

5(2) Juli 2006: 75 – 80  
ISSN 1412-7814

## **Pembuatan Etanol dari Molase Secara Fermentasi Menggunakan Sel *Saccharomyces cerevisiae* yang Terimobilisasi pada Kalsium Alginat**

**Firman Sebayang**

Departemen Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Sumatera Utara, Medan 20155

---

**Abstrak**

Telah dilakukan penelitian tentang fermentasi molase menjadi etanol menggunakan sel *Saccharomyces cerevisiae* imobil dalam suatu fermentor batch sistem teraduk. Kadar etanol ditentukan secara titrasi volumetri dengan metode oksidasi kalium bikromat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh berat bead dan waktu fermentasi molase terhadap kadar etanol. Perlakuan penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan dua faktor yaitu: faktor pertama berat bead yang terdiri dari 3 taraf masing – masing 8, 10, dan 12 gram dan faktor kedua waktu fermentasi yang terdiri dari 4 taraf masing – masing 12, 24, 36, dan 48 jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ada pengaruh besar bead dan waktu fermentasi terhadap kadar etanol yang dihasilkan. Kadar etanol diperoleh maksimum 12,9386% pada berat bead 10 gram dengan waktu fermentasi 36 jam.

**Kata kunci:** molase, etanol, fermentasi, *Saccharomyces cerevisiae*, imobilisasi, alginat

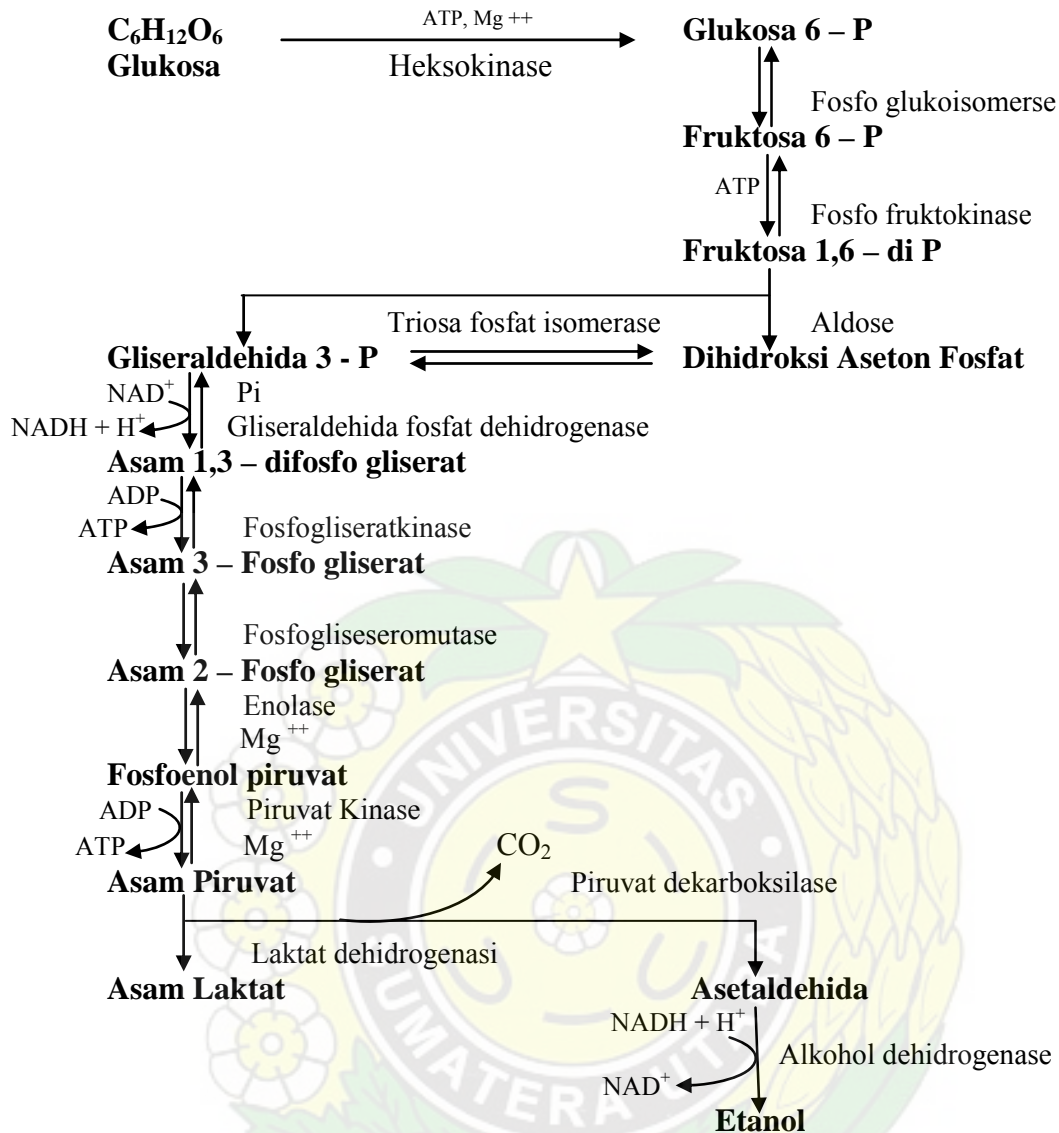
---

**Pendahuluan**

Etanol atau lebih dikenal dengan alkohol mempunyai rumus kimia  $C_2H_5OH$ . Etanol sudah ditemukan sejak ratusan tahun lalu yakni pada proses peragian gula menjadi arak yang dikenal sebagai minuman keras. Pada saat ini etanol banyak digunakan sebagai bahan kosmetik, obat-obatan, pembuatan karet sintesis bahkan sebagai bahan bakar motor yang dikenal sebagai gasohol, petranol. Adanya krisis energi minyak bumi yang terjadi selama ini maka usaha pemanfaatan etanol sebagai bahan bakar motor/mobil semakin intensif. Fermentasi merupakan salah satu upaya untuk mengubah senyawa karbohidrat menjadi etanol dengan bantuan mikroorganisme.

