

BAB I

PENDAHULUAN

I.1. LATAR BELAKANG

Jumlah pengguna alat transportasi semakin meningkat dengan meningkatnya jumlah penduduk. Indonesia dengan jumlah penduduk mencapai lebih dari 200 juta jiwa membutuhkan bahan bakar transportasi dalam bentuk premium dan solar dalam jumlah yang besar. Saat ini sumber utama bahan bakar transportasi berasal dari minyak bumi. Produksi premium di Indonesia sekitar 62 juta barrel dan produksi solar sekitar 87 juta barrel. Produk tersebut belum termasuk penggunaan untuk kebutuhan lain, misal minyak pelumas, kerosen, avgas, serta bahan-bahan lain. Hal ini sangat mengkhawatirkan mengingat cadangan minyak bumi yang semakin menipis. Salah satu energi alternatif untuk bahan bakar transportasi adalah bioetanol sebagai pengganti bensin dan biodiesel sebagai pengganti solar (BPS dalam anonim 2005).

Etanol merupakan salah satu sumber energi alternatif yang mempunyai beberapa kelebihan, diantaranya sifat etanol yang dapat diperbarui dan ramah lingkungan karena emisi karbondioksida rendah (Jeon, 2007). Etanol dapat digunakan sebagai bahan campuran bensin (gasolin) yang kemudian dinamakan gasohol, dan juga dapat digunakan secara langsung sebagai bahan bakar (McKetta, 1983). Di Indonesia produksi etanol semakin meningkat. Pabrik pembuat etanol pun semakin berkembang. Salah satunya adalah pendirian PT MEDCO ethanol di Lampung yang mempunyai kapasitas produksi 180.000 kiloliter/hari. Indonesia juga tercatat sebagai negara pengekspor etanol. Data BPS tahun 2006 menunjukkan besarnya ekspor etanol sebesar 25.590 ton (BPS dalam anonim, 2007).

Pembuatan etanol dapat dilakukan dengan hidrasi etilen dan fermentasi (Kirk, 1951). Proses hidrasi etilen tidak cocok dikembangkan di Indonesia karena cadangan minyak bumi yang semakin sedikit. Sebaliknya, proses fermentasi sangat mungkin untuk dikembangkan di Indonesia. Etanol dapat diproduksi dengan cara fermentasi bahan mentah mono/disakarida (gula tebu, tetes tebu), bahan berpati (jagung, padi, umbi), dan bahan berselulosa (kayu, limbah pertanian) (Bailey, 1986). Dengan potensi yang sangat besar sebagai negara agraris, pengembangan etanol secara fermentasi di Indonesia sangat mungkin dilakukan.

Proses fermentasi etanol dapat dilakukan secara curah/batch maupun secara sinambung/kontinyu. Proses batch dilakukan dengan cara yang sederhana sehingga produktivitasnya rendah, membutuhkan waktu yang lama, dan biaya buruh tinggi (Bohnet, 2003). Hal tersebut berbeda dengan fermentasi secara kontinyu yang mempunyai produktivitas tinggi dan kebutuhan biaya buruh rendah. Produktivitas etanol dengan proses kontinyu adalah sekitar tiga kali proses batch. Oleh karena itu, untuk hasil yang sama dibutuhkan reaktor batch sebanyak tiga kali lipat reaktor kontinyu (Bohnet, 2003). Penelitian terdahulu dengan bahan dan yeast yang sama menunjukkan perbedaan produktivitas antara proses batch dan kontinyu. Kadar gula awal sama yaitu 10% (v/v), percobaan batch menghasilkan produktivitas etanol sebesar 1,8 gram/ljam dengan yield produk 23,67%. Pada percobaan kontinyu didapat nilai produktivitas sebesar 30,09 gram/ljam dengan yield produk sebesar 49,22% (Widjaja, 2007).

Masalah yang sering timbul pada proses fermentasi adalah terjadinya inhibisi produk etanol. Selain itu, produk etanol akan berpengaruh terhadap pertumbuhan yeast, misalnya etanol akan merusak membran plasma, denaturasi protein, dan terjadinya perubahan profil suhu pertumbuhan (Galeote, 2001). Hal-hal tersebut dapat menghambat pertumbuhan atau mematikan mikroba sehingga akan menurunkan produktivitas. Pada konsentrasi alkohol 15% mikroba tidak dapat tumbuh (Bulawayo, 1996). Persoalan ini dapat diatasi dengan pengambilan produk etanol yang terbentuk dari substrat fermentasi. Pengambilan produk etanol harus dilakukan pada kondisi yang tidak mengganggu pertumbuhan mikroba. Salah satu metode yang dapat digunakan adalah dengan fermentasi vakum (fermentor dikondisikan pada tekanan di bawah 1 atmosfer). Pada kondisi tersebut, etanol dan air akan menguap pada suhu yang sesuai dengan kondisi hidup mikroba (Bohnet, 2003). Adanya penguapan yang terus-menerus menyebabkan kadar etanol dalam fermentor stabil dan tidak mengganggu pertumbuhan mikroba.

I.2. PERUMUSAN MASALAH

Etanol dapat diproduksi dengan cara fermentasi dari bahan gula baik mono/disakarida, bahan berpati, serta bahan berselulosa. Bahan-bahan tersebut banyak tersedia di Indonesia. Oleh karena itu, produksi etanol sangat mungkin dikembangkan. Salah satu masalah yang sering mengganggu dalam proses fermentasi ini adalah terjadinya inhibisi produk etanol. Masalah ini dapat diatasi dengan cara mengambil produk etanol yang terbentuk dari sistem produksi, dalam hal ini adalah

bioreaktor/fermentor baik yang beroperasi secara batch maupun kontinyu. Pengambilan produk etanol dapat dilakukan dengan cara menguapkannya melalui penurunan tekanan operasi sistem. Dengan turunnya tekanan maka titik didih etanol akan turun dan lebih mudah menguap sehingga akan terpisah dari substrat fermentasi.

I.3. TUJUAN PENELITIAN

Tujuan dari penelitian ini adalah:

- a. Mempelajari pengaruh tekanan terhadap perolehan produk etanol.
- b. Mempelajari pengaruh peningkatan konsentrasi substrat terhadap produksi dan perolehan sel.

I.4. MANFAAT PENELITIAN

Manfaat dari penelitian ini adalah:

- a. Mengetahui pengaruh konsentrasi gula terhadap produktivitas fermentasi etanol.
- b. Penerapan proses kontinyu dalam produksi etanol secara fermentasi.
- c. Penerapan teknologi vakum dalam produksi etanol secara fermentasi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1. ETANOL

Etanol atau etil alkohol (C_2H_5OH) merupakan bahan kimia organik yang mengandung oksigen yang paling eksotik karena kombinasi sifat-sifat uniknya yang dapat digunakan sebagai pelarut, germisida, minuman, bahan anti beku, bahan bakar, bahan *depressant* dan khususnya karena kemampuannya sebagai bahan kimia intermediet untuk menghasilkan bahan kimia yang lain.

Etanol merupakan nama IUPAC dari bahan kimia ini. Selain itu, nama etil alkohol juga lazim digunakan. Nama alkohol nama umum yang berasal dari bahasa arab dan merupakan gabungan dari dua kata yaitu *al* dan *kohl* yang didefinisikan sebagai debu lembut yang digunakan oleh wanita Asia untuk menggelapkan alis mata.

Etanol merupakan senyawa penyusun minuman beralkohol. Sebagai minuman beralkohol, etanol telah dikenal sejak dahulu oleh raja-raja Mesir. Sebagai bukti adalah fakta tentang Nabi Nuh yang dipercaya telah berkebon anggur yang dapat difermentasi menjadi minuman beralkohol (Kirk, 1951).

Pada kondisi standar/atmosferik, etanol merupakan cairan volatil yang mudah terbakar, jernih dan tidak berwarna, aromanya menyegarkan, mudah dikenali dan berkarakter khas. Cairan ini juga mudah larut dalam air.

Sifat fisik dan kimia etanol tergantung pada gugus hidroksilnya. Gugus ini menyebabkan polaritas molekul dan menyebabkan ikatan hidrogen antarmolekul. Kedua sifat tersebut menyebabkan perbedaan sifat fisik alkohol berat molekul rendah dengan senyawa hidrokarbon yang mempunyai berat molekul ekuivalen. Spektrografi infra merah menunjukkan bahwa dalam keadaan cair ikatan hidrogen terbentuk karena tarik-menarik antara atom hidrogen pada gugus hidroksil molekul satu dengan atom hidrogen pada gugus hidroksil molekul yang kedua. Sifat tersebut dapat dianalogikan seperti sifat air, walaupun ikatan pada air lebih kuat sehingga membentuk gugusan yang lebih dari dua molekul. Ikatan hidrogen pada etanol terjadi pada fase cair, sedang pada fase gas senyawa ini bersifat monomerik. Secara detail, sifat-sifat fisik etanol dapat dilihat dalam Tabel 1.

Tabel 1. Sifat Fisik Etanol

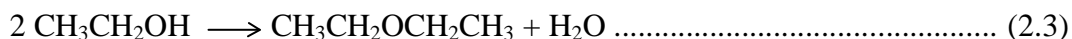
Keterangan	Nilai
Titik didih normal, °C, 1 atm	+78,32
Suhu kritis, °C	243,1
Tekanan kritis, kPa	6383,48
Volume kritis, L/mol	0,167
Densitas, d_4^{20} , g/ml	0,7893
Viskositas pada 20 °C, mPa.s (=cP)	1,17
Kelarutan dalam air pada 20 °C	Saling larut
Autoignition temperature, °C	793,0
Titik nyala, °C	14

Sumber: Kirk, 1951

Sifat kimia dari etanol pada umumnya berkaitan dengan gugus hidroksilnya. Contoh dari sifat kimia tersebut adalah terjadinya reaksi kimia diantaranya: reaksi dehidrasi, dehidrogenasi, oksidasi, dan esterifikasi. Atom hidrogen pada gugus hidroksil dapat diganti dengan logam aktif seperti natrium, kalium, dan kalsium membentuk etoksida logam (ethylate) dengan melepaskan gas hidrogen (Kirk, 1951).

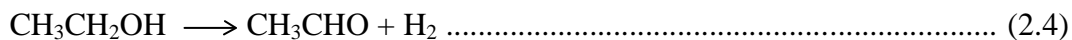


Reaksi dehidrasi. Etanol dapat didehidrasi membentuk etilen atau etil eter.

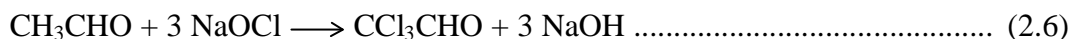


Umumnya, etilen dan etil eter dibentuk sampai beberapa tingkat, tetapi kondisinya dapat diubah untuk menyokong salah satu reaksi atau reaksi lainnya.

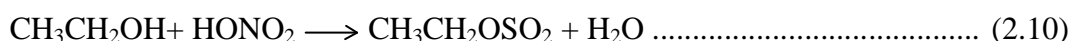
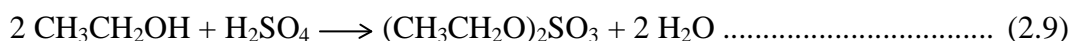
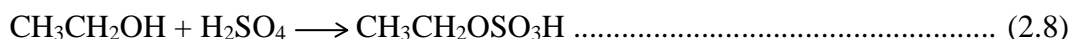
Reaksi dehidrogenasi. Reaksi dehidrogenasi etanol menjadi acetaldehyde dapat dipengaruhi oleh reaksi fase uap pada berbagai macam katalis.



Reaksi haloform. Etanol bereaksi dengan natrium hipoklorit membentuk kloroform.



Reaksi esterifikasi. Ester terbentuk dari reaksi antara etanol dengan asam organik maupun anorganik, asam anhidrit dan asam halida. Jika asam anorganik dioksidasi (asam sulfat, asam nitrat), ester akan mempunyai ikatan karbon-oksigen yang mudah dihidrolisa.



