

VARIASI PH PADA MEDIA TUMBUH DAN SUHU FERMENTASI DALAM MEMPRODUKSI ETANOL OLEH ISOLAT BU₃.111E₁

Intan Tiar Malau, I Made Mahaputra Wijaya *, I Wayan Arnata

Program Studi Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana, Kampus Bukit Jimbaran, Badung, pos: 80361; Telp/Fax: (0361) 701801.

ABSTRACT: The aim of this research was to determine the growth phase curve of BU3.111E1 and to determine the effect of various pH and temperatures on BU3.111E1 isolate growth media to produce ethanol. These experiment was carried out in stages, namely culture stock rejuvenation, culture grow and adjustment, measuring the effects of various pH and temperature in media upon fermentation followed by distillation. This study used two variations of pH (4.0 and 5.0) and three variations of temperature (18, 24 and 30°C) and two repetitions. The growth curve of BU3.111E1 isolate showed that the isolate grew in 33 hours, starting from the exponential phase, stationary phase to the death phase. The fermentation results showed that, pH 4.0 at 30°C produced the highest ethanol which was 15.05 mL with a total dissolved solids of 2.50 (Δ% brix). pH 5.0 at 18°C was produced the lowest ethanol, which was 3.47 mL with a total dissolved solids of 0.65 (Δ% brix). The results indicate that pH and temperature affect bacteria during fermentation to produce ethanol.

KATA KUNCI: Bakteri, etanol, isolat BU3.111E1, kurva pertumbuhan, pH, suhu

PENDAHULUAN

Saat ini kebutuhan energi semakin meningkat, sedangkan sumber energi untuk memenuhi kebutuhan energi nasional masih didominasi oleh sumber energi fosil (Hardjasono, 2000). Hal ini menjadi perhatian khusus dari Pemerintah Indonesia dengan mendukung perkembangan energi alternatif dan sumber energi terbarukan untuk mengurangi ketergantungan terhadap bahan bakar fosil (Umam, 2007). Salah satu alternatif sumber energi terbarukan yang dapat dikembangkan di Indonesia adalah bioetanol (Simatupang *et al.*, 2018).

Bioetanol merupakan alkohol hasil fermentasi dari bahan alami menggunakan mikroorganisme dan bila memiliki kadar tinggi dapat digunakan menjadi energi alternatif (Simatupang *et al.*, 2018). Bioetanol (C₂H₅OH) biasanya diperoleh melalui proses fermentasi gula sederhana/glukosa yang terdapat pada bahan alami (tumbuh-tumbuhan) dengan memanfaatkan kemampuan mikroorganisme tertentu (Silaban, 2017). Cara fermentasi lebih banyak digunakan dalam dunia industri saat ini dibandingkan sintesis kimiawi, dikarenakan kondisi operasi yang aman, yakni menggunakan suhu ruangan (*ambient*) dan tidak memerlukan tekanan operasi yang tinggi, cukup tekanan atmosferik (Puspita *et al.*, 2010). Pada proses fermentasi etanol melibatkan mikroorganisme untuk mengubah komponen sederhana (glukosa) menjadi etanol, mikroorganisme yang umum digunakan dalam fermentasi etanol dari golongan *yeast* yaitu *Saccharomyces cerevisiae* (Panasear *et al.*, 2006).

Mikroba ini dapat digunakan untuk konversi gula menjadi etanol dengan kemampuan konversi yang baik. Selain *yeast Saccharomyces cerevisiae* terdapat bakteri yang dapat menghasilkan etanol yaitu salah satunya bakteri *Zymomonas mobilis* (Ernes, 2014). Dasar penggunaan bakteri ini dikarenakan memiliki kelebihan yaitu tahan terhadap konsentrasi tinggi (15%) (Busche *et al.*, 1992), lebih toleran terhadap suhu dan pH rendah

*Korespondensi penulis
Email: mahaputrawijaya@unud.ac.id

(3,5-7,5) (Nowak, 2000), dan dapat menghasilkan etanol lebih cepat dibandingkan dengan *Saccharomyces cerevisiae* (Kusmaningati et al., 2013).

Penelitian sebelumnya oleh Bagaskara (2020), ditemukan isolat yang berpotensi sebagai penghasil bioetanol yaitu bakteri BU3.111E1. Isolat BU3.111E1 merupakan bakteri golongan gram positif, berbentuk basil dan termasuk bakteri motil karena membentuk seperti akar pada media *Sulfide Indole Motility* (SIM) yang menandakan bahwa isolat potensial mempunyai alat gerak berupa *flagel* (Burrows et al., 2004). Setelah dilakukan fermentasi, kadar etanol tertinggi yang dihasilkan oleh bakteri BU3.111E1 sebesar 11,33 mL, dengan selisih total padatan terlarut 1,33%, dari total padatan terlarut awal sebesar 18,60% brix dengan total padatan terlarut akhir sebesar 17,26% brix dengan waktu fermentasi selama 10 hari. Total etanol dan selisih total padatan terlarut yang dihasilkan oleh bakteri BU3.111E1 masih terbilang rendah. Hal ini menunjukkan bahwa pH pada media fermentasi yang tidak diatur sesuai dengan nilai pH optimum pada bakteri kemungkinan dapat berpengaruh pada hasil etanol dan selisih total padatan terlarut. Mikroba membutuhkan media fermentasi dengan pH optimal, maka penelitian ini dilanjutkan untuk mengetahui pengaruh pH dan suhu optimal dalam memproduksi etanol oleh isolat BU3.111E1 serta untuk mengetahui kurva pertumbuhan pada isolat BU3.111E1.

