



ITS
Institut
Teknologi
Sepuluh Nopember

SKRIPSI

**PRODUKSI ETANOL MENGGUNAKAN
Zymomonas mobilis YANG DIAMOBILISASI
DENGAN Ca-ALGINAT**

**DWI RENIATI
NRP 1404 100 068**

**Dosen Pembimbing
DR. SURYA ROSA PUTRA, M.S**

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA 2009**



FINAL PROJECT

**ETHANOL PRODUCTION USED *Zymomonas mobilis* IMMOBILIZED WITH
Ca-ALGINATE**

DWI RENIATI
NRP 1404 100 068

Advisor Lecturer
DR. SURYA ROSA PUTRA, M.S

CHEMISTRY DEPARTMENT
FACULTY OF MATHEMATICS AND NATURAL SCIENCES
SEPULUH NOPEMBER INSTITUTE OF TECHNOLOGY
SURABAYA 2009

LEMBAR PENGESAHAN

PRODUKSI ETANOL MENGGUNAKAN *Zymomonas mobilis* YANG DIAMOBILISASI DENGAN Ca-ALGINAT

TUGAS AKHIR

Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Memperoleh Gelar Sarjana Pada Bidang Studi Biokimia Program Studi S – 1 Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya

Oleh :

Dwi Reniati
NRP. 1404 100 017

Surabaya, 20 Juli 2009

Menyetujui,
Dosen Pembimbing

Dr. Surya Rosa Putra, MS
NIP. 131 773 921

Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia

Lukman Atmaja, PhD
NIP .131 835 481

PRODUKSI ETANOL MENGGUNAKAN *Zymomonas mobilis* YANG DIAMOBILISASI DENGAN Ca-ALGINAT

Nama : Dwi Reniati
NRP : 1404 100 068
Pembimbing : Dr. Surya Rosa Putra, MS

Abstrak

Penelitian yang telah dilakukan yaitu amobilisasi sel bakteri *Zymomonas mobilis* dengan Ca-alginat untuk fermentasi etanol. Konsentrasi optimal alginat untuk mengamobil bakteri *Zymomonas mobilis* adalah 2% (b/v). Fermentasi berlangsung efektif pada temperatur ruang selama 120 jam dengan konsentrasi glukosa 10%. Pada kondisi tersebut, jumlah etanol maksimum yang dihasilkan sel amobil *Zymomonas mobilis* adalah 5,98% (v/v) (93,85% *yield* etanol bila dibandingkan dengan hasil teoritis), dengan laju pembentukan etanol sebesar 0,334 g.L⁻¹.jam⁻¹, hasil ini lebih besar dibandingkan dengan sel bebas dengan jumlah etanol maksimum yang dihasilkan adalah 0,58% (v/v) (82,88% *yield* etanol bila dibandingkan dengan hasil teoritis), dengan laju pembentukan etanol sebesar 0,038 g.L⁻¹.jam⁻¹. Setelah empat kali pengulangan fermentasi, sel amobil *Zymomonas mobilis* kehilangan aktivitas sebesar 98,4% dari aktivitas awal dan setelah penyimpanan selama 7 hari, sel amobil *Zymomonas mobilis* kehilangan 94,7% aktivitasnya.

Kata kunci : *Zymomonas mobilis*, *yield* etanol, amobilisasi, sel amobil, fermentasi etanol.

ETHANOL PRODUCTION USED *Zymomonas mobilis* IMMOBILIZED WITH Ca-ALGINATE

Name : Dwi Reniati
NRP : 1404 100 068
Advisor Lecturer : Dr. Surya Rosa Putra, MS

Abstract

The research that was carried out is immobilization the *Zymomonas mobilis* bacterial cells with Ca-alginate for ethanol fermentation. The optimum concentration of alginate to immobilized the *Zymomonas mobilis* bacteria cells was 2% (b/v). Fermentation took place effective in the room temperature for 120 hours with the concentration of glucose 10%. In this condition, the amount of maximum ethanol that was produced by immobilized cells of *Zymomonas mobilis* was 5.98% (v/v) (93,85% yield ethanol when compared with theoretical results), with the rate of the formation the ethanol was $0.334 \text{ g.L}^{-1}.\text{jam}^{-1}$, these results were bigger compared with the free cell with the amount of maximum ethanol that was produced was 0.58% (v/v) (82.88% yield ethanol when compared with theoretical results), with the rate of the formation of ethanol was $0.038 \text{ g.L}^{-1}.\text{jam}^{-1}$. After four repetition times of fermentation, the immobilized cells of *Zymomonas mobilis* lost 98,4% of their activity and after storage for 7 days, the immobilized cell of *Zymomonas mobilis* lost 94.7% of their activity.

