

Fase Deaktivasi Fermentasi Bioethanol dari Sorgum dengan *Beads* Biokatalis Ko-Immobilisasi *Yeast* dan Enzim Glukoamilase Menggunakan *Anaerobic Baffled Reactor* (ABR)

Pangesti Willistania, Pristiwati Iustitie Poetranto^{*}, Mujtahid Kaavessina^{*} dan Margono

Program Studi Sarjana Teknik Kimia, FT, Universitas Sebelas Maret Jl. Ir. Sutami 36A, Surakarta 2716
Telp/fax:0271-632112

^{*}E-mail: pristiwati_ip@yahoo.com / mkaavessina@gmail.com

Abstract

*Bioethanol is one of many promising fuels and alternative energies because bioethanol is made from natural fermentation which can be renewed. White sorgum seed (*Shorgum bicolor* (L) Moench) is abundantly available in tropical area. With starch content among 70 - 80 wt%, it has the potential as a raw material of bioethanol production. This research is conducted continuously in 4 chambers of Anaerobic Baffled Reactor (ABR) with biocatalyst beads of co-immobilized glucoamilase and yeast (*Saccharomyces cereviceae*) in Na-Alginat. Deactivation time of fermentation can be observed when the decreasing of ethanol content was detected. This time shows the dead phase which is needed in the optimization of bioethanol production by determination of some factors causes this phase. The result showed that the biocatalyst beads began to undergo deactivation in every ABR chambers after 358 hours of the fermentation. At this time, the ethanol content in each chamber is: A 1,828 g/L, B 2,319 g/L, C 2,810 g/L, dan D 3,019 g/L.*

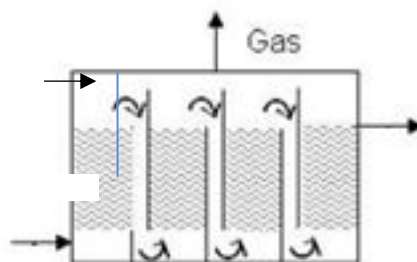
Keywords: *Anaerobic Baffled Reactor, beads, bioethanol, deactivation*

Pendahuluan

Bioetanol merupakan salah satu bahan bakar dan energi alternatif yang sangat menjanjikan. Bioetanol yang dibuat dari biomassa dapat dikembangkan secara kontinyu. Indonesia merupakan negara dengan sumber daya alam yang melimpah. Salah satunya adalah Sorgum Putih (*Sorghum bicolor* L). Potensi tanaman sorgum sebagai bahan baku pembuatan bioetanol sangat besar karena memiliki komposisi pati sangat tinggi sebesar 70-80% (Yudiarto, 2005).

Metode ko-immobilisasi adalah metode penempatan enzim di dalam suatu daerah atau ruang tertentu (entrapment) bersama dengan mikro organisme sehingga dapat menahan aktivitas katalitiknya serta dapat digunakan secara berulang-ulang dan kontinyu (Chibata, 1978). Ko-immobilisasi yang digunakan adalah Ca-alginat dengan konsentrasi enzim 35% (v/v) dan yeast 9% (v/v) (Dyartanti, 2014). Hasil ko-immobilisasi inilah yang ditempatkan pada *Anaerobic Baffled Reactor*.

Anaerobic Baffled Reactor (ABR) merupakan sistem pengolahan tersuspensi anaerob, dalam biorektor berpenyekat. ABR terdiri dari serangkaian baffle vertikal yang mengarahkan medium di bawah dan di atas baffle saat lewat dari inlet ke outlet (Nguyen, 2010). Hal ini lebih menguntungkan karena tidak membutuhkan media pendukung serta tidak mudah tersumbat. Keuntungan lain dari ABR yaitu waktu pemakaian yang lebih lama, biaya operasi murah, perlindungan dari bahan racun, dan desain sederhana.



