

MODEL PRODUKTIVITAS PROSES PRODUKSI BIOETANOL PADA BIOREAKTOR AEROBIK DAN ANAEROBIK SINAMBUNG

PRODUCTIVITY MODEL OF BIOETHANOL PRODUCTION PROCESS IN CONTINUOUS AEROBIC AND ANAEROBIC BIOREACTOR

Irvan S. Kartawiria^{1,2)}, Khaswar Syamsu^{2)*}, Erliza Noor²⁾, Evita H. Legowo³⁾

¹⁾Departemen Teknik Kimia, Fakultas Ilmu dan Teknologi Hayati,
Universitas Swiss German, EduTown, Bumi Serpong Damai, Tangerang 15339, Indonesia

²⁾Departemen Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor
Kampus IPB Darmaga, Kotak Pos 220, Bogor 16002, Indonesia
E-mail: khaswars@yahoo.com

³⁾Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat, Universitas Swiss German, EduTown, Bumi Serpong Damai,
Tangerang 15339, Indonesia

Makalah: Diterima 7 Juni 2015; Diperbaiki 18 September 2015; Disetujui 25 September 2015

ABSTRACT

*One of the issues in bioethanol production as fuel is the low productivity of fermentation process. Application of serial continuous bioreactor could increase the fermentation productivity. Series of bioreactor running in aerobic condition followed by anaerobic fermentation may resolve cell exhaustion and low substrate utilization problems, as pre-conditioned fresh cell cultured in aerobic bioreactor is fed continuously to fermentation tank. This research studied the productivity model of such configuration and its limitation in bioethanol production. The model developed was based on unstructured growth model applied on process mass balance on steady state. Model validation and verification were conducted in 2000 mL CSTR (Continuously Stirred Tank Reactor) type experimental bioreactor, utilizing *Saccharomyces cerevisiae* ATCC18824 in nutrient broth. Glucose 20% w/v was used as carbon source in feed stream. Process kinetics and product formation were observed by measuring biomass using spectrophotometry, glucose by DNS method and ethanol produced by HPLC. The results show that model could be developed by deriving mass balance for the system, with adjustment where μ is following modified Monod equation. The model accuracy was $82.43 \pm 1.58\%$ in term of ethanol productivity. Productivity of ethanol was observed as a function of cell concentration in aerobic bioreactor (X_1) and dilution rate at anaerobic bioreactor (D_2) and its interaction was observed through the central composite design. Highest productivity of 19.01g/L.h was observed at optimized value of X_1 22g/l and D_2 0.30 h⁻¹ with the yield of $Y_{P/Stotal}$ of 0.36 g ethanol/ g sugar, while fermentative yield was 0.45 g ethanol/ g sugar. The value was higher than productivity in batch fermentation at the same working volume of bioreactor (1.01g/L.h). Overall substrate conversion on highest productivity was 87.65%, where 61.08% substrate converted into bioethanol.*

Keywords: bioethanol, continuous bioreactor, productivity model

ABSTRAK

Salah satu permasalahan dalam produksi bioetanol sebagai bahan bakar nabati adalah produktivitas proses fermentasi yang rendah. Rangkaian bioreaktor yang dioperasikan secara sinambung diketahui mampu meningkatkan produktivitas fermentasi dibandingkan pada operasi batch. Rangkaian bioreaktor aerobik dan anaerobik dapat mengatasi permasalahan konsentrasi sel dan konversi substrat yang rendah karena sel mikroorganisme ditumbuhkan dan substrat dipasok secara sinambung kedalam bioreaktor. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan model produktivitas bioetanol dari rangkaian bioreaktor tersebut. Model disusun berdasarkan penurunan neraca massa pada keadaan tunak. Model kemudian diuji pada bioreaktor berpengaduk sinambung dengan volume 2000 mL, menggunakan mikroorganisme kerja *Saccharomyces cerevisiae* ATCC18824 yang ditumbuhkan pada media standar. Glukosa dengan konsentrasi 20% bobot/ volume digunakan sebagai sumber karbon. Kinetika pertumbuhan dan pembentukan produk diamati dengan mengukur konsentrasi sel menggunakan spektrofotometer, konsentrasi substrat diukur dengan metode DNS, dan etanol diukur menggunakan HPLC. Hasil penelitian menunjukkan bahwa model yang disusun perlu disesuaikan lebih lanjut, dimana nilai μ mengikuti persamaan Monod yang dimodifikasi. Setelah penyesuaian, model mampu menggambarkan produktivitas proses dengan ketepatan $82,43 \pm 1,58\%$ dibandingkan dengan nilai hasil percobaan. Produktivitas etanol adalah fungsi dari konsentrasi sel pada bioreaktor aerobik (X_1) dan laju pengenceran pada bioreaktor anaerobik (D_2) dan interaksinya dipelajari dengan rancangan percobaan *Central Composite*. Produktivitas tertinggi diperoleh pada nilai optimum X_1 22 g/L dan D_2 0,30 jam⁻¹ sebesar 19,01 g/L.jam. Perolehan bioetanol total YP/Stotal sebesar 0,36 g etanol/ g gula dan perolehan tahapan fermentatif sebesar 0,45g etanol/ gula. Hasil produktivitas proses tersebut lebih tinggi dibandingkan fermentasi batch pada

volume yang sama yaitu 1,01 g/L.jam. Konversi substrat pada produktivitas tertinggi secara keseluruhan pada rangkaian bioreaktor terukur pada 87,65% dimana 61,08% gula dikonversi menjadi bioetanol.

Kata kunci: bioetanol, bioreaktor sinambung, model produktivitas

PENDAHULUAN

Kebijakan energi Indonesia yang dirumuskan melalui Peraturan Pemerintah Nomor 79 tahun 2014 menyatakan bahwa sumber energi baru dan terbarukan diharapkan berperan sedikitnya 23% pada bauran energi nasional pada tahun 2025, dengan kontribusi bahan bakar nabati sebesar 4,7%. Peran bioetanol sebagai bahan bakar nabati yang potensial, ditentukan oleh ketersediaan dan harga (Macrelli *et al.*, 2014). Studi untuk mendapatkan proses fermentasi yang lebih murah dengan memanfaatkan berbagai biomassa sebagai sumber gula telah dilakukan secara luas, termasuk pemanfaatan lignoselulosa, biomassa dari limbah hasil pertanian, dan biomassa dari tanaman non-pangan (Koesnandar *et al.*, 2008; Marx *et al.*, 2014; Widiyanto *et al.*, 2010). Nira sorgum, hasil hidrolisis bagas, dan polisakarida dari alga adalah bahan baku fermentasi yang telah banyak dikaji (Almodares dan Hadi, 2009; Tomas-Pejo *et al.*, 2008). Proses sakarifikasi dan fermentasi simultan banyak dipelajari untuk memproduksi bioetanol dari material yang mengandung selulosa dan polisakarida (Daud *et al.*, 2012). Kajian proses sakarifikasi dan fermentasi simultan dengan bahan baku pati sukun memberikan perolehan etanol terhadap substrat yang cukup tinggi hingga 0,41 g etanol/ g substrat dengan konsentrasi bioetanol $12,75 \pm 0,04$ g/L (Farida *et al.*, 2015). Meskipun bahan baku yang lebih murah mampu menurunkan biaya produksi, fermentasi bioetanol sendiri masih berjalan pada tingkat produktivitas yang rendah. Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa produktivitas fermentasi bioetanol dapat ditingkatkan dengan memperbaiki kondisi dan konfigurasi proses, termasuk penanganan dan perlakuan awal terhadap bahan baku (Breisha, 2010; Brethauer dan Wyman, 2010; Kartawiria *et al.*, 2015). Operasi *batch* berulang pada beberapa media diketahui mampu meningkatkan produktivitas. Penerapan operasi *batch* berulang dengan media pati singkong racun dapat mencapai produktivitas 1,78-2,66 g/L.jam dan konversi gula hingga 95,74% (Haditjaroko *et al.*, 2014). Operasi serupa pada media nira sorgum memberikan hasil produktivitas yang tinggi hingga 1,89 g/L.jam (Laopaiboon dan Laopaiboon, 2012).

