

## PERBAIKAN BIOPROSES UNTUK PENINGKATAN PRODUKSI BIOETANOL DARI MOLASE TEBU

### *Bioprocess Improvement for Enhancing Bioethanol Production of Sugarcane Molase*

SUMINAR D. NUGRAHENI DAN MASTUR

Balai Penelitian Tanaman Pemanis dan Serat

*Indonesian Sweetener and Fiber Crops Research Institute*

Jalan Raya Karangploso Km 4, Malang 651052

Telp. (0341) 491477. Faks. (0341) 485121

Email: [suminar.diyah@gmail.com](mailto:suminar.diyah@gmail.com), [mastur002@yahoo.com](mailto:mastur002@yahoo.com)

#### ABSTRAK

Bioetanol merupakan salah satu bahan bakar alternatif yang strategis untuk dikembangkan. Salah satu substrat yang menjanjikan untuk digunakan adalah molase. Molase merupakan hasil samping industri gula kristal tebu yang masih mengandung gula yaitu sekitar 45-54,6%. Bioetanol dari molase tebu berpotensi untuk dikembangkan karena sangat menguntungkan, pasokan cukup besar, tersedianya teknologi proses, serta tidak bersaing dengan pangan. Tulisan ini mengulas hasil-hasil penelitian dan implikasinya tentang bahan baku, proses, lingkungan yang berpengaruh serta strategi untuk meningkatkan produktivitas bioetanol dari molase tebu melalui rekayasa proses fermentasi. Pada pembuatan etanol, fermentasi merupakan proses yang memegang peranan penting. Pengaturan lingkungan fermentasi seperti suhu, pH, dan tekanan berpengaruh terhadap bioproses dalam fermentasi. Begitu pula penambahan bahan suplemen seperti gula, garam, dan ion logam menurut jenis dan konsentrasi yang tepat juga dapat mengoptimalkan proses fermentasi. Selain pengelolaan lingkungan dan penambahan bahan suplemen, strategi untuk peningkatan produktivitas bioetanol dari molase dapat dilakukan dengan: 1) penggunaan mikrobia selain *Saccharomyces cerevisiae*; 2) pretreatment; dan 3) metode fermentasi kontinyu. Penggunaan mikrobia selain *Saccharomyces cerevisiae*, seperti *Zymomonas mobilis* dapat meningkatkan produktivitas etanol hingga 55,8 g/L atau 27,9% dari total gula reduksi. Perlakuan pretreatment dapat meningkatkan produktivitas mikrobia dalam mengkonversi gula menjadi etanol, sedangkan penggunaan metode fermentasi secara kontinyu dapat meningkatkan produktivitas sebesar  $\pm 4.75$  g/L/jam.

Kata kunci : fermentasi, bioetanol, molase, bioproses

#### ABSTRACT

Bioethanol is one of strategic alternative fuel to develop. One of substrate that promises to be used is molasses. Molasses is by-product of sugar industry which contain of sugar about 45-54,6%. Bioethanol from sugarcane molase is necessary to develop because it is very profitable, large supply, availability technology, and no-competition to food. This paper was aimed to reviews some research results and their implications on raw materials, processes, advanced environments and strategies to increase bioethanol productivity of molasses through the fermentation process engineering. In the manufacture of ethanol, fermentation is an important holding process. In ethanol production, fermentation plays an important role. Fermentation environments arrangement such as temperature, pH, and pressure can effect on bioprocess of fermentation. Similarly, the addition of supplemental ingredients such as sugar, salt, and metal ions by appropriate type and concentration can also optimize the fermentation process. In addition to environmental arrangement and supplemental adding, strategies to improve bioethanol productivity of molasses can be accomplished by 1) the use of microbes other than *Saccharomyces cerevisiae*; 2) pretreatment; and 3) continuous fermentation method. The use of microbes other than *Saccharomyces cerevisiae*, such as *Zymomonas mobilis* can increase ethanol productivity up to 55.8 g / L or 27.9% of total sugar reduction. Pretreatment can increase microbial productivity in converting sugar to ethanol, while continuous use of fermentation method can increase productivity by  $\pm 4.75$  g / L / hr.

Key words : fermentation, ethanol, molasses, bioprocess.

## PENDAHULUAN

Krisis ketersediaan bahan bakar minyak (fosil) selalu menjadi ancaman baik disebabkan oleh cadangan yang semakin sedikit, konflik militer-politik-perdagangan terkait perebutan sumberdaya minyak yang mengakibatkan kenaikan harga dan perang, serta dampak pemakaian minyak bumi terhadap perubahan iklim global. Terjadi interaksi berbagai faktor yang menyebabkan situasi krisis ditunjukkan adanya kenaikan konsumsi bahan bakar minyak, dan terjadinya krisis politik, sehingga kecenderungan kenaikan harga minyak tak terelakkan (Sanchez dan Cardona, 2008).

Untuk mengatasi krisis bahan bakar minyak bumi diperlukan upaya khusus agar dapat mensubstitusinya melalui berbagai sumber terutama dari bahan baku terbarukan dan ramah lingkungan. Menurut Cardona dan Sanchez (2008), etanol merupakan bahan bakar terbarukan yang diharapkan dapat menekan dampak negatif pada lingkungan akibat pemakaian dari bahan bakar fosil. Bioetanol adalah alkohol hasil aktivitas fermentasi jenis karbohidrat seperti gula, pati dan lignoselulosa oleh mikrobia. Penggunaan mikroba sebagai penghasil enzim diharapkan mampu menghasilkan teknologi yang ramah lingkungan, efektif dan efisien (Walker, 2010). Substitusi premium dengan bioetanol sebagai bahan bakar transportasi secara tidak langsung akan mengurangi emisi karbondioksida. Hal ini dimungkinkan karena meningkatnya produksi bioetanol akan mendorong penanaman tanaman sehingga emisi karbondioksida yang dihasilkan akan terfiksasi melalui proses fotosintesis dari tanaman penghasil biomassa (Millan, 1997). Menurut Periyasami *et al.*, (2009), pembakaran bioetanol menghasilkan emisi senyawa organik volatil yang relatif sedikit, karbon monoksida dan nitrogen oksida. Peluang keracunan dari bioetanol jauh lebih rendah dibanding bahan bakar fosil.

