

# PROSES PRODUKSI ETANOL OLEH *SACCHAROMYCES CERIVISIAE* DENGAN OPERASI KONTINYU PADA KONDISI VAKUM

**Tri Supriyanto (L2C006105) dan Wahyudi (L2C006108)**

Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro

Jln. Prof. Sudharto, Tembalang, Semarang, 50239, Telp/Fax: (024) 7460058

Pembimbing : Dr. Ir. Abdullah, MS.

## Abstrak

*Salah satu cara pembuatan etanol adalah dengan fermentasi.. Masalah yang timbul dalam proses fermentasi adalah terjadinya inhibisi produk etanol akibat dari inhibisi produk etanol adalah rusaknya struktur membran plasma mikroba serta terjadinya denaturasi protein. Hal tersebut akan mengakibatkan pertumbuhan mikroba penghasil etanol terhambat sehingga menurunkan produktivitas. Terjadinya inhibisi produk etanol ini dapat diatasi dengan pengambilan produk etanol secara terus-menerus dari fermentor. Salah satu cara yang dapat dilakukan yaitu dengan menjalankan fermentasi pada kondisi vakum. Dengan kondisi vakum, titik didih etanol akan turun sehingga sebagian etanol hasil fermentasi akan teruapkan.*

*Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mempelajari pengaruh tekanan operasi terhadap perolehan etanol serta pengaruh konsentrasi gula terhadap perolehan etanol dan sel. Substrat yang digunakan adalah molasses yang dengan konsentrasi gula sebesar 50;75;100;125;150 gram/l. Sedangkan tekanan operasi yang digunakan adalah 0,098 atm dan 0,49 atm. Percobaan dimulai dengan pre-treatment molasses, pembiakan kultur *saccharomyces cerevisiae*, pembuatan starter. Setelah semua bahan siap, maka dilakukan proses fermentasi dengan mengalirkan molasses dengan laju alir 62,5 ml/jam kedalam fermentor yang telah terisi campuran antara starter (10% v/v) dan substrat molasses dengan volume total 3liter. Produktivitas tertinggi didapat pada konsentrasi substrat 125 gram/l dengan tekanan operasi 0,098 atm yaitu sebesar 0,767 gram/l/jam. Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa peningkatan konsentrasi gula akan meningkatkan perolehan etanol dan biomasa. Selain itu penggunaan operasi vakum memberikan pengaruh terhadap perolehan produk etanol. Pada tekanan yang lebih vakum akan didapatkan kurva produktivitas etanol dan yang lebih stabil serta pertumbuhan sel yang lebih baik.*

**Kata kunci:** fermentasi vakum; inhibisi; produktivitas etanol

## Abstract

*Fermentation is one of method for ethanol production. The problem which occurring in fermentation process is ethanol inhibition. The influences of ethanol inhibition are destruction of membrane structure of the yeast cell and protein denaturation. Those effects makes the growth of microbes inhibited and decrease its productivity. Inhibition problem can be solved by removal ethanol from fermentation system continuously. One of the way is perform the fermentation by vacuum condition. In vacuum condition, boiling point of ethanol will decrease, therefore some ethanol as fermentation product will be vaporized*

*The aims of this research are to study the effects of operation pressure to ethanol and yeast cell productivities. The substrat used in this research was molasses with 50; 75; 100; 125; 150 gram/l of sugar concentrations. The operation pressure used were 10 and 0,49 atm. The experiment was started with pretreatment of molasses, cultivation of *saccharomyces cerevisiae*, and starter production. Fermentation was carried out in continuous operation with flow rate of substrat is 62.5 ml/h into 3 litres fermentor which contains of mixed substrat and starter (10% v/v). The highest productivity of ethanol was 0,767 gram/l/h obtained at 125 gram/l in substrat concentration with 0,098 atm in pressure. This research shows that the raising of sugar concentration will increase productivity of ethanol and biomass. In addition, vacuum condition gives some influences for the ethanol productivity. In vacuum condition, productivity curve of ethanol was more stable and growth of yeast was better.*

**Key Word:** ethanol productivity; inhibition; vacuum fermentation

## 1. Pendahuluan

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. Data BPS tahun 2005 menunjukkan bahwa produksi premium 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.

