



OPTIMALISASI FERMENTOR UNTUK PRODUKSI ETANOL DAN ANALISIS HASIL FERMENTASI MENGGUNAKAN GAS CHROMATOGRAFI

Muhammad Khak (nutrien2008@gmail.com)

Rini Nuraini Rohmatningsih

Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta 55281

Purwito

Jurusan Teknologi Pengolahan dan Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta 55281

ABSTRACT

*The ethanol production is carried out with several treatments such as dilution of the stock solution into 4 variation of concentration, the addition of nutrients, pH adjustment, material sterilization, cooling, addition of inoculum *Saccharomyces cerevisiae*. This study aims to optimize the utilization of the fermenter and Gas Chromatography for ethanol fermentation and analytical results. Fermentation up to 96 hours and harvested every multiple of 24 hours. Tests conducted by the fermentation alcohol test methods conway, alcohol content test method 5 times GC after concentration by distillation, sugar test DNS method to determine the remaining sugar used in fermentation, TPC and turbidity test to determine cell growth *Saccharomyces cerevisiae*. The test results graphed and analyzed using SPSS to determine the alcohol content added every hour fermentation, to determine whether the data is considered to be linear and statistically optimal time to determine how ethanol production with the highest levels. The result shows that optimum time of fermentor utilization is 72 hours and the highest purity of ethanol is 43,44%.*

Keywords: Fermentasi alcoholic, fermentor, gas chromatography, molasess

ABSTRAK

Produksi etanol dilakukan dengan beberapa perlakuan antara lain pengenceran larutan stok menjadi 4 variasi konsentrasi, penambahan nutrisi, pengaturan pH, sterilisasi bahan, pendinginan, penambahan inokulum *Saccharomyces cerevisiae*. Penelitian ini bertujuan mengoptimalkan pemanfaatan fermentor dan *Gas Chromatography* untuk fermentasi etanol dan analisis hasilnya. Fermentasi dilakukan selama 96 jam dan pengambilan sampel dilakukan setiap 24 jam. Pengujian hasil fermentasi dilakukan dengan cara melakukan uji kadar alkohol metode conway, uji kadar alkohol metode GC setelah dilakukan pemekatan 5 kali dengan cara destilasi, uji gula dengan metode DNS untuk mengetahui sisa gula yang digunakan dalam fermentasi, uji TPC dan kekeruhan untuk mengetahui pertumbuhan sel *Saccharomyces cerevisiae*. Hasil uji dibuat grafik dan dianalisis menggunakan SPSS untuk mengetahui penambahan kadar alkohol tiap jam fermentasi, untuk mengetahui apakah data dianggap linier secara statistik dan untuk mengetahui berapa waktu optimal produksi etanol dengan kadar tertinggi. Hasil menunjukkan waktu optimal pemanfaatan fermentor adalah 72 jam dengan kemurnian etanol tertinggi 43,44%.

Kata kunci: Fermentasi alkohol, fermentor, gas chromatography, molasess

Peningkatan pertumbuhan ekonomi serta populasi dengan segala aktivitasnya akan meningkatkan kebutuhan energi di semua sektor pengguna energi. Peningkatan kebutuhan energi tersebut harus didukung adanya pasokan energi jangka panjang secara berkesinambungan, terintegrasi, dan ramah lingkungan. Sejalan dengan permasalahan tersebut, pemerintah melalui Peraturan Presiden No. 5 Tahun 2006 telah mengeluarkan kebijakan energi nasional. Kebijakan ini bertujuan untuk mewujudkan keamanan pasokan energi dalam negeri. Kebijakan energi nasional ini juga memuat upaya untuk melakukan diversifikasi dalam pemanfaatan energi. Usaha diversifikasi ini ditindaklanjuti dengan dikeluarkannya Instruksi Presiden No. 1 Tahun 2006 tentang penyediaan dan pemanfaatan bahan bakar nabati (*biofuel*) sebagai bahan bakar lain.

Kebutuhan energi dunia saat ini dapat disubstitusi dengan etanol sebagai bahan bakar alternatif. Etanol juga merupakan sarana penting di laboratorium Mikrobiologi untuk pekerjaan aseptis atau pekerjaan yang membutuhkan lingkungan steril. Sebagai bahan baku produksi etanol dapat digunakan molases yang merupakan sisa pembuatan gula tebu namun masih mengandung glukosa dan nutrisi tinggi. Molases adalah hasil samping pada pembuatan gula tebu (*Saccharum officinarum*), yang biasa disebut sebagai tetes tebu. Penelitian ini mencoba memanfaatkan limbah pabrik gula/molases sebagai bahan dasar pembuatan etanol.