Suhu dan pH merupakan dua faktor yang mempengaruhi bakteri pada saat proses fermentasi (Harahap, 2012). Nilai pH yang tidak optimum dapat mempengaruhi bakteri untuk tumbuh dengan baik (Waluyo, 2004). Bakteri lebih toleran terhadap pH rendah yaitu kisaran 3,5 - 7,5 (Kusmaningati et al., 2013). Suhu juga merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Apabila suhu di bawah minimum dan di atas maksimum maka aktivitas enzim akan terhenti (Waluyo, 2004). Bakteri dapat tumbuh pada suhu optimum yaitu kisaran 25– 30°C (Kusmaningati et al., 2013).

Penambahan konsentrasi glukosa serta lama fermentasi menjadi hal yang utama untuk dilakukan agar etanol yang dihasilkan optimal dan waktu produksi efisien (Frazier et al., 1981). Konsentrasi glukosa optimum untuk proses fermentasi berkisar antara 10–18% (Ajizah et al., 2021), serta lama proses fermentasi pada proses produksi bioetanol sangat mempengaruhi konsentrasi bioetanol yang dihasilkan (Khurniawati et al., 2019). Semakin lama waktu fermentasi maka semakin tinggi konsentrasi bioetanol yang dihasilkan, namun bila fermentasi terlalu lama maka nutrisi dalam substrat akan habis (Azijah et al., 2021).

Penelitian ini ditujukan untuk menentukan variasi pH yang lebih optimal (4 dan 5) pada media tumbuh dan suhu fermentasi yang lebih sesuai (18, 24 dan 30°C hari) dalam memproduksi etanol dengan menggunakan bakteri isolat BU3.111E1 serta untuk mengetahui kurva pertumbuhan isolat BU3.111E1. Hasilnya diharapkan dengan menggunakan variasi pH dan suhu fermentasi dapat menghasilkan etanol dengan konsentrasi yang tinggi.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Kultur bakteri yang digunakan adalah isolat BU3.111E1 (Bagaskara, 2020) menggunakan media YEPD (*yeast extract, peptone, dextrose*) dengan bahan 5 g/L *yeast extract*, 5 g/L *peptone*, 10 g/L *dextrose*, 0,25 g/L *magnesium sulfate* ($MgSO_4 \cdot 7H_2O_4$), glukosa NaCl 0,85%, aquades, natrium metabisulfat dan gliserol 40%.

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain Spektrofotometer UV-visible, refraktometer, alkoholmeter, distilator refluks, *centrifuge*, *autoclave*, *shaker rotator*, timbangan analitik, *vortex*, *laminar air flow*, kompor listrik, tabung reaksi, erlenmeyer, pH meter gelas beker, botol kaca, gelas ukur, mikro pipet, aluminium foil, bunsen, kapas, serta alat dokumentasi.

Pelaksanaan Penelitian

Tahapan pelaksanaan penelitian yang pertama dimulai dengan proses peremajaan isolat BU3.111E1 dengan menggunakan media YEPD. Pada tahap perbanyakkan sel, dilakukan peremajaan sel pada media YEPD. Kultur stok isolat diinokulasi pada media YEPD dalam erlenmeyer dan diinkubasi dengan suhu ruang selama

48 jam dan di-*shaker* dengan kecepatan 100 rpm untuk perbanyak sel pertama (*first enrichment*). Setelah diinkubasi, sel yang telah diperbanyak pertama diinokulasi pada erlenmeyer dengan volume yang lebih besar pada media YEPD, kemudian diinkubasi dengan suhu ruang selama 72 jam dan di-*shaker* dengan kecepatan 100 rpm sebagai perbanyak sel kedua (Nasrun *et al.*, 2015). Pada perbanyak sel kedua, isolat yang telah tumbuh disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 5 menit. Setelah itu dilakukan pencucian pelet (sel) dengan penambahan larutan NaCl 0,85% dan disentrifugasi kembali dengan metode yang sama hingga 2 kali. Pelet (sel) diencerkan dan disesuaikan tingkat kekeruhannya menggunakan spektrofotometri dengan $OD_{660} \pm 5$ (Ivanesthi *et al.*, 2016).

