



**SKRIPSI – TK141581**

**PENGARUH RECYCLE RATIO DAN JENIS  
PELARUT DALAM PRODUKSI ETANOL DARI  
NIRA TEBU (*Saccharum officinarum L.*) DENGAN  
PROSES FERMENTASI EKSTRAKTIF**

**Oleh :**

**Fadhilah Febrian Ramadhanny**

**NRP. 2311100072**

**Baktiar Maulardi**

**NRP. 2311100153**

**Dosen Pembimbing :**

**Prof. Dr. Ir. Tri Widjaja, M.Eng**

**NIP. 196110211986031001**

**JURUSAN TEKNIK KIMIA  
FAKULTAS TEKNOLOGI INDUSTRI  
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER  
SURABAYA 2015**



**FINAL PROJECT – TK141581**

**RECYCLE RATIO AND SOLVENT EFFECT  
VARIATION IN THE PRODUCTION OF ETHANOL  
FROM SUGARCANE STALKS (*Saccharum officinarum*  
*L.*) FERMENTATION PROCESS WITH  
EXTRACTIVE**

**By :**

**Fadhilah Febrian Ramadhanny  
NRP. 2311100072**

**Baktiar Maulardi  
NRP. 2311100153**

**Advisor :**

**Prof. Dr. Ir. Tri Widjaja, M.Eng  
NIP. 196110211986031001**

**DEPARTEMENT OF CHEMICAL ENGINEERING  
FACULTY OF INDUSTRIAL TECHNOLOGY  
SEPULUH NOPEMBER INSTITUTE OF  
TECHNOLOGY  
SURABAYA 2015**

## LEMBAR PENGESAHAN

### PENGARUH RECYCLE RATIO DAN JENIS PELARUT DALAM PRODUKSI ETANOL DARI NIRA TEBU (*Saccharum Officinarum L.*) DENGAN PROSES FERMENTASI EKSTRAKTIF

Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Memperoleh Gelar  
Sarjana Teknik pada Program Studi S-1 Jurusan Teknik Kimia  
Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya

Oleh:

**Fadhiah Febrian R.**

**2311 100 072**

**Baktiar Maulardi**

**2311 100 153**

Disetujui oleh Tim Penguji Tugas Akhir :

1. Prof. Dr. Ir. Tri Widjaja, M.Eng

.....(Pembimbing I)


2. Prof. Dr. Ir. Arief Widjaja, M.Eng

.....(Penguji I)

3. Setiyo Gunawan, S.T., Ph.D

.....(Penguji II)

4. Ir. Ignatius Gunardi, M.T

.....(Penguji III)



Surabaya,  
Juli 2015

# **PENGARUH RECYCLE RATIO DAN JENIS PELARUT DALAM PRODUKSI ETANOL DARI NIRA TEBU (*Saccharum officinarum L.*) DENGAN PROSES FERMENTASI EKSTRAKTIF**

## **Abstrak**

Tebu merupakan salah satu bahan yang berpotensi sebagai bahan baku utama dalam pembuatan bioetanol. Bioetanol digunakan untuk mensubstitusi BBM yang jumlahnya dari tahun ke tahun semakin sedikit. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui performa terbaik dari recycle ratio dan jenis pelarut yang digunakan dalam produksi etanol dengan proses fermentasi ekstraktif dari nira tebu. Mengetahui karakteristik kinerja sistem fermentasi kontinu dalam bioreaktor *packed bed* dengan berbagai jenis pelarut. Metode penelitian yang digunakan terdiri dari 3 tahap, yaitu tahap pertama membuat *Bead* immobilisasi sel dengan  $\kappa$ -karaginan sebagai *supporting matrice*. Kemudian *Bead* immobilisasi sel dimasukkan ke dalam fermentor dan nira tebu dialirkan ke dalam fermentor. Tahap kedua yaitu fermentasi. Pada penelitian ini digunakan fermentasi kontinu dikarenakan pada fermentasi batch terdapat kendala pada produktivitas dan konsentrasi etanol yang rendah. Bakteri yang digunakan adalah *Zymomonas mobilis* termutasi A3. Tahap terakhir, yaitu ekstraksi antara etanol yang terdapat dalam broth dan pelarut. Pelarut yang digunakan ada 3 jenis yaitu *n-amyl alcohol*, *1-dodecanol* dan *1-octanol*. Pada tahap fermentasi ekstraktif dibagi menjadi 2, yaitu rafinat dari ekstraksi tidak direcycle dan direcycle kembali ke fermentor dengan ratio 30%, 50%, 60% dan 80%.

Dari penelitian yang telah dilakukan diperoleh kesimpulan bahwa proses fermentasi kontinu dan ekstraksi tanpa recycle dan dengan recycle, mikroorganisme yang digunakan *Zymomonas mobilis* termutasi A3 dan pelarut *n-amyl alcohol*, *1-dodecanol* dan *1-octanol* memberikan hasil produktivitas dan

yield yang terbaik pada recycle 30% dengan menggunakan pelarut *n-Amyl Alcohol*, yaitu sebesar 148,25 g/l.jam dan 32.19%.

***Kata Kunci :*** Etanol, fermentasi ekstraktif, immobilisasi sel, nira tebu, *Zymomonas mobilis* termutasi A3

# RECYCLE RATIO AND SOLVENT EFFECT VARIATION IN THE PRODUCTION OF ETHANOL FROM SUGARCANE STALKS (*Saccharum officinarum* *L.*) FERMENTATION PROCESS WITH EXTRACTIVE

## Abstract

*Juice from sugarcane stalks is the one of the materials that have potential as raw material for bioethanol. Bioethanol is substitution for biofuels that the amount is decrease. The purpose of this study was to determine the best performance of the variation of recycle ratio and solvents used in the production of ethanol with extractive fermentation process and to determine the performance characteristics of a contionous fermentation system in packed bed bioreactors with solvent variations. The method used in research consists of three steps, the first step, Zy momonas mobilis A3 mutated cells were immobilized cells in  $\kappa$ -ka raginan. The second step, beads karaginan and juice from sugarcane stalks entered the fermenter. To improve the producti vity of ethanol, the fermentation is performed continously because there are constraints in the conventional fermentation product ethanol concentration and low productivity. The last step, extracti on between ethanol in broth with solvent. Solvents used are n-amyl alcohol, 1-dodecanol dan 1-octanol. Extractive fermenta tion divided into 2, raffinate from extraction without recycle and recycle into fermenter with recycle ratio 30%, 50%, 60% and 80%.*

*From the research that has been done, it can be concluded that the best productivity of ethanol and the yield produced by Zymomonas mobilis A3 mutated and solvents in un - recycle system and recycle system is recycle ratio 30% with solvent n-amyl alcohol. The results achieved in the amount of 148,25 g/l.hour and 32.19%.*

**Key Word :** *Ethanol, Extractive Fermentation, Cells Immobilized, Sugarcane Juice, Zymomonas mobilis mutated A3*

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur kehadirat Allah SWT. yang selalu melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga kami dapat menyelesaikan Skripsi kami yang berjudul **“Pengaruh Recycle Ratio dan Jenis Pelarut Dalam Produksi Etanol dari Nira Tebu Dengan Proses Fermentasi Ekstraktif”** tepat pada waktunya. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan studi program Strata-1 di Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya.

Penulis menyadari dalam penyusunan Skripsi ini tidak akan selesai tanpa bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu pada kesempatan ini kami ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Tri Widjaja, M.Eng. selaku Ketua Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya
2. Bapak Prof. Dr. Ir. Tri Widjaja, M.Eng. selaku Dosen Pembimbing Laboratorium Teknologi Biokimia, Jurusan Teknik Kimia FTI-ITS, atas bimbingan, saran, dan motivasi yang diberikan.
3. Bapak Prof. Dr. Ir. Arief Widjaja, M.Eng. selaku Kepala Laboratorium Teknologi Biokimia, Jurusan Teknik Kimia FTI-ITS, atas bimbingan, saran, dan motivasi yang diberikan.
4. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Teknik Kimia FTI – ITS Surabaya yang telah memberikan ilmunya kepada penulis.
5. Orang tua serta saudara-saudara kami, atas doa, bimbingan, perhatian, serta kasih sayang yang selalu tercurah selama ini.
6. Keluarga besar Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS), teman-teman di Laboratorium Biokimia Jurusan Teknik Kimia FTI-ITS atas semua dukungan, semangat, serta kerjasamanya.

Kami menyadari laporan Skripsi ini tidak luput dari berbagai kekurangan, untuk itu penulis mengharapkan saran dan kritik



demi kesempurnaan dan perbaikannya. Akhirnya laporan Skripsi ini dapat memberikan sumbangan bagi pembaca.

Surabaya, Juli 2015

Penyusun

## DAFTAR ISI

Halaman Judul	
Lembar Pengesahan	
Abstrak .....	i
Abstract .....	iii
Kata Pengantar .....	v
Daftar Isi .....	vii
Daftar Tabel .....	ix
Daftar Gambar .....	x
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
I.1 Latar Belakang .....	I-1
I.2 Rumusan Masalah .....	I-4
I.3 Batasan Masalah .....	I-4
I.4 Tujuan Penelitian .....	I-5
I.5 Manfaat Penelitian .....	I-5
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
II.1 Bahan Baku .....	II-1
II.2 Proses Fermentasi <i>Batch</i> , Fermentasi Kontinyu, dan Fermentasi Ekstraktif .....	II-2
II.3 <i>Zymomonas Mobilis</i> .....	II-3
II.4 Karaginan Sebagai <i>Supporting Matric</i> .....	II-8
II.5 Ekstraksi .....	II-12
II.6 Packing .....	II-16
II.7 Macam Pelarut .....	II-17
II.8 Penelitian Terdahulu .....	II-19
<b>BAB III METODOLOGI PENELITIAN</b>	
III.1 Variabel Penelitian .....	III-1
III.2 Bahan dan Peralatan .....	III-2
III.3 Metode Penelitian .....	III-3
III.4 Set-Up Peralatan .....	III-11
III.5 Diagram Alir Penelitian .....	III-12
III.6 Rencana Jadwal Kegiatan Penelitian .....	III-20

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
IV.1 Kinerja Mikroorganisme .....	IV-4
IV.2 Pengaruh Mikroorganisme terhadap Performa Fermentasi .....	IV-6
IV.3 Pengaruh <i>Recycle ratio</i> dan Jenis Pelarut terhadap Konsentrasi Etanol, <i>Yield</i> , Produktivitas Etanol dan <i>% Recovery</i> yang Dihasilkan .....	IV-9
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
V.1 Kesimpulan .....	V-1
V.1 Saran .....	V-1
Daftar Pustaka .....	xii
Daftar Notasi .....	xvi
Appendiks	
Lampiran	

## DAFTAR TABEL

Tabel II.1 Komponen Nira Tebu Berdasarkan Zat Terlarut .....	II-1
Tabel III.1 Rencana Jadwal Kegiatan Penelitian .....	III-20
Tabel IV.1 Hasil Analisa HPLC .....	IV-2
Tabel IV.2 Dimensi Reaktor dan Kondisi Operasi yang Dipakai dalam Penelitian .....	IV-3
Tabel IV.3 Konsentrasi Etanol dalam Rafinat pada Pelarut <i>n-Amyl Alcohol</i> .....	IV-11
Tabel IV.4 Konsentrasi Etanol dalam Rafinat pada Pelarut <i>1-Octanol</i> .....	IV-11
Tabel IV.5 Konsentrasi Etanol dalam Rafinat pada Pelarut <i>1-Dodecanol</i> .....	IV-11
Tabel IV.6 Neraca Masaa Etanol pada Pelarut <i>n-Amyl Alcohol</i> dengan basis 1 jam .....	IV-12
Tabel IV.7 Neraca Masaa Etanol pada Pelarut <i>1-Octanol</i> dengan basis 1 jam .....	IV-12
Tabel IV.8 Neraca Masaa Etanol pada Pelarut <i>1-Dodecanol</i> dengan basis 1 jam .....	IV-13
Tabel IV.9 Perbandingan <i>Yield</i> dan Produktifitas Fermentasi <i>Batch</i> dan Kontinyu .....	IV-17

## DAFTAR GAMBAR

Gambar II.1	Tanaman Tebu .....	II-1
Gambar II.2	Macam-Macam Teknik Dasar Immobilisasi Sel .....	II-8
Gambar II.3	Pembentukan Gel Karaginan Oleh Ion $K^+$ .....	II-11
Gambar II.4	Packed Tower .....	II-15
Gambar II.5	Tipe-tipe <i>Packing</i> .....	II-16
Gambar II.6	Packed Column .....	II-17
Gambar III.1	Haemocytometer Neubauer .....	III-7
Gambar III.2	Analisa Kadar Residu Glukosa dengan Metode DNS .....	III-9
Gambar III.3	Set-up Peralatan Fermentasi-Ekstraktif Kontinyu Terintegrasi Dalam Reactor Packed-bed Tanpa Recycle .....	III-11
Gambar III.4	Set-up Peralatan Fermentasi-Ekstraktif Kontinyu Terintegrasi Dalam Reactor Packed-bed Dengan Recycle .....	III-12
Gambar IV.1	Grafik Pertumbuhan <i>Zymomonas mobilis</i> Termutasi A3 .....	IV-5
Gambar IV.2	Grafik Gula Reduksi Sisa sebagai Fungsi Waktu pada Fermentasi dengan Mikroorganisme <i>Zymomonas Mobilis</i> Termutasi A3 untuk Ekstraksi dengan Pelarut <i>Amyl Alcohol</i> .....	IV-7
Gambar IV.3	Grafik Gula Reduksi Sisa sebagai Fungsi Waktu pada Fermentasi dengan Mikroorganisme <i>Zymomonas Mobilis</i> Termutasi A3 untuk Ekstraksi dengan Pelarut <i>1-Octanol</i> .....	IV-7
Gambar IV.4	Grafik Gula Reduksi Sisa sebagai Fungsi Waktu pada Fermentasi dengan Mikroorganisme <i>Zymomonas Mobilis</i> Termutasi A3 untuk Ekstraksi dengan Pelarut <i>1-Dodecanol</i> .....	IV-8
Gambar IV.5	Grafik Perbandingan Kadar Etanol Pada <i>Broth</i> Masing-Masing <i>Recycle ratio</i> pada Pelarut <i>n-Amyl</i> <i>Alcohol</i> , <i>1-Octanol</i> dan <i>1-Dodecanol</i> .....	IV-9

Gambar IV.6 Grafik Perbandingan Kadar Etanol Overall Masing-Masing <i>Recycle ratio</i> pada Pelarut <i>n-Amyl Alcohol</i> , <i>1-Octanol</i> dan <i>1-Dodecanol</i> .....	IV-10
Gambar IV.7 Grafik Perbandingan Yield Etanol Masing-Masing <i>Recycle ratio</i> pada Pelarut <i>n-Amyl Alcohol</i> , <i>1-Octanol</i> dan <i>1-Dodecanol</i> .....	IV-13
Gambar IV.8 Grafik Perbandingan Produktivitas Etanol Masing-Masing <i>Recycle ratio</i> pada Pelarut <i>n-Amyl Alcohol</i> , <i>1-Octanol</i> dan <i>1-Dodecanol</i> .....	IV-15
Gambar IV.9 Grafik Perbandingan % Recovery Etanol Masing-Masing <i>Recycle ratio</i> pada Pelarut <i>n-Amyl Alcohol</i> , <i>1-Octanol</i> dan <i>1-Dodecanol</i> .....	IV-18

## DAFTAR NOTASI

No	Notasi	Keterangan	Satuan
1	D	<i>Dillution rate</i>	Jam <sup>-1</sup>
2	d	Diameter kolom <i>packed bed</i>	cm
3	E	Konsentrasi etanol	g/L
4	F	Kecepatan alir/ <i>rate</i>	L/jam
5	L	Panjang kolom <i>packed bed</i>	cm
6	M	Molaritas	mol/L
7	P	Produktivitas Etanol	g/L.jam
8	S	Konsentrasi Substrat	g/L
9	t	Waktu	jam
10	V	Volume	L
11	V <sub>T</sub>	Volume Total bioreactor	L
12	V <sub>L</sub>	Volume liquid " <i>void</i> "	L
13	V <sub>B</sub>	Volume solid <i>bead</i> K-karaginan	L
14	X	Konsentrasi sel	g/L
15	Y	Yield Etanol	%
16	ε	Void fraction	-
17	ρ	Massa jenis/densitas	g/mL
18	μ	Kecepatan pertumbuhan spesifik	Jam <sup>-1</sup>
19	μ <sub>maks</sub>	Kecepatan pertumbuhan maksimal	Jam <sup>-1</sup>
20	τ	<i>Residence time</i>	jam

# BAB I

## PENDAHULUAN

### I.1 Latar Belakang

Ketersediaan cadangan sumber bahan bakar minyak bumi (BBM) berbasis fosil seperti solar, bensin dan minyak tanah semakin terbatas. Sedangkan, kebutuhan energi dari BBM di berbagai negara di dunia dalam tahun terakhir ini mengalami peningkatan tajam. Selain itu, bahan bakar fosil mempunyai dampak yang relatif berbahaya pada lingkungan karena menghasilkan gas emisi CO<sub>2</sub>, CO, hidrokarbon dan SO<sub>x</sub>. Oleh karena itu, perlu mensubstitusi penggunaan bahan bakar minyak (fosil) dengan bahan bakar yang dapat diperbarui (*renewable*) dan ramah lingkungan dengan potensi sumber bahan baku yang tinggi. Potensi tersebut ada pada penggunaan *biofuel*. Banyak *biofuel* yang dikembangkan sebagai substitusi bahan bakar minyak yaitu bioetanol.

Bioetanol adalah etanol hasil proses fermentasi gula sederhana/glukosa dari bahan alami (tumbuh-tumbuhan) dengan bantuan mikroorganisme tertentu. Bioetanol sumber energi terbarukan (*renewable energy*) yang mempunyai prospek baik sebagai pengganti bahan bakar, sebagai contoh: gasohol (campuran antara bensin dan etanol). Bahan bakar alternatif ini bertujuan untuk mengurangi kebutuhan akan pemakaian bahan bakar minyak (BBM minyak bumi). Selain mengurangi kebutuhan BBM (minyak bumi) keuntungan dari pemakaian gasohol adalah untuk menekan emisi CO<sub>2</sub>, CO, hidrokarbon dan SO<sub>x</sub> pada mesin kendaraan berbahan bakar bensin. Etanol, dipercaya menjadi salah satu alternatif terbaik, khususnya etanol murni dari bahan baku biomass (Bai, dkk, 2008).

Tebu (*Saccharum officinarum L.*) merupakan salah satu jenis tanaman yang hanya dapat ditanam di daerah yang memiliki iklim tropis. Di Indonesia, perkebunan tebu menempati luas areal 321 ribu hektar yang 64,74% diantaranya terdapat di Pulau Jawa (Departemen Pertanian, 2004).



Salah satu potensi yang relatif besar adalah pengembangan biotanol berbahan baku nira batang tebu. Dari data teknis Brazil, dengan asumsi 80 liter bioetanol dapat dihasilkan dari 1 ton tebu dan produktivitas tebu rata-rata 80 ton per hektar. Apabila etanol dari tebu dapat mensubstitusi 10 % dari kebutuhan gasoline pada tahun 2010 (33,4 milyar liter), maka target tersebut bisa dicapai dengan pengembangan areal tebu seluas 522 ribu hektar (Cahyono, 2010).

Terdapat dua jenis proses fermentasi, yaitu fermentasi secara batch dan kontinyu. Fermentasi batch menghasilkan etanol dengan kadar dan produktivitas yang rendah. Hal ini terjadi karena mikroorganisme yang berperan dalam pembentukan etanol teracuni oleh akumulasi etanol yang berada dalam fermentor. Akumulasi tersebut dapat menurunkan serta menghentikan pertumbuhan maupun produksi mikroorganisme. Selain itu terdapat beberapa kerugian menggunakan fermentasi batch, yaitu dibutuhkan kapasitas fermenter yang cukup besar dan terdapat *step* yang tidak efisien seperti pengisian dan pengosongan (Carvalho, et.al, 1990).

Dalam perkembangannya, untuk mengurangi biaya produksi dan meningkatkan efisiensi proses dan yield etanol digunakan proses fermentasi kontinyu. Proses ini untuk mengatasi masalah inhibisi mikroorganisme yang terjadi pada proses fermentasi batch. Salah satu dari proses fermentasi kontinyu adalah teknik immobilisasi sel dalam packed bed bioreaktor. Hasilnya adalah etanol dengan kadar yang rendah namun produktivitas tinggi bila dibandingkan dengan proses fermentasi batch. (Vasconcelos, et. al, 2004)

Untuk meningkatkan produktivitas etanol, maka melakukan proses fermentasi dan pemisahan secara terpadu. Pemisahan dimaksudkan untuk memisahkan senyawa penghambat produktivitas dalam fermentor. Terdapat beberapa cara pemisahan penghambat antara etanol dan broth, yaitu fermentasi dalam kondisi vakum dan fermentasi ekstraktif. Dalam fermentasi dalam kondisi vakum, etanol menguap setelah terbentuk. Sedangkan

dalam fermentasi ekstraktif etanol yang terbentuk akan terkestrak oleh pelarut organik. Fermentasi ekstraktif memberikan keuntungan yaitu proses recovery dan pemurnian etanol akan lebih mudah (Kim, dkk, 1999). Fermentasi ekstraktif adalah metode yang dapat digunakan untuk mengurangi inhibisi dari etanol, dimana etanol akan segera dipisahkan dari broth ketika proses fermentasi berlangsung. Pada fermentasi ekstraktif secara kontinyu, masih terdapat banyak gula pada substrat yang belum terkonversi menjadi etanol karena waktu tinggal dalam fermentor yang relative singkat, sehingga adanya recycle rafinat yang dikembalikan ke dalam fermentor akan dapat meningkatkan yield dan produktivitas etanol.

Pelarut yang baik berasal dari gugus karboksilat dan alkohol. Pelarut dengan gugus karboksilat akan bereaksi secara *reversible* dengan alkohol sehingga akan terbentuk gugus ester yang sulit untuk diekstraksi. Maka dari itu, pelarut yang digunakan berasal dari gugus alkohol yang aman digunakan. Pelarut dengan atom karbon C2-C10 adalah beracun sedangkan pelarut dengan atom karbon C10-C12 adalah moderat dan pelarut dengan atom karbon C14 keatas adalah tidak beracun. Pada pelarut dengan atom karbon C10-C12 terdapat ketidak konsistenan dimana pelarut dengan atom karbon C12 merupakan pelarut yang tidak beracun, sedangkan pelarut dengan atom karbon C11 adalah pelarut yang dapat meracuni mikroba pada saat proses fermentasi (Offeman dkk, 2008). Semakin besar perbandingan jumlah pelarut terhadap broth, maka semakin besar % recovery etanol. Sehingga semakin besar etanol yang terekstrak dari broth fermentasi oleh pelarut. Ketika rafinat direcycle atau dikembalikan pada fermentor, etanol terlarut pada rafinat akan menambah efek inhibisi pada pelarut itu sendiri. Rasio recycle yang lebih besar akan meningkatkan kontak antara pelarut dan mikroorganisme pada fermentor, dan adanya suatu akumulasi dari pelarut yang berdifusi ke dalam bead dapat meracuni mikroorganisme.

Pada penelitian ini akan dicari performa terbaik dari recycle ratio dan variasi pelarut terhadap yield dan produktivitas pada proses fermentasi ekstraktif. Pelarut yang digunakan adalah n-amyl alcohol, 1-dodecanol dan 1-octanol. Dari berbagai aspek di atas inilah yang mendasari penelitian kami yang berjudul :

**“Pengaruh Recycle Ratio dan Jenis Pelarut Dalam Produksi Etanol dari Nira Tebu (*Saccharum officinarum L.*) Dengan Proses Fermentasi Ekstraktif”**

## **I.2 Rumusan Masalah**

- Adanya kelemahan pada pembuatan etanol dengan proses batch, yaitu rendahnya laju pembentukan serta konsentrasi etanol yang rendah karena adanya inhibisi produk, maka dilakukan proses fermentasi-ekstraktif secara kontinyu.
- Penggunaan bioreaktor packed bed bertujuan untuk meminimalkan kerusakan.
- *Supporting matrice* yang dipilih adalah  $\kappa$ -Karaginan.