Menurut Patrascu *et al.*, (2009), sebagian besar bioetanol yang diproduksi secara global berasal dari tebu. Selain sebagai bahan bakar, bioetanol merupakan *solvent* pada berbagai industri penting, germisida, *antifreeze*, dan bahan

baku utama sejumlah produk derivatif kimia, polimer, dan ester (Highina *et al.*, 2011). Produksi bioetanol dunia pada tahun 2013 mencapai 88 miliar liter (AFDC, 2014), dan 80% diproduksi dari fermentasi anaerobik dari berbagai sumber gula oleh *Saccharomyces cerevisiae* (Ngwenya *et al.*, 2012).

Salah satu substrat yang dipakai dalam produksi bioetanol adalah molase. Molase merupakan hasil samping dari pengolahan gula kristal tebu. Kadar gula yang masih tinggi sekitar 45 - 54,6% dan perannya sebagai limbah, menjadikan molase sebagai substrat yang menjanjikan untuk dikembangkan. Perbaikan proses pada produksi bioetanol dengan substrat molase diharapkan dapat memperbaiki kualitas produk yang dihasilkan. Tulisan ini membahas tentang strategi peningkatan produktivitas etanol melalui rekayasa proses fermentasi pada produksi bioetanol berbahan baku molase.

## BAHAN BAKU BIOETANOL

Tanaman merupakan pemanen energi surya yang dapat dikonversi menjadi pangan, pakan, maupun bentuk energi lain khususnya bahan bakar nabati. Bahan bakar nabati merupakan bentuk energi terbarukan, yang umumnya dikelompokkan menjadi dua yaitu sebagai substitusi bensin dan minyak diesel. Menurut Walter dan Ensinas (2010) dan Patrascu *et al.*, (2009), bahan baku untuk produksi bioetanol secara biologis dapat dikelompokkan menjadi :

- 1) Gula. Konversi gula menjadi etanol dilakukan melalui fermentasi langsung. Proses ini terjadi pada produksi etanol dari tebu, bit, sorgum manis, atau berasal dari limbah pemurnian gula seperti molase.
- 2) Pati. Konversi pati menjadi etanol dilakukan melalui hidrolisa pati untuk membentuk gula. Proses ini terjadi pada produksi etanol dari jagung, gandum, singkong, yang dimulai dari hidrolisa gula terfermentasi.
- 3) Selulosa. Konversi selulosa menjadi etanol dikenal sebagai proses produksi generasi ke dua, yang dilakukan dengan cara konversi bagas atau bahan berkayu menjadi gula dengan penambahan asam atau hidrolisis enzimatik.

Molase merupakan salah satu limbah industri gula yang menjanjikan untuk dijadikan bahan baku pembuatan etanol. Total gula yang terkandung dalam molase menurut Elena *et al.*, (2009) adalah 54,6%. Sedangkan menurut Wardani dan Pertiwi (2013), kadar gula yang terkandung dalam molase sebesar 50,23%. Gula yang terkandung dalam molase merupakan gula sederhana yang dapat langsung difermentasi oleh khamir tanpa proses *pretreatment* yang rumit.

Salah satu permasalahan yang muncul dalam pengembangan etanol adalah adanya persaingan penggunaan bahan baku antara pangan atau untuk bahan baku pembuatan etanol. Salah satu bahan baku yang tidak mengganggu fungsi pangan adalah limbah. Molase merupakan salah satu limbah pengolahan gula yang dapat digunakan sebagai bahan baku. Seiring dengan program swasembada gula yang dicanangkan pemerintah Indonesia, ekstensifikasi program ini akan meningkatkan jumlah pabrik gula sehingga jumlah molase yang dihasilkan juga akan meningkat.

## FERMENTASI DALAM PRODUKSI BIOETANOL

Bioetanol generasi pertama merupakan bioetanol yang diproduksi dari komoditas bahan pangan seperti gula, jagung, singkong dan sebagainya melalui proses fermentasi dan distilasi (Gomez, 2011). Bahan baku mengandung gula maupun pati digiling, dipanaskan dan kemudian ditambahkan enzim untuk mengubah pati menjadi glukosa dan larutan glukosa yang dihasilkan ditambahkan khamir untuk mengubah glukosa menjadi etanol (Kim, 2004).

Proses produksi bioetanol generasi pertama melalui proses fermentasi dengan bantuan khamir yang merupakan produk paling berharga bagi industri bioteknologi berkenaan dengan nilai dan pendapatan. Sekitar 80% etanol dihasilkan dari berbagai sumber gula melalui proses fermentasi anaerob oleh *S. cerevisiae*. Namun, terjadinya kontaminasi, ketersediaan bahan baku yang terbatas, dan desain proses fermentasi merupakan kendala utama yang menyebabkan penurunan produksi dan kualitas industri etanol (Nofemele, 2012).

Fermentasi adalah proses konversi gula menjadi etanol dengan bantuan mikroba, biasanya dari golongan khamir. Kriteria mikroorganisme yang digunakan dalam proses fermentasi harus memenuhi syarat antara lain dapat tumbuh dengan baik dan melakukan fermentasi secara cepat, menghasilkan etanol yang tinggi, mampu bertahan dalam kadar glukosa dan alkohol tinggi, serta mampu bertahan terhadap inhibitor yang terdapat pada substrat yang akan difermentasi (Patrascu *et al.*, 2009).

