

## Proses Pembuatan Etanol Dari Gula Menggunakan *Saccharomyces Cerevisiae* Amobil

Emmanuela M. Widyanti\* dan Bintang Iwhan Moehadi

Politeknik Negeri Bandung  
Jl. Gegerkalong Hilir, ds. Ciwaruga, Bandung, Jawa Barat 40559, Indonesia  
Email : emmanuela25@ymail.com

### Abstrak

Etanol merupakan bahan kimia yang mempunyai kegunaan sangat luas, didapatkan secara fermentasi menggunakan substrat bahan mengandung gula, bio-katalis dari khamir *Saccharomyces cerevisiae* yang diamobilisasi. Saat ini fermentasi lebih banyak menggunakan bio-katalis dari khamir sebagai sel bebas dan proses secara batch, penggunaan sel amobil dengan proses kontinyu belum banyak dilakukan. Penelitian dilakukan menggunakan substrat sukrosa, glukosa dan gula cair, bio-katalis dari khamir *Saccharomyces cerevisiae* yang diamobilisasi, dilakukan dalam reaktor kolom. Sel amobil didapatkan dengan melakukan pencampuran *Saccharomyces cerevisiae* sebagai inokulum pada kurva pertumbuhan logaritmik 18 jam dicampur Na Alginat 8 % dalam larutan  $\text{CaCl}_2$  2 %. Proses fermentasi dilakukan menggunakan reaktor kolom pada laju alir substrat 6 mL/menit dan waktu tinggal 41,03 menit dengan sistem kontinyu. Hasil dianalisa setiap 30 menit, dari menit ke-0 sampai 240, didapatkan hasil sebagai berikut, sukrosa mengalami penurunan 8,64–7,88 % dan pembentukan etanol 0–3,11 %, sedangkan penurunan glukosa 8,45–7,08% dan kenaikan etanol 0–4,46 %, gula cair terjadi penurunan 8,45–6,94 % dan kenaikan etanol 0–4,46 %, pengujian dilakukan menggunakan brixmeter dan etanol sensor. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perbedaan penurunan substrat tidak terlalu significant, sedangkan pembentukan etanol pada substrat glukosa dan gula cair tidak banyak perbedaan, karena gula cair yang digunakan mempunyai kemurnian tinggi. Dari penelitian tersebut didapatkan bahwa *Saccharomyces cerevisiae* amobil dapat digunakan sebagai bio – katalis dalam pembentukan etanol, hasil yang didapatkan lebih murni dan bio –katalis dapat digunakan lebih dari satu kali.

**Kata Kunci :** sel amobil, *Saccharomyces cerevisiae*, fermentasi, bio-katalis

### Abstract

#### Production Etanol From Sugar With *Saccharomyces Cerevisiae* Immobilized

Etanol is very useful chemical material. Made by *Saccharomyces cerevisiae* immobilized. The most method of etanol fermentation is *Saccharomyces cerevisiae* by batch fermentation processes. Another method called immobilized is not familiar. This research was done in column-reactor using substrat sucrose, glucose and liquid sugar. Immobilized cell is produced by mixed *Saccharomyces cerevisiae* at logarithmic growth curve 18 hour with Na Alginat 18 % and liquid  $\text{CaCl}_2$  2 %. Flow rate of substrat 6 mL/minutes and residence time 41.03 minutes in continuous system. The result of product analyzed every 30 minutes (0–240 minutes) : sucrose decreasing 8.64–7.88 %, etanol produced 0–3.11 %, glucose decreasing 8.45–7.08 %, etanol produced 0–4.46 %, liquid sugar 8.45–6.94 %, etanol increasing 0–4.46 %, measured by brixmeter and etanol sensor. The result of the research : differences of substrat decreasing is not significant, etanol product from glucose and liquid sugar not significant because the purity of liquid sugar is high. The conclusion of the research is *Saccharomyces cerevisiae* immobilized can be use as bio-catalyst in etanol production, the product is have good purity and bio-catalyst can be used more than once.

**Keyword :** Immobilized cell, *Saccharomyces cerevisiae*, fermentation, bio-catalyst

## PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara dengan jumlah penduduk cukup besar, sehingga negara perlu menyediakan berbagai kebutuhan, seperti sandang, pangan, papan dan penyediaan energi seperti bahan bakar.