Tetes tebu berupa cairan kental dan diperoleh dari tahap pemisahan kristal gula. Molases tidak dapat lagi dibentuk menjadi sukrosa karena mengandung glukosa dan fruktosa yang sulit untuk dikristalkan. Namun masih mengandung gula dengan kadar 50-60%, asam amino dan mineral. Tingginya kandungan gula dalam molases sangat potensial dimanfaatkan sebagai bahan baku bioetanol. Dari 1000 Kg molases terkandung 450 – 520 Kg gula yang diharapkan dapat menghasilkan 250 Liter etanol (Yumaihana & Aini, 2009). Perbandingan hasil biomassa dengan bioetanol adalah 4 : 1. Etanol umumnya digunakan dalam industri sebagai bahan baku industri turunan alkohol, campuran minuman keras seperti sake atau gin, dan bahan baku farmasi dan kosmetika.

Yumaihana dan Aini (2009) menyatakan ketersediaan molases sebagai bahan baku bioetanol di Indonesia cukup banyak. Ketersediaan molases berkorelasi dengan luas areal perkebunan tebu yang semakin meningkat. Diperkirakan untuk setiap ton tebu akan menghasilkan sekitar 2,7% tetes tebu.

Etanol adalah produk fermentasi yang didapat dari substrat yang mengandung karbohidrat seperti pati, glukosa maupun selulosa. Etanol merupakan cairan tak berwarna dengan bau yang khas. Berat spesifik etanol pada suhu 150°C sebesar 0,7937. Etanol mulai mendidih pada suhu 78,320°C (76 mm air raksa). Bahan ini mudah larut dalam air dan eter. Kandungan kalorinya (*gross value*) sebesar 7.100 kal/gram, dengan panas pembakaran sebesar 328 kkal (cair). Etanol dapat digunakan sebagai bahan minuman, kosmetik, obat-obatan, pelarut, antiseptik dan bahan bakar (Sa'id, 1990), sedangkan bioetanol merupakan produk yang dihasilkan dari proses fermentasi gula menggunakan bantuan mikroorganisme yang berasal dari sumber karbohidrat. Bioetanol dapat diproduksi dari beberapa jenis bahan baku yang dikelompokkan menurut komposisi karbohidratnya, seperti: gula, pati dan selulosa. Gula untuk produksi etanol (sukrosa, glukosa atau fruktosa) mungkin diperoleh dari ketiga jenis bahan tersebut. Proses industri untuk produksi bioetanol lebih baik menggunakan bahan baku dari tetes tebu, umbi manis, rotan atau gula. Karena gula telah tersedia sehingga ragi dapat mendegradasi gula secara langsung, sedangkan bahan baku yang mengandung karbohidrat atau selulosa harus dihidrolisa menjadi gula sebelum difermentasi (Turk, 1996). Pada fermentasi etanol bahan yang mengandung monosakarida langsung difermentasi tetapi disakarida,

pati ataupun karbohidrat kompleks harus dihidrolisa terlebih dahulu menjadi komponen gula sederhana (Hunt, 1991).

Pada kondisi anaerobik, mikroba yang digunakan seperti *Saccharomyces cereviceae* menggunakan senyawa organik sebagai akseptor elektron terakhir pada jalur reaksi bioenergetik. Dalam hal ini yang digunakan adalah glukosa dari substrat dengan hasil akhir perombakan berupa alkohol /etanol, aldehid, asam organik, dan fassel oil (Lydia & Djenar, 2000). *Saccharomyces cerevisiae* akan tumbuh optimal dalam kisaran suhu 30-35°C dan puncak produksi alkohol dicapai pada suhu 33°C. Jika suhu terlalu rendah, maka fermentasi akan berlangsung secara lambat dan sebaliknya jika suhu terlalu tinggi maka *Saccharomyces cerevisiae* akan mati sehingga proses fermentasi tidak akan berlangsung (Kumalasari, 2011). *Saccharomyces cerevisiae* merupakan mikroba yang paling baik untuk fermentasi etanol karena relatif lebih efisien mengubah gula menjadi etanol dan lebih toleran terhadap etanol bila dibandingkan dengan mikroba lain (Lin, *et al*, 2012). Jika tujuan penggunaan *Saccharomyces cerevisiae* adalah untuk menghasilkan alkohol maka dibutuhkan kondisi anaerob, tetapi untuk pembuatan *starter* (biakan awal) diperlukan kondisi aerob (Richana, 2011). *Saccharomyces cerevisiae* juga menghasilkan enzim glukamilase, agar dihasilkan gula reduksi yang lebih banyak (Merina & Trihadiningrum, 2011).

