

**ABSTRAK DAN EXECUTIVE SUMMARY  
PENELITIAN UNGGULAN PERGURUAN TINGGI**



**Evaluasi dan Optimasi Produksi Bioetanol oleh *Saccharomyces cerevisiae* Strain ATCC 9763, FNCC 3210 dan Batan pada Substrat Molases Gula Tebu**

**Oleh:**

**NAMA:**

**Dr. Ir. JAYUS**

**Dr. NURHAYATI, S.TP, M.Si**

**Dr. BAMBANG PILUHARTO, S.Si, M.Si**

**NIDN:**

**0016056803**

**0010047903**

**0003077110**

Dibiayai oleh DIPA DP2M Nomor : 023.04.2.414995/2014 Tanggal 05 Desember 2013,  
Revisi ke-02 Tanggal 24 Maret 2014

**UNIVERSITAS JEMBER**

**NOVEMBER, 2014**

## Evaluasi dan Optimasi Produksi Bioetanol oleh *Saccharomyces cerevisiae* Strain ATCC 9763, FNCC 3210 dan Batan pada Substrat Molases Gula Tebu

Peneliti : Jayus<sup>1,2</sup>, Nurhayati<sup>1,2</sup>, Bambang Piluharto<sup>1,2</sup>

Mahasiswa Terlibat : 2 (dua) Mahasiswa Jurusan THP FTP UJ,

Sumber Dana : DIPA UNIVERSITAS JEMBER TAHUN 2014

<sup>1</sup>Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember

<sup>2</sup>Center for Development of Advanced Science and Technology (CDAST), Universitas Jember

### ABSTRAK

Salah satu alternatif untuk meningkatkan produksi bioetanol pada media molases tebu adalah dengan mengeksplorasi strain yeast *Saccharomyces cerevisiae*, diantaranya strain ATCC 9763 dan FNCC 3210. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui sifat morfologi dan fisiologi serta mengetahui pengaruh pH terhadap perubahan kadar gula total, lama fermentasi, populasi mikroba, dan untuk mengetahui kadar etanol tertinggi dari variasi media molases dan glukosa menggunakan ketiga strain tersebut. pH media untuk produksi etanol ditetapkan melalui uji coba menggunakan glukosa yang diatur pada derajat brix 14 % dan 34 % serta variasi pH 4.0; 4.5; 5.0; dan 5.5, yang telah ditambahkan sumber mineral, nitrogen dan fosfat (NPK pupuk dan HPO<sub>4</sub>) difermentasi dengan *S. cerevisiae* pada suhu ruang tanpa ada perlakuan aerasi. Profil pertumbuhan mikroba serta bioetanol diamati setiap 4 jam selama 24 jam. Selama fermentasi, terjadi peningkatan populasi mikroba, dan penurunan kadar gula. Karakterisasi fenotip dari ketiga strain dilakukan terhadap sifat morfologi dan fisiologinya, termasuk pengukuran besar ukuran sel. Rata-rata ukuran sel dari ketiga jenis strain adalah 5-9 µm setelah 24-48 jam fermentasi. Strain ATCC 9763 dan FNCC 3210 mampu menghasilkan kadar bioetanol yang relative sama yakni  $\pm 4\%$ , lebih besar dari strain BATAN yang hanya memproduksi etanol sebesar 2,5%, tetapi produksi bioetanol oleh kedua strain pertama lebih rendah dibanding kemampuan ragi komersial yang mampu menghasilkan kadar bioetanol 7%. Perbedaan ini kemungkinan disebabkan oleh sumber N dan P yang dipakai pada pengujian ragi komersial adalah ammonium posfat. Kedua strain ATCC 9763 dan FNCC3210 memiliki potensi untuk produksi etanol secara fermentasi aerob, teknik produksi bioetanol yang akhir-akhir ini dikembangkan oleh beberapa produsen. Pemberian agitasi tanpa aerasi tidak dapat meningkatkan produksi etanol, sedangkan pemberian agitasi yang diikuti dengan aerasi dapat meningkatkan kadar etanol kurang lebih 20 % peningkatannya.