Ester organik dibentuk dengan eliminasi air antara alkohol dan asam organik.



Produksi etanol sebagai bahan bakar banyak dipakai sebelum Perang Dunia II. Pada saat itu etanol diproduksi dari bahan pertanian secara fermentasi. Namun, setelah tahun 1945 terjadi perkembangan dalam teknologi pemrosesan petroleum sehingga harga petroleum menjadi relatif murah. Hal ini kemudian menggantikan produk-produk turunan fermentasi termasuk etanol dan produk-produk oxochemical sederhana seperti aceton, butanol, asam asetat, dan lain-lain.

Harga petroleum yang semakin naik menyebabkan orang mulai melirik kembali proses fermentasi etanol sebagai bahan bakar. Etanol mempunyai empat karakteristik yang sesuai sebagai bahan bakar yaitu: bentuknya cairan sehingga mudah bergerak, nilai kalor 2/3 nilai kalor gasolin, dapat dicampurkan sampai 10% pada bensin untuk meningkatkan angka oktan, dan dapat meningkatkan angka oktan bensin tanpa timbal. Oleh karena itu, di beberapa negara, etanol digunakan sebagai bahan bakar pengganti minyak impor (Bailey, 1986).

Selain sebagai bahan bakar, etanol banyak digunakan pada minuman, kosmetik, kesehatan, solvent, serta sebagai bahan baku industri (McKetta, 1983). Etanol terkandung dalam minuman dengan kadar yang berbeda-beda. Contoh minuman yang mengandung etanol antara lain bir, anggur (*wine*), arak, sake, dan lain-lain. Di bidang kesehatan, etanol banyak dimanfaatkan sebagai zat antiseptik, dan di bidang kecantikan etanol banyak digunakan dalam pembuatan parfumes. Kebanyakan parfume menggunakan pelarut etanol karena aromanya yang sedap. Selain itu, etanol juga banyak digunakan sebagai solvent. Nama-nama ethanolic solvent yang dikenal diantaranya synasol, shellacol, quakersol, tecsol, jaysol, pacosol, neosol, solox, anhydrol, paco, filmcol, filmex, dan sebagainya. Etanol juga merupakan bahan yang dapat digunakan sebagai bahan baku reaksi kimia. Produk yang dihasilkan misalnya acetaldehyde dan vinegar.

II.2. PEMBUATAN ETANOL

Salah satu metode pembuatan etanol yang paling terkenal adalah fermentasi. Bahan baku untuk proses fermentasi berupa bahan mentah seperti mono/disakarida (gula tebu, tetes tebu), bahan berpati (padi, jagung, umbi, dll), dan bahan selulosa (kayu, limbah pertanian). Ragi yang dapat digunakan dalam proses fermentasi etanol adalah *Saccharomyces cerivisiae*, *Saccharomyces uvarum* (tadinya *Saccharomyces carlsbergensis*), *Candida utilis*, *Saccharomyces anamensis*, *Schizosaccharomyces pombe*. Proses fermentasi dapat dijalankan secara batch maupun kontinyu. Fermentasi secara batch membutuhkan waktu sekitar 50 jam, pH awal 4,5 dan suhu 20-30 °C untuk menghasilkan yield etanol 90% dari nilai gula teoritis. Hasil akhir etanol sekitar 10-16% v/v (Bailey, 1986).

Secara teoritik tiap molekul glukosa akan menghasilkan 2 mol etanol dan 2 mol karbondioksida, dan melepaskan energi. Nutrien diperlukan dalam pertumbuhan ragi. Nutrien yang ditambahkan adalah karbon, nitrogen, fosfor, dan belerang, sedangkan nutrien dalam jumlah kecil yaitu kalium, magnesium, kalsium, mineral, dan senyawa-senyawa organik seperti vitamin, asam nukleat, dan asam amino. Temperatur operasi yang digunakan tergantung pada jenis ragi, umumnya adalah 30-40 °C.

Pembuatan etanol dengan bahan baku tetes memerlukan tahap penyiapan terlebih dahulu. Hal ini meliputi sterilisasi dan penyiapan ragi. Etanol hasil proses fermentasi mempunyai konsentrasi sekitar 8-12% (berat). Ragi setelah digunakan dapat juga didaur-ulang atau langsung dibuang.

Fermentasi dilakukan dalam fermentor yang dapat berbentuk tangki berpengaduk secara sinambung atau menara. Proses fermentasi dilakukan dengan metode curah atau sinambung. Fermentasi pembuatan etanol merupakan proses metabolisme anaerob. Reaksi yang terjadi secara keseluruhan pada kondisi anaerob mengikuti persamaan Gay-Lussac berikut ini:



Setiap 1 gram glukosa menghasilkan 0,51 gram etanol. Hasil samping yang terbentuk antara lain: asetaldehid (sebagian kecil eter) dan minyak *fusel*, yang merupakan campuran senyawa alkohol tingkat tinggi dengan komposisi tergantung bahan baku. Contoh komposisi minyak *fusel* disajikan dalam Tabel 2. Laju produksi asetaldehid sekitar 1 liter setiap 1000 liter etanol, dan laju produksi minyak *fusel* 5 liter/1000 liter alkohol (Maiorella, 1985).

Tabel 2. Komposisi Rata-Rata Minyak *Fusel* (% massa)

Bahan baku \ Minyak <i>fusel</i>	1-Propanol	n-Butil alkohol	2-Metil-1-Propanol	2-Metil-1-Butanol	3-Metil-1-Butanol
Tetes	13,2	0,2-0,7	15,8	28,4	37,4
Sereal-gandum	9,1	0,2-0,7	19,0	20,0	51,2
Kentang	14,0	0,5	15,5	15,0	55,0
<i>Sulfite WasteLiquor</i>	7,0		22,0	113,0	55,0
Buah-buahan	8,0	2,0	19,0	14,0	57,0

Sumber: Kosaric, 1993

Kalor yang dilepaskan selama proses fermentasi (kalor reaksi) dapat diperkirakan dari data-data kalor pembentukan. Perhitungan kalor reaksi menggunakan persamaan di bawah ini:

$$\Delta H_{reaksi} = \Delta H_f^o \text{ produk} - \Delta H_f^o \text{ reaktan} \dots\dots\dots (2.13)$$

ΔH_f^o merupakan jumlah kalor pembentukan produk atau reaktan pada kondisi standar. Data kalor pembentukan untuk gas karbondioksida, etanol cair, dan glukosa berturut-turut adalah -393,51; -277,69; -1268 kJ/mol (Atkins, 1993). Dengan menggunakan persamaan 1 diperoleh harga kalor reaksi -74,4 kJ/mol. Harga ini untuk tiap mol glukosa yang diubah menjadi 2 mol etanol dan 2 mol gas karbondioksida.

Salah satu masalah yang dihadapi dalam proses produksi etanol secara fermentasi adalah terjadinya inhibisi produk etanol ke dalam sel yeast. Etanol adalah bahan kimia yang dapat memperlambat atau menghentikan pertumbuhan mikroorganisme atau disebut bakteriostatik. Pertumbuhan bakteri akan berjalan kembali jika bahan bakteriostatik tersebut diambil. Ada juga bahan kimia yang disebut bahan bakterisid, yaitu bahan yang dapat meniadakan kemampuan hidup mikroorganisme. Efek-efek tersebut tergantung pada konsentrasi bahan (Schlegel, 1994). Produk etanol yang terakumulasi dalam fermentor akan berpengaruh terhadap pertumbuhan yeast, misalnya etanol akan merusak membran plasma, denaturasi protein, dan terjadinya perubahan profil suhu pertumbuhan. Hal-hal tersebut dapat menghambat pertumbuhan atau mematikan mikroba sehingga akan menurunkan produktivitas. Pada konsentrasi alkohol 15% mikroba tidak dapat tumbuh (Bulawayo, 1996). Hal tersebut mendasari penggunaan teknologi untuk pengambilan etanol dari sistem fermentasi agar tidak mengganggu pertumbuhan ragi (Bailey, 1986).

II.3. FERMENTASI ETANOL SECARA BATCH DAN KONTINYU

Proses fermentasi, secara konvensional dijalankan dengan proses batch. Pada proses batch, substrat, nutrisi serta mikroba dicampurkan kemudian diinkubasikan selama waktu tertentu. Pada proses ini tidak dilakukan penambahan apapun baik substrat maupun nutrisi. Oleh karena itu semakin lama waktu produktivitas etanol semakin berkurang akibat berkurangnya nutrisi, substrat serta adanya akumulasi produk etanol yang dapat mengganggu pertumbuhan mikroba.

Proses fermentasi etanol dapat dijalankan secara kontinyu. Pada proses kontinyu ini akan didapat keuntungan teknis baru yang tidak dapat dicapai pada operasi batch seperti penggunaan ulang sel serta pemisahan fase pertumbuhan sel dan fase pembentukan produk fermentasi.

Pada percobaan batch tidak dilakukan penambahan nutrisi selama fermentasi. Oleh karena itu, pertumbuhan eksponensial hanya berlangsung selama beberapa generasi. Dengan sistem kontinyu populasi mikroba dapat dipertahankan dalam keadaan pertumbuhan eksponensial dalam waktu lama. Setelah pertumbuhan dimulai, medium segera dialirkan ke dalam tabung fermentasi secara perlahan-lahan, dimana volume dipertahankan konstan dengan cara mengalirkan keluar kelebihan volume dari tabung fermentasi. Jika medium segar dialirkan dengan kecepatan konstan ke dalam tabung fermentasi, maka setelah periode penyesuaian beberapa waktu tertentu densitas mikroba di dalam tabung fermentasi juga konstan.

Beberapa tipe operasi yang ada diantaranya single stage, semi kontinyu, modifikasi single stage, multiple stage, dan tipe pengendalian internal vs external.

Pada kontinyu single stage, operasi berjalan di bawah kondisi steady state pada satu tangki, nutrisi ditambahkan sedangkan sel dan produk secara simultan diambil. Operasi semi kontinyu merupakan modifikasi dari operasi single stage dan kadang-kadang multistage. Pada operasi semi kontinyu, umpan dan produk diambil secara berkala, tidak setiap saat. Modifikasi single stage ditujukan dalam pembuatan dengan penggunaan efektif medium dalam biosintesis produk daripada sel, dan tentunya proses ini dapat diaplikasikan ketika produk yang diinginkan adalah bahan kimia, bukan organisme.

Operasi fermentasi kontinyu tipe pengendalian internal vs external dibedakan menjadi dua tipe yaitu fermentasi kontinyu dengan pengendalian external dan fermentasi kontinyu dengan pengendalian internal. Fermentasi kontinyu dengan pengendalian external beroperasi pada laju pertumbuhan yang steady state dengan

konsentrasi nutrisi yang dibutuhkan dalam umpan rendah. Sedangkan fermentasi kontinu dengan pengendalian internal adalah kebalikannya, yang mengatur populasi organisme sehingga membatasi laju steady state (Umbreit, 1959).

II.4. FAKTOR-FAKTOR YANG MEMPENGARUHI PROSES FERMENTASI

Faktor-faktor yang mempengaruhi proses fermentasi untuk menghasilkan etanol adalah: sumber karbon, gas karbondioksida, pH substrat, nutrisi, temperatur, dan oksigen.

Untuk pertumbuhannya, yeast memerlukan energi yang berasal dari karbon. Gula adalah substrat yang lebih disukai. Oleh karenanya konsentrasi gula sangat mempengaruhi kuantitas alkohol yang dihasilkan.

Kandungan gas karbondioksida sebesar 15 gram per liter (kira-kira 7,2 atm) akan menyebabkan terhentinya pertumbuhan yeast, tetapi tidak menghentikan fermentasi alkohol. Pada tekanan lebih besar dari 30 atm, fermentasi alkohol baru terhenti sama sekali.

➤ pH

pH dari media sangat mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme. Setiap mikroorganisme mempunyai pH minimal, maksimal, dan optimal untuk pertumbuhannya. Untuk yeast, pH optimal untuk pertumbuhannya ialah berkisar antara 4,0 sampai 4,5. Pada pH 3,0 atau lebih rendah lagi fermentasi alkohol akan berjalan dengan lambat (Volk, 1993).