## **I.3 Batasan Masalah**

Agar penelitian ini tidak menyimpang dari ketentuan yang digariskan maka diambil batasan dan asumsi sebagai berikut:

1. Yang akan dikerjakan dalam penelitian adalah pembuatan etanol dengan bahan baku nira tebu.
2. Bakteri yang digunakan adalah *Zymomonas mobilis* termutasi dan diseleksi pada media asam sehingga membentuk karakteristik tahan terhadap asam.
3. Fermentor yang digunakan pada proses pembuatan etanol adalah reaktor kontinyu.
4. Immobilisasi sel menggunakan  $\kappa$ -karaginan sebagai *supporting matrice* yang prosesnya terintegrasi dengan proses ekstraksi.
5. Menggunakan 3 macam pelarut dari rantai alkohol yang memiliki berat molekul yang berbeda-beda (berdasarkan

jumlah atom C-nya) yaitu amylalkohol (C-5), 1-Oktanol (C-8) dan 1-dedocanol (C-12).

6. Rasio recycle dari rafinat yang digunakan adalah 0.3, 0.5, 0.6 dan 0.8.

#### **I.4 Tujuan Penelitian**

1. Mengetahui performa terbaik dari recycle ratio dan jenis pelarut yang digunakan dalam produksi etanol dengan proses fermentasi ekstraktif dari nira tebu.
2. Mengetahui karakteristik kinerja sistem fermentasi kontinyu dalam bioreaktor *packed bed* dengan berbagai jenis pelarut.

#### **I.5 Manfaat Penelitian**

1. Merupakan partisipasi penulis dalam memberikan kontribusi terhadap pengembangan keilmuan, khususnya dalam bidang ilmu biokimia.
2. Sebagai salah satu bahan referensi dalam menambah pengetahuan dalam kimia fermentasi.
3. Sebagai informasi kepada masyarakat mengenai proses pembuatan etanol dari nira tebu.
4. Sebagai acuan dalam pengembangan penelitian pembuatan etanol dengan cara fermentasi ekstraktif.

\* Halaman ini sengaja dikosongkan \*

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### II.1 Bahan Baku

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah nira tebu. Tebu adalah tanaman jenis rumput-rumputan yang ditanam untuk bahan baku gula. Tanaman ini hanya dapat tumbuh di daerah beriklim tropis. Tanaman ini termasuk jenis rumput-rumputan. Umur tanaman sejak ditanam sampai dapat dipanen mencapai kurang lebih satu tahun. Klasifikasi tanaman tebu adalah :

Kerajaan: *Plantae*

Divisi: *Magnoliophyta*

Kelas: *Liliopsida*

Ordo: *Poales*

Famili: *Poaceae*

Genus: *Saccharum*

Spesies: *Saccharum officinarum* L (Tarigan dkk, 2006).



**Gambar 2.1** Tebu

Secara umum, komposisi dari nira batang tebu adalah :

**Tabel II.1** Komponen Nira Tebu Berdasarkan Zat Terlarut

Sampel	Analit	Kadar Rata – Rata (%b/v)
Nira Tebu	Fruktosa	-
	Glukosa	4,53
	Sukrosa	13,1

Sumber : Hasil Analisa *High Performance Liquid Chromatography*

Tanaman tebu pada umumnya dapat tumbuh dengan baik pada daerah yang memiliki iklim tropis dan sub tropis dengan daerah penyebaran 39° LU dan 35° LS. Dibutuhkan suhu rata-rata tahunan di atas 21°C, apabila kurang dari 20°C maka pertumbuhannya akan terhambat. Suhu perkecambahan tunas setek tebu antara 32-38°C. Suhu yang diperlukan untuk dapat menghasilkan sukrosa yang tinggi adalah antara 26-27°C. Curah hujan tahunan yang sesuai bagi pertumbuhan tanaman tebu adalah 1.500-2.500 mm per tahun dengan penyebaran merata. Kelembaban yang baik bagi pertanaman tebu adalah 63-85%. Ketinggian tempat yang memenuhi syarat pertumbuhan tebu adalah tidak lebih dari 600m dpl (James, 2004).

## **II.2 Proses Fermentasi *Batch*, Fermentasi Kontinyu, dan Fermentasi Ekstraktif**

Proses fermentasi *batch* merupakan proses pembuatan etanol secara konvensional, dimana proses ini memiliki beberapa kelemahan seperti inhibisi dari substrat dan produk. Jika konsentrasi substrat terlalu tinggi, maka itu akan menghambat proses fermentasi (Cheng dan Wang, 2007). Proses fermentasi *batch* menghasilkan etanol dengan konsentrasi maksimum 12% (v/v) karena mikroorganisme pada proses fermentasi tidak tahan pada konsentrasi etanol yang tinggi. Sebagai tambahan, karena penurunan konsentrasi etanol, produktivitas pada proses *batch* terbatas karena konsentrasi etanol yang tinggi pada broth hasil fermentasi dapat menurunkan laju pembentukan etanol (Minier dan Goma, 1982).

Proses fermentasi kontinyu merupakan suatu alternatif yang dapat digunakan untuk mengatasi permasalahan pada proses fermentasi *batch*. Proses fermentasi kontinyu dapat meningkatkan laju pembentukan etanol. Namun demikian, proses ini tidak dapat digunakan dengan densitas biakan sel yang tinggi, dimana

konsentrasi etanol yang dihasilkan rendah dan banyak kehilangan substrat sisa (Cheng dan Wang, 2008).

Pengambilan produk secara ekstraksi merupakan suatu fakta yang cukup menarik pada kasus semacam ini karena ini dapat mengatasi atau menghilangkan inhibisi dari produk secara in situ melalui suatu ekstraksi pelarut (Daugulis dkk, 1987). Fermentasi ekstraktif juga dapat menurunkan energi pada proses distilasi berikutnya.

### **II.3 *Zymomonas Mobilis***

Ada tiga karakteristik penting yang harus dimiliki oleh mikroba bila akan digunakan dalam fermentasi dan pengasaman :

- a. Mikroba harus mampu tumbuh dengan cepat dalam suatu substrat dan lingkungan yang cocok dan mudah untuk dibudidayakan dalam jumlah besar.
- b. Organisme harus memiliki kemampuan untuk mengatur ketahanan fisiologis dalam kondisi seperti diatas, dan menghasilkan enzim-enzim esensial dengan mudah dan dalam jumlah besar agar perubahan kimia yang dikehendaki dapat terjadi.
- c. Kondisi lingkungan yang diperlukan bagi pertumbuhan dan produksi maksimum secara komparatif harus sederhana.

Selain itu pemilihan mikroorganisme yang digunakan pada fermentasi berdasarkan pada:

1. Kestabilan biokimia (karakteristiknya konstan dan uniform).
2. Mempunyai bentuk stabil bila disimpan pada suhu normal.
3. Mampu dan cepat terurai dalam air.
4. Dapat melakukan fermentasi dalam sumber karbohidrat yang digunakan.
5. Dapat berkembang biak dengan baik dan memberikan hasil yang baik dalam medium pembiakan.

Gunasekaran dan Raj (1999) menyatakan bahwa yeast *Saccharomyces cerevisiae* dan bakteri fakultatif *Zymomonas*



*mobilis* adalah kandidat mikroorganisme yang terbaik untuk industri alkohol.

Bakteri *Zymomonas mobilis* merupakan bakteri gram negatif yang dapat ditemukan pada tumbuh-tumbuhan yang kaya gula. Pada umumnya mempunyai panjang 2-6  $\mu\text{m}$  dan lebar 1-1.4  $\mu\text{m}$ , tetapi ukuran ini bisa berubah-ubah secara signifikan. *Z. mobilis* merupakan bakteri anaerob fakultatif, yang memanfaatkan sukrosa, glukosa dan fruktosa dan mempunyai laju pertumbuhan yang tinggi dan tahan terhadap konsentrasi etanol sekitar 10%.

*Zymomonas mobilis* dapat memfermentasi gula menjadi etanol dan  $\text{CO}_2$  melalui jalur glikolitik Entner-Doudoroff. Hasil bersih dari jalur ini adalah menghasilkan 2 etanol + 2  $\text{CO}_2$ . Dalam jalur Entner-Doudoroff dihasilkan 1 ATP dari 1 molekul glukosa. Bakteri ini menguraikan glukosa melalui alur 2-keto-3 deoksi -6-fosfoglukonat dan memecah piruvat dengan enzim piruvat dekarboksilase menjadi asetaldehida dan karbondioksida. Asetaldehida kemudian direduksi menjadi etanol. Etanol, karbondioksida dan sejumlah kecil asam laktat merupakan produk peragian yang khas. (Schlegel, 1994)

*Zymomonas mobilis* mempunyai *hopanoids* dalam membran plasma dan ini merupakan kunci untuk toleransi etanol yang tinggi. Membran plasma mempunyai komposisi *phospholipid* dengan komponen utama adalah fosphatidyletanamine dan sejumlah yang lebih sedikit *phosphatidylglycerol*, *cardiolipin*, *dimethyl phosphidyletanamine* dan *phosphatidylcholine*. Dengan meningkatnya etanol dan glukosa di lingkungan maka terjadi penurunan *phosphatidyletanamine* dan *phosphatidylglycerol* serta *phosphatidylcholine* meningkat. (Rachel, 2007)

*Zymomonas mobilis* mempunyai sifat yang tahan terhadap kadar etanol yang tinggi yang dihasilkan pada proses fermentasi apabila dibandingkan dengan *Saccaromices cerevisiae*. Karena bakteri ini memiliki struktur hopanoid atau lipida membran yang kompleks sehingga menyebabkan membran menjadi lebih stabil dan memiliki kerapatan yang baik, sehingga molekul lain sulit

untuk menembus sel tersebut, termasuk etanol. Oleh karena itu pada penelitian ini untuk mikroorganismenya menggunakan *Zymomonas mobilis*.

Keuntungan lain dari *Zymomonas mobilis* dibandingkan dengan *Saccharomyces cerevisiae* dalam proses bioetanol adalah yield etanol yang dihasilkan akan lebih tinggi dan waktu yang lebih singkat, produksi biomassa yang lebih rendah, toleransi etanol lebih tinggi selama proses fermentasi berlangsung, tidak perlu mengontrol kelebihan oksigen selama proses fermentasi. (Bai dkk, 2008)

Mikroorganisme yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Z. mobilis* termutasi. Mutasi dilakukan untuk mendapatkan strain *Z. mobilis* yang memiliki karakter tahan pada kondisi asam. Mutasi menggunakan *hydroxylamine* (NH<sub>2</sub>OH) menghasilkan *Z. mobilis* A3 yang mempunyai morfologi lebih besar dengan gerakan yang lebih sedikit dibandingkan dengan *Z. mobilis* awal. pH optimum untuk fermentasi *Z. mobilis* A3 adalah pH 4,5 (Alfena dkk, 2009).

### **Pentingnya sel untuk diimmobilisasikan**

Immobilisasi digunakan sebagai suatu alat untuk menjebak atau mengurung sel secara utuh pada suatu inert pembawa di dalam suatu bioreaktor. Alat ini kemudian akan meningkatkan efisiensi dari sistem fermentasi kontinyu seperti hal-hal berikut:

- Densitas sel yang tinggi tiap unit volume bioreaktor yang menghasilkan rate fermentasi yang sangat tinggi.
- Penggunaan kembali dari biokatalis yang sama (sel *yeast*) untuk memperpanjang periode dari waktu yang seharusnya untuk regenerasi sel yang konstan
- Pemisahan yang mudah dari biokatalis dari fase liquid dimana produk yang diinginkan ditunjukkan sedemikian memperkecil biaya pemisahan

- Densitas sel yang lebih tinggi berkombinasi dengan operasi pada dilution rate yang tinggi, menurunkan resiko dari reaktor yang seharusnya shut down karena kontaminasi.
- Meningkatkan toleransi atau perlindungan pada sel dari inhibisi produk.
- Volume bioreaktor yang lebih kecil mungkin akan menurunkan capital cost.

Selain hal di atas, juga diteliti jika sel yang diimmobilisasi adalah sedikit terkena efek dari senyawa inhibitor tertentu, variasi pH, dan kehabisan persediaan nutrien dari pada pada sel bebas.

Keuntungan proses yang diberikan oleh fermentasi kontinyu akan memiliki suatu pengaruh yang kuat pada industri brewing. Proses produksi *beer* secara tradisional dioperasikan secara batch menggunakan sel bebas biasanya memerlukan waktu 5-7 hari untuk mendapatkan hasil fermentasi yang sempurna.

Pada awal pembelajaran menunjukkan bahwa pada suatu sistem sel immobilisasi dapat mengurangi waktu yang diperlukan untuk fermentasi utama menjadi sekitar satu hari. Dewasa ini, penggunaan sel immobilisasi yang digabungkan dengan suatu proses treatment panas diperpendek dari 5-21 hari menjadi 2 jam.

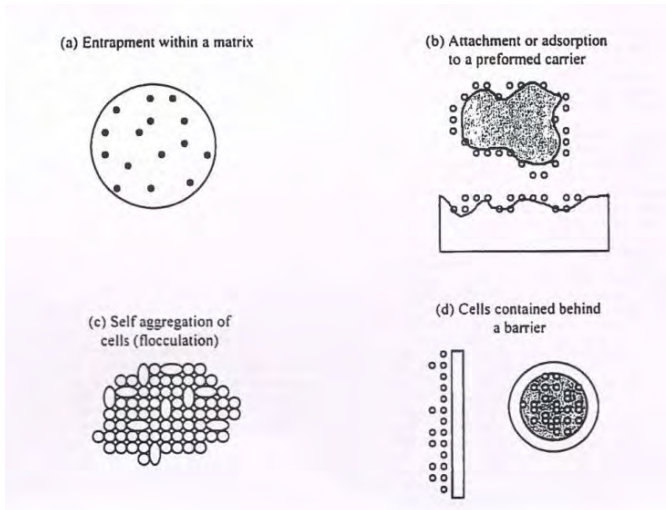
Fermentasi *beer* menggunakan sel bebas secara normal dilakukan menggunakan suatu reaktor *batch*, dimana *broth* ditambahkan pada saat permulaan fermentasi. Reaktor sel immobilisasi dioperasikan secara kontinyu dengan penambahan *fresh broth* untuk memetabolisasi *broth*. Hal ini mengimplikasikan bahwa proses fermentasi akan memerlukan perubahan dari sebuah perubahan *batch* secara konstan menjadi suatu operasi kontinyu yang steady state. Sebagai contoh, pada sistem fermentasi *batch* dengan sel bebas, bioreaktor dioperasikan secara aerobik pada segmen awal untuk membiarkan yeast memperoleh oksigen untuk pertumbuhan sel. Level dari oksigen terlarut dihabiskan dan reaktor beroperasi secara anaerob kemudian untuk melakukan proses fermentasi. Pada sistem

kontinyu, oksigen terlarut akan mendekati konstan, operasi steady state (Pilkington dkk, 1997).

Di dalam fermentasi *batch*, untuk memperpanjang fase pertumbuhan eksponensial dapat dilakukan dengan menambahkan medium baru ke dalam fermentor. Hal tersebut akan mengakibatkan penambahan terhadap volume larutan awal. Sedangkan didalam fermentasi kontinyu, medium baru tidak akan mengakibatkan perubahan volume dari sebelumnya.

### **Properti dari sistem immobilisasi sel**

Immobilisasi dari sel didefinisikan sebagai penempatan dari sel pada suatu region pada tempat dengan penjagaan aktifitas katalitik. Suatu sistem immobilisasi sel digambarkan sebagai suatu sistem dimana mikrobial sel dibatasi di dalam sebuah bioreaktor, sedemikian sehingga sel-sel tersebut dapat dipergunakan kembali. Metode untuk immobilisasi meliputi penjebakan fisik dalam suatu matrik berpori, *attachment* atau adsorpsi sebagai pembawa, agregasi sendiri dengan flokulasi atau *crosslinking agents* dan sel berada di belakang suatu *barrier*. Semua dari tujuan ini memiliki metode yang sama yaitu untuk menahan konsentrasi sel yang tinggi dalam bioreaktor, meningkatkan produktivitas volumetrik dari sistem dan menurunkan biaya untuk fermentasi. Gambar 2.2 menggambarkan teknik immobilisasi dasar.



**Gambar 2.2** Macam-macam Teknik Dasar Immobilisasi Sel

### **Penjebakan fisik pada membran berpori**

Penjebakan dari immobilisasi sel dalam suatu polimer matrik berpori seperti kalsium alginat dan kappa karaginan, telah dipelajari secara luas. Polimer bead biasanya berbentuk spherical dengan range diameter 0,3 – 3 mm. Immobilisasi *yeast* dengan penjebakan adalah suatu metode yang relatif sederhana dan difasilitasi dengan konsentrasi biomas yang tinggi.

### **II.4 Karaginan Sebagai *Supporting Matrice***

Karaginan merupakan sebuah polisakarida linear berat molekul tinggi yang terdiri dari kesatuan berulang unit disakarida, yaitu galaktosa dan 3,6-anhydrogalactose (3,6 AG), yang digabungkan dengan rantai glikosida  $\alpha$ -(1,3) dan  $\beta$ -(1,4) yang berselang-seling. Keduanya baik yang berikatan dengan sulfat atau tidak, dihubungkan dengan ikatan glikosidik -1,3 dan -1,4 secara bergantian.

Karakteristik kappa karaginan:

- Polimer dari rumput laut merah seperti *Chondrus crispus* dan *Euचेuma cottonii*
- *Thermoreversible* gel dimana *gelling* temperatur tergantung pada konsentrasi ion potasium
- Metode untuk memproduksi bead karaginan skala pilot sudah ada
- Gel Strength: 700-1500 g/cm<sup>2</sup> (Seatech Carrageenan Company)

(Pilkington dkk, 1997)

Secara umum sifat-sifat karaginan meliputi :

- Kelarutan

Kelarutan karaginan dalam air dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya tipe karaginan, temperatur, pH, kehadiran jenis ion tandingan dan zat-zat terlarut lainnya. Gugus hidroksil dan sulfat pada karaginan bersifat hidrofilik sedangkan gugus 3,6-anhidro-D-galaktosa lebih hidrofobik. Lambda karaginan mudah larut pada semua kondisi karena tanpa unit 3,6-anhidro-D-galaktosa dan mengandung gugus sulfat yang tinggi. Karaginan jenis iota bersifat lebih hidrofilik karena adanya gugus 2-sulfat dapat menetralkan 3,6-anhidro-Dgalaktosa yang kurang hidrofilik. Karaginan jenis kappa kurang hidrofilik karena lebih banyak memiliki gugus 3,6-anhidro-D-galaktosa. Karakteristik daya larut karaginan juga dipengaruhi oleh bentuk garam dari gugus ester sulfatnya. Jenis sodium umumnya lebih mudah larut, sementara jenis potasium lebih sukar larut. Hal ini menyebabkan kappa karaginan dalam bentuk garam potasium lebih sulit larut dalam air dingin dan diperlukan panas untuk mengubahnya menjadi larutan, sedangkan dalam bentuk garam sodium lebih mudah larut. Lambda karaginan larut dalam air dan tidak tergantung jenis garamnya.

- Stabilitas

Karaginan dalam larutan memiliki stabilitas maksimum pada pH 9 dan akan terhidrolisis pada pH dibawah 3,5. Pada pH 6 atau

lebih umumnya larutan karaginan dapat mempertahankan kondisi proses produksi karaginan. Hidrolisis asam akan terjadi jika karaginan berada dalam bentuk larutan, hidrolisis akan meningkat sesuai dengan peningkatan suhu. Larutan karaginan akan menurun viskositasnya jika pHnya diturunkan dibawah 4,3.

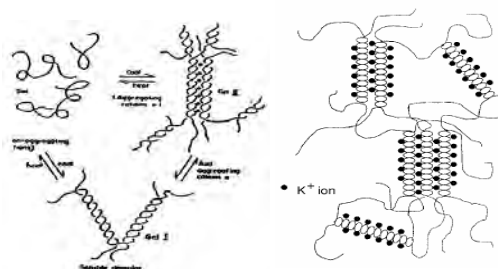
- Viskositas

Viskositas adalah daya aliran molekul dalam sistem larutan. Viskositas suatu hidrokoloid dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu konsentrasi karaginan, temperatur, jenis karaginan, berat molekul dan adanya molekul-molekul lain. Jika konsentrasi karaginan meningkat maka viskositasnya akan meningkat secara logaritmik. Viskositas akan menurun secara progresif dengan adanya peningkatan suhu, pada konsentrasi 1,5% dan suhu 75°C nilai viskositas karaginan berkisar antara 5 – 800 cP. Viskositas larutan karaginan terutama disebabkan oleh sifat karaginan sebagai polielektrolit. Gaya tolakan (repulsion) antar muatan-muatan negatif sepanjang rantai polimer yaitu gugus sulfat, mengakibatkan rantai molekul menegang. Karena sifat hidrofiliknya, polimer tersebut dikelilingi oleh molekul-molekul air yang terimobilisasi, sehingga menyebabkan larutan karaginan bersifat kental. Semakin kecil kandungan sulfat, maka nilai viskositasnya juga semakin kecil, tetapi konsistensi gelnya semakin meningkat. Adanya garam-garam yang terlarut dalam karaginan akan menurunkan muatan bersih sepanjang rantai polimer. Penurunan muatan ini menyebabkan penurunan gaya tolakan (repulsion) antar gugus-gugus sulfat, sehingga sifat hidrofilik polimer semakin lemah dan menyebabkan viskositas larutan menurun. Viskositas larutan karaginan akan menurun seiring dengan peningkatan suhu sehingga terjadi depolimerisasi yang kemudian dilanjutkan dengan degradasi karaginan.

- Pembentukan gel

Karaginan dapat membentuk gel secara *reversibel* artinya dapat membentuk gel pada saat pendinginan dan kembali cair pada saat dipanaskan. Pembentukan gel disebabkan karena terbentuknya struktur heliks rangkap yang tidak terjadi pada suhu tinggi.

Kappa-karaginan dan iota-karaginan merupakan fraksi yang mampu membentuk gel dalam air dan bersifat *reversible* yaitu meleleh jika dipanaskan dan membentuk gel kembali jika didinginkan. Proses pemanasan dengan suhu yang lebih tinggi dari suhu pembentukan gel akan mengakibatkan polimer karaginan dalam larutan menjadi *random coil* (acak). Bila suhu diturunkan, maka polimer akan membentuk struktur *double helix* (pilinan ganda) dan apabila penurunan suhu terus dilanjutkan polimer-polimer ini akan terikat silang secara kuat dan dengan makin bertambahnya bentuk heliks akan terbentuk agregat yang bertanggung jawab terhadap terbentuknya gel yang kuat. Jika diteruskan, ada kemungkinan proses pembentukan agregat terus terjadi dan gel akan mengerut sambil melepaskan air. Proses terakhir ini disebut sineresis. Mekanisme pembentukan gel karaginan dapat dilihat pada Gambar II.8.



**Gambar II.3** Pembentukan Gel Karaginan Oleh Ion  $K^+$

Kemampuan pembentukan gel pada kappa dan iota karaginan terjadi pada saat larutan panas yang dibiarkan menjadi dingin karena mengandung gugus 3,6-anhidrogalaktosa. Adanya perbedaan jumlah, tipe dan posisi gugus sulfat akan mempengaruhi proses pembentukan gel. Kappa karaginan dan iota karaginan akan membentuk gel hanya dengan adanya kation-kation tertentu seperti  $K^+$ ,  $Rb^+$  dan  $Cs^+$ . Kappa karaginan sensitif terhadap ion kalium dan membentuk gel kuat dengan adanya garam kalium, sedangkan iota karaginan akan membentuk gel yang kuat dan stabil bila ada ion  $Ca^{2+}$ , akan tetapi lambda



karaginan tidak dapat membentuk gel. Potensi membentuk gel dan viskositas larutan karaginan akan menurun dengan menurunnya pH, karena ion  $H^+$  membantu proses hidrolisis ikatan glikosidik pada molekul karaginan. Konsistensi gel dipengaruhi beberapa faktor antara lain: jenis dan tipe karaginan, konsistensi, adanya ion-ion serta pelarut yang menghambat pembentukan hidrokoloid

## II.5 Ekstraksi

Ekstraksi cair- cair merupakan proses pemisahan satu atau lebih zat terlarut dari larutannya dengan menggunakan pelarut lain. Daya dorong (*driving force*) pemisahan secara ekstraksi adalah perbedaan potensial kimia. Pengontakan pelarut dengan bahan ekstraksi terjadi perpindahan zat terlarut dari bahan ekstraksi ke pelarut. Agar diperoleh zat terlarut di dalam pelarut sebanyak mungkin dalam waktu yang singkat, maka luas permukaan kontak antar fasa dibuat sebesar mungkin.

