

Potensi Ampas Kasar Kecap sebagai Bahan Dasar Pembuatan Etanol

Wulan Sari Eko Putri dan Tri Ardyati*

¹Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya

*E-mail: tri_ardiyati@yahoo.com

ABSTRAK

Ampas kasar kecap sebagai limbah agro-industri mengandung gula reduksi yang berpotensi sebagai bahan dasar pembuatan etanol. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi ampas kasar kecap sebagai bahan dasar pembuatan etanol. Produksi etanol oleh isolat I₂YP₅K₁, *C. krusei* dan *S. cerevisiae* dilakukan pada media filtrat ampas kasar kecap 20 Brix diinkubasi pada suhu 30 °C, agitasi 120 rpm selama 3 hari. Parameter yang diamati adalah kadar etanol, pH, gula reduksi dan jumlah sel. Kadar etanol diukur dengan Kromatografi Gas. Produksi etanol paling tinggi didapatkan dari perlakuan *S. cerevisiae* sebesar 4,07 % diikuti oleh isolat I₂YP₅K₁ sebesar 1,52 % dan *C. krusei* sebesar 0,84 % pada hari ke-3.

Kata kunci : ampas kasar kecap, etanol, khamir

ABSTRACT

Reduction sugar contain in crude soy sauce waste made it as a potential habitat for ethanol production. Aim of this research is to observed potentiality of crude soy sauce for ethanol production. I₂YP₅K₁, *C. krusei* and *S. cerevisiae* in 20 Brix crude soy sauce filtrate agitated in 30 °C, 120 rpm for 3 days. Measurement of ethanol concentration, pH, concentration of sugar reduction and cell mass done each day for three days. Ethanol concentration assay done by Gas Chromatography. Maximum ethanol production observed in *S. cerevisiae* with ethanol concentration was 4,97 % while I₂YP₅K₁ and *C. krusei* was 1.52 % and 0.84 % respectively. Potential ethanol production of crude soy sauce waste was 4.07 %.

Key words : ethanol, soy sauce waste, yeast

PENDAHULUAN

Produksi minyak bumi di Indonesia mengalami kesenjangan negatif dengan konsumsi minyak bumi dimana angka konsumsi melebihi angka produksi sebesar 24.000 bph (barell per hari) [1]. Oleh karena itu diperlukan suatu upaya untuk mendapatkan sumber energi alternatif. Salah satu sumber energi alternatif yang mempunyai beberapa kelebihan yaitu etanol, hal tersebut dikarenakan etanol merupakan sumber energi yang dapat diperbarui dan ramah lingkungan karena emisi karbondioksida rendah [2]. Selain itu, etanol dapat digunakan sebagai bahan campuran bensin (gasolin) yang kemudian dinamakan gasohol, dan juga dapat digunakan secara langsung sebagai bahan bakar [3]. Bahan dasar pembuatan etanol dapat berupa lignoselulosa, bahan yang mengandung pati dan bahan-bahan yang berupa disakarida maupun monosakarida [2].

Ampas kecap sebagai salah satu limbah agro-industri terbagi atas dua jenis yaitu, ampas kecap dalam bentuk pasta yang selama ini dimanfaatkan sebagai salah satu komponen pakan ternak karena nutrisi yang terkandung di dalamnya cukup besar [4], dan ampas kasar kecap yang selama ini kurang diminati dan digunakan sebagai pakan ikan lele. Kurangnya peminat ampas kasar kecap memberikan peluang untuk dikembangkan sebagai bahan baku pembuatan bioetanol [5]. Prospek pengembangan ampas kasar kecap sebagai bahan baku pembuatan bioetanol juga didukung oleh banyaknya industri pembuatan kecap di Indonesia, yaitu sejumlah 79 perusahaan [6] dengan total limbah 85 ton/tahun/pabrik [7]. Dengan demikian tujuan yang ingin dicapai pada penelitian ini yaitu mengetahui potensi ampas kasar kecap sebagai bahan dasar pembuatan etanol.