Pengamatan kurva pertumbuhan pada isolat BU3.111E1 dilakukan dengan menggunakan media YEPD dengan konsentrasi glukosa sebanyak 2%. Media YEPD dituangkan ke dalam tabung reaksi steril sebanyak 10 mL, kemudian sel isolat BU3.111E1 diinokulasi ke dalam media YEPD sebanyak 1%. Fase pertumbuhan isolat BU3.111E1 diamati dengan melakukan *scanning* terhadap nilai absorbansi dari isolat BU3.111E1 dengan menggunakan spektrofotometri setiap 3 jam pada fase pertama (fase lag) dan akan dilanjutkan di tiap 6 jam pada fase berikutnya.

Proses fermentasi kemudian dilakukan pada volume media yang lebih besar yaitu 500 mL menggunakan pH yang bervariasi yaitu pH 4,0 dan 5,0 serta variasi suhu fermentasi yaitu 18, 24 dan 30°C. Pada glukosa dilakukan proses tindalisasi dengan suhu 80°C selama 1 jam dilakukan 3 kali berturut-turut untuk menghindari browning pada glukosa (Saadatullah *et al.*, 2009). Pengaturan nilai pH dilakukan pada media fermentasi dengan mengubah nilai pH menjadi 4,0 dan 5,0. Setelah dilakukan pengaturan nilai pH pada media fermentasi, starter dituangkan sebanyak 1% ke dalam media fermentasi. Fermentasi dilakukan dengan kombinasi dari variasi pH dan suhu fermentasi selama 10 hari, dan dilakukan pengulangan sebanyak dua kali. Setelah hasil fermentasi diperoleh dilakukan proses distilasi dengan menggunakan alat distilator refluks yang kemudian dihitung kadar etanolnya.

Variabel yang Diamati

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah variasi suhu dan pH saat fermentasi dan hasil akhir dari fermentasi (etanol).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kurva Pertumbuhan

Pengamatan fase kurva pertumbuhan isolat BU3.111E1 digunakan media fermentasi YEPD dengan konsentrasi glukosa sebanyak 2%. Untuk mengetahui nilai laju pertumbuhan pada isolat BU3.111E1 dilakukan dengan menggunakan pemindaian terhadap nilai absorbansi pada gelombang 660 nm pada BU3.111E1 dengan menggunakan spektrofotometer. Hasil pengamatan kurva pertumbuhan isolat BU3.111E1 dapat dilihat pada Tabel 1. Pengamatan kurva pertumbuhan BU3.111E1 disajikan pada Tabel 1 berikut:

Tabel 1. Hasil Pengamatan Kurva Pertumbuhan Isolat BU3.111E1

No.	Waktu (Jam)	Optical Density (OD)	Fase Pertumbuhan
1	0	0,49	Fase Lag
2	3	0,71	Fase Eksponensial
3	6	0,97	Fase Eksponensial
4	9	1,39	Fase Eksponensial
5	12	1,72	Fase Eksponensial
6	15	1,92	Fase Stasioner
7	18	2,00	Fase Stasioner

8	21	2,03	Fase Stasioner
9	27	1,94	Fase Kematian
10	33	1,87	Fase Kematian

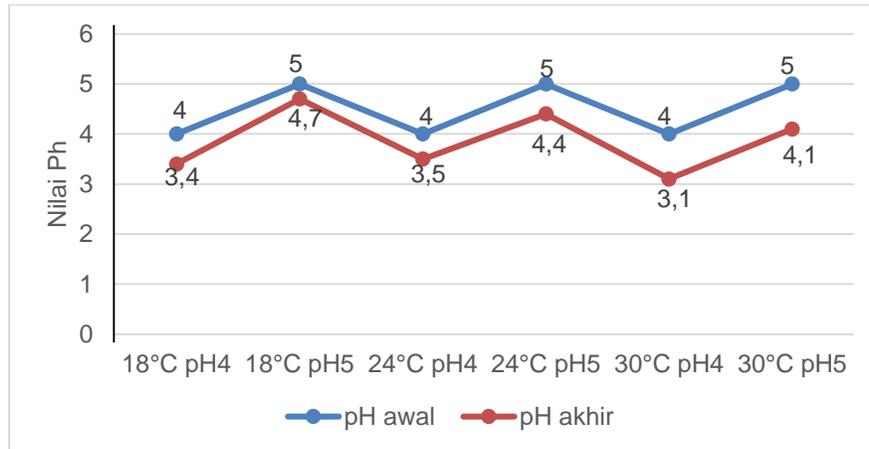
Pengamatan kurva pertumbuhan ini bertujuan untuk mengetahui periode waktu yang dibutuhkan untuk tumbuh ataupun penyesuaian terhadap lingkungan (beradaptasi) dari bakteri tersebut. Dapat dilihat dari tabel hasil pengamatan kurva pertumbuhan pada isolat BU3.111E1 adalah selama 33 jam. Fase pertama dari isolat BU3.111E1 adalah fase lag atau fase adaptasi, dimana isolat BU3.111E1 menyesuaikan diri dengan lingkungannya. Menurut (Hafsan, 2014) menyatakan bahwa jika media dan lingkungan pertumbuhan sama seperti media dan lingkungan sebelumnya, maka tidak diperlukan waktu adaptasi. Jika sebelum diinokulasi dilakukan peremajaan pada media yang sama maka mikroorganisme tidak memerlukan fase lag dalam penyesuaian diri dengan lingkungannya (Fardiaz, 1987) sehingga kurva pertumbuhan isolat BU3.111E1 tidak memerlukan fase adaptasi (fase lag) karena sudah melewati fase peremajaan.