Molase (tetes tebu) merupakan hasil samping dari industri pengolahan gula yang masih mengandung gula cukup tinggi.

Kandungan gula molase terutama sukrosa berkisar 48 – 55%, sehingga merupakan bahan baku yang cukup potensial untuk pembuatan etanol (Prescott & Dunn 1959). Kandungan gula sebesar 10 – 18% dalam medium fermentasi umumnya menghasilkan etanol yang cukup memuaskan. Fermentasi adalah suatu proses perubahan kimia yang disebabkan oleh aktivitas mikroba ataupun oleh aktivitas enzim yang dihasilkan mikroba. Jalur metabolisme karbohidrat yang pernah diselidiki adalah sistem fermentasi etanol oleh khamir. Salah satu jenis khamir yang produktif dan sering digunakan ialah *Saccharomyces cerevisiae*. Dalam fermentasi ini glukosa didegradasi menjadi etanol dan  $CO_2$  melalui suatu jalur metabolisme yang disebut glikolisis. Jalur glikolisis disebut juga sebagai jalur Embden–Meyerhof–Parnas. Secara keseluruhan mekanisme utama fermentasi etanol melalui jalur Embden–Meyerhof–Parnas terlihat pada Gambar 1 (Berry 1988).



GAMBAR 1: Lintasan Embden – Meyerhof – Parnas

Selama ini proses fermentasi menggunakan cara yang konvensional yaitu dengan mencampurkan sel ragi (*Saccharomyces cerevisiae*) dengan substrat gula dalam gelas erlenmeyer yang digoyang dalam *shaker* pada kondisi tertentu. Cara ini mempunyai kelemahan karena pemisahan produk lebih sulit dan sel ragi yang bercampur dengan produk sulit dipisahkan. Untuk mengatasi cara konvensional dilakukan dengan teknik imobilisasi sel untuk memproduksi etanol dengan menggunakan bahan baku molase.

