



Produksi Etanol Proses Sinambung dengan *Schizosaccharomyces Pombe*

Panca Nugrahini Febriningrum

Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Lampung,
Jl. Prof. Dr. Soemantri, Bojonegoro No. 1, Bandar Lampung
E-mail: panca_nugrahini@yahoo.com

Abstract

Ethanol is one of fermentation products which are mostly used as solvent in pharmaceutical and chemical industries. Ethanol production by fermentation generally uses yeast from *Saccharomyces* and *Schizosaccharomyces*. The fermentation of ethanol by both processes yields great quantities of ethanol. Optimum productivity in ethanol fermentation by continuous process using *Schizosaccharomyces pombe* was obtained at initial substrate concentration of 200g/L, with value as much of 7.342g/L-hour at dilution rate of 0.1/hour, 4.643 g/L-hour at dilution rate of 0,06/hour and 3.213g/L-hour at dilution rate of 0.04/hour. The highest value of ethanol coefficient $Y_{P/S}$ obtained at initial substrate concentration of 100g/L was as much of 0.461 at batch process, while values of ethanol coefficient $Y_{P/S}$ obtained were in the range of 0,477-0,511 in continuous process, which were higher than those of batch process.

Keywords: continuous process, ethanol, *schizosaccharomyces pombe*

1. Pendahuluan

Etanol yang merupakan salah satu produk fermentasi diproduksi secara komersial sekitar tahun 1880. Etanol dapat dimanfaatkan sebagai pelarut, bahan baku pembuatan bahan kimia pada industri farmasi dan kimia, serta sebagai bahan pencampur bahan bakar alternatif pengganti bahan bakar minyak (Ollis dkk., 1986).

Produksi etanol di Indonesia dari tahun ke tahun cenderung meningkat (Dian dkk., 1998). Kebutuhan etanol yang semakin meningkat menyebabkan upaya pembuatan etanol dengan proses yang lebih ekonomis terus dilakukan. Karakteristik etanol yang diinginkan dalam suatu industri etanol secara fermentasi terutama ditentukan oleh mikroorganisma yang digunakan pada proses fermentasi tersebut. Mikroorganisma yang digunakan harus memberikan perolehan etanol yang besar, laju fermentasi yang tinggi, daya tahan yang tinggi terhadap produk etanol yang dihasilkan, mampu bertahan pada temperatur yang tinggi, dan stabil pada kondisi fermentasi yang sesuai (Monich, 1968).

Fermentasi etanol tradisional dilakukan secara curah (*batch*) agar dapat mengendalikan persyaratan-persyaratan yang harus dipenuhi dalam produksi minuman beralkohol, misalnya aroma, rasa, dan warna. Proses fermentasi curah memadai untuk memenuhi kebutuhan etanol dalam jumlah kecil. Dengan kemajuan dan perkembangan

ilmu pengetahuan teknologi mengakibatkan kebutuhan etanol makin meningkat dalam kehidupan manusia (Aiba dkk., 1979).

Fermentasi secara sinambung merupakan salah satu cara yang telah dikembangkan sebagai pengganti proses curah untuk meningkatkan produktivitas dan memupuskan kendala pada proses curah. Kendala yang umum dihadapi pada proses curah adalah inhibisi substrat dan inhibisi produk (etanol yang besar). Aliran produk yang keluar pada proses sinambung dapat dilakukan pada setiap saat, sehingga penimbunan etanol dalam bioreaktor tidak akan tercapai dan volume media fermentasi dapat dijaga tetap akibat laju alir umpan yang sama dengan laju pengambilan produk (Cysewski, 1986).

Kebutuhan etanol yang semakin meningkat menyebabkan upaya pembuatan etanol dengan proses yang lebih ekonomis terus dilakukan. Karakteristik yang diinginkan dalam suatu industri etanol secara fermentasi terutama ditentukan oleh mikroorganisma yang digunakan pada proses fermentasi tersebut. Mikroorganisma yang digunakan harus memberikan perolehan etanol yang besar, laju fermentasi yang tinggi, daya tahan yang tinggi terhadap produk etanol yang dihasilkan, mampu bertahan pada temperatur yang lebih tinggi, dan stabil pada kondisi fermentasi yang sesuai. Perolehan etanol yang tinggi dan laju fermentasi yang cepat merupakan syarat mutlak untuk memperoleh etanol dalam sistem produksi etanol (Maiorella, 1986).