**Kata Kunci:** bioetanol, *Saccharomyces cerevisiae*, kadar brix, kecepatan agitasi dan aerasi

# EVALUASI DAN OPTIMASI PRODUKSI BIOETANOL OLEH *SACCHAROMYCES CEREVISEAE* STRAIN ATCC 9763, UNESA DAN BATAN PADA SUBSTRAT MOLASES GULA TEBU

Peneliti : Jayus<sup>1,2</sup>, Nurhayati<sup>1,2</sup>, Bambang Piluharto<sup>1,2</sup>

Mahasiswa Terlibat : 2 (dua) Mahasiswa Jurusan THP FTP UJ,

Sumber Dana : DIPA UNIVERSITAS JEMBER TAHUN 2014

<sup>1</sup>Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember

<sup>2</sup>Center for Development of Advanced Science and Technology (CDAST), Universitas Jember

## EXECUTIVE SUMMARY

Evaluasi dan optimasi produksi bioetanol oleh *Saccharomyces cerevisiae* strain ATCC 9763, FNCC 3210 dan Batan pada substrat molases gula telah dilakukan. Penelitian ini dilakukan bekerja sama dengan unit produksi bioethanol PG. Djatiroto, Lumajang Jawa Timur untuk mengembangkan teknologi produksi yang optimal guna menghasilkan rendemen bioethanol yang tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk evaluasi dan optimasi produksi bioetanol oleh *Saccharomyces cerevisiae* strain ATCC 9763, FNCC 3210 dan Batan pada substrat molases gula tebu. Beberapa tahapan penelitian yang sudah dilakukan adalah analisis aktivitas ketiga jenis strain koleksi PTPN XI PG. Djatiroto, formulasi starter dengan produktivitas tinggi, dan optimasi proses produksi bioetanol, serta optimasi lanjutan untuk kepentingan *scale up* produksi bioetanol di laboratorium pilot plan PG. Djatiroto. Metode seleksi aktivitas strain yeast didasarkan pada pengukuran *yield factor*, produktivitas metabolit dan laju pertumbuhan spesifik dan laju pembentukan ethanol untuk mengetahui karakter dari strain yang akan diseleksi. Optimasi dilakukan pada faktor lingkungan (pH, konsentrasi gula sebagai sumber karbon). Kelayakan ekonomi teknologi proses terpilih dianalisis berdasarkan yield dari proses produksi bioetanol hasil optimasi dan *scale up*.

Pada penelitian tahun pertama (2013) menunjukkan bahwa *Saccharomyces cerevisiae* strain FNCC 3210 memiliki aktivitas yang lebih cepat daripada kedua strain lainnya (ATCC 9763 dan BATAN). Strain FNCC 3210 mampu tumbuh optimal pada suhu 30-37 °C. Fase logaritmik sudah dapat tercapai pada lama inkubasi 8-12 jam dalam media MEB dengan populasi awal sebesar 10<sup>6</sup> CFU/ml.

Pada penelitian tahun kedua (2014) dilakukan fermentasi dengan variasi kadar brix molasses 14% dan 34% pada kecepatan agitasi 100 rpm dan 200 rpm selama 24 jam. Analisis meliputi pengamatan total mikroba, kadar gula total, kadar gula reduksi dan kadar alkohol

setiap 4 jam. Hasil penelitian 2014 menunjukkan menunjukkan bahwa *S. cerevisiae* ATCC 3210 tumbuh lebih cepat dibandingkan strain FNCC 9763 jika ditumbuhkan dalam media molases derajat brix 14 °Bx baik pada pH 4,5 maupun pH 5,0. Produktivitas etanol kedua strain lebih tinggi (0,4 g/g) pada pH 5,0 dibanding dengan pH 4,5 (0,2 g/g). Disamping itu, derajat brix juga mempengaruhi kecepatan produksi bioetanol oleh *S. cerevisiae* FNCC 3210 dan ATCC 9763 pada kecepatan agitasi 100 dan 200 rpm, meskipun total produksi dari kedua strain tersebut relative sama. *S. cerevisiae* FNCC 3210 cenderung memproduksi ethanol lebih cepat pada molasses 14 °Bx, sedangkan *S. cerevisiae* ATCC 9763 cenderung memproduksi ethanol pada molasses 34 °Bx. Produksi etanol oleh *S. cerevisiae* strain FNCC 3210 pada molasses 14 °Bx dengan kecepatan agitasi 200 rpm yaitu sebesar 4,06 %(v/v), dan produksi etanol oleh *S. cerevisiae* ATCC 9763 pada molasses 34 °Bx pada kecepatan agitasi yang sama sebesar 4,02 %(v/v). Pemberian agitasi tanpa aerasi tidak dapat meningkatkan produksi etanol, sedangkan pemberian agitasi yang diikuti dengan aerasi dapat meningkatkan kadar etanol kurang lebih 20 % peningkatannya.

Artikel hasil penelitian sedang disusun untuk publikasi pada jurnal nasional terakreditasi. Publikasi ilmiah sudah dilakukan pada seminar nasional SPRINT 2014.