Gambar 1. *Anaerobic Baffled Reactor* (ABR) dengan 4 Ruang



Sebelumnya telah dilakukan penelitian oleh Dyartanti (2015) menggunakan Reaktor Unggun Terfluidisasi (*Fluidized Bed Bioreactor*) dengan hasil semakin besar laju alir semakin kecil bioetanol yang dihasilkan. Untuk itu penting untuk melakukan fermentasi kontinyu dengan *Anaerobic Baffled Reactor* yang mempunyai stabilitas laju alir yang baik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui fase deaktivasi fermentasi bioetanol dari sorgum menggunakan *Anaerobic baffle Reactor*.

Metode Penelitian

Bahan yang digunakan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah γ -aminopropyltriethoxysilane (γ -AMPTS), glucoamylase, dry yeast (*Saccharomyces cerevisiae*), α -amylase (*Bacillus licheniformis*), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, silica gel 60 (0.063 to 0.2 mm), glutaraldehyde, biji sorgum, Asam asetat, NaOH, buffer pospat, buffer asetat, Na-Alginate, Fenol, Asam sulfat, dan Glucose FS GOD.

Alat yang digunakan

Adapun alat yang digunakan adalah thermometer, motor stirrer, rangkaian alat liquifikasi (kompor, panci, pengaduk), autoclave, ABR (*Anaerobic Baffled Reactor*), labu leher dua, pendingin balik, tabung reaksi, Spektrometer Uv-Vis, kuvet, dan alat – alat pendukung lainnya. Rangkaian fermentasi terdiri dari tangki bahan, ABR, *water bath*, thermocouple, pemanas dan tangki produk.

Pembuatan Beads Biokatalis

Tahap pertama pembuatan bead adalah silanisasi silika. Silika gel dicampur dengan larutan γ -AMPTS, dipanaskan, disaring, lalu dioven. Silika kering yang telah disilanisasi dilarutkan dengan larutan glutaraldehyde-buffer phosphate untuk selanjutnya disaring (disebut glutaraldehyde-bound-carriers) dan dibilas dengan aquadest berlebih. Immobilisasi silika dilakukan dengan mencampur glutaraldehyde-bound-carriers dengan larutan enzim glucoamylase-buffer asetat selama 36 jam. Suspensi silika yang diperoleh dicuci dengan buffer asetat. Tahap selanjutnya yaitu ko-immobilisasi enzim dan yeast dalam Na-alginat. Na-alginat dilarutkan dalam buffer asetat, dilakukan penambahan wet enzim immobil dan yeast ekstrak lalu diaduk hingga homogen. Tahap terakhir yaitu meneteskan suspensi yeast ko-immobilisasi ke dalam larutan CaCl_2 menggunakan corong pemisah sehingga didapatkan bead biokatalis dengan ukuran seragam.

Pembuatan Medium Fermentasi (Liquifikasi)

Proses liquifikasi dilakukan dengan melarutkan tepung sorgum ke dalam larutan CaCl_2 0,01 M. Memanaskan substrat dengan pengadukan hingga terbentuk gelatin. Melakukan liquifikasi dengan menambahkan enzim α -amylase dalam gelatin pada suhu 65°C . Memanaskan kembali substrat hingga suhu 90°C , kemudian dibiarkan mendidih selama 5 menit. Mendinginkan substrat dan menyaringnya. Hasil liquifikasi disterilkan dengan autoclave selama 15 menit.

Fermentasi Dalam ABR

Pertama dengan sterilisasi tangki bahan, ABR, dan tangki produk dengan alcohol 70%. ABR telah steril dan kering kemudian dimasukkan medium pada tangki bahan. Mengkondisikan medium sebanyak 10 L. Menambahkan beads biokatalis sampai dengan ketinggian separuh dari ABR. Kemudian tuang medium dalam ABR sampai rata dengan baffle. ABR ditutup dan fermentasi kontinyu dilakukan selama 16 hari dan sampel diambil setiap 3 jam.