Usaha untuk memperluas permukaan kontak dapat dilakukan dengan cara pengadukan, mengalirkan kedua fluida dalam kolom yang diisi dengan isian (*packing*), dan mendispersikan fasa terdispersi ke dalam fasa kontinyu sehingga didapatkan tetesan cairan yang kecil.

Ekstraksi cair merupakan salah satu alternatif yang dapat dilakukan apabila pemisahan dengan cara distilasi tidak efektif atau sulit dilakukan, misalnya :

- a. Komponen-komponen yang larutannya *relatif volatile*.
- b. Komponen-komponen yang larutannya mempunyai titik didih yang hampir sama.
- c. Komponen-komponen yang larutannya sensitif terhadap pemanasan bila dilakukan distilasi.
- d. Komponen-komponen yang lebih *volatile* yang diinginkan dalam larutan hanya sedikit.

Hal ini karena komponen-komponen liquid pada proses distilasi memiliki perbedaan titik didih yang berjauhan. Maka,

komponen-komponen suatu campuran mempunyai perbedaan titik didih yang tidak terlalu jauh akan sulit dipisahkan dengan cara distilasi, meskipun dilakukan dalam keadaan vakum.

Mekanisme reaksinya adalah :

1. Proses kontak liquid dengan komponen yang akan diekstrak dengan liquid lain yang tidak melarutkan liquid kedua.
2. Solute akan tertransfer massa ke dalam liquid kedua dan dengan sendirinya akan terjadi pemisahan dengan terbentuknya dua fase.

Dalam operasi ekstraksi dikenal beberapa istilah yang perlu diketahui, yaitu :

1. *Feed* : larutan yang akan diekstraksi.
2. Pelarut : *liquid* yang akan dikontakkan dengan *feed*.
3. Carrier : *liquid* pertama yang mengandung komponen yang akan diekstrak.
4. Ekstrak : hasil ekstraksi yang banyak mengandung pelarut.
5. Rafinat : residual liquid, dimana solute sebagian telah dipisahkan.
6. Fase kontinu : fase yang memiliki volume lebih besar.
7. Fase terdispersi : fase yang akan memiliki volume yang lebih kecil

Alat-alat untuk ekstraksi dapat dioperasikan secara *batch* maupun kontinu. Operasi ekstraksi secara *batch* hanya dilakukan untuk ekstraksi-ekstraksi yang sederhana. Operasi ekstraksi kontinu dapat berupa *stagwise-contact* ataupun *differential contact*, dengan menggunakan *packed column*. Peralatan ekstraksi secara kontinu antara lain :

- a. *Stage type extractor*, macamnya :
  - *Single stage mixer settler*
  - *Sieve tray multistage towers*
- b. *Differential extractor*, macamnya :
  - *Spray towers*
  - *Packed column*

- *Mechanically agitated extractor*
- *Perforated plate column*

Untuk proses ekstraksi cair-cair dapat digunakan peralatan antara lain *packed column* dan *spray column*. *Packed column* sering digunakan untuk ekstraksi kontinyu bila hanya dibutuhkan sedikit stage kesetimbangan. Kolom ini serupa dengan *spray column* tapi lebih efisien karena elemen *packing* memungkinkan terjadinya jalan-jalan berkelok-berkelok untuk fasa terdispersi dan sehingga memperbesar holdup fasa terdispersi. Elemen *packing* juga dapat mempermudah pemecahan partikel fasa terdispersi dan mengurangi *backmixing* fasa kontinyu, yang ini semua akan meningkatkan perpindahan massa.

Elemen *packing* bisa dibagi menjadi dua tipe yaitu *random packing* dan *structured packing*. *Structured packing* dan beberapa *random packing* seperti *metal Intalox saddles* (IMTP) dan *Pall rings* dikenal sebagai *packing efisiensi* tinggi. Tipe *packing* ini banyak diminati terutama untuk kontak gas/uap-liquid. Didalam kolom distilasi, tipe *packing* ini memberikan keuntungan dalam hal kapasitas alir yang besar, *pressure drop* yang rendah tanpa mengurangi kinerja transfer massa.

Untuk operasi ekstraksi, data karakteristik dan korelasi-korelasi yang ada (Laddha dan Degaleesan, 1978; Treybal, 1980) hanyalah untuk tipe *packing* tradisional seperti Raschig ring dan Berl saddles yang diketahui tidak efisien untuk operasi distilasi, absorpsi, dan *stripping*. Nampaknya, tipe *packing* yang dikenal efisien untuk operasi distilasi juga efisien untuk operasi ekstraksi. Siebert dan Fair (1988), mengkaji karakteristik hidrodinamik dan perpindahan massa pada ekstraksi didalam *packed column* untuk berbagai tipe *packing* seperti *ceramic Raschig ring*, *metal Pall rings*, *ceramic Intalox saddles*, *corrugated sheet metal*, dan *corrugated metal gauze*. Kajian karakteristik hidrodinamik yang penting adalah kajian mengenai batas *flooding*, *disperse phase holdup*, dan *pressure drop*.

Dalam penelitian ini ekstraksi yang digunakan adalah ekstraksi kontinyu dengan menggunakan *packed column*. *Rate*

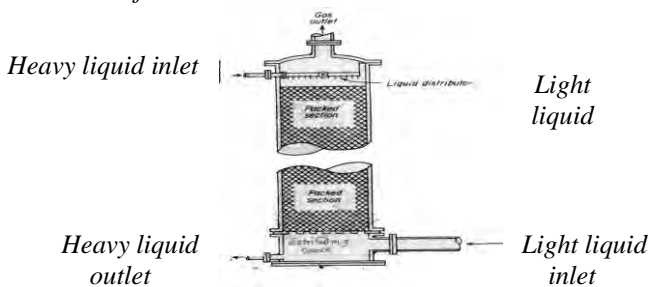
dari kedua fase *liquid* dalam kolom dibatasi oleh *flooding point*, yaitu suatu *rate* aliran dimana fase yang akan terdispersi kembali keluar kolom dan juga dibatasi oleh fase kontinyu yang lebih berat. Umumnya bila *rate* dari suatu fase bertambah maka fase lainnya akan berkurang *rate*-nya.

Faktor-faktor yang mempengaruhi harga *flooding rate* adalah :

1. Sifat fisik liquid
2. Tipe dan ukuran *packing* (untuk *packed tower*)
3. Ukuran drop (untuk *spray tower*)
4. Ukuran dan letak lubang (untuk *plate column*)

### ***Packed Tower***

*Packed tower* merupakan salah satu alat yang digunakan dalam ekstraksi liquid. *Packing* dalam *packed column* tersebut berfungsi untuk mereduksi *axial mixing* dan menahan turunnya fase terdispersi. Sela-sela kosong dalam *packing* sebagian besar terisi oleh fase kontinyu yang mengalir ke bawah, sedang sisa ruangan terisi oleh tetesan-tetesan liquid ringan yang tertransfer massa ke bawah. Butiran-butiran liquid ringan ini akan naik menembus liquid berat dan berkumpul kembali dibagian atas membentuk suatu lapisan yang terpisah dari lapisan liquid berat oleh suatu *interface*.



**Gambar 2.4** Packed Tower

Untuk mempertahankan *interface* pada posisi konstan, dilakukan pengaturan *valve* (pada bagian liquid berat keluar), sedemikian hingga tekanan di dasar yang disebabkan oleh liquid dalam menara dapat diimbangi oleh tekanan pada *bottom outlet*. Jika

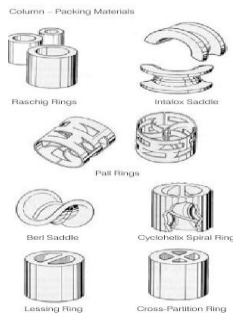
*pressure drop* berkurang karena *valve*, maka *interface* akan turun dibawah *light liquid* distributor dan liquid ringan akan menjadi fase kontinu dan *liquid* berat akan terdispersi.

Posisi *interface* juga dapat diatur dengan menggunakan pipa pengatur. Jenis packing yang digunakan akan mempengaruhi kondisi aliran *liquid* dalam kolom. Jika fase terdispersi mudah membasahi *packing*, maka fase ini akan melalui menara bukan melalui butiran-butiran, sehingga *interface area* yang dihasilkan menjadi kecil. Oleh karena itu bahan packing harus lebih mudah terbasahi oleh fase kontinu.

## II.6 Packing

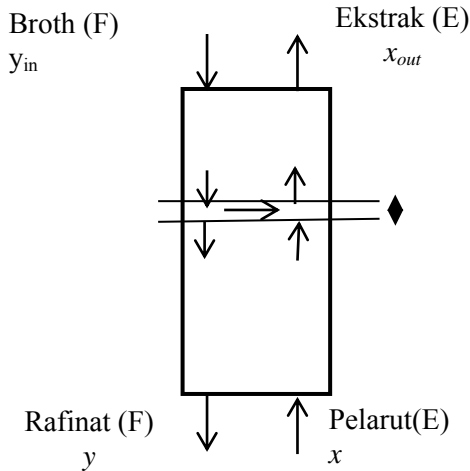
Syarat pokok untuk packing (isian menara) adalah :

1. Tidak bereaksi dengan fluida didalam menara.
2. Tidak korosif, biasanya terbuat dari bahan *ceramics*, *carbon* dan *plastics*.
3. Kuat, tetapi tidak terlalu berat.
4. Mengandung cukup banyak laluan untuk kedua arus tanpa terlalu banyak zat cair yang terperangkap atau menyebabkan penurunan tekanan terlalu tinggi.
5. Memungkinkan terjadinya kontak yang memuaskan antara zat cair dengan gas/cairan.
6. Tidak terlalu mahal.
7. Ukurannya kecil dan tidak lebih besar dari 1/8 diameter kolom.



**Gambar 2.5** Tipe-tipe *packing*

Skema sistim untuk ekstraksi kontinu dapat digambarkan sebagai berikut :



**Gambar 2.6** Packed Column

### **Kecepatan flooding di dalam packed tower**

Jika laju alir fasa kontinu atau fasa terdispersi konstan dan fasa lainnya meningkat secara perlahan-lahan, pada suatu titik yang dicapai dimana fase terdispersi bersatu, *holdup* pada fasa itu meningkat dan akhirnya kedua fasa tersebut keluar secara bersama melalui aliran keluar fasa kontinu. Efek yang terjadi dari fenomena di dalam kolom tersebut disebut *flooding*. Semakin besar laju alir *liquid fase* tertentu dan semakin kecil fasa yang lain, Sebuah kolom harus dioperasikan pada laju alir di bawah *flooding point*.

### **II. 7 Macam Pelarut**

Etanol dapat *direcover* dengan cara ekstraksi menggunakan pelarut. Beberapa peneliti telah memberikan urutan dari klasifikasi solven berdasarkan pada perbandingan performa dari eksperimen adalah:

Asam karboksilat > alkohol > ester > amine > ketone > ether > hydrocarbon

Pelarut yang baik berasal dari gugus karboksilat dan alkohol. Pelarut dengan gugus karboksilat akan bereaksi secara *reversible* dengan alkohol sehingga akan terbentuk gugus ester yang sulit untuk diekstraksi. Maka dari itu, pelarut yang digunakan berasal dari gugus alkohol yang aman digunakan. Pelarut dengan atom karbon C2-C10 adalah beracun sedangkan pelarut dengan atom karbon C10-C12 adalah moderat dan pelarut dengan atom karbon C14 keatas adalah tidak beracun. Pada pelarut dengan atom karbon C10-C12 terdapat ketidakkonsistenan dimana pelarut dengan atom karbon C12 merupakan pelarut yang tidak beracun, sedangkan pelarut dengan atom karbon C11 adalah pelarut yang dapat meracuni mikroba pada saat proses fermentasi (Offeman dkk, 2008).

Perbandingan performa dari ekstraksi ethanol ditampilkan oleh 2 parameter, yakni koefisien transfer massa ethanol KDE yang menunjukkan kapasitas pelarut untuk ethanol dan faktor separasi ( $\alpha$ ) yang menunjukkan selektivitas pelarut untuk ethanol terhadap air. Pada data yang disajikan oleh Offeman, dikemukakan bahwa nilai KDE untuk 1-Octanol sebesar 0,716 yang lebih besar dibanding nilai KDE 1-Dodekanol yang sebesar 0,441, sedangkan untuk nilai alfa 1-Octanol sebesar 12,0 yang tidak berbeda jauh dengan nilai alfa 1-Dodekanol yang sebesar 12,3 (Offeman dkk, 2008).

Pelarut Amyl Alcohol sebagai gugus C5 (yang terletak diantara gugus C3 sampai C6) dapat larut di dalam gasoline/bensin dan dapat melarutkan etanol. (US Patent 4251231). Hal tersebut mendasari penelitian ini dalam penggunaan pelarut *1-amyl alcohol* dan *1-Dodekanol*.

### **Laju Pelarut**

Jika laju alir fasa kontinyu atau fasa terdispersi konstan dan fasa lainnya meningkat secara perlahan-lahan, pada suatu titik yang dicapai dimana fase terdispersi bersatu, *holdup* pada fasa itu

meningkat dan akhirnya kedua fasa tersebut keluar secara bersama melalui aliran keluar fasa kontinyu dan disebut *flooding*. Semakin besar laju alir liquid fase tertentu dan semakin kecil fasa yang lain, Sebuah kolom harus dioperasikan pada laju alir pelarut di bawah *flooding point*.

Semakin besar laju alir *liquid continue* (pelarut) yang masuk kolom maka akan menyebabkan koefisien perpindahan massa fasa kontinyu ( $k_c$ ) dan fasa terdispersi ( $k_d$ ) juga semakin besar dan mengakibatkan jumlah etanol yang diekstrak semakin besar., hal ini dikarenakan bahwa perpindahan massa diantaranya dipengaruhi oleh bilangan-bilangan tak berdimensi, seperti bilangan Reynolds ( $Re$ ), Schmidt ( $Sc$ ) dan Sherwood ( $Sh$ ). Karena bilangan Reynolds ( $Re$ ) dan Schmidt ( $Sc$ ) berbanding langsung dengan bilangan Sherwood ( $Sh$ ) maka akan terjadi koefisien perpindahan massa yang semakin besar, sehingga laju perpindahan massanya menjadi besar dan akan memperbesar nilai % *recovery* ekstraksi.

## II.8 Penelitian Terdahulu

Laddha dan Degaleesan (1978), mengkaji operasi ekstraksi, data karakteristik dan korelasi-korelasi yang ada untuk tipe *packing* tradisional seperti Raschig ring dan Berl saddles yang diketahui tidak efisien untuk operasi distilasi, absorpsi, dan stripping sehingga tipe *packing* yang dikenal efisien untuk operasi distilasi juga efisien untuk operasi ekstraksi.

Grote dkk (1980), *Continuous Etanol Production by Immobilized Cells of Zymomonas Mobilis*. Pada penelitian ini sugar cane juice mengalami proses fermentasi dengan immobilisasi *cell Zymomonas mobilis* menggunakan Ca-Alginat dan K-Karaginan. Kondisi PH = 5 dan temperatur = 30°C. Konsentrasi mula-mula immobilisasi *cell Zymomonas mobilis* = 28.6 g/L dengan konversi dari konsentrasi glukosa 150 g/L pada rate larutan 0.3/h. Pada sel immobilisasi dengan Ca-Alginat, produktivitas maksimal = 44 g/L/h pada rate larutan 0.85/h.



Sedangkan pada cell immobilisasi dengan  $\kappa$ -Karaginan, produktivitas maksimal = 53 g/L/h pada rate larutan 0.80/h.

Margaritis dkk (1981), *High Etanol Productivities Using Small Ca-Alginate Beads of Immobilized Cells of Zymomonas Mobilis*. Sel *zymomonas mobilis* yang digunakan berukuran kecil 1 mm diameter bead Ca-Alginat untuk mendapatkan pembatasan transfer massa minimal dan aktivitas sel immobilisasi maksimal. Kombinasi ukuran bead dengan konsentrasi sel 58 g berat kering. *Volume bead* dihasilkan dalam produktivitas etanol tinggi menggunakan sistem bioreaktor packed bed. Rate dilution antara 0,4 jam-1 sampai 3,9 jam-1 mampu menghasilkan produktivitas 102 g etanol/L.jam untuk konsentrasi substrat 100g glukosa/L dan konversi 87%. Bioreaktor dijalankan secara kontinyu dengan *dilution rate* yang tetap selama 384 jam dan treatment sesekali diberi  $\text{CaCl}_2$  untuk sementara waktu meningkatkan produktivitas maksimum menjadi 116 g etanol/L.jam.

Minier dan Goma (1982), *Etanol Production by Extractive Fermentation*. Dalam ekstraksi *liquid-liquid* fermentasi produk inhibitor diambil dengan menggunakan pelarut. Dalam percobaan ini *solvent* yang digunakan adalah *dodecanol*. Fermentasi alkohol di capai pada suhu 35°C menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*, adsorbansi sel sebagai referensi. Hasil dari penelitian pada konsentrasi glukosa 409 g/L menunjukkan bahwa total produksi etanol sebesar 0.85 g/Lh sedangkan jika menggunakan konvensional fermentasi hasil yang terbentuk hanya sebesar 0.27 g/L h.

Kollerup dan Daugulis (1985), memprediksikan model produktivitas etanol 82,6 gr/L jika fee glukosa 750 gr/L difermentasikan dengan pelarut yang memiliki koefisien transfer massa sebesar 0,5 pada laju pelarutan pelarut sebesar 5 h-1.

Mellick dkk (1986), *Mathematical Modeling of Ethanol Production by Immobilized Zymomonas mobilis in a Packed Bed Fermenter*. Dilakukan eksperimen dengan meng-immobilisasi *Zymomonas mobilis* dalam Ca-alginat pada *bioreactor packed bed*. Model matematis disusun dengan kombinasi secara simultan

difusi dan kinetika reaksi pada reaktor. Kemudian dilakukan upaya penentuan nilai konstanta diffusivitas untuk glukosa dan etanol. Hasil perbandingan dengan hasil eksperimen didapatkan error rata-rata sebesar 30-40 %.

Siebert dkk (1988), mengkaji karakteristik hidrodinamik dan perpindahan massa pada ekstraksi didalam 10,2 cm *packed column* untuk berbagai tipe *packing* seperti *ceramic Raschig ring*, *metal Pall rings*, *ceramic Intalox saddles*, *corrugated sheet metal* dan *corrugated metal gauze*. Kajian karakteristik hidrodinamik yang penting adalah kajian mengenai batas *flooding*, *disperse phase holdup*, dan *pressure drop*.

Elnashaie dkk (1993), *A Mathematical Model Achieving the Twin Objectives of Simplicity and Accuracy for the Simulation of Immobilized Packed Bed Fermentors*. Pada penelitian ini dilakukan pengembangan model matematis untuk proses fermentasi alkohol menggunakan immobilisasi sel dalam fermentasi tubular yang kontinyu. Satu set hasil eksperimen digunakan untuk menentukan beberapa parameter kinetis, kemudian model digunakan tanpa *mem-fitting* parameter untuk mengujinya dengan hasil eksperimen Mellick dkk (1986). Pada eksperimen dengan konsentrasi glukosa 50 g/L, diameter kapsul 0.029 dm, dilution rate 0.9 h<sup>-1</sup> dan konsentrasi sel dalam kapsul  $C_c = 0.1$  g/ g alginat diperoleh hasil dengan error rata-rata 3.19 % untuk konsentrasi glukosa residu dan 0.78 % untuk konsentrasi etanol. Sedangkan pada eksperimen dengan konsentrasi glukosa 150 g/L, diameter kapsul 0.029 dm, dilution rate 1.2 h<sup>-1</sup> dan konsentrasi sel dalam kapsul  $C_c = 0.12$  g/ g alginat diperoleh hasil dengan error rata-rata 5.98 % untuk konsentrasi glukosa residu dan -8.99 % untuk konsentrasi etanol. Dan seterusnya, hasil ini membuktikan akurasi yang lebih baik dibandingkan model yang disusun oleh Mellick dkk (1986).

Goksungur dan Zorlu (2001), *Production of Etanol from Beet Molases by Ca-Alginate Immobilized Zymomonas mobilis Cells in a Packed-Bed Bioreaktor*. Percobaan ini dilakukan untuk menaikkan *yields* dan menurunkan kadar glukosa residu. Dimana

temperatur di jaga pada suhu 30°C, *rate* larutan 0,22 h<sup>-1</sup>. Maximum etanol (4,62%), *yield* teoritis (82,9%) dan *volumetric productivity* (10,16 gL<sup>-1</sup>h<sup>-1</sup>) didapat dari beet molases yang mengandung 10,90% glukosa total dengan 2,0-2,4 mm diameter *beads* yang berasal dari larutan sodium alginate 2%. Sebagai perbandingan untuk *rate* larutan constant 0,22 h<sup>-1</sup> untuk 25 hari, konsentrasi etanol (3,94%), *yield* teoritis (70,7%) dan *produktivitas* (8,67 gl<sup>-1</sup>h<sup>-1</sup>) di dapat didalam *continuous stirred bioreactor*.

Cazetta dkk (2007), *Fermentation of molases by Zymomonas mobilis: Effects of temperature and sugar concentration on etanol production*. Penelitian ini untuk mempelajari efek temperatur dan konsentrasi molases dalam memproduksi etanol. Fermentasi menggunakan *Zymomonas mobilis*, sebagai pengganti ragi-ragi yang tradisional, telah telah diusulkan untuk memproduksi etanol untuk mendekati secara teoritis. Etanol produksi dari tetes tebu molases adalah dianalisa di bawah kondisi-kondisi biakan yang berbeda menggunakan *Z. mobilis* pada fermentasi *batch*. Total reducing sugars (TRS) konsentrasi di molases, temperatur, agitasi dan waktu biakan secara simultan dengan secara design factor. Kondisi terbaik untuk produksi etanol adalah 200 gL<sup>-1</sup> total pengurangan glukosa di molases, temperatur 30°C dan waktu pembiakan fermentasi 48 jam, menghasilkan 55,8 gL<sup>-1</sup>.PH medium dijaga konstan selama eksperimen menunjukkan bahwa molases memberikan pengaruh penyeimbang.

Offeman dkk (2008) mengkaji garis besar performa pelarut yang ditunjukkan dari nilai KDE dan alfa yang dipengaruhi oleh cabang dan posisi dari hydroxyl serta solubilitas dari macam-macam pelarut, yakni 1-octanol, Isooctyl alcohol, 2,6-dimethyl-4-heptanol, 1-decanol, n-dodecanol, 2-butyl-1-octanol, Isofol 14T.

Widjaja dkk (2010) melakukan penelitian untuk mempelajari efek dari konsentrasi gula total menggunakan sel immobilisasi Ca-Alginat dan K-Karaginan dengan bakteri

*Zymomonas mobilis* termutasi dalam *packed bed bioreactor* dan *batch bioreactor* untuk produksi etanol. Menggunakan variabel konsentrasi gula total 14, 16 dan 18% (v/v) dengan konsentrasi sel immobilisasi Ca-Alginat dan K-Karaginan 2%. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa penggunaan Ca-alginat sebagai *supporting matrice* menghasilkan konsentrasi, *yield* dan produktivitas etanol yang lebih tinggi yaitu sebesar 60,83 g/L, 43,94% dan 24,33 g/L jam dibandingkan K-Karaginan sebesar 60,54 g/L, 41,85% dan 24,22 g/L jam. Pada fermentasi *batch* menghasilkan konsentrasi, *yield* dan produktivitas etanol maksimum sebesar 63,47 g/L, 43,79% dan 0,88 g/L jam.

Savitri dkk (2010), melakukan penelitian dengan menggunakan akan *Zymomonas mobilis* termutasi pada *supporting matrice* K-karaginan (2%) dengan bahan baku molases. Variabel yang digunakan adalah konsentrasi gula 178 g/L, 186 g/L, 205 g/L kemudian dilanjutkan proses ekstraksi dengan perbandingan *broth:solvent* yaitu 1:1, 1:1,5, dan 1:2. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan diperoleh bahwa hasil optimum proses fermentasi kontinyu dicapai pada konsentrasi gula 186 g/L, yaitu : konsentrasi etanol = 60,540 g/L (7,67 %), produktivitas etanol = 24,216 g/L.jam, *yield* etanol = 41,854 %. Hasil maksimal *%recovery* proses ekstraksi yaitu pada perbandingan *broth* dan *solvent* (1:2), yaitu pada konsentrasi gula 178 g/L = 79,157 %, konsentrasi gula 186 g/L = 76,616 %, konsentrasi gula 205 g/L = 83,801 %.