➤ Nutrien

Dalam pertumbuhannya mikroba memerlukan nutrisi. Nutrien yang dibutuhkan digolongkan menjadi dua yaitu nutrisi makro dan nutrisi mikro. Nutrien makro meliputi unsur C, N, P, K. Unsur C didapat dari substrat yang mengandung karbohidrat, unsur N didapat dari penambahan urea, sedang unsur P dan K dari pupuk NPK (Halimatuddahlia, 2003). Unsur mikro meliputi vitamin dan mineral-mineral lain yang disebut *trace element* seperti Ca, Mg, Na, S, Cl, Fe, Mn, Cu, Co, Bo, Zn, Mo, dan Al (Jutono, 1972).

➤ Temperatur

Mikroorganisme mempunyai temperatur maksimal, optimal, dan minimal untuk pertumbuhannya. Temperatur optimal untuk yeast berkisar antara 25-30 °C dan temperatur maksimal antara 35-47 °C. Beberapa jenis yeast dapat hidup pada

suhu 0 °C. Temperatur selama fermentasi perlu mendapatkan perhatian, karena di samping temperatur mempunyai efek yang langsung terhadap pertumbuhan yeast juga mempengaruhi komposisi produk akhir. Pada temperatur yang terlalu tinggi akan menonaktifkan yeast. Pada temperatur yang terlalu rendah yeast akan menjadi tidak aktif. Selama proses fermentasi akan terjadi pembebasan panas sehingga akan lebih baik apabila pada tangki fermentasi dilengkapi dengan unit pendingin (Fardias, 1988).

➤ Oksigen

Berdasarkan kemampuannya untuk mempergunakan oksigen bebas, mikroorganisme dapat diklasifikasikan menjadi tiga, yaitu: aerob apabila untuk pertumbuhannya mikroorganisme memerlukan oksigen, anaerob apabila mikroorganisme akan tumbuh dengan baik pada keadaan tanpa oksigen, dan fakultatif apabila dapat tumbuh dengan baik pada keadaan ada oksigen bebas maupun tidak ada oksigen bebas. Sebagian besar yeast merupakan mikroorganisme aerob. Yeast dari kultur yang memakai aerob akan menghasilkan alkohol dalam jumlah yang lebih besar apabila dibandingkan dengan yeast kultur yang tanpa aerasi. Akan tetapi efek ini tergantung yeast yang dipergunakan (Fardias, 1988).

II.5. TETES TEBU

Tetes atau molasses didefinisikan sebagai residu sirup, merupakan hasil akhir yang didapat pada pembuatan gula dengan kristalisasi berulang, dimana sukrosa yang ada sudah tidak dapat dikristalkan lagi. Kata molasses berasal dari bahasa latin yang berarti madu dan berkembang melalui bahasa Spanyol yaitu *melaza*. Dalam bahasa Perancis disebut *melasse*, dimana kata tersebut juga digunakan di Jerman dan Belanda dan akhirnya disebut molasses.

Sukrosa atau gula perdagangan dibuat dari hasil perahan tebu. Selain larutan sukrosa dan air, perahan tersebut juga mengandung campuran bahan nonsukrosa, termasuk gula-gula lain. Larutan-larutan tersebut disarikan guna memindahkan bahan nongula sebanyak mungkin, dan dikonsentrasikan dengan cara evaporasi menjadi sirup/gula cair, gula didapat kembali dari sirup dengan sejumlah kristalisasi.

Kristalisasi biasanya dilakukan sebanyak tiga kali. Hasil pertama dikenal dengan gula pertama dan cairan induk sisa yang dipisahkan dari proses sentrifugasi dikenal dengan nama tetes pertama. Gula pertama dikristalisasi ulang dengan sirup tambahan untuk mendapatkan hasil kedua dengan kualitas yang lebih rendah dan dikenal sebagai

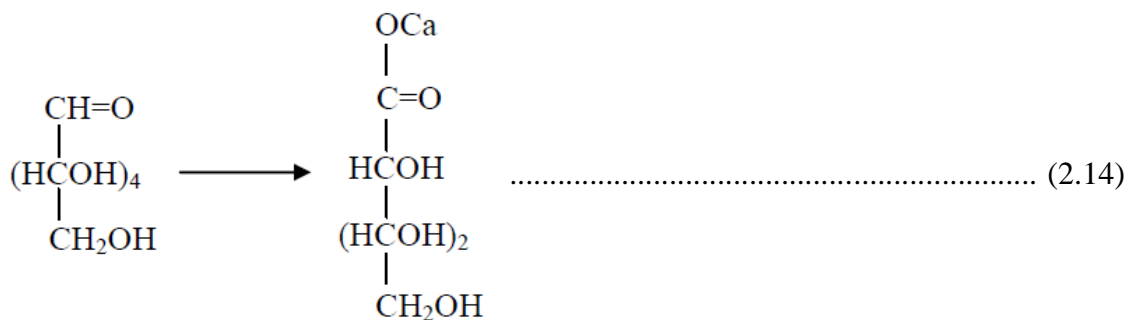
gula ketiga. Cairan induk yang dipisahkan ini dikenal dengan tetes ketiga/akhir, yang merupakan tetes perdangan. Tujuan kristalisasi adalah memindahkan sukrosa dan meninggalkan bahan nonsukrosa dalam hasil. Konsekuensinya gula yang dihasilkan sekitar 96% lebih murni.

Pada proses pembuatan gula putih, tebu yang telah diproses dengan berbagai cara tersebut menghasilkan sukrosa dan tetes, sedangkan tetes yang dihasilkan mengandung abu, logam Ca, Sulfur, Phosphor, dan logam-logam lainnya yang diperoleh dari proses pemurnian. Pemurnian di sini menggunakan SO₂, CO₂, dan P₂O₅ juga 5,3% air kapur dan air. Selain itu, impuritas lain seperti Mn, Fe, Pb, Zn, dan lainnya yang terdapat dalam tetes dikarenakan bahan baku berupa tebu terdiri dari sabut, gula, air, dan nongula yang dapat berupa logam yang terikut dalam tetes.

Di Indonesia, sebagian besar tetes/tetes dihasilkan dari pabrik-pabrik gula yang tersebar di berbagai wilayah. Tetes yang berasal dari pabrik gula keadaannya masih demikian pekatnya dan juga kotoran-kotoran yang cukup banyak sehingga dengan keadaan yang sangat kental ini sulit dibersihkan kotoran-kotoran yang ada. Oleh karena itu, sebelum tetes ini digunakan maka tetes perlu diencerkan terlebih dahulu.

Tetes terasa pahit karena dalam tahap kristalisasi pada pembuatan gula tebu terjadi reaksi Maillard sehingga terbentuk senyawa berwarna coklat/karamel.

Reaksi Maillard:



Kualitas tetes terutama ditentukan oleh kadar gulanya. Komposisi tetes berbeda-beda, tergantung dari daerah asal, jenis tebu, sifat tanah, dan iklim di mana tebu ditanam serta cara pengolahannya.

Menurut Paturau (1969), karakteristik dari tetes adalah sebagai berikut:

- ❖ berat jenis : 1,39-1,49
- ❖ pH : 6,0
- ❖ viskositas sangat bervariasi, tergantung perbedaan temperatur dan kepekatan (Brix), berkisar antara 90-95 °Brix

- ❖ panas spesifik : 0,5 cal/kg/°C
- ❖ berwarna coklat kemerahan
- ❖ kadar gula antara 40-50%

Selanjutnya disebutkan pula bahwa komposisi tetes dari beberapa daerah berbeda, seperti disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Komposisi Tetes dari Beberapa Negara

Parameter	Florida ¹	Louisiana ¹	Yamaica ¹	Indonesia ²
Berat kering (%)	77,1	80,8	82,3	75,0
Total gula sebagai gula invert(%)	50,0	59,5	61,0	50,0
Protein (%)	7,4	3,0	2,8	6,0
Total abu (%)	9,1	7,2	8,2	7,0

Sumber: Paturau, 1969

Komposisi tetes bervariasi sesuai dengan lokasi, varietas/jenis tebu, karakter tanah, iklim, dan metode pemrosesannya. Sifat-sifat tetes meliputi keasaman dan kandungan senyawa-senyawa pengotor akibat dari proses pada pembuatan gula. Secara garis besar komposisi tetes ditunjukkan pada Tabel 4.

Tabel 4. Komposisi Tetes Tebu

Konstituen	Komponen	Normal Range (%)	
Air		17 – 25	
Gula	Sukrosa	30 – 40	
	Glukosa (dextrose)	4 – 9	
	Fruktosa (leluvosa)	5 – 12	
	Gula reduksi lain (sebagai invert)	1 – 4	
	Gula reduksi total (sebagai invert)	10 – 25	
Karbohidrat	Gum, kanji, pentosan	2 - 5	
Abu	Karbonat	7 -15	
		Abu,%	
	Basa:	K ₂ O	30 – 50
		CaO	7 – 15
		MgO	2 – 14
		Na ₂ O	0,3 – 9
		R ₂ O ₃	0,4 – 2,7
	Asam:	SO ₃	7 – 17
		Cl	12 – 20
		P ₂ O ₅	0,5 – 2,5
	SiO ₂ dan insol	1 - 7	
Komponen	Protein (N x 6.25)	2,5 – 4,5	
Nitrogen	True protein	0,5 – 1,5	
	Asam amino	0,3 – 0,5	
	Tak teridentifikasi	1,5 – 3,0	
Komponen non Nitrogen		1,5 – 6,0	
Asam-asam	Asam akonitat, (1-5%), asam sitrat, malat, oksalat, glikolat	0,5 – 1,5	
Wax, sterols dan phospatide		0,1 – 1,0	
Vitamin-vitamin		bervariasi	

Sumber: Chen, 1993

Metode untuk analisa tetes di Amerika Serikat telah dikembangkan oleh beberapa agensi. Semua metode intinya sama. Kandungan padat dari tetes ditentukan dengan “hydrometer Brix”. Kandungan gula biasanya dilaporkan sebagai “kadar gula total”. Total gula ditentukan dengan inversi komplit/lengkap dari tetes menggunakan asam klorida. Penentuan penurunan/pembalikan gula adalah dengan reduksi tembaga (*cooper reduction*) baik volumetrik atau gravimetrik.

Dari tabel dapat dilihat bahwa kandungan gula dalam tetes masih cukup tinggi. Oleh karena itu, tetes masih dapat dimanfaatkan untuk pembuatan berbagai macam produk, diantaranya: monosodium glutamat, permen, etanol, asam sitrat, dan sebagainya. Untuk proses-proses tersebut diperlukan tetes yang bebas impuritas. Beberapa metode untuk menghilangkan impuritas yang terkandung di dalam tetes diantaranya, proses pengendapan, dan resin penukar ion.

Proses Pengendapan

Proses pengendapan merupakan salah satu metode yang dipakai untuk memisahkan padatan tersuspensi maupun pengotor yang terdapat dalam tetes. Tujuan dari pengendapan ini untuk memisahkan senyawa kalsium dari tetes selain pengotor-pengotor lain. Pengendapan padatan tersuspensi sangat dipengaruhi oleh kelarutan dan faktor-faktor yang mempengaruhi kelarutan itu sendiri.

Faktor utama yang sangat mempengaruhi pengendapan adalah adanya jenis ion yang sama dalam larutan. Semakin banyak jenis ion yang sama dengan ion dari bahan tersuspensi, maka semakin banyak pula endapan yang timbul.

Resin Penukar ion (*Ion Exchanger*)

Proses pemakaian *ion exchanger* ialah proses pengikatan ion-ion Ca, Mg, Mn, Fe, dan logam-logam berat lainnya.

Bahan penukar ion ini memiliki butiran-butiran yang kasar (*granular*). Umumnya resin penukar ion tahan terhadap pengaruh suhu tinggi, tahan terhadap korosi atau pengrusakan oleh asam, basa ataupun bahan-bahan organik lainnya, dan juga stabil terhadap pengaruh-pengaruh fisika.