Pada umumnya hasil fermentasi adalah bioetanol atau alkohol yang mempunyai kemurnian sekitar 30-40% dan belum dapat dikategorikan sebagai fuel based etanol. Agar dapat mencapai kemurnian diatas 95%, maka alkohol hasil fermentasi harus melalui proses destilasi (Nurdyastuti, 2006).

METODE

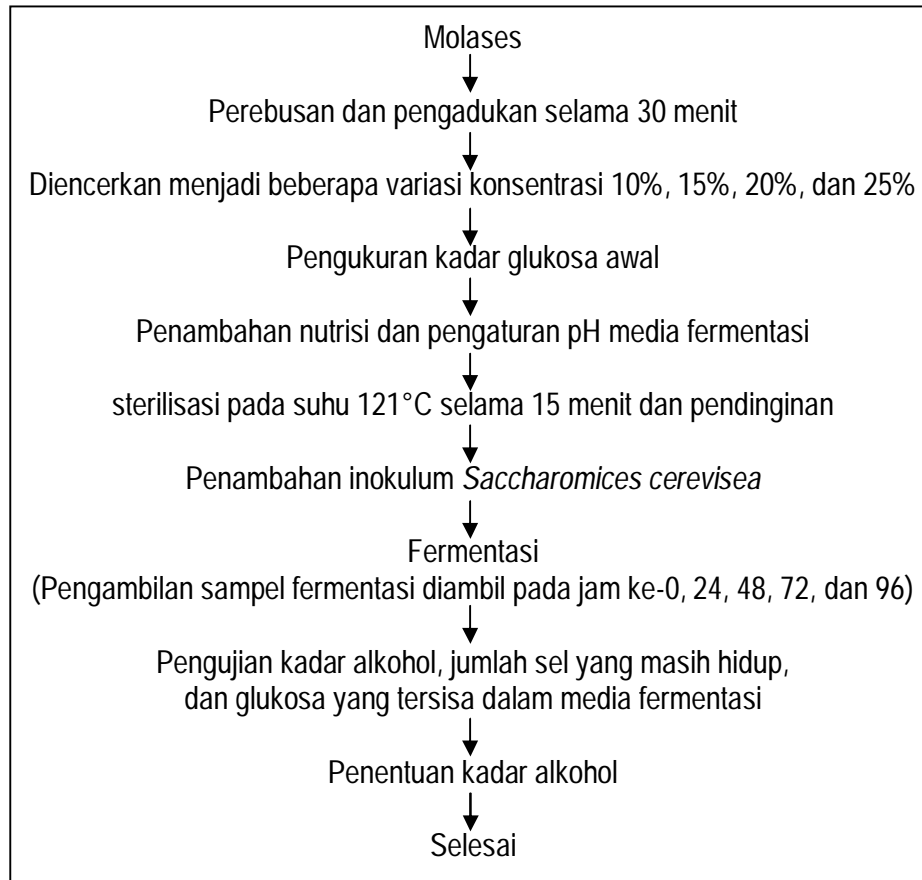
Molases yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dari Pabrik Gula Gondang Baru Klaten.

Proses produksi etanol sebagai berikut (Anonim, 2007).

1. Molases diukur kadar gula awal/perkiraan menggunakan *hand refraktometer*.
2. Perebusan dan pengadukan hingga mendidih selama 30 menit. Hal ini bertujuan untuk mematikan mikroba yang tidak dikehendaki.
3. Larutan dituang ke dalam botol plastik bertutup rapat sebagai larutan stok induk yang steril dan disimpan di dalam kulkas.
4. Pembuatan etanol dilakukan dengan cara membuat beberapa konsentrasi larutan yaitu 10%, 15%, 20%, dan 25% dari pengenceran larutan stok induk untuk mencari konsentrasi gula yang dapat menghasilkan alkohol secara optimal dan waktu fermentasi yang terpendek.
5. Variabel pengujian yang diukur adalah kadar gula tiap konsentrasi larutan stok.