Widjaja dkk (2012), meneliti tentang pemilihan pelarut pada proses ekstraksi etanol dari *broth* sintesis dan *broth* fermentasi dengan menggunakan pelarut *n-amylalkohol*, *1-dodekanol*, dan *1-oktanol* pada *packed column* ekstraktor. Dari penelitian ini maka diperoleh hasil bahwa performa ekstraksi yang baik yaitu *%recovery* dan koefisien distribusi yang terbesar diperoleh dengan pelarut *n-amylalkohol*. *%recovery* tertinggi diperoleh pada pelarut *n-amylalcohol* sebesar 45,19% untuk *broth* fermentasi dan 90,03% untuk *broth* sintetik dengan *packing raschig rings*.

Widjaja dkk (2014), meneliti pengaruh perbandingan jumlah *broth* terhadap pelarut dalam fermentor dan % recycle ratio untuk meningkatkan *yield* dan produktifitas etanol dalam desain proses produksi etanol secara fermentasi ekstraktif : eksperimen dan pemodelan. Dari penelitian ini diketahui bahwa Pelarut *n-amyl alcohol* merupakan pelarut paling baik yang dapat digunakan pada proses fermentasi ekstraktif karena memiliki %*recovery* maksimum yaitu antara 32,01% - 38,90% untuk perbandingan *broth* terhadap pelarut 1:1 hingga 1:4, serta memberikan nilai *yield* dan produktivitas yang tertinggi pada fermentor dan sistem *overall* yaitu 32,58% dan 20,03%. Error antara eksperimen dan pemodelan pada proses fermentasi ekstraktif masih relatif cukup besar yaitu antara 10,46% - 19,75%.

## **BAB III METODOLOGI PENELITIAN**

Penelitian ini bertujuan untuk memanfaatkan nira tebu sebagai bahan baku pembuatan etanol dengan variasi pelarut dan pengaruh recycle ratio terhadap yield dan produktivitas pada proses fermentasi ekstraktif. Terdapat 3 jenis pelarut yang digunakan, yaitu n-amyl alcohol, 1-dodecanol dan 1-octanol.

Variabel tetap yang digunakan adalah konsentrasi gula masuk ke fermentor yaitu 176,3 g/L serta ukuran dan komposisi pada bead immobilisasi sel dengan diameter 4 mm dan berat total immobilisasi sel 250 gram. Untuk volume *packed bed* fermentor yaitu 558 mL dengan diameter 3,7 cm dan panjang 52 cm. Sedangkan untuk kolom ekstraksi berdiameter 3 cm yang diisi dengan *packing* dengan ketinggian 35 cm.

### **III.1 Variabel Penelitian**

#### **III.1.1 Fermentasi-Ekstraktif tanpa Recycle**

- Konsentrasi glukosa awal dalam nira tebu : 176,3 g/L
- Periode pengambilan sampel : tiap 6 jam sampai *steady state*
- Pelarut: amylalkohol, 1-oktanol, 1-dodecanol
- Laju alir pelarut: 8 mL/menit

#### **III.1.2 Fermentasi-Ekstraktif secara kontinyu terintegrasi dengan Recycle**

- Konsentrasi glukosa dalam nira tebu : 176,3 g/L
- Periode pengambilan sampel : tiap 6 jam sampai *steady state*
- Pelarut: amylalkohol, 1-oktanol, 1-dodekanol
- Laju alir pelarut: 8 mL/menit
- Rasio Recycle dari rafinat 30%, 50%, 60% dan 80%.

#### **III.1.3 Kondisi Penelitian**

- Temperatur operasi : 29 °C (suhu ruang)
- pH : 4 – 5

- Tekanan : 1 atm
- Konsentrasi immobilisasi dalam larutan (% w/v) : 2%
- *Supporting matrice* immobilisasi sel : Karaginan
- Laju alir *feed* : 10 mL/menit
- Tinggi *packing* ekstraktor, z : 35 cm
- Diameter kolom, D : 3 cm
- Laju alir *broth*, LC : 10 cm<sup>3</sup>/menit

## III.2 Bahan dan Peralatan

### III.2.1. Bahan

1. *Zymomonas mobilis* termutasi
2. Nutrient Agar
3. Nira tebu
4. κ-Karaginan (merk Fluka)
5. KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>
6. (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
7. MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O
8. KCl dan NaCl
9. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
10. NaK-tartrat
11. Na-metabisulfit
12. Glukosa
13. DNS
14. Aquadest
15. 1-Dodecanol
16. Amyl alcohol

### III.2.2. Peralatan

1. Bioreaktor packed bed
2. Pompa Peristaltik
3. Spektrophotometer
4. Gas Chromatographi
5. Inkubator shaker
6. Autoclave

7. Analytical Balance
8. Hot plate stirer
9. Erlenmeyer
10. Beaker Glass
11. Gelas Ukur
12. Kawat ose
13. Corong Pemisah
14. Labu ukur
15. Kolom Ekstraktor

### **III.3 Metode Penelitian**

#### **III.3.1 Tahapan Awal**

- A. Pretreatment nira tebu
  1. Melakukan sterilisasi menggunakan autoclave pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  dan tekanan 15 psia selama 15 menit, kemudian mendinginkannya hingga suhu ruangan.
  2. Menambahkan 5,19 g  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1,53 g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.55 gram sebagai media nutrisi.
- B. Pengembangan kultur
  1. Melarutkan 4 gram nutrient agar dengan aquadest hingga volumenya 100 ml.
  2. Mendidihkan sampai suhu  $70^{\circ}\text{C}$  hingga semua agar melarut.
  3. Menambahkan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  sampai pH 4-5.
  4. Memasukkan dalam tabung reaksi masing-masing 6 ml dan menutup mulut tabung dengan kapas.
  5. Mensterilkan dalam autoclave pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit, lalu mendinginkannya dengan posisi miring.
  6. Setelah agar mengeras, mengambil biakan murni dengan kawat ose steril dalam incase.
  7. Menggoreskan kawat ose pada permukaan media agar yang baru dan menutup kembali dengan kapas.



8. Menginkubasi dalam inkubator pada suhu 30°C selama 24 jam.

### III.3.2 Proses Fermentasi-Ekstraktif Secara Kontinyu Tanpa Recycle

#### A. Pembuatan Immobilisasi Sel

1. Mengambil biakan *Zymomonas mobilis* termutasi dengan kawat ose steril pada biakan agar miring yang telah diinokulasikan.
2. Menanamkan biakan tersebut sebanyak 3 ose ke dalam 100 mL nira tebu ditambah media nutrisi (1 g  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1 g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.5 gram, yeast ekstrak 10 gram).
3. Membiakkan dalam inkubator shaker pada suhu 30°C selama 15 jam.
4. Melakukan pengamatan terhadap jumlah bakteri yang terdapat dalam larutan tersebut.
5. Melarutkan 10 gram  $\kappa$ -Karaginan dalam 450 mL aquadest, kemudian memanaskannya pada suhu 70°C sampai mulai terbentuk gel (pemanasan selama 15 menit).
6. Mendinginkan larutan  $\kappa$ -Karaginan hingga suhu 50°C.
7. Mencampur 50 ml media nutrisi dengan 450 ml larutan  $\kappa$ -karaginan sehingga konsentrasi larutan campuran menjadi 2%.
8. 500 mL larutan campuran tersebut dicetak dalam 1000 mL larutan KCl 3,5%, hingga terbentuk *bead* yang diinginkan.
9. *Bead* tersebut mengeras dalam waktu 15 menit.
10. Mencuci *bead* dengan larutan NaCl 0,85%
11. Untuk meningkatkan pertumbuhan sel, *bead* dimasukkan dalam production medium kemudian diinkubasi di dalam shaker inkubator selama 24 jam.

12. *Bead* disimpan pada temperatur 4°C sampai sel digunakan.
- B. Proses Fermentasi
1. *Bead* immobilisasi sel dimasukkan dalam fermentor.
  2. Nira tebu steril dialirkan dengan pompa peristaltik ke dalam fermentor (bioreaktor packed bed).
  3. Mengambil hasil fermentasi (*broth*) sebagai sampel setiap 6 jam selama 120 jam.
  4. Menganalisa hasil fermentasi (*broth*).
- C. Proses Ekstraksi
1. Mengalirkan larutan *amyl alkohol* dan *broth* hasil fermentasi ke dalam *packed column* secara *counter-current* sesuai dengan laju alir yang telah ditentukan.
  2. Menampung hasil ekstrak yang keluar dari *packed column*.
  3. Menganalisa kadar etanol hasil ekstrak dengan metode GC.
  4. Mengulangi langkah 1-4 dengan menggunakan solvent *n-dodecanol*.

### **III.3.3 Fermentasi-Ekstraktif secara kontinyu terintegrasi dengan Recycle**

- A. Pembuatan Immobilisasi Sel
1. Mengambil biakan *Zymomonas mobilis* termutasi dengan kawat ose steril pada biakan agar miring yang telah diinokulasikan.
  2. Menanamkan biakan tersebut sebanyak 3 ose ke dalam 100 mL nira tebu ditambah media nutrisi (1 g  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1 g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.5 gram, yeast ekstrak 10 gram).
  3. Membiakkan dalam inkubator shaker pada suhu 30°C selama 15 jam.
  4. Melakukan pengamatan terhadap jumlah bakteri yang terdapat dalam larutan tersebut.

5. Melarutkan 50 gram  $\kappa$ -Karaginan dalam 450 mL aquadest, kemudian memanaskannya pada suhu 70°C sampai mulai terbentuk gel (pemanasan selama 15 menit).
  6. Mendinginkan larutan  $\kappa$ -Karaginan hingga suhu 50°C.
  7. Mencampur 50 ml media nutrisi dengan 450 ml larutan  $\kappa$ -karaginan sehingga konsentrasi larutan campuran menjadi 2%.
  8. 50 mL larutan campuran tersebut dicetak dalam 1000 mL larutan KCl 3,5%, hingga terbentuk *bead* yang diinginkan.
  9. *Bead* tersebut mengeras dalam waktu 15 menit.
  10. Mencuci *bead* dengan larutan NaCl 0,85%
  11. Untuk meningkatkan pertumbuhan sel, *bead* dimasukkan dalam production medium kemudian diinkubasi di dalam shaker inkubator selama 24 jam.
  12. *Bead* disimpan pada temperatur 4°C sampai sel digunakan.
  13. Mengulangi prosedur 1-11 untuk variabel selanjutnya.
- B. Proses Fermentasi dan Ekstraksi
1. *Bead* immobilisasi sel dimasukkan dalam fermentor
  2. Nira tebu steril dialirkan dengan pompa peristaltik ke dalam fermentor (bioreaktor packed bed), dan aliran keluar dari fermentor dialirkan ke ekstraktor.
  3. Mengalirkan *amyl-alcohol* yang digunakan sebagai solven dan broth hasil fermentasi ke dalam *packed column* secara *counter-current*.
  4. Mengambil hasil fermentasi (*broth*) sebagai sampel setiap 6 jam selama 120 jam.
  5. Menganalisa hasil fermentasi (*broth*).
  6. Menampung hasil ekstrak yang keluar dari *packed column* ekstraktor dan mengalirkan sebagian dari

- rafinat dengan *ratio recycle* 30% dari *broth* yang masuk fermentor
7. Menganalisa kadar etanol hasil ekstrak dengan metode GC.
  8. Mengulangi langkah 1-4 dengan recycle ratio 50%, 60% dan 80%.

### III.3.4 Analisa Hasil Fermentasi - Ekstraktif

#### III.3.4.1 Analisa Jumlah Sel

Menurut Caprette (2007) metode menghitung jumlah sel menggunakan suatu alat yang disebut dengan counting chamber (ruang hitung). Alat ini dapat digunakan untuk menghitung jumlah sel per unit volume. Tipe counting chamber yang paling banyak digunakan adalah haemocytometer.



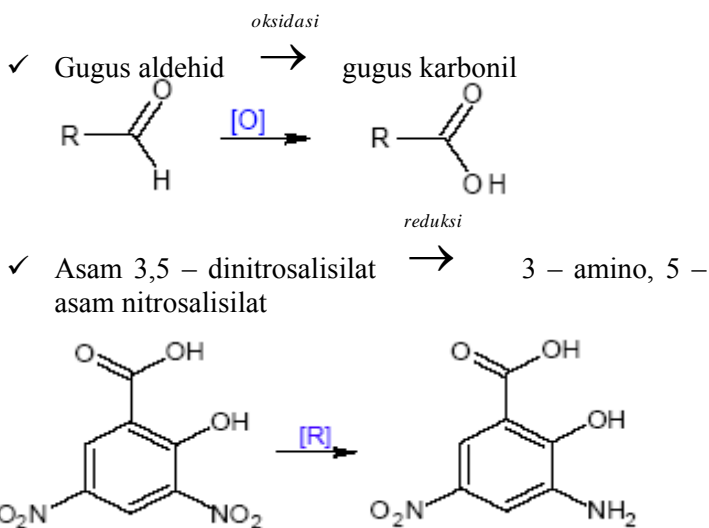
**Gambar III.1** Haemacytometer Neubauer

Berikut ini langkah-langkah yang dilakukan untuk analisa jumlah sel bakteri :

1. Mengencerkan 10 ml sampel sebesar 5 – 10 kali atau lebih dengan menggunakan aquades.
2. Meneteskan ke permukaan counting chamber hingga dapat menutupi seluruh permukaannya.
3. Kemudian haemacytometer diletakkan di bawah lensa mikroskop untuk dihitung jumlah selnya.
4. Melakukan pengamatan di mikroskop dengan perbesaran 400 X.

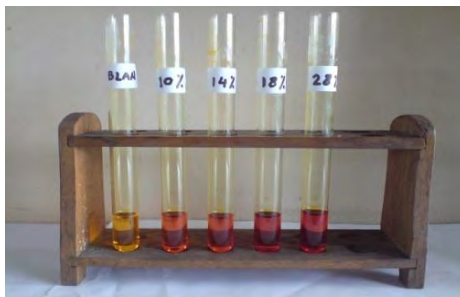
### III.3.4.2 Analisa Kadar Residu Glukosa

Analisa residu glukosa sebagai gula reduksi dilakukan dengan metode DNS. Dalam analisa ini terlebih dahulu dibuat kurva standar glukosa. Metode DNS adalah metode penentuan kadar gula reduksi dengan menggunakan pereaksi asam 3,5 – dinitrosalisilat. Menurut Miller (1959) metode ini digunakan untuk menguji keberadaan gugus karbonil bebas atau yang biasa disebut dengan gula reduksi. Gugus karbonil didapatkan dari reaksi oksidasi gugus aldehyd dalam glukosa atau gugus keton dalam fruktosa. Selain reaksi oksidasi, dalam kondisi basa juga terjadi reaksi reduksi, yaitu asam 3,5 – dinitrosalisilat (DNS) menjadi 3 – amino, 5 – asam nitrosalisilat. Reaksi yang terjadi adalah sebagai berikut :



Reaksi di atas menunjukkan bahwa 1 mol gula (gugus aldehyd) akan bereaksi dengan 1 mol asam 3,5 – dinitrosalisilat. Reaksi oksidasi glukosa dapat dipengaruhi oleh oksigen terlarut, karena itu ditambahkan sulfit ke dalam larutan pereaksi DNS

untuk menyerap oksigen terlarut tersebut. Selain itu juga ditambahkan NaOH untuk menciptakan kondisi basa.



**Gambar III.2** Analisa Kadar Residu Glukosa dengan Metode DNS

Langkah-langkah yang dilakukan untuk analisa kadar residu glukosa :

**A. Prosedur Pembuatan Larutan Standar Glukosa**

1. Membuat larutan persediaan dengan cara mencampurkan 0,367 g glukosa dalam 100 mL aquadest.
2. Membuat larutan standar glukosa dengan mengencerkan larutan persediaan (1) dengan pengenceran 1 : 1 (tanpa pengenceran), 1 : 2, 1 : 3, 1 : 4 dan 1 : 5.

**B. Prosedur Pembuatan Larutan DNS**

1. Melarutkan 16 g NaOH dalam 200 mL aquades, kemudian ditambahkan 10 g larutan DNS dan diaduk menggunakan stirrer sampai benar-benar larut.
2. Melarutkan 30 g NaK-tartrat dan 8 g Na-metabisulfit kedalam 500 ml aquadest.
3. Mencampurkan larutan (1) dengan (2) dan ditambahkan aquades sampai 1000 mL.

**C. Prosedur Pembuatan Kurva Standar Glukosa**

1. Mencampurkan 2 mL larutan persediaan yang mengandung glukosa dengan 3 mL larutan DNS.
2. Memanaskan campuran dalam air mendidih selama 15 menit.

3. Mendinginkan campuran (2) menggunakan es atau air mengalir.
4. Mengulangi langkah (1) – (3) untuk konsentrasi larutan glukosa berbeda.
5. Mengukur dan mencatat absorbansi pada spektrophotometer dengan panjang gelombang 540 nm.
6. Membuat grafik dengan memplot antara kadar glukosa sebagai gula reduksi dengan absorbansi.

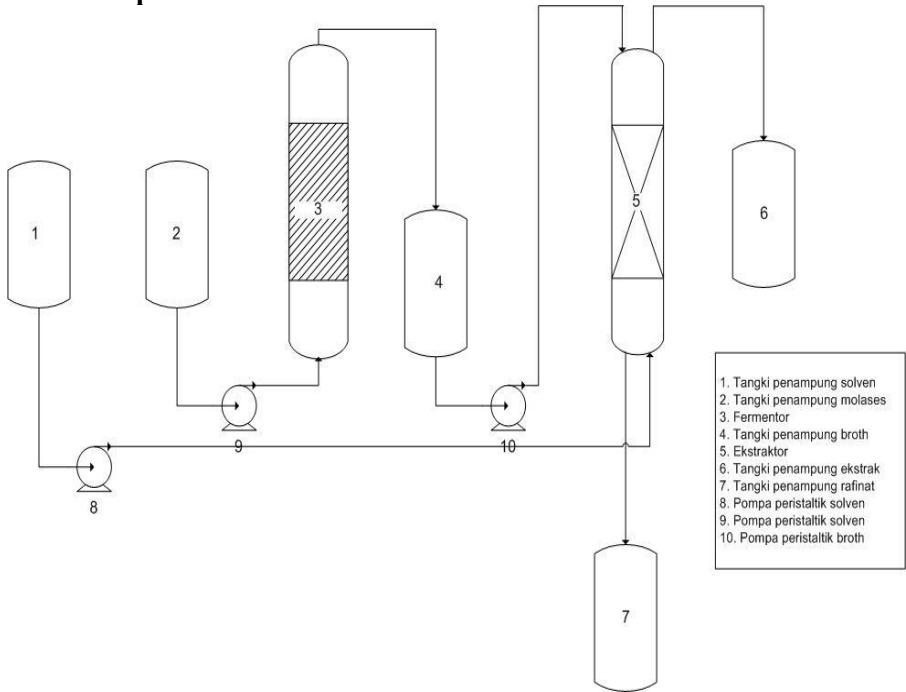
**D. Prosedur Pembuatan Larutan Blanko**

1. Mencampurkan 2 mL aquades dengan 3 mL larutan DNS.
2. Memanaskan campuran dalam air mendidih selama 15 menit.
3. Mendinginkan campuran (2) menggunakan es atau air mengalir.

**E. Prosedur Analisa Sampel**

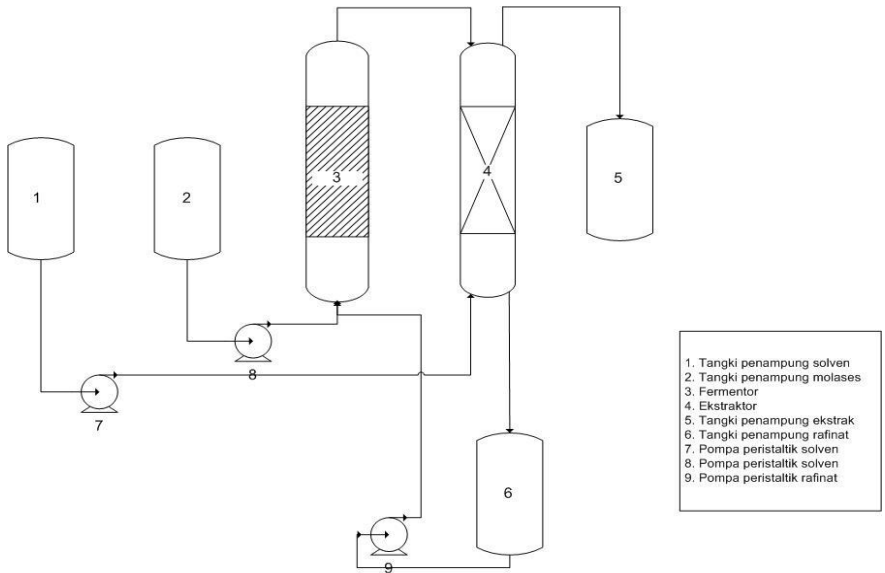
1. Mencampurkan larutan sampel yang telah diencerkan 50 kali menggunakan aquades dengan 3 mL larutan DNS.
2. Memanaskan campuran dalam air mendidih selama 15 menit.
3. Mendinginkan campuran (2) menggunakan es atau air mengalir.
4. Mengulangi langkah (1) – (3) untuk sampel yang berbeda.
5. Mengukur dan mencatat absorbansi pada spektrophotometer dengan panjang gelombang 540 nm.
6. Mensubstitusi absorbansi yang diperoleh dengan persamaan dari kurva standar glukosa.