Proses imobilisasi sel adalah suatu proses di mana pergerakan sel di dalam ruang dibatasi. Dalam penelitian ini sel-sel ragi

dijerat (dijebak) dengan menggunakan gel kalsium alginat. Bila larutan natrium alginat dicampur dengan larutan  $\text{CaCl}_2$  maka segera terbentuk gel yang tidak larut dalam air. Reaksi antara natrium alginat dengan  $\text{CaCl}_2$  dapat dimanfaatkan dalam imobilisasi sel-sel ragi yang merupakan biokatalis dalam upaya memproduksi etanol dari molase secara fermentasi. Fermentasi etanol dengan menggunakan sistem imobilisasi sel memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan cara konvensional karena dengan menggunakan sel terimobilisasi pemisahan produk lebih mudah serta stabilitas sel dapat dipertahankan (Bangun 1991; Ramakrishna 1997; Yekta 2000).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh berat *bead* dan waktu fermentasi terhadap produksi etanol dari molase menggunakan sel *Saccharomyces cerevisiae* yang terimobilisasi pada Ca-alginat.

## Bahan dan Metode

### Bahan-bahan

Molase, *Saccharomyces cerevisiae*, PDA (*Potato Dextose Agar*), pepton, YGP (*Yeast Glucose Pepton*), larutan kalium bikromat, larutan ferro amonium sulfat, indikator feroin, kalsium klorida, natrium alginat, NaCl, *buffer* sitrat pH 4, amonim sulfat, 1,10 – O – Phenantrolin, magnesium sulfat, kalium hidrogen fospat, asam klorida.

### Alat-alat

Fermentor *batch* sistem teraduk, cawan *petridish*, *autoklaf*, *hemacytometer*, buret, termometer, *hand-refractometer*, labu erlenmeyer, labu ukur.

### Metode penelitian

1. Penanaman *Saccharomyces cerevisiae* dengan metode cawan gores
  - a. Penyediaan biakan stok.
  - b. Sediaan *Saccharomyces cerevisiae* dibiakkan pada media pertumbuhan PDA (*Potato Dextose Agar*), diinkubasi selama 2 hari pada suhu 30°C.
  - c. Pertumbuhan subkultur *Saccharomyces cerevisiae* (kultur perantara).
  - d. Hasil biakan yang diperoleh dibiakkan kembali ke dalam media pertumbuhan cair YGP (*Yeast Glucose Peptone*), lalu diinkubasi selama 2 hari pada suhu 30°C.
  - e. Pembuatan *Starter*
    - 100 ml media pertumbuhan YGP ditambah dengan 0,1 g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0,04 g MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O, 0,2 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> dan 10 ml *buffer* sitrat 0,1 M dengan pH 4,0.
    - Larutan disterilkan di dalam *autoklaf* suhu 121°C selama 15 menit kemudian didinginkan hingga suhu kamar.
    - Suspensi diinokulasi dengan 10 ml sub- kultur *Saccharomyces cerevisiae* murni dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 2 hari.
2. Imobilisasi sel ragi
  - 1 ml suspensi hasil inkubasi diambil lalu jumlah sel dihitung dengan menggunakan *hemacytometer*.
3. Fermentasi molase
  - Fermentor *batch* sistem teraduk dirangkai dan fermentor dicuci dengan etil alkohol.
  - 500 ml molase 17% dimasukkan ke dalam gelas erlenmeyer dan ditambah dengan 1,73 g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 0,51 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 0,183 g MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O, dan pH 4 diatur dengan penambahan HCl 2 N lalu ditambahkan 10 ml *buffer* sitrat pH 4.
  - Larutan dipasteurisasi di dalam penangas air pada suhu 80°C selama 15 menit dan didinginkan hingga suhu kamar kemudian dimasukkan ke dalam fermentor.
  - *Bead* diinkubasi dengan larutan *yeast* ekstrak 2% selama 15 menit pada suhu 30°C dan kemudian disaring dan dimasukkan ke dalam fermentor dengan variasi berat yang telah ditentukan yaitu 8, 10, dan 12 gram.
  - Kemudian fermentasi dilakukan pada suhu 30°C selama variasi waktu yang telah ditentukan yaitu 12, 24, 36, dan 48 jam.
4. Analisa Kadar Alkohol
  - 5 ml hasil fermentasi diencerkan dengan akuades pada labu takar 50 ml sampai garis tanda.
  - Dipipet 1 ml larutan tersebut dan dimasukkan ke dalam gelas erlenmeyer dan ditambahkan dengan 5 ml K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> 0,689 N.
  - Dan dipanaskan dalam penangas air pada suhu 80°C selama 15 menit kemudian didinginkan pada suhu kamar.