Proses analisis hasil etanol meliputi hasil fermentasi yang diambil pada jam ke-0, 24, 48, 72, 96 dan dilakukan pengujian kadar alkohol, jumlah sel yang masih hidup, dan gula yang tersisa dalam media fermentasi. Keseluruhan proses dilakukan dengan mempertimbangkan penanganan dan analisis produk yang baik dan cermat agar diperoleh rendemen yang optimal.

Proses produksi diawali dengan mengumpulkan bahan baku yaitu berupa molasses, nutrisi penunjang, dan inokulum bakteri *Saccharomices cerevisea*. Proses produksi etanol secara keseluruhan ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Diagram proses pembuatan bioetanol dari molases

HASIL DAN PEMBAHASAN

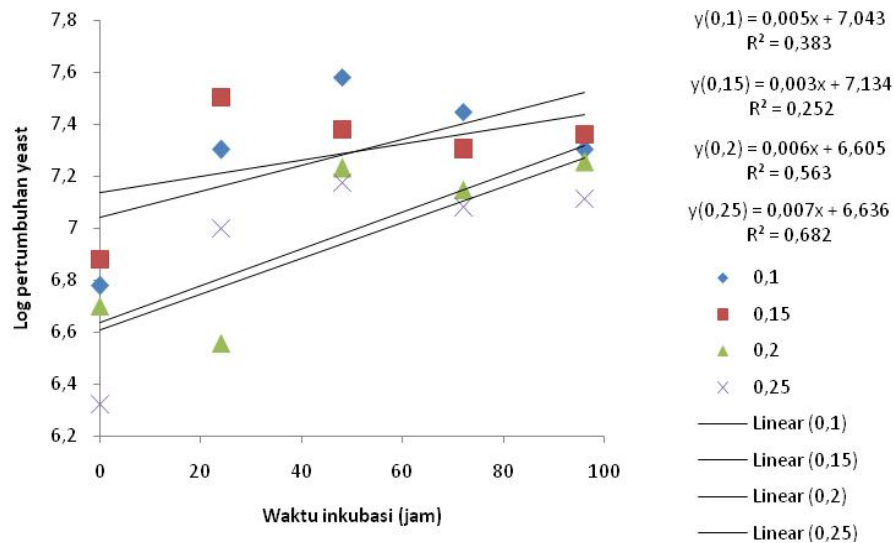
Kapasitas produksi 1500 mL dengan variasi konsentrasi molases 10%, 15%, 20%, 25%. Pada produksi pertama inokulum *Saccharomices cerevisae* kurang subur sehingga pertumbuhan tidak optimal yang berdampak pada jumlah sel kurang memenuhi syarat untuk lingkungan media yang lebih besar dan waktu fermentasi lebih panjang. Dipilih 4 macam variasi konsentrasi larutan gula yang diperkirakan *Saccharomices cerevisae* dapat tumbuh untuk mengetahui pada konsentrasi gula yang menghasilkan kadar alkohol optimal dan waktu fermentasi terpendek.

Analisis Hasil Fermentasi

Tabel 1. Pengamatan Pertumbuhan Sel Ragi dengan Metode TPC.

Konsentrasi	Jam0	jam24	jam48	jam72	jam96
10%	6,77	7,30	7,57	7,44	7,30
15%	6,88	7,50	7,38	7,30	7,36
20%	6,69	6,55	7,23	7,14	7,26
25%	6,32	7,00	7,17	7,07	7,11

Metode *Total Plate Count* (TPC) adalah metode yang digunakan untuk menghitung jumlah koloni sel ragi yang tumbuh pada media agar tertentu. Menurut Hidayat, Padaga, dan Suhartini (2006), fermentasi merupakan perubahan gradual oleh enzim beberapa bakteri, khamir, dan kapang. Semakin lama proses fermentasi berlangsung, jumlah karbohidrat yang dirombak menjadi glukose semakin banyak. Glukose kemudian diubah menjadi alkohol oleh *Saccharomices cerevisea*, sehingga kadar alkohol molasess semakin tinggi. Menurut Setyohadi, (2006) semakin tinggi jumlah ragi, semakin banyak khamir dan bakteri yang terdapat di dalam molasess, di mana mikroba tersebut menghasilkan enzim-enzim amilase, zimase dan invertase. Dari data pada Tabel 1 dapat dibuat grafik yang dapat dilihat pada Gambar 2 .