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 pengeksport etanol. Data BPS tahun 2006 menunjukkan besarnya ekspor etanol sebesar 25.590 ton (BPS dalam anonim, 2007).

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 cerevisiae*, *Saccharomyces uvarum* (tidinya *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, belerang, dan hidrogen, 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.

## 2. Bahan dan Metode Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tetes tebu, strain *Saccharomyces cerevisiae*, minyak goreng, kalium fosfat, amonium fosfat, aquadest dan reagen-reagen untuk analisa gula antara lain DNS, kalium hidroksida, asam klorida, dan indikator PP. Langkah-langkah percobaan meliputi perlakuan pendahuluan, pembiakan kultur yeast *Saccharomyces cerevisiae*, adaptasi yeast, dan proses fermentasi.

### 2.1. Perlakuan Pendahuluan

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 (Triantari, 2005).

### 2.2. Pembiakan yeast *Saccharomyces cerevisiae*

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.

### 2.3. 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.

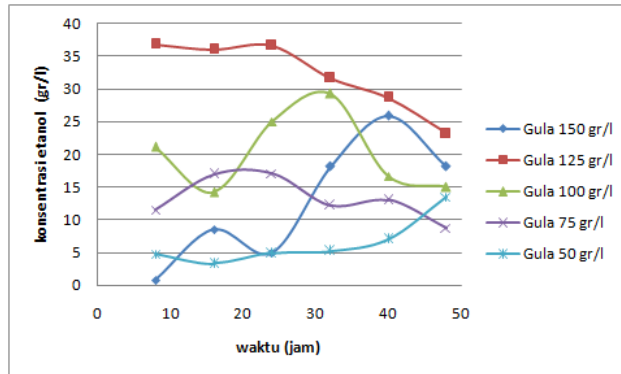
### 2.4. Proses Fermentasi

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.

### 3. Hasil dan Pembahasan

#### 3.1 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 atm. Secara umum, hubungan antara waktu dan konsentrasi gula terhadap konsentrasi etanol dapat ditunjukkan pada Gambar 1.



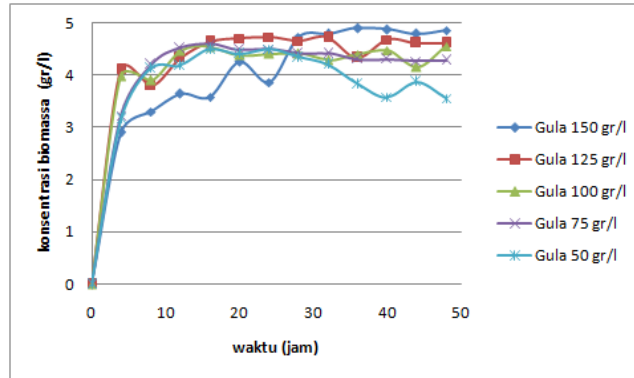
Gambar 1. Grafik Hubungan Antara Waktu Terhadap Konsentrasi Etanol

Dari Gambar 1 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.

#### 3.2 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 dan konsentrasi gula terhadap konsentrasi biomassa dapat ditunjukkan pada Gambar 2.



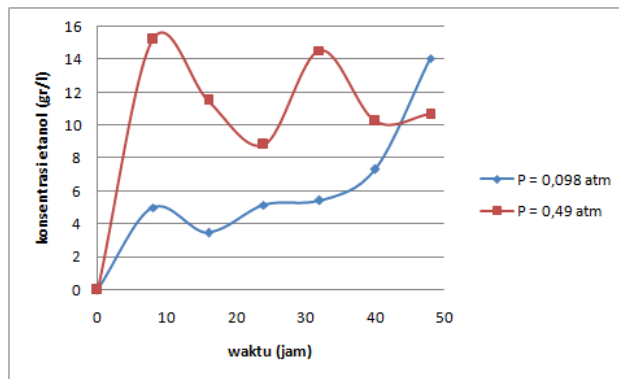
Gambar 2. Grafik Hubungan Antara Waktu Terhadap Konsentrasi Biomassa

Gambar 2 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.

