

FERMENTASI ETANOL DARI *MOLASSES* DENGAN *Zymomonas mobilis* A3 YANG DIAMOBILISASI PADA κ -KARAGINAN

Elok Puspita M., Hana Silviana , dan Tontowi Ismail

Jurusan Teknik Kimia, Fak. Teknologi Industri, Institut Teknologi Sepuluh Nopember
Kampus ITS-Keputih, Sukolilo, Surabaya 60111, Telp: 081946383824

Abstrak

Penelitian ini dilakukan dengan membandingkan antara proses batch dengan proses kontinyu. Proses fermentasi dilakukan menggunakan bakteri *Zymomonas mobilis* A3 yang diamobilisasi pada κ -karaginan. Bahan baku yang digunakan dalam proses fermentasi ini adalah molasses dengan kandungan gula total 66%(w/w). Proses fermentasi batch dilakukan selama 48 jam dengan konsentrasi gula reduksi awal sebesar 132,6 g/L menghasilkan etanol sebesar 59,44 g/L atau yield 89,66 %. Sedangkan proses fermentasi kontinyu dilakukan selama 120 jam dengan waktu tinggal 5,5 jam (dilution rate 0,18/jam) dan 3,3 jam (dilution rate 0,3/jam). Konsentrasi etanol yang dihasilkan berturut-turut adalah 59,14 g/L atau yield 88,7% dan 51,24 g/L atau yield sebesar 77,29%. Yield yang diperoleh merupakan perbandingan antara konsentrasi etanol yang dihasilkan dengan konsentrasi etanol teoritis. Untuk fermentasi secara kontinyu, pengambilan sampel dilakukan setiap 8 jam sekali. Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi etanol pada awal fermentasi mengalami kenaikan hingga jam ke 56. Setelah jam tersebut konsentrasi etanol mengalami perubahan namun tidak signifikan. Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat dilihat bahwa yield fermentasi kontinyu lebih kecil dibandingkan dengan fermentasi batch, dikarenakan waktu tinggal dalam reaktor kontinyu lebih pendek dari pada reaktor batch. Sedangkan pada fermentasi kontinyu, semakin lama waktu tinggal, yield etanol yang dihasilkan lebih mendekati yield etanol fermentasi batch.

Kata Kunci : Etanol; Molasses; *Zymomonas mobilis* A3; κ -Karaginan

PENDAHULUAN

Dunia industri di masa sekarang sedang terfokus pada pencarian energi alternatif bahan bakar dari biomassa sebagai sumber energi terbarukan (*renewable*). Hal ini disebabkan oleh semakin menipisnya persediaan bahan bakar fosil, harga minyak dunia yang tidak stabil, serta berbagai permasalahan terkait lingkungan dan politik yang ikut mempengaruhi produksi dan distribusi minyak dunia.

Etanol sebagai campuran bahan bakar fosil merupakan salah satu pilihan alternatif yang banyak diaplikasikan di berbagai negara, termasuk Indonesia. Indonesia sebagai negara agraris, memiliki bahan-bahan biomassa yang potensial untuk dikembangkan menjadi etanol, seperti *molasses*, nira, jerami padi, jagung, gandum, sugu, dan kentang. Dalam penelitian ini, dipilih *molasses* sebagai bahan baku dikarenakan molasses mengandung glukosa yang bisa langsung didegradasi menjadi etanol.

Proses produksi etanol dikenal ada dua macam, yakni dengan sintesa kimia dan fermentasi. Cara fermentasi lebih banyak digunakan dalam dunia industri saat ini, dikarenakan kondisi operasi yang aman, yakni suhu yang diperlukan adalah suhu ruangan (*ambient*) dan tidak memerlukan tekanan operasi yang tinggi, cukup tekanan atmosferik. Selain itu, bahan baku dalam proses fermentasi dapat diperbaharui sehingga cocok untuk alternatif krisis bahan bakar dan lingkungan.