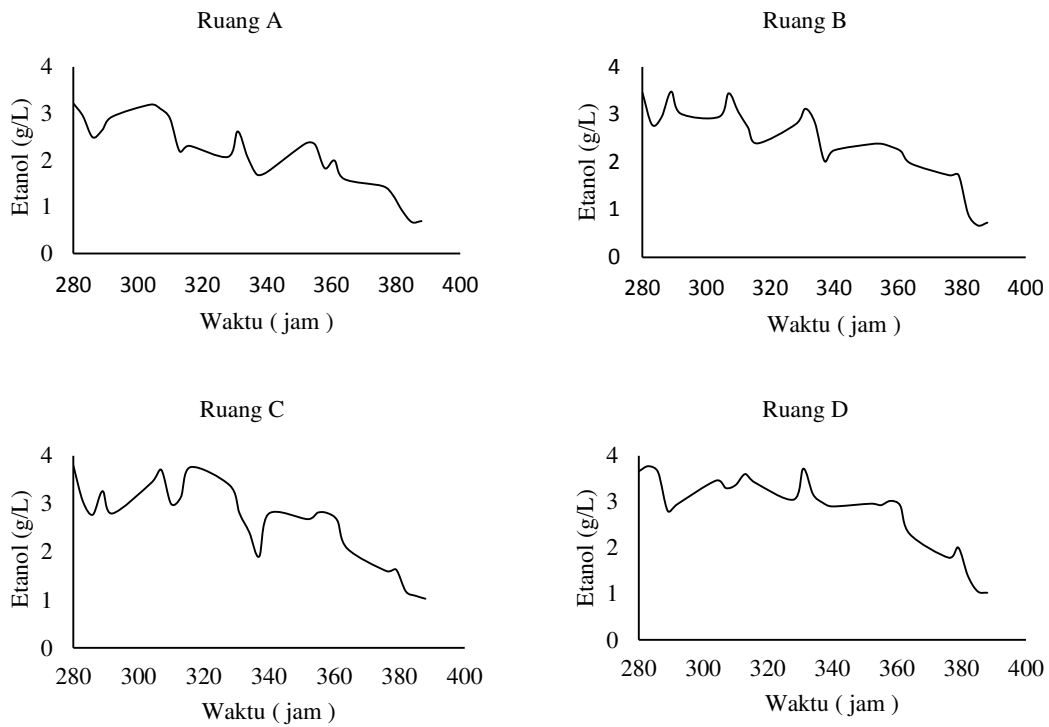
Analisa Hasil Fermentasi

Hasil fermentasi dianalisa konsentrasi etanol, konsentrasi gula total, dan konsentrasi gula reduksinya. Analisa konsentrasi etanol dilakukan dengan destilasi dan piknometer. Konsentrasi gula total dianalisa dengan Metode Dubois, sedangkan konsentrasi gula reduksi dengan *Glucose GOD*.