Pada jam ke-3 sampai dengan jam ke-12 isolat BU3.111E1 mengalami fase eksponensial. Fase eksponensial merupakan fase dimana mikroorganisme membelah dengan cepat dan konstan (Setawati, 2015). Pada fase ini pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh media dimana isolat bertumbuh seperti pH, suhu, kelembapan udara, kondisi lingkungan dan kandungan nutrient (Hafsan, 2014). Selanjutnya waktu pertumbuhan jam ke-15 sampai akhir waktu pertumbuhan jam ke-21 isolat BU3.111E1 mengalami fase pertumbuhan yang relatif atau stasioner menuju fase kematiannya. Fase awal stasioner pada jam ke-15 merupakan pertumbuhan optimum yang dicapai oleh isolat BU3.111E1. Pada fase ini isolat BU3.111E1 sangat baik dijadikan inokulum, karena jumlah sel dan aktivitasnya serta waktu pertumbuhannya yang optimal.

Pada fase awal stasioner menuju fase awal kematian isolat BU3.111E1, populasi jumlah sel sama karena jumlah sel yang tumbuh dan yang mati adalah sama. Pada fase stasioner, ukuran sel-sel akan menjadi lebih kecil karena sel tetap membelah meskipun zat nutrisi sudah habis (Neti, 2013). Laju pertumbuhan pada fase ini menurun yang biasanya disebabkan karena kekurangan faktor pertumbuhan seperti vitamin dan unsur mineral (Yudoadmijoyo *et al.*, 1992). Pada jam ke-27 sampai jam ke-33 isolat BU3.111E1 mengalami fase kematian dimana pada fase ini populasi bakteri akan menurun jumlahnya. Jumlah sel yang mati akan lebih banyak dari pada jumlah sel yang hidup. Adanya kurva pertumbuhan ini dapat diketahui waktu yang optimal untuk memproduksi etanol. Starter BU3.111E1 yang baik untuk dijadikan inokulum adalah pada jam ke-15 hingga jam ke-21, karena jumlah, aktivitas dan waktu pertumbuhannya yang optimal.

Perubahan pH pada Setiap Suhu Selama Fermentasi

Penelitian ini menggunakan isolat BU3.111E1 sebagai bakteri fermentasi. Produksi etanol dilakukan dengan menggunakan media YEPD sebanyak 500 mL dengan konsentrasi glukosa sebesar 20%. Media fermentasi dikondisikan dengan pH 4,0 dan 5,0, dimana pH diatur dengan menambahkan NaOH 10% dan C₆H₈O₇ 50% yang sudah disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit menggunakan autoklaf. Fermentasi dilakukan selama 10 hari pada variasi suhu 18°C, 24 dan 30°C, kemudian dilakukan distilasi. Perubahan pH pada setiap suhu setelah fermentasi selama 10 hari dapat dilihat pada Gambar 1.



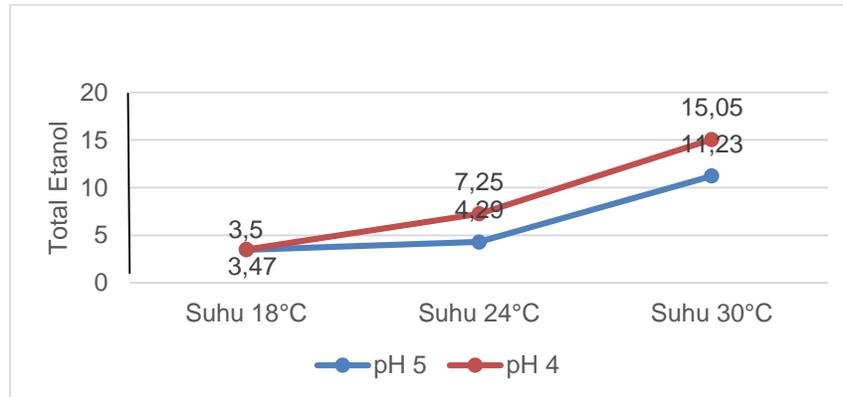
Gambar 1. Grafik Perubahan pH

Salah satu parameter paling penting pada saat fermentasi adalah pH pada media (Gaman *et al.*, 1994). pH awal yang digunakan pada penelitian ini adalah pH 4,0 dan 5,0, karena pH umum bakteri adalah 3-6. Berdasarkan grafik pada Skema 1 diketahui bahwa variasi suhu (18, 24 dan 30°C) berpengaruh nyata terhadap nilai pH akhir pada media. Selama proses fermentasi nilai pH pada setiap suhu mengalami penurunan. Perlakuan pH 4,0 dengan suhu fermentasi 30°C merupakan perlakuan yang mengalami penurunan nilai pH yang paling banyak yaitu pH menurun menjadi 3,1.