METODE PENELITIAN

Fermentasi: isolat yang digunakan pada saat fermentasi adalah isolat I₂YP₅K₁, *Candida krusei* dan *S. cerevisiae*. Setiap isolat umur 48 jam pada media *Yeast Malt* cair (0,3 % ekstrak khamir, 0,3 % ekstrak malt, 0,5 % pepton, dan 3 % glukosa) steril diinokulasi sebanyak 10 % ke media filtrat ampas kasar kecap 20 Brix 30 mL dan diinkubasi dengan penggojogan pada suhu 30 °C, kecepatan 120 rpm, selama 48 jam. Kemudian, sebanyak 10 % dari hasil inkubasi tersebut diinokulasi ke filtrat ampas kasar kecap 20 °Brix 100 mL, diinkubasi dengan penggojogan pada suhu 30 °C, kecepatan 120 rpm sampai jam ke-6, inokulum tersebut selanjutnya diinokulasi ke media untuk proses fermentasi yaitu filtrat ampas kasar kecap 20 Brix 1000 mL. Fermentasi dilakukan pada suhu 30 °C, kecepatan 120 rpm, selama 3 hari. Setiap hari dilakukan pengukuran pH, suhu, dan kadar gula reduksi. Untuk pengukuran kadar etanol dilakukan dengan destilasi sebanyak 200 mL terlebih dahulu, kemudian distilat dianalisis dengan kromatografi gas.

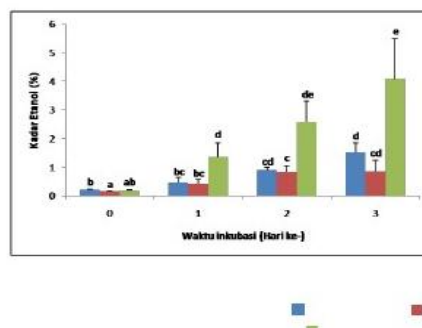
HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar Etanol Hasil Fermentasi dari Isolat I₂YP₅K₁, *C. krusei* dan *S. cerevisiae*:

Perlakuan fermentasi filtrat ampas kasar kecap oleh *S. cerevisiae* pada hari ke-3 menunjukkan hasil yang paling maksimal (Gambar 1), sedangkan pada perlakuan oleh isolat I₂YP₅K₁ dan *C. krusei* pada hari ke-3 tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Rata-rata kadar etanol yang dihasilkan isolat *S. cerevisiae*, I₂YP₅K₁ dan *C. krusei* pada hari ke-3 secara berturut-turut sebesar 4,07 %, 1,52 % dan 0,84 %. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa isolat yang dapat menghasilkan etanol dari filtrat ampas kasar kecap paling tinggi adalah isolat kontrol *S. cerevisiae*.

Pemanfaatan *S. cerevisiae* dalam skala industri sebagai organisme yang berperan dalam produksi etanol telah banyak dilakukan, beberapa kelebihan *S. cerevisiae* yaitu memiliki kemampuan fermentasi gula dengan lebih cepat, toleran terhadap alkohol serta dapat memproduksi etanol dengan konsentrasi tinggi, menghasilkan rasa dan aroma yang khas pada industri minuman beralkohol,

meningkatkan flokulasi, mampu memanfaatkan gula dalam bentuk disakarida dan trisakarida, serta tidak membentuk gelembung busa [8].