### III.4 Set-up Peralatan Penelitian



**Gambar 3.3** Set-up Peralatan Fermentasi-Ekstraktif Kontinyu Terintegrasi Dalam Reactor Packed-bed Tanpa Recycle



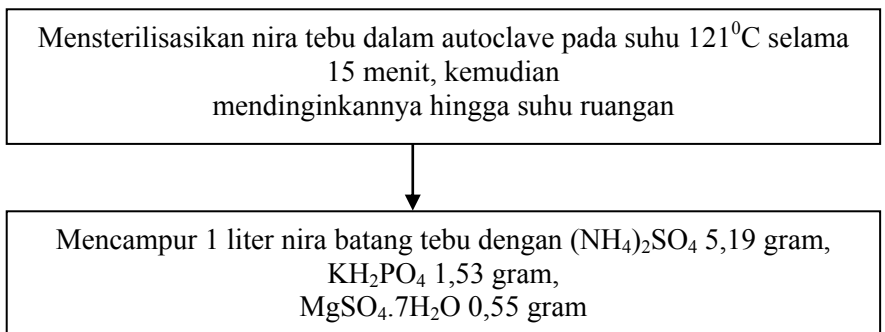


**Gambar 3.4** Set-up Peralatan Fermentasi-Ekstraktif Kontinyu Terintegrasi Dalam Reactor Packed-bed Dengan Recycle

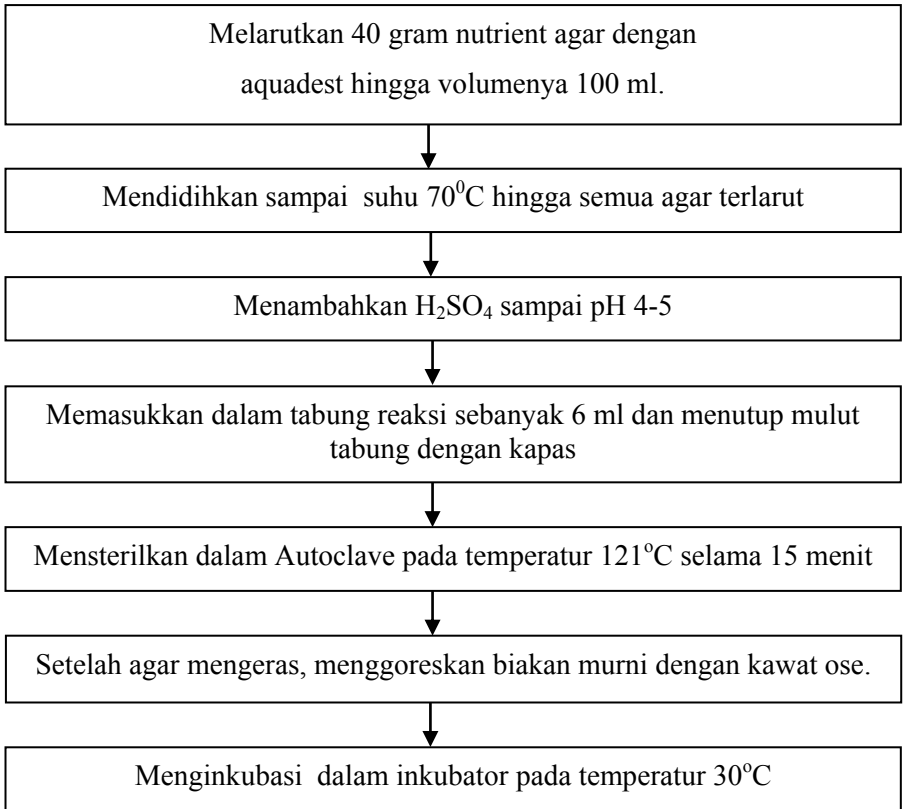
### III.5. Diagram Alir Penelitian

#### III.5.1. Tahapan Awal

##### A. Pretreatment nira tebu



## B. Pengembangan Kultur



### III.5.2 Proses Fermentasi dan Ekstraksi

- Fermentasi-Ekstraktif secara kontinyu terintegrasi tanpa Recycle

#### A. Pembuatan Immobilisasi Sel K-karaginan

Menanamkan biakan *Zymomonas mobilis* termutasi A3 sebanyak 3 ose dengan kawat ose steril dalam 100 ml nira batang tebu yang sudah ditambahkan nutrisi (1 g  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1 g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.5 gram, yeast ekstrak 10 gram)

Menginkubasi dalam inkubator shaker selama 15 jam

Melakukan pengamatan terhadap jumlah bakteri yang terdapat dalam larutan

Melarutkan 0,5 gram K-karaginan dalam 45 ml aquadest kemudian memanaskannya pada suhu  $70^\circ\text{C}$  selama 15 menit

Mendinginkan larutan K-karaginan hingga suhu  $50^\circ\text{C}$

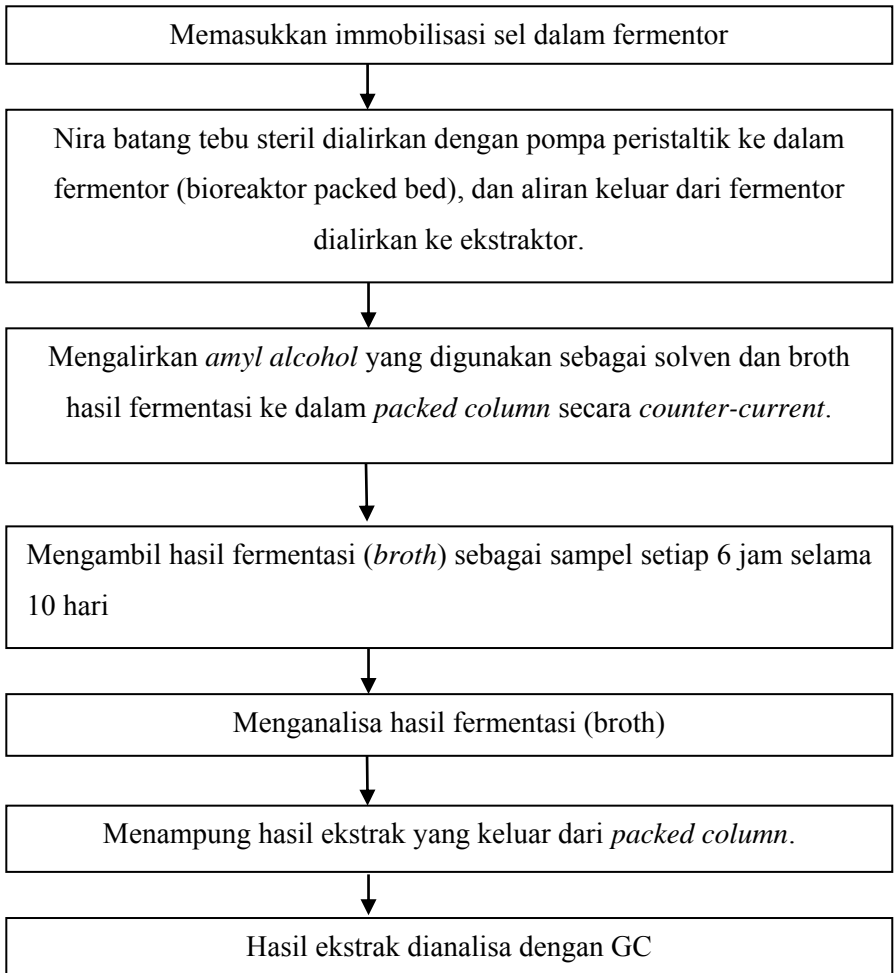
Mencampur 5 ml starter dengan 45 ml larutan K-karaginan sehingga konsentrasi menjadi 2%

Mencetak bead dengan menginjektikan 50 ml larutan campuran dalam 100 ml larutan KCl 3,5%

Mencuci bead yang terbentuk dengan larutan NaCl 0,85%

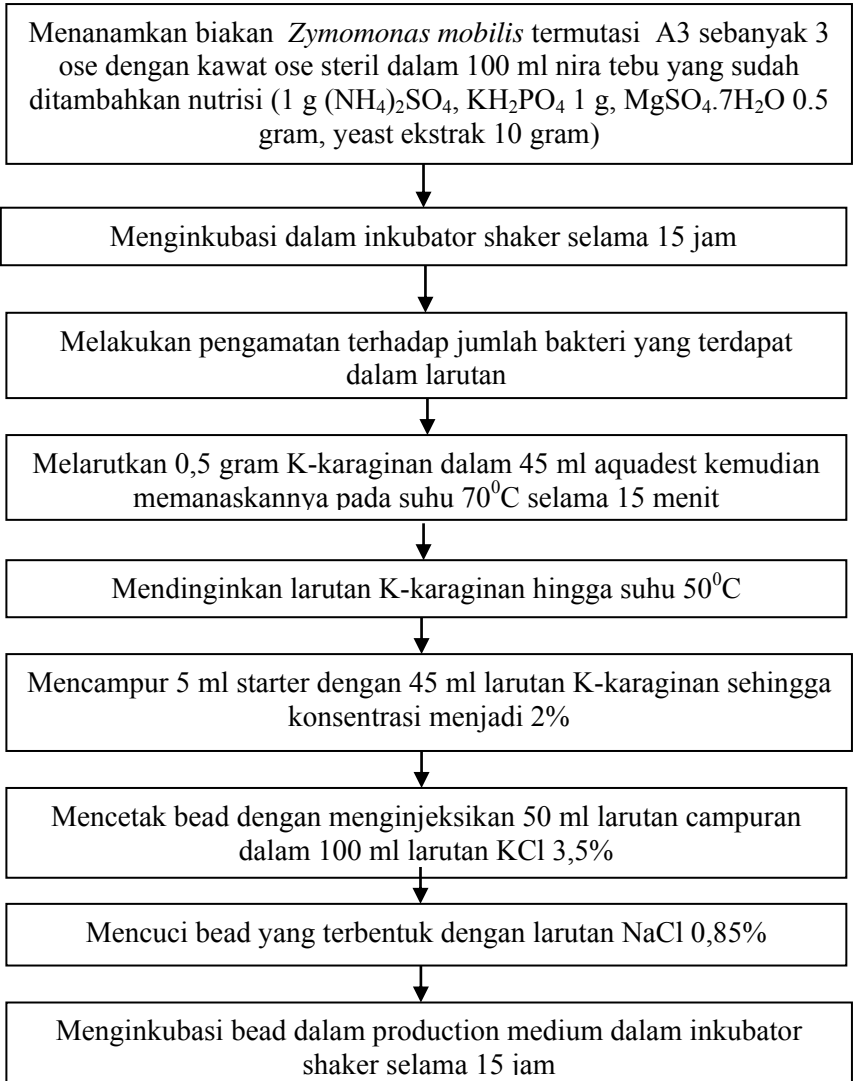
Menginkubasi bead dalam production medium dalam inkubator shaker selama 15 jam

## B. Proses Fermentasi – Ekstraktif terintegrasi tanpa *recycle*

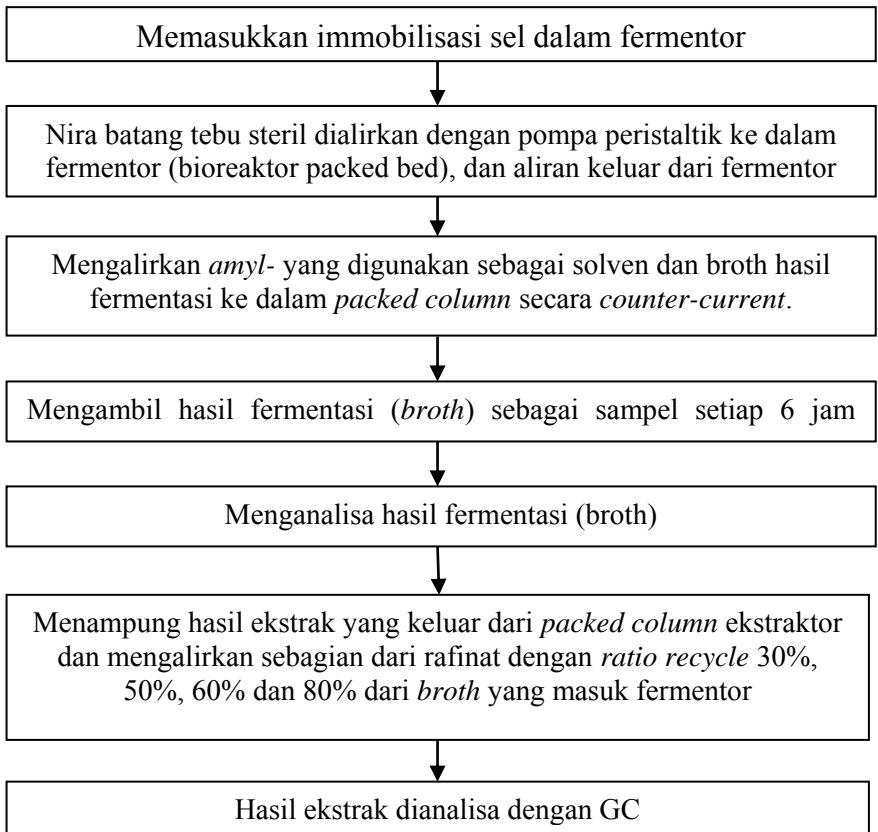


- **Fermentasi-Ekstraktif secara kontinyu terintegrasi dengan Recycle**

- A. Pembuatan Immobilisasi Sel K-karaginan

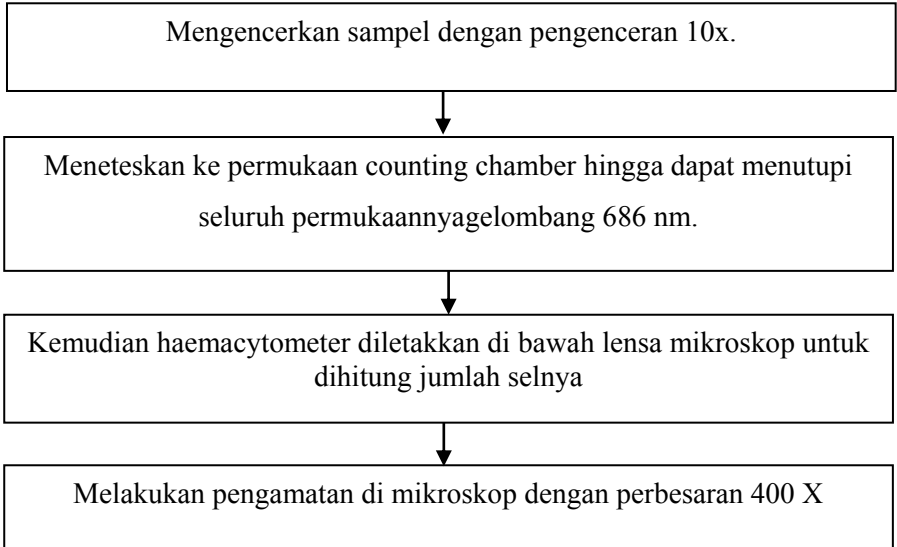


## B. Proses Fermentasi – Ekstraktif Terintegrasi dengan *Recycle*

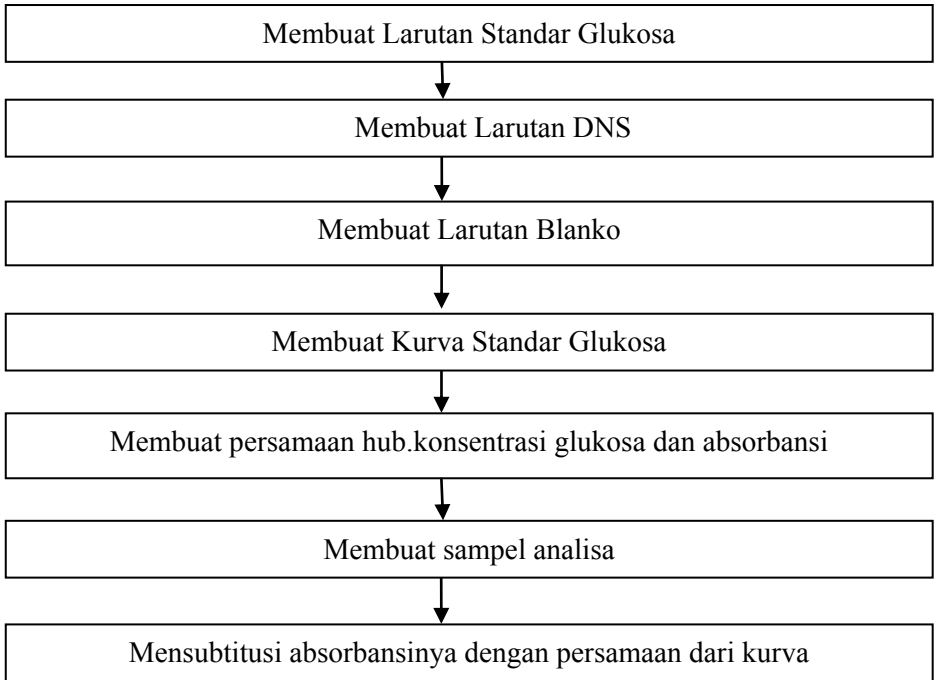


### III.5.3. Analisa Hasil Fermentasi Kontinyu

#### 1. Perhitungan jumlah sel



## 2. Analisa Kadar Residu Glukosa





### III.6 Rencana Jadwal Kegiatan Penelitian

Tabel III.1 Rencana Jadwal Kegiatan Penelitian

No	Kegiatan	Bulan ke- ( Tahun 2015)											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	Studi Literatur	■	■	■	■	■	■	■					
2	Pelaksanaan Penelitian		■	■	■	■	■	■	■	■	■		
3	Progress Report			■	■	■	■	■	■	■	■	■	
4	Penyusunan Laporan					■	■	■	■	■	■	■	■

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Pembuatan bioetanol pada umumnya menggunakan proses fermentasi *batch*. Pada proses fermentasi *batch*, kadar dan produktivitas etanol yang dihasilkan rendah, hal ini disebabkan oleh inhibisi dari etanol yang terbentuk pada fermentor akan meracuni mikroorganisme yang terdapat pada proses fermentasi. Inhibisi etanol akan menurunkan dan menghentikan pertumbuhan dari mikroorganisme. Selain itu terdapat beberapa kerugian menggunakan fermentasi *batch*, yaitu dibutuhkan kapasitas fermenter yang cukup besar dan terdapat *step* yang tidak efisien seperti pengisian dan pengosongan (*Neto et al.*, 1990). Dalam meningkatkan produktivitas etanol, dilakukan proses fermentasi dan pemisahan secara terintegrasi, dimana proses pemisahan yang dipilih adalah ekstraksi. Dengan adanya integrasi proses ini, dapat meningkatkan produktivitas etanol. (*Barros et al.*, 1986).

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui performa terbaik dari *recycle ratio* dan jenis pelarut yang digunakan dalam produksi etanol dengan proses fermentasi ekstraktif dari nira tebu. Selain itu, penelitian ini juga bertujuan mengetahui karakteristik kinerja sistem fermentasi kontinyu dalam bioreaktor *packed bed* dengan berbagai jenis pelarut. Bahan baku yang digunakan adalah nira tebu dengan konsentrasi gula reduksi total sebesar 176,3 g/L. Kemudian dilakukan pembuatan immobilisasi sel  $\kappa$ -karaginan diawali dengan pembuatan *carrier*  $\kappa$ -karaginan yang dicetak dalam bentuk *bead* (bulatan-bulatan kecil) dengan ukuran diameter 4 mm dengan konsentrasi 2%. Proses fermentasi kontinyu dalam *packed bio reactor* dilakukan dengan mengalirkan feed steril ke dalam fermentor sampai *steady state* dengan laju alir feed 8 ml/menit.

Sebelum penelitian dilakukan, terlebih dahulu dilakukan pengukuran kadar gula reduksi dalam nira tebu. Terdapat dua

metode pengukuran kadar gula reduksi di dalam nira tebu. Pertama dengan menggunakan analisa *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) dan yang kedua dengan menggunakan metode DNS (asam 3,5-dinitrosalisilat). Hasil analisa HPLC didapatkan:

**Tabel IV.1 Hasil Analisa HPLC**

Sampel	Analit	Kadar Rata – Rata (%b/v)
Nira Tebu	Fruktosa	-
	Glukosa	4,53
	Sukrosa	13,1

Sumber : Hasil Analisa *High Performance Liquid Chromatography*

Sedangkan untuk analisa DNS didapatkan kadar glukosa sebesar 176,3 g/L. Terdapat perbedaan untuk kadar gula reduksi antara hasil analisa HPLC dan DNS. Hasil DNS mendeteksi gula reduksi total atau semua jenis gula reduksi. Sedangkan HPLC hanya mendeteksi gula reduksi berdasarkan parameter fruktosa, glukosa, dan sukrosa.

Langkah awal dalam melakukan penelitian ini, yaitu nira tebu terlebih dahulu disterilisasi di dalam *autoclave* pada suhu 121<sup>o</sup>C kemudian ditambahkan nutrien ke dalam nira, yaitu (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5.19 g/L, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1,53 g/L dan MgSO<sub>4</sub> 0,55 g/L. *Feed* yang sudah ditambahkan nutrien kemudian diumpankan melalui bagian bawah fermentor secara kontinyu. Kemudian larutan *effluent overflow* dari titik keluaran di bagian atas bioreaktor *Packed bed*. Untuk mencegah agar *bead* tidak terikut keluar, *bead* ditahan dengan kawat jaring penahan dengan diameter yang kecil di bagian atas fermentor dan bagian bawah fermentor juga diberi

kawat jaring penyangga agar penyaring tidak bergeser. *Broth* dari fermentor diambil setiap 6 jam sampai gula reduksi *steady state*. Setelah itu, *broth* dialirkan ke dalam kolom ekstraksi dan dibiarkan untuk memenuhi  $\frac{3}{4}$  dari kolom. Selanjutnya *broth* dalam kolom ekstraksi dikontakkan dengan solven yang dialirkan secara *counter current*. Solven yang digunakan dalam penelitian ini adalah *n-amyl alcohol*, *1-octanol*, *1-dodecanol* dengan *rate* 20 mL/menit.

**Tabel IV.2 Dimensi Reaktor dan Kondisi Operasi yang Dipakai dalam Penelitian**

Keterangan	Kondisi Operasi
Proses	Fermentasi kontinyu
Konsentrasi Glukosa	176,3 g/L
<i>Carrier</i> immobilisasi	K-karaginan
Berat <i>bead</i>	250 gram
Konsentrasi κ-karaginan	2%
Laju alir <i>feed</i>	10 mL/menit
Laju alir pelarut	8 mL/menit
Periodepengambilan <i>sample</i>	6 jam sampai <i>steady state</i>
Fermentor	
Tipe	<i>Packed bed</i>
Volume <i>liquid</i> dalam reaktor	245 mL
Volume <i>bead</i> dalam reaktor	314 mL
Tinggi Reaktor	52 cm
Diameter Reaktor	3,7 cm
Kolom Ekstraksi	
Tinggi	45 cm
Diameter	3,2 cm
Diameter <i>Packing</i>	2,5 cm
Tinggi <i>Packing</i> dalam kolom	35 cm

*Broth* hasil fermentasi diambil setiap 6 jam sekali sampai *steady state*, kemudian dilakukan analisa kadar glukosa sisa

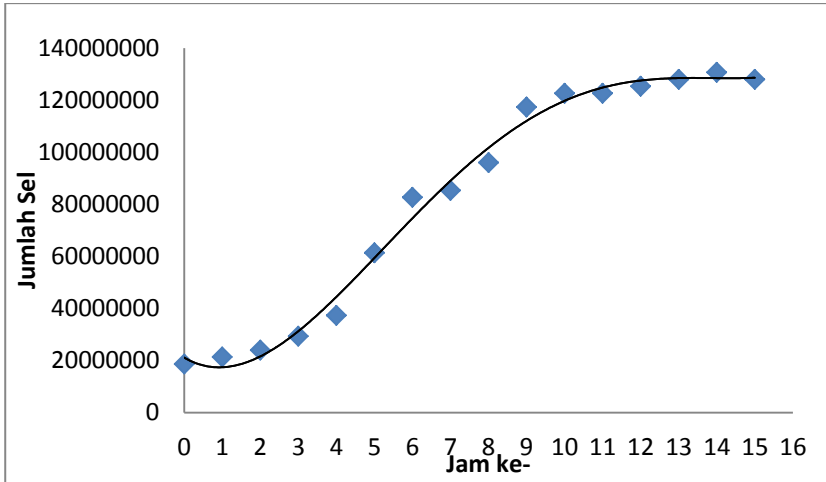
menggunakan metode DNS (Asam 3,5-dinitrosalisilat). Sedangkan untuk hasil ekstraksi dianalisa dengan menggunakan metode GC (*Gas Chromatography*) untuk mengetahui kadar etanolnya.

#### **IV.1 Kinerja Mikroorganism**

Pada proses fermentasi dilakukan analisa pertumbuhan mikroorganism dengan menggunakan metode *Counting Chamber* untuk mengetahui proses fermentasi berjalan dengan baik.

Penelitian ini menggunakan *Zymomonas mobilis* termutasi A3. *Zymomonas mobilis* termutasi A3 dimutasi dengan menggunakan larutan *hydroxylamine* sehingga dihasilkan *strain* yang memiliki morfologi lebih besar dengan gerakan yang lebih sedikit dibandingkan dengan *Z. Mobilis* biasa. Mikroorganism tersebut mempunyai morfologi yang lebih besar dengan gerakan yang lebih pelan dan lebih tahan terhadap kondisi asam. pH optimum untuk *Zymomonas mobilis* A3 adalah 4-5. Sehingga hal ini menjadi keuntungan tersendiri jika dibandingkan dengan *Zymomonas mobilis* biasa dalam proses produksi bioetanol (Putra, 2008).

Berikut adalah grafik logaritmik pertumbuhan *Zymomonas mobilis* termutasi A3.



**Gambar IV.1** Grafik Pertumbuhan *Zymomonas mobilis* Termutasi A3

Gambar IV.1 merupakan grafik pertumbuhan *Zymomonas Mobilis* termutasi A3, diketahui bahwa *Zymomonas Mobilis* Termutasi A3 mengalami kenaikan jumlah sel dari jam ke- 0 sebesar 186666666.67 sel/mL menuju jam ke- 10 sebesar 1226666666.7 sel/mL, pada fase ini mikroorganismenya mengalami kondisi balance growth atau disebut log phase. *Zymomonas Mobilis* Termutasi A3 tumbuh konstan hingga jam ke- 15 menjadi 128000000 sel/mL. Pembuatan kurva grafik pertumbuhan *Zymomonas Mobilis* termutasi A3 dilakukan untuk mengetahui kapan mikroorganismenya tersebut mengalami fase log dimana pada fase tersebut *Zymomonas Mobilis* termutasi A3 mengalami pertumbuhan yang paling tinggi yaitu pada saat jam ke -10, sehingga pada saat jam ke-10 *Zymomonas Mobilis* termutasi A3 yang terdapat pada starter dapat dijemah dengan teknik immobilisasi sel.