Salah satu spesies alternatif yang dapat memenuhi kriteria seperti di atas adalah *Schizosaccharomyces pombe*. *Schizosaccharomyces pombe* mempunyai sifat tahan terhadap konsentrasi etanol yang tinggi, mempunyai laju fermentasi etanol yang tinggi, dan menghasilkan kandungan padatan yang tinggi dalam *stillage*. Kandungan padatan yang tinggi dalam *stillage* akan memudahkan pengolahan limbah fermentasi (Dian dkk., 1998).

2. Metodologi

2.1 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah glukosa, ekstrak ragi, NH_4Cl , KH_2PO_4 , Na_2HPO_4 , CaCl_2 , MgSO_4 . Mikroorganisma yang digunakan adalah *Schizosaccharomyces Pombe* ITB-CC-R-86. Alat yang digunakan adalah fermentor tangki berpengaduk dengan volume total 5 liter dan volume kerja 3 liter.

2.2 Prosedur Penelitian

Penelitian pertama kali dilakukan dalam tiga tahap kegiatan kerja yaitu penyediaan biakan murni, penyediaan inokulum sel awal dan penyediaan inokulum sel akhir, sebelum dilakukan penelitian yang utama yaitu penyediaan etanol yang dilakukan dalam dua tahap yaitu proses curah dan proses sinambung.

2.2.1 Proses Curah

Medium fermentasi tambahan sebanyak 3 liter dimasukkan secara aseptik ke dalam fermentor. Pemasukkan medium ini dilakukan pada saat pengembangan sel akhir mencapai fasa eksponensial pada kurva pertumbuhan sel dan diperoleh konsentrasi sel sebesar 10 gL^{-1} sel. Fermentasi ini dilakukan secara curah, sampel diambil setiap 4 jam secara duplo dan dianalisa konsentrasi glukosa, konsentrasi sel dan konsentrasi etanol. Sampel pertama dinyatakan sebagai sampel pada jam ke-0. Konsentrasi substrat awal yang digunakan terdiri dari tiga variabel. Ketiga variabel yang dimaksudkan itu antara lain: 100, 200 dan 300 gL^{-1} . Penggunaan ketiga konsentrasi awal berbeda mempunyai tujuan untuk menentukan tahap optimum pada proses pertumbuhan sehingga produktivitas etanol tertinggi dapat tercapai pada tahap optimum pertumbuhan.

2.2.2 Proses Sinambung

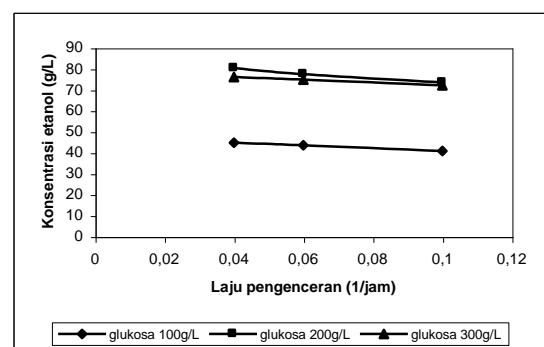
Fermentasi etanol secara sinambung dilakukan bila konsentrasi sel telah mencapai 25 gL^{-1} sel. Laju alir umpan pada proses fermentasi sinambung ditentukan sesuai dengan waktu tinggal yang dipilih: 8, 16, 24 dan 32 jam. Konsentrasi umpan pada fermentasi sinambung yang dipilih sama dengan fermentasi curah: 100, 200 dan 300 gL^{-1} . Konsentrasi awal dan waktu tinggal berbeda pada penelitian ini dimaksudkan untuk menentukan konsentrasi substrat optimum terhadap waktu tinggal sehingga produktivitas etanol tertinggal dapat tercapai.

3. Hasil Dan Pembahasan

3.1 Percobaan Utama

Fermentasi sinambung dilakukan setelah proses fermentasi curah, yaitu pada fasa eksponensial, ketika jumlah sel *Schizosaccharomyces pombe* mencapai jumlah yang maksimum yaitu antara $20\text{--}30 \text{ g/L}$, jumlah ini ditempuh selama 16 jam pertama pada proses fermentasi curah. Hal ini bertujuan untuk memperoleh konsentrasi produk (etanol) yang maksimum sehingga produktivitas sinambung yang maksimum dapat dicapai.