Secara teoretis jumlah bioetanol yang dapat dihasilkan dari konversi gula pada proses fermentasi adalah 0,51 g untuk setiap gram gula pada substrat (Shuler dan Kargi, 1992). Selain konversi bioetanol yang relatif rendah, etanol sendiri diketahui mempunyai sifat desinfektan dan mampu menyebabkan kematian sel mikroorganisme pada konsentrasi yang tinggi (Mehdikhani *et al.*, 2011). Konsentrasi etanol rata-rata pada cairan hasil

fermentasi menggunakan mikroorganisme yang tidak mengalami modifikasi gen adalah 9% (Lin dan Tanaka, 2006). Pemanfaatan metode fermentasi Gravitasi Sangat Tinggi (*Very High Gravity*, VHG) mampu meningkatkan konsentrasi bioetanol hasil fermentasi hingga 16% (Breisha, 2010). Fermentasi VHG adalah proses fermentasi yang menggunakan konsentrasi gula tinggi pada umpan. Pada beberapa proses, fermentasi VHG juga menggunakan mikroorganisme hasil seleksi atau modifikasi genetik yang mampu beradaptasi dengan konsentrasi gula pada umpan yang relatif tinggi dan konsentrasi etanol yang lebih tinggi pula (Dragone *et al.*, 2004; Laopaiboon *et al.*, 2009). Fermentasi VHG umumnya dilakukan pada mode operasi *batch* atau *fed-batch*.

Operasi bioreaktor secara *fed-batch* dapat digunakan untuk meningkatkan konsentrasi fermentasi sekaligus mengurangi inhibisi substrat. Akan tetapi waktu operasi dan volume kerja pada bioreaktor *batch* dan *fed-batch* menyulitkan peningkatan produktivitas fermentasi menuju tingkat yang diharapkan (Laopaiboon *et al.*, 2007). Volume kerja bioreaktor di industri saat ini berkisar pada skala 10000 liter. Peningkatan volume kerja dibatasi oleh permasalahan konstruksi, operasi, dan pengendalian proses. Pada bioreaktor dengan volume kerja yang besar, permasalahan aliran fluida untuk memastikan perpindahan massa dan homogenitas proses menjadi kendala. Kebutuhan energi untuk memasok tenaga pengadukan menjadi besar mengingat peningkatan skala pada umumnya menggunakan acuan tenaga/ volume (P/V) yang tetap. Pada bioreaktor aerobik, laju perpindahan oksigen pada proses aerasi juga menjadi perhatian (Blakebrough, 1973; Shuler dan Kargi, 1992)

Operasi bioreaktor sinambung diketahui mampu memberikan produktivitas yang lebih tinggi karena membuka kemungkinan untuk meningkatkan laju alir meskipun konsentrasi bioetanol hasil fermentasi relatif sama dengan mode operasi lain (Brethauer dan Wyman, 2010; Stanbury dan Whitaker, 1984). Laju alir yang tinggi berakibat pada volume kerja yang lebih kecil dibandingkan dengan yang digunakan pada mode operasi *batch*. Pada proses kultivasi sinambung konvensional, sel mikroorganisme dipasok dari tangki inokulum lalu ditumbuhkan dalam tangki kultivasi kemudian keluar bersama aliran produk (Lin dan Tanaka, 2006). Pada operasi bioreaktor secara sinambung, seringkali substrat tidak dapat dikonversi menjadi gula secara efisien pada laju alir proses yang tinggi. Konversi gula yang rendah terjadi karena sel hanya mengkonsumsi substrat terutama untuk metabolisme dan pembentukan produk yang secara stoikiometri jumlahnya terbatas dan secara kinetika dipengaruhi

oleh laju pertumbuhan spesifiknya (van Dijken *et al.*, 1993). Modifikasi proses dengan proses daur ulang sel atau immobilisasi sel pada matriks padat dapat mengurangi kebutuhan sel mikroorganisme dan meningkatkan konversi substrat sehingga laju operasi dapat ditingkatkan (Najafpour *et al.*, 2004). Akan tetapi, kapasitas sel mikroorganisme untuk mengkonversi gula menjadi etanol semakin menurun dengan semakin panjangnya waktu proses atau jumlah daur ulang yang dilakukan (Ariyajaroenwong *et al.*, 2012). Menumbuhkan sel mikroorganisme langsung dalam jalur proses menarik untuk dikembangkan untuk mempersingkat waktu adaptasi sel dan untuk memasok sel mikroorganisme segar ke dalam proses. Sel mikroorganisme yang ditumbuhkan secara aerobik kemudian dialirkan sebagai umpan pada proses anaerobik bersama dengan kelebihan substrat yang belum digunakan. Penggunaan dua tahapan bioreaktor dapat menghasilkan konversi substrat secara keseluruhan yang lebih efisien. Konfigurasi proses ditunjukkan pada Gambar 1.

Berdasarkan persamaan neraca massa, diketahui bahwa peubah proses yang merupakan peubah bebas sangat terbatas. Kinerja dari proses secara keseluruhan dipengaruhi oleh konsentrasi sel, substrat, laju pertumbuhan, dan laju alir proses dengan hubungan yang kompleks. Hubungan antara peubah proses sesuai dengan konfigurasi pada Gambar 1 ditunjukkan pada Persamaan 1 hingga 4.

$$X_1 = f(\mu_1, D_1, S_0) \dots\dots\dots (1)$$

$$S_1 = f(X_1, D_1) \dots\dots\dots (2)$$

$$X_2 = f(\mu_2, D_2, S_1, X_1) \dots\dots\dots (3)$$

$$S_2, P_2 = f(X_2, S_1) \dots\dots\dots (4)$$

dimana X adalah konsentrasi sel, S adalah konsentrasi substrat (glukosa), P adalah konsentrasi bioetanol, seluruhnya dalam satuan g/L, sedangkan D adalah laju pengenceran (*dilution rate*) dan μ adalah konstanta pertumbuhan spesifik mikroorganisme, keduanya dalam satuan jam⁻¹.