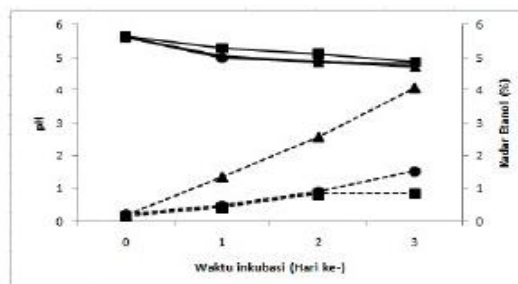


Gambar 1. Perbandingan kadar etanol hasil fermentasi dengan isolat dan hari berbeda, I₂YP₅K₁ (), *C. krusei* () dan *S. cerevisiae* () *label huruf

yang berbeda menandakan perbedaan hasil perlakuan yang signifikan ($p < 0,05$)

Pengaruh Waktu Inkubasi dan Jenis Isolat Terhadap pH dan Produksi Etanol:

Semakin lama waktu inkubasi, pH media semakin rendah yaitu dari 5,6 menjadi 4,7, namun kadar etanol semakin tinggi. Peningkatan yang signifikan ($p < 0,05$) terhadap kadar etanol terjadi pada perlakuan *S. cerevisiae* pada hari ke-3 dengan pH 4,72 (Gambar 2). Produksi etanol yang paling maksimal menggunakan *S. cerevisiae* dengan pH 4,5; 5,0; 5,5; 6,0; 7,0 dan 8 menghasilkan kadar etanol optimum pada pH kisaran 5,5 [9].



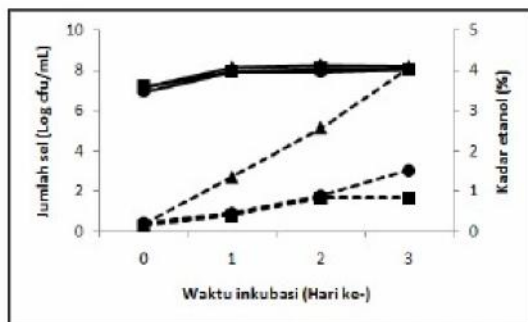
Gambar 2. Pengaruh waktu inkubasi dan isolat I₂YP₅K₁ (), *C. krusei* (), serta *S. cerevisiae* () terhadap pH dan kadar etanol; Ket: kadar etanol - - -, pH

Konsentrasi ion hidrogen dalam media berperan penting dalam proses fermentasi, dimana pH tinggi dapat menghambat kontaminasi bakteri, mempengaruhi pertumbuhan khamir, laju fermentasi dan terbentuknya produk sampingan (by-product)

[10]. Kecenderungan media fermentasi semakin asam disebabkan NH_3 (amonia) yang digunakan sel khamir sebagai sumber nitrogen diubah menjadi NH_4^+ . Molekul NH_4^+ akan menggabungkan diri ke dalam sel sebagai R- NH_2 . Dalam proses ini H^+ ditinggalkan dalam media. Sehingga semakin lama waktu fermentasi, semakin rendah pH media (semakin asam) [11].

Pengaruh Waktu Inkubasi dan Jenis Isolat Terhadap Jumlah Sel dan Produksi Etanol:

Semakin tinggi jumlah sel maka kadar etanol yang dihasilkan semakin meningkat (Gambar 3). Kadar etanol yang paling tinggi dihasilkan saat perlakuan dengan *S. cerevisiae* pada hari ke-3 dengan jumlah sel sebesar $8,04 \log \text{cfu/mL}$. Namun, peningkatan jumlah sel pada tiap perlakuan tidak berbeda secara signifikan. Hal ini disebabkan oleh penghambatan etanol, selain itu dalam kondisi fermentasi, sel khamir tidak melakukan pembelahan sel dalam skala besar, karena energi yang didapatkan digunakan untuk memproduksi etanol, tidak untuk pertumbuhan.