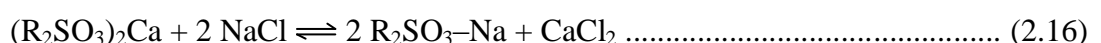
Berdasarkan cara kerjanya, ada 3 jenis penukar ion, yaitu:

➤ Resin Penukar Kation

Reaksi dari resin penukar kation pada prinsipnya adalah:



Pada regenerasi (dengan garam dapur) terjadi reaksi:



➤ Resin Penukar Anion

Reaksi dari resin penukar anion pada prinsipnya adalah:



Pada regenerasi (dengan soda api) terjadi reaksi:



➤ Resin Absorben

Reaksi ini digunakan pada proses penghilangan bahan organik yang terkandung di dalam larutan, penghilangan warna/pemisahan dua macam atau lebih bahan organik yang berbeda. Sebagai bahan pengaktif kembali digunakan garam dapur untuk penukar kation dan soda api untuk penukar anion. Kecepatan aliran larutan pengaktif selama proses regenerasi berlangsung adalah 2-5 kali *bed volume* (BV) per jam pada konsentrasi sekitar 40% dengan waktu regenerasi 30-75 menit.

II.6. SACCHAROMYCES CERIVISIAE

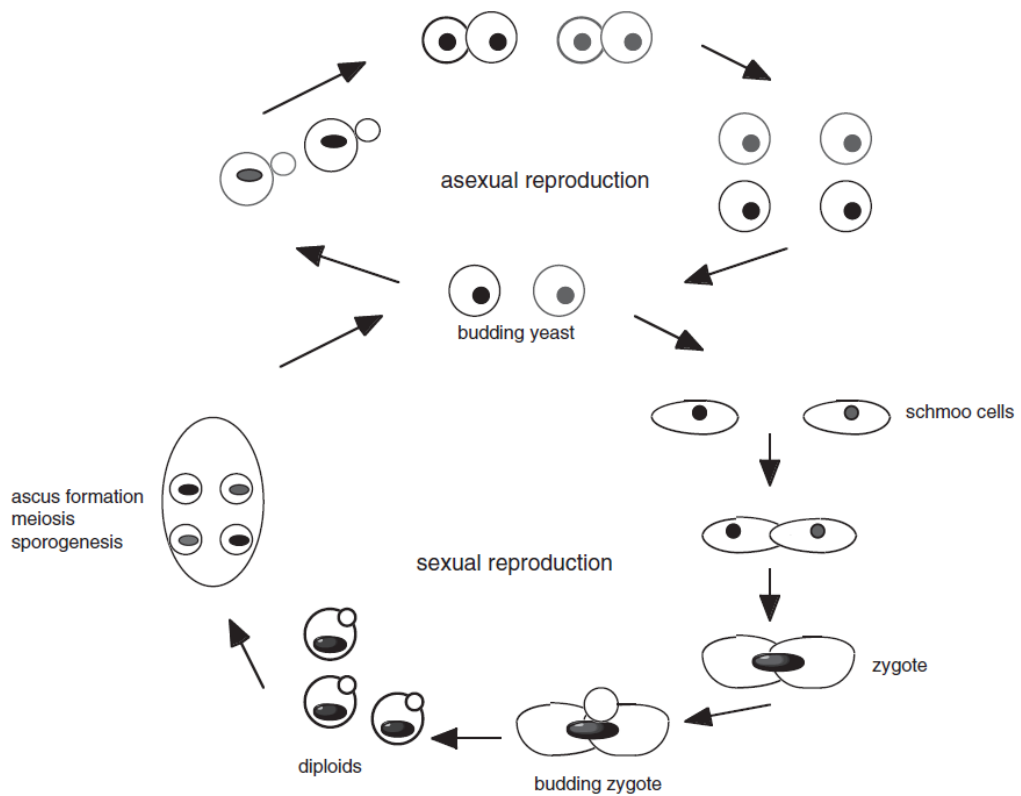
Saccharomyces merupakan mikroorganisme yang sangat dikenal masyarakat luas sebagai ragi roti (*baker's yeast*). Ragi roti ini selain digunakan dalam pembuatan makanan dan minuman, juga digunakan dalam industri etanol (Umbreit, 1959).

Saccharomyces cerevisiae adalah mikroorganisme bersel tunggal dengan ukuran antara 5 sampai 20 mikron dan berbentuk bola atau telur. *Saccharomyces cerevisiae* tidak bergerak karena tidak memiliki struktur tambahan di bagian luarnya seperti flagella (Prescott, 1959).

Saccharomyces cerevisiae mempunyai lapisan dinding luar yang terdiri dari polisakarida kompleks dan di bawahnya terletak membran sel. Sitoplasma mengandung suatu inti yang bebas (*discrete nucleus*) dan bagian yang berisi sejumlah besar cairan yang disebut *vakuola* (Buckle, 1987).

Saccharomyces cerevisiae dapat tumbuh dalam media cair dan padat. Pembelahan sel terjadi secara aseksual dengan pembentukan tunas, suatu bahan proses yang merupakan sifat khas dari khamir. Mula-mula timbul suatu gelembung kecil dari permukaan sel induk. Gelembung ini secara bertahap membesar, dan setelah mencapai ukuran yang sama dengan induknya terjadi pengerutan yang melepaskan tunas dari induknya. Sel yang baru terbentuk selanjutnya akan memasuki tahap pertunasan kembali. Tunas pada *Saccharomyces serevisae* dapat berkembang dari setiap bagian permukaan sel induk (pertunasan multipolar).

Saccharomyces cerevisiae dapat berkembangbiak secara seksual dan umumnya melibatkan proses perkawinan yang diikuti dengan produksi spora seksual yang disebut akrospora dan spora-spora tersebut berada dalam bentuk kantung yang disebut askus. Biasanya khamir berkembang secara aseksual dan hanya pada kondisi lingkungan tertentu saja akan terjadi perkembangbiakan secara seksual (Buckle, 1987).



Gambar 2.1. Siklus hidup *Saccharomyces cerevisiae* (Kavanagh, 2005)

Taksonomi *Saccharomyces cerevisiae*

- Kingdom : *Fungi*
- Division : *Ascomycota*
- Class : *Ascomycetes*
- Ordo : *Saccharomycetales*
- Familia : *Saccharomycetaceae*
- Genus : *Saccharomyces*
- Species : *Saccharomyces cerevisiae*

Khamir merupakan organisme yang bersifat saprofitik terdapat pada daun-daun, bunga-bunga dan eksudat pada tanaman. Sedangkan *Saccharomyces cerevisiae* secara alami terdapat pada beras maupun jenis serelia lain dan pada kulit anggur (Buckle, 1987).

Yeast dapat tumbuh dalam media sederhana yang mengandung karbohidrat yang dapat difermentasi sebagai penyedia energi dan sumber karbon untuk biosintesis, protein yang cukup untuk sintesis protein, garam mineral, dan faktor tumbuh lainnya.

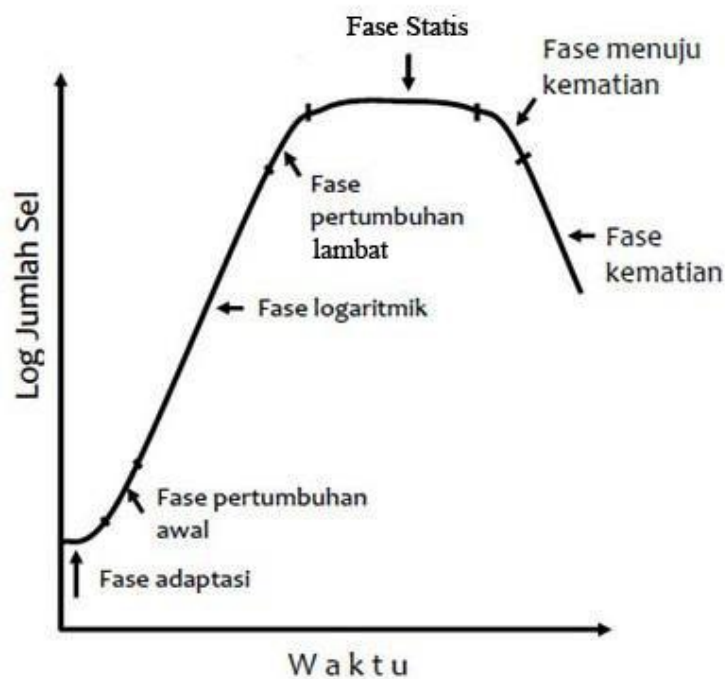
Ketersediaan molekul oksigen juga diperlukan walaupun ada beberapa strain seperti *Saccharomyces cerevisiae* yang mutlak tidak membutuhkan oksigen (Umbreit, 1959).

Karbohidrat sebagai sumber karbon dapat berupa monosakarida seperti D-glukosa, D-manosa, D-fruktosa, D-galaktosa, dan gula pentosa jenis D-xylulose (Umbreit, 1959). Selain monosakarida, disakarida (seperti sukrosa dan maltosa) dan trisakarida (seperti maltotriose dan raffinose) juga dapat difermentasi.

Substrat yang mengandung glukosa, fruktosa, dan sukrosa secara cepat akan digunakan oleh yeast pada tahap awal fermentasi. Sukrosa dihidrolisa oleh enzim invertase yang berada di luar membran sel dan dibatasi dinding sel. Sedangkan glukosa dan fruktosa yang ada akan ditransport ke dalam sel.

II.7. PERTUMBUHAN MIKROBIAL

Pertumbuhan sel merupakan puncak aktivitas fisiologis yang saling mempengaruhi secara berurutan. Proses pertumbuhan ini sangat kompleks mencakup pemasukan nutrisi dasar dari lingkungan ke dalam sel, konversi bahan nutrisi menjadi energi dan berbagai konstituen vital sel serta perkembangbiakan. Pertumbuhan mikroba ditandai dengan peningkatan jumlah dan massa sel serta kecepatan pertumbuhan tergantung pada lingkungan fisik dan kimia.



Gambar 2.2. Kurva Pertumbuhan Kultur Mikroba

➤ Fase Adaptasi

Pemindahan mikroba dari suatu medium ke medium lain, menyebabkan mikroba akan mengalami fase adaptasi untuk melakukan penyesuaian dengan substrat dan kondisi lingkungan sekitar. Pada fase ini belum terjadi pembelahan sel karena beberapa enzim mungkin belum disintesis. Jumlah sel pada fase ini mungkin tetap tetapi kadang-kadang menurun. Lama fase ini bervariasi, dapat cepat atau lambat tergantung dari kecepatan penyesuaian dengan lingkungan sekitar. Medium, lingkungan pertumbuhan, dan jumlah inokulum akan mempengaruhi lama adaptasi. Jika medium dan lingkungan pertumbuhan sama seperti medium dan lingkungan sebelumnya, mungkin tidak diperlukan waktu adaptasi. Tetapi jika nutrisi yang tersedia dan kondisi lingkungan yang baru berbeda dengan sebelumnya, diperlukan waktu penyesuaian untuk mensintesa enzim-enzim. Selain itu, jumlah inokulum juga berpengaruh terhadap jumlah sel. Jumlah awal sel yang semakin tinggi akan mempercepat fase adaptasi.

➤ Fase Pertumbuhan Awal

Setelah mengalami fase adaptasi, mikroba mulai membelah dengan kecepatan yang masih rendah karena baru tahap penyesuaian diri.

➤ Fase Pertumbuhan Logaritmik

Pada fase ini sel mikroba membelah dengan cepat dan konstan, pertambahan jumlahnya mengikuti kurva logaritmik. Kecepatan pertumbuhan sangat dipengaruhi oleh medium tempat tumbuhnya seperti pH dan kandungan nutrisi, juga kondisi lingkungan termasuk suhu dan kelembaban udara. Sel mikroba membutuhkan energi yang lebih banyak daripada fase lainnya dan sel paling sensitif terhadap keadaan lingkungan.