## LINGKUNGAN FERMENTASI DAN PENGELOLAANNYA

Menurut Patrascu *et al.*, (2009), faktor stres mengakibatkan perubahan struktural dan metabolisme pada organisme. Perubahan ini sebagai dampak dari ekspresi aktivator gen yang terlibat pada sintesis senyawa-senyawa tertentu yang melindungi sel. Pemicu gen ini dipengaruhi oleh faktor biotik dan abiotik. Faktor biotik mempengaruhi ekspresi gen, sedangkan faktor abiotik berupa suhu, tekanan osmosis, kondisi anaerobik, logam berat, zat pengatur tumbuh, radiasi ultra violet, dan represor organik. Adanya etanol tidak hanya menghambat pertumbuhan sel, namun juga menekan transport glukosa, sehingga menekan pertumbuhan khamir.

### Suhu

Stres karena suhu terhadap produksi etanol selama proses fermentasi telah banyak dipelajari. Menurut Patrascu *et al.*, (2009), beberapa strain *S. cerevisiae* mampu bekerja pada suhu 40 – 45°C. Bahkan selama 15 menit inkubasi pada suhu 55°C, masih dijumpai sel toleran. Hasil penelitian Fakruddin *et al.*, (2012) menunjukkan bahwa peningkatan suhu dari 25 - 30°C dapat meningkatkan produksi etanol. Akan tetapi, jika suhu terus ditingkatkan melebihi 30°C, produksi etanol akan menurun. Produksi etanol menggunakan *S. cerevisiae* strain IFST-072011 pada suhu 30°C menghasilkan 80,42 g/L.

Menurut Fakruddin *et al.*, (2013), suhu merupakan faktor lingkungan penting yang berpengaruh pada aktivitas mikroba. Untuk menentukan suhu optimum, dibuat percobaan

menggunakan taraf suhu 30, 35 dan 40°C. Pada keadaan tersebut, konsentrasi gula reduksi dipertahankan 6% dan pH 6,0. Hasil penelitian lain yang dilakukan oleh Periyasami *et al.*, (2009), dengan perlakuan suhu pada kisaran 25 - 45°C, diperoleh suhu optimal 35°C. Peningkatan suhu melebihi taraf optimum akan mengurangi presentasi produksi. Sedangkan Lin *et al.*, (2012) melaporkan bahwa penggunaan *S. cerevisiae* BY4742, produksi optimal diraih pada suhu antara 30 - 45°C dengan pH 5.

Perbedaan suhu pada proses fermentasi sangat tergantung pada strain khamir yang digunakan. Pada penggunaan *S. cerevisiae*, suhu optimal proses terjadi pada kisaran suhu 30 - 45°C.

## pH

Tingkat kemasaman atau kebasaaan dalam proses fermentasi sangat penting untuk memperoleh produksi etanol optimal. Produksi etanol agar mencapai optimal perlu dilakukan pengaturan pH pada permulaan pelaksanaan fermentasi. Hasil penelitian Fakruddin *et al.*, (2012) menunjukkan bahwa produksi tertinggi (0,42 g/L) diperoleh pada fermentasi dengan pH 6 menggunakan *S. cerevisiae*. Sedangkan menurut Periyasamy *et al.*, (2009), dengan mikrobial yang sama, pH optimal untuk menghasilkan etanol adalah 4.

Produksi etanol dapat berbeda bila menggunakan jenis atau strain mikroba yang berbeda. Hasil penelitian Fakruddin *et al.*, (2013) menunjukkan bahwa produksi etanol menggunakan tiga strain *S. cerevisiae* yaitu P, C, dan T, diperoleh hasil yang berbeda-beda. Strain P dan C menghasilkan produksi maksimum pada pH 5,5 setelah 60 jam. Untuk strain P dan C produksi etanol maksimum masing-masing 15,0% dan 12,50% dicapai pada pH 5,5, sedangkan strain T dengan produksi 10,60% (v/v) pada pH 6,0.

Penggunaan pH pada proses fermentasi sangat bervariasi, tergantung pada mikrobial yang digunakan. Hasil beberapa penelitian di atas menunjukkan bahwa penggunaan *S. cerevisiae* pada proses fermentasi membutuhkan kondisi lingkungan dengan pH 4 - 6.

## Tekanan

Hasil penelitian Supriyanto dan Wahyudi (2013) menunjukkan bahwa penggunaan operasi vakum pada proses fermentasi dengan tekanan 0,098 atm menghasilkan konsentrasi etanol lebih sedikit dibanding pada tekanan 0,49 atm. Hal ini terjadi karena gangguan akibat inhibisi lebih sedikit sehingga pertumbuhan sel lebih baik.

Faktor-faktor lingkungan fermentasi (suhu, pH, dan tekanan) dapat dikombinasikan untuk menghasilkan lingkungan fermentasi yang optimal. Galanakis *et al.*, (2012) telah mengkombinasikan faktor suhu dan tekanan. Peningkatan tekanan dari 3 menjadi 7 atm dan penurunan suhu dari 30°C menjadi 20°C dapat menurunkan produktivitas etanol masing-masing sekitar 50% dan 70%.

## PERANAN BAHAN SUPLEMEN

Peningkatan produktivitas bioproses produksi bioethanol dari molase dapat pula dilakukan dengan penambahan bahan pendukung agar proses terjadi lebih cepat, atau mengurangi faktor penghambat. Berikut disampaikan pengaruh penambahan gula, garam, atau ion logam makro dan mikro.

## Gula

Menurut Supriyanto dan Wahyudi (2013), pengaruh penambahan gula 50, 75, 100, 125, dan 150 g/L pada substrat molase dengan proses fermentasi secara kontinyu, menunjukkan bahwa produksi etanol tertinggi diperoleh pada konsentrasi 125 g/L. Kenaikan gula akan meningkatkan jumlah substrat untuk metabolisme khamir, sehingga etanol yang dihasilkan lebih banyak. Pada konsentrasi melebihi 125 g/L, terjadi inhibisi substrat yang mengakibatkan penurunan jumlah oksigen terlarut. Oksigen dibutuhkan oleh *S. cerevisiae* untuk bertahan hidup dan menjaga konsentrasi sel tetap tinggi.