Gambar 3. Pengaruh waktu inkubasi dan isolat I2YP5K1 (●), *C. krusei* (▲), serta *S. cerevisiae* (■) terhadap jumlah sel dan kadar etanol; ket: kadar etanol ---, jumlah sel

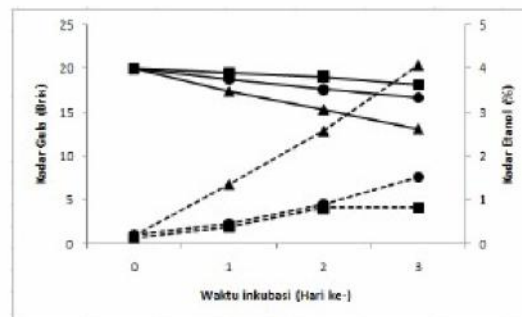
Dalam kondisi fermentasi, terjadi kenaikan jumlah sel sebanyak 70 % pada jam ke-2, 37 % pada jam ke-3, 5 dan 29 % pada jam ke-6. Perlambatan kenaikan jumlah sel ini dipengaruhi oleh ketersediaan oksigen yang semakin sedikit selama proses fermentasi [12]. Hasil metabolisme pada jalur pentosa fosfat oleh khamir yang tergolong Crabtree positif (misalnya *S. cerevisiae*) didominasi oleh pembentukan NADPH, bukan pembentukan biomassa (sel) [13].

Pada prinsipnya, fermentasi dapat menyediakan energi yang cukup untuk pertumbuhan. Namun, kemampuan khamir

untuk tumbuh dalam kondisi anaerob tidak tergantung dari kapasitas fermentasi saja. Kebanyakan khamir membutuhkan oksigen dalam jumlah yang terbatas untuk fermentasi glukosa, misalnya *Hansenula nonfermentans*. Walaupun fermentasi terjadi dalam kondisi anaerobik, pertumbuhan khamir tetap tergantung pada keberadaan oksigen. Bahkan penambahan *ergosterol* dan *unsaturated fatty acid* yang merupakan media esensial dalam pertumbuhan khamir pada kondisi anaerob tidak mengurangi kebutuhan khamir terhadap oksigen [14].

Pengaruh Waktu Inkubasi dan Jenis Isolat Terhadap Kadar Gula (Brix) dan Produksi Etanol:

Terjadi penurunan kadar gula diikuti dengan peningkatan konsentrasi etanol (Gambar 4), dimana konsumsi gula reduksi terbanyak adalah pada perlakuan *S. cerevisiae* pada hari ke-3 dengan kadar gula terendah sebesar 13,07 Brix dan kadar etanol sebesar 4,07 %. Kadar gula reduksi pada fermentasi dengan isolat *S. cerevisiae* menunjukkan penurunan secara signifikan pada hari ke-1 dan ke-2 sedangkan pada hari selanjutnya tidak terjadi penurunan kadar gula yang signifikan. Namun, hal ini tidak berlaku untuk kadar etanol yaitu kadar etanol dengan perlakuan *S. cerevisiae* meningkat secara signifikan setiap hari. Produk sampingan pada awal fermentasi dihasilkan lebih lambat dibandingkan dengan laju konsumsi gula reduksi, namun laju konsumsi mengalami perlambatan pada hari selanjutnya [15].



Gambar 4. Pengaruh waktu inkubasi dan isolat I2YP5K1 (●), *C. krusei* (▲), serta *S. cerevisiae* (■) terhadap kadar gula dan kadar etanol; ket: kadar etanol ---, kadar gula

Gula reduksi digunakan untuk aktivitas pertumbuhan dan pembentukan metabolit sekunder oleh mikroba. Penurunan kadar gula reduksi di akhir fermentasi mengindikasikan

terbentuknya metabolit (etanol). Hal ini ditunjukkan oleh perbedaan pH selama fermentasi [16].

KESIMPULAN

Potensi ampas kasar kecap dalam menghasilkan etanol yaitu sebesar 4,07 % oleh isolat *S. cerevisiae* kemudian diikuti oleh isolat I₂YP₅K₁ dan *C. krusei* secara berturut-turut sebesar 1,52 dan 0,84 %.