➤ Fase Pertumbuhan Lambat

Pertumbuhan populasi mikroba mengalami perlambatan. Perlambatan pertumbuhan disebabkan zat nutrisi di dalam medium sudah sangat berkurang dan adanya hasil-hasil metabolisme yang mungkin beracun atau dapat menghasilkan racun yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba. Pertumbuhan sel pada fase ini tidak stabil, tetapi jumlah populasi masih naik karena jumlah sel yang tumbuh masih lebih banyak daripada jumlah sel yang mati.

➤ Fase Pertumbuhan Tetap (Statis)

Jumlah populasi sel tetap karena jumlah sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati. Ukuran sel pada fase ini menjadi lebih kecil-kecil karena sel

tetap membelah meskipun zat-zat nutrisi sudah mulai habis. Karena kekurangan zat nutrisi, sel kemungkinan mempunyai komposisi berbeda dengan sel yang tumbuh pada fase logaritmik. Sel-sel menjadi lebih tahan terhadap keadaan ekstrim seperti panas, dingin, radiasi, dan bahan-bahan kimia.

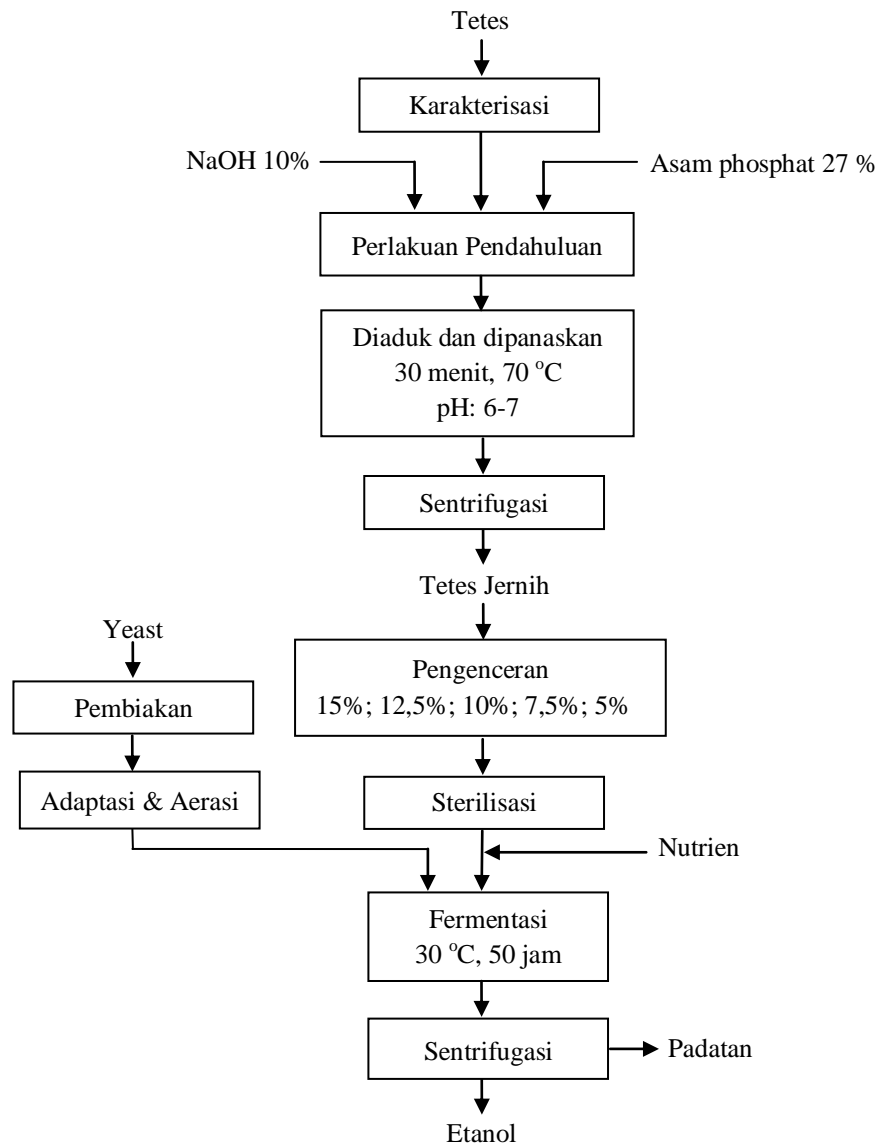
➤ Fase Menuju Kematian dan Fase Kematian

Sebagian populasi mikroba mulai mengalami kematian yang disebabkan oleh nutrisi di dalam medium dan energi cadangan di dalam sel sudah habis. Kecepatan kematian dipengaruhi oleh kondisi nutrisi, lingkungan, dan jenis mikroba (Fardias, 1988).

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

Pada penelitian “Proses Produksi Etanol oleh *Saccharomyces cerivisiae* Dengan Operasi Kontinyu Pada Kondisi Vakum” dilakukan beberapa tahap yaitu sterilisasi alat penelitian, pengkarakterisasian bahan baku, perlakuan pendahuluan bahan baku, dan proses produksi etanol. Tahap karakterisasi meliputi analisa kadar gula, nitrogen, phosphor, sulfur, dan kalium. Sebelum fermentasi dilakukan pengendapkan kotoran pada tetes menggunakan asam phosphat. Proses produksi etanol terdiri dari tahap pembiakan kultur, adaptasi kultur, tahap aerasi, dan tahap fermentasi etanol. Alur percobaan secara garis besar ditampilkan dalam Gambar 3.1.



Gambar 3.1. Diagram Alir Percobaan

III.1. VARIABEL PERCOBAAN

Variabel yang digunakan dalam percobaan ini adalah :

- a. Variabel tetap
 - Temperatur awal operasi : suhu kamar
 - Volume cairan : 3 L
 - Kalium fosfat : 0,1 gr/l
 - Ammonium nitrat : 0,25 gr/l
 - pH awal : 5
 - Kecepatan pengadukan : 200 rpm
- b. Variabel berubah
 - Konsentrasi gula (gr/l) : 50, 75, 100, 125, 150
 - Tekanan operasi (atm) : 0,098; 0,49

III.2. RESPON PENGAMATAN

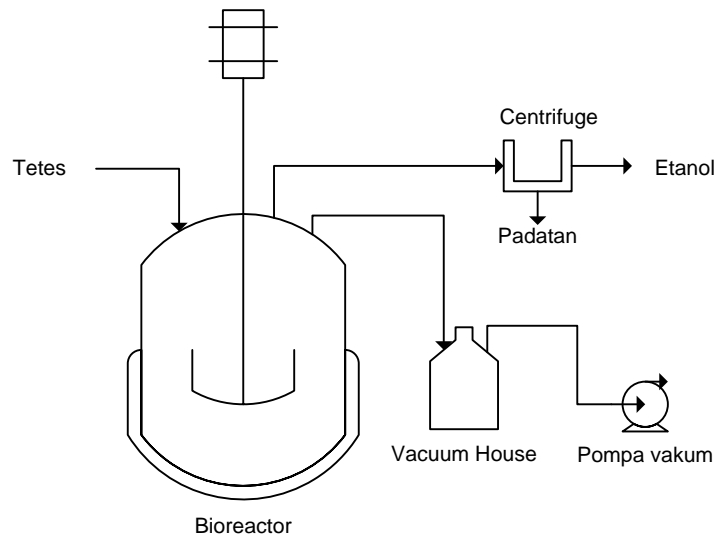
Respon yang diamati adalah konsentrasi etanol, glukosa, fruktosa, sukrosa, dan biomassa.

III.3. BAHAN DAN ALAT YANG DIGUNAKAN

Bahan dan alat yang digunakan dalam percobaan ini adalah :

- a. Bahan
 - Tetes tebu
 - Strain *Saccharomyces cerivisiae*
 - Nutrien
 - HCl
 - NaOH
 - Asam phosphate
 - Larutan Standar
- b. Alat
 - 1) Alat Utama

Alat utama pada percobaan meliputi tangki pencampur, pompa centrifugal, bioreaktor, centrifuge, vacuum house, dan pompa vakum. Rangkaian alat percobaan dapat dilihat pada Gambar 3.2.



Gambar 3.2. Rangkaian Alat Percobaan

2) Alat Pendukung

- Tabung reaksi
- Erlenmeyer
- Alat GC
- Cawan petri
- Kawat osse
- Autoclave
- Gelas ukur
- Pipet
- Beaker glass
- Statif, buret, klem
- Kertas saring Whatman
- Oven
- Neraca analitis

III.4. ANALISIS DATA

Data percobaan yang didapat diolah dengan metode grafis dan dijelaskan secara deskriptif. Grafik ini menggambarkan hubungan antara respon pengamatan yang meliputi konsentrasi gula, konsentrasi etanol, dan konsentrasi biomassa terhadap waktu.

III.5. PROSEDUR PERCOBAAN

1. Persiapan Alat

Peralatan gelas disterilisasi di dalam alat autoclave pada temperatur 121 °C selama 15 menit

2. Karakterisasi Bahan

Karakterisasi meliputi analisa gula total (glukosa, sukrosa, fruktosa), analisa padatan (TSS, TDS), analisa nutrien makro (C, N, P, K) serta analisa nutrien mikro (S).

Analisa gula dilakukan dengan metode DNS, analisa TDS (*Total Dissolve Solid*) dan TSS (*Total Suspended Solid*) dilakukan dengan metode gravimetri. Unsur C, P, S, N, K, dianalisa di Laboratorium Wahana Semarang.

3. Perlakuan Pendahuluan

Proses ini bertujuan untuk mengendapkan kotoran-kotoran yang terdapat dalam tetes sehingga tetes yang akan digunakan untuk proses pembibitan dan fermentasi lebih jernih. Proses ini dilakukan dengan cara menambahkan asam phosphate untuk mempercepat terjadinya pengendapan. Penjernihan tetes dilakukan dengan cara fosfatase. Langkah-langkahnya adalah :

- Lima liter tetes ditambah 300 ml asam phosphate 27%.
- Campuran diaduk dan dipanaskan sampai suhu 70 °C selama 30 menit.
- pH diatur pada kisaran 6-7 dengan larutan NaOH 10%.
- Larutan dipisahkan dengan endapannya dengan sentrifuge.

4. Pemiakan Kultur Yeast *Saccharomyces cerivisiae*

- Kultur disiapkan dengan cara menimbang 5 gram agar potato dextrose dicampur dengan 20 ml aquadest murni, kemudian dipanaskan sampai mendidih.
- Larutan tersebut didinginkan dalam tabung reaksi pada keadaan miring.
- Jamur dipindahkan ke atas kultur agar potato dextrose dan dibiarkan selama 5 hari supaya jamur dapat berkembang biak.

5. Adaptasi Yeast

- Satu tabung agar miring yang terisolasi ragi dengan umur 5 hari diambil kemudian dipindahkan dengan air steril ke dalam tetes steril sebanyak 300 ml di dalam erlenmeyer dan diinkubasikan selama 2 hari.

6. Proses Fermentasi

a. Persiapan media

- Pengenceran

Bertujuan untuk mengurangi kadar gula sesuai dengan variabel. Proses ini dilakukan dengan cara menambahkan aquades ke dalam tetes sesuai dengan perhitungan dengan menggunakan rumus pengenceran.

➤ Sterilisasi

Proses ini bertujuan untuk mensterilkan tetes sebelum proses fermentasi. Sterilisasi dilakukan dengan cara memanaskan tetes sampai mendidih selama 1 jam, selanjutnya didinginkan sampai suhu kamar.

b. Tahap Fermentasi

Tahap fermentasi bertujuan untuk memproduksi etanol. Langkah-langkahnya adalah:

- Bioreaktor diisi dengan tetes steril sampai volume 3 liter.
- Tetes steril dialirkan ke dalam bioreaktor dengan laju alir 1,39 ml/menit.
- Laju alir dijaga pada nilai yang ditentukan agar volum reaktor konstan.
- Produk keluaran reaktor dipisahkan dengan sentrifuge hingga terpisah antara padatan dan cairannya.
- Produk cair dianalisa konsentrasi etanol dan gulanya sedangkan padatan dianalisa konsentrasi biomasnya.