Angka 1 pada simbol menunjukkan bioreaktor aerobik dan angka 2 menunjukkan bioreaktor anaerobik. Interaksi yang kompleks dari parameter proses tersebut perlu diurai dalam sebuah model yang mampu menggambarkan produktivitas proses. Model yang mampu menggambarkan produktivitas proses kemudian dapat dioptimisasi sehingga parameter proses yang memberikan produktivitas tertinggi dapat diketahui.

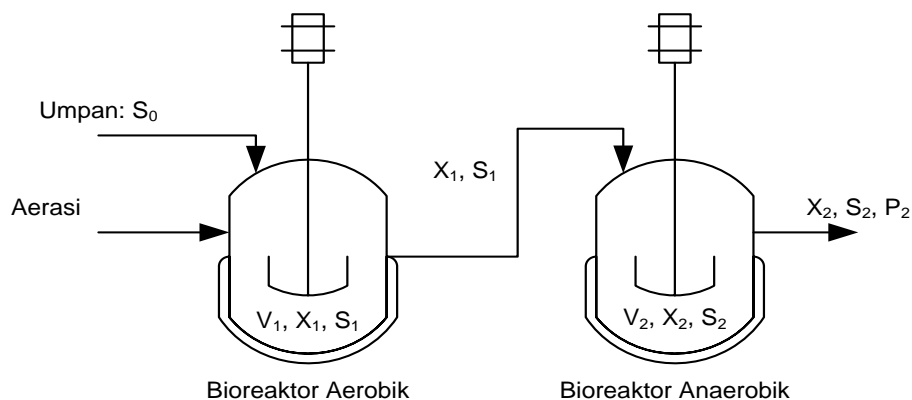
Tujuan dari penelitian ini adalah menyusun model produktivitas fermentasi bioetanol pada rangkaian bioreaktor aerobik dan anaerobik yang dioperasikan secara sinambung, sehingga didapatkan kondisi optimum dimana sel dapat mengkonversi gula menjadi bioetanol pada laju pengenceran (D) dan konsentrasi sel (X) yang menghasilkan produktivitas etanol yang tinggi.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi media pertumbuhan mikroba *Nutrient Broth* (Merck, Jerman), glukosa bubuk (Merck, Jerman), larutan buffer pH 4,5 dan pH 8,0, dan bahan kimia untuk analisis. Mikroorganisme yang digunakan adalah *Saccharomyces cerevisiae* ATCC18824/ BTCC Y-34 (Puslit Biotek – LIPI, Indonesia). Mikroba disimpan dalam biakan agar miring *Potato Dextrose Agar* (Merck, Jerman) dan ditumbuhkan pada media *Nutrient Broth* selama 6-12 jam sebelum digunakan.

Alat utama yang digunakan adalah bioreaktor berpengaduk dengan kapasitas total 3000 mL dan volume kerja 1500 – 2000 mL. Aerasi pada bioreaktor aerobik diberikan melalui pompa udara dengan filter (Milipore, Amerika) pada laju 0,8 volume udara/ volume cairan/ menit (VVM). Volume inokulum yang digunakan pada awal proses sebesar 10% dari volume kerja. Proses dijalankan selama 72 jam pada keadaan tunak, pada suhu 35°C dan pH 6,5 sesuai dengan kondisi optimum proses pada mode operasi batch yang diperoleh dari penelitian pendahuluan.



Gambar 1. Konfigurasi proses aerobik dan anaerobik sinambung untuk produksi bioetanol

Konsentrasi sel diukur dengan metode turbidimetri menggunakan spektrofotometer (GeneSys, Amerika) pada panjang gelombang 600 nm kemudian dikonversi menjadi satuan massa/volume menggunakan kurva baku yang telah dibuat sebelumnya. Konsentrasi glukosa diukur dengan Biosensor GlucoDR™ (GlucoDR, Amerika) dan dikonfirmasi dengan metode DNS. Sebanyak 1 mL sampel dicampurkan dengan 1 mL reagen asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS, Sigma, Amerika) dalam tabung reaksi kemudian dipanaskan dalam penangas pada suhu 90°C selama 5 menit. Larutan kemudian didinginkan hingga mencapai suhu ruang. Absorbansi larutan diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm. Konsentrasi gula pereduksi dalam sampel ditentukan berdasarkan kurva baku yang telah dibuat sebelumnya.

Konsentrasi etanol yang terbentuk diukur dengan kromatografi cair kinerja tinggi dengan fase gerak H₂SO₄ 0,008 N pada kolom Aminex® HPX-87H. Analisis konsentrasi etanol dikerjakan oleh Laboratorium Pusat Bioteknologi, BPPT, Indonesia.

Metode Pengembangan Model

Model dikembangkan berdasarkan neraca massa dengan asumsi tidak terdapat mikroorganisme pada umpan (umpan dalam keadaan steril), mikroorganisme tumbuh dengan memanfaatkan satu jenis sumber karbon, dan bioetanol yang terbentuk pada bioreaktor aerobik jumlahnya dapat diabaikan. Asumsi tersebut disusun berdasarkan pengamatan pertumbuhan sel pada kondisi aerobik dan anaerobik pada skala yang lebih kecil. Neraca massa pada bioreaktor aerobik diturunkan dari persamaan umum, dengan F adalah laju alir massa dan V adalah volume bioreaktor, sebagai berikut:

$$\frac{dV_1X_1}{dt} = F(X_0 - X_1) + \mu_1 X_1 V_1 \dots\dots\dots (5)$$

untuk konsentrasi sel, sedangkan untuk substrat:

$$\frac{dV_1S_1}{dt} = F(S_0 - S_1) - \mu_1 X_1 V_1 \frac{1}{Y_{x/s1}} \dots\dots\dots (6)$$

Untuk bioreaktor anaerobik, model diturunkan dari persamaan neraca massa dengan pembentukan produk secara *growth related*:

$$\frac{dV_2X_2}{dt} = F(X_1 - X_2) + \mu_2 X_2 V_2 \dots\dots\dots (7)$$

untuk konsentrasi sel, sedangkan untuk substrat:

$$\frac{dV_2S_2}{dt} = F(S_1 - S_2) - \mu_2 X_2 V_2 \frac{1}{Y_{x/s2}} - q_p X_2 V_2 \frac{1}{Y_{p/s2}} \dots\dots (8)$$

dimana,

$$q_p = Y_{p/x2} \mu_2 \dots\dots\dots (9)$$

dan pembentukan produk:

$$\frac{dV_2P_2}{dt} = F(P_1 - P_2) + q_p X_2 V_2 \dots\dots\dots (10)$$

Parameter kinetika pertumbuhan sel diperoleh dari pengamatan pada mode operasi *batch* pada kondisi pH 6,5 dan suhu 35°C. Suhu dan pH tersebut digunakan pula pada proses yang dijalankan pada kondisi operasi sinambung.