Mikroorganisme yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Zymomonas mobilis*. Bakteri *Zymomonas mobilis* tumbuh secara anaerob dan mempunyai toleransi suhu tinggi, kemampuan untuk mencapai konversi yang lebih tinggi, tahan terhadap kadar etanol yang tinggi jika dibandingkan dengan *Saccharomyces cerevisiae* (Gunasekaran, 1999).

Penelitian ini menggunakan *Zymomonas mobilis* A3. Keunggulan bakteri tersebut adalah mempunyai morfologi yang lebih besar dengan gerakan yang lebih pelan dan lebih tahan terhadap kondisi asam dibanding kondisi awal. pH optimum untuk *Zymomonas mobilis* A3 adalah 4,5 (Rosa Putra, 2008).

Sistem produksi etanol secara fermentasi dibedakan menjadi dua sistem, yakni *batch* dan kontinyu. Sistem *batch* banyak diaplikasikan di industri etanol karena dapat menghasilkan kadar etanol yang tinggi. Namun demikian, sistem ini mempunyai kelemahan, yaitu membutuhkan waktu operasi keseluruhan yang lama. Hal ini dikarenakan, dalam sistem *batch* diperhitungkan juga waktu pengosongan, pencucian, dan sterilisasi

secara berulang-ulang. Sedangkan untuk sistem kontinyu masih dalam tahap penelitian untuk bisa diaplikasikan dalam skala besar.

Penelitian menggunakan sistem kontinyu dengan jenis *mixed flow reactor (MFR)* menunjukkan adanya sel bakteri terikut keluar reaktor (*wash out*) sehingga menurunkan kinerja reaktor. Karena itu diperlukan suatu metode pengebakan mikroorganisme dalam reaktor untuk meminimalisir terikutnya bakteri ke aliran keluar reaktor. Untuk menjaga agar bakteri tidak keluar dari reaktor, dalam penelitian ini digunakan teknik amobilisasi sel dengan metode pengebakan dalam matrik berpori (*entrapment in porous matrix*) pada k-karaginan

Penelitian ini bertujuan meningkatkan produktivitas etanol dengan proses fermentasi kontinyu menggunakan *Zymomonas mobilis* A3 yang diamobilisasi pada k-karaginan.

BAHAN DAN METODE PENELITIAN

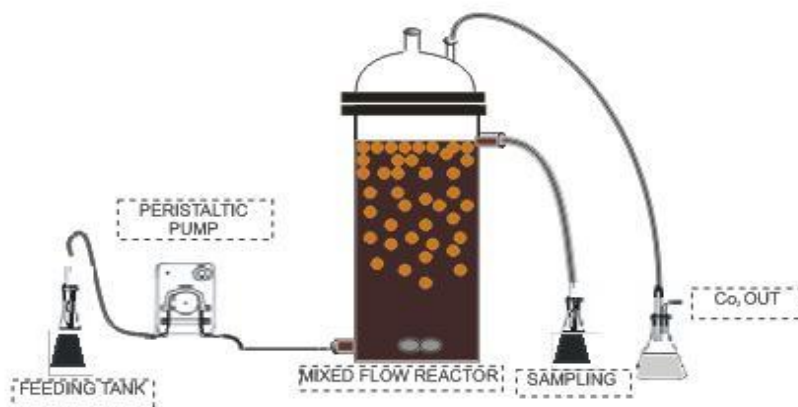
Bahan baku dalam proses fermentasi ini adalah *molasses*. Untuk mengetahui kandungan gula total, *molasses* terlebih dahulu dianalisa menggunakan metode *Luff Scrool*.

Media fermentasi dipersiapkan dengan mengencerkan *molasses* dan memanaskannya pada suhu 80°C selama 20 menit. Kemudian menambahkan H₂SO₄ hingga pH 4-5 dengan tujuan untuk mengendapkan Ca dalam *molasses*. Endapan dalam media disaring dan pada filtratnya ditambah (NH₄)₂SO₄ 1 gr/L, KH₂PO₄ 1 gr/L, MgSO₄·7H₂O 0,5 gr/L, dan *yeast extract* 5 gr/L. Selanjutnya media disterilisasi dengan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit kemudian didinginkan hingga mencapai suhu ruang.