Pada tempuhan sinambung hubungan antara konsentrasi etanol dengan waktu tinggal memberikan indikasi bahwa konsentrasi etanol naik dengan penambahan waktu tinggal (Gambar 1). Hal ini disebabkan karena dengan makin besarnya waktu tinggal, sel ragi *Schizosaccharomyces pombe* akan mengadakan kontak yang lebih lama dengan substrat, sehingga etanol yang dihasilkan lebih tinggi.



Gambar 1. Pengaruh laju pengenceran terhadap konsentrasi etanol untuk setiap konsentrasi substrat awal berbeda.

Pada waktu tinggal mendekati tak hingga atau pada laju alir volumetrik yang sangat rendah (mendekati nol), tempuhan sinambung akan mempunyai karakteristik yang sama dengan tempuhan curah, yaitu tercapainya konsentrasi etanol maksimum yang menyebabkan inhibisi sempurna.

Parameter kinetika fermentasi sinambung dihitung dengan menggunakan persamaan di bawah ini diselesaikan dengan metode regresi linear (Wang dkk., 1979).

$$\frac{1}{D} = \frac{1}{D_c} + \frac{K_s}{D_c \cdot S} \quad (1)$$

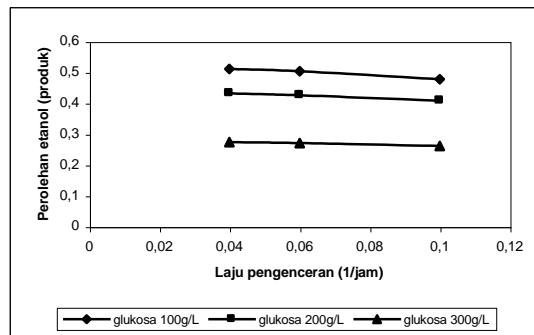
Ket: μ = laju pertumbuhan spesifik, D = Laju pengenceran, K_s Konstanta kejenuhan substrat, D_c = laju pengenceran kritis, S = substrat

Pada proses sinambung $\mu = D$, maka dialurkan antara $1/D$ dengan $1/S$ maka akan diperoleh suatu garis lurus dengan kemiringan K_s/D_c dan memotong sumbu y dititik $1/D_c$. Hasil perhitungan parameter kinetika dapat dilihat pada Tabel 3.1.

Konsentrasi substrat awal 200g/L menghasilkan etanol yang lebih besar dibandingkan dengan konsentrasi substrat awal 100g/L dan 300g/L untuk setiap laju pengenceran yang sama. Tetapi perolehan etanol (produk) paling besar pada konsentrasi substrat awal 100g/L.

Hal ini menunjukkan bahwa substrat yang terkonversi menjadi etanol lebih besar pada konsentrasi substrat awal 100g/L yaitu 47,7% - 51,1%, sedangkan untuk konsentrasi substrat awal 200g/L 40,8% - 43,2% dan substrat awal 300g/L sebesar 26,1% - 27,3 %. Makin lama waktu tinggal maka perolehan etanol makin besar (Gambar 2).

Proses fermentasi sinambung memberikan harga perolehan etanol yang lebih besar daripada proses fermentasi curah, hal ini disebabkan karena adanya inhibisi produk di dalam proses fermentasi curah sehingga sel perlu beradaptasi secara terus menerus.



Gambar 2. Persentase area kromatogram H_2 pada berbagai jenis promotor dan suhu reaksi (laju alir = 25 ml/menit, laju injeksi etanol = 2 ml/jam, konsentrasi EtOH = 20%, jumlah katalis = 30 mg).