**ARTIKEL**

**PENELITIAN UNGGULAN PERGURUAN TINGGI**



**Evaluasi dan Optimasi Produksi Bioetanol oleh *Saccharomyces cerevisiae* Strain ATCC 9763, Unesa dan Batan pada Substrat Molases Gula Tebu**

**Oleh:**

**NAMA:**

**NIDN:**

**Dr. Ir. JAYUS**

**0016056803**

**Dr. NURHAYATI, S.TP, M.Si**

**0010047903**

**Dr. BAMBANG PILUHARTO, S.Si, M.Si**

**0003077110**

Dibiayai oleh DIPA DP2M Nomor : 023.04.2.414995/2014 Tanggal 05 Desember 2013,  
Revisi ke-02 Tanggal 24 Maret 2014

**UNIVERSITAS JEMBER**

**NOVEMBER, 2014**

## Karakterisasi Fenotip *Saccharomyces cerevisiae* Strain ATCC 9763 dan FNCC 3210 untuk Produksi Bioetanol pada Media Molases Tebu

Jayus<sup>1,2</sup>, Bambang Piluharto<sup>2,3</sup>, Nurhayati<sup>1,2</sup>, Rizky Qoriatul W<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember

<sup>2</sup>Center for Development of Advanced Science and Technology, Jember University

<sup>3</sup>Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember  
Jln. Kalimantan 37, Kampus Tegal Boto, Jember 68121

Contact email: [jayus.ftp@unej.ac.id](mailto:jayus.ftp@unej.ac.id)

**Abstrak** - Salah satu alternatif untuk meningkatkan produksi bioetanol pada media molases tebu adalah dengan mengeksplorasi strain *yeast Saccharomyces cerevisiae*, diantaranya strain ATCC 9763 dan FNCC 3210. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui sifat morfologi dan fisiologi serta mengetahui pengaruh pH terhadap perubahan kadar gula total, lama fermentasi, populasi mikroba, dan untuk mengetahui kadar etanol tertinggi dari variasi media molases dan glukosa menggunakan ketiga strain tersebut. pH media untuk produksi etanol ditetapkan melalui uji coba menggunakan glukosa yang diatur pada serajad brix 14 % dan variasi pH 4.0; 4.5; 5.0; dan 5.5, yang telah ditambahkan sumber mineral, nitrogen dan fosfat (NPK pupuk dan HPO<sub>4</sub>) difermentasi dengan *S. cerevisiae* pada suhu ruang tanpa ada perlakuan aerasi. Profil pertumbuhan mikroba serta bioetanol diamati setiap 4 jam selama 24 jam. Selama fermentasi, terjadi peningkatan populasi mikroba, dan penurunan kadar gula. Karakterisasi fenotip dari ketiga strain dilakukan terhadap sifat morfologi dan fisiologinya, termasuk pengukuran besar ukuran sel. Rata-rata ukuran sel dari ketiga jenis strain adalah 5-9 µm setelah 24-48 jam fermentasi. Strain ATCC 9763 dan FNCC 3210 mampu menghasilkan kadar bioetanol yang relative sama yakni  $\pm 4$  %, lebih besar dari strain BATAN yang hanya memproduksi etanol sebesar 2,5%, tetapi produksi bioetanol oleh kedua strain pertama lebih rendah dibanding kemampuan ragi komersial yang mampu menghasilkan kadar bioetanol 7%. Perbedaan ini kemungkinan disebabkan oleh sumber N dan P yang dipakai pada pengujian ragi komersial adalah ammonium posfat. Kedua strain ATCC 9763 dan FNCC3210 memiliki potensi untuk produksi etanol secara fermentasi aerob, teknik produksi bioetanol yang akhir-akhir ini dikembangkan oleh beberapa produsen.

