



Tinjauan Literatur : Industri Alkohol menggunakan Immobilisasi Sel (Literature Review : Alcohol Industry Using Cell Immobilization)

Nurul Pratiwi, Inayatul Fatia, Wilya Putri Yani, Irdawati

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang

Jl. Prof.Dr.Hamka, Air Tawar Barat, Kec. Padang Utara, Kota Padang, Sumatera Barat 25171

Email: nurul.pratiwi1051@gmail.com

ABSTRAK

Indonesia merupakan negara dengan jumlah penduduk besar, sehingga kebutuhan energi pun juga besar. Selama ini kebutuhan energi dipenuhi oleh sumber daya tak terbarukan. Kondisi ini perlu disikapi dengan mencari sumber energi baru, salah satunya dengan memanfaatkan etanol. Menurut Pelczer (1988) etanol dapat digunakan untuk campuran bahan bakar konvensional, seperti gasohol. Untuk mengetahui teknik dalam industri etanol dan alkohol menggunakan immobilisasi maka dilakukan literatur review. Dari hasil literatur review, diketahui bahwa dalam immobilisasi terdapat empat teknik utama yaitu: (a) perlekatan atau adsorpsi pada permukaan pembawa padat, (b) jebakan dalam matriks berpori, (c) agregasi sendiri dengan flokulasi (alami) atau dengan zat pengikat silang (diinduksi secara buatan), dan (d) sel mengandung penahan mekanis di balik penghalang. Dalam proses immobilisasi terdapat juga beberapa prasyarat yang harus dipenuhi sebagai standarisasi. Sehingga keuntungan-keuntungan dari immobilisasi sel dapat dimanfaatkan. Untuk efisiensi pembuatan etanol maka kondisi sel ragi imobil juga harus berada dalam kondisi optimum yaitu pH 6, kadar gula 12,2%, perbandingan berat optimum limbah terhadap sel ragi 1 : 0,5, waktu inkubasi 3 hari. Dalam ekstraksi fermentasi, juga diketahui bahwa *Zymomonas mobilis* memiliki produktivitas yang lebih baik dibandingkan *Saccharomyces cereviceae* dan *Pichia stipitis*.

Kata Kunci: Etanol, Immobilisasi, Immobil, Sel Ragi

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara dengan jumlah penduduk cukup besar, sehingga negara perlu menyediakan berbagai kebutuhan, seperti sandang, pangan, papan dan penyediaan energi seperti bahan bakar. Kebutuhan energi dari bahan bakar minyak bumi (BBM) berbasis fosil seperti solar, bensin dan minyak tanah di berbagai negara di dunia dalam tahun terakhir ini mengalami peningkatan tajam. Sedangkan ketersediaan cadangan sumber BBM semakin terbatas. Seperti diketahui bersama, produksi minyak di Indonesia saat ini pertahunnya sebesar 55 juta ton, dimana produksi ini diperkirakan hanya dapat mencukupi kebutuhan BBM di Indonesia selama 10 tahun kedepan. Dari sumber lain juga disebutkan jika kebutuhan energi akan meningkat 3,6% pada tahun 2030. Di samping itu, tingkat pencemaran udara dari gas buang hasil pembakaran bahan bakar fosil. Peningkatan kebutuhan energi listrik perlu mendapat perhatian, mengingat kebutuhan terus meningkat sepanjang tahun, Selama ini kebutuhan energi dunia dipenuhi oleh sumber daya tak terbarukan seperti minyak bumi dan batu bara.