3.2 Produktivitas Etanol

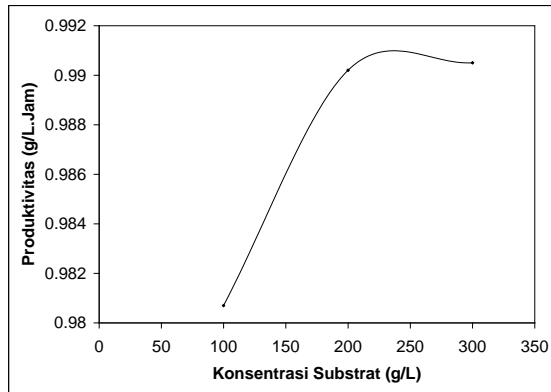
Dalam proses curah, perhitungan produktivitas meliputi seluruh waktu yang diperlukan untuk jalannya suatu proses, tidak hanya waktu fermentasi saja, tetapi juga waktu yang diperlukan untuk pengosongan dan pencucian fermentor, serta pembuatan dan sterilisasi medium. Pada penelitian ini waktu yang dibutuhkan untuk menjalankan satu kali persiapan fermentasi adalah 6 jam, terdiri dari pencucian fermentor (± 15 menit), pembuatan medium (± 30 menit), sterilisasi medium dan fermentor ($\pm 2,5$ jam), pendinginan medium dan fermentor selama ± 2 jam, pemasukan medium (± 15 menit), dan pemasangan alat (± 30 menit).

Produktivitas keseluruhan pada proses fermentasi curah oleh *Schizosaccharomyces pombe* paling tinggi dicapai pada fermentasi etanol dengan konsentrasi substrat awal 200 g/L (Gambar 3). Pada waktu yang sama, etanol yang terbentuk pada fermentasi dengan konsentrasi glukosa 200 g/L lebih tinggi bila dibandingkan dengan fermentasi etanol pada konsentrasi glukosa 100 g/L karena jumlah glukosa yang dapat dikonversi menjadi substrat lebih tinggi. Namun, hal ini tidak terjadi pada fermentasi etanol dengan konsentrasi glukosa 300 g/L karena pada konsentrasi ini hambatan substrat terhadap laju pembentukan produk lebih besar bila

Tabel 1. Parameter kinetika fermentasi sinambung untuk konsentrasi glukosa berbeda.

Konsentrasi glukosa awal (g/L)	Konsentrasi Etanol (g/L)			$Y_{P/S}$			Dc (1/jam)	Ks (g/L)
	D=0,04 /jam	D=0,06 /jam	D=0,1 /jam	D=0,04 /jam	D=0,06 /jam	D=0,1 /jam		
100	44,762	43,433	40,799	0,511	0,503	0,477	0,854	19,866
200	80,332	77,388	73,421	0,432	0,425	0,408	0,882	22,654
300	76,039	74,832	72,078	0,273	0,270	0,261	1,555	40,323

dibandingkan pada fermentasi dengan konsentrasi glukosa 200 g/L. Produktivitas fermentasi curah oleh *Schizosaccharomyces pombe* adalah 0,9807; 0,9902 dan 0,9905 untuk konsentrasi glukosa awal 100, 200 dan 300g/L.



Gambar 3. Kurva produktivitas etanol proses curah untuk konsentrasi substrat awal 100g/L, 200g/L dan 300g/L.

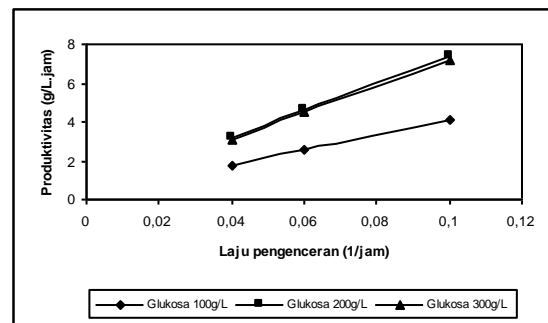
Hasil percobaan ini menunjukkan bahwa produktivitas fermentasi curah dipengaruhi oleh waktu fermentasi dan konsentrasi etanol yang diperoleh.

Produktivitas maksimum untuk proses sinambung diperoleh pada laju pengenceran 0,1/jam pada konsentrasi glukosa 100g/L, 200g/L dan 300g/L. Produktivitas ini 4,160 kali lebih besar dibanding produktivitas curah untuk konsentrasi glukosa 100g/L, 7,412 kali lebih besar untuk konsentrasi glukosa 200g/L dan 7,279 kali lebih besar untuk konsentrasi glukosa 300g/L. Pada Gambar 4 diperlihatkan bahwa konsentrasi glukosa 200 g/L memberikan produktivitas yang lebih besar dibandingkan dengan konsentrasi glukosa 100g/L dan 300g/L. hal ini disebabkan karena produk etanol yang dihasilkan pada konsentrasi glukosa 200g/L lebih besar dibandingkan dengan konsentrasi etanol yang dihasilkan pada konsentrasi glukosa 100g/L dan 300g/L.

