

FERMENTASI LARUTAN GLUKOSA UNTUK PRODUKSI ETANOL DENGAN TEKNIK IMMOBILISASI SEL *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Yeni Rizki, Syaiful Bahri, Chairul

Laboratorium Teknologi Bioproses
Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Riau
Kampus Bina Widya Km 12,5 Simpang Baru, Panam, Pekanbaru 28293
Email : rizkyeni@gmail.com

ABSTRACT

Ethanol or ethyl alcohol (C₂H₅OH) is an organic compound that is very important in the chemical industry and has many benefits in human life. One way of making ethanol is fermentation. A rising problem in the fermentation process is the inhibition of the ethanol product that will damage the structure of the plasma membrane and cause protein denaturation will result in inhibited microbial growth and lower productivity. In this research, the fermentation process of glucose solution with cell immobilization technique to obtain ethanol at higher levels. This research is aimed to study the process of making ethanol with cell immobilization technique and determine the effect of the initial sugar concentration and fermentation time of the acquisition of ethanol. Fermentation takes place in batch reactor with a volume of 2 liters of fermentation medium, heavy beads of 20% (w/v), pH 5,0. The fermentation process of glucose solution was done at various variations of fermentation time i.e 24, 36, 48, 60, 72, 84 and 96 hours and also various variations of concentration of glucose as the initial sugar i.e 100 mg/ml, 125 mg/ml and 150 mg/ml. The process was stirred at speed of 200 rpm and temperature of fermentation at room temperature (25 – 30°C). Ethanol concentrations were analyzed using Gas Chromatography. From the result was obtained that the maximum fermentation process is shown at glucose concentration of 150 mg/ml and fermentation time of 60 hours with ethanol concentration of 5,149% (v/v) or 40,647 mg/ml.

Keywords : *Ethanol, Fermentation, Immobilized Cells, Saccharomyces cereviceae.*

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Krisis energi adalah masalah yang sangat mendasar di Indonesia. Dalam kehidupan modern, energi sudah tidak dapat dipisahkan dari kehidupan sehari-hari. Tingginya ketergantungan terhadap bahan bakar fosil terutama minyak bumi (sekitar 47%), batubara (27%) dan gas alam (20%) mengakibatkan ketersediaan bahan bakar fosil semakin menipis. Sumber daya fosil merupakan sumber daya alam yang tidak dapat diperbaharui dan lama kelamaan akan habis apabila di eksplorasi secara terus menerus. Sehingga diperlukan adanya pengembangan energi terbarukan seperti produktivitas etanol (Poernomo, 2014).

Etanol merupakan salah satu jenis energi alternatif menyerupai premium yang masuk dalam rencana pengembangan energi baru terbarukan pemerintah Indonesia menjadi salah satu prioritas dan usaha dari pemerintah untuk menjawab persoalan mengenai krisis energi di Indonesia. Dan etanol juga merupakan salah satu produk yang banyak dipakai dalam industri, baik sebagai pelarut, industri kosmetik maupun industri farmasi, selain itu etanol juga dapat digunakan sebagai campuran dengan bensin yang lebih dikenal dengan *gasohol*, atau pemakaian etanol seluruhnya.