Peningkatan kebutuhan energi listrik perlu mendapat perhatian, mengingat kebutuhan terus meningkat sepanjang tahun, Selama ini kebutuhan energi dunia dipenuhi oleh sumber daya tak terbarukan seperti minyak bumi dan batu bara. Kondisi ini perlu disikapi dengan mencari sumber energi baru atau peningkatan produksi bahan bakar yang didapatkan dari energi alternatif yang dapat diperbaharui atau dikenal dengan energi terbarukan. Salah satu adalah memanfaatkan biomassa, senyawa organik maupun limbah untuk dikonversi menjadi energi yang bersifat dapat diperbaharui (Arias dan Astriana W, 2011).

Etanol merupakan salah satu bahan bakar alternatif yang perlu dikembangkan, dibuat dari bahan baku yang ketersediaannya melimpah, berharga murah. Bahan bakar ini dalam beberapa dekade terakhir, menjadi salah satu obyek penelitian yang menarik untuk mengetahui potensi dari bahan lignoselulosa dalam memproduksi etanol.

Beberapa industri di Indonesia memanfaatkan dari limbah industri gula atau dibuat dari tetes tebu menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* sebagai sel bebas dengan proses *batch*, sehingga sel hanya dapat digunakan sekali. Penggunaan sel amobil saat ini belum menjadi alternatif, meskipun dalam penggunaan teknologi amobilisasi sel memberikan dampak positif dalam kegiatan pengembangan produk, yaitu dapat digunakan lebih dari sekali, stimulasi produksi metabolit, dan memberikan perlindungan pada sel dari pengaruh lingkungan yang menyebabkan kontaminasi.

Selain itu penggunaan sel amobil akan memudahkan dalam pemisahan produk, sehingga produk yang dihasilkan lebih murni, dapat memberikan peningkatan kepadatan sel sehingga membuat proses lebih efisien. Pengaruh kinerja dari sel amobil akan diterapkan dalam pembuatan etanol menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* dari substrat gula.

## Fermentasi Gula menjadi Etanol

Etanol merupakan salah satu produk penting dalam bidang kesehatan dan energi, dapat dibuat menggunakan metode fermentasi atau biasa juga disebut dengan peragian, yaitu proses perubahan kimia dalam suatu substrat organik yang dapat berlangsung karena aksi katalisator biokimia, yaitu enzim yang dihasilkan oleh mikroba-mikroba hidup tertentu, terjadi karena aktifitas mikroba penyebab fermentasi pada substrat organik sesuai. Fermentasi dapat menyebabkan perubahan sifat bahan pangan, sebagai akibat dari pemecahan kandungan-kandungan bahan pangan tersebut (Fardiaz, 1992), terjadi perubahan kimia dari zat organik karena mikroorganisme penyebab fermentasi bereaksi dengan substrat organik yang sesuai dengan pertumbuhannya (Buckle, 1985).

Menurut Frazier dan Westhoff (1978) proses fermentasi dapat dibedakan atas 2 tingkatan, dapat dijelaskan seperti berikut :

1. Peragian tingkat pertama, berlangsung dalam keadaan aerob (adanya O<sub>2</sub>) yang terlarut dan di permukaan, berfungsi memperbanyak ragi (khamir) yang dapat ditandai timbulnya gas asam arang, reaksi sebagai berikut :



Pada proses fermentasi tingkat pertama tidak ada atau sedikit sekali etanol yang dihasilkan

2. Fermentasi berlangsung dalam keadaan anaerob. Pada tahap ini khamir dan enzim yang dihasilkan sudah cukup banyak, sehingga akan berlangsung fermentasi, sampai sebagian atau seluruh gula dirubah menjadi etanol, dengan reaksi :



Etanol yang dihasilkan dari proses fermentasi dapat digunakan dalam berbagai keperluan antara lain : sebagai pelarut, desinfektan, sebagai bahan baku industri kimia, bahan bakar dan sebagai bahan minuman. Pelczer (1988) menyatakan etanol merupakan sumber energi yang dapat digunakan untuk campuran bahan bakar konvensional, seperti gasohol.