Produktivitas etanol pada proses fermentasi sinambung adalah lebih besar jika dibandingkan terhadap proses fermentasi curah. Hal itu disebabkan pengaruh inhibisi

produk (akumulasi etanol) pada proses fermentasi curah. Proses fermentasi sinambung dapat menekan pengaruh inhibisi produk dengan mengalirkan sebagian produk keluar selama tempuhan proses berlangsung sehingga konsentrasi etanol di dalam bioreaktor konstan.

Konsumsi gula maksimum yang dimanfaatkan aktifitas sel pada fermentasi proses sinambung lebih besar bila dibandingkan terhadap fermentasi proses curah. Alasan lain yang mendukung fakta tersebut yaitu watak mikroorganisma yang berkaitan dengan aktivitas sel. Sifat mikroorganisma yang senantiasa mengalami proses adaptasi pada suatu lingkungan baru. Proses fermentasi curah selalu membentuk lingkungan baru setiap saat yaitu pengurangan konsentrasi substrat dan penambahan konsentrasi produk (etanol). Adaptasi mikroorganisma terhadap lingkungan tidak dapat berjalan dengan baik sehingga aktivitas sel terhambat. Pada proses fermentasi sinambung, konsentrasi substrat dan konsentrasi etanol senantiasa konstan. Hal ini disebabkan oleh sebahagian produk etanol keluar dan substrat masuk reaktor setiap saat sesuai dengan laju alir atau waktu tinggal sehingga proses adaptasi terhadap lingkungan baru tidak terjadi dan aktivitas mikroorganisma dapat berjalan dengan baik.

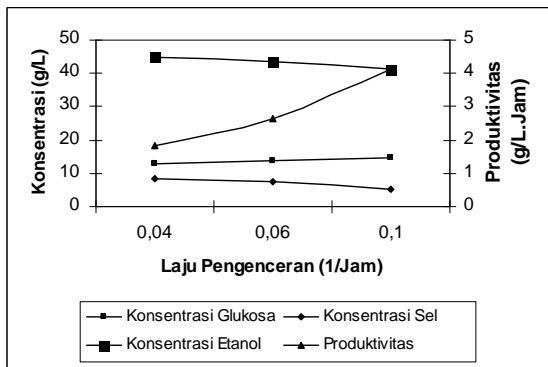


Gambar 4. Kurva produktivitas etanol proses sinambung terhadap laju pengenceran.

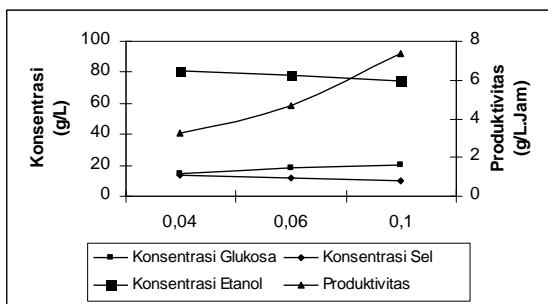
Produk etanol menurun dengan naiknya harga laju pengenceran, sedangkan konsentrasi glukosa mengalami keadaan yang sebaliknya. (Gambar 5, Gambar 6, dan 7).

Tabel 2. Hasil perhitungan produktivitas etanol pada proses curah dan sinambung.

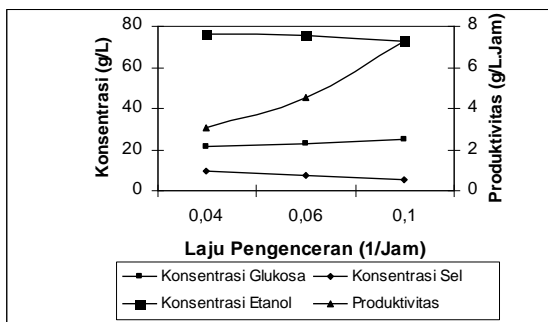
Konsentrasi substrat awal	Produktivitas curah	Produktivitas sinambung			Perbandingan produktivitas sinambung dengan curah		
		D=0,04 /jam	D=0,06 /jam	D=0,1 /jam	D=0,04 /jam	D=0,06 /jam	D=0,1 /jam
100 g/L	0,9807	1,790	2,606	4,080	1,825	2,657	4,160
200 g/L	0,9905	3,213	4,643	7,342	3,244	4,688	7,412
300 g/L	0,9902	3,042	4,490	7,208	3,072	4,534	7,279



Gambar 5. Pengaruh laju pengacaran terhadap konsentrasi sel, konsentrasi glukosa, konsentrasi etanol dan produktivas untuk konsentrasi substrat awal 100g/L.