Pembuatan sel amobil menggunakan k-karaginan sebagai *supporting matrice* diawali dengan melarutkan 1 gr karaginan dalam 45 ml aquadest dan memanaskannya pada suhu 70°C selama 15 menit. Kemudian larutan didinginkan sampai suhu mencapai 40°C dan ditambahkan 5 ml suspensi starter. Selanjutnya *bead* dibentuk dalam 1000 ml larutan KCl 1,5% dengan menggunakan *nozzle* hingga berat *bead* mencapai 400 g. Setelah itu *bead* dicuci menggunakan larutan NaCl 0,85%. Untuk meningkatkan pertumbuhan sel, *bead* diinkubasi terlebih dahulu selama 24 jam dalam 450 ml media fermentasi.

Fermentasi kontinyu

Proses fermentasi kontinyu dilakukan dalam *mixed flow reactor* yang bervolume 1 L dengan kecepatan putar 100 rpm. Proses fermentasi ini diawali dengan melakukan fermentasi *semibatch* selama 16 jam. Sebelum fermentasi dimulai, reaktor terlebih dahulu diisi dengan *bead* sampai volume mencapai 1/5 volume reaktor. Setelah 16 jam, proses fermentasi kontinyu mulai dilakukan dengan mengalirkan *feed* dalam fermentor menggunakan pompa peristaltik. Laju alir *feed* (media *molasses*) disesuaikan dengan variabel *dilution rate* yang dipakai. Pengambilan sampel dilakukan setiap 8 jam sekali untuk selanjutnya dianalisa kandungan etanol dengan metode *gas chromatography*, gula reduksi sisa dengan metode DNS (*Dinitrosalisilic acid*), dan jumlah bakteri yang terikut keluar dengan produk (*washout*) dengan metode *counting chamber*.



Gambar 1. Skema Peralatan Fermentasi Kontinyu

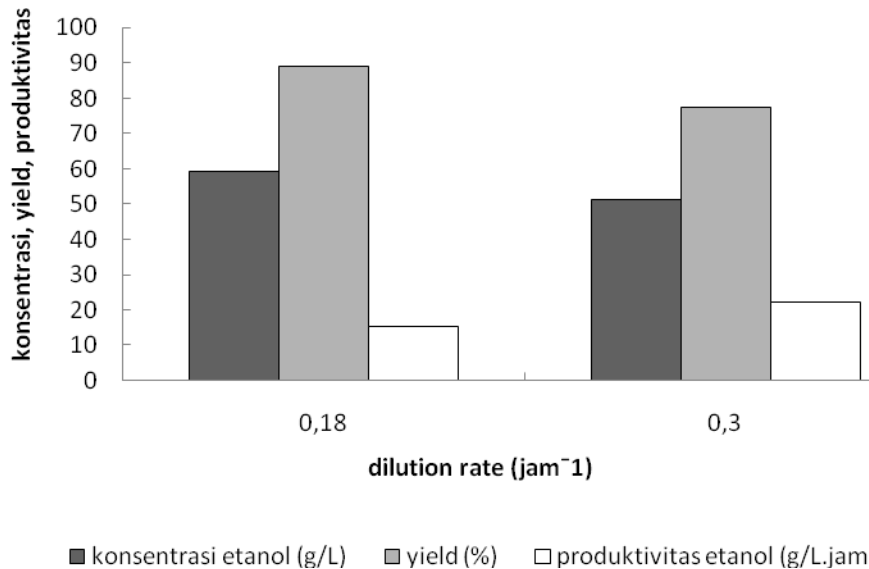
Fermentasi batch

Proses fermentasi *batch* dilakukan dalam *mixed reactor* yang bervolume 1 L dengan kecepatan putar 100 rpm selama 48 jam. Sebelum fermentasi dimulai, reaktor terlebih dahulu diisi dengan *bead* sampai volume mencapai 1/5 dari volume reaktor. Sampel hasil fermentasi dianalisa kandungan etanol dengan metode *gas chromatography*, gula reduksi sisa dengan metode DNS (*Dinitrosalisilic acid*), dan jumlah bakteri yang terikut keluar dengan produk (*washout*) dengan metode *counting chamber*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Fermentasi kontinyu

Proses fermentasi kontinyu dilakukan selama 120 jam dengan variasi *dilution rate* 0,18/jam (waktu tinggal 5,55 jam) dan 0,3/jam (3,33 jam) serta konsentrasi gula reduksi awal sebesar 132,6 g/L.

