OPTIMALISASI SEL *Saccharomyces cerevisiae* UNTUK MENINGKATKAN PRODUKTIVITAS DAN EFISIENSI INDUSTRI ETANOL

[*Optimization of Saccharomyces cerevisiae* Cell to Increase Productivity and Efficiency of Ethanol Industry]

Banon Rustiaty*

Balai Besar Teknologi Pati, Deputi Teknologi Agroindustri dan Bioteknologi,
Gedung II – BPPT, Jl. MH. Thamrin 8, Jakarta Pusat 10340, Telepon (021) 3169598

*E-mail korespondensi: banon.rustiaty@bppt.go.id

Diterima: 1 November 2017

Disetujui: 13 Maret 2018

DOI: /10.23960/jtihp.v23i2.97-102

ABSTRACT

*The development of bioethanol as fuel substitution is believed to overcome the potency of the world energy crisis including Indonesia. The bioethanol development can be done by increasing the production capacity of the existing bioethanol factory plant by improving yeast culture for enhancing the performance of the fermentation process. This study was aimed at obtaining a method of optimizing the ability of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation that can be applied by the alcohol industry in Indonesia for increasing factory productivity, thereby reducing the cost of producing alcohol. In this study, the adaptation of *Saccharomyces cerevisiae* Watei and *Saccharomyces cerevisiae* Hakken I were adopted in environment condition with high ethanol content up to 13%. The results showed that the yeast was able to grow in environments with high ethanol content with higher specific growth rate and larger cell size than those within the original yeast. This condition shows that adapted strains can overcome stress caused by high ethanol. These results promise the good performance yeasts with ability in growing and performing metabolic activities in high alcohol-containing environment conditions.*

*Keywords: optimization of *Saccharomyces cerevisiae* cell, productivity and efficiency, ethanol industry.*

ABSTRAK

Pengembangan bioetanol sebagai substitusi bahan bakar diyakini dapat mengatasi potensi krisis energi dunia termasuk Indonesia. Salah satu pengembangan yang dapat ditempuh adalah peningkatan kapasitas produksi pabrik alkohol yang ada dengan meningkatkan adaptasi khamir untuk meningkatkan kinerja proses fermentasi. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan metode optimalisasi kemampuan fermentasi *Saccharomyces cerevisiae* yang dapat diterapkan oleh industri alkohol di Indonesia untuk meningkatkan produktivitas pabrik, sehingga dapat menurunkan biaya produksi alkohol. Pada penelitian ini dilakukan pengadaptasian galur khamir *Saccharomyces cerevisiae* Watei dan *Saccharomyces cerevisiae* Hakken I, sampai kadar etanol 13 %. Hasil penelitian menunjukkan kedua khamir dapat tetap tumbuh pada lingkungan kadar etanol tinggi dengan laju pertumbuhan spesifik (LPS) lebih tinggi dan ukuran sel lebih besar dibandingkan khamir asalnya. Kondisi ini menunjukkan bahwa galur teradaptasi mampu

mengatasi cekaman yang disebabkan oleh ethanol tinggi. Hasil ini menjanjikan khamir unggul dengan kemampuan tumbuh dan melakukan aktivitas metabolisme pada kondisi lingkungan yang mengandung alkohol dengan kadar tinggi.

Kata kunci: industri alkohol, optimalisasi sel *Saccharomyces cerevisiae*, produktivitas dan efisiensi.

PENDAHULUAN

Indonesia telah mencanangkan Program Pengembangan Bahan Bakar Nabati (BBN) termasuk bioetanol. Hal ini tertuang dalam Instruksi Presiden No. 1/2006 tentang Bahan Bakar Nabati, Peraturan Presiden No. 45 tahun 2009 tentang Penyediaan dan Pendistribusian Jenis Bahan Bakar Minyak Tertentu, yang didalamnya tertuang subsidi BBN. Meskipun berbagai regulasi telah dikeluarkan pemerintah, perkembangan BBN di Indonesia belum sebagaimana yang diharapkan, sehingga pasokan bioethanol masih perlu ditingkatkan. Kendala yang terjadi diantaranya adalah investasi pabrik yang tidak murah (Reid *et al.* 2015; dan Barcelos *et al.* 2016 melaporkan, pabrik bioetanol berkapasitas 60.000 KL/tahun membutuhkan investasi lebih dari US\$ 38 Juta), dan kinerja fermentasi yang masih rendah (umumnya kadar alkohol 8-10%).

