

Submitted : 27 June

Revised : 14 July

Accepted : 31 July

REVIEW: PENGONTROLAN POTENSIAL REDOKS PADA FERMENTASI ETANOL SISTEM MIKROAEROBIK MENGGUNAKAN RAGI *SACCHAROMYCES*

Wara Dyah Pita Rengga^{1*}, Daniel Setiyo Nugroho¹, Tiara Khalifah Permani¹, Angga Pratama¹

¹Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Negeri Semarang

*Email: wdpitar@mail.unnes.ac.id

Abstrak

Fermentasi etanol sistem mikroaerobik menggunakan media glukosa dengan bantuan ragi *Saccharomyces Cerevisiae*. Selektifitas produk etanol dapat dikendalikan pada kondisi mikroaerobik menggunakan potensial redoks ekstrasel yang dapat mendeteksi adanya oksigen selain oksigen. Oksigen terlarut yang adadapat mempengaruhi redoks dari metabolisme di intrasel. Kajian peningkatan efisiensi fermentasi etanol dapat dilakukan melalui strategi kontrol potensial redoks, potensial redoks pada kadar gula sangat tinggi sebagai bahan baku, pengembangan fermentor pada reaksi mikroaerobik, dan penambahan zat pengontrol serta skema kontrol potensial redoks. Strategi potensial redoks terhadap produk etanol harus diimbangi oleh kelangsungan hidup sel, sehingga diperlukan agitasi dan aerasi yang optimal. Didapat potensial -150 mV untuk memantau reaksi redoks pada media glukosa yang sangat tinggi yaitu 290 g/L. Fermentor didesain untuk sistem mikroaerobik menggunakan kombinasi reaktor berpengaduk dan turbular yang dalam prosesnya diperlukan penambahan gas penyemprot dan bahan kimia untuk mengontrol potensial redoks. Skema kontrol dilakukan dengan menggabungkan aerasi dan glukosa yang dikendalikan, sehingga didapat hasil produksi etanol mencapai 147 g/L, sehingga memperlama waktu potensial redoks dan kelangsungan hidup ragi untuk mencapai proses fermentasi etanol yang efisien di atas 90%.

Kata Kunci: Mikroaerobik, Potensial redoks, *Saccharomyces cerevisiae*

Abstract

*Microaerobic system of ethanol fermentation used glucose with the aid of *Saccharomyces cerevisiae* yeast. Ethanol product selectivity can be controlled by microaerobic condition using extracellular redox potential which can detected the presence other oxygen of dissolved oxygen. Dissolved oxygen can affect intracellular redox metabolism. Study of improving the efficiency of ethanol fermentation can be carried out via redox potential control strategies, redox potential at very high levels of sugar as raw material, development of the fermenter at the microaerobic reaction, and an addition of controllers and control schemes redox potential. Strategy redox potential of ethanol product must be offset by the survival of the cell so that necessary optimal agitation and aeration. Obtained potential -150 mV to monitor the redox reaction in glucose media was 90 g/L. Microaerobic fermenter designed for systems using a combination of a stirred reactor and tubular were in the process required the addition of gas and chemical sprays to control the redox potential. Control scheme carried out by combining aeration and glucose is controlled, so that the result of ethanol production reached 147 g/L, thus prolonging the time the redox potential and the viability of yeast to achieve an efficient ethanol fermentation processes over 90%.*

Keywords: Microaerobic, Redoks potential, *Saccharomyces cerevisiae*

1. PENDAHULUAN

Beberapa fermentasi sistem anaerobik atau microaerobik dapat dipilih untuk mendapatkan produk yang diinginkan, namun kontaminasi karena mikroba yang tidak diinginkan dapat menyebar cepat di bawah kondisi aerobik.

Biofuel seperti etanol dan butanol diproduksi pada kondisi fermentasi mikroaerobik dan anaerobik. Hal ini sangat berbeda dengan kultur fermentasi aerobik di mana oksigen terlarut dapat dipantau, sehingga menjadi tantangan besar bagi fermentasi mikroaerobik dan anaerob yang belum menggunakan proses teknologi pemantauan dan kontrol.

Teori potensial redoks dan pengukurannya dengan sistem reaksi kimia yang relatif sederhana menggunakan dampak potensial redoks pada metabolisme intraseluler masih sangat terbatas aplikasinya dalam rekayasa bioproses.

Potensial redoks menggambarkan transfer elektron keseluruhan dan keseimbangan redoks yang terlibat dalam metabolisme intraseluler sistem biologis. Potensial redoks pada aktivitas mikroorganisme mempengaruhi proses transformasi senyawa-senyawa organik dan anorganik serta keasaman (Agustina, 2014). Reaksi reduksi oksidasi terjadi secara bersamaan di dalam sel. Salah satu faktor yang mendukung aktivitas metabolismik mikroorganisme adalah potensial redoks. Reaksi ini penting untuk mengatur metabolisme nutrisi secara biologis seperti karbon, hidrogen, oksigen, nitrogen, dan sulfur.

Ukuran potensial redoks membantu operator fermentor untuk mengetahui jumlah agen oksidasi dan memastikan dalam kisaran yang tepat untuk pertumbuhan sel, terutama ketika oksigen terlarut pada tingkat yang sangat rendah. Penentuan potensial redoks adalah sebuah pengukuran potensiometri yang dinyatakan sebagai milivolt (mV).