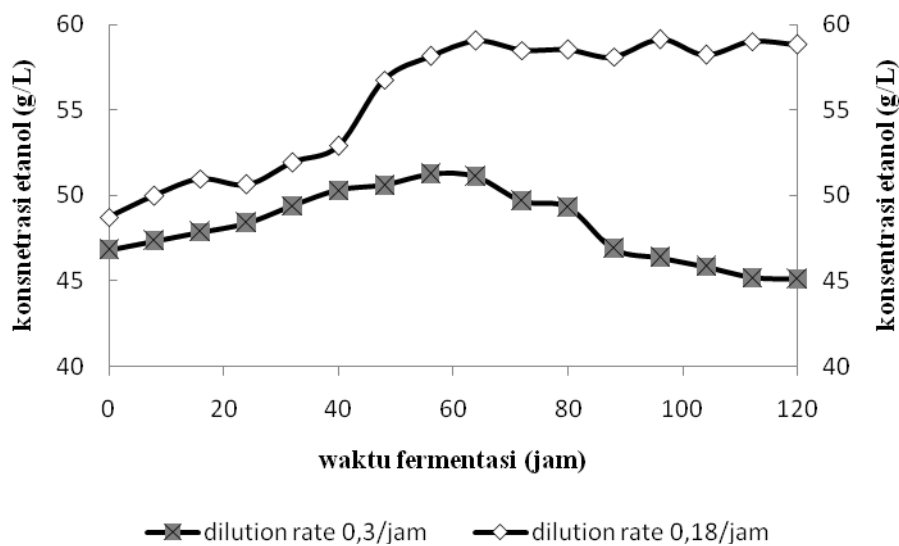


Gambar 2. Hubungan Antara Konsentrasi, *Yield*, dan Produktivitas Etanol terhadap Variasi *Dilution rate*

Gambar 2 menunjukkan hubungan antara *dilution rate* dengan konsentrasi, %*yield* dan produktivitas etanol. Dari gambar tersebut bisa dilihat bahwa konsentrasi etanol maksimum yang dihasilkan pada *dilution rate* 0,18/jam lebih tinggi dari pada konsentrasi etanol pada *dilution rate* 0,3/jam. Hal ini terjadi karena semakin lama waktu tinggal substrat dalam fermentor, kontak antara substrat dengan biomass semakin lama sehingga membuat konsentrasi produk yang dihasilkan semakin tinggi.

Berdasarkan reaksi stoikiometri, 1 mol glukosa akan menghasilkan 2 mol etanol atau setara dengan 1 g glukosa : 0,5111 g etanol, sehingga secara teoritis untuk glukosa awal sebesar 132,6 g/L akan dihasilkan etanol sebesar 66,3 g/L etanol. Hasil percobaan menunjukkan bahwa untuk *dilution rate* 0,18/jam, konsentrasi etanol yang dihasilkan sebesar 59,14 g/L dengan %*yield* 89,20% dan produktivitas 10,59 g/L jam. Sedangkan untuk *dilution rate* 0,3/jam adalah 51,24 g/L dengan yield 77,29% dan produktivitas 15,37 g/L jam. % *yield* dihitung sebagai perbandingan antara konsentrasi etanol yang dihasilkan dengan konsentrasi etanol teoritis (Goksungur, 2001). Adanya selisih antara etanol secara teoritis dengan hasil percobaan menunjukkan bahwa tidak semua substrat berhasil didegradasi oleh *Zymomonas mobilis* menjadi etanol. Jumlah dari substrat yang tak terdegradasi ini bisa dikontrol melalui analisa gula reduksi sisa. Hasil analisa DNS untuk gula reduksi sisa pada variabel *dilution rate* 0,18/ jam dan 0,3 /jam masing-masing adalah sebesar 2,31 g/L dan 3,69 g/L. Kecilnya gula reduksi sisa ini diharapkan bisa mempermudah pengolahan limbah dari produksi etanol.