**Kata kunci:** *Saccharomyces cerevisiae*, fisiologi, morfologi, molases, bioetanol

## 1. PENDAHULUAN

Pengembangan produksi bioetanol di Indonesia mempunyai prospek yang cerah karena melimpahnya bahan baku, seperti limbah cair proses pengolahan gula tebu, molasses. Pemanfaatan molasses sebagai bahan baku produksi bioetanol sudah dikembangkan menggunakan berbagai strain *S. cerevisiae* sebagai starter. Walau demikian, rendemen bioetanol yang dihasilkannya masih relatif rendah antara 2 – 13 [1,2,3,4,5,6,7], yang secara ekonomis masih perlu ditingkatkan produktivitasnya. Rendahnya produktivitas ini ditengarai akibat beberapa hal diantaranya adalah keterbatasan kemampuan strain yeast yang digunakan dalam proses produksi dan belum didapatkannya teknologi produksi yang optimal untuk menghasilkan rendemen bioetanol yang tinggi. Untuk mengatasi rendahnya rendemen produksi bioetanol, alternatif yang dapat ditawarkan adalah eksplorasi strain yeast, dan optimasi proses sehingga didapatkan kondisi dan teknologi produksi yang optimal. Hal ini perlu dilakukan karena beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa setiap strain yang diujicobakan memiliki kondisi optimum produksi yang berbeda-beda untuk setiap jenis strain [1,2,3,4]. Beberapa strain *S. cerevisiae* sudah diuji coba kapasitasnya untuk memproduksi etanol pada beberapa jenis media termasuk *S. cerevisiae* NCYC 431, *S. cerevisiae* NCYC 975 Dan *S. diastaticus* NCYC 994 pada media molasses gula beet dan jus beet. *S. cerevisiae* NCYC 975 memiliki toleransi terhadap konsentrasi gula 20,8 % dan mampu memproduksi etanol sebesar 10 % dalam waktu fermentasi 28 jam. Kondisi pH optimum produksi adalah 4,5 dengan laju aliran udara 0,125 L/L substrate/menit [3]. Temuan ini menandakan bahwa produksi etanol oleh strain *Saccharomyces* tidak harus dalam kondisi anaerob. Mikroba lain yang diketahui aktif untuk menghasilkan bioetanol adalah *Kluyveromyces marxianus* imb3 yang bersifat *thermotolerant* dan mampu memproduksi etanol sebanyak lebih dari 50 g/L atau 5% dalam kultur immobil [11]. Salah satu upaya yang akan dilakukan dalam penelitian ini untuk meningkatkan produksi bioetanol pada media molasses tebu adalah dengan mengeksplorasi strain yeast *Saccharomyces cerevisiae*, diantaranya strain ATCC 9763, BATAN, dan FNCC 3210.

## 2. BAHAN DAN METODE

### 2.1 Produksi Bioetanol Menggunakan Starter Terformulasi dengan Media Molases

#### *Persiapan media pertumbuhan*

Media molasses (diperoleh dari PG Jatiroto, Jawa Timur) dipersiapkan melalui proses sakarifikasi menggunakan  $H_2SO_4$  yang juga dapat membantu memisahkan bahan-bahan tidak larut dalam molasses melalui proses pengendapan. Kadar gula awal diatur melalui pengenceran untuk mendapatkan kadar gula total 14 %.

## 2.2 Proses optimasi

*S. cerevisiae* strain ATCC 9763, FNCC 3210 dan BATAN, diperoleh dari PTPN XI. Kultur starter masing-masing strain ditumbuhkan secara *batch culture* pada media molasses 800 mL dalam botol volume 1 L pada suhu ruang. Kondisi lingkungan pertumbuhan yang akan dioptimasi dalam skala botol ini adalah pH dan konsentrasi padatan terlarut [gula sebagai sumber karbon, dengan tambahan sumber nitrogen (urea), dan pupuk NPK]. Parameter produktivitas yang akan diamati adalah: rendemen etanol, kadar total gula, dan pertumbuhan mikroba serta laju spesifik produksi etanol.

## 2.3 Analisis Kadar Etanol

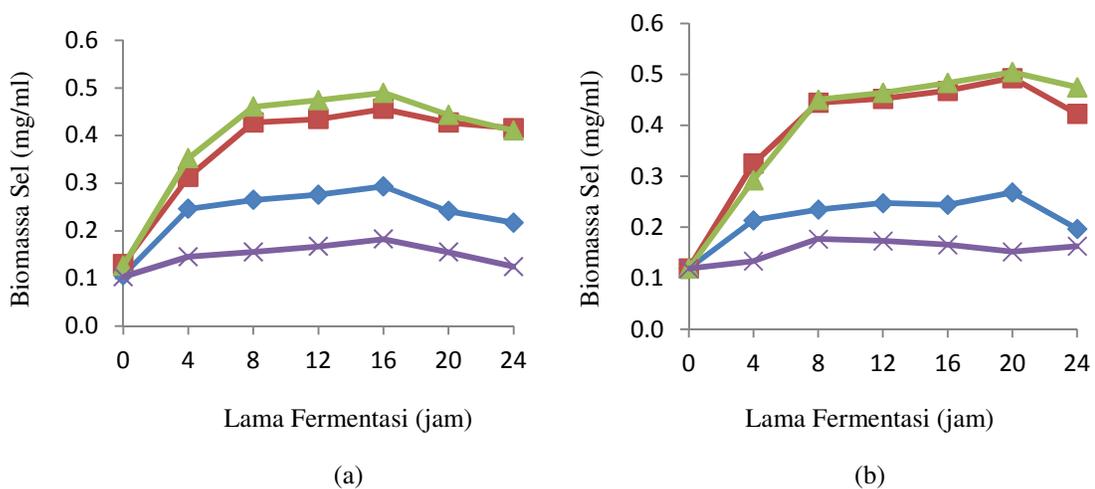
Analisis etanol menggunakan metode *Conway chamber* membutuhkan tiga larutan, yaitu larutan A, B, dan C. Larutan A merupakan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  jenuh yang diperoleh dengan melarutkan 10 g  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  dalam 50 ml aquades. Larutan B dibuat dengan melarutkan 0,74 g  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  dalam 30 ml aquades dan ditambah 56 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat secara perlahan lahan disertai pengadukan, selanjutnya diencerkan hingga 100 ml. Larutan C merupakan larutan stok etanol standar yang dibuat dari 1 ml etanol (pa) yang diencerkan dengan aquades hingga 250 ml. Produktivitas etanol (YP/s, g/g) dihitung dari berat etanol aktual yang diproduksi per gram total gula yang digunakan selama produksi.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 3.1 Pertumbuhan *S. cerevisiae* ATCC 9763 dan FNCC 9763 dalam Media Glukosa pada pH yang berbeda