Keyword : *Zymomonas mobilis*, yield ethanol, immobilization, immobilized cell , ethanol fermentation.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT karena atas rahmat, karunia dan perkenan-Nya penulis dapat menyelesaikan Laporan Tugas Akhir yang berjudul “Produksi Etanol Menggunakan *Zymomonas mobilis* yang Diamobilisasi dengan Ca-Alginat”.

Dalam penyusunan Laporan Tugas Akhir ini penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Dr. Surya Rosa Putra, M.S selaku Dosen Pembimbing sekaligus Kepala Laboratorium Biokimia atas semua diskusi, saran, dan bimbingan yang telah diberikan serta ilmu yang bermanfaat selama penyelesaian Tugas Akhir,
2. Drs. Lukman Atmaja, Ph.D selaku Ketua Jurusan Program S1 Jurusan Kimia FMIPA ITS,
3. Drs. Yulfi Zetra, M.Si selaku koordinator Tugas Akhir Program S1 Jurusan Kimia FMIPA ITS,
4. Drs. M. Suud Gani selaku dosen wali, serta seluruh Dosen pengajar jurusan Kimia atas bimbingan dan ilmu yang telah diberikan,
5. Bapak, Ibu, Mbak, Mas Sugeng, Ardis Z.A, atas segala doa dan dukungan yang tiada henti-hentinya,
6. Keluarga besar di Kediri, Bpk Dariyanto (Alm) dan keluarga, Bpk Ali Junaedi dan keluarga, Bude Anik, Bek Tik, Bek Yah, dan semua keluarga di Bontang, Bude Nah dan keluarga yang ada di Papua atas segala kepercayaan dan dukungannya yang begitu besar,
7. Keluarga Bapak Ir. Moegijanto (Alm), Mbak Vivin, Mbak Manda, Mas Rian dan Mas Erik atas segala kebaikan dan bantuannya selama ini baik secara moril maupun materiil,
9. Mas Bambang (Alm), Pak Lek Yono, Bulek Yati dan semua keluarga Pujomarto atas segala kebaikan dan bantuannya,

10. Teman-teman seperjuangan dari SMA, Ilah, Titik, Purnomo, Faisal, Saefudin, Agesta, Mas Romadhon, atas semua semangat, keceriaan, dan dukungan yang diberikan selama ini,
11. Rekan-rekan S1 di Laboratorium Biokimia, Panti, Fena, Anggi, Akbar, Nuzula, Dimas, Devi, Elok, juga Bpk dan ibu S2, Bpk Sunarto khususnya, Bu Tine, Bu Mas, Bu Mai, Bu Lila, Bu Lisa, Bu Tri, Pak Budi, Pak Sape, Pak Soni, MbK Mer, MbK Pipit, MbK Elok, MbK Wiji serta semua Analis Jurusan Kimia atas semua dukungan dan bantuannya selama berada di Laboratorium Biokimia,
12. Teman-teman Kimia Angkatan 2004, Choosy, Niken, Siti, Yuyun, Mb Tri, Mb Rina, Rike, Ardyah, Esti, Ela, Citra, Sandi, Candra dan semua yang tidak dapat disebutkan satu persatu, atas kebersamaan dalam susah maupun senang selama masa kuliah,
13. Serta semua pihak yang telah membantu.

Setiap ada kelebihan pasti ada kekurangan. Oleh karena itu penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun terhadap Tugas Akhir ini. Semoga Tugas Akhir ini bisa memberikan manfaat dan inspirasi terutama bagi pihak-pihak yang menekuni bidang terkait dengan yang penulis kerjakan.

Surabaya, Juli 2009

Penulis

DAFTAR ISI

ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR GRAFIK	xv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Permasalahan	4
1.3 Batasan Masalah	4
1.4 Tujuan	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Produksi Etanol	5
2.2 Produksi Etanol Dengan Menggunakan <i>Zymomonas mobilis</i>	8
2.3 Kurva Pertumbuhan Bakteri	12
2.4 Amobilisasi	12
2.4.1 Sistem Amobilisasi Sel	12
2.4.1.1 Pengikatan Permukaan Sel (<i>Surface Attachment of Cells</i>)	13
2.4.1.2 Penjebakan dalam Matrik Berpori (<i>Entrapment within porous matrices</i>)	14