Produktivitas etanol dengan menggunakan glukosa dapat dilakukan

dengan menggunakan proses fermentasi sel bebas yaitu dengan menggunakan ragi *Saccharomyces cerevisiae*, glukosa (monosakarida) diubah menjadi etanol dan karbondioksida (Prihandana, 2007). Proses fermentasi ini dilakukan dengan cara mencampurkan ragi *Saccharomyces cerevisiae* dengan substrat gula kedalam gelas erlemeyer yang digoyang di atas shaker dengan kondisi tertentu. Namun cara ini memiliki beberapa kelemahan diantaranya adalah kesulitan dalam memisahkan produk yang dihasilkan dengan sel ragi yang di gunakan (Sebayang, 2006). Sehingga untuk mengatasi kesulitan tersebut maka dilakukan teknik immobilisasi sel untuk memproduksi etanol dimana sel ragi akan dijerat didalam suatu matriks atau membran yang akan menghambat sel untuk bergerak dan menghambat pertumbuhannya sehingga substrat yang diberikan nantinya hanya akan digunakan untuk menghasilkan produk. Selain itu sel yang digunakan juga akan dapat dipisahkan dengan mudah hanya dengan menggunakan kertas saring dan sel juga dapat digunakan kembali setelah fermentasi selesai dilakukan (Azizah, 2014). Namun teknik immobilisasi sel ini juga memiliki dampak negatif yaitu dapat menyebabkan dinding sel *Saccharomyces cerevisiae* mengalami lisis dan menyebabkan kematian, hal dikarenakan kadar etanol yang tinggi sehingga menyebabkan senyawa organik pada dinding sel larut. Untuk mengatasi hal tersebut maka dilakukan upaya dengan cara menambahkan ergosterol dan *Tween80*TM. Diharapkan dengan penambahan komposisi lemak tidak jenuh (ergosterol) mampu menetralkan efek negatif dari etanol dikarenakan asam lemak tidak jenuh dapat meningkatkan fluiditas membran plasma, untuk menggantikan efek penurunan fluiditas yang disebabkan oleh etanol. Dan penambahan *Tween80*TM berguna untuk mempercepat penyerapan ergosterol kedalam membran plasma. Sehingga etanol yang dihasilkan dari fermentasi glukosa dengan teknik *immobilisasi sel* lebih tinggi

daripada etanol yang dihasilkan dengan teknik fermentasi sel bebas.

II. METODE PENELITIAN

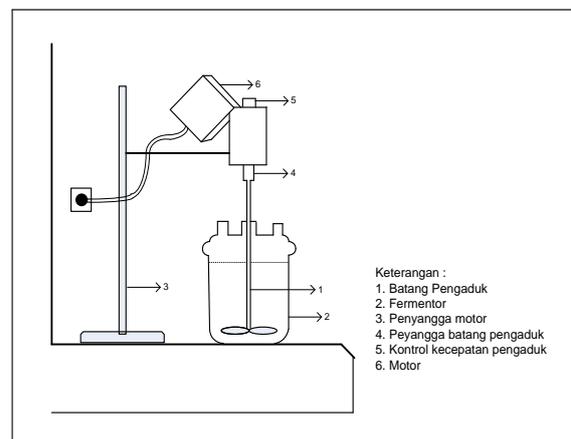
2.1 Bahan dan Alat

2.1.1 Bahan

Bahan baku pada penelitian ini adalah larutan glukosa. Mikroorganisme *Saccharomyces cerevisiae* yang digunakan merupakan produk dari Saf-Instant. Bahan kimia yang digunakan antara lain reagen Nelson-Samogyi, CaCl₂, Urea, NPK, KH₂PO₄, NaOH, H₂SO₄, NaCl, dan aquadest

2.1.2 Alat

Peralatan yang digunakan yaitu rangkaian alat fermentasi seperti ditampilkan pada Gambar 2.1 (fermentor 2 liter, pengaduk, motor pengaduk), autoclave, inkubator, mikroskop, erlenmeyer, gelas piala, labu ukur, gelas ukur, timbangan digital, pipet, dan tabung reaksi serta alat analisa (spektrofotometer UV-VIS dan *Gas Chromatography*).



Gambar 2.1 Rangkaian Alat Fermentasi

2.2 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian terdiri dari beberapa tahap sebagai berikut.

1. Persiapan Bahan Baku

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah nira nipah. Nira nipah hasil penyadapan dilakukan pemanasan untuk mencegah nira nipah supaya tidak menjadi asam dan juga untuk menguapkan sebagian air yang masih banyak terkandung dalam nira nipah.

2. Pembuatan Kurva Standar

Kurva standar glukosa digunakan dalam penentuan konsentrasi glukosa dari substrat dengan metode Nelson–Somogyi (Sudarmadji, 1997). Kurva ini menyatakan hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi glukosa. Dengan kurva ini larutan yang mengandung gula (gula pereduksi) dapat diketahui konsentrasinya dengan menggunakan spektrofotometer sinartampak.