Kondisi ini perlu disikapi dengan mencari sumber energi baru atau peningkatan produksi bahan bakar yang didapatkan dari energi alternatif yang dapat diperbaharui atau dikenal dengan energi terbarukan. (Arias, 2011). Etanol merupakan salah satu bahan bakar alternatif yang berpotensi dikembangkan. Etanol mempunyai kegunaan yang penting dalam industri minuman, bahan kimia, industri farmasi, dan juga sebagai bahan bakar bebas polusi (Maemunah *et al.*, 2005). Dahulunya, etanol sebagian besar terbuat dari petroleum (Volk, 1990) dan dari sintesis gas etilen (Johannesen, 1991). Akan tetapi semakin berkurangnya ketersediaan yang mengakibatkan semakin meningkatnya harga petroleum, perhatian mulai teralihkan pada bahan mentah yang dapat diperbaharui untuk dijadikan bahan dasar dalam pembuatan etanol (Caylak & Vardar-Sukan, 1998). Bahan dasar tersebut dibuat dari bahan baku yang ketersediaannya melimpah, berharga murah. Seiring dengan hal tersebut, kemudian mulai berkembang istilah bioetanol. Bahan bakar ini dalam beberapa dekade terakhir, menjadi salah satu objek penelitian yang menarik untuk mengetahui potensi dari bahan lignoselulosa dalam memproduksi etanol.

Bioetanol merupakan hasil dari proses fermentasi biomassa dengan bantuan mikroorganisme (Firdausi *et al.*, 2013). Pada umumnya jenis mikroorganisme yang digunakan dalam produksi bioetanol dan alkohol adalah *Saccharomyces cerevisiae*. Ragi yang digunakan dalam produksi etanol dan alkohol secara fermentasi biasanya dalam bentuk kultur ragi bebas. Metode ini dinilai kurang efektif dan efisien karena membutuhkan waktu inkubasi relatif lama dengan persentase etanol dan alkohol yang rendah. Metode baru yang diharapkan dapat lebih efektif dan efisien adalah teknik immobilisasi mikroba. Harapan ini didasarkan pada sifat dan karakter mikroba terimmobilisasi, yakni dapat digunakan berulang kali tanpa mengalami penurunan aktivitas yang berarti dan tahan terhadap kadar alkohol yang tinggi. (Mappiratu *et al.*, 1994).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode *systematic literature review* yakni berupa jurnal ilmiah yang diteliti oleh beberapa peneliti tentang industri alkohol menggunakan immobilisasi sel, yang dikumpulkan dari beberapa sumber google scholar, elsevier, dan beberapa publisher lainnya, selain itu juga menggunakan keyword seperti etanol, immobilisasi, immobil, sel ragi, dan sebagainya. Review jurnal ini dilaksanakan pada bulan Desember 2021.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Teknik Immobilisasi

Immobilisasi sel utuh didefinisikan sebagai "pengurangan fisik atau lokalisasi sel utuh ke wilayah tertentu ruang dengan pelestarian beberapa aktivitas katalitik yang



diinginkan" (Karel et al., 1985). Imobilisasi sering meniru apa yang terjadi secara alami ketika sel tumbuh di permukaan atau di dalam struktur alami. Banyak mikroorganisme memiliki kemampuan untuk melekat pada berbagai jenis permukaan di alam.

Banyak proses bioteknologi diuntungkan oleh teknik imobilisasi dan oleh karena itu beberapa teknik dan bahan pendukung tersebut telah diusulkan. Teknik-teknik ini dapat dibagi menjadi empat kategori utama berdasarkan mekanisme fisik yang digunakan: (a) perlekatan atau adsorpsi pada permukaan pembawa padat, (b) jebakan dalam matriks berpori, (c) agregasi sendiri dengan flokulasi (alami) atau dengan zat pengikat silang (diinduksi secara buatan), dan (d) sel mengandung - ment di balik penghalang (Pilkington et al., 1998).