2.4.1.3 Pengisian dalam Dinding Penghalang (<i>Containment Behind a Barrier</i>)	15
2.4.1.4 Agregasi Sel (<i>Self-aggregation of cells</i>)	17
2.4.2 Sistem Amobilisasi Enzim	17
2.5 Alginat	20
2.6 Destilasi	21
2.7 Kromatografi	21
2.8 Metode Kuantitasi Bakteri	21
2.9 Turbidimetri	24
2.10 Sentrifugasi	26
2.11 Uji Kualitatif Etanol	27

BAB III . METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Peralatan	29
3.2 Bahan	29
3.3 Prosedur Kerja	30
3.3.1 Pembuatan Media dan Stok Kultur	30
3.3.1.1 Pembuatan Media Padat	30
3.3.1.2 Pembuatan Media Cair	30
3.3.1.3 Regenerasi <i>Zymomonas mobilis</i>	30
3.3.1.4 Penentuan Kurva Pertumbuhan <i>Zymomonas mobilis</i>	30
3.3.1.5 Pembuatan Stok Kultur	31
3.3.2 Optimasi Penggunaan Konsentrasi Alginat	31
3.3.3 Penentuan Pola Konsumsi Glukosa dan Produksi etanol Sel Bebas dan Sel Amobil <i>Zymomonas mobilis</i>	32

3.3.3.1	Fermentasi dengan Sel Bebas untuk Memperoleh Pola Konsumsi Glukosa dan Produksi Etanol	32
3.3.3.2	Fermentasi dengan Sel Amobil untuk Memperoleh Pola Konsumsi Glukosa dan produksi etanol	33
3.3.4	Pengaruh Penggunaan Sel Amobil pada Fermentasi Berulang terhadap Kadar Etanol	33
3.3.5	Efek Waktu Penyimpanan terhadap Durabilitas Sel Amobil	34
3.3.6	Analisis Residu Glukosa	34
3.3.6.1	Pembuatan Kurva Standar Residu Glukosa	34
3.3.6.2	Penentuan Residu Glukosa Sampel	35
3.3.7	Analisis Kadar Etanol	35
3.3.8	Analisis Kualitatif Etanol	35

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1	Regenerasi <i>Zymomonas mobilis</i>	37
4.2	Produksi biomassa <i>Zymomonas mobilis</i>	38
4.3	Penentuan Kurva Pertumbuhan <i>Zymomonas mobilis</i>	40
4.4	Optimasi Penggunaan Konsentrasi Alginat	42
4.5	Penentuan Pola Produksi Etanol dan Konsumsi Glukosa Sel Bebas dan Sel Amobil <i>Zymomonas mobilis</i>	48
4.6	Pengaruh Penggunaan Sel Amobil pada Fermentasi Berulang terhadap Kadar Etanol	51

4.7 Efek Waktu Penyimpanan terhadap kadar etanol	53
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	57
5.2 Saran	57
DAFTAR PUSTAKA	59
LAMPIRAN	67

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Jalur <i>Entner-Doudoroff</i>	9
Gambar 2.2. Amobilisasi sel dengan adsorpsi/pengikatan pada permukaan (<i>Attachment to a surface</i>): A. Adsorpsi monolayer, B. Adsorpsi sebuah biofilm, C. Adsorpsi sebuah biofilm “Buatan”, yaitu sebuah permukaan gel yang mengandung sel amobil atau agregat- agregat sel.	14
Gambar 2.3. Partikel bulat yang menunjukkan tiga metode amobilisasi: (1) amobilisasi dalam partikel berpori (bagian kiri atas), (2) amobilisasi dengan pembentukan agregasi sel, misal sebuah pelet jamur, dan (3) amobilisasi dalam sebuah matriks gel (bagian bawah).	15
Gambar 2.4. Membran sintetik untuk amobilisasi sel: A. Amobilisasi dalam struktur berpori dari sebuah membran asimetri, B. Pengikatan dari sebuah biofilm dalam membran permeabel, dan C. Sebuah membran untuk memisahkan bagian sel dari bagian cairan sel bebas.	17
Gambar 2.5. Struktur Na-Alginat	21
Gambar 2.6. Seri pengenceran digunakan untuk metode <i>plate count</i>	23
Gambar 2.7. Hemacytometer (a), dan <i>Counting chambers</i>	25

dalam hemacytometer (b).