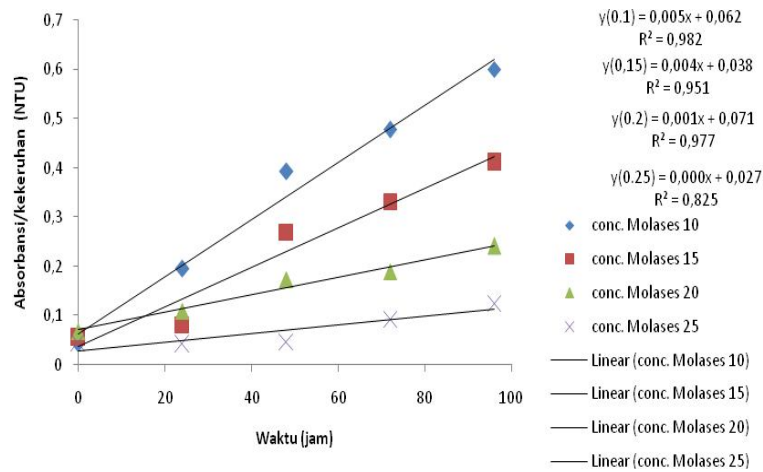
Gambar 2. Grafik hubungan antara waktu inkubasi (jam) vs log pertumbuhan ragi

Untuk molasess konsentrasi 10%, 15%, dan 25% pertumbuhan sel meningkat (fase logaritmik) sampai kisaran waktu 20-40 jam pertama tanpa diawali fase adaptasi kemudian diikuti fase stasioner. Molasess dengan konsentrasi 20% mengalami fase adaptasi pada 20 jam pertama dan mengalami fase log dikisaran 25-40 jam inkubasi. Selama fase logaritmik metabolisme sel paling aktif dan sintesis bahan sel sangat cepat dengan jumlah konstan. Pada fase ini sel ragi membutuhkan energi yang lebih banyak dari fase lainnya dan merupakan fase yang paling sensitif terhadap kondisi lingkungan (Fardiaz, 1988:16).

Tabel 2. Pengamatan Pertumbuhan Sel Ragi Metode Turbidimetri dengan Spektrometer

Waktu	Konsentrasi Molasess 10	Konsentrasi Molasess 15	Konsentrasi Molasess 20	Konsentrasi Molasess 25
0	0,044	0,056	0,068	0,044
24	0,195	0,082	0,11	0,042
48	0,393	0,27	0,174	0,048
72	0,478	0,332	0,19	0,094
96	0,601	0,412	0,242	0,126

Dari data pada Tabel 2 dapat dibuat grafik seperti Gambar 3.



Gambar 3. Jumlah sel dengan variasi konsentrasi

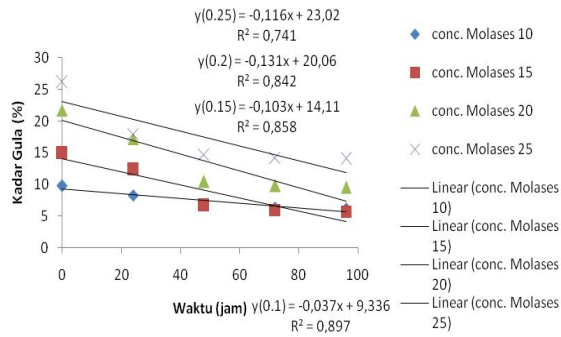
Pengukuran kekeruhan biakan mikroba dengan fotokolorimeter dapat mengetahui jumlah sel dengan lebih cepat dan praktis. Namun, agar data yang diperoleh dari pengukuran ini dapat dinyatakan sebagai konsentrasi organisme, diperlukan suatu kurva standar yang menyatakan korelasi antara kekeruhan biakan dengan jumlah organisme per mL biakan. Kurva semacam ini dapat diperoleh dengan cara menggunakan metode hitungan cawan untuk menentukan hitungan organisme di dalam biakan yang kekeruhannya diketahui. Jika kurva standar ini diperoleh, maka sejumlah besar biakan organisme sejenis dapat dengan cepat diukur kekeruhannya dan konsentrasinya segera diketahui dengan cara membaca kurva standar tersebut.

Dari Gambar 3 dapat dilihat bahwa setelah waktu fermentasi 80 jam jumlah sel cenderung meningkat karena sel hidup dan mati terhitung (biomassa akan menimbulkan kekeruhan).