1. Imobilisasi pada permukaan pembawa padat

Imobilisasi sel pada pembawa padat dilakukan dengan adsorpsi fisik karena gaya elektrostatik atau dengan ikatan kovalen antara membran sel dan pembawa. Ketebalan film sel biasanya berkisar dari: satu lapis sel hingga 1 mm atau lebih. Sistem yang menggunakan sel imobilisasi pada permukaan sangat populer karena relatif mudah melakukan jenis imobilisasi ini. Kekuatan sel yang terikat pada pembawa serta kedalaman biofilm sering bervariasi dan tidak mudah ditentukan. Karena tidak ada penghalang antara sel dan larutan, pelepasan dan relokasi sel dimungkinkan dengan pembentukan keseimbangan potensial antara sel yang teradsorpsi dan tersuspensi bebas. Contoh pembawa padat yang digunakan dalam jenis imobilisasi ini adalah bahan selulosa (DEAE-selulosa, kayu, serbuk gergaji, serbuk gergaji delignified), bahan anorganik (poligorskite, montmorilonit, hidromika, porselen berpori, kaca berpori), dll. Bahan padat seperti kaca atau selulosa juga dapat diobati dengan polikation (Norton, 1994; Navarro, 1977).

2. Jebakan dalam matriks berpori

Dalam jenis imobilisasi ini, sel-sel dibiarkan menembus ke dalam matriks berpori sampai mobilitasnya terhalang oleh kehadiran sel-sel lain, atau bahan berpori dibentuk in situ ke dalam kultur sel. Kedua metode jebakan didasarkan pada penyertaan sel dalam jaringan kaku untuk mencegah sel menyebar ke media sekitarnya, sambil tetap memungkinkan transfer massa nutrisi dan metabolit. Contoh karakteristik dari jenis imobilisasi ini adalah jebakan ke dalam gel polisakarida seperti alginat, k-karagenan, agar, kitosan dan asam poligalakturonat atau matriks polimer lainnya seperti gelatin, kolagen dan polivinil alkohol (Norton, 1994; Park, 2000). Pertumbuhan sel dalam matriks berpori tergantung pada keterbatasan difusi yang disebabkan oleh porositas material dan kemudian oleh dampak dari mengumpulkan biomassa. Kisaran penetrasi oksigen yang efektif, misalnya, telah diperkirakan 0,08-0,10 mm dalam manik-manik karagenan (Huang dkk., 1990) dan 0,1-0,15 mm dalam manik-manik algina. Oleh karena



itu, pola populasi sel yang tidak homogen dapat berkembang dan sel-sel di dekat permukaan dapat berperilaku berbeda dibandingkan dengan sel-sel yang sebagian kelaparan di dalam manik-manik (Freeman, 1998).

Salah satu masalah jebakan sel dalam matriks berpori seperti gel polisakarida adalah kemampuan sel yang terletak di permukaan luar manik-manik untuk berkembang biak dan dilepaskan dari manik-manik inklusi. Ini mengarah ke sistem yang terdiri dari sel-sel yang tidak bergerak dan bebas. Untuk menghindari masalah ini manik-manik lapisan ganda telah dikembangkan di mana manik-manik hidrogel dengan inti internal yang berisi sel dan lapisan eksternal, yang mencegah sel-sel dari inti untuk melarikan diri (Ramon, 2003).

3. Flokulasi sel (Agregasi)

Flokulasi sel telah didefinisikan oleh banyak penulis sebagai agregasi sel untuk membentuk unit yang lebih besar atau sifat sel dalam suspensi untuk melekat dalam rumpun dan mengendap dengan cepat. (Jindan Speers, 1998). Flokulasi dapat dianggap sebagai teknik imobilisasi karena ukuran agregat yang besar memungkinkan penggunaan potensialnya dalam reaktor. Reaktor tersebut meliputi reaktor unggun terkemas, unggun terfluidisasi dan tangki berpengaduk kontinyu. Kemampuan untuk membentuk agregat terutama diamati pada kapang, jamur dan sel tumbuhan. Agen flokulasi buatan atau cross-linker dapat digunakan untuk meningkatkan agregasi dalam kultur sel yang tidak secara alami berflokulasi. Flokulasi ragi adalah properti yang sangat penting bagi industri pembuatan bir karena mempengaruhi produktivitas fermentasi dan kualitas bir selain penghilangan dan pemulihan ragi. Hal ini dipengaruhi oleh banyak faktor termasuk komposisi dinding sel, pH, oksigen terlarut dan komposisi medium.