Gambar 2.8 Pengukuran pertumbuhan bakteri dengan cara kekeruhan tabung kontrol tanpa sel bakteri (A) dan dengan sel bakteri (B)	26
Gambar 4.1. Regenerasi <i>Zymomonas mobilis</i> pada media padat (agar miring)	37
Gambar 4.2. Kurva pertumbuhan <i>Zymomonas mobilis</i>	41
Gambar 4.3 Reaksi Pembentukan Ca-Alginat	42
Gambar 4.4. Sel teramobil di dalam gel alginat (a), Sel amobil digunakan dalam media fermentasi (b).	44
Gambar 4.5. Persentase etanol hasil fermentasi pada berbagai konsentrasi alginat	45
Gambar 4.6. Perubahan warna pada uji kualitatif etanol	46
Gambar 4.7. Pola produksi etanol dan konsumsi glukosa sel amobil dan sel bebas (jumlah sel awal $1,16 \times 10^{10}$ sel/mL, konsentrasi glukosa 10%, temperatur ruang, tanpa pengendalian pH).	49
Gambar 4.8. <i>Yield</i> etanol sel amobil dan sel bebas <i>Zymomonas mobilis</i> terhadap waktu pengukuran.	50
Gambar 4.9 Laju pembentukan etanol pada penggunaan sel amobil dan sel bebas digunakan dalam fermentasi etanol	51
Gambar 4.10. Pengaruh penggunaan sel amobil dalam fermentasi berulang terhadap kadar etanol yang dihasilkan (Fermentasi selama 120 jam, temperature ruang,	52

tanpa pengendalian pH, jumlah sel teramobil 1.16×10^{10} sel/mL).

Gambar 4.16. Pengaruh lama penyimpanan sel amobil terhadap kadar etanol hasil fermentasi (Fermentasi selama 120 jam, temperatur ruang, tanpa pengendalian pH, jumlah sel teramobil 1.16×10^{10} sel/mL)

54

DAFTAR GRAFIK

Grafik 1. Kurva Standar Etanol	77
Grafik 2. Kurva Standar Glukosa	79

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Beberapa mikroorganisme yang mampu menghasilkan etanol [$> 1\%$ (w/v)] dari substrat yang sesuai	7
Tabel 2.2. Produktivitas Etanol dari Sistem Amobilisasi	19
Tabel 4.1 Penghitungan jumlah sel <i>Zymomonas mobilis</i> dalam amobilisasi dengan alginat 1, 2, 3 dan 4%	43
Tabel 2.1 Perhitungan Konsentrasi Etanol dari Data Kromatogram pada Optimasi Penggunaan Konsentrasi Alginat	73
Tabel 2.2 Perhitungan Konsentrasi Etanol dari Data Kromatogram pada Optimasi Penggunaan Sel Amobil Secara Berulang	74
Tabel 2.3 Perhitungan Konsentrasi Etanol dari Data Kromatogram pada Optimasi Durabilitas terhadap Penyimpanan Sel Amobil	75
Tabel 3.1 Pembuatan Kurva Standar Etanol	77
Tabel 3.2 Perhitungan Kadar Etanol Hasil Fermentasi pada Sel Amobil <i>Zymomonas mobilis</i>	78
Tabel 3.3 Perhitungan Kadar Etanol Hasil Fermentasi pada Sel Bebas <i>Zymomonas mobilis</i>	78
Tabel 3.4 Pembuatan Kurva Standar Glukosa	79
Tabel 3.5 Perhitungan Kadar Glukosa Reduksi selama Fermentasi pada Sel Amobil <i>Zymomonas mobilis</i>	80
Tabel 3.6 Perhitungan Kadar Glukosa Reduksi selama Fermentasi pada Sel Bebas <i>Zymomonas mobilis</i>	80
Tabel 4.1 Nilai <i>Yield</i> Etanol sel Amobil dan sel Bebas	81

Tabel 5.1 Produktivitas Etanol pada Sel Amobil	82
Tabel 5.2 Produktivitas Etanol pada Sel Bebas	82
Tabel 5.3 Data Kurva Pertumbuhan Bakteri	83

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram Skematik Penelitian	67
Lampiran 2. Perhitungan Konsentrasi Etanol dari Data Kromatogram	73
Lampiran 3. Perhitungan Kadar Etanol Hasil Fermentasi	77
Lampiran 4. Perhitungan <i>Yield</i> Etanol Sel Amobil dan Sel Bebas Selama Fermentasi	81
Lampiran 5. Perhitungan Laju Pembentukan Etanol pada Penggunaan Sel Amobil dan Sel Bebas untuk Fermentasi Etanol	82
Lampiran 6. Data Kromatogram	85