- Kemudian dititrasi dengan  $\text{FeSO}_4 (\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$  0,3933 N hingga terbentuk larutan hijau terang.
- Kemudian ditambahkan 3 tetes indikator ferroin dan dititrasi kembali dengan  $\text{FeSO}_4 (\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$  0,3933 N sampai diperoleh larutan coklat kemerahan, dan dihitung volume titrasinya.
- Dilakukan juga perlakuan yang sama untuk blanko.

dan kadar alkohol terendah pada perlakuan berat *bead* 8 g dengan lama fermentasi 12 jam yaitu sebesar 2,8517%.

Semakin banyak *bead* yang ditambahkan menunjukkan konsentrasi sel *Saccharomyces cerevisiae* yang terimobilisasi juga semakin banyak terdapat dalam fermentor. Semakin banyak *bead* yang digunakan maka aktivitas *Saccharomyces cerevisiae* untuk menghasilkan enzim akan semakin tinggi. Dengan semakin tingginya enzim yang dihasilkan maka proses konversi gula oleh enzim menjadi alkohol akan semakin cepat berlangsung (Judoamidjojo 1990). Sedangkan waktu yang semakin lama pada proses fermentasi akan memberikan kesempatan bagi enzim untuk merombak gula menjadi alkohol semakin banyak (Setyohadi 1993).

## Hasil dan Pembahasan

Dari penelitian yang dilakukan diperoleh hasil bahwa variasi berat *bead* dan lamanya waktu inkubasi sangat mempengaruhi produksi alkohol dengan menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* yang terimobilisasi.

Bertambah besarnya jumlah *bead* memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap kenaikan produksi alkohol melalui proses immobilisasi sel *Saccharomyces cerevisiae*.

Bertambah besarnya waktu inkubasi yang digunakan pada proses fermentasi tersebut, memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap kenaikan produksi alkohol yang dihasilkan. Hal ini dapat diperlihatkan pada Tabel 1 dan Gambar 2.

Dari Tabel 1 dan Gambar 2 dapat dilihat bahwa untuk masing – masing berat *bead*, kadar alkohol naik dengan semakin lamanya fermentasi. Kadar alkohol tertinggi diperoleh pada perlakuan berat *bead* 10 g dengan lama fermentasi 36 jam yaitu sebesar 12,9387%

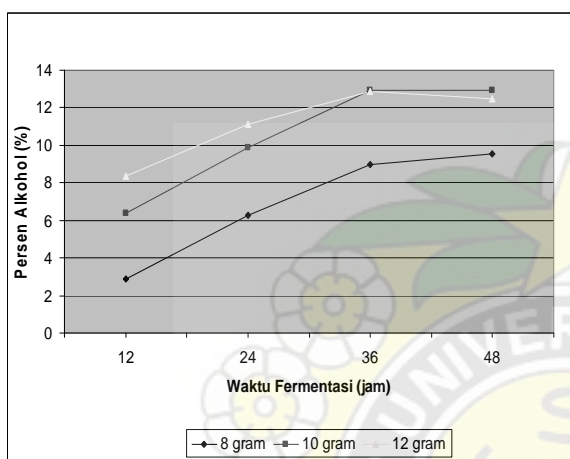
Pada perlakuan berat *bead* 12 g dengan lama fermentasi 48 jam terjadi penurunan kadar alkohol yang dihasilkan yaitu 12,503%. Hal ini kemungkinan dapat disebabkan karena terjadinya oksidasi etanol menjadi asetalhidid dan selanjutnya dioksidasi menjadi asam asetat. Kondisi ini akan mengakibatkan media fermentasi semakin asam (terjadi perubahan pH). Hal ini juga dapat disebabkan karena meningkatnya pembentukan produk yang diikuti pula dengan meningkatnya evolusi panas sehingga suhu medium meningkat. Dalam hal demikian, alkohol yang dihasilkan dapat hilang melalui penguapan dan terikut keluar dengan gas  $\text{CO}_2$  (Ayres 1980).