Konsentrasi gula reduksi awal sangat berpengaruh pada hasil etanol (Fakruddin, 2012). Hasil etanol tertinggi (86,90 g/L atau 6,3%) diperoleh dari konsentrasi gula reduksi awal sebesar 5,5%. Peningkatan atau penurunan konsentrasi gula reduksi akan menurunkan hasil

etanol. Fakruddin *et al.*, (2013) menguji tiga strain *S. cerevisiae* dalam aplikasi gula reduksi pada awal konsentrasi 5 - 6% selama 60 jam, dan diperoleh produksi etanol maksimum bila dibandingkan pada konsentrasi gula reduksi lebih dari 6%. Sedangkan menurut Wardani dan Pertiwi (2013), konsentrasi gula sebesar 15% dapat menghasilkan etanol maksimum sebesar 8,792%. Berbeda dengan Fadel *et al.*, (2013), yang menyatakan bahwa konsentrasi gula 18% dapat menghasilkan etanol maksimum sebesar 9,8%.

### Garam dan Ion Logam

Peningkatan produksi etanol dapat juga dilakukan dengan menambahkan suplemen garam. Garam dan ion logam yang ditambahkan pada proses fermentasi digunakan oleh mikrobia untuk proses metabolisme selama daur hidupnya. Konsentrasi yang diberikan untuk kedua elemen ini hanya berkisar mikromolar sampai milimolar (Walker, 2010). Menurut Ngwenya *et al.*, (2012), ion-ion logam seperti kalium berdampak buruk bagi khamir, sebaliknya ion logam mikro Zn dan Mg sangat dibutuhkan. Menurut Fakruddin *et al.*, (2012), pemberian suplemen garam logam tembaga sulfat ( $\text{CuSO}_4$ ) dapat menurunkan produksi etanol, namun pemberian suplemen kalium dikromat ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ) dan asam borat dapat meningkatkan produksi etanol. Pada penelitian berikutnya, penggunaan tiga strain *S. cerevisiae*

yaitu strain P, C, dan T, dan penambahan kalium dikromat dengan konsentrasi 0,04% dapat meningkatkan produksi etanol masing-masing sebesar 15,50%, 14,64%, dan 13,53% (Fakruddin *et al.*, 2013).

Nofemele *et al.*, (2012) melaporkan adanya pengaruh baik dari pemberian urea. Penambahan urea sebagai sumber nitrogen, dengan konsentrasi sebanyak 3 g/l pada suhu fermentasi 40°C, mampu meningkatkan efisiensi fermentasi sebesar 65%, atau 30% lebih tinggi dibanding etanol yang diperoleh dari praktek industri (menggunakan penambahan urea 0,5 g/l). Penambahan sumber nitrogen dalam skala industri (*scale up*) dengan jumlah sampai dengan 3g/l dapat menjadi cara alternatif untuk meningkatkan produktivitas khamir khususnya *S. cerevisiae*.

## STRATEGI PENINGKATAN HASIL FERMENTASI

Disamping pengelolaan lingkungan dan penambahan bahan suplemen, upaya mengoptimalkan bioproses selama fermentasi untuk meningkatkan produktivitas bioetanol dapat dilakukan dengan: 1) penggunaan mikrobia alternatif; 2) proses *pretreatment*; dan 3) penggunaan metode fermentasi kontinyu. Tahapan perbaikan bioproses untuk meningkatkan produktivitas bioetanol disajikan pada Tabel 1.

Table 1. Perbaikan bioproses untuk meningkatkan produktivitas bioetanol

No.	Tahapan Bioproses	Eksisiting	Perbaikan	Potensi peningkatan produktivitas
1.	Pemilihan Mikrobia	Mikrobia yang digunakan pada umumnya adalah <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Menggunakan mikrobia yang telah dimodifikasi secara genetik atau menggunakan mikrobia lain selain <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Penggunaan <i>Zymomonas mobilis</i> dapat meningkatkan produktivitas hingga 55,8 g/L (Cazetta <i>et al.</i> , 2007) selain itu pula dapat menghemat waktu serta lebih toleran terhadap suhu tinggi dan etanol pada kadar tinggi.
2.	Perlakuan <i>pretreatment</i>	Kandungan logam dan <i>trace element</i> dalam molase belum dapat berkurang dengan maksimal	Perlakuan <i>pretreatment</i> yang tepat dapat mengurangi kandungan logam dan <i>trace element</i> dalam molase.	Meningkatkan produktivitas mikrobia dalam mengkonversi gula menjadi etanol.
3.	Pemilihan Metode	Fermentasi dengan metode <i>batch</i>	Fermentasi kontinyu	Dapat meningkatkan produktivitas sebesar $\pm$ 4.75 g/L.jam_(Bouallagui <i>et al.</i> , 2013)

## Pemilihan Mikroba yang Efektif

Pada proses fermentasi, pemilihan jenis mikrobia sangat menentukan hasil yang akan dicapai. Mikrobia yang digunakan pada proses ini harus toleran terhadap alkohol dan kondisi lingkungan yang ekstrim seperti suhu tinggi dan pH rendah. Menurut Ngwenya *et al.*, (2012), kelompok mikroba yang dapat dipakai untuk fermentasi selain khamir adalah cendawan dan bakteri.

Menurut Patrascu *et al.*, (2009), spesies utama khamir untuk fermentasi adalah *S. cerevisiae*. Khamir dari spesies *S. cerevisiae* telah terbukti efisien dan cepat dalam memfermentasi gula heksosa (C6) menjadi etanol sehingga diaplikasikan pada industri pembuatan etanol di Brazil dengan substrat molase maupun nira tebu. Selain itu spesies ini juga toleran terhadap pH rendah dan alkohol (Merico, 2007 dalam Stambuk *et al.*, 2008). Pada fermentasi substrat molase, produktivitas khamir ini antara 2,33-3,8 g/l/jam (Elena, 2009; Fernandez-Lopez *et al.*, 2012).