Validasi dan Verifikasi

Berdasarkan penurunan persamaan neraca massa, diketahui bahwa peubah proses yang dapat dimanipulasi terbatas pada konsentrasi sel mikroorganisme pada bioreaktor aerobik (*X₁*) dan laju pengenceran pada bioreaktor anaerobik (*D₂*). Verifikasi dilakukan dengan melakukan pengamatan pada proses yang diberi umpan steril mengandung glukosa 20%, dengan variasi perlakuan *X₁* antara 8,0-22,0 g/L dan *D₂* antara 0,30-0,44 jam⁻¹ sesuai dengan rancangan percobaan. Variasi *D₂* diperoleh dengan mengubah volume kerja pada bioreaktor anaerobik. Volume kerja bioreaktor aerobik adalah 2000 mL dengan laju alir 0,206 mL/det. Rancangan percobaan *Central Composite* dengan 2 faktor digunakan pada penelitian ini. Pengamatan dilakukan pada konsentrasi sel mikroorganisme, konsentrasi glukosa, dan bioetanol. Analisis interaksi dan optimisasi dilakukan menggunakan perangkat lunak Minitab 17. Produktivitas yang dihitung dari konsentrasi bioetanol menjadi respon dalam rancangan percobaan. Hasil perhitungan menggunakan model dibandingkan dengan hasil pengamatan untuk menentukan ketepatan dan keberlakuannya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengembangan Model dan Validasi

Parameter kinetika yang digunakan pada proses ditunjukkan pada Tabel 1. Parameter kinetika ini ditentukan dari percobaan yang dilakukan pada mode *batch* pada kondisi operasi yang sama dengan kondisi sinambung.

Penurunan persamaan neraca massa pada persamaan 5 hingga 10 pada keadaan tunak (*chemostat*) pada CSTR (*Continuously Stirred Tank Reactor*) memberikan model tercantum pada Tabel 2. Asumsi bahwa produksi bioetanol pada bioreaktor aerobik dapat diabaikan diverifikasi berdasarkan pengukuran *Y_{P/X1}* yang relatif rendah, sehingga laju pembentukan etanol *q_p* = *Y_{P/X1}* *μ₁* nilainya menjadi sangat kecil. Penyusunan model berdasarkan neraca massa tersebut relatif sederhana tetapi mampu menunjukkan interaksi antar parameter proses. Pada penyusunan model tersebut, ditambahkan dua asumsi yaitu pada bioreaktor aerobik, nilai *D₁* ditetapkan sedikit di bawah *μ₁* dan nilainya ditetapkan konstan.

Tabel 1. Parameter kinetika pertumbuhan mikroorganismen yang digunakan pada proses sinambung

| Parameter Kinetika | Bioreaktor Aerobik | Bioreaktor Anaerobik |
|---|------------------------|------------------------|
| Konstanta laju pertumbuhan spesifik (μ) | 0,37 jam ⁻¹ | 0,14 jam ⁻¹ |
| Laju alir (F) | | 0,206 mL/det |
| Konstanta kejenuhan Monod (K_s) | 22 g/L | 14,5 g/L |
| Perolehan sel terhadap substrat ($Y_{X/S}$) | 0,72 | 0,22 |
| Perolehan etanol terhadap sel ($Y_{P/X}$) | - | 4,30 |

Tabel 2. Model proses bioreaktor aerobik dan anaerobik sinambung

| Material | Bioreaktor Aerobik | Bioreaktor Anaerobik |
|--------------|--|---|
| Sel (X) | $D_{1max} = \mu_1$ | $X_2 = \frac{D_2 X_1}{(D_2 - \mu_2)}$ |
| Substrat (S) | $S_1 = S_0 - \frac{\mu_1 X_1}{D_1 Y_{X/S1}}$ | $S_2 = S_1 - \frac{2\mu_2 X_2}{D_2 Y_{X/S2}}$ |
| Produk (P) | - | $P_2 = \frac{\mu_2}{D_2} X_2 Y_{P/X2}$ |

Produktivitas proses secara keseluruhan dihitung dalam satuan g/L.jam yang merupakan perkalian konsentrasi produk (P_2) dengan laju pengenceran. Konversi keseluruhan proses ditentukan sebagai perbandingan jumlah substrat yang terkonsumsi di kedua bioreaktor terhadap jumlah substrat pada umpan proses.

Keberlakuan model secara fisik dibatasi oleh konsentrasi maksimum etanol yang dapat ditoleransi oleh mikroorganismen yaitu 12% (Mehdikhani *et al.*, 2011). Secara teoretis, konsentrasi glukosa pada umpan sebesar 20% mampu memberikan konsentrasi etanol sebesar 10,2% jika konversi terjadi secara maksimal. Konsentrasi glukosa pada umpan yang digunakan juga dipilih memiliki satu tingkat besaran lebih tinggi daripada konstanta kejenuhan Monod (K_s) yang diamati pada proses *batch* sehingga menjadi dasar untuk asumsi penurunan model, yaitu besaran μ akan konstan dengan nilai mendekati μ_{max} (Shuler dan Kargi, 1992). Akan tetapi, persamaan model yang dikembangkan secara matematis memberikan nilai konsentrasi substrat S_2 kurang dari 0 pada konsentrasi sel X_1 yang tinggi, sehingga memberikan hasil perhitungan produktivitas yang sangat tinggi. Hal ini secara fisik tidak dimungkinkan sehingga perlu dilakukan penyesuaian pada model yang digunakan dengan faktor pembatas yaitu $S_2 \geq 0$. Model kemudian disesuaikan dengan batasan jika S_2 pada perhitungan pertama memberikan nilai kurang dari 3 kali nilai konstanta kejenuhan K_s maka nilai μ tidak lagi ditetapkan konstan melainkan dihitung dengan persamaan Monod termodifikasi sebagaimana tercantum pada Persamaan 11. Menurut persamaan Monod, apabila nilai $S_2 \leq K_{s2}$, maka nilai konstanta laju pertumbuhannya sebesar 75% dari nilai μ_{max} . Perbedaan nilai μ dan μ_{max} tersebut cukup signifikan untuk mempengaruhi perhitungan parameter proses

lainnya. Nilai μ_2 diestimasi dengan persamaan Monod yang dimodifikasi sebagai berikut:

$$\mu_2 = \frac{\mu_{max2} \cdot S^*}{(K_{s2} + S^*)} \dots\dots\dots (11)$$

dimana S^* merupakan fungsi dari nilai S_1 . Proses fermentatif berlangsung secara dinamis pada laju alir yang rendah dan laju pertumbuhan mikroorganismen pada bioreaktor anaerobik merupakan fungsi dari substrat pembatas (*growth limiting substrate*). Meskipun bioreaktor dijalankan sebagai sebuah sistem *chemostat*, konsentrasi substrat dan parameter proses lainnya membutuhkan waktu yang cukup sebelum mencapai keadaan tunak. Laju pertumbuhan mikroorganismen tertinggi pada saat aliran umpan masuk, kemudian menurun sepanjang waktu tinggal cairan sampai tercapai keadaan tunaknya. Bentuk awal persamaan Monod yang menggunakan residu substrat tidak dapat digunakan untuk melakukan pemodelan karena sifatnya yang tidak prediktif. Nilai laju pertumbuhan yang teramati pada keadaan tunak tersebut dapat diestimasi melalui perhitungan konstanta laju pertumbuhan spesifik dengan memasukkan nilai S_1 sebagai S^* pada Persamaan 11. Modifikasi persamaan Monod dengan menerapkan fungsi pada nilai substrat juga dilakukan pada beberapa persamaan seperti pada persamaan Moser dan Blackman (Ardestani dan Shafiei, 2014). Shuler dan Kargi (1979) merumuskan sebuah persamaan laju pertumbuhan mikroorganismen yaitu:

$$r = \frac{dv}{dS} = K v^a (1 - v)^b$$

dimana v adalah konstanta laju pertumbuhan tak berdimensi yang merupakan rasio dari μ/μ_{max} . Nilai K , a , dan b ditetapkan berdasarkan masing-masing model pertumbuhan sebagaimana tercantum pada Tabel 3.

Tabel 3. Konstanta untuk persamaan umum laju pertumbuhan pada berbagai model (Shuler dan Kargi, 1979)

| Model | K | a | b |
|----------|---------------|---------|---------|
| Monod | 1/ K_s | 0 | 2 |
| Teissier | 1/ K_s | 0 | 1 |
| Moser | $n/K_s^{1/n}$ | 1 - 1/n | 1 + 1/n |
| Contois | 1/ K' | 0 | 2 |

Setelah modifikasi dilakukan, nilai μ_2 menjadi kurang dari nilai maksimumnya dan semua parameter proses bernilai lebih besar dari 0 pada seluruh variasi perlakuan.

Verifikasi Model

Model yang diturunkan di atas menunjukkan bahwa parameter proses yang dapat menjadi peubah bebas terhadap produktivitas adalah konsentrasi sel pada bioreaktor aerobik (X_1) dan laju pengenceran pada bioreaktor anaerobik (D_2). Kedua parameter tersebut dapat divariasikan secara teknis dan bersifat independen satu sama lain. Konsentrasi sel pada bioreaktor aerobik dapat diatur dengan mengendalikan jumlah inokulum dan memberikan waktu pertumbuhan yang cukup sehingga sel mencapai fase logaritmik pada saat proses mulai dijalankan. Laju pengenceran D_2 diatur dengan mengendalikan volume kerja pada bioreaktor anaerobik. Pengaturan volume kerja perlu dilakukan karena laju alir volumetrik pada bioreaktor aerobik dan anaerobik ditetapkan sama agar keadaan tunak pada CSTR tercapai. Perubahan volume kerja bioreaktor untuk mengakomodasi variasi laju pengenceran harus tetap memperhatikan kondisi teknis bioreaktor agar bekerja secara optimal.

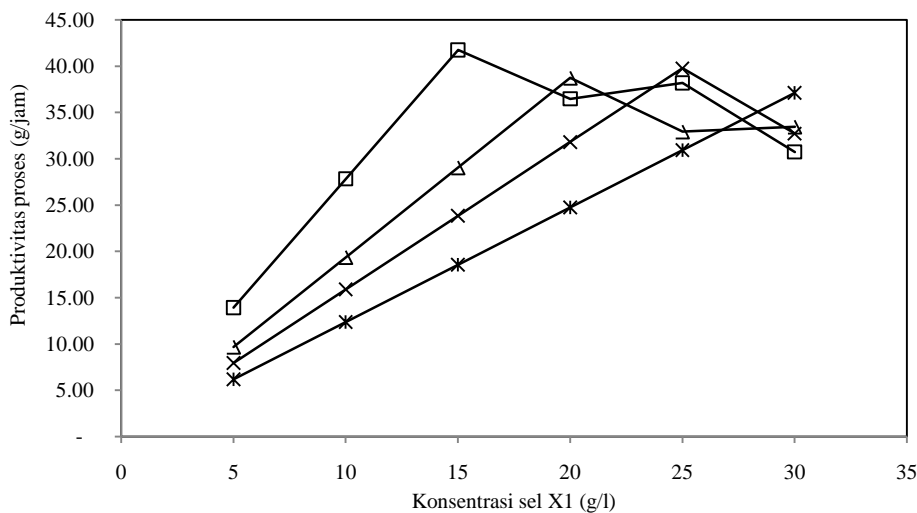
Berdasarkan evaluasi, besaran peubah proses yang dapat diaplikasikan secara teknis adalah konsentrasi sel X_1 antara 10 - 20 g/L dan laju pengenceran 0,30 - 0,42 jam⁻¹. Besaran konsentrasi sel (X_1) ditetapkan berdasarkan pengamatan fase logaritmik mikroorganisme pada mode operasi *batch*. Mikroorganisme pada fase logaritmik memiliki aktivitas metabolisme tertinggi untuk memproduksi biomassa sel maupun metabolit seperti etanol. Laju pengenceran bioreaktor anaerobik

sebesar ditetapkan berdasarkan volume bioreaktor yang memberikan dimensi dan rasio diameter bioreaktor terhadap tinggi cairan optimal, yaitu antara 1:1 hingga 1:3 (McCabe *et al.*, 2005). Pada rasio lebih rendah dari 1:1, *headspace* pada bioreaktor anaerobik terlalu tinggi sehingga kondisi anaerobik tidak mudah diperoleh. Pada rasio yang lebih tinggi dari 1:3, pengadukan cairan dengan pengaduk magnetis yang memberikan pola radial tidak berlangsung secara efektif sehingga cairan pada bioreaktor dapat menjadi tidak homogen (Sianturi *et al.*, 2014).

Gambar 2 menunjukkan produktivitas proses keseluruhan berdasarkan model pada berbagai konsentrasi sel dan laju pengenceran dengan umpan glukosa 20%. Hasil perhitungan model yang ditampilkan pada Gambar 2 menunjukkan bahwa produktivitas proses pada besaran peubah proses relatif cukup tinggi dan memiliki pola perubahan yang hampir sama. Penentuan besaran peubah proses dapat dikonfirmasi untuk kemudian dievaluasi interaksinya.