*S. cerevisiae* ATCC 9763 tumbuh meningkat dengan indikasi peningkatan berat kering sel dari awal inkubasi hingga jam ke 16 pada semua pH yang dicobakan (pH 4; 4,5; 5 dan 5,5). Setelah masa pertumbuhan jam ke-20, jumlah biomassa yang dihasilkan relatif konstan untuk semua pH seperti terlihat pada Gambar 1a dan 1b. Hasil ini menunjukkan bahwa kedua strain yeast mampu tumbuh lebih baik dalam media glukosa pada pH 4,5 dan 5,0. Pertumbuhan yang lebih lambat terjadi pada pH 4,0 dan 5,5. Oleh karena itu pH pertumbuhan yang digunakan untuk produksi bioetanol dengan substrat molases adalah pH 4,5 dan 5,0. Lebih tingginya biomassa strain ATCC 9763 maupun FNCC 3210 diduga terjadi sejak pada pembuatan inokulum, mengingat biomassa awal pada pH 4,5 dan 5,0 lebih tinggi dibanding biomassa pada pH 4,0 dan 5,5. Peningkatan biomassa sel pada pH 4,5 maupun 5,0 hanya berkisar 0,05 mg/ml. Peningkatan biomassa yang kecil ini menandakan bahwa sel tidak tumbuh dengan baik yang kemungkinan disebabkan kurangnya jumlah sumber mineral atau sumber N yang disediakan dalam media. Selain itu juga mungkin disebabkan jenis N yang ditambahkan tidak cocok untuk pertumbuhan *S.*

*cerevisiae* FNCC 3210 dan ATCC 9763. Jumlah dan jenis sumber N dapat mempengaruhi pertumbuhan *S. cerevisiae* seperti yang dilaporkan oleh Taillandier [1]. Pada jumlah N yang cukup dan jenisnya yang cocok dalam produksi etanol, jumlah yeast rata-rata meningkat 1 - 2 log selama pertumbuhannya. *S. cerevisiae* strain A, B, C dan D meningkat rata-rata 1 log selama produksi etanol [1] dengan penggunaan yeast ekstrak sebagai sumber N dan vitamin sebesar 10 g/L. Sementara itu *S. cerevisiae* NP01 yang ditumbuhkan menggunakan sumber N yeast extract 9 g/L meningkat sebesar rata-rata 1,5 log selama pertumbuhannya [2].

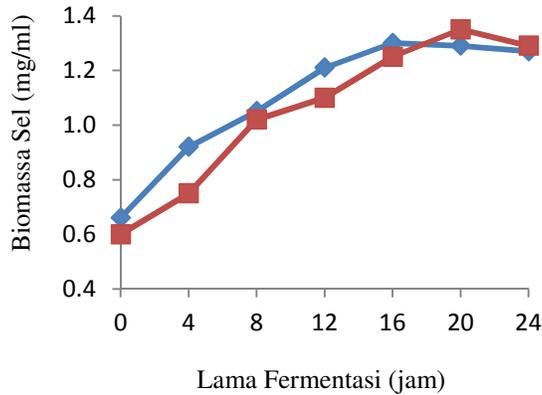


Gambar 1. Pertumbuhan (a) *S. cerevisiae* ATCC 9763 dan (b) *S. cerevisiae* FNCC 3210 dalam media glukosa pada pH 4 (◆); 4,5 (■); 5 (▲); dan pH 5,5 (x).