Immobilisasi sel dilakukan dengan menggunakan kappa karaginan sebagai *supporting martice*. K-karaginan dilarutkan dengan aquadest dan dipanaskan hingga suhu 70°C, kemudian

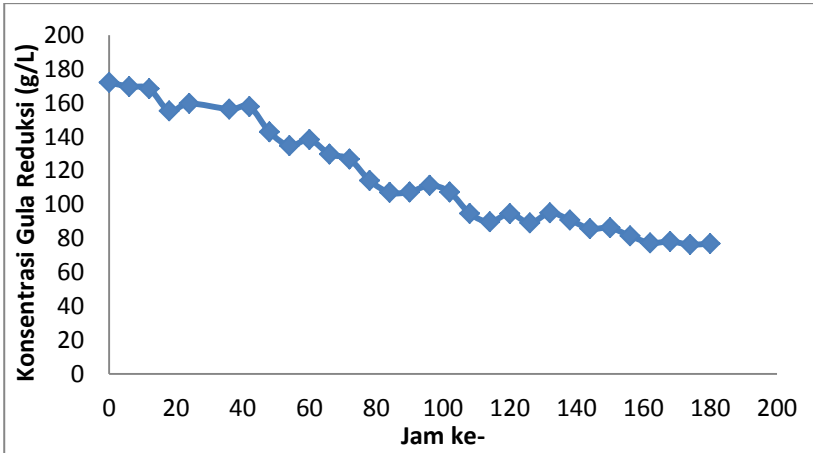
didinginkan hingga suhu 50°C dan starter dimasukkan kedalam larutan K-karaginan, *Zymomonas Mobilis* termutasi A3 dapat bertahan hidup hingga suhu diatas 50°C sehingga pada saat dilakukan immobilisasi sel, *Zymomonas Mobilis* termutasi A3 akan bertahan hidup (Soleimani et al.,2011)

Immobilisasi sel dengan menggunakan gel memiliki keterbatasan, yaitu gel dapat mengalami kehilangan dari sebagian berat gel dikarenakan adanya abrasi, tekanan, dan akumulasi gas (Pilkington et al.,1997) oleh karena itu terdapat mikroorganisme yang ikut keluar dalam immobilisasi sel, akan tetapi hal ini tidak terlalu berpengaruh. Immobilisasi sel yang terdapat pada fermentor masih aktif hingga hari ke-10, hal ini dibuktikan dengan analisa DNS yang menunjukkan penurunan gula reduksi.

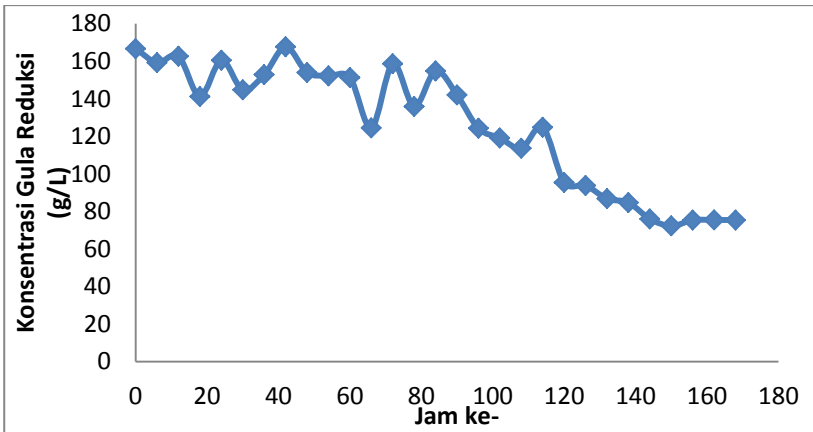
#### **IV.2 Pengaruh Mikroorganisme terhadap Performa Fermentasi**

Pengaruh mikroorganisme terhadap performa proses fermentasi kontinyu, dapat dilihat dari perilaku atau performa mikroorganisme dalam mengkonversi gula menjadi etanol. Diperlukan adanya analisa gula sisa atau gula residu dengan menggunakan metode DNS dimana metode ini adalah metode yang menggunakan reagen asam 3-5 dinitrosalisilat untuk mengetahui kandungan gula-gula pereduksi. DNS hanya mendeteksi glukosa dan fruktosa saja, tanpa menganalisa sukrosa. Hal ini dikarenakan sukrosa merupakan gula disakarida yang harus diubah menjadi gula monosakarida agar bisa dikonversi menjadi etanol.

Berikut ini adalah gambar grafik konsentrasi gula reduksi atau gula sisa yang difermentasi oleh mikroorganisme.

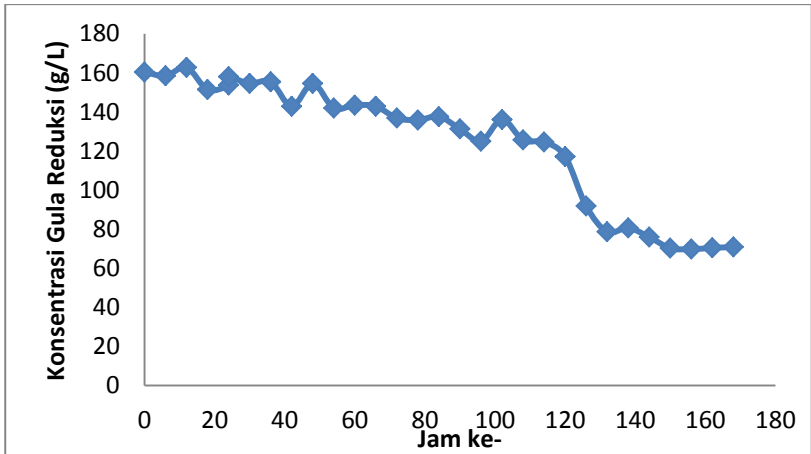


**Gambar IV.2** Grafik Gula Reduksi Sisa sebagai Fungsi Waktu pada Fermentasi dengan Mikroorganisme *Zymomonas Mobilis* Termutasi A3 untuk Ekstraksi dengan Pelarut *n-Amyl Alcohol*



**Gambar IV.3** Grafik Gula Reduksi Sisa sebagai Fungsi Waktu pada Fermentasi dengan Mikroorganisme *Zymomonas Mobilis* Termutasi A3 untuk Ekstraksi dengan Pelarut *1-Octanol*





**Gambar IV.4** Grafik Gula Reduksi Sisa sebagai Fungsi Waktu pada Fermentasi dengan Mikroorganisme *Zymomonas Mobilis* Termutasi A3 untuk Ekstraksi dengan Pelarut 1-*Dodecanol*

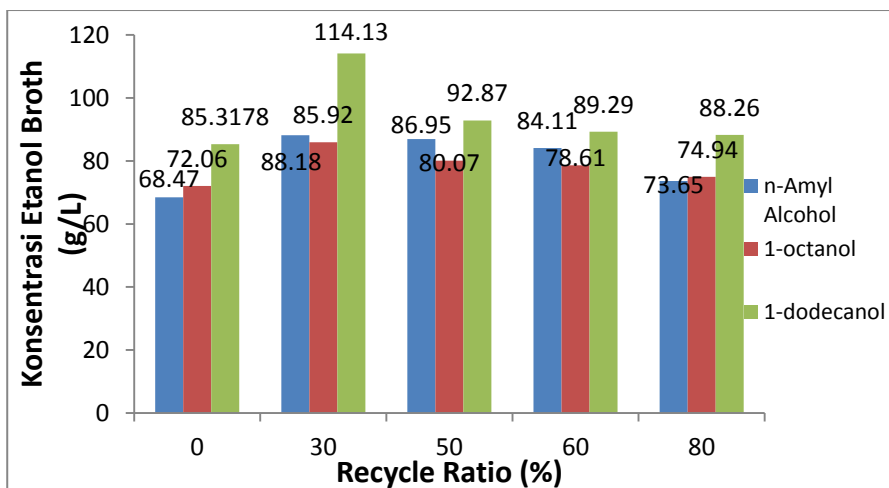
Gambar IV.2, IV.3 dan IV.4 menunjukkan perbandingan antara pengaruh perubahan konsentrasi gula reduksi sisa terhadap waktu. Dari gambar menunjukkan bahwa proses fermentasi menggunakan mikroorganisme *Zymomonas Mobilis* Termutasi A3 proses kontinyu menunjukkan kecenderungan konsentrasi gula reduksi sisa yang cukup stabil. Kondisi stabil mulai dicapai pada jam ke-150, 144 dan 138. Artinya mikroorganisme tersebut telah beradaptasi dengan substrat sehingga etanol yang dihasilkan dari proses fermentasi relatif stabil pula. (*Goksugur et.al, 2000*).

Fermentasi dimulai ketika feed (nira tebu) dialirkan kedalam fermentor, dan penentuan jam ke-0 fermentasi adalah ketika feed keluar fermentor. Setelah mencapai kestabilan atau penurunan gula reduksi sisa untuk masing-masing proses fermentasi, hasil fermentasi atau broth akan dialirkan kedalam ekstraktor untuk selanjutnya akan dilakukan proses ekstraksi untuk meningkatkan kadar etanolnya dan menghilangkan impuritis.

### IV.3 Pengaruh *Recycle ratio* dan Jenis Pelarut terhadap Konsentrasi Etanol, *Yield*, Produktivitas Etanol dan % *Recovery* yang Dihasilkan

#### IV.3.1 Pengaruh *Recycle ratio* dan Jenis Pelarut terhadap Konsentrasi Etanol

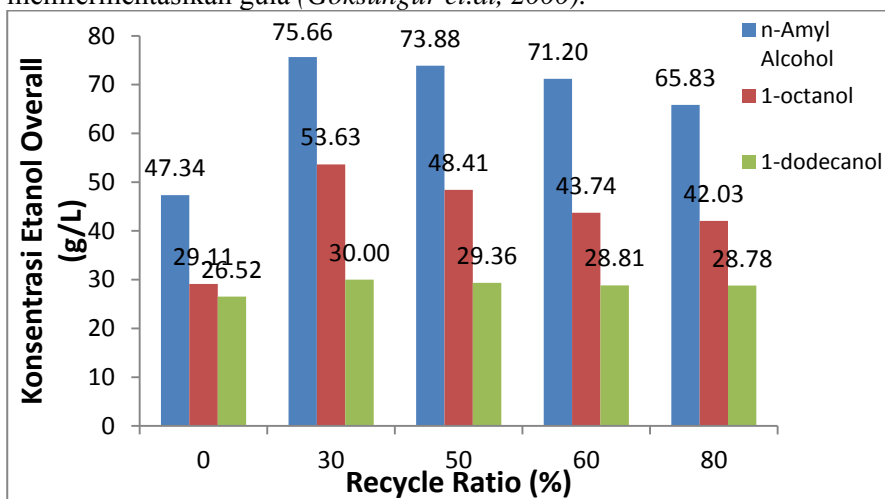
Pada penelitian ini dilakukan proses fermentasi ekstraktif terpadu dimana untuk proses fermentasi dilakukan sampai *steady state* (10 hari). Setelah proses fermentasi selesai *effluent* dialirkan ke dalam kolom ekstraksi. Pengambilan sampel ekstraksi dilakukan di tiga titik, yaitu *effluent* fermentor, rafinat, dan ekstrak untuk selanjutnya dianalisa.



**Gambar IV.5** Grafik Perbandingan Kadar Etanol Pada *Broth* Masing-Masing *Recycle ratio* pada Pelarut n-Amyl Alcohol, 1-Octanol dan 1-Dodecanol

Berdasarkan gambar IV.5, untuk kadar etanol pada *effluent* fermentor (*broth*) yang dihasilkan oleh *Zymomonas mobilis* termutasi A3. Pada setiap *recycle ratio* mengalami kenaikan konsentrasi dibandingkan dengan tanpa *recycle* hal ini dikarenakan gula yang tidak terfermentasi dan masih tersisa

didalam rafinat dikembalikan lagi kedalam fermentor, sehingga ada penambahan gula yang akan terkonversikan sebagai etanol. Namun untuk setiap pelarut *amyl alcohol*, *1-octanol* dan *1-dodecanol* kenaikan konsentrasi paling tinggi terjadi pada *recycle ratio* 30% sedangkan untuk *recycle ratio* 50%,60%,dan 80% konsentrasinya cenderung menurun jika dibandingkan dengan *recycle ratio* 30%. Hal ini disebabkan adanya pelarut yang terdapat didalam rafinat sehingga akan menjadi pengganggu (racun) yang menghambat kinerja mikroba untuk memfermentasikan gula (Goksungur et.al, 2000).



**Gambar IV.6** Grafik Perbandingan Kadar Etanol Overall Masing-Masing *Recycle ratio* pada Pelarut *n-Amyl Alcohol*, *1-Octanol* dan *1-Dodecanol*

Proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut *n-Amyl alcohol*, *1-Octanol* dan *1-Dodecanol* hasil kadar etanol pada proses overall fermentasi-ekstraksi sebesar 47,34 gram/L, 29,11 gram/L, dan 26,52 gram/L saat tidak dilakukan recycle untuk masing masing pelarut dan mengalami peningkatan sebesar 75,67 gram/L, 53,63 gram/L dan 30,00 gram/L pada *recycle ratio* 30%, akan tetapi mengalami penurunan untuk *recycle ratio* 50%,

60%, dan 80% untuk masing-masing pelarut. Jika dibandingkan dengan broth awal, konsentrasi untuk sistem *overall* mengalami penurunan hal ini dikarenakan tidak semua etanol akan terekstrak, sehingga hasilnya konsentrasi dalam sistem *overall* akan menurun.

**Tabel IV.3** Konsentrasi Etanol dalam Rafinat pada Pelarut *n-Amyl Alcohol*

Konsentrasi Etanol dalam Rafinat (g/L)	
Recycle 30%	12.515
Recycle 50%	13.069
Recycle 60%	12.914
Recycle 80%	7.828

**Tabel IV.4** Konsentrasi Etanol dalam Rafinat pada Pelarut 1-*Octanol*

Konsentrasi Etanol dalam Rafinat (g/L)	
Recycle 30%	32.29
Recycle 50%	31.66
Recycle 60%	34.87
Recycle 80%	32.90

**Tabel IV.5** Konsentrasi Etanol dalam Rafinat pada Pelarut 1-*Dodecanol*

Konsentrasi Etanol dalam Rafinat (g/L)	
Recycle 30%	84.12
Recycle 50%	63.51
Recycle 60%	60.47
Recycle 80%	59.47

Ethanol yang terdapat pada rafinat etanol akan menjadi inhibisi bagi mikroorganime yang terdapat dalam fermentor, etanol memiliki rantai karbon C-2, semakin rendah rantai karbon dari alkohol maka akan bersifat toksik dan inhibisi terhadap mikroorganime (*Offeman et al.,2008*)

**Tabel IV.6** Neraca Masaa Etanol pada Pelarut *n-Amyl Alcohol* dengan basis 1 jam

<i>Recycle</i>	Masuk Broth (gram)	Keluar	
		Rafinat (gram)	Ekstrak (gram)
Tanpa <i>recycle</i>	32,86	10,14	22,72
30%	42,32	6,00	36,32
50%	41,73	6,27	35,46
60%	40,37	6,19	34,17
80%	35,35	3,75	31,59

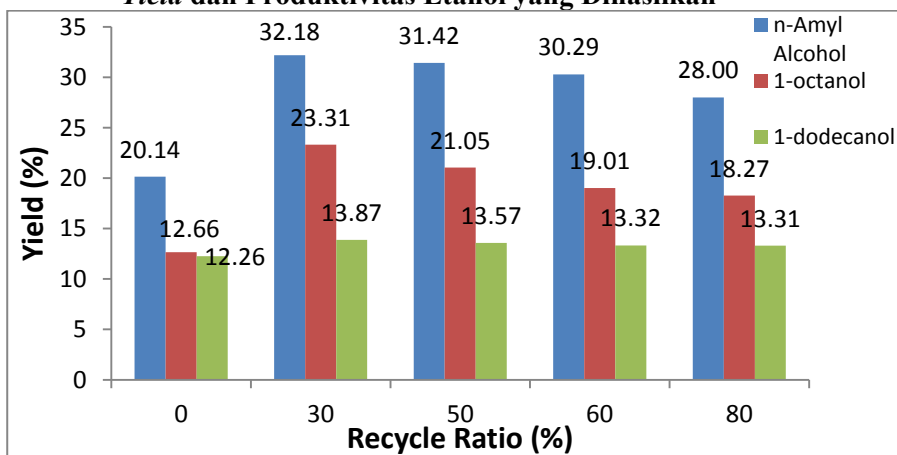
**Tabel IV.7** Neraca Massa Etanol pada Pelarut *1-Octanol* dengan basis 1 jam

<i>Recycle</i>	Masuk Broth (gram)	Keluar	
		Rafinat (gram)	Ekstrak (gram)
Tanpa <i>recycle</i>	34,59	20,61	13,97
30%	41,24	15,5	25,74
50%	38,43	15,19	23,23
60%	37,73	16,73	20,99
80%	35,97	15,79	20,17

**Tabel IV.8** Neraca Massa Etanol pada Pelarut 1-*Dodecanol* dengan basis 1 jam

Recycle	Masuk Broth	Keluar	
		Rafinat	Ekstrak
Tanpa recycle	40,95	28,22	12,73
30%	54,78	40,38	14,4
50%	44,58	30,49	14,09
60%	42,86	29,03	13,83
80%	42,37	28,55	13,82

### IV.3.2 Pengaruh *Recycle ratio* dan Jenis Pelarut terhadap *Yield* dan Produktivitas Etanol yang Dihasilkan



**Gambar IV.7** Grafik Perbandingan Yield Etanol Masing-Masing *Recycle ratio* pada Pelarut *n-Amyl Alcohol*, *1-Octanol* dan *1-Dodecanol*

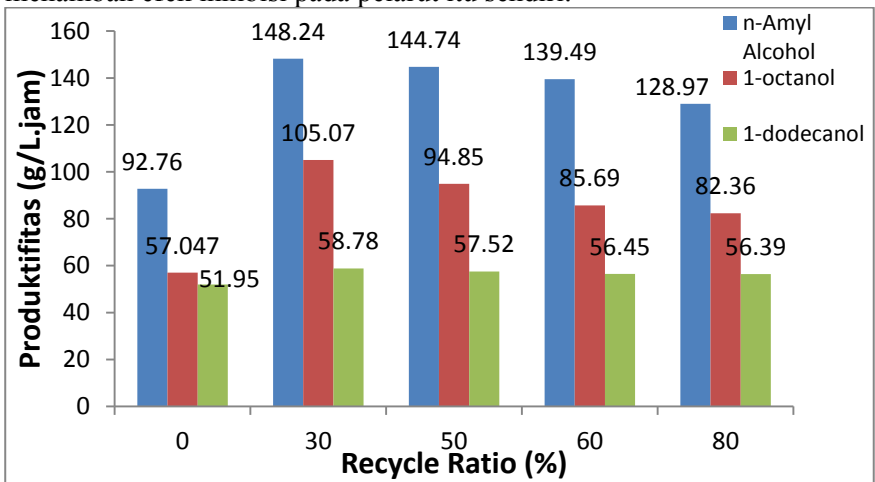
Hasil dari proses fermentasi ekstraktif ditunjukkan pada gambar IV.7 yang menunjukkan yield etanol setelah adanya *recycle* dari rafinat untuk setiap pelarut yang digunakan yaitu *n-amyl alcohol*, *1-dodecanol*, dan *1-octanol*. Yield yang diperoleh diamati dari *overall* sistem fermentasi ekstraktif. Yield ethanol untuk eksperimen tanpa *recycle* memiliki nilai yang lebih rendah

untuk eksperimen dengan recycle rafinat dengan rasio tertentu terhadap *fresh feed*. Karena rafinat masih mengandung glukosa, untuk eksperimen dengan adanya *recycle* jumlah glukosa yang masuk ke fermentor akan meningkat (dari rafinat dan *fresh feed*), sehingga yield etanolnya juga meningkat.

Yield etanol tertinggi pada sistem overall untuk tiap-tiap pelarut adalah 32,18% untuk pelarut *n-amyl alcohol*, 23,31% untuk pelarut *1-octanol* dan 13,87% untuk pelarut *1-dodecanol* dengan peningkatan *recycle ratio* 30% dan peningkatan *recycle ratio* menjadi 50%, 60% dan 80% akan menurunkan nilai yieldnya. Penurunan performa pada sistem overall ini disebabkan oleh adanya inhibisi produk dan substrat. Hasil ini didukung oleh peneliti sebelumnya yaitu Roukas (1994) yang meneliti tentang produksi etanol dari sebuah carob pod ekstrak pada packed bed bioreactor dan hasilnya yang didapatkan yaitu, jika konsentrasi dan produktivitas etanol meningkat dengan kenaikan dari konsentrasi gula masuk hingga 20%, namun yield teoritis dari etanol menurun dengan kenaikan konsentrasi glukosa dari 10%-25%. jika penurunan aktifitas dari air dan terjadinya plasmolisis menyebabkan suatu penurunan pada laju fermentasi di atas konsentrasi substrat kritis (Goksungur dan Zorlu, 2000). Rasio *recycle* yang lebih besar akan meningkatkan kontak antara pelarut dan mikroorganisme pada fermentor, dan adanya suatu akumulasi dari pelarut yang berdifusi ke dalam bead dapat meracuni mikroorganisme.

Pada eksperimen dengan menggunakan pelarut *1-dodecanol*, nilai yield menurun pada kenaikan *recycle* dari 30% sampai 80%. Rata-rata nilai yieldnya juga lebih rendah jika dibandingkan dengan eksperimen untuk pelarut *n-amyl alcohol* dan *1-octanol*. Offeman dkk (2008) menyatakan dalam studinya bahwa pada eksperimen untuk menentukan toksisitas pelarut, pada fermentasi batch dengan menggunakan campuran dari feed dan *1-dodecanol* memberikan hasil etanol yang lebih rendah jika dibandingkan dengan hasil yang diperoleh Minier dan Goma

(1982) atau Honda dkk (1986). Hal ini mengimplikasikan jika meskipun *1-dodecanol* memiliki tingkat inhibisi yang paling rendah pada eksperimen berdasarkan eksperimen evaluasi toksisitas pelarut terhadap mikroorganisme, *1-dodecanol* memiliki kemampuan dalam mengekstrak etanol dari broth fermentasi paling rendah. Solubilitasnya yang rendah berarti masih banyak etanol yang tertinggal pada rafinat karena tidak dapat diekstrak dengan baik. Ketika rafinat *directcycle* atau dikembalikan pada fermentor, etanol terlarut pada rafinat akan menambah efek inhibisi pada pelarut itu sendiri.



**Gambar IV.8** Grafik Perbandingan Produktivitas Etanol Masing-Masing *Recycle ratio* pada Pelarut *Amyl Alcohol*, *Octanol* dan *Dodecanol*

Berdasarkan gambar IV.8, didapatkan nilai produktivitas yang didapat dari sistem overall fermentasi ekstraktif. Produktivitas didefinisikan sebagai massa etanol yang diproduksi tiap satuan volume dan waktu. Produktivitas yang paling tinggi diperoleh pada eksperimen dengan pelarut *n-amyl alcohol* yaitu 148,24 g/L.jam untuk overall system untuk *recycle ratio* 30% dengan *dillution rate* 1,959/jam. Produktivitas untuk eksperimen



dengan pelarut *1-dodecanol* memberikan hasil tertinggi 58,786 g/L.jam *recycle ratio* 30%. Sedangkan untuk *1-octanol* produktivitas tertinggimemberikan hasil 105,07 g/L.jam untuk *recycle ratio* 30%. Kenaikan produktifitas terjadi pada *recycle ratio* 30% dan produktifitas akan mengalami penurunan pada *recycle ratio* 50%,60% dan 80% untuk masing-masing pelarut. Pada percobanya (Ratna dkk, 2012) menggunakan dillution rate 3,676/jam dengan nilai produktifitas tertinggi untuk sistem overall adalah 118,16 g/L. Kenaikan dari dillution rate akan menurunkan residence time sehingga waktu kontak feed dengan sel yang terimmobilisasi dalam reaktor pun juga akan menurun. Proses kontak yang terlalu cepat akan menurunkan laju fermentasi sehingga menghasilkan konsentrasi etanol yang rendah, selain itu jika laju alir dinaikkan, pompa peristaltik untuk mengalirkan feed tidak mampu melawan adanya back pressure karena gas CO<sub>2</sub> yang terbentuk sehingga reaktor dapat berhenti beroperasi (Goksungur et.al, 2000).