Hasil dan Pembahasan

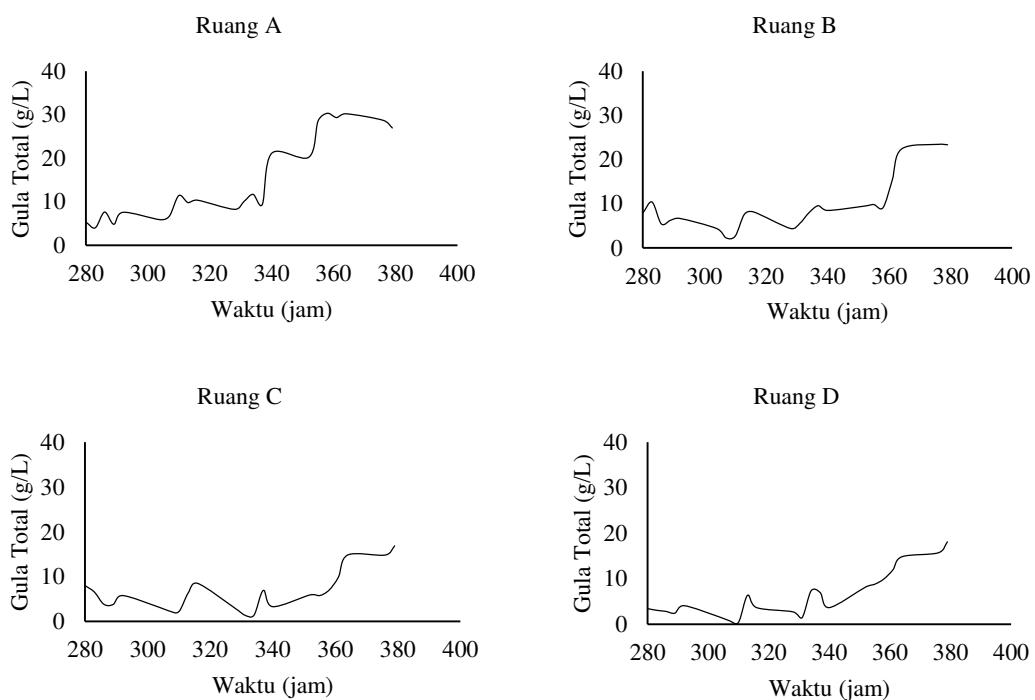
Fermentasi dilakukan selama 16 hari dan pengambilan sampel dilakukan setiap 3 jam pada pukul 07.00 sampai pukul 19.00 untuk masing-masing ruang. Aliran medium sebesar 0,42 L/jam dengan waktu tinggal di dalam *Anaerobic Baffled Reactor* 24 jam. Konsentrasi medium 100 g/L. Selama fermentasi berlangsung terjadi 4 fase, yaitu fase adaptasi, fase *Lag*, fase stasioner dan fase deaktivasi. Fase deaktivasi terjadi pada saat konsentrasi etanol mulai turun. Dari hasil penelitian konsentrasi etanol mulai turun pada jam ke 358 dengan konsentrasi etanol tiap ruang yaitu ruang A 1,828 g/L, ruang B 2,319 g/L, ruang C 2,810 g/L, dan ruang D 3,019 g/L. Pada jam selanjutnya konsentrasi etanol semakin lama semakin turun. Gambar 2 menjelaskan tentang pengaruh lama fermentasi terhadap konsentrasi etanol hasil fermentasi untuk setiap ruang *Anaerobic Baffled Reactor*.





Gambar 2. Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Konsentrasi Etanol setiap Ruang *Anaerobic Baffled Reactor*