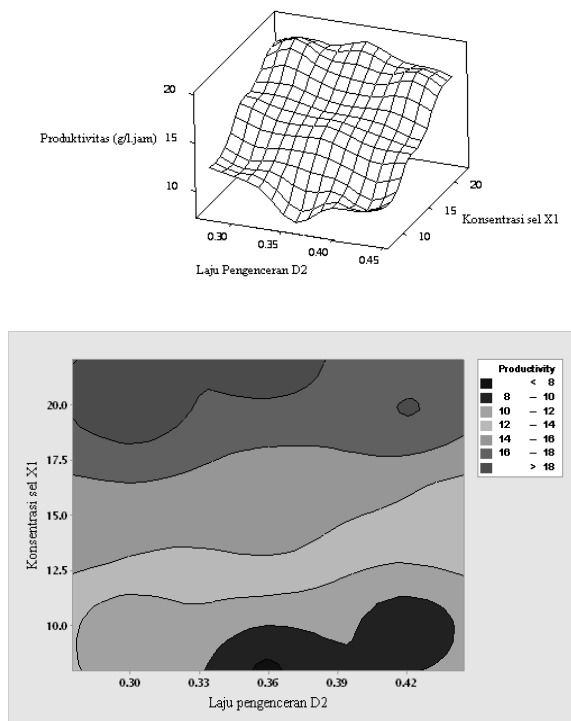
Interaksi antara X_1 dan D_2 kemudian dievaluasi secara bersamaan menggunakan rancangan percobaan *Central Composite* dengan variasi perlakuan X_1 antara 8,0-22,0 g/L dan D_2 antara 0,30-0,44 jam⁻¹. Hasil perhitungan berdasarkan nilai produktivitas teoretis sebagai respon ditampilkan pada Gambar 3. Dari kurva tersebut, interaksi X_1 dan D_2 dinyatakan berdasarkan Persamaan 12:

$$\begin{aligned} \text{Produktivitas} = & 5,94 + 1,232 X_1 - 21,4 D_2 - \\ & 0,02164 X_1^2 - 5,8 D_2^2 \\ & + 0,684 X_1.D_2 \dots\dots\dots \end{aligned} \quad (12)$$



Gambar 2. Produktivitas proses pada berbagai konsentrasi sel X_1 dan laju pengenceran (□=0,30 jam⁻¹, △=0,37 jam⁻¹, ×=0,42 jam⁻¹, dan *= 0,50 jam⁻¹)

Dari Gambar 3 dan konstanta pada Persamaan 12 diperoleh bahwa produktivitas bioetanol berkorelasi positif dengan peningkatan konsentrasi sel pada bioreaktor aerobik. Korelasi ini ditunjukkan oleh konstanta X_1 yang sangat dominan. Berdasarkan Persamaan 12 diketahui pula bahwa terdapat konsentrasi sel optimal, karena pada konsentrasi sel yang sangat tinggi maka sebagian besar substrat dari umpan digunakan untuk menjaga konsentrasi sel pada kondisi aerobik. Pada luaran bioreaktor aerobik, konsentrasi gula yang dapat dikonversi menjadi bioetanol menurun dan produktivitas bioetanol juga lebih rendah.



Gambar 3. Interaksi laju pengenceran (D_2) dengan konsentrasi sel awal (X_1) terhadap produktivitas fermentasi etanol

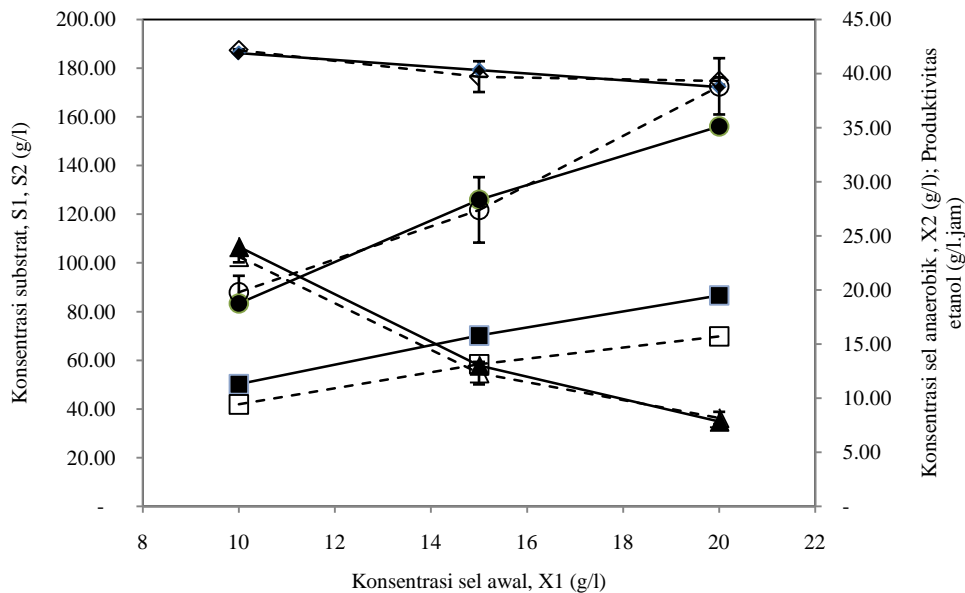
Residu gula pada luaran bioreaktor dapat dikonversi dengan efektif pada bioreaktor anaerobik apabila laju pengencerannya cukup rendah. Persamaan 12 mengkonfirmasi korelasi tersebut dengan konstanta negatif pada D_2 . Penentuan laju pengenceran pada bioreaktor anaerobik dipengaruhi oleh laju pertumbuhan spesifik sel pada kondisi fermentatif dan volume kerja bioreaktor itu sendiri. Pada laju pengenceran yang sangat rendah, sel mendapatkan waktu tinggal yang cukup untuk mengkonversi gula menjadi bioetanol. Akan tetapi laju pengenceran yang rendah berarti diperlukan volume kerja bioreaktor yang lebih besar.

Verifikasi model dilakukan dengan melakukan pengukuran terhadap konsentrasi substrat S_1 , S_2 , konsentrasi sel X_2 dan produk. Perbedaan antara parameter proses hasil pemodelan dengan pengukuran ditunjukkan pada Gambar 4. Dari

Gambar 4 tersebut dapat dilihat bahwa model memberikan respon yang mendekati nilai aktual dengan perbedaan rata-rata antara nilai hasil perhitungan dan hasil pengukuran sebesar $82,43 \pm 1,58\%$ untuk nilai produktivitas. Hal ini juga menunjukkan bahwa penyesuaian model dengan mengubah μ menggunakan persamaan Monod termodifikasi memiliki keberlakuan yang cukup baik dan konsentrasi substrat umpan dapat digunakan untuk melakukan estimasi apabila konsentrasi residu substrat belum diketahui. Persamaan Monod secara umum diketahui memberikan hasil yang realistis dan relatif sederhana untuk menunjukkan korelasi antara substrat dan konstanta pertumbuhan spesifik (Snoep *et al.*, 2009; Verduyn *et al.*, 1991). Meskipun studi terdahulu menunjukkan bahwa modifikasi μ menggunakan persamaan Verhulst mampu memprediksi pertumbuhan sel dengan lebih baik pada proses *batch* (Ardestani dan Shafiei, 2014), pada proses sinambung persamaan Monod dapat digunakan dengan perbedaan pengukuran terhadap model kurang dari 10%. Dengan demikian model produktivitas yang dikembangkan dapat digunakan untuk menggambarkan perilaku sistem.