Salah satu cara untuk meningkatkan kapasitas produksi pabrik alkohol yang ada adalah dengan meningkatkan kinerja khamir sebagai kultur proses fermentasi alkohol. Khamir yang beradaptasi pada lingkungan ber ethanol tinggi sangat berguna dalam pemanfaatan teknis untuk produksi ethanol. Umumnya kegagalan tumbuh terjadi pada khamir yang langsung dinokulasi pada medium yang mengandung 10 % (Ismail dan Ali, 1971; Gombert dan Maris, 2015), sehingga perlu proses adaptasi.

Pada proses produksi, sel khamir mengalami berbagai perubahan lingkungan selama proses seperti peningkatan tekanan osmotik, akumulasi etanol dan CO₂ serta penurunan jumlah nutrisi (Attfield, 1997). Pada perubahan lingkungan ini, akumulasi

ethanol selama proses fermentasi menyebabkan cekaman (stres) terhadap khamir yang mengakibatkan penurunan aktivitas khamir dan terhentinya proses fermentasi (produksi) sehingga kemampuan adaptasi dari khamir terhadap ethanol sangat penting (Brandao *et al.*, 2014). Peningkatan toleransi alkohol dapat dilakukan dengan cara mengadaptasikan khamir pada media beralkohol tinggi (Tjahyono, 1986; Alexandre *et al.*, 1994; Dinh *et al.*, 2008; Lloyd *et al.*, 1993; Caspeta *et al.*, 2015; Tesfaw and Assefa, 2014; Varela *et al.*, 2004; dan Gallagher *et al.*, 2016).

Penelitian pengadaptasian khamir yang dapat diterapkan di Indonesia sangat diperlukan karena sangat bermanfaat untuk meningkatkan kapasitas produksi pabrik bioetanol, tanpa harus melakukan investasi tambahan yang besar. Pada pabrik yang berkapasitas 30 KL/hari (10.000 KL/tahun) dengan peningkatan alkohol 8,5% menjadi 10%, dapat meningkatkan produktivitas sekitar 17,5%.

Penelitian ini bertujuan mendapatkan metode untuk meningkatkan kemampuan fermentasi khamir *Saccharomyces cerevisiae* dalam meningkatkan produktivitas pabrik, yang dapat diterapkan oleh industri alkohol di Indonesia.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Penelitian ini menggunakan khamir *Saccharomyces cerevisiae* Watei dan *Hakken I* yang merupakan koleksi dari Laboratorium Mikrobiologi B2TP. Bahan baku yang digunakan untuk pengujian fermentasi dari khamir teradaptasi adalah molases dan Nira tebu. Bahan pembantu

(*nutrient*) yang digunakan untuk proses fermentasi berupa Urea (*nutrient*) dan NPK (*nutrient*).

Alat yang digunakan antara lain *mini jar fermentor* (MB-W Iwashiya Bio-Science), *jar fermentor* (KP Kantorikaki), mikroskop (Olympus CX31), *autoclave* (Hirayama HA-30), alkohol meter (Tomo), destilator, timbangan analitik (Aslep), pH meter (Horiba D-51), *spectrophotometer* (Spectroquant Pharo 300 M), dan *hot plate* (MR 3001 Heidolph).

Metode Penelitian

Adaptasi Sel Khamir pada Medium yang Mengandung Ethanol

Pengadaptasian dilakukan dengan mengkultivasikan khamir secara berulang-ulang sambil menaikkan kadar etanol dalam medium secara bertahap. Adapun langkah kerjanya sebagai berikut.

Galur khamir dikultivasikan dalam 100 ml YM medium yang mengandung etanol dengan kadar tertentu. Kemudian kultur tersebut setelah inkubasi selama 24 jam atau lebih dinokulasikan dalam medium baru dengan etanol yang sama. Setelah itu kultur khamir tersebut dinokulasikan dalam medium baru dengan kadar etanol yang lebih tinggi dan diikuti dengan kultivasi berulang seperti tersebut di atas. Kadar etanol dalam medium ditingkatkan dari 2,5 % sampai dengan 13% secara bertahap. Kultivasi khamir pada setiap kadar etanol tertentu dilakukan sebanyak 3 kali kemudian dikultivasikan pada medium dengan kadar etanol yang lebih tinggi. Hasil pengadaptasian dari khamir dievaluasi dengan pengukuran pertumbuhan sel baik dengan penghitungan jumlah sel maupun dengan pengukuran kerapatan optik (Optical Density / OD) pada panjang gelombang 660 nm. Pengukuran laju pertumbuhan spesifik (LSP) dilakukan dengan pengukuran OD₆₆₀ dari pertumbuhan khamir tersebut. LSP didefinisikan dengan pertambahan sel (peningkatan OD₆₆₀) dibagi dengan konsentrasi dari sel khamir. Dengan menghitung tangent

