

Fermentasi ko-kultur merupakan salah satu alternatif untuk produksi bioetanol pada media lignoselulosa. Konsorsium beberapa jenis mikroba menunjukkan aktivitas degradasi yang efisien untuk substrat selulosa termasuk limbah tebu, jerami padi, daun jagung dan limbah industri kertas dari *Eucalyptus* (Wongwilaiwalin, 2010). Fermentasi ko-kultur merupakan strategi yang pada saat ini dikembangkan untuk meningkatkan laju hidrolisis selulosa, memperkaya penggunaan substrat dan meningkatkan hasil produksi melalui kombinasi jalur metabolisme yang berbeda untuk mereduksi efek negatif dari inhibitor (Cheng dan Zhu, 2012). Kokultur *S.cerevisiae* dengan *C. tropicalis* mampu menghasilkan dan mengkonversi gula menjadi etanol (Sopandi dan Wardah, 2015).

Kemampuan khamir untuk memproduksi etanol tergantung pada beberapa faktor seperti strain, faktor pertumbuhan dan kondisi fermentasi (seperti suhu, laju agitasi, konsentrasi substrat dan inokulum, oksigen dan lain-lain (Dragone *et al.*, 2011). Konversi gula hasil hidrolisis lignoselulosik menjadi etanol elemen mikro dan makro dan nitrogen yang mudah difermentasi dalam kesetimbangan yang baik untuk memperoleh hasil yang optimum (Dasqupta, *et al.*, 2013). Peningkatan produktivitas dan efektivitas biaya produksi etanol memerlukan beberapa pengembangan proses (Reddy *et al.*, 2006; Nuanpeng *et al.*, 2011; Khongsay *et al.*, 2012; Yue, *et al.*, 2012). Efek penambahan berbagai sumber nitrogen seperti ammonium sulfat dan urea pada media dapat meningkatkan pertumbuhan dan produksi etanol (Aziz, *et al.* 2011). Berbagai sumber nitrogen telah digunakan secara luas untuk menstimulasi produksi alkohol seperti ekstrak khamir dan pepton (Bafncová *et al.* 1999; Bvochorá *et al.* 2000; Reddy dan Reddy, 2006; Laopaiboon *et al.* 2009), ammonium (Laopaiboon *et al.*, 2007; Srichuwong *et al.*, 2009) dan urea (Yue *et al.*, 2010).

## **BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA**

Hampir tidak ada atau belum ditemukan mikroorganisme yang mampu memfermentasi semua gula yang dihasilkan dari hidrolisis materi lignoselulosa merupakan masalah utama pemanfaatan lignoselulosa untuk produksi etanol (Zaldivar *et al.*, 2001). *Saccharomyces cerevisiae* yang sampai saat ini merupakan khamir dominan untuk produksi etanol secara alami dapat mengkonversi glukosa menjadi etanol

tetapi tidak dapat memetabolisme silosa (Jeffries and Jin, 2004; Lin and Tanakan, 2006).

Selain itu, hidrolisis lignoselulosa untuk menghasilkan gula sederhana juga dapat menghasilkan inhibitor fermentasi (Larsson *et al.*, 2001). Hasil etanol dan produktivitas yang diperoleh selama fermentasi hidrolisat lignoselulosa menurun karena komponen inhibitor seperti asam lemah, furan dan komponen fenol (Parawira and Tekere, 2011). Komponen inhibitor tersebut dapat menurunkan produksi etanol dan kinerja mikroorganisme selama fermentasi (Almeida *et al.*, 2007).

Kajian konsorsium mikroba dan sistem campuran enzim mikroba dapat memberikan dasar-dasar penting untuk memahami interaksi yang kompleks dalam proses degradasi lignoselulosa di alam dan dapat dijadikan pijakan dasar untuk aplikasi bioteknologi yang melibatkan degradasi biomassa dalam pembuatan kompos, digesti anaerobik dan sakarifikasi biomassa secara enzimatik (Wongwilaiwalin, *et al.*, 2010). Kelayakan dari fermentasi ko-kultur untuk produksi bioetanol tergantung pada efisiensi pemanfaatan silosa (Laplace, *et al.*, 1993). Fermentasi ko-kultur antar 2 jenis khamir tidak selalu menghasilkan konversi silosa menjadi bioetanol karena perilaku diauksik fermentasi silosa oleh khamir dan kompetisi oksigen antara mikroorganisme fermenter silosa dan fermenter glukosa (deBari, *et al.*, 2004; Fu dan Peiris, 2008). Industri fermentasi hidrolisat lignoselulosa menjadi bioetanol memerlukan mikroorganisme yang mempunyai produktivitas bioetanol tinggi dalam berbagai jenis substrat.

Pemilihan mikroorganisme, pemanfaatan substrat secara lengkap, toleransi terhadap inhibitor dan produktivitas merupakan astanol dari materi lignoselulos (Bettiga *et al.*, 2009). Efisiensi dan konversi serempak gula pentosa dan heksosa berpengaruh signifikan terhadap pemanfaatan hidrolisat biomassa untuk menghasilkan berbagai produk fermentasi yang bernilai ekonomi (Eiteman *et al.*, 2008).

Fermentasi ko-kultur pada saat ini sedang dikembangkan sebagai satu strategi untuk meningkatkan laju hidrolisis selulosa, peningkatan pemanfaatan substrat dan meningkatkan produksi etanol melalui kombinasi jalur metabolisme untuk mereduksi efek negative inhibitor (Cheng and Zhu, 2012). Penggunaan ko-kultur sebagai suatu proses fermentasi berpotensi jika tidak ada interaksi silang antar mikroorganisme dan

setiap mikroorganisme dapat memetabolisme substrat tanpa dipengaruhi kehadiran mikroorganisme lain (Park *et al.*, 2012).