Perubahan pH disebabkan dengan adanya asam-asam organik seperti asam laktat, asetat dan piruvat yang terbentuk selama fermentasi oleh isolat BU3.111E1. Produk yang dihasilkan selama proses fermentasi pada penelitian ini adalah alkohol, namun kecenderungan nilai pH selama proses fermentasi tidak hanya menghasilkan etanol tetapi juga hasil samping (*by product*) yang berupa gas CO₂. Seiring meningkatnya suhu fermentasi maka produksi gas CO₂ akan meningkat. Meningkatnya produksi gas CO₂ akan mempengaruhi nilai pH selama fermentasi, karena terbentuk gas asam dari CO₂ yang makin banyak terlarut. Semakin tinggi suhu fermentasi, maka nilai pH akan turun semakin banyak. Hal ini dibuktikan pada penurunan nilai pH yang paling banyak terdapat pada suhu 30°C. Oleh karena itu, dapat dikatakan bahwa nilai pH juga dapat dipengaruhi oleh produksi gas, gas CO₂ sering disebut gas asam (*acid whey*) karena gas CO₂ yang terlarut menjadi H₂CO₃ memiliki sifat asam.

Pengaruh pH dan Suhu Fermentasi Terhadap Kadar Etanol

Fermentasi dilakukan selama 10 hari dengan variasi suhu (18, 24 dan 30°C) dengan pH awal media fermentasi yang sudah dikondisikan sebelum fermentasi. Setelah proses fermentasi, dilakukan distilasi untuk mengetahui nilai total kadar etanol. Hasil etanol yang dihasilkan setelah fermentasi selama 10 hari dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Pengaruh pH dan Suhu Terhadap Kadar Etanol

Berdasarkan hasil penelitian, nilai kadar etanol tertinggi terdapat pada perlakuan pH 4,0 yang difermentasi pada suhu 30°C dengan kadar etanol sebesar 15,05 mL, sedangkan nilai kadar etanol terendah terdapat pada perlakuan pH 5,0 yang difermentasi pada suhu 18°C dengan kadar etanol sebesar 3,47 mL. Rata-rata kadar etanol dengan perlakuan pH 4,0 pada suhu 30°C merupakan kadar etanol tertinggi, perlakuan pH 4,0 pada suhu 24 °C etanol yang dihasilkan adalah sebesar 7,25 mL, dan perlakuan pH 4,0 pada suhu 18°C kadar etanol yang dihasilkan adalah sebesar 4,96 mL. Untuk pH 5,0, rata-rata kadar etanol tertinggi dihasilkan pada suhu 30°C yaitu sebesar 11,23 mL, kemudian mengalami penurunan nilai kadar etanol pada suhu 24°C yaitu sebesar 4,90 mL, hingga menghasilkan nilai kadar etanol terendah pada suhu fermentasi 18°C yaitu sebesar 3,47 mL. dimana hasil etanol pada perlakuan pH 5,0 dengan suhu fermentasi 18°C merupakan hasil terendah pada penelitian ini.

Pada penelitian ini media yang difermentasi dengan menggunakan pH 5 atau pH yang paling tinggi dalam penelitian ini cenderung menghasilkan nilai kadar etanol yang rendah. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh kondisi media yang mengarah pada pH netral. Media fermentasi dengan kondisi pH tinggi dapat menghambat mikroorganisme dalam menghasilkan etanol lebih banyak, dan etanol yang dihasilkan kemungkinan besar berkurang, karena fermentasi lanjutan yang akan berubah menjadi asam-asam organik. Dapat dilihat pada Gambar 2 bahwa meningkatnya kadar etanol disebabkan dengan meningkatnya suhu fermentasi. Suhu optimal pada mikroorganisme berkisaran 25-30°C (Azijah *et al.*, 2012).

Dilihat dari rata-rata kadar etanol yang dihasilkan, dapat diketahui bahwa suhu 30°C merupakan suhu yang cukup optimal selama fermentasi, dikarenakan mikroorganisme dapat beraktifitas dengan baik. Seiring dengan suhu fermentasi yang semakin rendah, kadar etanol yang dihasilkan juga menurun, hal ini disebabkan karena terhambatnya aktivitas mikroorganisme selama fermentasi. Suhu dibawah minimum dan diatas maksimum akan menyebabkan aktivitas enzim berhenti bahkan pada suhu yang terlalu tinggi akan menyebabkan terjadinya denaturasi enzim (Waluyu 2004).