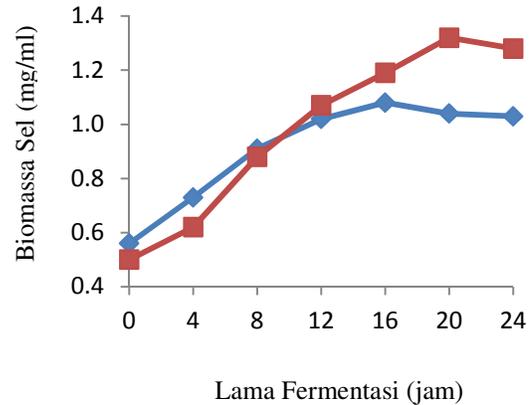
### 3.2 Pertumbuhan *S.cerevisiae* ATCC 3210 dan FNCC 9763 dalam Media Molases pada pH 4,5 dan 5,0

Kecepatan pertumbuhan *S. cerevisiae* ATCC 9763 cenderung relatif sama dibanding strain FNCC 3210 baik pada pH pertumbuhan 4,5 maupun pH 5,0. Pada pH 4,5 *growth rate* strain ATCC 9763 adalah 0,039 per jam, dan FNCC 3210 adalah 0,038. Pada pH 5,0 *growth rate* strain ATCC 9763 adalah 0,033 per jam, dan FNCC 3210 kecepatan tumbuhnya adalah 0,042. Biomassa strain ATCC 9763 pada kedua pH pertumbuhan tersebut mencapai maksimum 4 jam lebih awal daripada strain FNCC 3210. Biomassa maksimum *S. cerevisiae* ATCC 9763 tercapai pada masa inkubasi 16 jam, sedangkan biomassa maksimum strain FNCC 3210 baru tercapai pada 20 jam masa inkubasi, seperti terlihat pada Gambar 2 dan 3. Meskipun demikian, jumlah biomassa maksimum dari kedua strain tersebut relatif sama yakni  $1,27 \pm 0,19$  mg/mL pada pH pertumbuhan 4,5. Pada pH pertumbuhan 5,0 strain

FNCC 3210 cenderung lebih tinggi dibanding. Ini menandakan strain ATCC 9763 cenderung tumbuh lebih baik pada pH 4,5 dibanding pH 5,0.



Gambar 2. Pertumbuhan *S. cerevisiae* ATCC

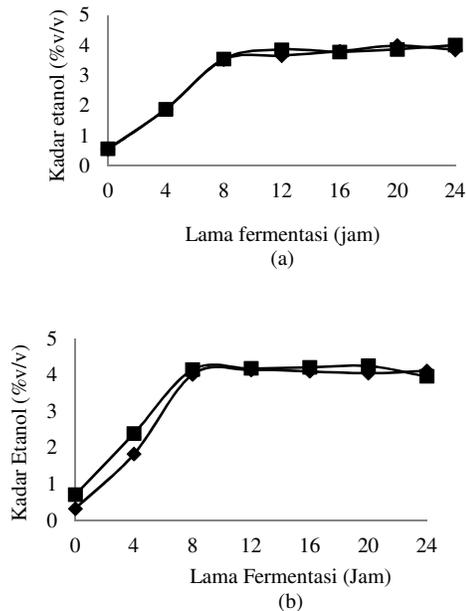


Gambar 3. Pertumbuhan *S. cerevisiae* ATCC 3210

### 3.3 Produksi Bioetanol oleh *S.cerevisiae* ATCC 3210 dan FNCC 9763 dalam Media Molases pada pH 4,5 dan 5,0

Etanol yang dihasilkan oleh *S. cerevisiae* ATCC 9763 dan FNCC 3210 teramati sejak awal masa fermentasi. Produksi etanol pada pH 4,5 terlihat sedikit lebih rendah (rata-rata  $3,76 \pm 0,1$  % v/v) dibanding dengan produksi pada pH 5,0 (rata-rata  $4,15 \pm 0,01$  % v/v). Selain itu, kadar etanol tertinggi pada pH 5,0 tercapai pada lama fermentasi 8 jam, sedangkan pada pH 4,5 tercapai pada masa inkubasi 12 jam, seperti terlihat pada Gambar 4. Kadar etanol yang dihasilkan oleh kedua strain ini tidak lebih tinggi dibanding ragi komersial sebesar 7,8 % v/v yang ditumbuhkan menggunakan sumber N dan P, ammonium phospat (hasil penelitian belum dipublikasi). Produksi etanol pada kultur an-aerob oleh beberapa strain *S. cerevisiae* berkisar antara 2 – 13 % (b/v) [5,6,7,9]. Variasi kadar etanol yang dihasilkan oleh berbagai strain *S. cerevisiae* ini menandakan diversitas sifat fisiologi yang sangat tinggi yang masing-masing strain dapat memproduksi etanol dengan jumlah tertentu pada kondisi pertumbuhan dan teknik yang bervariasi pula. Teknik produksi SSF (*simultaneous saccharification and fermentation*) menggunakan *S. cerevisiae* strain komersial (Fleischmann) dilaporkan dapat menghasilkan etanol sebanyak 2,8 % [7]. Strategi untuk meningkatkan produksi etanol sangat beragam termasuk proses aerasi dan