Teknologi nanosensors yang dapat menembus ke dalam sel-sel individual telah dikembangkan untuk mengukur potensial redoks intraseluler dan keseimbangan redoks intraseluler yang berdampak pada metabolisme, fisiologi sel, dan rekayasa dengan jalur redoks untuk mendapatkan hasil fermentasi yang diinginkan secara efisien (Auchinvole dkk., 2012). Di sisi lain potensial redoks ekstraseluler dapat dideteksi dengan elektroda potensial redoks secara bersamaan dengan potensial redoks intraseluler. Strategi kontrol potensial redoks dapat dikembangkan dan diterapkan untuk mengubah kondisi potensial redoks intraseluler dan metabolisme. Interaksi antara potensi redoks lingkungan dan metabolisme intraseluler ditandai dengan transfer elektron dan keseimbangan redoks.

Beberapa produk fermentasi yang diproduksi pada kondisi sistem mikroaerobik atau anaerobik, di mana oksigen tidak terdeteksi oleh oksigen terlarut yang diteliti menghadirkan tantangan bagi proses pemantauan. Potensi redoks ekstraseluler dapat dideteksi dengan mudah karena mempengaruhi intraseluler homeostasis redoks dan metabolisme sehingga dapat digunakan untuk mengontrol profil produk fermentasi yang dapat dipakai sebagai

alternatif untuk pemantauan dan pengendalian proses fermentasi tersebut. (Liu dkk., 2013).

Potensial redoks pada media fermentasi ditentukan oleh derajat reduksi yang berbeda seperti oksigen terlarut. Potensial redoks intraseluler didominasi oleh rasio NAD(P)H/NAD (P) yang dapat dipengaruhi oleh metabolisme dan potensial redoks ekstraseluler. Beberapa bahan kimia seperti oksigen terlarut dapat menembus membran untuk bereaksi dengan metabolisme tereduksi dan teroksidasi secara langsung, sedangkan bahan kimia lainnya tidak dapat menembus sitoplasma karena dipengaruhi metabolisme intraseluler melalui oksidoreduktase di dalam membran (Baker dan Lawen, 2000). Mengendalikan potensial redoks dalam sistem fermentasi dapat meningkatkan konversi ethanol melalui pengendalian transfer elektron ke dalam oksigen dan air di dalam sistem.

Di antara banyak mikroorganisme yang telah dimanfaatkan untuk produksi etanol, *Saccharomyces cerevisiae* masih tetap sebagai spesies utama. Proses fermentasi gula atau pati dengan bantuan ragi tersebut secara enzimatis menghasilkan etanol pada kondisi mikroaerobik. Ketika organisme terlibat dalam kultur fermentasi, faktor lingkungan seperti oksigen terlarut dan kondisi mikroaerobik harus diperhitungkan. Pendekripsi oksigen terlarut tidak dapat mendekripsi jejak oksigen terlarut dalam strain fermentasi. Namun, potensial redoks standar untuk O₂/H₂O memiliki potensial paling besar di antara semua pasangan redoks yang berhubungan dengan metabolisme intraseluler. Oleh karena itu, jika elektron ditransfer, oksigen menjadi akseptor utama, sehingga mengontrol potensial redoks menjadi lebih efektif untuk dilakukan.

Pada kajian teori ini membahas tentang jalur strategi kontrol potensial redoks pada agitasi dan aerasi yang mempengaruhi proses fermentasi terhadap produk etanol. Potensial redoks pada fermentasi etanol dengan kadar gula sangat tinggi dan pengembangan fermentor pada mikroaerobik, serta penambahan reaktan untuk kontrol potensial redoks. sehingga didapatkan proses yang lebih efisien pada kondisi mikroaerobik fermentasi etanol oleh ragi *Saccharomyces cerevisiae*.

2. POTENSIAL REDOKS DALAM METABOLISME

Mekanisme proses saling berhubungan antara potensial redoks lingkungan dan metabolisme intraseluler. Proses fermentasi oleh enzim di dalam media gula dapat berupa elektron transfer dan kesetimbangan redoks. Akibatnya potensial redoks ini dapat mengindikasikan adanya produk yield etanol yang tinggi.

Hal ini diawali dari oksigen dapat menembus ke dalam sitoplasma dan mempengaruhi metabolisme intraseluler melalui reaksi oksidoreduktase di dalam membran. Alat yang digunakan untuk memonitor langsung informasi redoks sistem fermentasi pada metabolisme intraseluler adalah sebuah sistem elektroda potensial redoks seperti sensor terdiri

darilogram inert seperti elektroda platinum, rhodium, iridium atau emas, dan biasanya perak.