Total Padatan Terlarut

Kondisi optimal isolat BU3.111E1 pada fermentasi adalah dengan menggunakan pH 4,0 sebagai pH awal media yang difermentasi pada suhu 30°C. Total padatan terlarut dilakukan untuk mengetahui berapa banyak glukosa yang dikonsumsi oleh isolat selama fermentasi. Selisih total padatan terlarut dan total etanol disajikan pada Tabel 2:

Tabel 2. Total Padatan Terlarut Pada Media Fermentasi

Perlakuan	Padatan terlarut	Padatan terlarut	Selisih total padatan	Total etanol (mL)	% Etanol (v/v)	Total etanol Δ%brix
-----------	------------------	------------------	-----------------------	-------------------	----------------	---------------------

	awal (%brix)	akhir (%brix)	terlarut (Δ %brix)			
P4T30	19,75 ± 0,35	17,25 ± 0,35	2,50 ± 0,35	15,05 ± 0,49	3,01	6,02
P5T30	19,50 ± 0,71	17,25 ± 1,06	2,25 ± 1,06	11,23 ± 0,11	2,24	4,99
P4T24	19,75 ± 0,35	18,40 ± 1,27	1,35 ± 1,27	7,25 ± 0,21	1,45	5,37
P5T24	19,25 ± 0,35	19,00 ± 0,00	0,25 ± 0,00	4,90 ± 0,57	1,06	19,60
P4T18	19,75 ± 0,35	19,00 ± 0,35	0,75 ± 0,00	4,96 ± 0,46	1,05	6,61
P5T18	19,75 ± 0,35	19,10 ± 0,35	0,65 ± 0,14	3,47 ± 0,52	0,62	5,34

Berdasarkan Tabel 2, dapat dilihat bahwa perlakuan pH 4,0 dengan suhu 30°C memiliki selisih total padatan terlarut tertinggi yaitu 2,50 (Δ % brix) dengan kadar total etanol sebanyak 15,05 mL. Selanjutnya pada pH 5 dengan suhu 30°C menghasilkan kadar etanol sebesar 11,23 mL dengan selisih total padatan terlarut 2,25 (Δ % brix), pada pH 4,0 dengan suhu 24°C menghasilkan kadar etanol sebesar 7,25 mL dengan selisih total padatan terlarut 1,35 (Δ % brix), pada pH 5,0 dengan suhu 24°C menghasilkan kadar etanol sebesar 4,90 mL dengan selisih total padatan terlarut 0,25 (Δ % brix), pada pH 4,0 dengan suhu 18°C menghasilkan kadar etanol sebesar 4,96 mL dengan selisih total padatan terlarut 0,75 (Δ % brix), dan pada pH 5 dengan suhu 18°C menghasilkan kadar etanol sebesar 3,47 mL dengan selisih total padatan terlarut 0,65 (Δ % brix).

Penurunan total padatan terlarut pada fermentasi dengan perlakuan pH 4,0 pada suhu 30°C mengalami penurunan yang paling tinggi dibandingkan dengan perlakuan lain yaitu dari 19,75 (Δ % brix) menjadi 17,25 (Δ % brix), sehingga mengalami penurunan sebesar 2,50 (Δ % brix). Dapat dilihat pada Tabel 2, dimana selisih total padatan terlarut (Δ % brix) pada perlakuan pH 5,0 suhu 24°C lebih kecil, namun kadar etanol yang dihasilkan lebih besar dibandingkan dengan perlakuan pH 4,0 dan 5,0 pada suhu 18°C yang memiliki selisih total padatan terlarut lebih besar namun kadar etanol yang dihasilkan lebih kecil. Hal tersebut dikarenakan sel yang tidak toleran terhadap kadar etanol yang tinggi, sehingga alkohol yang dihasilkan oleh bakteri selama proses fermentasi akan menghambat aktivitas dan pertumbuhan sel, sehingga tidak dapat terfermentasi secara sempurna (Bagaskara, 2020). Selain itu diperkirakan bakteri mengalami inhibisi substrat yang menyebabkan sel mengalami stress dan metabolisme menurun (Ferdaus *et al.*, 2008).

Bagaskara (2020) dalam penelitiannya menggunakan konsentrasi 20% memiliki selisih total padatan terlarut tertinggi yaitu 1,33 (Δ %) dengan hasil kadar etanol sebanyak 11,33 mL, sedangkan pada penelitian ini kadar etanol yang dihasilkan adalah sebanyak 15,05 mL dengan selisih total padatan terlarut sebesar 2,50 (Δ %). Perbedaan total etanol diperkirakan karena perlakuan terhadap pembuatan media fermentasi. Penelitian Bagaskara (2020) membuat media fermentasi yang kemudian disterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit yang dapat menyebabkan karamelisasi (*browning*), sedangkan pada penelitian ini proses sterilisasi pada glukosa dan media fermentasi dipisah, dimana sterilisasi glukosa dilakukan dengan cara tindalisasi.