## Amobilisasi Sel

Amobilisasi sel adalah sel yang terjerap dalam matriks tertentu, bahan yang digunakan

sebagai matriks tidak larut dalam substrat, bertujuan membuat sel menjadi tidak bergerak atau berkurang ruang geraknya sehingga sel menjadi terhambat pertumbuhannya dan substrat yang diberikan hanya digunakan untuk menghasilkan produk. Material pendukung berupa sistem matriks, membran atau permukaan zat padat tertentu, biasa digunakan sebagai *carrier* dalam amobilisasi sel. Sistem matriks untuk amobilisasi sel biasanya menggunakan gel polimer hidrofilik molekular tinggi seperti alginat, carragenan dan agarosa. Dengan bahan ini, sel-sel diamobilisasi dengan cara penjebakan dalam gel yang bersangkutan (Prakasham dan Ramakrishna, 1998).

Penggunaan dimaksudkan untuk meningkatkan stabilitas dan membuat sel, organel dan enzim dapat digunakan secara terus menerus (Brodelius, 1987). Sel amobil membuat sel menjadi berkurang ruang geraknya, namun aktivitas katalitik tetap dapat dipertahankan.

Karakteristik dinding sel mikroorganisme satu sama lain berbeda. Perbedaan ini mempengaruhi efektifitas mobilisasinya pada berbagai bahan pendukung. Suatu bahan pendukung tertentu dapat memberikan kualitas amobilisasi yang lebih baik dibandingkan bahan pendukung lain, karena lebih cocok dengan sel yang diamobilisasi, misalnya kesesuaian jumlah gugus hidrofil antara bahan pendukung dan sel. Pada umumnya sel *Saccharomices cerevisiae* diamobilisasi dengan metode *entrapping* menggunakan matriks polisakarida. (Dias, dkk., 2000).

Produksi etanol mempunyai kendala yaitu konsentrasi etanol yang dihasilkan sangat rendah karena produk terakumulasi, sehingga meracuni mikroorganisme pada proses fermentasi. Akumulasi dari produk terlarut yang bersifat racun akan menurunkan secara perlahan-lahan dan bahkan dapat menghentikan pertumbuhan serta produksi dari mikroorganisme (Minier dan Goma, 1982 dalam Mulyanto, dkk, 2009). Menurut Youseff, dkk (1989) dalam Elevri dan Putra (2006) sel *Saccharomyces cerevisiae* yang teramobilisasi dalam matriks Ca-alginat masih mampu mengubah 85% gula menjadi etanol selama 28 hari fermentasi sistem batch.

Menurut Elevri dan Putra, 2006, penggunaan sel amobil dalam pembentukan etanol dengan pengulangan sampai lima kali akan terjadi penurunan etanol sebesar 20,05%.

#### **Aktifitas *Saccharomyces Cerevisea* sebagai Sel Amobil**

Khamir *Saccharomyces cerevisiae* (ragi) merupakan mikroorganisme yang bersel tunggal dengan panjang 1-5  $\mu\text{m}$  sampai 20-50  $\mu\text{m}$ , dan lebar 1-10  $\mu\text{m}$ . Bentuk sel khamir bermacam-macam, yaitu bulat, oval, silinder, ogival yaitu bulat panjang dengan salah satu ujung runcing, segitiga melengkung (triangular), berbentuk botol, bentuk alpukat atau lemon, membentuk pseudomiselium, dan sebagainya seperti pada gambar 2. Ukuran dan bentuk sel khamir mungkin berbeda pada kultur yang sama, karena pengaruh umur sel dan kondisi lingkungan. Gambar 2 memperlihatkan bentuk Sel *Saccharomyces cerevisiae*.



**Gambar 1.** Bentuk Sel *Saccharomyces Cereviseae* (Jean-Michael, 2005)

Kinerja sel berpengaruh terhadap kadar atau konsentrasi etanol yang dihasilkan. Makin banyak gula reduksi yang dimanfaatkan oleh *Saccharomyces cerevisiae* maka makin tinggi pula konsentrasi etanol yang dapat dihasilkan. Hal ini sesuai dengan pendapat Winarti (1996) yang menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi substrat atau gula reduksi yang dapat dipecah oleh sel khamir menjadi etanol maka semakin tinggi pula konsentrasi etanol yang dihasilkan.

