-Dodecanol as Solvent in Packed Column. International Review of Chemical Engineering (I.R.E.C.H.E.). Vol. 4. N.6
- [2] Barros, M.R.A., J.M.S Cabra dan J.M.Novais, 1986, *Production Ethanol by Immobilized Saccharomyces Bayesian in an extractive Fermentation System*, Biotechnology and Bioengineering Vol XXIX hal 1097-1104.
- [3] Gunasekaran, P. dan Raj, K.C. 1999. *Fermentation Technology-Zymomonasmobilis*, Departemen of Microbial Technology, School of Biological Sciences, Manduraj Kamaraj University: India.
- [4] Cazetta, M.L., Celligoi, M.A.P.C., Buzato, J.B., dan Scarmino, I.S. 2007. *Fermentation of Molasses by Zymomonas mobilis : Effects of Temperature and Sugar Concentration on Ethanol Production*, Science Direct Elsevier, Bioresource Technology 98, 2824-2828.
- [5] Goksungur, Y. dan Zorlu, N. 2000. Production of Ethanol From Beet Molasses by Ca-Alginate Immobilized Yeast Cells in a Packed-Bed Bioreactor, Turk J Biol, 25, 265-275.
- [6] Offemen, D., Richard, K. Stephenson, Serena, Franqui, Diana, L.Cline, Jessica. 2008. *Extraction of ethanol with higher alcohol aolvents and their toxicity to Yeast*, New York: Elsevier Scientific Publishing Company, Asterdam-Oxford.
- [7] Goksungur, Y. dan Zorlu, N. 2000. Production of Ethanol From Beet Molasses by Ca-Alginate Immobilized Yeast Cells in a Packed-Bed Bioreactor, Turk J Biol, 25, 265-275.
- [8] Noe Arroyo-Lopez, F., Orlic, S., Querol, A., Barrio, E. 2009. *Effects of temperature, pH and sugar concentration of the growth parameters of Saccharomyces cerevisiae, S. kudriavzevii and their interspecific hybrid*, Science Direct Elsevier, International Journal of Food Microbiology 131, 120-127.