7. Analisa Hasil

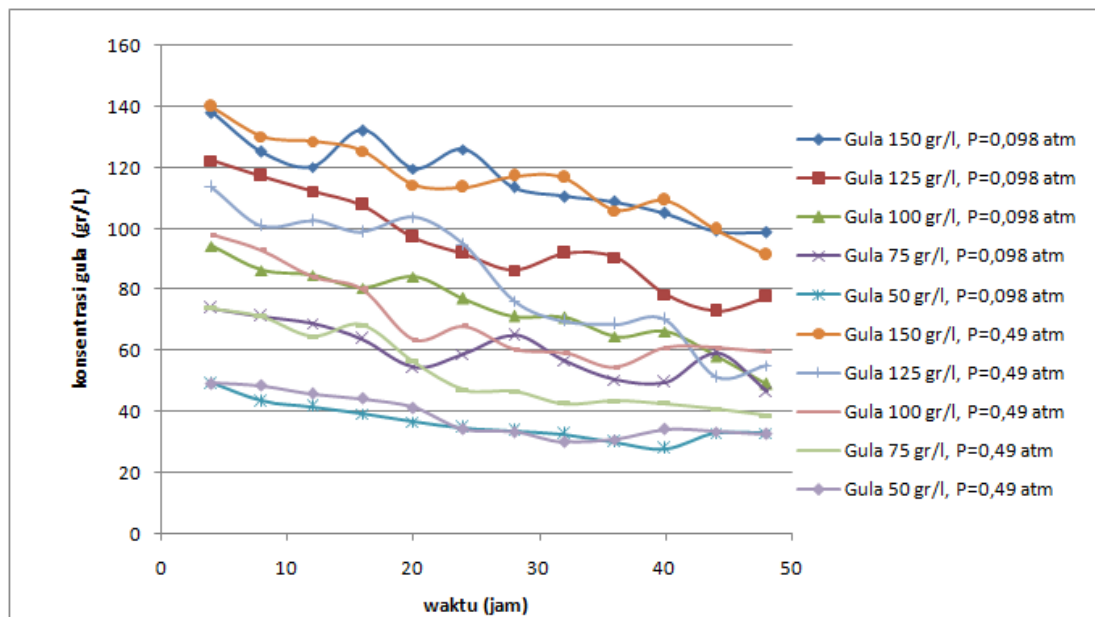
Analisa karbohidrat seperti sukrosa dan glukosa diukur kepekatannya dengan menggunakan mesin spektrofotometer Optima SP-300 pada panjang gelombang 540 nm. Konsentrasi etanol dianalisa dengan menggunakan metode gas kromatografi (GC) HP 5890, kolom Porapak Q, dan detektor FID. Konsentrasi jamur (sel kering) *Saccharomyces cerevisiae* dihitung dengan menggunakan mesin spektrofotometer Optima SP-300 pada panjang gelombang 540 nm.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1. PENGARUH KONSENTRASI GULA TERHADAP PEROLEHAN ETANOL

Pada percobaan ini, konsentrasi substrat yang dipilih adalah 50, 75, 100, 125, dan 150 gram/l dengan tekanan 0,098 dan 0,49 atm. Secara umum, hubungan antara waktu terhadap konsentrasi gula dapat ditunjukkan pada Gambar 4.1.

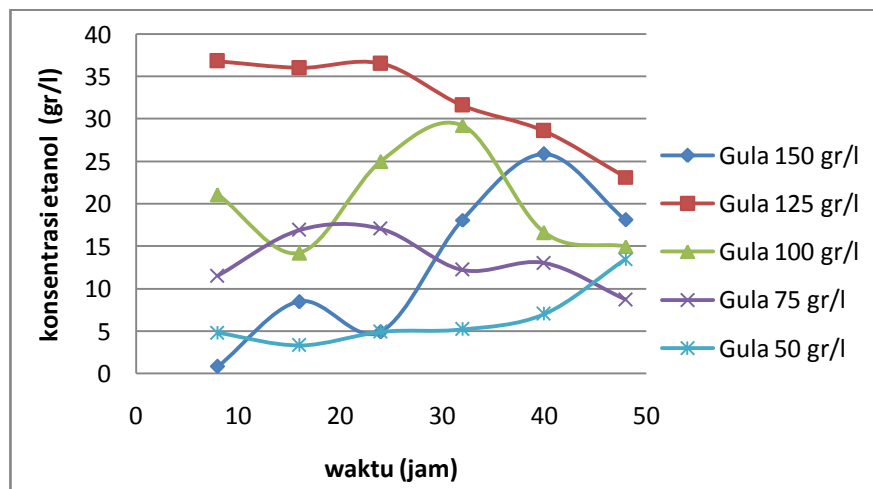


Gambar 4.1. Grafik Hubungan Antara Waktu Terhadap Konsentrasi Gula

Pada Gambar 4.1 terlihat bahwa semakin lama waktu fermentasi, konsentrasi gula yang ada semakin berkurang. Hal ini menunjukkan adanya penggunaan gula oleh yeast untuk pertumbuhan dan metabolisme sel sehingga menghasilkan etanol sebagai metabolit primer. Waktu fermentasi adalah 48 jam dan selama waktu itu, gula terus digunakan namun tidak sampai habis. Hal tersebut terjadi pada semua variabel. Hal ini salah satunya disebabkan karena fermentasi dijalankan secara kontinyu dimana substrat dengan kandungan gula sesuai dengan kandungan gula pada awal fermentasi, ditambahkan terus-menerus kedalam bioreaktor dengan laju alir 62,5 ml/jam. Dengan adanya penambahan substrat secara kontinyu, substrat akan selalu tersedia dalam bioreaktor.

Pada waktu awal fermentasi terlihat penurunan konsentrasi gula yang cukup drastis. Hal tersebut terjadi karena pada awal fermentasi, *yeast* membutuhkan substrat

dalam jumlah banyak untuk pertumbuhan, baik memperbanyak maupun mempertahankan hidup sel. Fenomena tersebut terjadi antar waktu 0 sampai 20 jam. Setelah 20 jam, penggunaan gula sebagai substrat mulai stabil dan *yeast* telah mencapai fase *stationary*. Pada penelitian ini, pembentukan etanol terjadi pada saat fase *stationary*. Pada fase ini terlihat penggunaan gula oleh *yeast* dengan penurunan yang tidak terlalu drastis. Pada fase ini, gula digunakan oleh *yeast* untuk beraktivitas sehingga menghasilkan etanol sebagai metabolit primer. Produktivitas etanol untuk penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2. Grafik Hubungan Antara Waktu Terhadap Konsentrasi Etanol

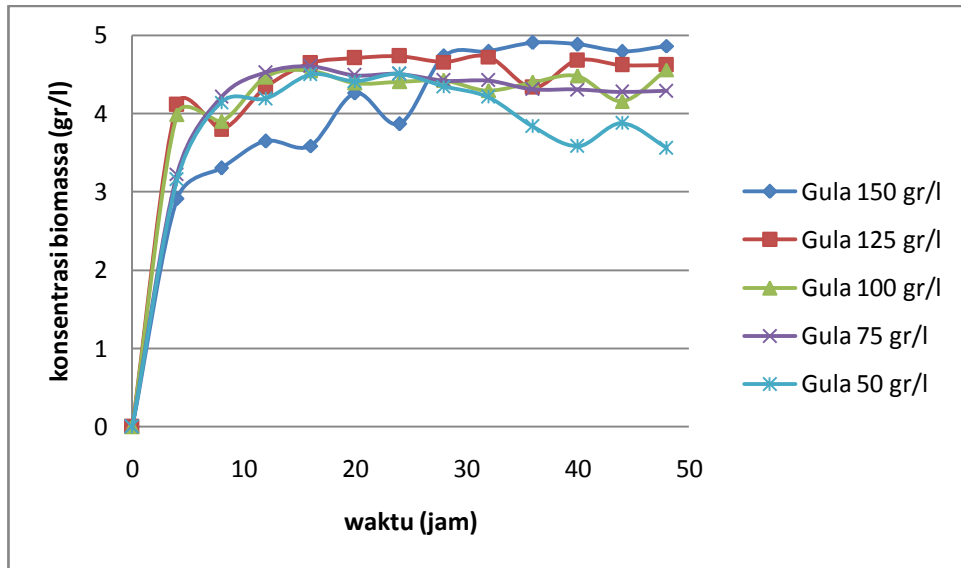
Gambar 4.2 menunjukkan hubungan antara konsentrasi etanol yang terbentuk terhadap waktu pada berbagai konsentrasi gula. Untuk variabel dengan konsentrasi gula 150 gram/l didapatkan nilai produktivitas tertinggi pada waktu 8 jam yaitu sebesar 18,1 gram/l. Untuk konsentrasi gula 125 gram/l didapatkan nilai produktivitas tertinggi pada jam ke 8 dengan konsentrasi etanol 36,83 gram/l. Untuk konsentrasi gula 125 gram/l didapatkan nilai produktivitas tertinggi pada jam ke 8 dengan konsentrasi etanol 36,83 gram/l. Untuk konsentrasi gula 100 gram/l didapatkan nilai produktivitas tertinggi pada jam ke 32 dengan konsentrasi etanol 29,26 gram/l. Untuk konsentrasi gula 75 gram/l didapatkan nilai produktivitas tertinggi pada jam ke 24 dengan konsentrasi etanol 17,08 gram/l. Untuk konsentrasi gula 50 gram/l didapatkan nilai produktivitas tertinggi pada jam ke 48 dengan konsentrasi etanol 13,49 gram/l. Dari grafik terlihat bahwa produktivitas tertinggi tercapai pada konsentrasi gula 125 gram/l dan terjadi pada waktu 8 jam. Kecenderungan yang terjadi yaitu semakin naiknya konsentrasi gula akan menghasilkan produktivitas etanol yang makin tinggi. Hal ini disebabkan semakin

banyaknya substrat yang tersedia untuk digunakan dalam metabolisme *yeast* sehingga akan menghasilkan metabolit yaitu etanol yang semakin banyak pula. Pada penelitian terdahulu, dengan proses *batch* dan konsentrasi gula 1,6-5 gram/l serta kondisi operasi yang hampir sama, didapatkan konsentrasi etanol sebesar 5-18,4 gram/l setelah diinkubasikan selama 24 jam (Ergun dan Mutlu, 2000). Jika dibandingkan nilai produktivitasnya maka akan jelas sekali bahwa dengan peningkatan konsentrasi substrat akan menaikkan perolehan etanol. Pada penelitian ini dengan *dilution rate* sebesar 0,02/jam, didapatkan nilai produktivitas 0,77 gram/l/jam. Sedangkan untuk penelitian terdahulu oleh Ergun dan Mutlu, didapatkan nilai produktivitas sebesar 0,48 gram/l/jam dengan proses *batch*. Proses kontinyu menghasilkan produktivitas yang lebih tinggi karena dengan proses kontinyu substrat ditambahkan secara terus menerus kedalam sistem fermentasi sehingga kebutuhan sumber karbon serta nutrisi-nutrisi lain yang diperlukan oleh *yeast* selalu tersedia.

Telah dijelaskan bahwa dengan kenaikan konsentrasi substrat akan menaikkan perolehan etanol, namun tetap saja ada batas maksimal konsentrasi substrat untuk proses fermentasi etanol. Menurut Roukas (1996), penurunan produksi etanol pada konsentrasi gula berlebih merupakan efek dari inhibisi substrat. Konsentrasi substrat yang tinggi akan mengurangi jumlah oksigen terlarut. Dalam proses fermentasi ini, oksigen tetap dibutuhkan walaupun dalam jumlah yang sedikit. *Saccharomyces cerevisiae* membutuhkan oksigen untuk mempertahankan kehidupan dan menjaga konsentrasi sel tetap tinggi, (Hepworth 2005; Nowak 2000; Tao dkk, 2005). Fungsi oksigen disini adalah untuk memproduksi ATP dalam glikolisis dan dalam fosforilasi oksidatif. Proses fosforilasi oksidatif merupakan proses yang paling menonjol dalam produksi ATP. Bila tidak ada oksigen (anaerob), NADH dalam mitokondria tidak dapat dioksidasi kembali maka daur asam sitrat, pembentukan ATP serta pemecahan nutrisi akan terhenti. Hal inilah yang mengakibatkan pada konsentrasi gula tertinggi, yaitu 150 gram/l didapatkan nilai produktivitas yang lebih rendah daripada konsentrasi gula 125 gram/l.