Teknik untuk mendeteksi potensial redoks intraseluler dalam sitoplasma biasanya digunakan untuk mengkarakterisasi potensial redoks. Di antara berbagai pasangan redoks, nikotinamida adenin dinukleotida (NAD^+) dan nikotinamida adenin dinukleotida fosfat (NADP^+) yang teroksidasi adalah dua kofaktor utama yang menerima elektron dari molekul lain membentuk NADH dan NADPH , masing-masing, membuat pasangan redoks NADH/NAD^+ dan $\text{NADPH}/\text{NADP}^+$ sangat dominan dalam metabolisme intraseluler. Oleh karena itu, potensial redoks intraseluler ditentukan oleh rasio $\text{NADH} / \text{NAD}^+$ seperti pada Gambar 1. NADH dihasilkan dari NAD^+ melalui katabolisme reduksi substrat seperti glukosa untuk memberikan tenaga pada berbagai reaksi redoks, dan akibatnya NAD^+ diregenerasi untuk keseimbangan redoks. Oksigen terlarut digunakan sebagai penerima elektron terakhir dalam kondisi kultur mikroaerobik, tetapi elektron diterima oleh metabolit produk antara dengan produk fermentasi yang dihasilkan saat oksigen tidak tersedia dalam kondisi anaerob. Sebaliknya, NADPH berperan penting dalam anabolisme karena banyak jalur metabolisme yang terlibat dalam biosintesis asam amino, lipida, dan nukleotida menggunakan NADPH sebagai reduktor, yang diproduksi melalui jalur fosfat pentosa. Selain itu, perbedaan antara NADH dan NADPH juga terlihat, seperti konversi ATP-driven NADH untuk NADPH oleh kinase NADH di *S. Cerevisiae* (Shi dkk., 2005).

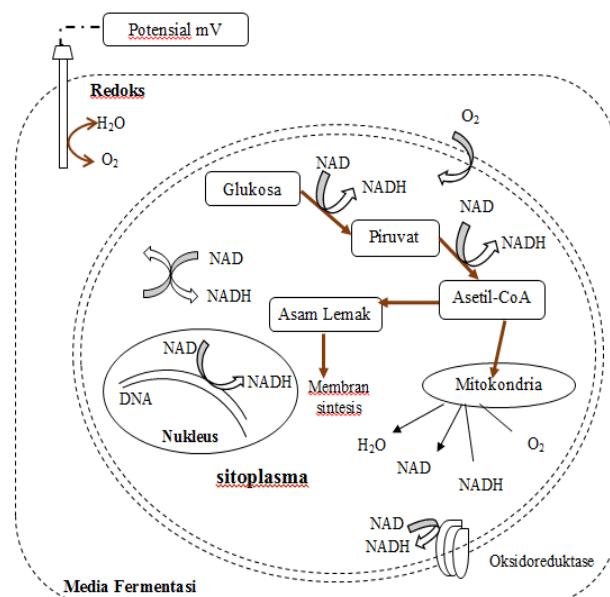
2.1 Strategi Kontrol Potensial Redoks

Potensial redoks ditentukan oleh rasio oksidatif reduktif zat dalam sistem fermentasi. Oleh karena itu, strategi yang diimplementasikan untuk mengatur potensial redoks berfokus pada pengubah rasionalnya dan strategi lain termasuk modifikasi regangan melalui rekayasa metabolismik dan teknik proses. Potensial redoks memiliki pengaruh yang kecil pada fermentasi etanol pada kondisi fermentasi gula sedang dan konsentrasi etanol kurang dari 11-12%(v/v) karena peran ragi terhambat oleh adanya etanol, sedangkan gula yang tersisa 0,1-0,2%(w/v) (Liu dkk., 2011). Jika menggunakan kadar glukosa sangat tinggi, maka peningkatan produksi etanol sangat signifikan.

Kecepatan agitasi sangat mempengaruhi produksi etanol pada fermentasi kadar glukosa sangat tinggi. Dengan agitasi 200 ppm pada larutan glukosa 290 g/L dari jus sorgum manis, pada kondisi *S. Cerevisiae* menggunakan desain susunan orthogonal. Fermentasi dilakukan pada suhu 30°C dengan kapasitas 2 L dalam bioreaktor. Konsentrasi ragi yang dimasukkan adalah 2×10^7 sel/mL. Fermentasi ini menghasilkan kondisi optimal produk etanol pada agitasi 200 rpm produksi etanol $132,82 \pm 1,06$ g/L (Khongsay dkk., 2012) dengan kombinasi parameter aerasi dapat mengetahui jumlah minimal oksigen yang diperlukan.

Produksi etanol dipengaruhi oleh faktor aerasi. Walaupun mikroaerobik namun tetap dibutuhkan udara yang dalam hal ini adalah oksigen untuk pertumbuhannya. Kebutuhan optimasi aerasi untuk

produksi etanol secara intensif dalam proses fermentasi di mana pertumbuhan dan produksi harus dikelola secara bersamaan. Kontrol aerasi ditujukan untuk mengatur potensi redoks dalam fermentasi etanol (Lin dkk., 2010; Liu dkk., 2011; Yu dkk., 2007), yang membutuhkan sistem umpan balik untuk pengendalian potensial redoks dan pengendalian untuk mengatur durasi aerasi supaya tingkat potensial redoks lebih rendah dari nilai yang ditentukan. Tingkat potensial redoks pada -150 mV teramat optimal, dan memberikan hasil tertinggi dalam membentuk etanol dan produktivitas etanol sangat baik di bawah kondisi fermentasi VHG (Lin dkk., 2010; Yu, dkk., 2007).