Tabel 3. Pengamatan Kadar Gula Metode 3-5 DiNitro Salicylic Acid (DNS)

Waktu	Konsentrasi Molases 10	Konsentrasi Molases 15	Konsentrasi Molases 20	Konsentrasi Molases 25
0	9,775	14,928	21,678	26,167
24	8,347	12,41	17,189	17,946
48	6,937	6,728	10,4841	14,762
72	6,376	5,998	9,838	14,266
96	6,276	5,762	9,584	14,049

Dari Tabel 3 dapat dibuat grafik seperti Gambar 4. Menurut Desrosier (1989), semakin banyak glukose yang terdapat dalam bahan, semakin tinggi jumlah alkohol yang dihasilkan dari perombakan glukose tersebut. Semakin besar jumlah mikroba perombak pati menjadi glukose, dan mikroba perombak glukose menjadi alkohol semakin banyak, sehingga kadar alkohol yang dihasilkan semakin tinggi.



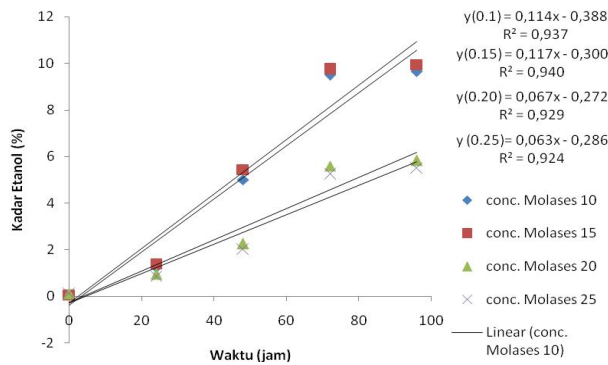
Gambar 4. Glucose concentration graph

Pada Gambar 4 dapat diketahui bahwa terjadi penurunan kadar glukosa sejalan dengan berlangsungnya proses fermentasi. Terjadi penurunan kadar glukosa pada bahan selama fermentasi dari hari ke hari karena glukosa diubah menjadi etanol oleh *Saccharomices cerevisaea* pada suhu kamar dan pH 4,5. Berdasarkan analisis statistik terdapat nilai korelasi antara kadar glukosa dan kadar alkohol. Nilai korelasi antara kadar glukosa dan alkohol sebesar -0,788. Tanda negatif menunjukkan terdapat hubungan yang berbanding terbalik antara kadar alkohol dan kadar glukosa. Angka korelasi tersebut adalah signifikan dan dapat dilihat dari nilai sig. pada Tabel 4.

Tabel 4. Pengamatan Kadar Alkohol Metode Conway

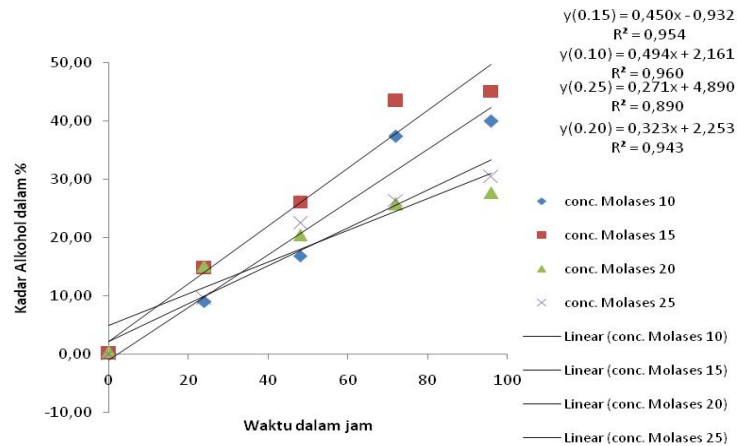
Waktu	Konsentrasi Molases 10	Konsentrasi Molases 15	Konsentrasi Molases 20	Konsentrasi Molases 25
0	0,0679372	0,0662978	0,1052322	0,1048907
24	1,2486339	1,4023224	0,954918	0,8695355
48	5,0040984	5,4412568	2,2445355	2,0054645
72	9,4918033	9,7513661	5,5915301	5,2431694
96	9,6489071	9,9494536	5,8306011	5,489071

Dari data Tabel 4 dapat dibuat grafik seperti pada Gambar 5 dimana semua data linier dengan persamaan Y masing-masing setiap garis.