IV.2. PENGARUH KONSENTRASI GULA TERHADAP PEROLEHAN SEL

Pada percobaan ini, konsentrasi substrat yang dipilih adalah 50, 75, 100, 125, dan 150 gram/l dengan tekanan 0,098 atm. Secara umum, hubungan antara waktu terhadap konsentrasi biomassa dapat ditunjukkan pada Gambar 4.3.

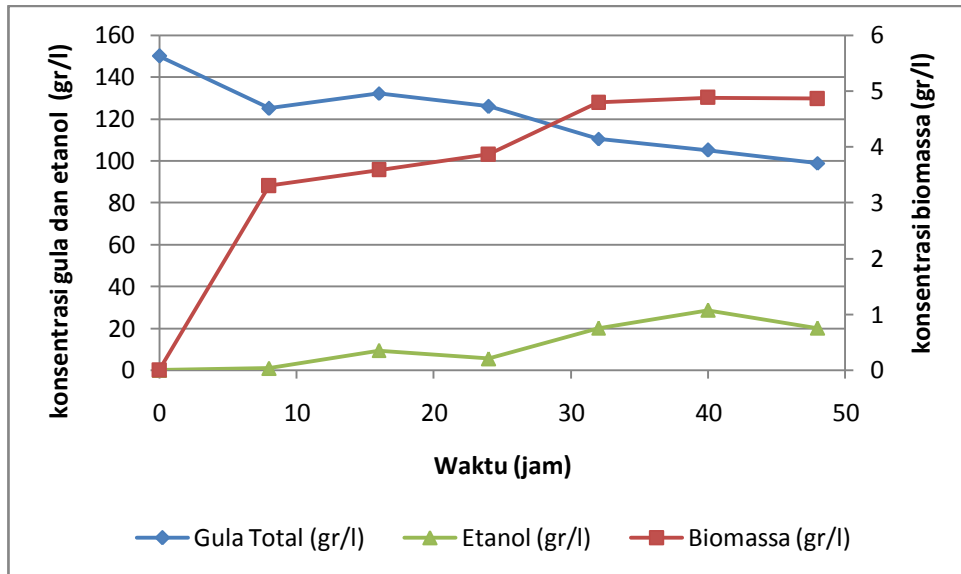


Gambar 4.3. Grafik Hubungan Antara Waktu Terhadap Konsentrasi Biomassa

Gambar 4.3 menunjukkan hubungan antara waktu dengan pertumbuhan sel. Dari grafik terlihat bahwa perolehan sel tertinggi adalah 4,9 gram/l yang terjadi pada konsentrasi gula 150 gram/l dan terendah adalah 3,8 gram/l yang terjadi pada konsentrasi gula 50 gram/l. Tren grafik yang lain pun menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi gula akan didapatkan sel yang semakin banyak. Pada akhir periode analisa didapatkan konsentrasi biomassa tertinggi pada konsentrasi gula 150 gram/l. Dengan adanya substrat yang lebih banyak maka pertumbuhan mikroba akan lebih baik karena kebutuhan nutrisinya yang semakin terpenuhi. Konsentrasi gula maksimal yang digunakan sebagai variabel disini adalah 150 gram/l. Konsentrasi tersebut masih sesuai untuk kondisi tumbuh *yeast*, karena konsentrasi gula optimal untuk fermentasi adalah antara 50-250 gram/l, artinya konsentrasi gula yang digunakan dalam percobaan ini masih sesuai dengan kondisi tumbuh mikroba (Pramanik, 1999).

Yeast yang digunakan langsung diadaptasikan dengan substrat (molasses) ketika pembuatan starter, sehingga fase adaptasi sel terjadi saat *yeast* dikembangkan dalam starter. Oleh karena itu dalam grafik terlihat bahwa antara selang waktu 0 jam sampai 20 jam langsung terjadi fase eksponensial.

Secara keseluruhan, hubungan antara konsentrasi gula, konsentrasi etanol dan pertumbuhan sel dapat ditunjukkan pada Gambar 4.4.

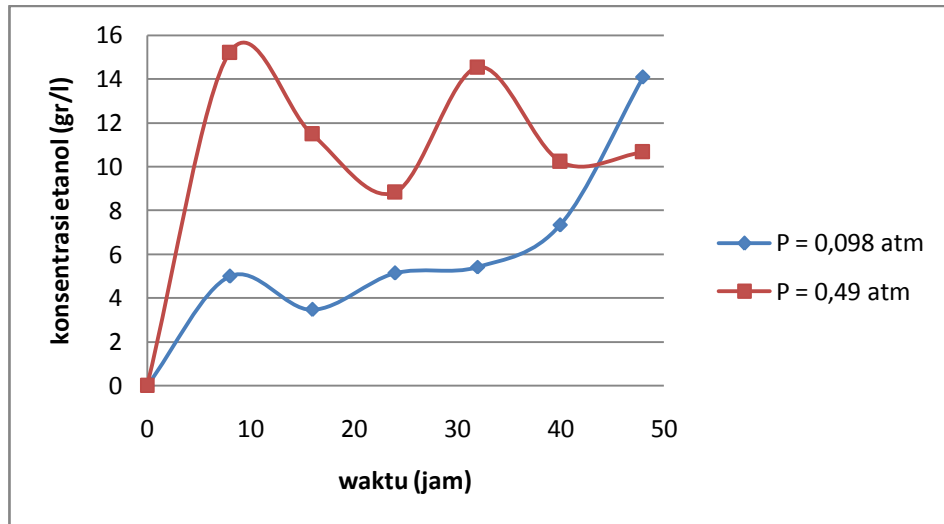


Gambar 4.4. Grafik Hubungan Antara Waktu Terhadap Konsentrasi Gula, Konsentrasi Etanol, dan Konsentrasi Biomassa

Dari gambar 4.4 dapat dilihat bahwa konsentrasi gula semakin berkurang dengan disertai kenaikan konsentrasi biomassa dan konsentrasi etanol. Pembentukan etanol terjadi pada fase stationary, hal ini ditunjukkan oleh tren grafik. Pembentukan etanol terjadi setelah fase pertumbuhan eksponensial. Setelah pertumbuhan sel stabil, produksi etanol meningkat dengan disertai penurunan konsentrasi gula.

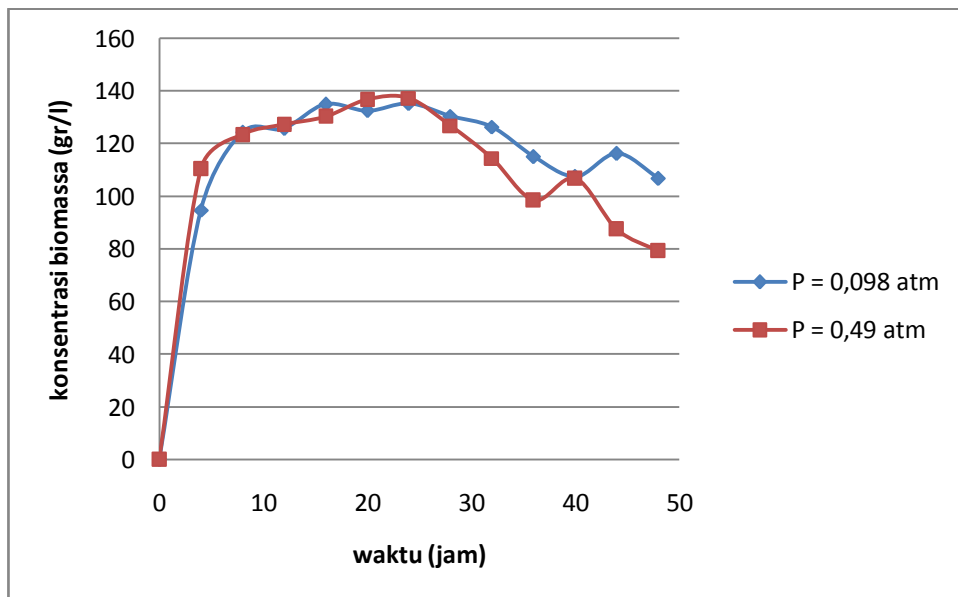
IV.3. PENGARUH TEKANAN TERHADAP PEROLEHAN ETANOL

Pada percobaan ini, tekanan operasi yang digunakan adalah 0,098 dan 0,49 atm. Secara umum, hubungan antara waktu dan tekanan operasi terhadap konsentrasi etanol dapat ditunjukkan pada Gambar 4.5.



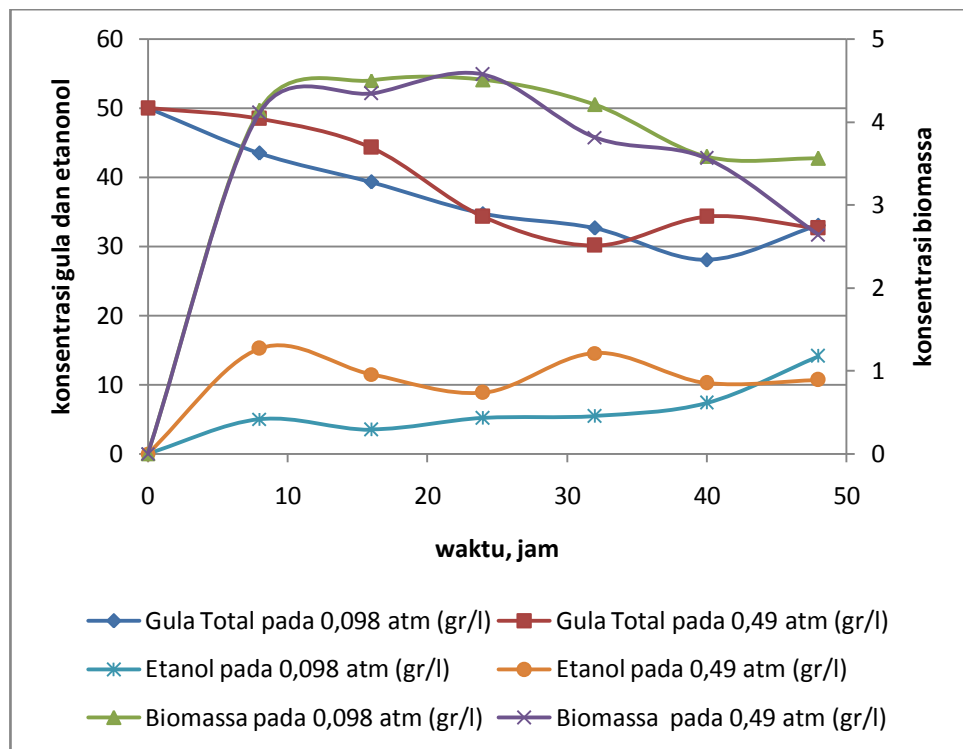
Gambar 4.5. Grafik Hubungan Antara Waktu dan Tekanan Operasi Terhadap Konsentrasi Etanol

Gambar 4.5 menunjukkan hubungan antara waktu dengan konsentrasi etanol yang dihasilkan selama proses fermentasi pada tekanan yang berbeda. Dari grafik dapat dilihat adanya perbedaan konsentrasi etanol yang cukup signifikan dimana pada tekanan 0,098 atm, etanol yang terdeteksi pada sampel lebih kecil daripada tekanan 0,49 atm. Pada tekanan 0,098 atm, kondisi didalam fermentor lebih vakum sehingga jumlah etanol yang teruapkan selama proses fermentasi lebih banyak. Hal tersebut menyebabkan konsentrasi etanol yang terdeteksi pada sampel lebih sedikit. Hal ini berakibat pada pertumbuhan sel selama fermentasi seperti ditunjukkan pada Gambar 4.6.