Beberapa khamir penghasil etanol antara lain adalah *S. cerevisiae*, *S. uvarum* (*Scarlsbergensis*), *Candida utilis*, *S. anamensis*, *Shizosaccharomyces pombe*, *S. vini*, *S. acldodevoratus*, dan *Kluyveromyces* sp. (Mariam *et al.*, 2009; Supriyanto dan Wahyudi, 2013). Menurut Chandel *et al.*, (2007), *S. cerevisiae* hanya mampu mengubah gula heksosa ke bioetanol, sedangkan *Picia stipitis*, *Candida shehatae*, *Pachysolan tannophilus* memiliki prospek bagus karena mampu bekerja baik pada gula heksosa maupun pentosa.

Penelitian untuk menggunakan berbagai mikroba sangat penting untuk menghadapi berbagai masalah khusus seperti suhu tinggi, osmosis, dan lain-lain. Dari kelompok bakteri *Zymomonas* sp. dianggap sebagai alternatif *S. cerevisiae* (Patrascu *et al.*, 2009). Penggunaan *Zymomonas mobilis* dapat mencapai produktivitas hingga 55,8 g/l atau 27,9% dari total gula reduksi (Cazetta *et al.*, 2007). Sedangkan menurut Widjaja *et al.*, (2009), bakteri *Zymomonas mobilis* memiliki toleransi suhu tinggi, kemampuan konversi yang lebih cepat, serta lebih tahan terhadap kadar etanol tinggi dibanding *S. cerevisiae*. Pada proses fermentasi, selain menghasilkan etanol, juga dihasilkan panas. Penggunaan mikrobia yang

toleran terhadap suhu tinggi dapat dilakukan untuk mengatasi kematian mikrobia akibat panas yang dihasilkan selama proses fermentasi.

## Perlakuan Pretreatment

Molase adalah hasil samping industri gula kristal yang berbentuk cair dengan kekentalan tertentu dan berwarna coklat pekat. Kandungan molase terdiri dari gula (sukrosa, glukosa dan fruktosa), abu, padatan terlarut, air, nitrogen dan beberapa mineral (Bouallagui *et al.*, 2013; Osunkoya and Okwudinka, 2011; Patrascu *et al.*, 2009; Walker, 2010).

Kandungan molase tergantung pada kematangan tebu pada saat panen, kandungan gula dalam tebu, metode ekstraksi dalam pengolahan gula, dan cara budidaya tebu. Pemberian pupuk dengan kandungan garam anorganik berlebihan dapat meningkatkan residu garam dalam molase. Selain itu keseragaman kemasakan tebu pada saat panen juga berpengaruh pada kandungan gula dalam molase (Thigpen 1999 dalam Klomklieng dan Prateepasen, 2012; Eggleston *et al.*, 2008 dalam Ngwenya *et al.*, 2012). Unsur-unsur yang terkandung dalam molase sangat berpengaruh pada kualitas molase. Menurut Maiorella 1985 dalam Highina *et al.*, (2011), kandungan garam anorganik dalam molase sangat berpengaruh pada proses fermentasi. Sedangkan Ngwenya *et al.*, (2012) menyatakan bahwa keberadaan ion logam berat seperti kalium dapat mempengaruhi pertumbuhan khamir. Beberapa komponen lain yang terbentuk selama proses produksi gula yang terkandung dalam molase seperti furfural, asam format, hasil samping reaksi pencoklatan juga akan menjadi inhibitor bagi khamir dalam proses fermentasi (Walker, 2010). Oleh karena itu, sebelum digunakan dalam proses produksi, molase yang akan digunakan dimurnikan terlebih dahulu dengan menambahkan asam sulfat hingga pH 4,5 dan dipanasi pada suhu 90°C (Walker, 2010).

## Pemilihan Metode Fermentasi yang Sesuai

Beberapa metode fermentasi telah banyak diterapkan, antara lain metode *batch*, *fed-batch*, dan kontinyu. Metode *batch* merupakan metode

Tabel 2. Kelebihan dan kekurangan beberapa metode fermentasi

Metode	Kelebihan	Kekurangan	Referensi
Fermentasi <i>batch</i>	Praktis, proses sterilisasi dan pembersihan alat mudah, kontaminasi rendah.	Waktu fermentasi panjang, etanol yang dihasilkan dapat menjadi inhibitor, kebutuhan akan tenaga kerja tinggi, terbentuknya berbagai hasil samping.	Walker, 2010; Echegaray <i>et al.</i> , 2000; Deshpande 2002; Godoy, 2008.
Fermentasi <i>fed-batch</i>	Substrat dapat terkonversi dengan sempurna, mengurangi inhibitor inokulum, produktivitas tinggi	Kebutuhan tenaga kerja tinggi, pertumbuhan inokulum yang tidak seimbang pada tiap fase pertumbuhannya.	Walker, 2010; Szymanowska and Grajek. 2009; Cheng <i>et al.</i> , 2009.
Fermentasi Kontinyu	Fase fisiologi sel konstan (produktivitas inokulum terjaga), keseimbangan nutrisi terjaga, fase <i>steady state</i> yang lama, produktivitas tinggi	Memungkinkan terjadinya mutasi pada strain khamir yang digunakan.	Walker, 2010 ; Ritche <i>et al.</i> , 2013; Brethauer and Wyman, 2010; Renge <i>et al.</i> , 2012; Godoy, 2008.

fermentasi dengan memasukkan media, substrat, dan inokulum secara bersamaan dalam bioreaktor. Panen dilaksanakan pada akhir proses fermentasi. Metode *fed-batch* merupakan metode fermentasi dengan penambahan media secara berkala pada bioreaktor yang sebelumnya telah berisi sebagian media, substrat, dan inokulum. Panen dilakukan pada akhir proses fermentasi. Sedangkan pada metode kontinyu, fermentasi dilakukan dengan mengalirkan media, substrat, dan inokulum secara berkesinambungan. Panen juga dilakukan secara berkesinambungan setelah diperoleh konsentrasi produk maksimal. Setiap metode tersebut memiliki kelebihan dan kekurangan yang disajikan pada Tabel 2.