Jika dibandingkan dengan proses *batch*, *yield* untuk fermentasi *batch* lebih tinggi dibanding dengan fermentasi kontinyu pada proses fermentasi kontinyu dihasilkan *yield* ethanol sebesar 20,14% dan pada proses fermentasi batch didapatkan *yield* sebesar 40,92 %. Perbedaan antara kadar *yield* yang dihasilkan dari kedua poses fermentasi dikarenakan pada fermentasi *batch* mikroorganisme yang terdapat pada reaktor CSTR dapat berkembang biak dengan baik dan adanya pengadukan yang menjadikan proses fermentasi lebih homogen. Pada fermentasi kontinyu *yield* yang dihasilkan lebih kecil, karena pada proses tersebut menggunakan *packed bed bioreactor* yang memiliki *residence time* yang kecil sehingga mengakibatkan *yield* lebih kecil pula (Hou-Cieh dan Feng, 2008).

Produktifitas untuk fermentasi kontinyu sebesar 92,76 g/L.jam dan untuk fermntasi batch 0,682 g/L.jam. Produktifitas untuk proses kontinyu lebih besar dibanding dengan proses *batch*. Hal ini dikarenakan pada proses kontinyu *feed* mengalir terus

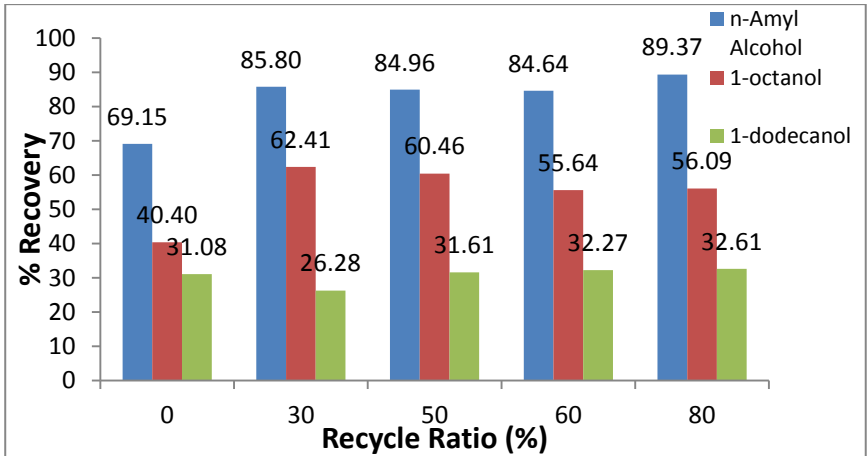
menerus sehingga menyebabkan gula yang terdapat di dalam fermentor semakin banyak dan gula yang terkonversi menjadi etanol semakin banyak pula.

**Tabel IV.9** Perbandingan *Yield* dan Produktifitas Fermentasi *Batch* dan Kontinyu

	Yield (%)	Produktifitas (g/L.jam)
Fermentasi <i>Batch</i>	40,92	0,682
Fermentasi Kontinyu	20,14	92,76

### **IV.3.3 Pengaruh *Recycle ratio* dan Jenis Pelarut terhadap %*Recovery***

Salah satu kendala dalam produksi etanol dengan proses fermentasi secara konvensional adalah energi yang dibutuhkan dalam proses distilasi sangat besar. Terutama saat *broth* memiliki konsentrasi etanol yang sangat rendah. Untuk itu dalam penelitian ini dilakukan proses fermentasi ekstraksi yang terintegrasi. Ekstraksi adalah pemisahan satu atau beberapa bahan dari suatu padatan atau cairan dengan bantuan pelarut. Pemisahan terjadi atas dasar kemampuan larut (*solubility*) yang berbeda dari masing-masing komponen dalam campuran. Proses ekstraksi dalam penelitian ini menggunakan *packed column extractor* dengan *solvent n-Amyl Alcohol, 1-dodecanol* dan *1-octanol*.



**Gambar IV.9** Grafik Perbandingan % Recovery Etanol Masing-Masing *Recycle ratio* pada Pelarut *Amyl Alcohol*, *Octanol* dan *Dodecanol*

Berdasarkan gambar IV.9, untuk persen recovery etanol dengan menggunakan pelarut *amyl alcohol* sebesar 87.83% saat tidak dilakukan recycle, 85.80% pada *recycle ratio* 30%, 81.89% pada *recycle ratio* 50%, 89.37% pada *recycle ratio* 60%, dan 69.15% pada *recycle ratio* 80%. *N-amyl alcohol* memiliki persen *recovery* yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan pelarut *1-octanol* dan *1-dodecanol*. Hal ini merupakan indikasi bahwa *n-amyl alcohol* dapat mengekstrak lebih banyak etanol daripada *1-octanol* dan *1-dodecanol* karena *n-amyl alcohol* merupakan alkohol yang memiliki rantai atom C berjumlah lebih sedikit atau lebih dekat dengan etanol jika dibandingkan dengan *1-octanol* (C-8) dan *1-dodecanol* (C-12) (Ratna dkk, 2012)

## KESIMPULAN

### V.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian dan analisa yang telah dilakukan, dapat diambil kesimpulan bahwa :

1. Proses fermentasi kontinyu dan ekstraksi secara terintegrasi tanpa recycle dan dengan recycle menggunakan *Zymomonas mobilis* termutasi A3 dengan pelarut *n-Amyl Alcohol*, *1-Octanol* dan *1-Dodecanol* memberikan hasil kadar etanol, produktivitas, dan *yield* etanol yang terbaik pada recycle 30% dengan pelarut *n-Amyl Alcohol*.
2. Dengan sistem *recycle ratio* 30% menggunakan *Zymomonas mobilis* A3 memberikan hasil kadar etanol sebesar 75.667gr/L, produktivitas sebesar 148.246 g/L.Jam, dan *yield* sebesar 32.189% untuk pelarut *n-Amyl Alcohol*, hasil kadar etanol sebesar 53,63 gr/L, produktivitas sebesar 105,07 g/L.Jam, dan *yield* sebesar 23,31% untuk pelarut *1-Octanol*, hasil kadar etanol sebesar 30,00 gr/L, produktivitas sebesar 58,78 g/L.Jam, dan *yield* sebesar 13,87% untuk pelarut *1-Dodecanol*.

### V.2 Saran

1. Nira tebu harus segera di *treatment*, karena dapat terfermentasi dengan sendirinya.
2. Perlu dilakukan penelitian pada nira tebu pada kondisi apa nira tersebut tidak dapat terfermentasi dengan sendirinya.
3. Analisa terhadap sel immobilisasi apa sel tersebut masih hidup atau tidak selama proses fermentasi berlangsung.
4. Perlu ditemukan cara untuk mengurangi *backpressure* gas karbondioksida yang dihasilkan ketika proses fermentasi.

\* Halaman ini sengaja dikosongkan \*

## DAFTAR PUSTAKA

- Alfena, Chrisnawati, Rosa. S., 2009, *Produksi Etanol Menggunakan Mutan Zymomonas mobilis Yang Dimutasi Dengan Hydroxylamine*. Undergraduate Theses of Chemistry Department, Sepuluh Nopember Institute of Technology, RSKi 661.82.
- Bai, J.W., Anderson, W.A., and Moo-Young, M., 2008, *Research review paper: Ethanol fermentation technologies from sugar and starch feedstocks*, Biotechnology Advances 26, 89-105.
- Bailey, J. E., dan Ollis, D.F., 1986, *Biochemical Engineering Fundamentals*, New York: Mc Graw-Hill Inc.
- E. Billa, D. Koullas, and B. Monties., 1997, *Structure and composition of sweet sorghum stalk components*, Industrial Crops Product, vol Aug 1997, 297-302.
- Carvalho Neto, C.C., Faria, R.B., Martins, S., Kling, S.H. and Rousselet, G. R., 1990, *Produção de Etanol a Partir da Cana-de-Açúcar, em Escala Industrial, Através do Processo Contínuo Empregando Levedura Floculante*. In: Congresso Brasileiro de Energia (5: 1990 : Rio de Janeiro). Anais. Rio de Janeiro.
- Cazetta, M.L., Celligoi, M.A.P.C., Buzato, J.B., dan Scarmino, I.S., 2007, *Fermentation of Molasses by Zymomonas mobilis : Effects of Temperature and Sugar Concentration on Ethanol Production*, Bioresource Technology, 98, 2824-2828.
- Kim, C.H., Kim, S.W., dan Hong, S.I., 1999, *An Integrated fermentation-separation process for the production of red pigment by Serratia sp. KH-95*. Process Biochemistry, 485-490.
- Ghorbani, F., Y. dkk., 2011, *Cane molasses fermentation for continuous ethanol production in an immobilized cells reactor by Saccharomyces cerevisiae*, Renewable Energy, 503-509.

- Goksungur, Y. dan Zorlu, N., 2001, *Production of Ethanol From Beet Molasses by Ca-Alginate Immobilized Yeast Cells in a Packed-Bed Bioreactor*, Turk J Biol, 25, 265-275.
- Grote, W. dan Rogers, P.L., 1985, *Ethanol Production from Sucrose-Based Raw Materials Using Immobilized Cells of Zymomonas mobilis*, Biomass, 8, 169-184.
- Gunasekaran, P., dan K.C Raj. *Ethanol Fermentation Technology-Zymomonas mobilis*. Curr.Sci.77:56-58.1999
- Kollerup, F. and Daugulis, A.J., 1985, *A Mathematical Model for ethanol production by extractive fermentation in a continuous stirred tank fermentor*, Biotechnology and Bioengineering, Vol. 27, pp.1335-1346.
- L.Rachel, 2007, Pada <http://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Zymomonasmobilis>. 9 Mei 2015.
- Margaritis, A., Bajpai, P.K., dan Wallace, J.B., 1981, *High Ethanol Productivities Using Small Ca-Alginate Beads of Immobilized Cells of Zymomonas Mobilis*, Biotechnology Letters, Vol.3, 11, 613-618.
- Laddha, G.S., Degaleesan, T.E., 1978, *Transport Phenomena in Liquid Extraction*, McGraw-Hill, New York.
- M.R. Melick, M.N. Karim, J.C. London, B.E. Date and P. Mihaltz, 1987, *Mathematical modeling of ethanol production by immobilized Zymomonas Mobilis in a packed bed fermentor*, Biotechnol Bioengng. 29, 370-382.
- Minier, M., dan Goma, G., 1981, *Production Of Ethanol By Coupling Fermentation and Solvent Extraction*, Biotechnology Letters, Vol. 3, 405-408.
- Minier, M, Goma, G., 1982., *Ethanol Production by Extractive Fermentation*, Biotechnology and Bioengineering, Vol. XXIV, 1565-1579.
- Permatasari, A., 2012, *Desain proses produksi etanol secara fermentasi ekstraktif untuk meningkatkan yield dan produktifitas etanol : eksperimen dan pemodelan*

- Surabaya: Teknik Kimia FTI, Institut Teknologi Sepuluh Nopember.
- Pilkington, P.H, Margaritis, A., Mensour N.A, Russel,I., 1997, *Fundamentals of immobilised yeast cells for continuous Beer Fermentation:A Review. J. Inst. Brew*, Vol.104, 19-31.
- Offeman, R.D., Stephenson, S.K., Franqui, D., dan Cline, J.L., 2008, *Extraction of ethanol with higher alcohol solvents and their toxicity to Yeast*, Separation and Purification Technology 63, 444-451.
- Razmovski. R dan Vucuravic .V., 2012, *Bioethanol production from sugar beet molasses and thick juice using Saccharomyces cerevisiae immobilized on maize stem ground tissue*, Fuel 92, 1-8
- Savitri, W., dan Arini, N.F., 2010, *Produksi Etanol dari Molasses dengan Teknik Immobilisasi Karaginan menggunakan Zymomonas mobilis Termutasi Secara Fermentatif-Ekstraktif*. Surabaya: Teknik Kimia FTI, Institut Teknologi Sepuluh Nopember
- S.S.E.H. Elnashaie, A.H Fakeeha, E. Iielal, M.E. Abashar., 1994, *A Mathematical Model Achieving the Twin Objectives of Simplicity and Accuracy for the Simulation of Immobilized Packed Bed Fermentors*. Mathl. Comput. Modelling Vol. 19, No. 5, pp. 105-114.
- Schlegel, HG. 1994. *Mikrobiologi Umum*. UGM Press-Yogyakarta
- Seibert, A.F., and Fair, J.R., 1988, *Hydrodynamics and Mass Transfer in Spray and Packed Liquid-Liquid Extraction Column*, Ind. Engr.Chem.Res., 470-481.
- Soleimani S., Ghasemi M.F. and Shokri S.,2011, *Ethanol Production by Zymomonas Mobilis PTCC 1718 using low cost substrat*. African Journal of Microbiology Research Vol 6(4), 704-712.



- Vasconcelos, J.N. de, Lopes, C.E. and de França, F.P., 1998, Yeast Immobilization on Cane Stalks for Fermentation. *International Sugar Journal*, 100(1190), 73-75.
- Widjaja, T., Soeprijanto, Altway, A., Gunawan, S., dan Darmawan,R., 2011, *Ethanol Production From Molasses Using Immobilized Cells Ca-Alginate and K-Carrageenan By Mutation Zymomonas Mobilis In A Packed Bed Bioreactor*, *International Journal of Academic Research*, Vol 2, 30-34.
- Widjaja, T., Altway, A., Permanasari, A., dan Gunawan, S., 2014, *Production of Ethanol As A Renewable Energy by Extractive Fermentation*, *Applied Mechanics and Materials* Vol. 493 (2014) pp 300-305.

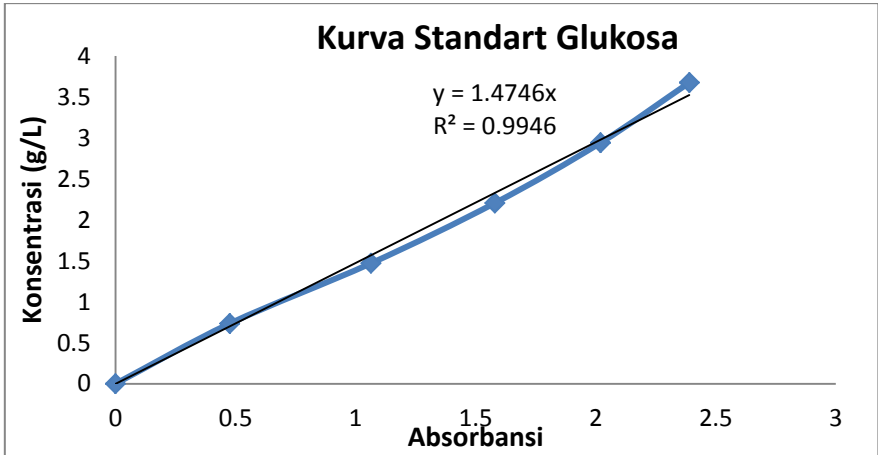
## APPENDIKS

### A. Membuat Kurva Standar Glukosa

Membuat kurva standar glukosa dengan memplot konsentrasi glukosa dari larutan standar dengan absorbansi 540 nm.

**Tabel A.1** Data Pembuatan Kurva Kalibrasi Glukosa

<b>Konsentrasi (g/L)</b>	<b>Absorbansi</b>
0	0
0.74	0.48
1.47	1.06
2.21	1.58
2.94	2.02
3.67	2.39



**Gambar A.1** Kurva Standar Glukosa

### **B. Perhitungan Konsentrasi Nira Tebu**

Dari hasil analisa konsentrasi glukosa menggunakan metode DNS dengan pengenceran 50 kali untuk konsentrasi glukosa dalam nira tebu, hasil pengamatan dari spectrophotometer diperoleh :

$$A = 2,395$$

Lalu A dimasukkan ke persamaan berikut :

$$y = 1,4746 \times X$$

$$= 1,4746 \times 2,395$$

$$= 3,532$$

Kemudian dikalikan faktor pengenceran 50 kali, sehingga didapatkan konsentrasi glukosa = 176,3 g/L.'

**Tabel A.2** Data Analisa DNS Nira Tebu

<b>Absorbansi</b>	<b>Pengenceran</b>	<b>Konsentrasi Glukosa</b>	<b>Konsentrasi (g/L)</b>
2,395	50	3,532	176,3

### C. Perhitungan Gula Reduksi

Perhitungan gula reduksi dilakukan dengan mengukur absorbansi sampel yang telah di tambahkan larutan DNS menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 540nm. Dari hasil analisa konsentrasi glukosa menggunakan metode DNS dengan pengenceran 50 kali untuk konsentrasi glukosa dalam sampel fermentasi, hasil pengamatan dari spectrophotometer diperoleh :

$$A = 2,333$$

Lalu A dimasukkan ke persamaan berikut :

$$\begin{aligned} y &= 1,4746 \times X \\ &= 1,235 \times 2,333 \\ &= 2,881 \end{aligned}$$

Kemudian dikalikan faktor pengenceran 50 kali, sehingga didapatkan konsentrasi glukosa = 172,049 g/L.

**Tabel A.3** Data Perhitungan Gula Reduksi Menggunakan Mikroorganisme *Zymomonas mobilis* Termutasi dengan Pelarut *Amyl Alcohol*

Jam	Absorbansi			FP	Slope	Konsentrasi g/L
	1	2	Rata2			
0	2.468	2.199	2.3335	50	1.4746	172.049
6	2.499	2.103	2.301	50	1.4746	169.653
12	2.345	2.223	2.284	50	1.4746	168.399
18	2.213	1.999	2.106	50	1.4746	155.275
24	2.345	1.987	2.166	50	1.4746	159.699
30	2.456	1.785	2.1205	50	1.4746	156.344
36	2.384	1.897	2.1405	50	1.4746	157.819
42	2.087	1.789	1.938	50	1.4746	142.889
48	2.092	1.564	1.828	50	1.4746	134.778
54	1.987	1.765	1.876	50	1.4746	138.317

60	1.875	1.645	1.76	50	1.4746	129.765
72	1.874	1.567	1.7205	50	1.4746	126.852
78	1.756	1.342	1.549	50	1.4746	114.208
84	1.784	1.123	1.4535	50	1.4746	107.167
90	1.678	1.235	1.4565	50	1.4746	107.388
96	1.675	1.345	1.51	50	1.4746	111.332
102	1.568	1.344	1.456	50	1.4746	107.351
108	1.457	1.113	1.285	50	1.4746	94.7431
114	1.094	1.342	1.218	50	1.4746	89.8031
120	1.456	1.112	1.284	50	1.4746	94.6693
126	1.389	1.029	1.209	50	1.4746	89.1396
132	1.456	1.123	1.2895	50	1.4746	95.0748
138	1.342	1.123	1.2325	50	1.4746	90.8722
144	1.094	1.232	1.163	50	1.4746	85.748
150	1.223	1.117	1.17	50	1.4746	86.2641
156	1.112	1.098	1.105	50	1.4746	81.4717
162	1.076	1.023	1.0495	50	1.4746	77.3796
168	1.109	1.012	1.0605	50	1.4746	78.1907
174	0.978	1.093	1.0355	50	1.4746	76.3474
180	1.088	0.999	1.0435	50	1.4746	76.9373
186	0.988	1.081	1.0345	50	1.4746	76.2737
192	1.097	0.978	1.0375	50	1.4746	76.4949

**Tabel A.4** Data Perhitungan Gula Reduksi Menggunakan Mikroorganisme *Zymomonas mobilis* Termutasi dengan Pelarut *Octanol*

Jam	Absorbansi			FP	Slope	Konsentrasi g/L
	1	2	Rata2			
0	2.23	2.29	2.26	50	1.4746	166.63
6	2.098	2.221	2.1595	50	1.4746	159.22
12	2.34	2.071	2.2055	50	1.4746	162.612
18	1.934	1.896	1.915	50	1.4746	141.193
24	2.366	1.987	2.1765	50	1.4746	160.473
30	2.009	1.917	1.963	50	1.4746	144.732
36	2.366	1.779	2.0725	50	1.4746	152.805
42	2.548	1.999	2.2735	50	1.4746	167.625
48	2.277	1.899	2.088	50	1.4746	153.948
54	2.453	1.674	2.0635	50	1.4746	152.142
60	2.221	1.883	2.052	50	1.4746	151.294
66	1.589	1.786	1.6875	50	1.4746	124.419
72	1.956	2.346	2.151	50	1.4746	158.593
78	1.987	1.698	1.8425	50	1.4746	135.848
84	1.868	2.331	2.0995	50	1.4746	154.796
90	2.001	1.85	1.9255	50	1.4746	141.967
96	1.804	1.566	1.685	50	1.4746	124.235
102	1.798	1.432	1.615	50	1.4746	119.074
108	1.759	1.324	1.5415	50	1.4746	113.655
114	1.598	1.786	1.692	50	1.4746	124.751
120	0.932	1.656	1.294	50	1.4746	95.4066
126	1.545	0.999	1.272	50	1.4746	93.7846

132	1.345	1.008	1.1765	50	1.4746	86.7433
138	1.345	0.952	1.1485	50	1.4746	84.6789
144	1.136	0.925	1.0305	50	1.4746	75.9788
150	0.956	1.004	0.98	50	1.4746	72.2554
156	0.939	1.104	1.0215	50	1.4746	75.3152
162	1.061	0.985	1.023	50	1.4746	75.4258
168	0.966	1.078	1.022	50	1.4746	75.3521
174	0.876	1.187	1.0315	50	1.4746	76.0525
180	0.978	1.132	1.055	50	1.4746	77.7852
186	0.999	1.012	1.0055	50	1.4746	74.1355
192	0.897	1.222	1.0595	50	1.4746	78.1169

**Tabel A.5** Data Perhitungan Gula Reduksi Menggunakan Mikroorganisme *Zymomonas mobilis* Termutasi dengan Pelarut *Dodecanol*

Jam	Absorbansi			FP	Slope	Konsentrasi g/L
	1	2	Rata2			
0	2.05	2.3	2.175	50	1.4746	160.363
6	2.222	2.077	2.1495	50	1.4746	158.483
12	2.116	2.3	2.208	50	1.4746	162.796
18	2.221	1.887	2.054	50	1.4746	151.441
24	1.815	2.356	2.0855	50	1.4746	153.764
30	2.289	1.997	2.143	50	1.4746	158.003
36	1.893	2.299	2.096	50	1.4746	154.538
42	1.866	2.349	2.1075	50	1.4746	155.386
48	1.878	1.997	1.9375	50	1.4746	142.852
54	1.993	2.199	2.096	50	1.4746	154.538

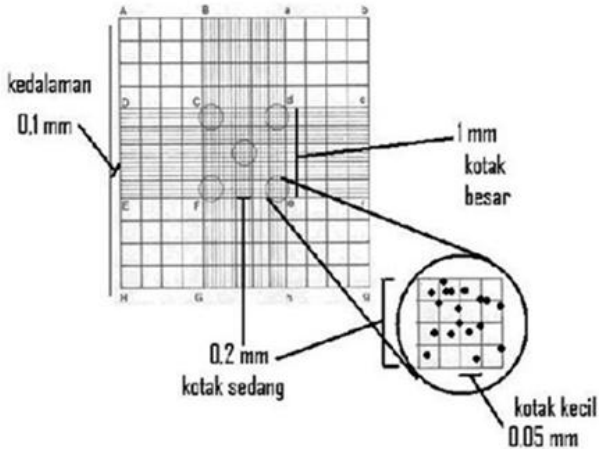
60	1.878	1.974	1.926	50	1.4746	142.004
66	2.009	1.883	1.946	50	1.4746	143.479
72	2.089	1.786	1.9375	50	1.4746	142.852
78	1.967	1.746	1.8565	50	1.4746	136.88
84	1.987	1.698	1.8425	50	1.4746	135.848
90	1.868	1.864	1.866	50	1.4746	137.58
96	1.713	1.85	1.7815	50	1.4746	131.35
102	1.804	1.587	1.6955	50	1.4746	125.009
108	1.798	1.894	1.846	50	1.4746	136.106
114	1.759	1.649	1.704	50	1.4746	125.636
120	1.598	1.782	1.69	50	1.4746	124.604
126	1.522	1.656	1.589	50	1.4746	117.157
132	1.516	0.976	1.246	50	1.4746	91.8676
138	0.999	1.135	1.067	50	1.4746	78.6699
144	0.996	1.192	1.094	50	1.4746	80.6606
150	0.936	1.125	1.0305	50	1.4746	75.9788
156	0.943	0.964	0.9535	50	1.4746	70.3016
162	0.899	0.994	0.9465	50	1.4746	69.7854
168	0.961	0.95	0.9555	50	1.4746	70.449
174	0.966	0.956	0.961	50	1.4746	70.8545
180	0.971	0.969	0.97	50	1.4746	71.5181
186	0.9699	0.932	0.95095	50	1.4746	70.1135

#### **D. Perhitungan Jumlah Sel**

Menghitung jumlah sel dengan menggunakan *Haemocytometer* pada saat pembuatan starter untuk mengetahui fase log



mikroorganisme sehingga proses fermentasi berjalan maksimal karena mikroorganisme tumbuh dengan baik.