(slope) dari grafik (plot) antara logaritmik dari OD₆₆₀ terhadap waktu, akan didapatkan nilai LSP.

Pengujian Fermentasi dari Khamir Teradaptasi

Khamir yang berhasil diadaptasikan dengan baik kemudian diuji kemampuan fermentasinya, dengan menggunakan medium / bahan baku molasses dan nira tebu. Pengujian fermentasi dilakukan secara curah (batch) dan semi curah.

Pengujian dilakukan pada skala 2 L dan 20 L. Pengamatan dilakukan terhadap kadar etanol yang dihasilkan, jumlah sel khamir dan pengamatan kondisi dari sel khamir (bentuk dan ukuran).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Adaptasi terhadap perubahan lingkungan diperoleh dengan mekanisme bahwa sel mengatur kondisi fisiologis intraseluler terhadap sekelilingnya untuk dapat tumbuh. Ismail dan Ali (1971); dan Gombert *et al.* (2015), melaporkan bahwa adaptasi tidak terjadi apabila perubahan lingkungan terjadi secara ekstrim. Akan tetapi sel khamir diharapkan dapat tumbuh dengan baik meskipun pada kondisi yang ekstrim jika kondisi fisiologis tersebut dapat sesuai untuk pertumbuhan pada lingkungan demikian melalui adaptasi secara bertahap. Karenanya adaptasi dilakukan dan diamati melalui peningkatan kadar alkohol secara bertahap. Galur *Saccharomyces cerevisiae* Watei dan Hakken I mempunyai respon yang berbeda terhadap adaptasi yang dilakukan. Adaptasi *Saccharomyces cerevisiae* Watei berlangsung lebih baik dibanding *Saccharomyces cerevisiae* Hakken I. Hal ini dapat dilihat dari laju pertumbuhan sel yang terjadi pada masing-masing kadar alkohol (Gambar 1).

Lebih jauh teramati bahwa laju pertumbuhan pada kultur ke-2 pada masing-masing kadar alkohol dalam medium lebih rendah dari kultur pertama, namun setelah dilakukan inokulasi dari kultur ke-2 ke kultur 3 laju pertumbuhan khamir pada masing-

Gambar 1. Grafik Perbandingan Laju Pertumbuhan Spesifik (LSP) Strain Hakken Teradaptasi dan Strain Watei Teradaptasi pada Media Mengandung Ethanol

Gambar 2. Grafik Hasil Fermentasi Curah pada Medium Molases antara Strain Watei Original dan Strain Teradaptasi Alkohol 12 % (TS 20 %)

masing kadar alkohol dapat meningkat kembali. Hal ini mengindikasikan bahwa sel khamir yang diekspose pada medium dengan kadar alkohol tertentu telah dapat beradaptasi dalam medium dengan kondisi tersebut. Laju Pertumbuhan Spesifik (LSP) dari khamir teradaptasi lebih baik dibandingkan dengan khamir yang tidak

diadaptasi. LSP dari khamir teradaptasi akan semakin lebih tinggi dari LSP khamir yang tidak diadaptasi apabila dalam medium pertumbuhan mengandung alkohol yang semakin tinggi kadarnya (Gambar 2). Hasil ini menjanjikan akan kemampuan khamir untuk tetap tumbuh dan melakukan aktivitas metabolisme pada kondisi ling-

Gambar 3. Grafik Kadar Alkohol Hasil Fermentasi Semi Curah pada Medium Molases antara Strain Watei Original dan Strain Watei Teradaptasi

kungan yang mengandung alkohol dengan kadar tinggi (Gambar 3). Upaya diperlukan untuk mendapatkan metode yang dapat mengeksplorasi ketahanan dari khamir yang teradaptasi ini terhadap cekaman etanol tinggi. Berkaitan dengan hal tersebut, diperlukan pengujian fermentasi alkohol menggunakan khamir teradaptasi tersebut dengan berbagai metode fermentasi sehingga kelebihan khamir tersebut pada konsentrasi alkohol kadar tinggi dapat dimanfaatkan.