Parameter proses optimum ditentukan dengan melakukan optimisasi persamaan model (Persamaan 12) untuk mendapatkan produktivitas bioetanol maksimum. Dari optimisasi Persamaan 12 untuk produktivitas tertinggi diperoleh bahwa parameter terbaik untuk proses adalah X_1 sebesar 22,0 g/L dan D_2 sebesar 0,30 jam⁻¹ yang memberikan produktivitas bioetanol teroretis sebesar 21,36 g/L.jam. Pengukuran yang dilakukan pada konsentrasi sel dan laju pengenceran tersebut memberikan hasil produktivitas bioetanol sebesar 19,01 g/L.jam. Konsentrasi sel pada pengamatan menunjukkan nilai yang lebih tinggi daripada perhitungan sehingga konsentrasi residu gula pada luaran bioreaktor aerobik yang dapat dikonversi menjadi bioetanol menjadi lebih sedikit. Perbedaan ini terutama terjadi kemungkinan karena nilai μ yang menjadi dasar penetapan laju alir proses diperoleh dari estimasi pada operasi *batch*. Pada kondisi sinambung, sel dijaga berada pada fase pertumbuhan logaritmik sehingga laju pertumbuhan kemungkinan sedikit lebih tinggi dari estimasi awal. Pada operasi di industri pada umumnya laju pengenceran ditetapkan sedikit lebih rendah daripada nilai μ aktual sehingga menyebabkan terjadinya akumulasi sel dengan laju yang rendah.

Evaluasi proses memberikan nilai perolehan bioetanol terhadap substrat secara keseluruhan ($Y_{P/S}$ proses) dari rangkaian proses aerobik dan anaerobik sebesar 0,36 g etanol/ g gula. Nilai perolehan tersebut lebih rendah daripada nilai teoretis sebesar 0,51 g etanol/ g gula, karena substrat digunakan untuk produksi biomassa sel dan energi pada bioreaktor aerobik selain untuk pembentukan bioetanol pada bioreaktor anaerobik.



Gambar 4. Perbandingan parameter proses hasil pemodelan dan pengukuran pada $D_2=0,3 \text{ jam}^{-1}$ (\blacklozenge = S_1 model, \diamond = S_1 aktual, \blacktriangle = S_2 model, \triangle = S_2 aktual, \bullet = X_2 model, \circ = X_2 aktual, \blacksquare =Produktivitas model, \square =Produktivitas aktual)

Akan tetapi, perhitungan perolehan bioetanol terhadap substrat pada bioreaktor fermentatif saja memberikan hasil mencapai 0,45 g etanol/ g gula. Nilai tersebut cukup tinggi apabila dibandingkan dengan penelitian terdahulu yang berkisar antara 0,45 – 0,47 g etanol/ g gula (Syamsu *et al.*, 2009; Syamsu, 2009). Nilai $Y_{P/S}$ yang baik menunjukkan bahwa proses berlangsung dengan efektif dan mikroorganisme *S. cerevisiae* bekerja sesuai dengan pola metabolisme yang diharapkan. Penggunaan media standar pada tahapan penelitian ini menjadi salah satu faktor kesesuaian pola metabolisme mikroorganisme dengan teori. Perilaku proses pada media kompleks perlu dipelajari lebih lanjut.

Sesuai dengan pendekatan teoretis, produktivitas pada mode operasi sinambung berada pada tingkat besaran yang lebih tinggi daripada produktivitas bioetanol hasil mode operasi *batch* pada volume yang sama, yaitu 1,01 g/L.jam yang diperoleh pada percobaan pendahuluan. Pada produktivitas tertinggi, konversi total substrat pada rangkaian proses total sebesar 87,65%. Secara keseluruhan proses berlangsung secara efisien dimana 61,08% gula yang dipasok pada umpan dikonversi oleh mikroorganisme menjadi bioetanol dan sisanya dikonversi menjadi biomassa, metabolit lain, dan untuk keperluan *maintenance* sel. Sisa gula yang terdapat pada luaran proses dapat disirkulasikan kembali kedalam bioreaktor, baik dicampurkan dengan umpan maupun pada bioreaktor fermentatif. Akan tetapi pengaruh dari penambahan alur aliran umpan balik tersebut terhadap peningkatan efisiensi proses lebih lanjut perlu dipelajari dengan lebih baik. Nilai konversi gula yang lebih tinggi daripada proses fermentasi

sinambung satu tahap sebesar 56,5 – 58,0%, menunjukkan bahwa tujuan untuk mengembangkan proses yang efisien dari sisi penggunaan bahan baku telah tercapai.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Model produktivitas produksi bioetanol pada bioreaktor aerobik dan anaerobik sinambung dapat diperoleh berdasarkan persamaan neraca massa dengan penyesuaian menggunakan persamaan Monod yang dimodifikasi untuk menentukan nilai konstanta pertumbuhan spesifik. Model yang disusun memiliki kesesuaian terhadap pengukuran produktivitas nyata dengan perbedaan sebesar $82,43 \pm 1,58\%$. Perolehan bioetanol (*yield* $Y_{P/S}$) proses secara keseluruhan adalah 0,36 g etanol/ g gula, sementara perolehan pada bioreaktor fermentatif saja sebesar 0,45 g etanol/ g gula. Produktivitas bioetanol pada mode operasi bioreaktor aerobik dan anaerobik sinambung optimum diperoleh pada $X_1 22,0 \text{ g/L}$ dan D_2 sebesar $0,30 \text{ jam}^{-1}$ sebesar $19,01 \text{ g/L.jam}$, lebih tinggi dibandingkan pada mode operasi *batch* pada volume bioreaktor yang sama sebesar 1,01 g/L.jam. Konversi substrat total sebesar 87,65% menunjukkan proses fermentasi berlangsung secara efisien.

Saran

Keberlakuan model yang dikembangkan pada penelitian ini perlu dikaji lebih lanjut pada rentang konsentrasi substrat yang lebih rendah khususnya untuk melakukan verifikasi terhadap modifikasi persamaan Monod. Perilaku proses pada media alami, berupa nira atau konsentrat nira, juga perlu dipelajari lebih lanjut untuk penerapan proses

bioreaktor aerobik dan anaerobik sinambung pada berbagai media fermentasi, khususnya pada media sisa hasil pertanian atau limbah biomassa yang mengandung gula lainnya. Informasi tersebut diperlukan untuk meningkatkan potensi penurunan biaya produksi bioetanol lebih lanjut dan memberikan peluang lebih besar untuk memastikan ketersediaan bioetanol sebagai bahan bakar nabati.