**METODOLOGI**

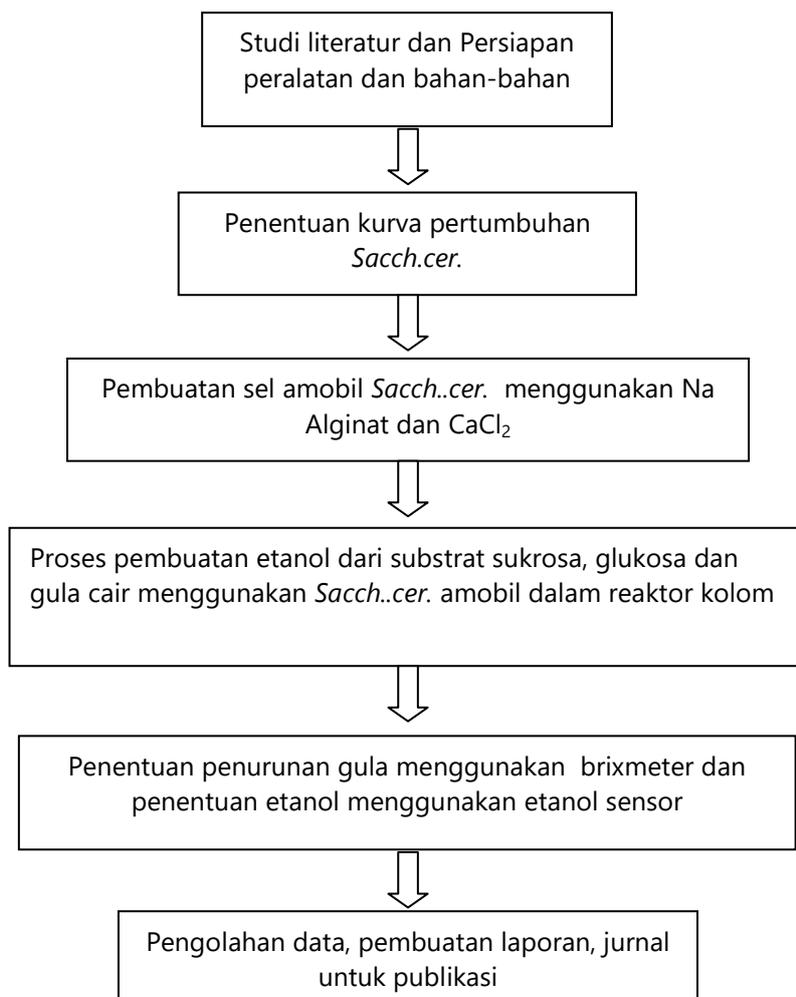
Dalam pembuatan etanol menggunakan substrat sukrosa, glukosa dan gula cair dengan bio katalis *Saccharomyces cerevisiae* amobil dilihat pada Gambar 2.

**Peralatan yang digunakan**

- Peralatan gelas
- Penangas air
- Neraca analitik
- Brixmeter
- Inkubator shaker
- Autoclave
- Hot plate
- Etanol sensor

**Bahan yang digunakan**

- Biakan murni *Saccharomyces cerevisiae*
- Air garam steril
- CaCl<sub>2</sub> 2 %
- Na Alginat 8 %
- Media pertumbuhan *Sacch. cer.*
- Aquadest
- Substrat : sukrosa, glukosa dan gula cair



**Gambar 2.** Tahapan pembuatan etanol dari gula

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Etanol yang didapatkan diharapkan murni dan tidak tercampur dengan bio katalis, selain itu diharapkan bio katalis dapat digunakan lebih dari sekali setelah pencucian dan aktivasi.

### **Penentuan kurva pertumbuhan optimum**

Etanol yang dihasilkan diharapkan mempunyai kemurnian dengan kadar tinggi serta yield yang besar. Berdasarkan kondisi tersebut diharapkan sel amobil sebagai bio katalis mempunyai kinerja yang tinggi, maka digunakan *Saccharomyces cerevisiae* pada pertumbuhan maksimum dengan pembuatan sel amobil dari inokulasi *Saccharomyces cerevisiae* pada kurva logaritmik, diperlihatkan pada Gambar 3, merupakan hasil penelitian Elevri dan Putra (2006)

### **Pembentukan etanol & penurunan kadar gula**

Sel amobil yang dibuat diambil pada kurva logaritmik, yaitu pada jam ke 18 dari kurva pertumbuhan. Kondisi ini diharapkan dapat menghasilkan etanol dengan kadar tinggi, hal ini terjadi karena kinerja *Saccharomyces cerevisiae* tinggi. Percobaan pembuatan etanol dengan substrat sukrosa dilakukan dalam reaktor kolom yang mempunyai volume 246,2 mL, laju alir 6 mL/menit, jadi waktu tinggal 41,03 menit. Hasil

penurunan kadar sukrosa dan kenaikan kadar etanol diperlihatkan Gambar 4.