Gambar 6. Pengaruh laju pengacaran terhadap konsentrasi sel, konsentrasi glukosa, konsentrasi etanol dan produktivas untuk konsentrasi substrat awal 200g/L.



Gambar 7. Pengaruh laju pengacaran terhadap konsentrasi sel, konsentrasi glukosa, konsentrasi etanol dan produktivas untuk konsentrasi substrat awal 300g/L.

Keadaan ini terjadi karena semakin tinggi harga laju pengacaran maka larutan glukosa semakin singkat berada didalam bioreaktor. Stephen T. John (1984), mengatakan bahwa produktivitas etanol berkurang dengan bertambahnya konsentrasi etanol di dalam bioreaktor. Ragi *Schizosaccharomyces pombe* akan mengubah konsentrasi glukosa menjadi etanol selama waktu tinggal tersebut,

sehingga semakin kecil waktu tinggal maka semakin singkat waktu yang diperlukan untuk mengkonversi glukosa menjadi etanol, mengakibatkan konsentrasi etanol rendah.

Perbandingan antara hasil percobaan dengan hasil perhitungan ditunjukkan pada Tabel 3.2. Hasil tersebut secara umum memiliki kelakuan yang sesuai dengan hasil percobaan, tetapi hasil perhitungan umumnya lebih besar dibandingkan dengan hasil percobaan. Produktivitas etanol perhitungan lebih besar dibandingkan dengan produktivitas etanol percobaan, hal ini disebabkan karena konsentrasi etanol perhitungan lebih besar dibandingkan dengan konsentrasi etanol hasil percobaan.

4. Kesimpulan

5. Kesimpulan

Penelitian proses fermentasi etanol menggunakan *Schizosaccharomyces pombe* secara curah dan sinambung telah dilakukan. Koefisien hasil perolehan etanol $Y_{P/S}$ proses sinambung berkisar antara 0,261-0,511 lebih besar dibandingkan dengan koefisien perolehan $Y_{P/S}$ proses curah berkisar antara 0,235-0,461 untuk ketiga konsentrasi substrat awal yang berbeda 100g/L, 200g/L dan 300g/L. Produktivitas etanol proses curah paling optimum diperoleh pada konsentrasi substrat awal 200g/L sebesar 0,9905g/L.jam, untuk konsentrasi substrat awal 100g/L 0,9807g/L.jam, dan untuk konsentrasi substrat awal 300g/L 0,9902g/L.jam. Produktivitas fermentasi etanol proses sinambung berkisar antara 1,790-7,342 g/L.jam lebih besar dibandingkan dengan produktivitas fermentasi etanol proses curah berkisar antara 0,9807-0,9905 g/L.jam dengan kondisi operasi pada temperatur 30°C, laju pengadukan 250 rpm, pH awal 4,5 dan volume kerja 2 liter.

Daftar Pustaka

- Aiba, S., Humprey, A. E., Mills, N. F. (1979) *Biochemical Engineering*, Academic Press, New York, 92-98.
- Dian, E., Shintawati (1998) *Produksi Etanol dari Glukosa oleh Schizosaccharomyces pombe*, Penulisan Laporan dan Seminar, Jurusan Teknik Kimia ITB.
- Bailey, J. E., Ollis, D. F. (1986) *Biochemical Engineering Fundamental*, 2nd Edition.

- Singapore, Mc Graw-Hill Int. Edition, 373-456.
- Cysewski, G. R. (1978) Process design and economic studies of alternative fermentation methods for the production of ethanol, *Biotechnology and Bioengineering*, 20, 1421-1444.
- Maiorella, B. L. (1986) *Ethanol*. *Comprehensive Biotechnology*, Pergamon Press, III, 862-909.
- Monich, J. A. (1968) *Alcohols, their Chemistry, Properties, Manufacture*. Reinhold Book Corporation, New York. USA, 12-15.
- Wang, D. I. C. (1979) *Fermentation and Enzyme Technology*, John Willey and Sons.

JKR