Metode fermentasi yang tepat dapat meningkatkan produktivitas etanol. Pada umumnya produksi etanol berbahan baku molase pada skala industri menggunakan metode fermentasi *batch* karena hasil akhir yang dihasilkan lebih baik dibandingkan dengan metode yang lain (Patrascu *et al.*, 2009). Namun tidak menutup kemungkinan untuk mengembangkan metode fermentasi lain dengan beberapa modifikasi dalam sistemnya sehingga kekurangan yang dimiliki dapat diminimalkan

dan hasil yang diharapkan dapat tercapai. Menurut Baptista *et al.*, 2006 dalam Bouallagui *et al.*, (2013), penggunaan metode fermentasi *batch* pada umumnya menghasilkan etanol sebesar 1,8-2,3 g/l/jam, sedangkan hasil penelitian Bouallagui *et al.*, (2013), dengan metode kontinyu, produktivitas yang dicapai dapat meningkat hingga 6,8 g/l/jam.

## KESIMPULAN

Molase merupakan substrat potensial yang dapat digunakan dalam pembuatan etanol karena berupa limbah industri gula serta bukan bahan pangan. Pada proses pembuatan etanol dari molase, proses fermentasi memegang peranan penting. Pengaturan lingkungan fermentasi seperti suhu, pH, dan tekanan yang optimal serta penambahan bahan suplemen seperti gula, garam dan ion logam menurut jenis dan konsentrasi yang tepat, berpengaruh terhadap bioproses dalam fermentasi. Strategi untuk peningkatan produktivitas bioetanol dari molase adalah: 1) penggunaan mikrobia selain *S. cerevisiae*; 2) pretreatment; dan 3) metode fermentasi kontinyu. Penggunaan mikrobia lain selain *S. cerevisiae*, seperti *Zymomonas mobilis*

dapat meningkatkan produktivitas hingga 55,8 g/l/jam. *Pretreatment* dapat meningkatkan produktivitas mikrobial dalam memfermentasi gula sedangkan penggunaan metode fermentasi secara kontinyu dapat meningkatkan produktivitas etanol sebesar  $\pm 4.75$  g.

#### DAFTAR PUSTAKA

- AFDC. 2014. World Fuel Ethanol Production by Country or Region . <http://www.afdc.energy.gov/data/search?q=world+ethanol+production>. [8 Juni 2015].
- Anonimous. 2013. Distilasi. <http://id.wikipedia.org/wiki/Distilasi>. [1 Oktober 2013].
- Atmojo, S. T. 2013. Pengertian Destilasi. <http://chemistry35.blogspot.com/2011/08/pengertian-distilasi.html> [1 Oktober 2013].
- Bouallagui, H., Y. Touhami, N. Hanafi, A. Ghariani, and M. Hamdi. 2013. Performances comparison between three technologies for continuous ethanol production from molasses. *Biomass and Bioenergy* 48: 25-32.
- Brethauer, S. and C.E. Wyman. 2010. Review: Continuous hydrolysis and fermentation for cellulosic ethanol production. *Bioresource Technology* 101 (2010). p. 4862-4874.
- Chandel, A.K., E.S. Chan, R. Rudravaram, M.L. Narasu, L.V. Rao and P. Ravindra. 2007. Economics and environmental impact of bioethanol production technologies; an appraisal. *Biotechnology and Molecular Biology Review* 2 (1): 14-32.
- Cardona, C.A. and O.J. Sanchez. 2007. Fuel ethanol production : process design trends and integration opportunities. *Bioresource Technology* 98: 2415-2457.
- Cheng, N.G, M. Hasan, A.C. Kumoro, C. F. Ling and M. Tham. 2009. Production of ethanol by fed-batch fermentation. *Pertanika J. Sci. & Technol.* 17 (2): 399 – 408.
- Cazetta, M.L., M.A.P.C. Celligoi, J.B. Buzato, and I.S. Scarmino. 2007. Fermentation of Molasses by *Zymomonas mobilis*: Effects of Temperature and Sugar Concentration on Ethanol Production. *Bioresource Technology* 98: 2824-2828.
- Darmawan, R. dan T. Widjaja. 2008. Peningkatan produktivitas etanol dari molasses dengan teknik immobilisasi di bioreaktor packed-bed. Seminar Nasional Fundamental dan Aplikasi Teknik Kimia 2008. Surabaya. <http://www.its.ac.id/personal/...> [9 Juli 2013].
- Deshpande, G.B. 2002. Overview of continuous alcohol fermentation and multipressure distillation technology. *Proc S Afr Sug Technol Ass* 76: 574 - 581.
- Echegaray, O.F., J.C.M. Carvalho, A.N.R. Fernandes, S. Sato, E. Aquarone, and M. Vitolo. 2000. Fed-batch culture of *saccharomyces cerevisiae* in sugar-cane blackstrap molasses: invertase activity of intact cells in ethanol fermentation. *Biomass and Bioenergy* 19: 39 - 50.
- Elena, Patrascu. G. Rapeanu , C. Bonciu, dan T. Hopulele. 2009. Bioethanol production from molasses by different strains of *saccharomyces cerevisiae*. *Fascicle VI – Food Technology, New Series Year III (XXXIII)*: 49-56.
- Endah, R.D., D. Sperisa, N. Adrian, dan Paryanto. 2007. Pengaruh kondisi fermentasi terhadap yield etanol pada pembuatan bioetanol dari pati garut. *Gema Teknik* No: 2/Tahun X Juli 2007. <http://cpanel.petra.ac.id/ejournal/index.php/gem/article/view/17610/17525>. [12 September 2013].
- Fadel, M., A.A. Keera, F. E. Mouafi, and T. Kahil. 2013. High level ethanol from sugar cane molasses by a new thermotolerant *saccharomyces cerevisiae* strain in industrial scale. *Biotechnology Research International* 2013: 1 - 6.
- Fakruddin, M., M.A. Quayum, M.M. Ahmed, dan N. Chowdhury. 2012. Analysis of Key Factors Affecting Ethanol Production by *Saccharomyces cerevisiae* IFST-072011. *Biotechnology* 11 (4): 248 - 252.