**TABEL 1:** Data hasil pengaruh berat *bead* dan waktu inkubasi terhadap produksi alkohol dengan menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* yang terimobilisasi.

No.	Kombinasi Perlakuan		Kelompok			TAB	YAB
	A Berat <i>bead</i> (gram)	B Waktu inkubasi (jam)	I	II	III		
1	8	12	2,8170	2,8960	2,8690	8,5550	2,8517
		24	6,0810	6,2630	6,4200	18,7640	6,2547
		36	8,9530	8,5610	9,3440	26,8580	8,9527
		48	9,4750	9,3440	9,8660	28,6850	9,5617
	10	12	5,5580	6,2110	7,3600	19,1290	6,3763
		24	9,9700	10,2320	9,3690	29,5710	9,8570
		36	12,6080	13,2610	12,9470	38,8160	12,9386
		48	12,6600	13,2870	12,8600	38,8070	12,9357
	12	12	8,6910	8,4040	8,0390	25,1340	8,3780

	24	10,8500	11,3030	11,1720	33,3250	11,1083
	36	13,1040	12,8900	12,5820	38,5760	12,8587
	48	12,5560	12,7910	12,1640	37,5110	12,5037
<b>Total kombinasi (TK)</b>		<b>113,3230</b>	<b>115,4160</b>	<b>114,9920</b>	<b>343,7310</b>	<b>114,5770</b>
					<b>T ijk</b>	<b>Yijk</b>

Laju kematian eksponensial akan terlihat pada Gambar 2. Pada perlakuan berat *bead* 12 g setelah fermentasi 36 jam, peningkatan pertumbuhan sel akan terhenti dan sel mulai mati seterusnya kekurangan nutrisi atau terbentuknya toksis.



**GAMBAR 2:** Hubungan interaksi berat *bead* dan waktu inkubasi terhadap kadar alkohol

## Kesimpulan dan Saran

### Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang diperoleh dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Pemberian variasi berat *bead* dan waktu inkubasi memberikan pengaruh yang nyata terhadap produksi alkohol dari molase.
2. Tingkat produksi alkohol maksimum diperoleh dengan pemberian berat bead 10 gram, dengan waktu inkubasi 36 jam dengan kadar alkohol 12,9386%.

### Saran

Penelitian ini hanya membahas pengaruh jumlah bead dan waktu inkubasi terhadap produksi alkohol dari molase, maka perlu disarankan untuk melakukan penelitian tentang pengaruh pemakaian bead secara berulang terhadap produksi alkohol dengan menggunakan sistem immobilisasi sel.

### Daftar Pustaka

- Prescott, S.C. & Dunn, C.G. 1959. *Industrial Microbiology*. Third Edition, Mc Graw-Hill Book Co. New York.
- Berry, D.R. 1988. *Physiology of Industrial Fungi*. Blackwell Scientific Publications. Oxford. London.
- Bangun, H. 1991. *Enkapsulasi Dan Pelepasan Natrium Salisilat Dari Hidrogel Alginat*. Medan.
- Ramakrishna, S. V. 1997. *Microbial Fermentation With Immobilized Cells*. Biochemical and Environmental engineering. Hyderabad. India.
- Yekta, G. 2000. *Production Of Ethanol From Beet Molasses By Ca-Alginate Immobilized Yeast Cells In a Packed-Bed Bioreactor*. Ege University Press. Turkey.
- Judoamidjojo, M. 1990. *Teknologi Fermentasi*. Rajawali Press. Jakarta.
- Setyohadi. 1993. *Pengaruh Penggunaan Inokulum Yeast dan Lama Fermentasi terhadap Produksi Alkohol Yang Dihasilkan dari Bahan Limbah Molase*. Medan.
- Ayres, J.C. 1980. *Microbiology of Food*. W.H. Freeman and Company San Fransisco.



**GAMBAR 3:** Alat fermentasi etanol



**GAMBAR 4:** Sel *Saccharomyces cerevisiae* imobil