4. Penahanan mekanis di balik penghalang

Penahanan sel di belakang penghalang dapat dicapai baik dengan menggunakan filter membran mikropori atau dengan menjebak sel dalam mikrokapsul atau dengan imobilisasi sel ke permukaan interaksi dua cairan yang tidak bercampur. Jenis imobilisasi ini ideal ketika produk bebas sel dan transfer senyawa minimum diperlukan (Park, 2000). Teknologi bioreaktor membran banyak digunakan dalam daur ulang sel dan proses berkelanjutan (Lebeau dkk., 1997). Ragi terpilih dibatasi oleh membran mikro-filtrasi telah dikembangkan dan tersedia untuk pembuatan anggur di pasar. Contohnya adalah kartrid "Mili Spark", yang Penahanan sel di belakang penghalang dapat dicapai baik dengan menggunakan filter membran mikropori atau dengan menjebak sel dalam mikrokapsul atau dengan imobilisasi sel pada permukaan interaksi dua cairan yang tidak bercampur. Jenis imobilisasi ini ideal ketika produk bebas sel dan transfer senyawa minimum diperlukan (Park, 2000). Teknologi bioreaktor membran banyak digunakan dalam daur ulang sel dan proses berkelanjutan (Kargupta dkk., 1998).



Ragi terpilih dibatasi oleh membran mikro-filtrasi telah dikembangkan dan tersedia untuk pembuatan anggur di pasar. Contohnya adalah kartrid "Millispark", yang dikembangkan oleh Millipore untuk fermentasi sekunder anggur bersoda ke dalam botol (Ramon, 2003). Kerugian utama dari imobilisasi sel antara membran mikropori adalah keterbatasan perpindahan massa (Lebeau et al., 1997) dan kemungkinan biofouling membran yang disebabkan oleh pertumbuhan sel (Gryta, 2002).

Prasyarat untuk imobilisasi sel

Pembawa cocok untuk imobilisasi sel untuk digunakan dalam produksi minuman beralkohol, bila prasyarat berikut terpenuhi (Freeman, 1984):

1. Pembawa harus memiliki permukaan yang besar, dengan kelompok fungsional untuk melekat pada sel.
2. Pembawa harus mudah ditangani dan diregenerasi.
3. Viabilitas sel dan stabilitas operasional biokatalis amobil harus tinggi dan dipertahankan untuk waktu yang lebih lama
4. Aktivitas biologis sel yang diimobilisasi tidak boleh terpengaruh secara merugikan oleh proses imobilisasi.
5. Porositas penyangga harus seragam dan dapat dikontrol, memungkinkan pertukaran bebas substrat, produk, kofaktor dan gas.
6. Pembawa harus mempertahankan stabilitas mekanik, kimia, termal dan biologis yang baik dan tidak mudah terdegradasi oleh enzim, pelarut, perubahan tekanan atau gaya geser.
7. Teknik pembawa dan imobilisasi harus mudah, hemat biaya dan dapat ditingkatkan.
8. Pembawa harus kemurnian food grade, tidak mempengaruhi kualitas produk dengan residu yang tersisa dan mudah diterima oleh konsumen.

Pengaruh imobilisasi pada sel mikroba

Perubahan dalam pertumbuhan sel, fisiologi dan aktivitas metabolisme dapat diinduksi oleh imobilisasi sel, baik dari spesies ragi maupun bakteri. Berbagai ulasan membahas alasan perubahan perilaku metabolisme sel amobil (Melzoch dkk., 1994; Norton, 1994).

Secara umum telah diamati bahwa sulit untuk memprediksi jenis dan besarnya perubahan metabolik yang mungkin terjadi melalui imobilisasi. Sejumlah parameter telah dianggap bertanggung jawab atas perubahan ini, seperti pembatasan perpindahan massa oleh difusi, gangguan pola pertumbuhan, tegangan permukaan dan efek tekanan osmotik, penurunan aktivitas air, komunikasi antar sel, perubahan morfologi sel, perubahan permeabilitas membran, dan ketersediaan komponen media (Kourkoutas, 2004).