3. Sterilisasi Peralatan

Semua peralatan yang akan digunakan dibersihkan terlebih dahulu dengan cara mencuci peralatan dengan detergen sampai bersih, kemudian dilakukan pengeringan di dalam oven pengering. Setelah dikeringkan peralatan yang terbuat dari kaca disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 15psi. Tabung reaksi terlebih dahulu ditutup menggunakan kapas dan aluminium foil, gelas ukur, pipet tetes kaca, spatula, erlemeyer dan peralatan kaca dibungkus menggunakan koran dan plastik. Peralatan yang terbuat dari plastik disterilkan dengan cara menyemprotnya dengan alkohol 98%.

4. Pembuatan Sel Immobilisasi (Calinescu, 2012)

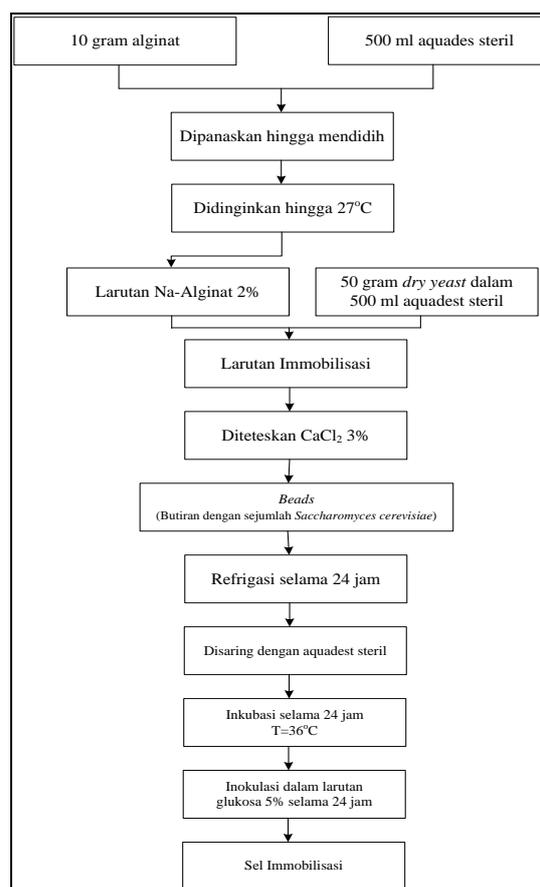
Sel yang digunakan dalam immobilisasi adalah sel *Saccharomyces cerevisiae*, sedangkan bahan pengimmobilisasi digunakan larutan Na-Alginat 2%. Larutan alginat 2% dibuat dengan cara melarutkan 10 gram alginat dalam 500 ml aquades. Larutan di aduk menggunakan *magnetic stirrer* hingga mendidih dan larut. Sementara itu, larutan CaCl₂ 3% disiapkan dengan melarutkan 30 gram CaCl₂ dalam 1000 ml aquades. Larutan alginat dan CaCl₂ di autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, dan kemudian didinginkan.

Dry yeast (saf instant) sebanyak 50 gram dilarutkan dalam 500 ml aquades yang telah disterilkan. Larutan *yeast* diaduk selama 15 menit pada suhu 35°C dengan sangat lambat. Larutan *yeast* dibiarkan

mengendap selama 40 menit, setelah itu diaduk selama 5 menit.

Larutan alginat dicampurkan kedalam larutan *yeast* dan diaduk hingga homogen. Campuran ini diteteskan kedalam larutan CaCl₂ 3% melalui injektor hingga terbentuk *beads*. *Beads* didinginkan selama 24 jam. Setelah 24 jam, *beads* dicuci dengan aquades yang telah steril. Sementara itu, larutan nutrisi disiapkan dengan cara melarutkan 10 gram glukosa, 3 gram KH₂PO₄, dan 4,5 gram Na₂PO₄ dalam 1 liter aquades. Larutan nutrisi di autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah dingin, sebanyak 1 gram *dry yeast* (saf instant) ditambahkan kedalam larutan nutrisi. Larutan nutrisi diteteskan kedalam *beads* yang telah dicuci dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 36°C.

Larutan glukosa 5% disiapkan. Setelah 24 jam, *beads* ditiriskan dari larutan nutrisi dan dimasukkan dalam larutan glukosa 5%. *Beads* di simpan dalam lemari es hingga dilakukan fermentasi.