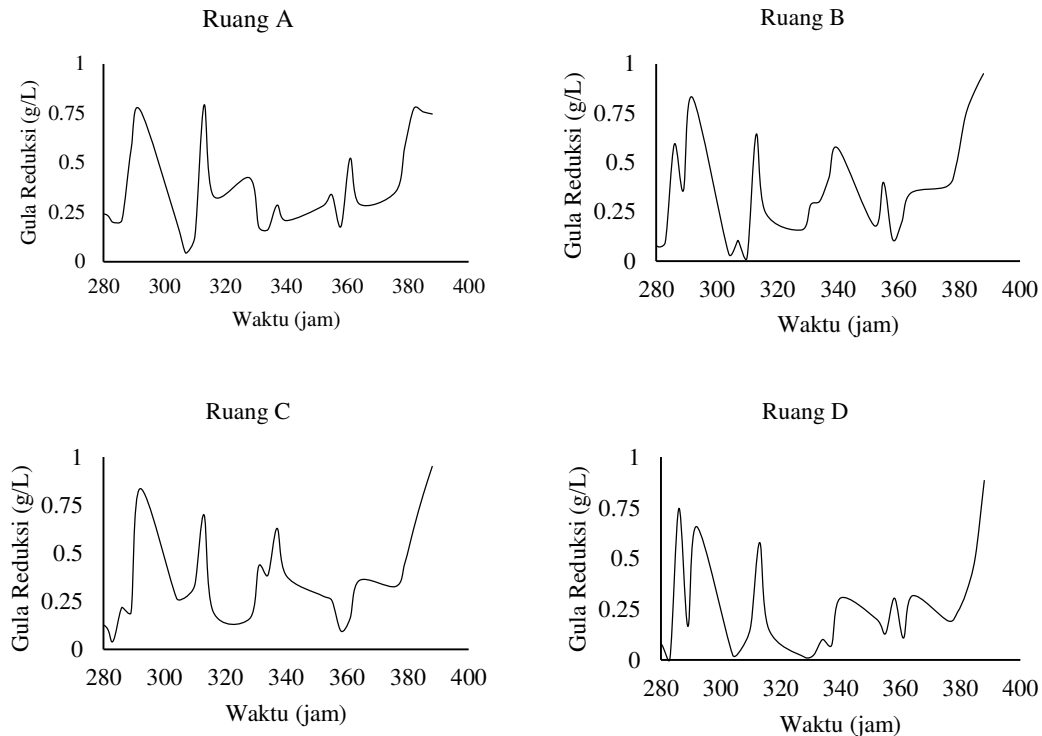
Konsentrasi gula total pada fase deaktivasi mengalami kenaikan berbanding terbalik dengan konsentrasi etanol. Hal ini disebabkan aliran medium tetap sama sedangkan kemampuan mikroorganisme mengkonversi substrat gula menjadi etanol mulai menurun. Konsentrasi gula total saat terjadi fase deaktivasi sebesar 30,3156 g/l ruang A, 9.0657 g/l ruang B, 6.9804 g/l ruang C, dan 9.9099 g/l ruang D. Gambar 3. menjelaskan tentang pengaruh lama fermentasi terhadap konsentrasi gula total pada sorgum.



Gambar 3. Pengaruh Lama Waktu Fermentasi terhadap Konsentrasi Gula Total pada Sorgum

Konsentrasi gula total pada ruang A yang lebih tinggi dibandingkan dengan ruang yang lain. Hal ini dikarenakan ruang A adalah ruang pertama yang dialiri medium. Semakin jauh dari inlet semakin berkurang.

Konsentrasi gula reduksi memiliki *trend* sebanding dengan konsentrasi gula total dan berbanding terbalik dengan konsentrasi etanol. Pada fase deaktivasi, konsentrasi etanol semakin menurun (gambar 2) sedangkan konsentrasi gula reduksi semakin meningkat (gambar 3). Konsentrasi gula reduksi pada fase deaktivasi di tiap-tiap ruang sebesar: 0,1779 g/L untuk ruang A, ruang B: 0,1112 g/L, ruang C: 0,0953 g/L, dan ruang D: 0,3051 g/L.



Gambar 4. Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Konsentrasi Gula Reduksi pada Sorgum

Pada fase awal fermentasi, gula total dan gula reduksi terkonversi menjadi etanol dalam jumlah besar sehingga mengakibatkan konsentrasi gula total dan gula reduksi rendah. Fase berikutnya merupakan fase stasioner dimana pada fase ini konsentrasi etanol mulai stabil dan diperoleh etanol dengan konsentrasi tertinggi. Konsentrasi etanol yang tinggi dimungkinkan dapat menyebabkan pertumbuhan sel terhambat. Selain itu, performa yeast yang mulai menurun menyebabkan fermentasi bergerak menuju fase deaktivasi. Pada fase deaktivasi (jam ke 358), konsentrasi etanol menurun akibat gula total dan gula reduksi yang terkonversi rendah. Menurunnya konsentrasi etanol diikuti dengan kenaikan konsentrasi gula. Konsentrasi gula yang berlebih dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme.

Kesimpulan

Dari percobaan yang dilakukan, fase deaktivasi fermentasi ditunjukkan dengan konsentrasi etanol mulai menurun seiring dengan lama fermentasi yaitu pada jam ke 358 (hari ke-14). Fase ini terjadi di semua ruang reaktor. Konsentrasi gula total dan gula reduksi berbanding terbalik dengan konsentrasi etanol.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini didanai oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi di Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan melalui Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi (PUPT) 2015.