Studi perbandingan pada sel amobil dan sel bebas melaporkan efek pada aktivasi metabolisme energi ragi, peningkatan polisakarida penyimpanan, perubahan tingkat pertumbuhan, peningkatan penyerapan substrat dan hasil produk, hasil sampingan fermentasi yang lebih rendah, nilai pH intraseluler yang lebih tinggi, peningkatan toleransi terhadap racun dan senyawa penghambat dan peningkatan aktivitas invertase (Norton, 1994). Di antara efek-efek ini, berikut ini adalah yang menonjol yaitu 1) efek pada pertumbuhan dan fisiologi; 2) efek pada aktivitas metabolisme; 3) efek pada toleransi stres; 4) efek pada pembentukan rasa.

Keuntungan dari sel amobil dibandingkan sistem sel bebas

Penggunaan sistem imobilisasi untuk produksi minuman beralkohol menawarkan banyak keuntungan dibandingkan fermentasi sel bebas konvensional termasuk:

1. Aktivitas dan stabilitas biokatalis yang berkepanjangan. Dukungan imobilisasi dapat bertindak sebagai agen pelindung terhadap efek fisikokimia pH, suhu, pelarut atau bahkan logam berat.
2. Kepadatan sel yang lebih tinggi per unit volume bioreaktor, yang mengarah pada produktivitas volumetrik yang tinggi, waktu fermentasi yang lebih pendek dan penghapusan fase pertumbuhan sel yang tidak produktif.
3. Peningkatan penyerapan substrat dan peningkatan hasil.
4. Kelayakan pemrosesan berkelanjutan.
5. Peningkatan toleransi terhadap konsentrasi substrat yang tinggi dan pengurangan penghambatan produk akhir.
6. Kelayakan fermentasi suhu rendah yang mengarah pada peningkatan kualitas produk.
7. Pemulihan produk lebih mudah melalui pengurangan persyaratan pemisahan dan filtrasi, sehingga mengurangi biaya peralatan dan kebutuhan energi.
8. Regenerasi dan penggunaan kembali biokatalis untuk waktu yang lama dalam operasi batch, tanpa mengeluarkannya dari bioreaktor.
9. Pengurangan risiko kontaminasi mikroba karena kepadatan sel yang tinggi dan aktivitas fermentasi.
10. Kemampuan untuk menggunakan bioreaktor yang lebih kecil dengan desain proses yang disederhanakan sehingga biaya modal yang lebih rendah.
11. Pengurangan waktu pematangan untuk beberapa produk

Dukungan imobilisasi dan teknik yang diterapkan pada produksi minuman beralkohol

1. Imobilisasi untuk pembuatan anggur

Imobilisasi sel untuk pembuatan anggur adalah area penelitian yang berkembang



pesat, meskipun aplikasi teknologi ini pada skala industri terbatas. Tujuan penggunaan teknik tersebut adalah untuk meningkatkan produktivitas alkohol dan aroma, rasa, dan kualitas produk secara keseluruhan. Untuk penerapan industri yang sukses dari teknologi ini, dukungan yang diusulkan idealnya harus berkualitas food grade, berlimpah di alam dan hemat biaya.

Banyak dukungan semacam itu untuk imobilisasi ragi dalam pembuatan anggur telah diusulkan (Colagrande et al., 1994). Pendukung ini sebagian besar adalah polisakarida organik alami atau bahan anorganik yang melimpah di alam. Mereka dapat digunakan tanpa banyak modifikasi atau setelah perawatan kecil untuk mengubah sifat mereka (porositas, muatan permukaan, dll), yang lain dapat disintesis secara komersial.