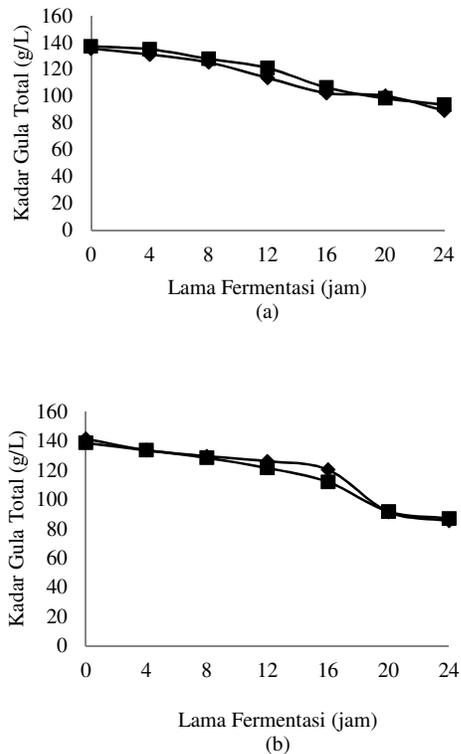
agitasi maupun proses fermentasi *fed batch* [8]. Oleh karena itu, tidak menutup kemungkinan strain FNCC 9763 dan ATCC 3210 dapat memproduksi etanol dengan kadar yang lebih tinggi jika ditumbuhkan pada kondisi dan teknik yang berbeda.



Gambar 4. Produksi bioetanol oleh *S. cerevisiae* FNCC 9763 (—◆—) dan ATCC 3210 (—■—) pada (a) pH 4,5 dan (b) pH 5,0

Kadar gula total dalam media molases selama proses fermentasi oleh kedua strain ATCC 3210 dan FNCC 9763 pada pH 4,5 dan pH 5,0 mengalami penurunan yang tidak drastis. Hal ini berarti tingkat konsumsi sumber karbon oleh kedua strain rendah. Penurunan kadar gula total masih tetap terjadi meskipun sudah melewati titik puncak masa produksi biomassa maupun etanol (Gambar 5). Dengan demikian, *yield* etanol ( $Y_{P/S}$ , g/g) yang dihasilkan oleh *S. cerevisiae* strain ATCC 3210 dan FNCC 9763 adalah sama pada pH pertumbuhan yang sama, masing-masing bernilai 0,2 pada pH 4,5 dan 0,4 pada pH 5,0. Perbedaan ini diakibatkan oleh perbedaan tingkat konsumsi substrat oleh kedua strain tersebut yang terjadi pada titik maksimum produksi etanol. *Yield* etanol oleh kedua strain pada pH 5,0 lebih tinggi dari *S. cerevisiae* strain lain (Fleischmann) pada konsentrasi inokulum tinggi yang hanya menghasilkan *yield* etanol sebesar 0,015 [7], tetapi lebih rendah dari strain NP 01 yang menghasilkan etanol sebesar 5,0 [9] meskipun kadar etanolnya lebih rendah. Hal ini mengindikasikan bahwa strain ATCC 3210 dan FNCC 9763 masih berpeluang untuk ditingkatkan produktivitasnya dengan mencari kondisi

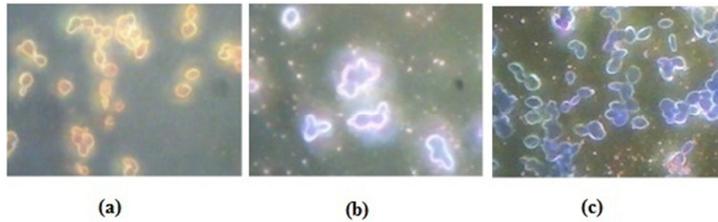
pertumbuhan yang lebih cocok. Alternatif pengembangan teknik produksi aerob melalui proses aerasi dan agitasi dan VHG (*very high gravity*) system sangat mungkin untuk diterapkan pada kedua strain dimaksud seperti yang pernah dilaporkan pada *S. cerevisiae* strain PE-2 [10].