**Gambar A.5** *Haemacytometer*

Dalam analisa Counting chamber, dipergunakan 16 kotak paling kecil yang memiliki luas  $0,0025 \text{ mm}^2$ . Lalu ditentukan 5 kotak yang akan dihitung jumlah sel yang terkandung dalam 5 kotak tersebut.

A			B
	E		
C			D

Data :

Faktor pengenceran = 100 kali

Sisi kotak kecil = 0,05 mm

Tebal hemasitometer = 0,1 m

Jam	Run	Kotak					Total	Sel per kotak	Jumlah sel total
		A	B	C	D	E			
0	1	2	1	1	0	0	4	0.8	18666667
	2	1	1	0	0	0	2	0.4	
	3	1	0	0	0	0	1	0.2	
	Jumlah						<b>7</b>	<b>1.4</b>	
1	1	0	0	1	0	0	1	0.2	21333333
	2	1	1	0	0	0	2	0.4	
	3	0	1	2	1	1	5	1	
	Jumlah						<b>8</b>	<b>1.6</b>	
2	1	0	1	1	0	0	2	0.4	24000000
	2	0	1	1	1	0	3	0.6	
	3	1	1	1	0	1	4	0.8	
	Jumlah						<b>9</b>	<b>1.8</b>	
3	1	1	1	0	1	1	4	0.8	29333333
	2	1	1	0	1	0	3	0.6	
	3	0	1	1	1	1	4	0.8	
	Jumlah						<b>11</b>	<b>2.2</b>	
4	1	1	2	1	1	1	6	1.2	37333333
	2	2	0	0	1	1	4	0.8	
	3	1	1	0	1	1	4	0.8	
	Jumlah						<b>14</b>	<b>2.8</b>	
5	1	1	2	3	0	0	6	1.2	61333333
	2	1	2	2	1	2	8	1.6	
	3	1	2	1	1	4	9	1.8	
	Jumlah						<b>23</b>	<b>4.6</b>	
6	1	3	3	2	0	3	11	2.2	82666667
	2	3	1	2	2	3	11	2.2	

	3	2	2	1	2	2	9	1.8	
	Jumlah						<b>31</b>	<b>6.2</b>	
7	1	3	1	3	2	3	12	2.4	85333333
	2	1	2	2	2	3	10	2	
	3	2	2	3	1	2	10	2	
	Jumlah						<b>32</b>	<b>6.4</b>	
8	1	4	3	2	2	1	12	2.4	96000000
	2	3	4	3	1	2	13	2.6	
	3	0	2	1	3	5	11	2.2	
	Jumlah						<b>36</b>	<b>7.2</b>	
9	1	2	4	4	3	3	16	3.2	117333333
	2	3	4	4	3	2	16	3.2	
	3	2	2	3	3	2	12	2.4	
	Jumlah						<b>44</b>	<b>8.8</b>	
10	1	3	3	4	3	3	16	3.2	122666667
	2	2	3	4	2	3	14	2.8	
	3	3	3	4	4	2	16	3.2	
	Jumlah						<b>46</b>	<b>9.2</b>	
11	1	3	2	4	2	2	13	2.6	122666667
	2	3	3	5	2	2	15	3	
	3	5	3	4	2	4	18	3.6	
	Jumlah						<b>46</b>	<b>9.2</b>	
12	1	3	5	5	2	5	20	4	125333333
	2	3	2	2	2	1	10	2	
	3	2	5	5	3	2	17	3.4	
	Jumlah						<b>47</b>	<b>9.4</b>	
13	1	3	3	4	2	3	15	3	128000000
	2	3	2	5	3	2	15	3	

	3	3	5	3	2	5	18	3.6	
	Jumlah						<b>48</b>	<b>9.6</b>	
14	1	5	3	5	2	2	17	3.4	130666667
	2	4	3	3	3	2	15	3	
	3	4	2	6	3	2	17	3.4	
	Jumlah						<b>49</b>	<b>9.8</b>	
15	1	4	3	5	2	1	15	3	128000000
	2	5	2	5	4	2	18	3.6	
	3	4	2	7	1	1	15	3	
	Jumlah						<b>48</b>	<b>9.6</b>	

**Tabel A.6** Perhitungan Jumlah Sel pada Starter Mikroorganisme  
*Zymomonas mobilis*

Contoh perhitungan :

$$\text{Jumlah sel/ml} = 0,467 \frac{\text{sel}}{\text{kotak}} \times \frac{1 \text{ kotak}}{0,0025 \text{ mm}^2} \times \frac{1}{0,1 \text{ mm}} \times 100 \times \frac{1000 \text{ mm}^3}{1 \text{ ml}} = 18666666.67 \text{ sel/ml}$$

### **E. Menghitung Yield, Produktifitas dan %Recovery**

Untuk analisa etanol , amyl alcohol, isopropyl alcohol, As.asetat dan air digunakan Gas Chromatography. Untuk variable penelitian *n-Amyl Alcohol*, *Dodecanol*, dan *Octanol* ,kondisi GC yang digunakan :

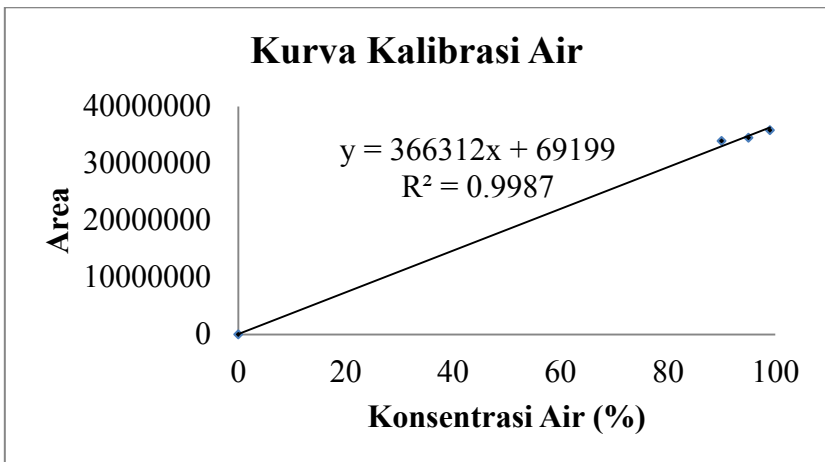
Alat : GC 7900  
 Kolom : TM 5  
 Temperatur : 250 °C  
 Suhu detector : 200 °C  
 Suhu injector : 200 °C  
 Detektor : TCD  
 Injeksi : 1 mikron

### F.1 Kurva Kalibrasi Air, Etanol, Amyl, Isopropyl Alkohol dan As.asetat

Kurva standar dibuat dengan memplot konsentrasi dan area

**Tabel A.7** Kurva Standar Air

Konsentrasi Air (%)	Luas Area
0	0
99	35836898
95	34518214
90	33954304

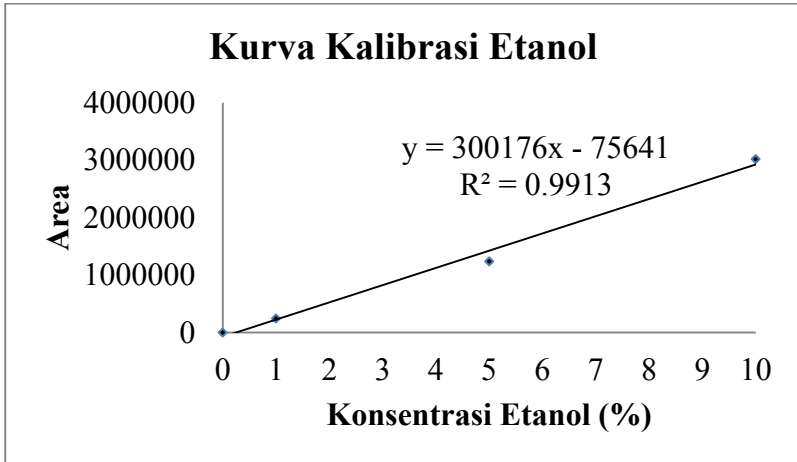


**Gambar A.6** Kurva Standar Air

**Tabel A.8** Kurva Standar Etanol

Konsentrasi Etanol (%)	Luas Area
0	0
1	243757

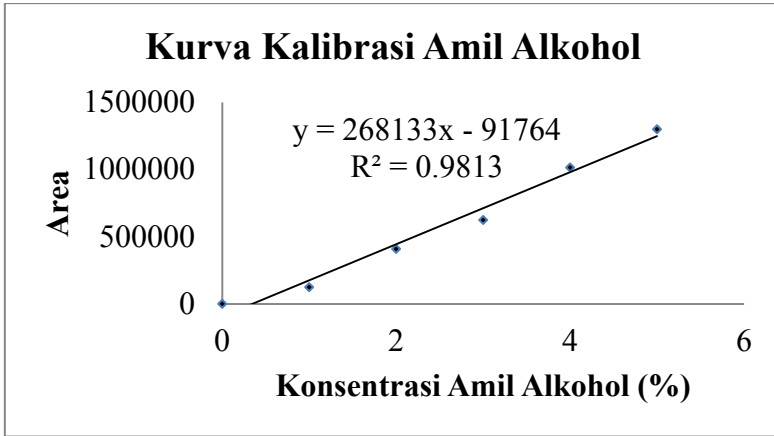
5	1239357
10	3017137



**Gambar A.7** Kurva Standar Etanol

**Tabel A.9** Kurva Standar Amyl

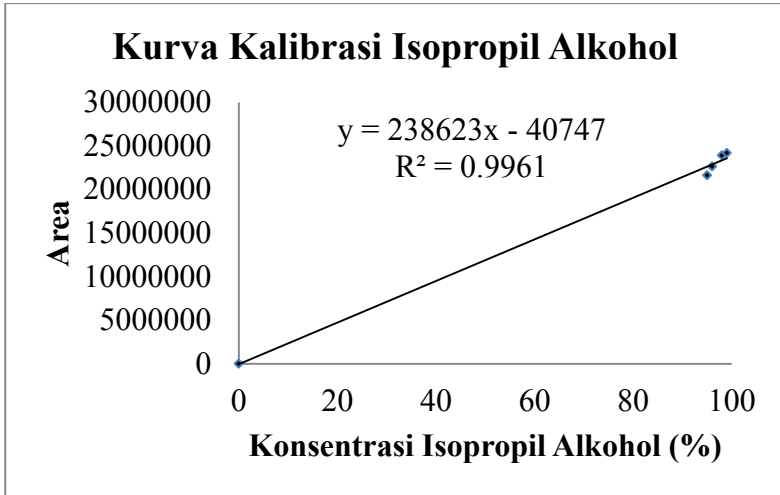
Konsentrasi Amil Alkohol (%)	Luas Area
0	0
1	124304
2	408563
3	624158
4	1014975
5	1299408



**Gambar A.8** Kurva Standar Amyl

**Tabel A.10** Kurva Standar Isopropyl Alkohol

Konsentrasi Isopropil Alkohol (%)	Luas Area
0	0
95	21644868
96	22647246
98	23904394
99	24185647

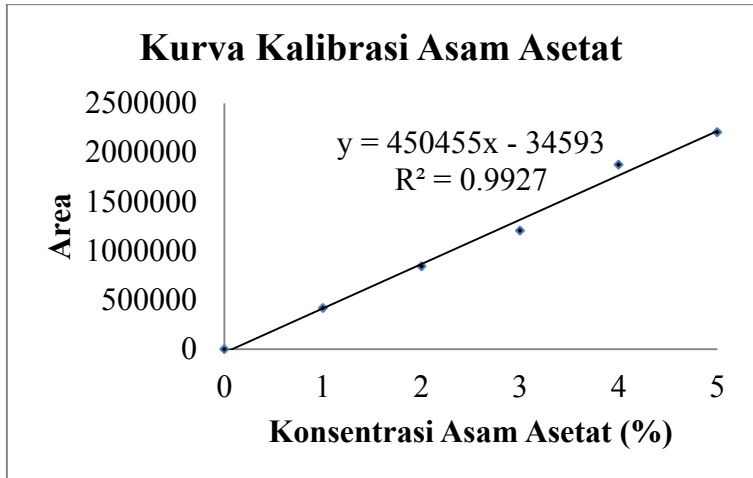


**Gambar A.9** Kurva Standar Isopropyl Alkohol

**Tabel A.11** Kurva Standar As.asetat

Konsentrasi Asam Aetat (%)	Luas Area
0	0
1	418443
2	843258
3	1205474
4	1875717
5	2206378





**Gambar A.10** Kurva Standar As.asetat

Contoh perhitungan GC :

Data dari analisa GC pada sampel ekstrak ethanol tanpa recycle dengan pelarut *amyl alcohol* diperoleh luas area komponen air (Y) = 104415 dimasukkan ke persamaan berikut :  $Y = 366312 \cdot X + 69199$

$$96301 = 366312 \cdot X + 69199$$

$$X = 0,096$$

Perhitungan untuk etanol dengan luas area komponen etanol (Y) = 2130 dimasukkan ke persamaan berikut :

$$Y = 300176 \cdot X - 75641$$

$$21944 = 300176 \cdot X - 75641$$

$$X = 0,259$$

Perhitungan untuk Amyl dengan luas area komponen

Amyl (Y) = 922457 dimasukkan ke persamaan berikut :

$$Y = 268133 \cdot X - 91764$$

$$684309 = 268133 \cdot X - 91764$$

$$X = 3,782$$

Perhitungan untuk As.asetat dengan luas area komponen As.asetat (Y) = 5079 dimasukkan ke persamaan berikut :

$$Y = 450455. X - 34593$$

$$0 = 450455. X - 34593$$

$$X = 0,0087$$

Perhitungan untuk isopropyl alkohol dengan luas area komponen isopropyl alkohol (Y) = 0 dimasukkan ke persamaan berikut : Y= 238623. X - 40747

$$0 = 238623. X - 40747$$

$$X = 0,17077$$

Total konsentrasi = 4,317

Perhitungan % Konsentrasi Sampel :

$$\% \text{ Konsentrasi air} = 0,096 \cdot 4,317 = 2,226$$

$$\% \text{ Konsentrasi etanol} = 0,259 \div 4,317 = 6,001$$

$$\% \text{ Konsentrasi amyl alcohol} = 3,782 \div 4,317 = 87,614$$

$$\% \text{ Konsentrasi As.asetat} = 0,0087 \div 4,317 = 0,201$$

$$\% \text{ Konsentrasi isopropyl alcohol} =$$

$$0,17077 \div 4,317 = 3,955$$

**Tabel A.7** Perhitungan Kadar Etanol menggunakan *Zymomonas mobilis* dengan Pelarut Amyl Alcohol Pada Hasil Ekstrak Fermentasi

Nama Sampel	Komponen	R. Time	Area	Volum Konsentrasi	Total	% (v/v)
Tanpa Recycle	Air	2.525	104415	0.0961	4.31723	2.227
	Etanol	6.096	2130	0.2591		6.001
	IPA	0	0	0.1708		3.955
	Asam Asetat	10.282	5079	0.0087		0.202
	Amil Alkohol	11.382	922457	3.7825		87.615

Recycle 30%	Air	2.461	113269	0.1203	3.37428	3.565
	Etanol	5.909	21497	0.3236		9.590
	IPA	8.533	3762	0.1865		5.528
	Asam Asetat	9.719	52977	0.0192		0.570
	Amil Alkohol	10.992	638791	2.7246		80.746
Recycle 50%	Air	2.523	96301	0.0740	3.4718	2.131
	Etanol	5.983	21944	0.3251		9.364
	IPA	0	0	0.1708		4.918
	Asam Asetat	0	0	0.0076		0.219
	Amil Alkohol	11.533	684309	2.8944		83.368
Recycle 60%	Air	2.456	126579	0.1566	3.86299	4.055
	Etanol	5.881	29004	0.3486		9.024
	IPA	8.564	2906	0.1829		4.736
	Asam Asetat	9.727	52060	0.0190		0.493
	Amil Alkohol	10.993	754398	3.1558		81.692
Recycle 80%	Air	2.449	119756	0.1380	4.14828	3.327
	Etanol	5.976	28255	0.3461		8.344
	IPA	0	0	0.1708		4.116
	AsamAsetat	10.141	8510	0.0095		0.228
	Amil Alkohol	11.551	842388	3.4839		83.985

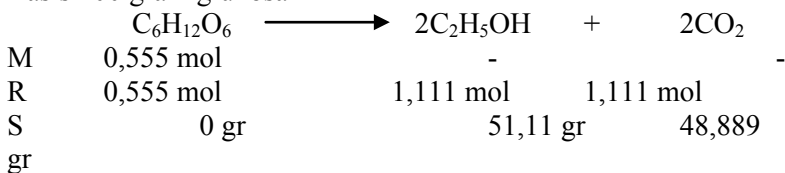
**Tabel A.8** Perhitungan Kadar Etanol menggunakan *Zymomonas mobilis* dengan Pelarut *Amyl Alcohol* Pada Broth Hasil Fermentasi

	Komponen	R. Time	Area	Konsentrasi Volume	Total	% (v/v)
Tanpa Recycle	Air	2.046	1634251	4.272	4.678461	91.322
	Etanol	5.575	46232	0.406		8.678
Recycle 30%	Air	2.055	1284882	3.319	3.736298	88.823
	Etanol	5.587	49709	0.418		11.177
Recycle 50%	Air	2.078	1300913	3.362	3.778921	88.980
	Etanol	5.621	49367	0.416		11.020
Recycle 60%	Air	2.075	1283898	3.316	3.711741	89.339
	Etanol	5.621	43144	0.396		10.661
Recycle 80%	Air	2.029	1476884	3.843	4.238563	90.664
	Etanol	5.567	43140	0.396		9.336

## F.2 Menghitung Yield Teoritis

Berdasarkan reaksi berikut :

Basis 100 gram glukosa



$$\begin{aligned}
 \text{Yield} &= \frac{\text{Massa produk}}{\text{Reaktan masuk reaktor}} \times 100 \% \\
 &= \frac{51,11 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100 \% \\
 &= 0,51 \times 100 \% = 51,1 \%
 \end{aligned}$$

### F.3 Menghitung Yield Hasil Fermentasi Kontinyu

#### 1. Menghitung massa etanol

$$\begin{aligned}\text{Massa etanol} &= \text{volume etanol} \times \text{densitas etanol} \\ &= 0.00000006 \text{ L} \times 789 \text{ g/L} \\ &= 0.0000473 \text{ g}\end{aligned}$$

#### 2. Menghitung konsentrasi etanol

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi etanol} &= \text{massa etanol} : \text{volume injek} \\ &= 0.0000473 : 0.000001 \\ &= 47.34 \text{ g/L}\end{aligned}$$

#### 3. Yield hasil fermentasi kontinyu

$$\begin{aligned}\text{Yield Fermentasi} &= \frac{\text{Konsentrasi Etanol} \left(\frac{\text{g}}{\text{L}}\right) \text{ di ekstrak} \times \text{laju alir ekstrak}}{\text{Konsentrasi Gula Awal} \left(\frac{\text{g}}{\text{L}}\right) \times \text{laju alir feed masuk fermentor}} \\ &\times 100\% \\ &= 20.14 \%\end{aligned}$$

### F.4 Menghitung Produktifitas Etanol

#### 1. Produktivitas etanol pada fermentasi kontinyu (*Margaritis dkk, 1981*)

##### Data penelitian :

$$F = \text{flow rate (jam}^{-1}\text{)} = 8 \text{ mL/menit} = 0,48 \text{ L/jam}$$

##### Dimensi Fermentor :

$$d = \text{diameter bioreaktor} = 3,7 \text{ cm}$$

$$L = \text{panjang bioreaktor} = 52 \text{ cm}$$

$$V_T = \text{volume total bioreaktor packed bed}$$

$$= \pi \left(\frac{d}{2}\right)^2 l = \pi \left(\frac{3,7}{2}\right)^2 52 = 558,8258 \text{ mL}$$

$$V_L = \text{volume liquid ("void")} = 245 \text{ mL}$$

$$V_B = \text{volume solid bead K-Karaginan}$$

$$= V_T - V_L = 313,8258 \text{ mL}$$

$$\varepsilon = \text{fraksi volume ("void")} = \frac{V_L}{V_T} = 0,4384$$

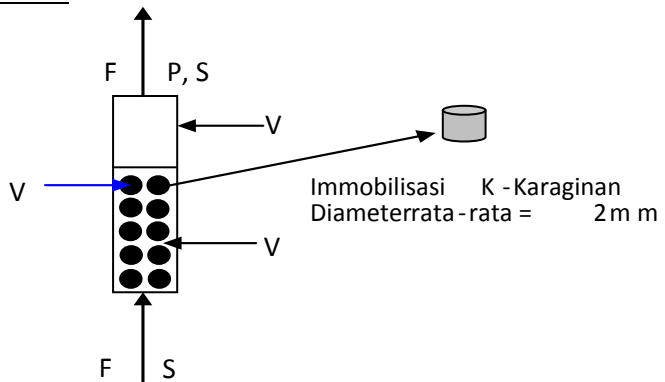
$\tau$  = resident time rata-rata fase liquid

$$= \pi \left(\frac{d}{2}\right)^2 l \times \frac{\varepsilon}{F}$$

karena  $\varepsilon = \frac{V_L}{V_T}$  (mengabaikan fase gas), maka :

$$\tau = \frac{V_T \varepsilon}{F} = \frac{V_L}{F} = \frac{0,245 \text{ L}}{0,48 \text{ L/jam}} = 0,5104 \text{ jam}$$

Sistem Penelitian :



**Gambar A.11** Bioreaktor Packed Bed Dengan K-Karaginan Sebagai *Supporting Matrice*

Basis : Residence time rata-rata fase liquid ( $\tau$ )

$$D = \text{dilution rate} = \frac{1}{\tau} = \frac{1}{0,5104} = 1,9592 \text{ jam}^{-1}$$

$$\begin{aligned} \text{Produktivitas etanol} &= \text{kadar etanol (g/L)} \times D \\ &= 47,34 \times (1,9592) \\ &= 92,76 \text{ g/L.jam} \end{aligned}$$

## **F.5 % Recovery Ekstraksi**

Data penelitian :

$$\begin{aligned}\% \text{ Recovery} &= \frac{\text{etanol pada ekstrak}}{\text{etanol pada broth}} \times 100\% \\ &= (68,47 \text{ g}/47,34\text{g/L}) \times 100\% \\ &= 69,15\%\end{aligned}$$





## RIWAYAT HIDUP PENULIS



Baktiar Maulardi, anak pertama dari dua bersaudara dari pasangan Bapak Imron Muhaemin, S.H dan Ibu Robiah Solichah lahir di kota Brebes, pada tanggal 13 Agustus 1993.

Penulis mulai mengenyam pendidikan di SDN Losari Kidul 01 Losari-Brebes, SMP Negeri 1 Losari, SMA Negeri 1 Kota Tegal, dan S1 Teknik Kimia FTI-ITS.

Penulis pernah aktif di Himpunan Mahasiswa Teknik Kimia FTI-ITS. Penulis memilih Laboratorium Teknologi Biokimia untuk melakukan penelitian dengan judul:

**“PENGARUH RECYCLE RATIO DAN JENIS PELARUT DALAM PRODUKSI ETANOL DARI NIRA TEBU (*Saccharum officinarum L.*) DENGAN PROSES FERMENTASI EKSTRAKTIF”**

Email penulis : [baktiar.maulardi@gmail.com](mailto:baktiar.maulardi@gmail.com)

## RIWAYAT HIDUP PENULIS



Fadhilah Febrian Ramadhanny, anak pertama dari tiga bersaudara dari pasangan Bapak Sudiono, S.H dan Ibu Hari Utami, S.H lahir di kota Pasuruan, pada tanggal 26 Februari 1993.

Penulis mulai mengenyam pendidikan di SDN Pekuncen Pasuruan, SMP Negeri 2 Pasuruan, SMA Negeri 3 Malang, dan S1 Teknik Kimia FTI-ITS.

Penulis pernah aktif di Himpunan Mahasiswa Teknik Kimia FTI-ITS.

Penulis memilih Laboratorium Teknologi Biokimia untuk melakukan penelitian dengan judul:

**“PENGARUH RECYCLE RATIO DAN JENIS PELARUT DALAM PRODUKSI ETANOL DARI NIRA TEBU (*Saccharum officinarum L.*) DENGAN PROSES FERMENTASI EKSTRAKTIF”**

Email penulis : [dhannyfadhilah26@gmail.com](mailto:dhannyfadhilah26@gmail.com)