Pustaka

- [1]. Djunedi. 2004. Dampak Surutnya Cadangan Minyak Indonesia. <http://www.fiskal.depkeu.go.id>. Tanggal akses 20 Desember 2011
- [2]. Siqueira, P. F., Susan G. K., Júlio C. C., Wilerson S., José A. R., Jean-Luc T., Reeta R. S., Ashok P., dan Carlos R. S. 2008. Production of Bio-ethanol from Soybean Molasses by *Saccharomyces cerevisiae* at Laboratory, Pilot and Industrial Scales. *Bioresource Technology* 99: 8156–8163
- [3]. Jeon, Bo Young dkk. 2007. Development of a Serial Bioreactor System for Direct Ethanol Production from Starch Using *Aspergillus niger* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnology and Bioprocess Engineering* 12: 566-573
- [4]. Supriyanto, T. dan Wahyudi. 2010. Proses Produksi Etanol oleh *Saccharomyces cerevisiae* dengan Operasi Kontinyu pada Kondisi Vakum. Skripsi. Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro. Semarang
- [5]. Halimatussa'diah. 2007. Pencampuran Tepung Hasil Isolasi Protein dari Limbah Padat Industri Kecap dengan Tepung Kaldu Ayam sebagai Penyedap Rasa Makanan. Skripsi. Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan, Universitas Sumatera Utara. Medan
- [6]. Nugroho, A., Enny T. S., Herman T., dan Surahmanto. 1998. Evaluasi Limbah Padat Kecap Sebagai Pakan Ruminansia Berdasarkan Uji Degradasi Substansi Serat Terlarut dalam Asam. Laporan Hasil Penelitian. Pusat Penelitian Pengembangan Teknologi, Lembaga Penelitian, Universitas Diponegoro, Semarang
- [7]. Kementrian Perdagangan Republik Indonesia. 2010. Direktori Perusahaan (Klasifikasi Lapangan Usaha di Indonesia : Kecap). http://www.kemendag.go.id/direktori_koleksi_pusdatin_perdagangan. Diakses tanggal 2 November 2011
- [8]. Bisson, L. F. 2004. The biotechnology of wine yeast. *Food Biotechnol* 18:63–96.
- [9]. Linden, T., Peetre, J., Hahn-Hagerdal, B. 1992. Isolation and characterization of acetic acid-tolerant galactose-fermenting strains of *Saccharomyces cerevisiae* from a spent sulphite liquor fermentation plant. *Appl. Environ. Microb.* 58:1661-1669.
- [10]. Wayman M., dan Parekh S. R. 1990. *Biotechnology of Biomass Conversion: Fuel and Chemicals from Renewable Resources*. Open University Press. Milton Keynes: UK.
- [11]. Judoamidjojo, R. M., Darwis A. A., dan Sa'id E. G. 1992. *Teknologi Fermentasi*. Bogor: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Pusat Antar Universitas Bioteknologi Institut Pertanian Bogor.
- [12]. Visser W, Batenburg-van der V. W, dan Scheffers W. A. 1990. Oxygen requirements of yeasts. *Applied Environmental Microbiology* 56:3785–3792.
- [13]. Miller, R. K. 2004. Monitoring spindle assembly and disassembly in yeast by indirect immunofluorescence. In "Cell cycle checkpoint control protocols." H. B. Lieberman. Editor. Humana Press, USA, Totowa, NJ. *Methods in Molecular Biology* series. Vol 241. pp.341-352.
- [14]. Blank, L. M. dan Sauer, U. 2004. TCA Cycle Activity in *Saccharomyces cerevisiae* is a Function of The Environmentally Determined Specific Growth and Glucose Uptake Rates. *Microbiology* 150:1085–1093.

- [15]. Fales, F. W. 1951. The Assimilation and Degradation of Carbohydrates by Yeast Cells. Departement of Physiology, Stanford University of Medicine, California.
- [16]. Nur, H. S. 2009. Sukses Mikroba dan Aspek Biokimia Fermentasi Mandai dengan Kadar Garam Rendah. *makara sains* 13(1):13-16.