2. Imobilisasi dalam fermentasi malolaktik

Fermentasi malolactic (MLF) adalah proses sekunder yang terjadi pada anggur merah, atau anggur dengan keasaman tinggi, selama periode pematangan. Meskipun MLF umumnya digunakan untuk anggur merah kering, itu juga dapat diinginkan untuk beberapa anggur putih kering seperti Chardonnay, Sauvignon Blanc dan Pinot Gris, tetapi tidak disarankan untuk anggur yang lebih manis, seperti Riesling, Gew-u. rstraminer dan Muskat.

MLF tidak selalu diinginkan, misalnya dalam anggur dengan keasaman yang sangat rendah dapat mengurangi keasaman lebih lanjut dan mempengaruhi rasa dan stabilitas biologis. Mikroorganisme yang dimodifikasi secara genetik yang cocok untuk melakukan MLF telah diusulkan, tetapi kesulitan untuk mengekspresikan gen malolaktik dalam sel inang dan pemahaman sepenuhnya tentang mekanisme reaksi malolaktik telah dilaporkan (Lonvaud, 1995). Namun, penggunaan teknologi imobilisasi dianggap sebagai alternatif yang lebih aman. MLF dikendalikan dengan menggunakan bakteri asam laktat amobil terpilih yang diinginkan karena alasan berikut:

1. MLF alami membutuhkan waktu lama dan keterbatasan pertumbuhan mikroflora asam laktat mempengaruhi dan bergantung pada sifat fisikokimia dan komposisi nutrisi anggur, misalnya asam lemak dan etanol dapat menghambat pertumbuhan bakteri asam laktat. Oleh karena itu, teknik imobilisasi bertujuan untuk meningkatkan toleransi bakteri MLF.
2. Pengembangan rasa yang diinginkan dengan menggunakan kultur bakteri terpilih.
3. Percepatan MLF dengan kepadatan sel yang lebih tinggi dicapai dengan teknik imobilisasi.
4. Kelayakan aplikasi dan komersialisasi proses dengan kultur lyophilized dan amobil.
5. Penggunaan kembali sel untuk MLF dan penerapan proses berkelanjutan (Lonvaud, 1995).

Baru-baru ini penggunaan amobil *O. oeni* (sebelumnya diklasifikasikan sebagai *L. oenos*) dipelajari secara ekstensif untuk digunakan dalam MLF anggur atau sari buah apel, karena menunjukkan toleransi yang lebih tinggi terhadap efek penghambatan



etanol, pH rendah dan SO₂ (Versari et al., 1999).

Penggunaan sel *L. casei* amobil dalam gel Ca-pektat dan manik-manik kitosan yang dimodifikasi secara kimia (produk komersial) untuk MLF dalam anggur Chardonnay tingkat degradasi asam malat oleh sel amobil adalah dua kali lipat daripada sel bebas. Kemungkinan aplikasi industri dari biokatalis amobil didukung oleh stabilitas operasional yang tinggi dari gel Ca-pektat dan manik-manik kitosan yang dimodifikasi secara kimia, yaitu masing-masing 6 dan 2 bulan. Sel-sel yang diimobilisasi juga tidak dihambat oleh SO₂.

3. Imobilisasi dalam pembuatan bir

Produksi bir membutuhkan waktu fermentasi 6-7 hari dan fermentasi skala besar serta kapasitas penyimpanan. Teknologi imobilisasi sel ragi dapat memberikan pengurangan waktu pemrosesan kepada industri pembuatan bir tanpa mempengaruhi kualitas produk secara negatif, sementara kepadatan sel yang tinggi dalam bioreaktor dapat menghasilkan fermentasi yang lebih cepat dan produktivitas yang lebih tinggi yang mengarah pada pengurangan biaya yang signifikan.

Penelitian dalam 30 tahun terakhir berfokus pada teknik imobilisasi untuk menerapkan proses berkelanjutan dalam pembuatan bir dan mengurangi waktu pematangan, sementara banyak upaya telah dilakukan untuk menghasilkan bir bebas alkohol.