Gambar 5. Grafik kadar etanol

Dari Gambar 5 terlihat bahwa kadar etanol selama fermentasi mengalami kenaikan. Hal tersebut menunjukkan bahwa kemampuan *Saccharomices cerevisea* cukup optimal atau jumlah biomassa tercukupi sehingga produksi etanol cenderung meningkat.



Gambar.6 Grafik kadar alkohol menggunakan alat GC

Dari Gambar 6 pada pengujian etanol menggunakan alat *Gas Chromatography* (GC) menunjukkan bahwa kadar alkohol naik. Kadar alkohol paling tinggi didapatkan pada konsentrasi molases 15% sedangkan yang terendah pada konsentrasi molases 20%. Dari variasi waktu fermentasi 24, 48, 72, dan 96 jam diketahui bahwa waktu fermentasi 72 jam lebih efisien untuk produksi etanol.

PENUTUP

Pada proses fermentasi selalu terjadi penurunan kadar gula akibat terurainya glukosa menjadi etanol, pada konsentrasi gula tinggi (>15%) tidak didapatkan hasil etanol yang maksimal dikarenakan sel *Saccharomices* tidak dapat bertahan hidup. Dari penelitian ini dihasilkan produk etanol yang efisien dengan kadar 9,75% dan jika dilakukan destilasi akan dihasilkan etanol dengan kemurnian 43,44%. Didapatkan konsentrasi optimal molases 15% untuk produksi etanol dengan rendemen 65%. Artinya 65% glukosa dapat difermentasi menjadi alkohol dan sisa glukosa 35% dari bahan baku molases 15%. Adapun waktu fermentasi optimal adalah selama 72 jam.

Produk etanol sebaiknya diproduksi dalam skala besar sehingga dapat meminimalkan kesalahan. Untuk mendapatkan kemurnian kadar etanol yang lebih tinggi diperlukan destilasi bertingkat. Perlu pemanfaatan residu fermentasi dan residu destilasi lebih lanjut.

REFERENSI

- Anonim. (2007). *PT. Madu baru (pabrik gula & pabrik spiritus)*. Madukismo. Yogyakarta: PT. Madubaru.
- Desrosier. (1989). *Teknologi pengawetan pangan*. Penerjemah M. Muljohardjo. Jakarta: UI-Press.
- Fardiaz, S. (1988). *Mikrobiologi pangan I*. Bogor: Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi, Fakultas Pertanian, IPB.
- Hidayat, N., Padaga, M. C., & Suhartini, S. (2006). *Mikrobiologi industri*. Yogyakarta: Andi.

- Hunt, V. D. (1991). *The gasohol handbook*. New York: Industrial Press Inc.
- Kumalasari, I. J. (2011). *Pengaruh variasi suhu inkubasi terhadap kadar etanol hasil fermentasi kulit dan bonggol nanas (Ananas sativus)*. Skripsi yang tidak dipublikasikan. Semarang: Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Lidya, B. & Djenar, N. S. (2000). *Dasar bioproses*. Jakarta: Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan Nasional
- Lin, Y., Zhang, W., Li, C., Sakakibara, K., Tanaka, S., & Kong, H. (2012). *Factors affecting ethanol fermentation using saccharomyces cerevisiae BY4742*. *J Biomass and Bioenergy* 47 (2012) 395-401.
- Nurdyastuti, I. (2006). *Teknologi proses produksi bio-ethanol*. Makalah Penelitian Prospek Pengembangan Bio-fuel sebagai Substitusi Bahan Bakar Minyak. Hal 75-83.
- Richana, N. (2011). *Bioetanol: Bahan baku, teknologi, produksi dan pengendalian mutu*. Bandung: Penerbit Nuansa.
- Setyohadi. (2006). *Proses mikrobiologi pangan*. (Proses kerusakan dan pengolahan). Medan: USU-Press,
- Sa'id, E. G. (1990). *Teknologi Fermentasi*. Jakarta: CV. Rajawali.
- Turk, J. C. (1996). Comparison of different production processes for bioethanol. *Journal of Chemistry Engineering*, 22, 351-359.
- Yumaihana, Y. & Aini, Q. (2009). Pemanfaatan tebu untuk produksi bioetanol. Diambil tanggal 28 Agustus 2012, dari: <http://ditjenbun.deptan.go.id/bbp2tpsurl.../bioetanol.pdf>