Gambar 3 menunjukkan hubungan antara konsentrasi etanol dengan waktu fermentasi. Dari grafik tersebut dapat dilihat bahwa pada *dilution rate* 0,18/jam konsentrasi etanol mengalami kenaikan seiring bertambahnya waktu fermentasi. Namun ketika waktu fermentasi mencapai jam ke-56 dan seterusnya, konsentrasi etanol cenderung konstan. Untuk variabel *dilution rate* 0,3/jam juga mengalami kenaikan hingga jam ke-56 namun setelah itu mengalami penurunan. Kondisi ini bisa disebabkan oleh banyaknya bakteri yang terikut keluar (*washout*) sehingga hasil yang didapatkan kurang maksimal.



Gambar 3. Grafik antara konsentrasi etanol yang didapatkan terhadap waktu fermentasi

Fermentasi *batch*

Fermentasi dengan sistem *batch* dilakukan selama 48 jam. Pada sistem fermentasi ini, konsentrasi etanol yang dihasilkan sebesar 59,44 g/L dengan *yield* sebesar 89,66%. % *yield* dihitung sebagai perbandingan antara konsentrasi etanol yang dihasilkan dengan konsentrasi etanol teoritis. Hasil analisa gula reduksi sisa dengan menggunakan metode DNS sebesar 3,32 g/L.

Perbandingan fermentasi kontinyu dan *batch*

Fermentasi dengan sistem *kontinyu* memberikan konsentrasi etanol yang lebih kecil dari pada sistem *batch* yaitu 58,82 g/L untuk sistem kontinyu pada *dilution rate* 0,18/jam dan 59,44 g/L untuk sistem *batch*. Hal ini dapat terjadi karena waktu tinggal pada sistem kontinyu lebih pendek yaitu 5,55 jam dan 3,33 jam dari pada sistem *batch* yaitu 48 jam. Hal ini dapat terjadi karena pada sistem *batch*, jumlah bakteri akan terus bertambah sedangkan tidak ada substrat yang ditambahkan dalam reaktor sehingga glukosa yang terkonversi menjadi etanol akan semakin besar. Pada sistem kontinyu dengan *dilution rate* yang lebih kecil (waktu tinggal yang lebih besar) memberikan hasil konsentrasi etanol yang lebih mendekati sistem *batch* sehingga apabila waktu tinggal dalam reaktor diperpanjang, memungkinkan konsentrasi etanol yang dihasilkan lebih mendekati sistem *batch*.

KESIMPULAN

- Hasil maksimal dari fermentasi kontinyu dengan menggunakan *Zymomonas mobilis* A3 diperoleh pada *dilution rate* 0,18/jam di mana konsentrasi etanol 59,14 g/L, *yield* 89,20% dan produktivitas 10,59 g/L jam dengan konsentrasi gula reduksi awal 132,6 g/L.
- Konsentrasi etanol pada fermentasi dengan sistem *batch* lebih tinggi dari pada sistem kontinyu yaitu 59,44 g/L.

DAFTAR PUSTAKA

- Goksungur, Y. dan Zorlu, N., (2001), "Production of Ethanol From Beet Molasses by Ca-Alginate Immobilized Yeast Cells in a Packed-Bed Bioreaktor", *Turk J Biol* 25, 265-275.
- Gunasekaran, P. dan Raj, K.C., (1999), "Fermentation Technology-*Zymomonas mobilis*", Departement of Microbial Technology, School of Biological Sciences, Mandurai Kamaraj University: India.
- Rosa Putra Surya dan Alfena., (2008) "Produksi Etanol Menggunakan Mutan *Zymomonas mobilis* yang dimutasi Dengan *Hydroxylamine*", Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya, Indonesia.