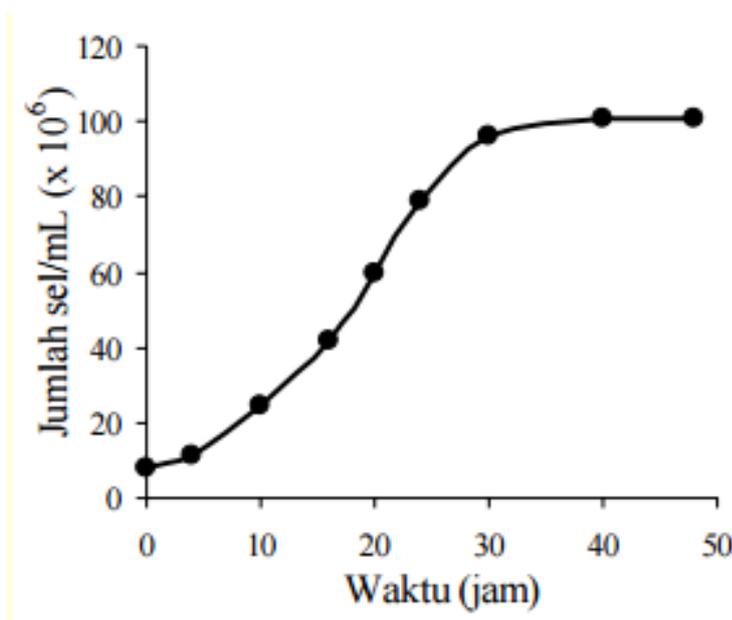
Dari grafik tersebut terjadi penurunan kadar sukrosa dari 8,64 - 7,88 %, sedangkan etanol terjadi kenaikan dari 0 - 3,11 %. Penurunan kadar sukrosa tidak terlalu besar, karena sukrosa merupakan disakarida yang mengalami peruraian menjadi glukosa dan fruktosa dahulu, selanjutnya membentuk etanol dengan kadar terus naik, dari kondisi ini dapat diketahui bahwa sel amobil dari *Saccharomyces cerevisiae* dapat digunakan untuk menghasilkan etanol.

Selain menggunakan substrat sukrosa, dilakukan percobaan pembentukan etanol menggunakan substrat glukosa, diperlihatkan pada Gambar 5.

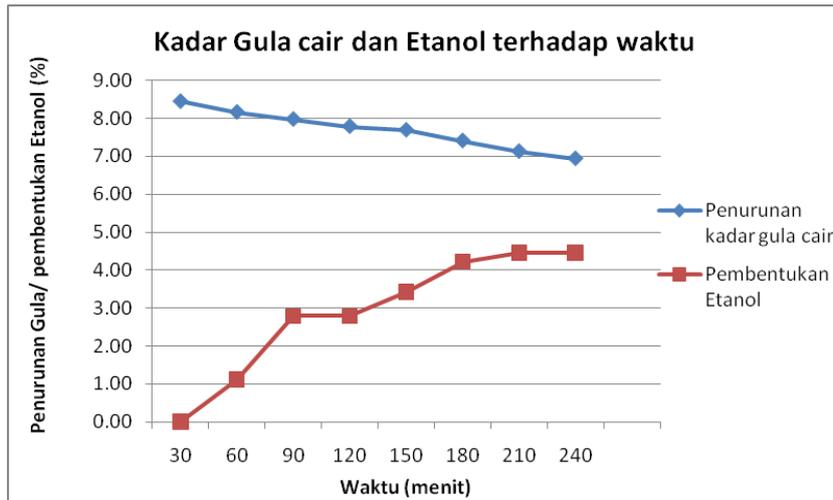
Dari grafik tersebut terjadi penurunan kadar glukosa 8,45-7,08 %, sedangkan etanol terjadi kenaikan 0-4,46 %. Data tersebut menunjukkan bahwa penurunan glukosa lebih besar, karena substrat tidak mengalami peruraian dahulu, tetapi langsung terjadi pembentukan etanol.

Selain menggunakan substrat sukrosa dan glukosa dilakukan penelitian menggunakan substrat gula cair. Hasil pembentukan etanol diperlihatkan pada Gambar 6.