Beberapa sistem fermentasi dapat diuji untuk penerapan penggunaan khamir teradaptasi ini dalam produksi etanol. Pengujian terhadap khamir teradaptasi menunjukkan bahwa *Saccharomyces cerevisiae* Watei teradaptasi jauh lebih baik dari *Saccharomyces cerevisiae* Hakken I. Dengan pertimbangan tersebut maka pengujian kemampuan fermentasi dilakukan hanya menggunakan khamir *Saccharomyces cerevisiae* Watei.

KESIMPULAN

Khamir yang teradaptasi mampu meningkatkan efisiensi industri etanol sampai dengan kadar etanol 13 %, sedangkan proses fermentasi yang menggunakan strain original hanya

menghasilkan kadar alkohol akhir antara 8-10 %.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexandre, H., I. Rousseaux, and C. Charpentier. 1994. Relationship between ethanol tolerance, lipid composition and plasma membrane fluidity in *Saccharomyces cerevisiae* and *Kloeckera apiculata*. FEMS Microbiol Lett. 124:17-22.
- Attfield, P.. 1997. Stress tolerance: the key to effective strains of industrial baker's yeast. Nat. Biotechnol. 15 (13):1351-1357.
- Barcelos, C.A., R.N. Maeda, L.M.M. Santa Anna, and N. Pereira. 2016. Sweet sorghum as a whole-crop feedstock for ethanol production. Biomass and Bioenergy 94:46–56.
- Brandao, R.G., J.C. Camara Rosa, J.R. Nicoli, M.V.S. Almeida, A.P. do Carmo, H.T. Queiros, and I.M. Castro. 2014. Investigating acid stress response in different *Saccharomyces* strains. Review Article. Journal of Mycology. 2014: 1 – 9.

- Caspeta, L., T. Castillo, and J. Nielsen. 2015. Modifying yeast tolerance to inhibitory conditions of ethanol production processes. *Frontiers in Bioeng. and Biotech.* 3: 1 – 15.
- Dinh, T.N., K. Nagahisa, T. Hirasawa, C. Furusawa, and H. Shimizu. 2008. Adaptation of *Saccharomyces cerevisiae* cells to high ethanol concentration and changes in fatty acid composition of membrane and cell size. *PloS ONE* 3(7): 1-7.
- Gallagher, W.P., C.Y. Winnie and H.S. Baumes. 2015. Energy balance for the corn-ethanol industry. United States Department of Agriculture. pp 1–21.
- Gombert, A.K. and A.J.A. van Maris. 2015. Improving conversion yield of fermentable sugars into fuel ethanol in 1st generation yeast-based production processes. *Current Opinion in Biotechnology* 33:81–86.
- Ismail, A.A. and M.M Ali. 1971. Selection of high ethanol yielding *Saccharomyces I.* ethanol tolerance and the effect of training in *Saccharomyces cerevisiae* Hansen. *Folia Microbiology.* 16 : 346-369.
- Lloyd, D., S. Morrell, H.N. Carlsen, H. Degn, P.E. James, and C.C. Rowlands. 1993. Effects of growth with ethanol on fermentation and membrane fluidity of *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast.* 9(8): 825-833.
- Reid, M. Lana, M.J. Morrison, X. Zhu, K.K. Jindal, and B.L. Ma. 2015. High stalk sugar corn: a potential biofuel crop for canada. *Agronomy J.* 107(2):475–85
- Tesfaw, A., and F. Assefa. 2014. Current trends in bioethanol production by *Saccharomyces cerevisiae*: substrate, inhibitor reduction, growth variables, coculture, and immobilization. Review Article. *International Scholarly Research Notices.* 2014: 1 – 11.
- Tjahyono, A.E., D.P. Meidiawati., dan T, Bambang. 1986. Pengujian toleransi berbagai galur *Saccharomyces cerevisiae* terhadap alkohol pada media molases. Laporan Teknis Unit Pelaksana Teknis Ethanol dan Proetein sel.
- Varela, C., F. Pizarro, and E. Agosin. 2004. Biomass content governs fermentation rate in nitrogen deficient wine musts. *Appl Ebviron Microbiol.* 70: 3392-3400.