Gambar 4.6. Grafik Hubungan Antara Waktu dan Tekanan Operasi Terhadap Konsentrasi Biomassa

Gambar 4.6 menunjukkan perbedaan profil pertumbuhan sel pada variasi tekanan 0,098 atm dan 0,49 atm. Pada tekanan 0,098 atm, konsentrasi etanol dalam sistem fermentasi lebih sedikit sehingga kemungkinan terjadinya inhibisi lebih kecil. Hal ini berakibat pada pertumbuhan sel yang lebih baik karena gangguan akibat inhibisi produk etanol selama proses pertumbuhan lebih sedikit. Pada masa awal pertumbuhan tidak terdapat perbedaan profil pertumbuhan yang berarti. Namun mulai jam ke 28, terdapat perbedaan profil pertumbuhan dimana untuk tekanan 0,098 atm lebih baik daripada 0,49 atm. Hal ini sesuai dengan profil etanol, dimana mulai jam ke 28 konsentrasinya naik sama-sama naik namun konsentrasi untuk 0,49 atm jauh lebih besar sehingga menghasilkan profil pertumbuhan yang sedikit berbeda. Konsentrasi etanol yang besar menyebabkan pertumbuhan sel terhambat atau bahkan dapat menyebabkan kematian sel. Oleh karena itu untuk tekanan 0,49 atm dimana konsentrasi etanolnya lebih besar, fase kematian untuk selnya terjadi lebih ekstrim yang ditunjukkan dengan penurunan konsentrasi sel yang lebih banyak daripada pada tekanan 0,098 atm. Secara garis besar profil perubahan konsentrasi gula, etanol, dan biomassa dengan variasi tekanan dapat ditunjukkan pada Gambar 4.7.



Gambar 4.7. Grafik Hubungan Antara Waktu dan Tekanan Operasi Terhadap Konsentrasi Gula, Konsentrasi Etanol, dan Konsentrasi Etanol

Dari Gambar 4.7 dapat dilihat bahwa profil produksi etanol, penurunan konsentrasi gula, serta pertumbuhan sel untuk dua variasi tekanan secara umum hampir sama. Pada grafik terlihat bahwa penggunaan gula pada tekanan 0,098 atm lebih banyak dibandingkan dengan tekanan 0,49 atm, hal ini menunjukkan adanya produktivitas yang lebih tinggi, namun yang terdeteksi oleh analisa dengan GC lebih kecil akibat sebagian besar etanol telah teruapkan. Hal ini disebabkan pengaruh tekanan operasi. Pada tekanan 0,098 atm titik didih etanol murni adalah sekitar 30 °C, sedangkan pada tekanan 0,49 atm, titik didih etanol sekitar 62 °C. Terdapat perbedaan titik didih yang sangat besar sehingga etanol pada tekanan 0,098 atm yang teranalisa oleh GC lebih kecil jika dibandingkan pada tekanan 0,49 atm. Penelitian terdahulu oleh Ghasem dkk, pada kondisi atmosferik didapatkan produktivitas etanol yang lebih tinggi yaitu sebesar 1,77 gram/l/jam. Substrat yang digunakan pada penelitian tersebut adalah glukosa murni dengan konsentrasi 150 gram/l. Pada konsentrasi gula yang sama, untuk penelitian dengan tekanan 0,098 atm ini menghasilkan produktivitas sebesar 0,539 gram/l/jam. Hal ini disebabkan karena sebagian besar etanol yang telah diproduksi teruapkan akibat kondisi sistem dalam keadaan vakum. Dengan demikian, etanol yang terkandung dalam sampel menjadi lebih sedikit. Selain itu dengan substrat yang berbeda maka akan dihasilkan perbedaan hasil karena dengan glukosa dengan molasses mempunyai karakteristik yang sangat berbeda. Molasses masih mengandung sejumlah pengotor sehingga akan mempengaruhi pertumbuhan sel, hal ini akan berakibat langsung terhadap produktivitas etanol.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1. KESIMPULAN

Penelitian tentang proses produksi etanol oleh *Saccharomyces cerevisiae* dengan operasi kontinyu pada kondisi vakum yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Semakin tinggi konsentrasi gula maka akan didapatkan produk etanol yang semakin banyak.
2. Semakin tinggi konsentrasi gula maka akan didapatkan konsentrasi sel yang semakin banyak.
3. Penggunaan kondisi vakum tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap produksi etanol.

V.2. SARAN

Sebaiknya dilakukan penelitian lebih lanjut dengan modifikasi kondisi operasi misalnya dengan mengkombinasikan teknik imobilisasi sel serta dilakukan recycle sel dengan harapan dapat meningkatkan produktivitas.

DAFTAR PUSTAKA

- Arifin, Helmi et al, 2006, *Standarisasi Ekstrak Etanol Daun Eugenia Cumini Merr.*, J. Sains Tek. Far., Vol. 11 No. 2.
- Atkins, P. W., 1993, *Kimia Fisika*, Jilid 1 edisi ke-4, Erlangga, Jakarta.
- Bailey, James E. and David F. Ollis, 1986, *Biochemical Engineering Fundamentals*, 2nd edition, McGraw-Hill Book Co., Singapore.
- Bohnet, Matthias et al, 2003, *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, 6th Completely Revised Edition Vol. 12, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. K Ga A, Weinheim.
- Bulawayo, B. et al, 1996, *Ethanol Production by Fermentation of Sweet-Stem Sorghum Juice Using Various Yeast Strains*, World Journal of Microbiology & Biotechnology, Vol. 12, pp. 357-360.
- Chen, James C. P., and Chung Chi Chou, 1993, *Cane Sugar Handbook: A Manual for Cane Sugar Manufacturers and Their Chemists*, 12th edition, John Wiley and Sons Ltd, New York.
- Elevri, Putra Asga dan Surya Rosa Putra, 2006, *Produksi Etanol Menggunakan Saccharomyces cerevisiae Yang Diamobilisasi Dengan Agar Batang*, Akta Kimindo, Vol. 1 No. 2, pp. 105-114.
- Ergun M, Mutlu SF, 2000, *Application of a Statistical Technique to Production of Ethanol From Sugar Beet Molasses by Saccharomyces cerevisiae*, Bioresour Technol, 73: 251-255.
- Fardias, Srikandi, 1988, *Fisiologi Fermentasi*, Lembaga Sumber Daya Informasi-IPB, Bogor.
- Galeote, Virginie Ansanay et al, 2001, *Stress Effect of Ethanol on Fermentation Kinetics by Stationary-Phase Cells of Saccharomyces cerevisiae*, Biotechnology Letters, Vol. 23, pp. 677-681.
- Ghasem N, Habibollah Y., Ku S, Ku I., 2004, *Ethanol Fermentation In An Immobilized Cell Reactor Using Saccharomyces cerevisiae*. Bioresour Technol 92:251-260.
- Halimatuddahlia, 2004, *Pembuatan n-Butanol Dari Berbagai Proses*, USU Digital Library.
- Hepworth, M., 2005, *Technical, Environmental and Economic Aspects of Unit Operation for The production of Bioethanol From Sugar Beet in the United Kingdom*, CET IIA Exercise 5, Corpus Christi College.

- Jeon, Bo Young et al, 2007, *Development of a Serial Bioreactor System for Direct Ethanol Production from Starch Using Aspergillus niger and Saccharomyces cerevisiae*, Biotechnology and Bioprocess Engineering, Vol. 12, pp. 566-573.
- Jutono et al, 1972, *Dasar-Dasar Mikrobiologi (Untuk Perguruan Tinggi)*, Gadjah Mada University Press, Jogjakarta.
- Kavanagh, Kevin, 2005, *Fungi Biology and Applications*, John Willey & Sons Ltd, England.
- Kirk, R. E., and R. F. Othmer, 1951, *Encyclopedia of Chemical Technology*, vol. 9, John Wiley and Sons Ltd, Canada.
- Kurniawan, Yahya dan Hendro Santoso M, 2004, *Pengaruh Jumlah Umpan Dan Laju Alir Eluen Pada Pemisahan Sukrosa Dari Tetes Tebu Secara Kromatografi*, Jurnal ILMU DASAR, Vol. 5 No.1, pp. 42-49.
- Lin, Yan and Shuzo Tanaka, 2006, *Ethanol Fermentation from Biomass Resources: Current State and Prospects*, Applied Microbiology Biotechnology, Springer-Verlag, 69: 627-642.
- McKetta, John J. and William Aaron Cunningham, 1983, *Encyclopedia of Chemical Processing and Design*, Marcel Dekker, Inc., New York and Bessel.
- Nowak, J., 2000, *Ethanol Yield and Productivity of Zymomonas mobilis in Various Fermentation Methods*, Electronic Journal of Polish Agricultural Universities, Vol. 3, No. 2 seri Food Science and Technology.
- Paturau, J. M., 1996. *By Products of The Cane Sugar Industry*, Elsevier Publishing Co., Amsterdam.
- Pramanik, K., 1999, *parametrics Studies on Batch Alcohol Fermentation Using Saccharomyces cerevisiae Yeast Extracted From Toddy*, Department of Chemical Engineering, Regional Engineering College, Andra Pradesh.
- Prescott, Samuel Cate and Cecil Gordon Dunn, 1959, *Industrial Microbiology*, McGraw-Hill Book Company, Inc., New York.
- Priest, F. G., and I. Campbell, 1996, *Brewing Microbiologi*, 2nd edition, Chapman & Hall, London.
- Ratnayani, K., N. M. A. Dwi Adhi S., dan IG. A. M. A. S. Gitadewi, 2008, *Penentuan Kadar Glukosa dan Fruktosa Pada Madu Randu dan Madu Kelengkeng Dengan Metode Kromatografi Kinerja Tinggi*, JURNAL KIMIA, Vol. 2 No. 2, pp. 77-86, ISSN 1907-9850.

- Roukas, T., 1996, *Continuous Ethanol Production from Nonsterilized Carob Pod Extract by Immobilized Saccharomyces cerevisiae on Mineral Kissiris Using A Two-reactor System*, Journal Applied Biochemistry and Biotechnology, Vol. 59, No. 3.
- Schlegel, Hans G., and Karin Schmidt, 1994, *Mikrobiologi Umum*, edisi ke-6, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Szajani, B. et al, 1996, *Continuous Production of Ethanol Using Yeast Cells Immobilized in Preformed Cellulose Beads*, Appl Microbiol Biotechnol, Vol. 46, pp. 122-125.
- Tao, F., Miao, J. Y., Shi, G. Y., dan Zhang, K. C., 2003, *Ethanol Fermentation by an Acid-tolerant Zymomonas mobilis under Non-sterilized Condition*, Process Biochemistry, Elsevier, 40: 183-187.
- Triantarti, 2005, *Karakteristik Resin Untuk Proses Ion Exclusion Chromatography Dan Aplikasinya Pada Pengambilan Gula Dari Tetes Tebu*, Jurnal ILMU DASAR, Vol. 6 No. 1, pp. 48-57.
- Umbreit, Wayne W., 1959, *Advances In Applied Microbiology*, Vol. 1, Rutgers University, New Jersey.
- Volk, Wesley A., 1993, *Mikrobiologi Dasar*, edisi ke-5, Erlangga, Jakarta.
- Waluyo, Sugeng, 1984, *Beberapa Aspek Tentang Pengolahan Vinegar*, Dewaruci Press, Jakarta.
- Widjaja, Tri, 2007, *Produksi Etanol Dari Molases Dengan Teknik Immobilized Cell Ca-Alginale Dalam Bioreaktor Packed Bed*, Seminar Nasional Fundamental dan Aplikasi Teknik Kimia, 15 November 2007, Jurusan Teknik Kimia FTI – ITS, ISSN 1410-5667.