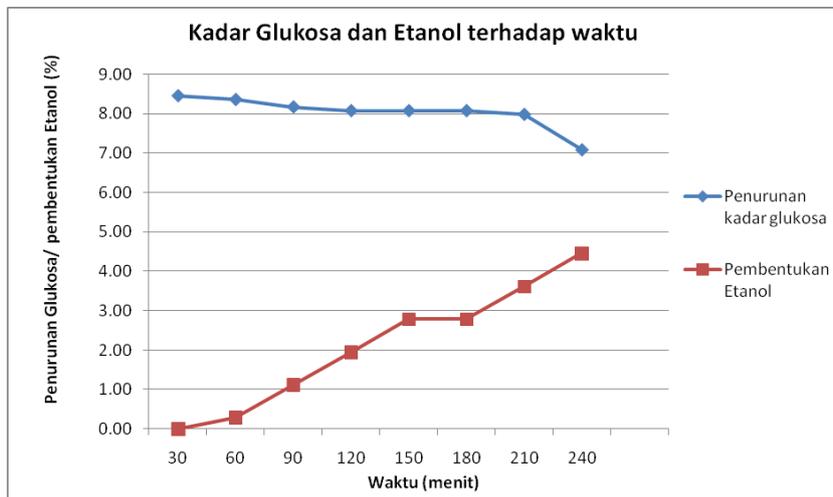
Dari grafik yang diperlihatkan pada gambar 6 didapatkan bahwa penurunan kadar gula cair tidak berbeda jauh dengan penurunan pada sukrosa dan glukosa, yaitu dari 8,45 - 6,94 % sedang pembentukan etanol dari 0 - 4,46 %.



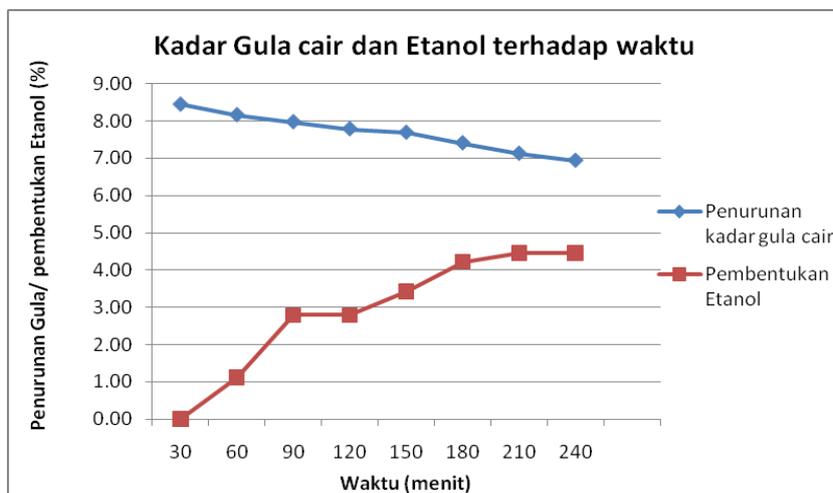
**Gambar 3.** Kurva pertumbuhan *S. cerevisiae* Elevri dan Putra (2006)



Gambar 4. Penurunan kadar sukrosa vs pembentukan etanol



Gambar 5. Penurunan kadar glukosa vs pembentukan etanol



Gambar 6. Penurunan kadar gula cair vs pembentukan etanol

Pembentukan etanol dari gula cair yang didapatkan tidak banyak berbeda dengan menggunakan substrat glukosa. Hasil tersebut menyatakan bahwa gula cair mempunyai kemurnian tinggi dengan kadar glukosa tinggi, sehingga hasil yang didapatkan hampir sama dengan glukosa. Hasil yang didapatkan dari substrat sukrosa, glukosa dan gula cair menunjukkan perbedaan tidak *significant*, sehingga bisa disimpulkan ketiganya dapat digunakan sebagai substrat dalam menghasilkan etanol, disamping itu *Saccharomyces cerevisiae* amobil dapat digunakan sebagai bio-katalis dalam menghasilkan etanol. Penggunaan sel amobil sebagai bio-katalis perlu mendapat perhatian, mengingat keuntungan dari sel amobil, yaitu dapat digunakan lebih dari sekali, disamping kemurnian produk lebih tinggi. Peningkatan jumlah sel *Saccharomyces cerevisiae* dan penurunan konsentrasi gula reduksi ini diikuti dengan peningkatan konsentrasi etanol (Gambar 4,5 dan 6). Hal ini menunjukkan bahwa gula reduksi merupakan faktor penting bagi sel *Saccharomyces cerevisiae* sebagai sumber energi untuk melakukan metabolisme yang pada akhirnya akan berpengaruh terhadap konsentrasi etanol yang dihasilkan. Makin banyak gula reduksi yang dapat dimanfaatkan oleh sel *Saccharomyces cerevisiae* makin tinggi pula konsentrasi etanol yang dihasilkan.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian untuk mengetahui kinerja bio-katalis *Saccharomyces cerevisiae* amobil menggunakan substrat sukrosa, glukosa, dan gula cair dalam menghasilkan etanol, didapatkan hasil sebagai berikut :