Gambar 2.3 Pembuatan Sel Immobilisasi

5. Pembuatan Stater Teknik Sel bebas

Pembuatan stater 10% (v/v) yaitu dengan menyiapkan larutan glukosa 150 mg/ml dalam 200 ml aquades sebagai medium pengembang stater yaitu dengan cara melarutkan glukosa sebanyak 30 gram dalam 200 ml aquades. Selanjutnya ditambahkan 0,4 g/L $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ (Urea) dan 0,5 g/L $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ (NPK) kedalam medium pengembang. Kemudian dicek dengan pH 5. Larutan tersebut disterilkan dalam *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C. Kemudian medium pengembang starter didinginkan sampai suhu kamar. Selanjutnya ditambahkan ragi (*Saccharomyces cerevisiae*) 100 g/L yaitu sebanyak 20 gram kedalam medium pengembang dan diaduk menggunakan *shaker* selama 24 jam.

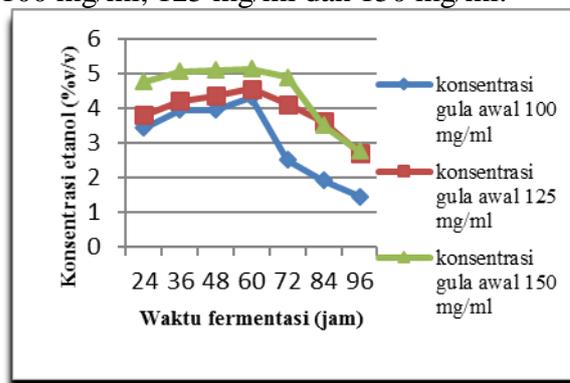
6. Fermentasi

Proses fermentasi untuk teknik immobilisasi sel dimulai dengan sterilisasi medium fermentasi yang terdiri dari nira nipah sebagai substrat yang ditambahkan tween 80 sebanyak 0,2 (v/v), ergosterol sebanyak 0,5 gr/l, $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ (Urea) 0,4 gr/l, $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ (NPK) 0,5 gr/l, dan *yeast extract* 1gr/l. Medium fermentasi tersebut dimasukkan ke dalam labu fermentor 2000 ml lalu di cek pH dan ditutup dengan kapas dan kain kasa kemudian dilapisi dengan aluminium foil. Kemudian dibungkus menggunakan plastik dan disterilkandalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Medium fermentasi yang telah dingin ditambahkan *beads* (sel immobilisasi) 20% (b/v). Dengan variasi konsentrasi larutan glukosa 100, 125 dan 150 mg/ml. Fermentasi dilakukan pada suhu kamar (25-30°C). Waktu fermentasi divariasikan pada 24 jam, 36 jam, 48 jam, 60 jam, 72 jam, 84 jam, 96 jam untuk mengamati pengaruh waktu fermentasi terhadap etanol yang dihasilkan. Begitu juga tahap fermentasi yang dilakukan pada fermentasi dengan teknik sel bebas.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Pengaruh Konsentrasi Larutan Glukosa dan Waktu Fermentasi Terhadap Konsentrasi Etanol

Proses fermentasi etanol pada penelitian ini untuk menentukan pengaruh konsentrasi larutan glukosa yang digunakan terhadap konsentrasi etanol hasil fermentasi yang diukur menggunakan alat *Gas Chromatography*. Kondisi optimum dalam fermentasi larutan glukosa ini ditentukan dengan cara menganalisa konsentrasi etanol yang disajikan dalam bentuk grafik, yaitu dengan membandingkan waktu fermentasi terhadap konsentrasi etanol pada masing-masing variasi konsentrasi larutan glukosa 100 mg/ml, 125 mg/ml dan 150 mg/ml.



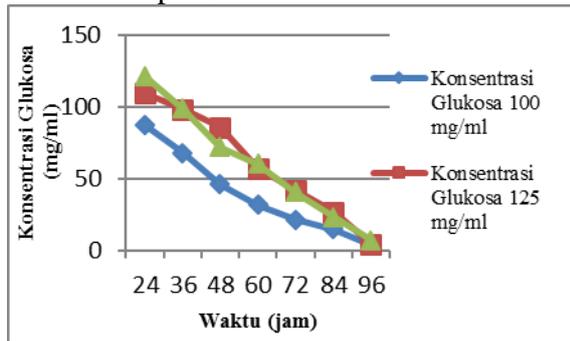
Gambar 3.1 Pengaruh Konsentrasi Glukosa Terhadap Konsentrasi Etanol Hasil Fermentasi