Kondisi optimal yang diperoleh Isolat BU3.111E1 pada fermentasi adalah dengan pH 4,0 pada suhu 30°C mendapatkan selisih total padatan terlarut 2,50 (Δ % brix) dengan total etanol 6,02 (Δ % brix) dan total etanol 15,05 mL atau sebanyak 3,01% (v/v) dari 500 mL media fermentasi. Hasil tersebut masih terbilang rendah jika dibandingkan dengan penelitian lain yang menggunakan strain bakteri yang berbeda, seperti penelitian yang dilakukan oleh (Chairul *et al.*, 2008) yang melakukan penelitian dengan judul pengaruh variasi pH dan waktu pada pembuatan bioetanol dari sari kulit nanas menggunakan *Zymomonas mobilis* dengan gula reduksi 13,6% pada 750 mL media fermentasi yang dapat menghasilkan etanol sebesar 3,01 % pada pH 4,5 dan lama fermentasi selama 65 jam, serta penelitian Ernes (2014) melakukan pembuatan etanol dari pati biji nangka menggunakan bakteri *Zymomonas mobilis* CP4 dengan konsentrasi gula reduksi 14% per 100 mL media fermentasi dapat menghasilkan etanol 9,06% (v/v).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa kurva pertumbuhan isolat BU3.111E1 menghasilkan pertumbuhan dengan waktu tumbuh selama 33 jam, dimulai dari fase eskponensial selama 12 jam, fase stasioner selama 6 jam dan diakhiri pada fase kematian. Isolat BU3.111E1 menghasilkan etanol tertinggi yaitu 15,05 mL pada kombinasi pH 4,0 dengan suhu 30°C.

Saran

Saran dari hasil penelitian ini adalah, Perlunya mengganti bahan media yang digunakan sebelumnya dengan media baru yang sesuai dengan isolat yang digunakan. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kondisi pertumbuhan optimum isolat BU3.111E1 seperti kadar glukosa, lama fermentasi dibawah 10 hari dan suhu fermentasi diatas 30°C. Ada baiknya dilkakukan penelitian lebih lanjut guna mengetahui spesies pada isolat BU3.111E1. serta perlu dilakukan pengukuran kadar etanol menggunakan metode yang lebih akurat supaya data kadar etanol yang didapat juga akurat.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada Universitas Udayana yang telah mendanai penelitian ini melalui skim *Penelitian Grup Riset Udayana* Tahun 2022.

DAFTAR PUSTAKA

- Ajizah, N. L., I. M. M. Wijaya dan N. S. Antara. (2021). Variasi konsentrasi glukosa pada media tumbuh dan lama fermentasi dalam memproduksi etanol oleh isolat BM-CP14. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. Vol. 9 N0 (2).
- Azizah, N., A. N. Al-Baarri dan S. Mulyani. (2012). Pengaruh lama fermentasi terhadap kadar alkohol, pH dan produksi gas pada proses fermentasi bioetanol dari whey dengan substitusi kulit nanas. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 1(2): 72-77.
- Bagaskara, A., I. M. M. Wijaya dan N. S. Antara. (2020). Isolasi dan karakterisasi bakteri penghasil bioetanol dari lingkungan industri arak di Desa Tri Eka Buana, Kecamatan Sidemen, Karangasem Bali. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. 8 (2): 290-300.
- Burrows, W., J.M. Moulder, and R.M. Lewert. (2004). *Textbook of Microbiology*. W.B. Saunders Company, Philadelphia.
- Busche, R.M, Scott, Davison and Lynd. (1992). "Etanol, The Ultimate Feedstock. A technoeconomic evaluation of ethanol manufacture in fluidized bed bioreactors operating with imobilized Cells". *Journal Application of Biochemistry and Biotechnology* Vol. 34/35 (1992) 395- 415.
- Chairul, Cece., R, dan Yelmida. (2008). Pengaruh variasi pH dan waktu pada pembuatan bioetanol dari sari kulit nanas menggunakan *Zymomonas mobilis*. *Jurnal Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Riau*.
- Ernes, A dan A. K. Wardani. (2014). Pembuatan bioetanol dari pati biji nangka oleh *Zymomonas mobilis* CP4 (Kajian Konsentrasi Inokulum dan Amonium Sulfat). *Jurnal Agrina*. 1(1): 5-13.
- Fardiaz, S. (1987). *Fisiologi Fermentasi*. Pusat Antar Universitas IPB. Bogor. 186 hlm.
- Ferdaus, F., M. O. Wijayanti., E. S. Retnonigtyas dan W. Irawati. (2008). Pengaruh pH, konsentrasi substrat, penambahan kalsium karbonat dan waktu fermentasi terhadap perolehan asam laktat dari kulit pisang. *Jurnal Teknik Kimia. Universitas Katolik Widya Mandala. Surabaya*. Vol. 7, No. 1, 2008 (1-14).
- Frazier, W.C. and D.C. Westhoff. (1981). *Food Microbiology*, 3 Ed. Tata Mc. Graw Hill Pub. Co. Ltd., New Delhi.
- Gaman, P.M. dan K.B. Sherrington. (1994). *Pengantar Ilmu Pangan Nutrisi dan Mikrobiologi*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 317 hlm
- Hafsan. (2014). *Mikrobiologi Analitik*. Alauddin University Press. Makasar.
- Harahap, N.R.P. (2012). Analisa methanol, ethanol, dan triclosan dalam sabun cair sirih sumber ayu orchid secara kromatografi gas dan kromatografi cair kinerja tinggi. *Universitas Sumatera Utara, Medan*.
- Hardjasono, K. (2000). *Hukum Tata Lingkungan*. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Ivanesthi, R. I., Sri Nurhalita dan Anton Muhubudin. (2016). Potensi fermentasi etanol isolat *yeast* tanah yang diisolasi dari Kabupaten Jember. Jawa Timur.