Daftar Pustaka

Chibata, Ichiro. *Immobilized Enzymes: Research and Development*, Wiley & Sons Incorporated John, New York. 1978.



- Dyartanti, Endah Retno dkk. Produksi Bioetanol dari Sorgum (*Sorghum Bicolor*) secara Kontinyu dari Reaktor Unggun Terfluidisasi (Fluidized Bed Bioreactor). *Ekuilibrium* Vol. 14.2015: 35-37
- Dyartanti, Endah Retno dkk. Bioethanol from Sorghum Seeds (*Sorghum Bicolor*) with SSF Reaction Using Biocatalyst Co-immobilization Method of Glucoamylase and Yeast. *Proceeding of 2nd International Conference on Sustainable Energy Engineering and Application*. ISBN 978-602-17952-1-7
- H. Nguyen, S. Turgeon, J. Matte."The Anaerobic Baffled Reactor: A Study of the Wastewater Treatment Process Using the Anaerobic Baffled Reactor", Worechaster Polytechnic Institute. 2010.
- Tri, Supriyanto., Wahyudi. Proses Produksi Etanol Oleh *Saccharomyces Cerevisiae* dengan Operasi Kontinyu pada Kondisi Vakum. Jurusan Teknik Kimia. Universitas Diponegoro.
- Widjaja, Tri dkk. Teknologi Immobilisasi Sel Ca-Alginat untuk Memproduksi Etanol secara Fermentasi Kontinyu dengan *Zymomonas Mobilis* Termutasi. *Seminar Rekayasa Kimia dan Proses*. 2010: 1411-4216
- Yudiarto, MA. Pemanfaatan Sorgum sebagai Bahan Baku Bioetanol. Makalah dalam Fokus Grup Diskusi "Prospek Sorgum untuk Mendukung Ketahanan Pangan dan Energi", MENRISTEK-BATAN, Serpong, 5 September 2006.



Lembar Tanya Jawab
Moderator : Luqman Buchori (UNDIP Semarang)
Notulen : Retno Ringgani (UPN "Veteran" Yogyakarta)

1. Penanya : Hargono (UNDIP)
- Pertanyaan : 1. Apakah yang melatarbelakangi penelitian ini menggunakan sistem kontinu? Karena dari hasilnya terlihat lebih kecil dari batch, dan yang hanya perlu 2 – 3 hari saja, sedangkan penelitian yang ada lakukan 14 hari
2. Dari hasil yang diperoleh kenapa gula yang sudah terdegradasi malah nilainya baik.?
- Jawaban : 1. Ingin melanjutkan penelitian (menguji cobakan) secara sistem *scohlnc1* dimana sebelumnya menggunakan reaktor fluidized Bed kontinu dan hasilnya rendah, maka ingin mengujicobakan dengan reaktor PBR
2. Karena proses yang dilakukan adalah kontinu, dan fresh feednya secara terus menerus ditambah, sedangkan yeast (tetap) maka yeast yang ada sudah tidak mampu mendegradasi gulanya, sehingga gulanya menjadi naik.
2. Penanya : Zainus S. (BATAN)
- Pertanyaan : Berapa ukuran biokatalisnya? Fungsi silikat ditambahkan untuk apa? 3. Apakah dianalisa sisa larutan dan biokatalisnya tentang yeast dan enzimnya?
- Jawaban : 1. Seragam 0,5 cm
2. Untuk mengendapkan (menjadi biokatalis menjadi lebih berat sehingga mampu mengendap)
3. Tidak dilakukan analisa. Proses pembuatan biokatalis hanya melakukan preparasi dan akhirnya terbentuk biokatalis tanpa menganalisa seberapa persen yeast dan enzim yang termetrikkan menjadi biokatalis