Semakin tinggi konsentrasi gula awal maka konsentrasi etanol yang dihasilkan juga akan semakin tinggi, hal ini dikarenakan dengan semakin tingginya kadar gula di dalam substrat maka semakin besar juga kesempatan mikroorganisme untuk menguraikan gula menjadi produk atau etanol (Winarti, 1996). Konsentrasi etanol meningkat seiring berjalannya waktu fermentasi karena semakin lama waktu fermentasi maka aktivitas ragi semakin tinggi dalam mengkonversi glukosa menjadi etanol.

3.2 Pengaruh Konsentrasi Larutan Glukosa dan Waktu Fermentasi terhadap Konsentrasi Gula Sisa.

Analisa gula sisa bertujuan untuk melihat efektivitas sel immobilisasi dalam

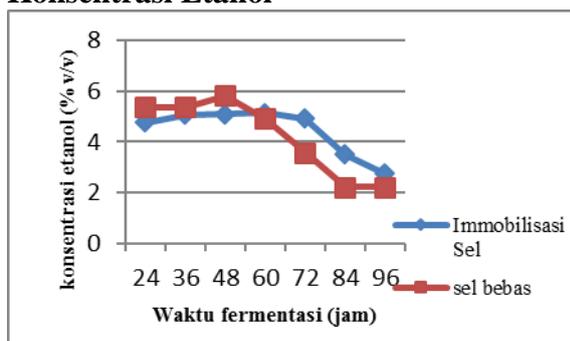
mengkonversi gula menjadi etanol. Berikut ini adalah grafik hubungan konsentrasi gula sisa terhadap waktu fermentasi.



Gambar 3.2. Grafik Pengaruh Variasi Konsentrasi Larutan Glukosa dan Waktu Fermentasi Terhadap Gula Sisa Fermentasi. Semakin lama waktu fermentasi, konsentrasi gula yang ada semakin berkurang. Hal ini menunjukkan adanya penggunaan gula oleh *yeast*. Penurunan konsentrasi gula tersebut terjadi karena *yeast* membutuhkan substrat untuk pertumbuhan, baik memperbanyak maupun mempertahankan sel. Gula digunakan oleh *yeast* untuk beraktivitas sehingga menghasilkan etanol sebagai metabolit primer (Rachman, 1991).

Peningkatan gula awal akan mempengaruhi peningkatan gula sisa karena jumlah mikroorganisme *Saccharomyces cereviceae* yang digunakan dalam penelitian dalam jumlah yang sama pada semua variasi konsentrasi gula awal yang digunakan.

3.3 Pengaruh Fermentasi dengan Teknik Immobilisasi dan Sel Bebas terhadap Konsentrasi Etanol

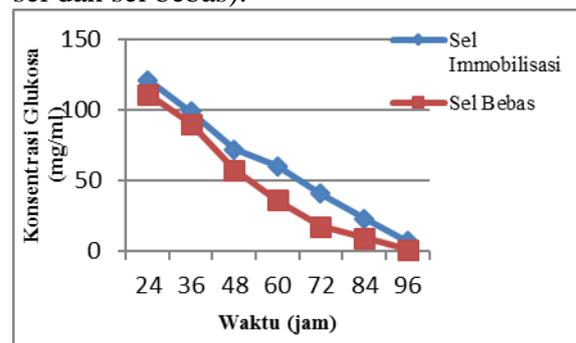


Gambar 3.3. Grafik Pengaruh Teknik Fermentasi Terhadap Konsentrasi Etanol Hasil Fermentasi

Substrat yang digunakan dalam proses fermentasi pada penelitian ini adalah larutan glukosa dengan konsentrasi 150 mg/ml dan dilakukan proses fermentasi dengan teknik yang berbeda (Immobilisasi sel dan sel bebas). Konsentrasi etanol yang dihasilkan pada fermentasi dengan teknik sel bebas lebih tinggi daripada konsentrasi etanol yang dihasilkan dari fermentasi dengan teknik immobilisasi sel. Hal ini dikarenakan pada teknik sel bebas, mikroorganisme langsung berkontak dengan substrat sehingga etanol yang dihasilkan lebih tinggi daripada fermentasi dengan teknik immobilisasi sel.