Gambar 1. Interaksi potensial redoks dan sekitarnya terhadap metabolisme intraseluler (Khongsay dkk., 2012)

Tabel 1. Peningkatan produksi etanol pada potensial redoks yang terkontrol

Mikro-organisme	Strategi	Hasil	Ref.
<i>Zymomonas mobilis</i> dan <i>Saccharomyces cereviceae</i>	Bio-reaktor elektro-kimia potensial redoks	Produksi etanol 1,6 kali dari kondisi konvensional yaitu mencapai 2,1 molar.	Jeon dan Park, 2010
<i>Saccharomyces cereviceae</i>	Udara	Potensial redoks -150 mV dianggap sebagai nilai terbaik untuk mencapai produktivitas lebih cepat dan hasil lebih tinggi.	Liu dkk., 2010

Peningkatan yield etanol harus diimbangi dengan mempertahankan kelangsungan hidup sel yang tinggi. Proses yang berkesinambungan dan digabungkan

dengan aerasi berfungsi untuk merangsang pertumbuhan sel-sel ragi untuk mengganti hilangnya ragi karena mati (Liu dkk., 2011).

Perbandingan antara beberapa proses aerasi terhadap produksi, produktivitas dan yield dapat disajikan pada Tabel 2. Sistem mikroaerobik menunjukkan bahwa ragi tetap membutuhkan oksigen walaupun dalam jumlah yang sangat kecil untuk pertumbuhan selama proses fermentasi. Konsentrasi sel ragi mencapai $2,81 \times 10^8$ sel/mL selama waktu 2 jam sampai waktu akumulasi etanol dalam media fermentasi dari jumlah ragi awal 2×10^7 sel/mL. Kondisi optimum untuk fermentasi etanol pada aerasi 2,5 mmv selama 4 jam (Khongsay dkk., 2012). Lama waktu aerasi oleh beberapa peneliti sangat berbeda ada yang menggunakan aerasi selama 45 jam dapat meningkatkan produk etanol (Alfenore dkk., 2004) sedangkan ada penelitian yang total fermentasi 54 jam namun hanya menggunakan aerasi 4 jam (Khongsay dkk., 2012). Hasil yang diperoleh mengimplikasikan bahwa tingkat aerasi yang tepat sangat penting karena tidak hanya menambah populasi ragi, tetapi juga mengurangi waktu fermentasi. Aerasi optimal pada fermentasi dengan kontrol potensial redoks sampai mendapatkan suplai oksigen yang akurat untuk memenuhi kebutuhan ragi selama fermentasi dan untuk menjaga lingkungan redoks yang stabil untuk mencapai hasil etanol yang tinggi (Lui dkk., 2016).

Tabel 2. Produksi etanol pada sistem aerasi

Sistem	Produk etanol (g/L)	Produktivitas rata-rata (g/L/jam)	Yield
Mikroaerobik	147 ^a	3,3 ^a	50% ^b
	132,82 ^b	2,55 ^b	
Aerobik	131 ^a	2,6 ^a	
Tanpa aerasi	118,02 ± 1,19 ^b	2,19 ± 0,04 ^b	~50%

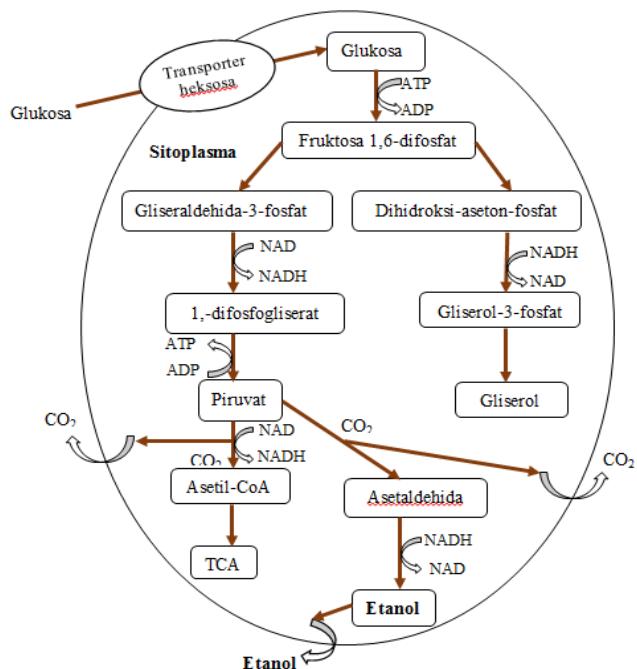
Keterangan: a Alfenore dkk., 2004

b Khongsay dkk., 2012

Jalur metabolisme glukosa menjadi etanol yang melibatkan glikolisis (Embden-Meyerhof-Parnas atau EMP pathway), dimetabolisme melalui molekul glukosa, dan dua molekul piruvat diproduksi (Madigan dkk., 2000). Namun demikian tidak hanya jalur itu saja yang mempengaruhi fermentasi. Gambar 2 menjelaskan keseimbangan redoks dalam fermentasi etanol oleh ragi *Saccharomyces*, terkait dengan jalur glikosidik dan reduksi asetaldehida menjadi etanol. Didasarkan bahwa fermentasi etanol adalah proses redoks yang netral, jika hasil biosintesis metabolit seperti gliserol berada pada kondisi fermentasi kadar glukosa tinggi, akibatnya mempengaruhi keseimbangan redoks, membuat kontrol potensial redoks lebih efisien untuk produksi etanol (Liu dkk., 2012).