Gambar 5. Kadar gula *S. cerevisiae* FNCC 9763 (—◆—) dan ATCC 3210 (—■—) pada (a) pH 4,5 dan (b) pH 5,0

### 3.4 Morfologi *S. Cerevisiae* strain ATCC 9763, FNCC 3210.

Ukuran sel dari kedua strain ini relatif sama, berukuran kecil baik strain ATCC 9763 maupun FNCC 3210. Masing-masing strain memiliki bentuk morfologi yang juga relatif sama membentuk *budding* selama pertumbuhannya (Gambar 6). Pada kondisi pertumbuhan yang sama strain ATCC 9763, FNCC 3210 tumbuh dengan kecepatan yang relatif sama. Oleh karena itu, pengujian aktivitas produksi etanol pada media molases dilakukan hanya pada strain ATCC 9763 dan FNCC 3210. Meskipun demikian, tidak menutup kemungkinan kedua strain *S. cerevisiae* ini bisa tumbuh lebih baik pada kondisi pertumbuhan yang berbeda.



Gambar 6. Morfologi *S. Cerevisiae* strain (a) ATCC 9763, (b) FNCC 3210 dan (c) Batan

#### 4. KESIMPULAN

*S. cerevisiae* ATCC 3210 tumbuh lebih cepat dibandingkan strain FNCC 9763 jika ditumbuhkan dalam media molases kadar brix 14 % baik pada pH 4,5 maupun pH 5,0. Produktivitas etanol kedua strain lebih tinggi (0,4 g/g) pada pH 5,0 dibanding dengan pH 4,5 (0,2 g/g). Upaya peningkatan produktivitas etanol oleh kedua strain tersebut dapat dilakukan melalui optimasi kondisi lingkungan dan teknik produksinya, sebelum diimplementasikan dalam skala industri.

#### DAFTAR REFERENSI

- [1] Taillandier, P., Portugal F. R., Fuster, A. dan Strehaiano P. 2007. Effect of ammonium concentration on alcoholic fermentation kinetics by wine yeasts for high sugar content. *Food Microbiology*, 24: 95–100.
- [2] Khongsay, N., Laopaiboon, L., Jaisil, P. dan Laopaiboon, P. 2012, Optimization of Agitation and Aeration for Very High Gravity Ethanol Fermentation from Sweet Sorghum Juice by *Saccharomyces cerevisiae* Using an Orthogonal Array Design. *Energies* 5:561-576.
- [3] Zayed G.Z.A dan Foley J. 1987. The Influence of Fermentation Conditions on Ethanol Yields from Sugar Beet Molasses and Fodder Beet Juice Using *Saccharomyces serevisiae* Strains. *Irish Journal of Food Science and Technology* 11:119-133
- [4] Xiros, C. dan Christakopoulos, P. 2009. Enhanced ethanol production from brewer's spent grain by a *Fusarium oxysporum* consolidated system. *Biotechnology for Biofuels*. 2:4

- [5] Izmirlioglu, G. dan Demirci A. 2012. Ethanol Production from Waste Potato Mash by Using *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied Science*. 2, 738-753.
- [6] Yingling, B., Zongcheng, Y. Honglin, W. dan Li, C. 2011. Optimization of bioethanol production during simultaneous saccharification and fermentation in very high-gravity cassava mash. *Antonie van Leeuwenhoek* 99:329–339.
- [7] Silva, N. L. C. Betancur G.V. Vasquez M.P. Gomes E.B. dan Pereira Jr. N. 2011. Ethanol Production from Residual Wood Chips of Cellulose Industry: Acid Pretreatment Investigation, Hemicellulosic Hydrolysate Fermentation, and Remaining Solid Fraction Fermentation by SSF Process. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 163:928–936.
- [8] Alfenore S., Cameleyre X., Benbadis L., Bideaux C., Uribelarrea J.L., Goma G, Molina-Jouve · C., dan Guillouet S. E. 2004. Aeration Strategy: A Need for Very High Ethanol Performance in *Saccharomyces cerevisiae* Fed-Batch Process. *Applied Microbiology Biotechnology* 63:537–542
- [9] Khongsay, N., Laopaiboon, L., Jaisil P. dan Laopaiboon P. 2012. Optimization of Agitation and Aeration for Very High Gravity Ethanol Fermentation from Sweet Sorghum Juice by *Saccharomyces cerevisiae* Using an Orthogonal Array Design. *Energies*, 5, 561-576.
- [10] Pereira F. B., Gomes D.G., Guimaraes P.M. R., Teixeira J. A. dan Domingues L. 2012. Cell recycling during repeated very high gravity bio-ethanol fermentations using the industrial *Saccharomyces cerevisiae* strain PE-2. *Biotechnology Letters* 34:45–53.
- [11] Gough, S., Brady, D., Nigam P., Marchant, R. dan McHale. A.P. 1997. Production of Ethanol from Molasses at 45°C using alginate-immobilized *Kluyveromyces marxianus* imb3. *Bioprocess Engineering* 16:389-392.