DAFTAR PUSTAKA

- Almodares A dan Hadi MR. 2009. Production of bioethanol from sweet sorghum: A review. *Afri J Agric Res.* 4(9): 772–780.
- Ardestani F dan Shafiei S. 2014. Non-Structured Kinetic Model for the Cell Growth of *Saccharomyces cerevisiae* in a Batch Culture. *Iran J Energy Environ.* 5(1): 8–12.
- Ariyajaroenwong P, Laopaiboon P, Jaisil P, Laopaiboon L. 2012. Repeated-batch ethanol production from sweet sorghum juice by *Saccharomyces cerevisiae* immobilized on sweet sorghum stalks. *Energies.* 5(4): 1215–1228.
- Blakebrough N. 1973. Fundamentals of fermenter design. *Pure Appl Chem.* 36(3): 305–315.
- Breisha GZ. 2010. Production of 16% ethanol from 35% sucrose. *Biomass and Bioenergy.* 34(8): 1243–1249.
- Brethauer S dan Wyman CE. 2010. Review: Continuous hydrolysis and fermentation for cellulosic ethanol production. *Bioresour Technol.* 101(13): 4862–74.
- Daud M, Syafii W, dan Syamsu K. 2012. Bioethanol production from several tropical wood species using simultaneous saccharification and fermentation processes. *Wood Res J.* 3(2): 106–116.
- Dragone G, Silva DP, de Almeida e, Silva JB. 2004. Factors influencing ethanol production rates at high-gravity brewing. *LWT - Food Sci Technol.* 37(7): 797–802.
- Farida I, Syamsu K, dan Rahayuningsih M. 2015. Direct ethanol production from breadfruit starch (*Artocarpus communis* Forst.) by Engineered simultaneous saccharification and fermentation (ESSF) using Microbes Consortium. *Int J Renew Energy Dev.* 4(1): 25–31.
- Haditjaroko L, Syamsu K, Meryandini A, Manurung AJ. 2014. Produksi bioetanol dari hidrolisis pati singkong racun dengan fermentasi repeated-batch oleh *Saccharomyces cerevisiae* terimobilisasi pada ampas singkong. *J Tek Ind Pert.* 24(1): 20–27.
- Kartawiria IS, Syamsu K, Noor E, Sa'id EG. 2015. Sorghum stalk juice pre-treatment method for bioethanol fermentation process. *Energy Procedia.* 65: 140–145.
- Koesnandar K, Helianti I, dan Nurhayati N. 2008. Recent developments in the bioconversion of lignocelluloses into ethanol. *Microbiol Indo.* 2(3): 101–106.
- Laopaiboon L dan Laopaiboon P. 2012. Ethanol production from sweet sorghum juice in repeated-batch fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* immobilized on corncob. *World J Microbiol Biotechnol.* 28(2): 559–566.
- Laopaiboon L, Nuanpeng S, Srinophakun P, Klanrit P, Laopaiboon P. 2009. Ethanol production from sweet sorghum juice using very high gravity technology: effects of carbon and nitrogen supplementations. *Biores Technol.* 100(18): 4176–82.
- Laopaiboon L, Thanonkeo P, Jaisil P, Laopaiboon P. 2007. Ethanol production from sweet sorghum juice in batch and fed-batch fermentations by *Saccharomyces cerevisiae*. *World J Microbiol Biotechnol.* 23(10): 1497–1501.
- Lin Y dan Tanaka S. 2006. Ethanol fermentation from biomass resources: current state and prospects. *Appl Microbiol Biotechnol.* 69(6): 627–642.
- Macrelli S, Galbe M, dan Wallberg O. 2014. Effects of production and market factors on ethanol profitability for an integrated first and second generation ethanol plant using the whole sugarcane as feedstock. *Biotechnol Biofuels.* 7(1): 26.
- Marx S, Ndaba B, Chiyanzu I, Schabert C. 2014. Fuel ethanol production from sweet sorghum bagasse using microwave irradiation. *Biomass and Bioenergy.* 65: 145–150.
- McCabe WL, Smith JC, dan Harriot P. 2005. *Unit Operations of Chemical Engineering* (7th ed.). New York: McGraw-Hill.
- Mehdikhani P, Bari MR, dan Hovsepian H. 2011. Screening of *Saccharomyces cerevisiae* for high tolerance of ethanol concentration and temperature. *Afri J Microbiol.* 5(18): 2654–2660.
- Najafpour G, Younesi H, Syahidah Ku Ismail K. 2004. Ethanol fermentation in an immobilized cell reactor using *Saccharomyces cerevisiae*. *Biores Technol.* 92(3): 251–260.
- Shuler ML dan Kargi F. 1979. Generalized differential specific rate equation for microbial growth. *Biotechnol Bioeng.* 21(10): 1871–1875.
- Shuler ML dan Kargi F. 1992. *Bioprocess Engineering Basic Concepts*. New Jersey: Prentice-Hall.
- Sianturi S, Kartawiria IS, dan Kusumocahyo SP. 2014. Development and Characterization of

- Low Volume Aerobic Bioreactor. In *Reg Conf Chem Eng*. Yogyakarta: RCChE.
- Snoep JL, Mrwebi M, Schuurmans JM, Rohwer JM, Teixeira de Mattos MJ. 2009. Control of specific growth rate in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiol*. 155(Pt 5): 1699–707.
- Stanbury PF dan Whitaker A. 1984. *Principle of Fermentation Technology*. Oxford: Pergamon Press.
- Syamsu K. 2009. Rekayasa Bioproses Produksi Bioetanol dari Hidrolisat Pati Sagu (*Metroxylon* sp.) Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* var *ellipsoideus*. In *Lap Hibah Kompetensi*. DITJEN DIKTI.
- Syamsu K, Richana N, dan Budianto A. 2009. Rekayasa Bioproses Produksi Bioetanol dari Hidrolisat Pati Ubi Jalar (*Ipomoea batatas* L.) menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*. In *Kerjasama Kemitraan Peneliti Pertanian dengan Perguruan Tinggi* (pp. 278–279). Departemen Pertanian.
- Tomas-Pejo E, Oliva JM, dan Ballesteros M. 2008. Realistic approach for full-scale bioethanol production from lignocellulose μ : a review. *J Sci Ind Res*. 67 : 874–884.
- Van Dijken JP, Weusthuis RA, dan Pronk JT. 1993. Kinetics of growth and sugar consumption in yeasts. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 63(3-4): 343–352.
- Verduyn C, Stouthamer AH, Scheffers WA, van Dijken JP. 1991. A theoretical evaluation of growth yields of yeasts. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 59(1): 49–63.
- Widianto D, Arofatullah A, Yuwono T, Dwidya I. 2010. Ethanol production by fermentation of various sweet-stalk sorghum juices using various yeast strains. *Indo J Biotechnol*. 15(2): 86–93.