Teknologi terbaru dalam mengontrol dan meningkatkan etanol secara signifikan dalam fermentasi dengan cara bahan baku yang mengandung gula lebih dari 250 g/L untuk Keuntungan kondisi tersebut adalah menghemat konsumsi energi

terutama pada proses distilasi etanol, biaya perawatan alat distilasi, dan biaya limbah hasil distilasi (Bai dkk., 2008).



Gambar 2. Keseimbangan redoks dalam fermentasi etanol oleh ragi *Saccharomyces*

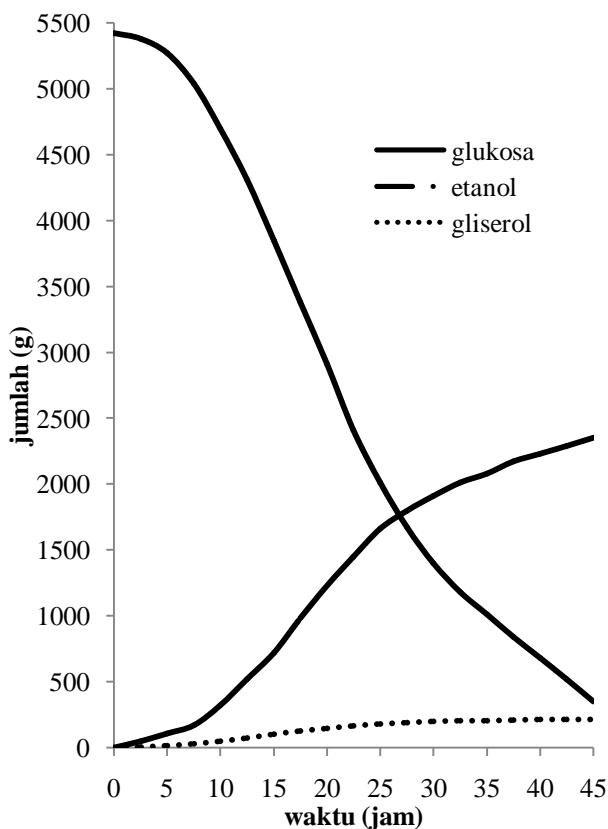
2.2 Potensial Redoks pada Fermentasi Etanol dengan Kadar Gula Sangat Tinggi

Ketika sel-sel ragi diinokulasi ke media sangat oksigen terlarut sebagai akseptor elektron dikonsumsi dengan cepat melalui respirasi untuk menghasilkan ATP untuk pertumbuhan, dan terjadi penurunan potensial redoks secara cepat bersamaan dengan penipisan oksigen terlarut. Metabolisme ragi dialihkan dari fermentasi etanol pertumbuhan aerobik ke pertumbuhan anaerobik. Biosintesis gliserol diaktifkan untuk merespon kondisi tersebut. Penurunan substrat seperti glukosa dapat memperlambat pertumbuhan ragi dan fermentasi etanol, potensial redoks mulai meningkat karena lysis sel ragi dan keluar karena metabolit oksidatif ke lingkungan.

Strategi potensial redoks yang harus dilakukan adalah kondisi tekanan berat mengakibatkan produk samping yang berupa gliserol yang diharapkan tidak banyak karena dapat mengurangi produksi etanol seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3. Liu dkk. (2011) menyampaikan bahwa pengurangan produksi gliserol dilakukan untuk meningkatkan etanol dari gula atau pentosan dari biomassa lignoselulosa. Demikian juga strategi rekayasa bioproses dikembangkan untuk meningkatkan kelangsungan hidup ragi dan produksi etanol di bawah kondisi fermentasi kadar gula tinggi (Liu dkk., 2011).

Fermentasi sistem tumpak pada medium yang mengandung glukosa sangat tinggi $298 \pm 3,8$ g/L telah menghasilkan etanol sebanyak $131,0 \pm 1,8$ g/L selama 72 jam ketika potensial redoks dikontrol pada -150 mV (Liu dkk., 2012). Namun demikian tetap ada

glukosa sebanyak $24,0 \pm 1,1$ g glukosa/L yang tidak difermentasi. Jika ditinjau dari sudut pandang aplikasi industri dapat digunakan strategi fermentasi dan konfigurasi proses seperti sistem fermentasi tangki-seri.



Gambar 3. Proses fermentasi kadar gula sangat tinggi menggunakan ragi *S. cerevisiae*

Diantara teknologi fermentasi etanol, fermentasi kadar glukosa sangat tinggi menjanjikan untuk aplikasi industri. Kinerja fermentasi etanol dari kadar gula sangat tinggi dapat lebih ditingkatkan dengan menerapkan kontrol potensi redoks. Pendekatan yang digunakan untuk mencari potensial redoks optimal dengan bahan baku glukosa yang berbeda dan memperpanjang fase pertumbuhan eksponensial dengan memperpanjang periode potensial redoks. Skema aerasi yang dikontrol untuk mengontrol potensial redoks dapat dilakukan bahwa glukosa dikontrol, masuk sebagai umpan bersama dengan oksigen terlarut. Skema ini memperpanjang waktu pengontrolan potensial redoks dengan penyediaan glukosa yang mencukupi untuk kebutuhan ragi. Hal ini berfungsi untuk mempertahankan glukosa sisa pada tingkat rendah. Hasilnya menunjukkan bahwa yield etanol semakin meningkat. Pengoperasian skema ini dilakukan dalam sistem tumpak yang mengakibatkan penumpukan ragi dan fermentasi tidak sempurna (Alfenore dkk., 2004).