3.4 Pengaruh Fermentasi dengan Teknik Immobilisasi dan Sel Bebas terhadap Konsentrasi Glukosa

Substrat yang digunakan dalam proses fermentasi pada penelitian ini adalah larutan glukosa dengan konsentrasi 150 mg/ml dan dilakukan proses fermentasi dengan teknik yang berbeda (Immobilisasi sel dan sel bebas).



Gambar 4.4. Grafik Teknik Immobilisasi dan Teknik Sel Bebas Terhadap Konsentrasi Gula Sisa.

Gula sisa pada proses fermentasi dengan teknik immobilisasi sel lebih banyak daripada gula sisa pada fermentasi sel bebas. Banyaknya gula sisa tergantung pada konsentrasi etanol yang dihasilkan. Semakin besar gula yang dimanfaatkan oleh *Saccharomyces cerevisiae* maka semakin tinggi pula konsentrasi etanol yang akan dihasilkan dan semakin kecil gula yang dimanfaatkan oleh *Saccharomyces cerevisiae* maka akan semakin rendah pula konsentrasi etanol yang dihasilkan.

Pada variasi teknik fermentasi (sel immobilisasi dan sel bebas) menunjukkan bahwa semakin rendah nilai konsentrasi gula sisa maka nilai konsentrasi gula yang terfermentasi akan semakin meningkat dengan semakin bertambahnya waktu fermentasi. Hal ini disebabkan gula yang terdapat pada substrat sudah mulai habis terkonversi menjadi etanol dan sebagian digunakan sebagai sumber karbon (C) untuk proses pertumbuhan mikroorganisme (Retno, 2011).

IV.KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa kondisi maksimum dari fermentasi larutan glukosa dengan teknik immobilisasi sel *Saccharomyces cerevisiae* diperoleh pada konsentrasi larutan glukosa 150 mg/ml pada waktu fermentasi 60 jam dengan konsentrasi etanol sebesar 5,149% (v/v) atau 40,647 mg/ml. Dan kondisi maksimum dari fermentasi larutan glukosa dengan teknik sel bebas dapat dilihat pada waktu fermentasi 48 jam dengan konsentrasi etanol sebesar 5,834% (v/v) atau 46,052 mg/ml.

DAFTAR PUSTAKA

- Azizah, Rezita. 2014. *Kajian Penggunaan Tween 80TM Dan Sel Amobil Pada Proses Fermentasi Bioetanol Dari Nira Nipah Kental*. Skripsi. Universitas Riau
- Calinescu,I.,Petre Chipurici, Adrian Trifan, Corina Badoi. 2012. *Immobilisation Of Saccharomyces Cerevisiae For The Production Of Bioethanol*. U.P.B.Sci.Bull Journal. ISSN 1454-2331. Vol 74 Hal:33-40
- Poernomo,A.2014. *Prospek Panas Bumi Untuk Mendukung Ketahanan Energi*.Dewan Energi Nasional.Pekanbaru.
- Prihandana, R., K. Noerwijari, P. Gamawati, Adinuraini, D. Setyaningsih, S. Setiadi, dan R. Handoko. 2007. *Etanol Ubi Kayu Bahan Bakar Masa Depan*. Agromedia. Jakarta.
- Rachman, A.K., dan Y. Sudarto. 1991. *Nipah Sumber Pemanis Baru*. Kanisius, Yogyakarta.
- Retno, D.T. dan W. Nuri. 2011. *Pembuatan Bioetanol dari Kulit Pisang*. UPN Veteran. Yogyakarta.
- Sebayang,Firman.2006. *Pembuatan Etanol dari Molase Secara Fermentasi Menggunakan Saccaromyces cerevisiae yang Terimobilisasi pada Kalsium Alginat*. Hal 75-80. ISSN 1412-7814.
- Sudarmadji,S.,BambangHaryono.,Suhardi., 1997. *Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan Dan Pertanian*. Liberty. Yogyakarta.
- Winarti, S. 1996. *Pengaruh Lama Fermentasi dan Kadar Substrat terhadap Produksi Etanol pada Fermentasi Onggok oleh Saccharomyces cerevisiae*. Fakultas FMIPA Universitas Brawijaya. Malang.