4. Imobilisasi dalam pembuatan sari buah

Produksi sari buah merupakan proses kompleks yang menggabungkan dua fermentasi berturut-turut: (i) fermentasi alkohol yang mengubah gula menjadi etanol yang dilakukan oleh berbagai ragi, (ii) fermentasi malolaktik yang mengubah asam l-malat menjadi asam l-laktat, yang terjadi selama pematangan oleh bakteri asam laktat. Cider tradisional diproduksi dengan pengepresan mekanis apel untuk ekstraksi jus diikuti dengan fermentasi alami (alkohol dan malolaktik) oleh mikroflora liar apel. Teknologi ini mengarah pada produk yang tidak stabil dengan kualitas yang bervariasi. Studi terbaru telah berfokus pada penggunaan kultur starter terpilih dan teknologi baru untuk meningkatkan kualitas sari buah apel. Bagian utama dari penelitian mengenai fermentasi malolaktik sari buah apel dan oleh karena itu teknik imobilisasi dianggap dapat meningkatkan produktivitas, mempercepat pematangan dan meningkatkan kualitas dan stabilitas sari. Ada laporan terbatas tentang penggunaan sel amobil dalam pembuatan sari buah apel. Bahan seperti spons digunakan untuk melumpuhkan *S. cerevisiae* dan *L. plantarum* untuk melakukan fermentasi dan pematangan parsial sari buah apel (Scott, 1996). Fermentasi yang dilakukan dengan ragi yang diimobilisasi dan penambahan bakteri asam laktat secara berurutan, mencapai peningkatan laju fermentasi dan pengembangan rasa. Jaringan pori terbuka pada spons mempromosikan perlekatan yang luas dari mikroorganisme, dan bahan tersebut cocok untuk imobilisasi ragi dan



bakteri serta mempercepat produksi dan pematangan sari buah apel, yang biasanya memakan waktu masing-masing 2-3 minggu dan 8 minggu.

Co-immobilisasi *S. bayanus* dan *L. oenos* dalam gel Calginate digunakan untuk menguji fermentasi alkohol dan malolaktik simultan dari jus apel untuk produksi sari dalam reaktor unggun terus menerus (Nedovic dkk., 2000). Dibandingkan dengan pembuatan sari tradisional, mereka mencapai fermentasi alkohol dan malolaktik yang cepat dan rasa yang lebih baik dengan pengurangan alkohol yang lebih tinggi, isoamyl acetate dan pembentukan diacetyl. Sistem amobil memiliki produktivitas alkohol yang lebih tinggi dan tingkat konsumsi asam malat serupa dengan yang diperoleh dengan menggunakan sel bebas sementara tidak ada perbedaan signifikan dari produk sampingan yang mudah menguap yang diamati. Sel-sel yang diimmobilisasi menghasilkan asam asetat dan etil asetat yang lebih rendah.

5. Immobilisasi dalam alkohol yang dapat diminum dan produksi sulingan

Kebutuhan etanol sebagai aditif dalam industri minuman telah terus meningkat dan begitu juga mengejar sistem sel mikroba amobil untuk fermentasi etanol. Penelitian tentang produksi alkohol yang dapat diminum biasanya berfokus pada pembentukan produk samping yang mudah menguap, karena konstituen ini merupakan parameter penting untuk distilat dan kualitas minuman beralkohol. Sifat pembawa immobilisasi tidak mempengaruhi komposisi etanol seperti dalam kasus pembuatan anggur atau pembuatan bir, karena konstituen non-volatil tidak disuling. Persyaratan kemurnian food grade tidak penting karena penggunaan langkah destilasi. Strain ragi yang diimmobilisasi seperti *S. cerevisiae*, *S. diastaticus*, *K. marxianus* dan *Candida sp.*, dan bakteri seperti *Zymomonas mobilis* semuanya telah digunakan untuk produksi etanol.