Beberapa hasil penelitian melaporkan bahwa fermentasi ko-kultur *S.cerevisiae* dengan mikroorganisme lain dapat meningkatkan produksi bioetanol. Ko-kultur *S. cerevisiae* dengan *Pachysolen tannmphilus* atau *S.cerevisiae* dengan *Escherichia coli* dapat memproduksi 0,49 g bioetanol per g gula pada media hidrolisat kayu lunak (Qian, *et al.*, 2006). Produksi bioetanol pada media hidrolisat jerami gandum dengan ko-kultur *S.cerevisiae* dan *Pichia stipites* lebih tinggi dibandingkan dengan monokultur (Ismail, 2012).

Kebanyakan khamir yang memetabolisme silosa tidak menghasilkan etanol, namun demikian *C. shehatae* dapat menghasilkan etanol (Jeffries dan Alexander, 2005). Fermentasi sekam padi dengan *C. shehatae* dapat menghasilkan etanol 4269 g/l selama 5 hari pada temperatur ruang dengan pH 5,5-6,0. Produksi etanol oleh *C.shehatae* strain ATY839 lebih tinggi dibandingkan *S.cerevisiae* NBRC 0224, *Scheffersomyces stipitis* NBRC 10063, dan *C. shehatae* ATCC 22984 pada media jerami padi yang diberi pelakuan pendahuluan kalium hidroksida (Tanimura, *et al.*, 2012). Konsentrasi etanol meningkat 2,6-5,8 dan konsumsi gula meningkat 99 pada fermentasi ko-kultur *C. shehatae* D45-6, *S. cerevisiae* (Cs-Sc), dan *Brettanomyces bruxellensis* dalam media campuran 5% glukosa, 4% silosa dan 5% selobiosa oleh (Sanchez, *et al.*, 2002). Fermentasi ko-kultur *S.cerevisiae* dan *C. tropicalis* dapat memproduksi bioetanol sebanyak 0,35 g/l dalam media sintesis yang mengandung campuran 20 g/l glukosa dan silosa dengan rasio 8:1 sebagai sumber karbon pada suhu inkubasi 30°C selama 18 jam dengan ahtasi 50 rpm (Rodmui, *et al.*, 2008).

Ko-kultur *S.cerevisiae* dengan *C. tropicalis* mampu menghasilkan dan mengkonversi gula sederhana dari hasil hidrolisat sekam padi menjadi etanol (Sopandi and Wardah, 2015<sup>a</sup>). Hasil penelitian tersebut dilakukan dengan fermentasi curah menggunakan media sekam padi yang ditambah 4 g/l urea, 3 g/l NaNO<sub>3</sub>, 3 g/l NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, 1 g/l KH<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> dan 0.7 g/l MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O selama 3 hari pada suhu 30°C, kelembaban relatif 60-70%, keadaan gelap pada agitatasi 150 rpm dapat menghasilkan etanol 2,125±0,259 % dengan efisiensi fermentasi 89.25±10.95%.

Mikroorganisme yang digunakan dalam fermentasi materi lignoselulosa harus toleran terhadap etanol dan senyawa penghambat yang terbentuk selama proses perlakuan pendahuluan (O'hgren, *et al.*, 2011). Furan dan fenol secara umum dapat menghambat pertumbuhan dan laju produksi etanol oleh *S.cerevisiae* (Klinke, *et al.*, 2004). Furfural hasil degradasi lignoselulosa tongkol jagung dengan asam sulfat 2,5% merupakan penghambat yang kuat terhadap pertumbuhan serta konsumsi karbon dan nitrogen oleh *P. resticulosum* (Sopandi, *et al.* 2013). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ko-kultur *S. cerevisiae* dengan *C. tropicalis* lebih toleran terhadap furfural dan fenol dibandingkan mono kultur *S. cerevisiae* dan *C. tropicalis* (Sopandi dan Wardah., 2015<sup>b</sup>)

Nilai pH, sumber nitrogen, nutrisi media, enzim dan ukuran partikel dalam fermentasi ko-kultur berpengaruh terhadap pemanfaatan lignoselulosa dan produksi bioenergi (Cheng dan Zhu, 2012). Penelitian optimasi kondisi dan nutrisi media fermentasi untuk produksi bioetanol oleh fermentasi ko-kultur *S. cerevisiae* dengan *C. tropicalis* dari media sekam padi akan dikerjakan pada penelitian tahun ketiga. Penelitian ini bertujuan menemukan kondisi dan nutrisi media fermentasi cair yang optimum untuk memperoleh produksi etanol dan tingkat efisiensi fermentasi yang maksimum oleh ko-kultur *S. cerevisiae* dengan *C. tropicalis*. Kondisi fermentasi yang dipelajari pada penelitian ini adalah efek penambahan nitrogen dalam media, initial pH media dan waktu inkubasi terhadap produksi bioetanol serta konsumsi karbon dan nitrogen. Penelitian optimasi kondisi dan nutrisi fermentasi cair menggunakan ko-kultur *S. cerevisiae* dengan *C. tropicalis* untuk produksi bioetanol khususnya menggunakan media hidrolisat sekam padi belum pernah dilaporkan. Oleh karena itu, penelitian optimasi kondisi dan nutrisi fermentasi pada fermentasi cair menggunakan ko-kultur *S. cerevisiae* dengan *C. tropicalis* produksi bioetanol dapat menjadi temuan baru.

### **BAB 3. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN**

Penelitian tahun ketiga ini bertujuan untuk :

- (1) menemukan penambahan nitrogen terbaik pada media hidrolisat sekam untuk produksi etanol oleh ko-kultur *S.cerevisiae* dengan *C.tropicalis*,