

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*,

- (2) menemukan penambahan proposrsi molasses terbaik pada media hidrolisat sekam padi untuk produksi etanol oleh ko-kultur *S.cerevisiae* dengan *C.tropicalis*
- (3) menemukan pH awal terbaik media hidrolisat sekam padi untuk produksi etanol oleh ko-kultur *S.cerevisiae* dengan *C.tropicalis*
- (4) menemukan waktu inkubasi terbaik untuk produksi etanol ko-kultur *S.cerevisiae* dengan *C. tropicalis* dari media hidrolisat sekam padi.

Hasil penelitian ini diduga dapat menghasilkan temuan baru dan diharapkan dapat diaplikasikan untuk produksi bioetanol secara komersial oleh pelaku industri dan masyarakat luas dengan tingkat efisiensi fermentasi yang tinggi.

#### **BAB 4. METODE PENELITIAN**

Penelitian tahun ketiga akan dilakukan secara eksperimental yang terdiri atas beberapa tahap yaitu:

##### **a. Mikroorganisme dan kondisi biakan**

Sebanyak 25 gr media Sabroad dektrose agar dilarutkan dalam 1 l aquadest, dihomogenkan dan disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit pada tekanan 1 atm. Media selanjutnya dituangkan dalam 50 buah cawan petri masing-masing 20 ml. Setelah dingin dan padat, khamir *Saccharomyces cerevisiae* dan *C. tropicalis* digoreaskan di atas lempengan agar dan diinkubasi pada suhu 28°C selama 7 hari. Peremajaan dan pemeliharaan masing-masing khamir dilakukan secara periodik setiap 3 bulan.

##### **b. Perlakuan pendahuluan sekam padi**

Sekam padi dikeringkan, digiling dan dikukus pada suhu 130°C selama 3 jam. Setelah dingin, sebanyak 600 g serbuk sekam padi dihidrolisis 250 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat dalam wadah yang berisi 10 l aquadest. Campuran selanjutnya dipanaskan pada suhu 115°C selama 15 menit. Setelah dingin hidrolisat sekam padi disimpan dalam lemari pendingin sampai digunakan.

##### **c. Efek penambahan sumber nitrogen dalam media**

Penelitian efek kondisi nutrisi terhadap produksi bioetanol dan efisiensi fermentasi ko-kultur *S. cerevisiae* dengan *C. tropicalis* pada media cair sekam padi akan dikerjakan dengan penambahan nitrogen. Sumber nitrogen yang akan digunakan dalam

penelitian ini terdiri atas urea,  $\text{NaNO}_3$ , dan  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  yang ditambahkan dalam media basal dengan komposisi berbeda, yaitu; 9 g/l urea, 9 g/l  $\text{NaNO}_3$ , dan 9 g/l  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ . Komposisi media basal terdiri atas 60 g serbuk sekam padi, 1000 ml aquadest, 1 g/l  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  dan 0.7 g/l  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ . Sebanyak 1500 ml medium basal dibagi menjadi 3 bagian masing-masing 500 ml dan ke dalam masing-masing bagian ditambahkan 1) 9 g/l urea, 9 g/l  $\text{NaNO}_3$ , dan 9 g/l  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ . Campuran dikocok secara sempurna dan masing-masing bagian dibagi lagi menjadi 5 bagian (100 ml) dan dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer (250 ml), Nilai pH media diatur dengan menambahkan 0,1% HCl 1 N atau NaOH sampai pH mencapai 5,5. Semua labu Erlenmeyer yang berisi media ditutup dengan kapas dan disterilisasi dalam autoklaf pada suhu  $121^\circ\text{C}$  selama 15 menit. Setelah dingin diinokulasi dengan  $10^6$ /l spora *S. cerevisiae* dan  $10^6$ /l *C. tropicalis*. Semua media yang telah diinokulasi diinkubasi selama 7 hari pada suhu  $28-30^\circ\text{C}$ , kelembaban relatif 60-70% dalam keadaan gelap dengan agitasi 60 rpm. Media yang belum difermentasi dilakukan analisis karbon dan nitrogen. Media yang telah difermentasi dilakukan analisis karbon, nitrogen dan etanol.

#### **d. Efek penambahan molasses**

Penelitian efek kondisi nutrisi terhadap produksi bioetanol dan efisiensi fermentasi ko-kultur *S. cerevisiae* dengan *C. tropicalis* pada media cair sekam padi akan dikerjakan dengan penambahan sumber karbon. Sumber karbon yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah molasses dengan konsentrasi berbeda yang ditambahkan dalam media basal dengan yaitu 0, 5, 10, 15, dan 20 ml/l. Komposisi media basal terdiri atas 60 g serbuk sekam padi, 1000 ml aquadest, 3 g/l urea, 3 g/l  $\text{NaNO}_3$ , 3 g/l  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , 1 g/l  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  dan 0.7 g/l  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ . Sebanyak 2500 ml medium basal dibagi menjadi 5 bagian masing-masing 500 ml dan ke dalam masing-masing bagian ditambahkan 0, 5, 10, 15, dan 20 ml/l molasses. Campuran dikocok secara sempurna dan masing-masing bagian dibagi lagi menjadi 5 bagian (100 ml) dan dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer (250 ml), Nilai pH media diatur dengan menambahkan 0,1% HCl 1 N atau NaOH sampai pH mencapai 5,5. Semua labu Erlenmeyer yang berisi media ditutup dengan kapas dan disterilisasi dalam autoklaf pada suhu  $121^\circ\text{C}$  selama 15 menit. Setelah dingin diinokulasi dengan  $10^6$ /l spora *S. cerevisiae* dan  $10^6$ /l *C. tropicalis*. Semua media yang telah diinokulasi diinkubasi selama 7 hari pada suhu  $28-30^\circ\text{C}$ , kelembaban relatif 60-