- Khurniawati, M. U. Fathoni dan N. K Sari. (2019). Pembuatan bioetanol berbasis glukosa off grade dengan proses fermentasi menggunakan fermiol. *Jurnal Teknik Kimia*. 13(2): 48-52.
- Kusumaningati, M. A., S. Nurhatika dan A. Muhibuddin. (2013). Pengaruh konsentrasi inokulum bakteri *Zymomonas mobilis* dan lama fermentasi pada produksi etanol dari sampah sayur dan buah pasar onokromo surabaya. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. 2(2): 2337-3520.
- Manikandan, T., Neelakandan, T., Rani, G.U. (2009). Antibacterial activity of *Salicornia brachiata* a halophyte. *Journal of Phytology*. Vol. 1 No. 6 (441-443).
- Middlebeek, E.J., R.O. Jenkins and J.S. Drijver-de Haas. (1992). Growth in batch culture. In *Vitro Cultivation of Micro-organisms*. Biotechnology by Open Learning.
- Nasrun., Jalahuddin dan Mahfuddhah. (2015). Pengaruh jumlah ragi dan waktu fermentasi terhadap kadar bioetanol yang dihasilkan dari fermentasi kulit pepaya. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*. 4(2): 1-10.
- Nowak, J. (2000). Ethanol yield and productivity of *Zymomonas mobilis* in various fermentation Methods. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities*. 3(2).
- Umam, K. (2007). Analisis potensi sumber energi alternatif dan implikasintanya terhadap social ekonomi masyarakat Indonesia. Fakultas Teknik Universitas Negeri Semarang, Semarang.
- Panesar, P. S., S. S. Marwaha dan J. F. Kennedy. (2006). *Zymomonas mobilis*: an alternative etanol producer. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 8(1): 623-635.
- Puspita, E. M., H. Silviana dan T. Ismail. (2010). Fermentasi etanol dari molasses dengan *Zymomonas mobilis* A3 yang diamobilisasi pada κ -karaginan. Seminar Rekayasa Kimia dan Proses. Universitas Diponegoro Semarang. 1-4.
- Saadatullah Malghani., Nivedita Chatterjee., Hu Yue Yu., Zejiao Luo. (2009). Isolation and identification of profenofos degrading bacteria. *Journal of Microbiology*. 40: 893-900.
- Setiawati, E. (2015). Biotransformasi sitronelal menjadi sitronelol oleh *Saccharomyces cerevisiae* yang diperoleh dari PG-PS Madukismo Yogyakarta yang digunakan dalam proses fermentasi alkohol. Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.
- Silaban, B. M. J. (2017). Optimasi fermentasi produksi etanol dari nira siwalan (*Borassus flabellifer*) menggunakan mikroorganisme *Saccharomyces cerevisiae* dan *Pichia stipitis* dengan response surface methodology. Skripsi. Tidak Dipublikasikan. Fakultas Teknologi Industri. Institut Teknologi Sepuluh November. Surabaya.
- Simatupang, Y. V., I. M. M. Wijaya dan N. S. Antara. (2018). Isolasi dan karakterisasi bakteri potensial penghasil etanol dari industri arak bali di Karangasem-Bali. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. 7(1): 58-71.
- Waluyo, L. (2008). Teknik dan metode dasar dalam mikrobiologi. Universitas Muhammadiyah Malang Press, Malang.
- Yudoadmijoyo, M., A.A. Darwis., dan E.G. Sa'id. (1992). Teknologi Fermentasi. Edisi 1 cetakan 1. Rajawali Press, Jakarta
- Yuliana, Neti. (2013). Pengaruh konsentrasi inokulum bakteri *Zymomonas mobilis* dan lama Fermentasi pada produksi etanol dari sampah sayur dan buah pasar Wookromo Surabaya. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*, Universitas Brawijaya.