1. Penggunaan khamir *Saccharomyces cerevisiae* pada pertumbuhan optimum dapat menaikkan kinerja bio-katalis, memberikan hasil yang optimum, yaitu pada jumlah sel  $60 \times 10^6$  sel/mL pada waktu 18 menit.
2. Kinerja *Saccharomyces cerevisiae* amobil terus meningkat dengan pengambilan karbon dari substrat yang digunakan, yaitu terjadi penurunan konsentrasi gula reduksi, dan diikuti peningkatan konsentrasi etanol
3. Penurunan sukrosa dari hasil dianalisa setiap 30 menit, dari menit ke-0 sampai 240,
4. Didapatkan hasil sebagai berikut, sukrosa mengalami penurunan 8,64–7,88 %
5. Pembentukan etanol 0–3,11 %, sedangkan penurunan glukosa 8,45–7,08 % dan kenaikan etanol 0–4,46 %, gula cair terjadi penurunan 8,45–6,94 % dan kenaikan etanol 0–4,46 %, pengujian dilakukan menggunakan brixmeter dan etanol sensor.

## DAFTAR PUSTAKA

- Arias, G. & Astriana W.E.. 2011. Variasi Kondisi Operasi Steam Pretreatment Sawdust (Serbuk Kayu) Sebagai Bahan Baku Produksi Glukosa, Jurusan Teknik Kimia FTI-ITS. Surabaya.
- Brodellius P., Dalam: T.K. Ghose (Ed.), *Advances in Biochemical Engineering*, 10, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (1978), pp. 75–129
- Bucke, C. 1982. Industrial use of immobilized enzymes and cells. Dalam: Flegell, T.M.V., Bhumiratana, A. & Matangkasombut, P. (Eds). *Immobilized Microbial Enzymes dan Cells. Proceeding of Regional Workshop*. Mahidol University. Bangkok. Thailand.
- Dias, J.C.T., Rezende, R.P. & Linardi, V.R., 2000. Biodegradation of acetonitrile by cells of *Candida guilliermondii* UFMG-Y65 immobilized in alginate, kappa-carrageenan and citric pectin. *Brazilian Journal of Microbiology*, 31(1):61-66.
- Elevri, P.A. & Putra, S.R., 2006. Produksi etanol menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* yang diamobilisasi dengan agar batang. *Akta Kimindo*, 1(2):105-114.
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan*, Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Frazier, W.C. & Westhoff, D.C. 1978. *Food Microbiology*. Mc Graw-Hill Book Company, New York.
- Jean, M. 2005. *Saccharomyces cerevisiae*. [http://www.inra.fr/internet/directions/dic/presse/Communique/images/sia2004/saccharomyces\\_cerevisiae\\_l.jpg](http://www.inra.fr/internet/directions/dic/presse/Communique/images/sia2004/saccharomyces_cerevisiae_l.jpg).
- Mulyanto, W., Hakim, A. & Frastiawan, E. 2010. Produktifitas Etanol dari Molases dengan Proses Fermentasi Kontinyu Menggunakan *Zymomonas mobilis* dengan Teknik Immobilisasi Sel K-Karaginan dalam Bioreaktor Packed-Bed, Laboratorium

Teknologi Biokimia Jurusan Teknik Kimia FTI-  
ITS Kampus ITS Sukolilo, Surabaya Jawa Timur  
Prakasham, R.S. & Ramakrishna, S.V. 1998.  
Microbial fermentations with immobilized

cells, Lecture Handouts, Biochemical and  
Environmental Engineering, Indian Institute of  
Chemical Technology, India