- Fakruddin, M., M.A. Islam, M.M. Ahmed, dan N. Chowdhury. 2013. Process Optimization of Bioethanol Production by Stress Tolerant Yeasts Isolated from Agro-industrial Waste. *International Journal of Renewable and Sustainable Energy* 2 (4): 133 - 139.
- Fernandes, D.L.A., S.R. Pereira, L.S. Serafim, D.V. Evtuguin, dan A.M.R.B. Xavier. 2013. Second Generation Bioethanol from Lignocellulosics: Processing of Hardwood Sulphite Spent Liquor. *Department of Chemistry, University of Aveiro, Portugal*.
- Fernández-López, C. L., B. Torrestiana-Sánchez, M. A. Salgado-Cervantes, P. G. Mendoza García, and M. G. Aguilar-Uscanga. 2012. Use of Sugarcane Molasses "B" As An Alternative For Ethanol Production With Wild-Type Yeast *Saccharomyces cerevisiae* ITV-01 at High Sugar Concentrations. *Bioprocess Biosyst Eng* 35: 605 - 614. doi:10.1007/s00449-011-0633-9.
- Galanakis, C.M., C. Kordulis, M. Kanellaki, A.A. Koutinas, A. Bekatorou, and A. Lycourghiotis. 2012. Effect of pressure and temperature on alcoholic fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* immobilized on c-alumina pellets. *Bioresource Technology* 114: 492 – 498.
- Goldemberg, J. 2008. The Potential For 1<sup>st</sup> Generation Ethanol Production From Sugarcane. University of Sao Paulo. Brazil. [http://www.globalbioenergy.org/uploads/media/0907\\_Goldemberg:\\_THE\\_POTENTIAL\\_FOR\\_1ST\\_GENERATION\\_ETHANOL](http://www.globalbioenergy.org/uploads/media/0907_Goldemberg:_THE_POTENTIAL_FOR_1ST_GENERATION_ETHANOL). [ 24 Juli 2013].
- Godoy, A., H.V. Amorim, M.L. Lopes, and A.J. Oliveira. 2008. Continuous and batch fermentation processes: advantages and disadvantages of these processes in the Brazilian ethanol production. *Int. Sugar J.* 110 (1311): 175 – 182.
- Gomez, A. M. Rodrigues, C.Montan'es, C. Dopazo, dan N. Fueyo. 2011. The technical potential of first-generation biofuels obtained from energy crops in Spain Fluid Mechanics Group, University of Zaragoza, Mari'a de Luna 3, 50018 Zaragoza, Spain *Biomass and bioenergy* 35: 2143 - 2155.
- Guzzone, A.. 2013. Energy efficient technologies for ethanol production from sugar and sugar by-products. VOGELBUSCH. Vienna, Austria.
- Heinzle, E.. 2009. Introduction to Ideal Reactors "Basic Description and Design" *Technische Chemie I, WS2009: Chemical R*
- Highina, B.K., I. Hashima and I.M. Bugaje. 2011. Optimization Of Ethanol Production From Sugar Molasses in Nigeria. *Journal of Applied Technology in Environmental Sanitation* 1 (3): 233-237.
- Jutakanoke, R., N. Leepipatpiboon, V. Tolieng, V. Kitpreechavanich, T. Srinorakutara, A. Akaracharanya. 2012. Sugarcane leaves: Pretreatment and ethanol fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*. *Biomass and Bioenergy* 39: 283-289.
- Keshwani, D.R. dan J.J.Cheng. 2009. Switchgrass for bioethanol and other value-added applications: A review. *Bioresource Technology* 100: 1515 - 1523.
- Kim, S. and B.E. Dale. 2004. Global potential bioethanol production from wasted crops and crop residues. *Biomass and Bioenergy* 26: 361 – 375.
- Klomklieng, W. and A. Prateepasen. 2012. Molasses Fermentation to Ethanol by *Saccharomyces cerevisiae* M30 Using Low Ultrasonic Frequency Stimulation. *KKU Res. J* 17(6): 950 - 957.
- Lin, Y., W. Zhang, C. Li, K. Sakakibara, S. Tanaka, dan H. Kong. 2012. Factors Affecting Ethanol Fermentation using *Saccharomyces cerevisiae* BY4742. *Biomass dan Bioenergy* xxx :1-7.
- Mariam, I., K. Manzoor, S. Ali and Ikram-Ul-Haq. 2009. Enhanced Production of Ethanol from Free and Immobilized *Saccharomyces cerevisiae* Stationary Culture. *Pakistan. Journal of Botany* 41: 821-823.
- Martinez, A.T., F.J. Ruiz-Duenas, M.J. Martinez, J.C. Del Rio, and A. Gutierrez. 2009. Enzymatic delignification of plant cell