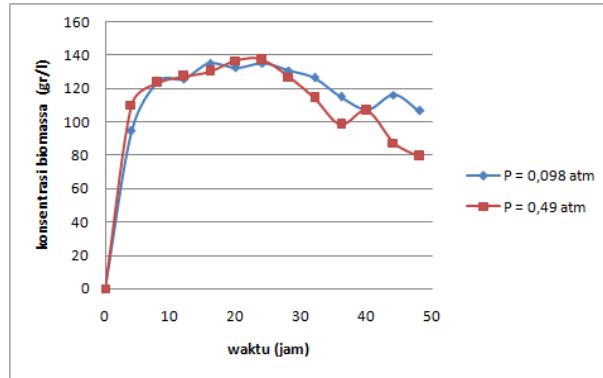
### 3.3 Pengaruh Tekanan Terhadap Perolehan Etanol

Pada percobaan ini, konsentrasi substrat yang dipilih adalah 50, 75, 100, 125, dan 150 gram/l dengan tekanan 10 dan 0,49 atm. Secara umum, hubungan antara waktu dan tekanan operasi terhadap konsentrasi etanol dapat ditunjukkan pada Gambar 3.



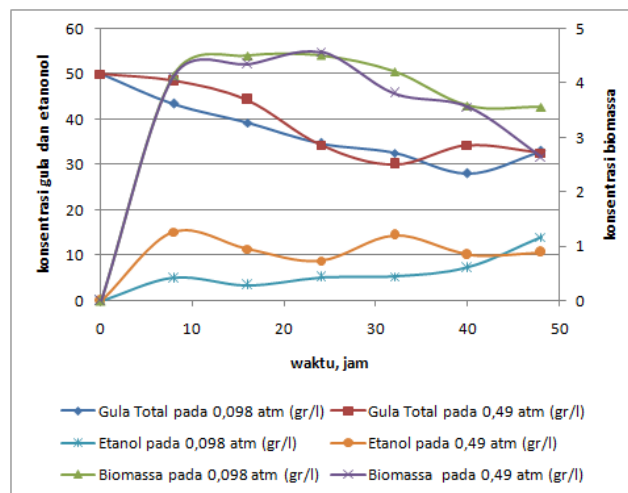
Gambar 3. Grafik Hubungan Antara Waktu dan Tekanan Operasi Terhadap Konsentrasi Etanol

Gambar 3 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.



Gambar 4. Grafik Hubungan Antara Waktu dan Tekanan Operasi Terhadap Konsentrasi Biomassa

Gambar 4 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 5.



Gambar 5. Grafik Hubungan Antara Waktu dan Tekanan Operasi Terhadap Konsentrasi Gula, Konsentrasi Etanol, dan Konsentrasi Etanol

Dari Gambar 5 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.

#### 4. Kesimpulan

Secara umum, semakin tinggi konsentrasi gula maka akan didapatkan produk etanol yang semakin banyak. Semakin tinggi konsentrasi gula akan didapatkan konsentrasi sel yang semakin banyak. Penggunaan kondisi vakum tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap produksi etanol.

#### Ucapan terima kasih

Terima kasih disampaikan kepada Dr. Ir. Abdullah, MS., Widayat, ST., MT., dan semua pihak yang telah membimbing dan membantu dalam pelaksanaan penelitian serta penyusunan karya ilmiah ini.

#### Daftar Notasi

BPS : Badan Pusat Statistik

#### Daftar Pustaka

- Bailey, James E. and David F. Ollis, 1986, *Biochemical Engineering Fundamentals*, 2<sup>nd</sup> edition, McGraw-Hill Book Co., Singapore.
- 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.
- Ghasem N, Habibollah Y., Ku S, Ku I., 2004, *Ethanol Fermentation In An Immobilized Cell Reactor Using Saccharomyces cerevisiae*. Bioresour Technol 92:251–260.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.