Pada skema yang lain yaitu semi tumpak, dimana aerasi dikendalikan. Laju glukosa konstan bersama udara ditentukan oleh perangkat pengontrol potensial redoks. Sistem yang digunakan adalah semi tumpak dengan umpan yang baru ke dalam fermentor dengan

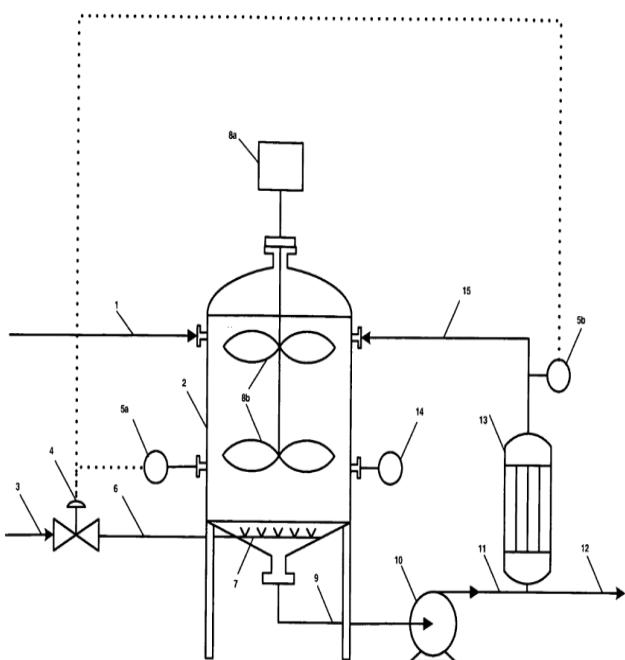
laju konsentrasi yang konstan dan debit keluaran yang digunakan untuk proses fermentasi dijaga pada volume yang tidak variatif. Skema ini juga menggunakan udara steril untuk mengatur potensi fermentasi redoks. Dalam fermentor, faktor intraseluler dan ekstraseluler harus pada kondisi tidak berubah terhadap waktu. Dengan demikian tingkat pertumbuhan dan kelangsungan hidup ragi konstan dapat dipertahankan sehingga membantu untuk memperpanjang durasi pengontrolan potensial redoks dan untuk memaksimalkan manfaat dari kontrol potensial redoks. Skema ini menggunakan pengontrolan terpanjang dan hasil etanol tertinggi dan tidak menghasilkan luaran glukosa (Lin dan Liu, 2014).

2.3 Pengembangan Fermentor Mikroaerasi

Penerapan fermentasi etanol melalui sistem mikroaerobik menggunakan reaktor tertutup telah diteliti oleh Burmester (2006) dengan bahan baku gula tebu atau molase membutuhkan air sekitar 55% sampai 90% (b/b). Setelah air dan bahan baku bercampur dilakukan penambahan enzim untuk memulai pemecahan enzimatik kadar pati. Aerasi dilakukan melalui penambahan udara bertekanan atau oksigen ke dalam larutan untuk menentukan potensi oksidasi-reduksi fermentasi dan mempertahankan potensial tegangan antara sekitar -250 mV ke 50 mV. Hal ini dilakukan untuk mencapai fermentasi yang paling efisien dan mencapai yield etanol maksimum dan sudah dipatenkan oleh Busmater (2006). Amonia dapat dikurangi melalui penambahan larutan kaustik. Sulfit, bi-sulfit atau sulfur dioksida dalam proses fermentasi mengalami oksidasi melalui penambahan udara atau oksigen untuk meningkatkan potensial redoks. Oksidan hidrogen peroksid ditambahkan larutan yang terfermentasi untuk mengangkat potensial redoks.

Pada Gambar 4 menjelaskan tentang fermentor yang digunakan untuk sistem mikroaerobik. Larutan ragi memasuki fermentor sampai tingkat tertentu, melalui pipa 1, bisa masuk melalui lokasi nozzle yang berbeda. Udara disemprotkan langsung ke fermentor (pipa no 2) untuk meningkatkan potensial redoks. Setelah mencapai potensi reduksi oksidasi diinginkan tertentu, yang diukur baik sensor berlabel 5A atau 5B, udara bertekanan tinggi di pipa nomor 3, masuk melalui katup kontrol bernomor 4. Meter aliran udara di pipa 6 untuk memantau jumlah udara yang mengalir ke penyembur dari peralatan bernomor 7. Biasanya, fermentor berisi agitator dengan motor (nomor 8A) dan impeler (nomor 8B). Fermentor diresirkulasi melalui bagian bawah fermentor melalui pipa bernomor 9 dan pompa 10. Selama fermentasi, semua cairan yang dikirim melalui pipa bernomor 11 dan tidak ada cairan melalui pipa bernomor 12. Penukar panas bernomor 13, untuk menghilangkan panas dari fermentasi. Biasanya, air dingin digunakan untuk mempertahankan suhu fermentasi. Cairan dingin kemudian masuk kembali ke dalam fermentor melalui pipa 15. Setelah fermentasi selesai, etanol

keluar melalui pipa bernomor 12, dan tidak ada etanol yang masuk pada pipa bernomor 11.