- wall: from nature to mill. *Current Opinion in Biotechnology* 20 (3): 348 - 357, ISSN 1879-0429.
- Millan, J.D. 1997. Bioethanol production: status dan prospects. *Renewable Eng.* 10: 295 - 302.
- Naik, S.N., V.V. Goud, P.K. Rout, and A.K. Dalai. 2010. Production of first and second generation biofuels: A comprehensive review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 14: 578 - 597, ISSN 1364-032.
- Nofemele, Z., P. Shukia., A. Trussier., K. Permaul. and S. Singh. 2012. Improvement of Ethanol Production from Sugarcane Molasses Through Enhanced Nutrient Supplementation Using *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Brewing and Distilling* 3 (2): 29 - 35.
- Ngwenya, T.T., P. Shukla., N. Baboolai., K. Permaul and S. Singh. 2012. An Industrial Perspective of Factors Affecting Molasses Fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Brewing and Distilling* 3 (2): 23 - 28.
- Osunkoya, O.A. and N.J. Okwudinka. 2011. Utilization of Sugar Refinery Waste (Molasses) for Ethanol Production using *Saccharomyces Cerevisiae*. *American Journal of Scientific and Industrial Research* 2(4): 694 - 706.
- Patrascu, E., G. Rapeanu., and T. Hopulele. 2009. Current Approaches To Efficient Biotechnological Production Of Ethanol. *Innovative Romanian Food Biotechnology* 4: 1-11.
- Patrascu, E., R. Gabriela, B. Camelia, and H. Traian. 2009. Bioethanol Production from Molasses by Different Strains of *Saccharomyces Cerevisiae*. *The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati Fascicle VI - Food Technology, New Series Year III (XXXIII)*. p. 49-56.
- Perez, J., J. Munoz-Dorado, T. de la Rubia, and J. Martinez. 2002. Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: an overview. *International Microbiology* 5 (2): 53 - 63, ISSN 1139-6709.
- Periyasamy, S., S. Venkatachalam., S. Ramasamy., V. Srinivasan. 2009. Production of Bioethanol from Sugar Molasses. *Modern Applied Science*. 3 (8) <http://www.ccsenet.org/journal.html>.
- Prihandana, R. dan R. Hendroko. 2008. *Energi Hijau*. Penebar Swadaya. Depok.
- Puspita, E., H. Silviana dan T. Ismail. 2010. Fermentasi Etanol Dari Molasses Dengan *Zymomonas mobilis* A3 Yang Diamobilisasi Pada k-Karaginan. *Seminar Rekayasa Kimia Dan Proses* 2010. ISSN : 1411-4216.
- Renge, V.C., S.V. Khedkar and N.R. Nandurkar. 2012. Enzyme Synthesis By Fermentation Method : A Review. *Scientific Reviews and Chemical Communication* 2(4): 585 - 590.
- Richter, H., M.E. Martin, and L.T. Angenent. 2013. A Two-Stage Continuous Fermentation System for Conversion of Syngas into Ethanol. *Energies* 2013 (6): 3987 - 4000.
- Riyanti, E.I. 2009. *Biomassa Sebagai Bahan Baku Bioetanol*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian. Bogor.
- Simmons, B.A., D. Loque, and H.W. Blanch. 2008. Next-generation biomass feedstocks for biofuel production. *Genome Biology* 9 (242), ISSN 1465-6914.
- Sanchez, O.J. and C.A Cardona. 2008. Trend in Biotechnological Production of Fuel Ethanol from Different Feedstocks. *Bioresource Technology* 99: 5270-5295.
- Sierra, R., Smith, A., Granda, C.B. & Holtzapple, M. 2008. Producing Fuels and Chemicals from Lignocellulosic Biomass. *Chemical Engineering Progress* 104(8): 10 - 18.
- Stambuk, B.U., E.C.A. Eleutherio, L.M. Florez-Pardo, A. M. Souto-Maior, dan E.P.S. Bon. 2008. Brazilian Potential for Biomass Ethanol Challenge of Using Hexose and Pentose co-fermenteng Yeast Strain. *Journal of Scientific and Industrial research* 67: 918 - 926.
- Supriyanto, T. dan Wahyudi. 2013. Proses Produksi Etanol Oleh *Saccharomyces cerevisiae* Dengan Operasi Kontinyu Pada Kondisi Vakum. *Jurusan Teknik*

- Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro.  
[http://eprints.undip.ac.id/13471/Artikel\\_II\\_miah.pdf](http://eprints.undip.ac.id/13471/Artikel_II_miah.pdf). [9 Juli 2013].
- Susantris, M. dan N. Gamayanti. 2013. Simulasi Proses Produksi Etanol Dari Molasses Melalui Beberapa Konfigurasi Alternatif Proses. <http://digilib.its.ac.id/public/ITS-undergraduate-10658-Paper.pdf>. [9 Juli 2013].
- Szymanowska, D and W. Grajek. 2009. Fed-Batch Simultaneous Saccharification and Ethanol Fermentation of Native Corn Starch. *Acta Scientiarum Polonorum, Technol. Aliment.* 8(4): 5 - 16.
- Walker, G.M. 2010. *Bioethanol: Science and Technology of Fuel Alcohol*. Graeme M. Walker & Ventus Publishing ApS. 8-10 pp.
- Walter, A. and A.V. Ensinas. 2010. Combined Production of Second-generation Biofuels And Electricity From Sugarcane Residues. *Journal of Energy* 35: 874 - 879.
- Wardani, A.K Danf, dan N.E. Pertiwi. 2013. Produksi Etanol dari Tetes Tebu oleh *Saccharomyces Cerevisiae* Pembentuk Flok (Nrrl – Y 265). *Agrotech* 33(2): 131 - 139.
- Widjaya, T., M. Andina dan D. Agustin. K.W. 2009. Pengaruh Konsentrasi Gula Terhadap Produksi Etanol dari Molase dengan Teknik Immobilisasi Sel. Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia “Kejuangan”. Pengembangan Teknologi Kimia Untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia. Yogyakarta. B11: 1-6.
- Yu, Z., and H. Zhang. 2003. Pretreatments of Cellulose Pyrolysate for Ethanol Production by *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia* sp. YZ-1 and *Zymomonas mobilis*. *Biomass and Bioenergy* 24: 257 - 262.
- Xavier, M.R. 2007. *The Brazilian Sugarcane Ethanol Experience. Issue Analysis. No. 3.* Washington USA. Competitive Enterprise Institute. 11 pp.