Gambar 4. Fermentor pada sistem mikroaerobik (Burmaster, 2006)

Produksi etanol dibuat dari jus sorgum manis dalam sistem kontinu diaduk dalam tangki bioreaktor. Bioreaktor merupakan gabungan dari sebuah tangki pengaduk (CSTR) dan bioreaktor tubular aliran plug (TB) secara seri dengan volume kerja total 3,32 L. Fermentasi dilakukan pada suhu 30° C dengan *Saccharomyces cerevisiae*. Jus sorgum manis mengandung glukosa 250 g/L yang berbeda waktu tinggal dalam sistem fermentasi. Perbandingan antara sistem CSTR dan sistem gabungan bioreaktor (CSTR+TB) pada laju 0,007/jam dihasilkan produk seperti yang disajikan ada Tabel 3. Penggunaan bioreaktor CSTR + TB dapat meningkatkan efisiensi produksi etanol (Liu dkk., 2012).

Tabel 3. Perbandingan reaktor tunggal dan reaktor gabungan terhadap efisiensi produk etanol

Sistem	Produksi (g/L)	Yield g/g	Produktivitas (g/L/jam)
CSTR	67,2828 ± 0,37	0,52 ± 0,01	0,47 ± 0,00
CSTR+TB	106,01 ± 0,47	0,50 ± 0,01	± 0,76 ± 0,02

2.4 Penambahan Zat untuk Kontrol Potensial Redoks

Gas redoks-aktif dapat disemprotkan ke dalam sistem fermentasi untuk mengontrol potensial redoks. Pham dkk (2008) menyemprotkan oksigen, hidrogen, dan helium selama fermentasi etanol oleh *S. Cerevisiae* dapat menciptakan kondisi potensial redoks yang berbeda untuk mempelajari dampaknya terhadap fisiologi dan metabolisme, yang memberikan wawasan untuk produksi etanol yang lebih efisien melalui

kontrol potensial redoks. Penyemprotan gas lebih ekonomis (jika gas yang tersedia berharga murah) dan kompetitif sebagai kontrol potensial redoks pada skala besar di proses industri (Liu dkk., 2012). Selain gas yang disemprotkan untuk membantu potensi redoks terdapat juga reaktan suplemen.

Bahan kimia yang digunakan sebagai suplemen mempunyai derajat reduksi yang berbeda seperti kalium ferisianida dan metil viologen dapat melengkapi sistem fermentasi sebagai pembawa elektron untuk mempengaruhi potensial redoks lingkungan dan metabolisme intraseluler (Bagramyan dkk., 2000). Di sisi lain, sistem teroksidasi dan NADH/NAD⁺ yang berupa pasangan redoks biologis, tidak hanya mempengaruhi status potensial redoks, tetapi terlibat langsung dalam metabolisme intraseluler.

2.5 Pengembangan Skema Kontrol Redoks

Potensi pengontrolan redoks dapat mendukung pembentukan metabolit yang diinginkan dari metabolisme intrasel. Pengembangan skema potensi redoks terkontrol untuk memaksimalkan efek pada fermentasi etanol dari glukosa dengan kadar sangat tinggi yang dilakukan oleh Liu et al (2011). Variasi skema tersebut adalah pengontrolan aerasi, umpan glukosa dikendalikan, dan gabungan skema yang dikemas dalam reaktor semi tumpak skema aerasi dan glukosa yang dikendalikan. Skema ini dilakukan pada potensi redoks fermentasi dengan menambah udara steril, media glukosa segar, atau kombinasi dari udara steril dan media glukosa segar ke fermentor untuk mencegah penurunan potensial redoks karena pertumbuhan ragi. Skema aerasi terkontrol pada -150mV menghasilkan keunggulan dua kali potensial redoks lainnya terutama jika konsentrasi glukosa awal lebih tinggi dari 250 g/L. Jika pada konsentrasi glikosa pada 200 g/L maka lama potensial redoks terkontrol untuk skema kontrol aerasi lebih pendek waktunya yaitu 2,5 jam, sedangkan pada pengontrolan konsentrasi glukosa yang dikendalikan adalah 21,7 jam, dan yang tertinggi adalah skema kondisi semi tumpak antara aerasi dan glukosa mencapai 64,6 jam pada -150 mV. Efisiensi fermentasi lebih tinggi pada skema kontrol glukosa dan aerasi yang mencapai 92,5% (Liu et al, 2011).

3. KESIMPULAN

Pelaksanaan pengendalian potensial redoks memerlukan strategi kontrol. Strategi potensial redoks terhadap produk etanol harus diimbangi oleh kelangsungan hidup sel, sehingga diperlukan agitasi 200 ppm dan aerasi 2,5 vvm yang optimal. Kandungan glukosa yang sangat tinggi 290 g/L menggunakan potensial redoks -150 mV. Fermentor dirancang untuk sistem mikroaerobik dengan menggunakan gabungan reaktor berpengaduk dan turbular. Penambahan gas penyemprot yaitu oksigen, hidrogen dan helium dan bahan kimia kalium ferrisianida dan metil viologen untuk potensial redoks. Skema kontrol dilakukan dengan menggabungkan aerasi dan glukosa yang dikendalikan, sehingga memperlama waktu potensial

redoks dan kelangsungan hidup 64,6 jam untuk mencapai proses fermentasi etanol yang efisien 92,5%.

4. UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih atas kesempatan dan dukungan yang diberikan Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Negeri Semarang untuk mengkaji beberapa artikel terkait dengan mata kuliah teknologi fermentasi

5. DAFTAR PUSTAKA

- [Alfenore, S.; Cameleyre, X.; Benbadis, L.; Bideaux, C.; Uribelarrea, J-L.; Goma, G.; Molina-Jouve, C.; Guillouet, S.E., Aeration strategy: a need for very high ethanol performance in *Saccharomyces cerevisiae* fed-batch process. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2004, 63\(5\), 537-542.](#)
- [Auchinvole, C.A.R.; Richardson, P.; McGuinnes, C.; Mallikarjun, V.; Donaldson, K.; McNab, H.; Campbell, C.J., Monitoring intracellular redox potential changes using SERS nanosensors. *ACS Nano*, 2012, 6\(1\), 888-896.](#)
- [Bai, F.W.; Anderson, W.A.; Moo-Young, M., Ethanol fermentation technologies from sugar and starch feedstocks. *Biotechnology Advances*, 2008, 26\(1\), 89-105.](#)
- [Bagramyan K.; Galstyan A.; Trchounian A., Redox potential is a determinant in the *Escherichia coli* anaerobic fermentative growth and survival: effects of impermeable oxidant. *Bioelectrochemistry*, 2000, 51 \(2\), 151-156.](#)
- [Baker, M.A.; Lawen, A., Plasma membrane NADH-oxidoreductase system: A critical review of the structural and functional data. *Antioxidant & Redox Signaling*, 2000, 2\(2\), 197-212.](#)
- [Jeon, B.Y.; Hwang, T.S.; Park, D.H., Electrochemical and biochemical analysis of ethanol fermentation of *Zymomonas mobilis* KCCM11336. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2009, 19\(7\), 666-674.](#)
- [Khongsay, N.; Laopaiboon, L.; Laopaiboon, P., Improvement of Continuous Ethanol Fermentation from Sweet Sorghum Juice by *Saccharomyces cerevisiae* using Stirred Tank Bioreactor Coupling with Plug Flow Bioreactor. *Chiang Mai Journal of Science*, 2015, 42\(2\), 282-293.](#)
- [Burmaster, B.M., A Process to improve ethanol yield, decrease fermentation time and reduce byproduct formation by monitoring and controlling oxidation reduction potential \(redox\) of the fermentor is disclosed, U.S. Patent US7078201 B2, 18 Juli 2006.](#)
- [Khongsay, N.; Laopaiboon, L.; Jaisil, P.; Laopaiboon, P., 2012. Optimization of Agitation and Aeration for Very High Gravity Ethanol Fermentation from Sweet Sorghum Juice by *Saccharomyces cerevisiae* Using an Orthogonal Array Design. *Energies*, 5, 561-576.](#)
- [Lin, Y.-H.; Chien, W.S.; Duan, K.J., Correlations between reduction-oxidation potential profiles and growth patterns of *Saccharomyces cerevisiae* during veryhigh- gravity fermentation. *Process Biochemistry*, 2010, 45\(5\), 765-770.](#)
- [Lin, Y-H.; Liu, C-G., Process design for very-high-gravity ethanol fermentation. *Energy Procedia*, 2014, 61, 2725 – 2728.](#)
- [Liu, C.G.; Wang, N.; Lin, Y.H.; Bai, F.W., Very high gravity ethanol fermentation by flocculating yeast under redox potential-controlled conditions. *Biotechnology for Biofuels*, 2012, 61\(5\), 1-7](#)
- [Liu, C.G.; Lin, Y.H.; Bai, F.W., Development of redox potential-controlled schemes for very-high-gravity ethanol fermentation. *Journal of Biotechnology*, 2011, 153\(1-2\), 42-47.](#)
- [Liu, C.G.; Xue, C.; Lin Y-H.; Bai F-W., Redox potential control and applications in microaerobic and anaerobic fermentations. *Biotechnology Advances*, 2013, 31\(2\), 257-265.](#)
- [Madigan, M.T.; Martinko, J.M.; Parker, J., *Brock biology of microbiology* 9th ed, Prentice-Hall, New Jersey, 2000.](#)
- [Pham, T.H.; Mauvais, G.; Vergoignan, C.; De Coninck, J.; Dumont, F.; Lherminier, I.; Cachon, R.; Feron, G., Gaseous environments modify physiology in the brewing yeast *Saccharomyces cerevisiae* during batch alcoholic fermentation. *Journal of Applied Microbiology*, 2008, 105\(3\), 858-874.](#)
- [Shi, F.; Kawai, S.; Mori, S.; Kono, E.; Murata, K., Identification of ATP-NADH kinases isozymes and their contribution to supply of NADP\(H\) in *Saccharomyces cerevisiae*. *The FEBS Journal*, 2005, 272\(13\), 3337-3349.](#)
- [Yu, Y.; Wang, Y.H.; Chu, J.; Zhuang, Y.P.; Zhang, S.L., The influence of controlling redox potential on ethanol production by *Saccharomyces cerevisiae*. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2007, 23\(5\), 878-884.](#)