MEMAKSIMALKAN IMMOBILISASI

Dalam rangka memaksimalkan immobilisasi, dapat dilakukan beberapa perlakuan. Berikut perlakuan yang diberikan dan hasil penelitian terkait:

1. Pemberian variasi berat bead dan waktu inkubasi memberikan pengaruh yang nyata terhadap produksi alkohol. Tingkat produksi alkohol maksimum diperoleh dengan pemberian berat bead 10 gram, dengan waktu inkubasi 36 jam dengan kadar alkohol 12,9386% (Sebayang, 2006)
2. pH optimum pertumbuhan sel ragi immobil adalah pH 6 (Adlhani, 2014)
3. Kondisi fermentasi terbaik pada hakekatnya tidak ditentukan oleh tingginya kadar alkohol yang terbentuk, akan tetapi ditentukan oleh efisiensi fermentasi, yakni banyaknya mol gula yang diubah menjadi alkohol. Semakin tinggi efisiensi fermentasi, semakin efektif kerja mikroba dalam mengubah substrat menjadi produk fermentasi (Mappiratu, 1994)
4. Waktu inkubasi optimum sel ragi immobil adalah 3-5 hari (Adlhani, 2014)



5. Perbedaan pelarut dan mikroorganismenya yang digunakan dalam fermentasi - ekstraksi juga mempengaruhi immobilisasi sel. Dari beberapa mikroorganismenya yang diteliti seperti : yeast campuran *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia stipitis*, dan *Zymomonas mobilis* A3. Diketahui bahwa proses fermentasi kontinu dengan ekstraksi secara terintegrasi dengan konsentrasi awal substrat 15% menggunakan *Zymomonas mobilis* termutasi A3 dengan pelarut N-amil alcohol memberikan yield dan produktivitas yang lebih baik jika dibandingkan dengan campuran *Saccharomyces cerevisiae* dan *Pichia stipitis* yaitu masing-masing sebesar 35,049% dan 133,417 gram/L.jam (Baihaki, 2013)

KESIMPULAN

Dalam immobilisasi terdapat empat teknik utama yaitu: (a) perlekatan atau adsorpsi pada permukaan pembawa padat, (b) jebakan dalam matriks berpori, (c) agregasi sendiri dengan flokulasi (alami) atau dengan zat pengikat silang (diinduksi secara buatan), dan (d) sel mengandung - ment di balik penghalang. Dalam proses immobilisasi terdapat juga beberapa prasyarat yang harus dipenuhi sebagai standarisasi. Sehingga keuntungan-keuntungan dari immobilisasi sel dapat dimanfaatkan. Immobilisasi telah dimanfaatkan dalam beberapa produksi yaitu 1) pembuatan anggur; 2) fermentasi maloaktik; 3) pembuatan bir; 4) pembuatan sari buah; dan 5) alkohol yang dapat diminum dan produksi sulingan. Untuk memaksimalkan immobilisasi, dapat dilakukan beberapa hal berupa: 1) pemberian variasi berat bead dan waktu inkubasi; 2) pH optimum 6; 3) mengkondisikan fermentasi terbaik; 4) waktu inkubasi terbaik 3-5 hari; 5) menggunakan pelarut yang tepat.

REFERENSI

- Aldhani, E. N. komari (2014) 'PENGARUH pH, KADAR GULA, BERAT DAN WAKTU INKUBASI SEL RAGI IMOBIL TERHADAP EFISIENSI FERMENTASI LIMBAH NANAS MENJADI BIOETANOL', *Jurnal Teknologi Agro-Industri*, 1(1), pp. 9–18.
- Arias, G. & Astriana W.E.. 2011. Variasi Kondisi Operasi Steam Pretreatment Sawdust (Serbuk Kayu) Sebagai Bahan Baku Produksi Glukosa, Jurusan Teknik Kimia FTI-ITS. Surabaya
- Baihaki, Y. A., Rahdiana, R. and Widjaja, T. (2013) 'Pengaruh Variasi Mikroorganismenya dan Pelarut Dalam Produksi Etanol dari Nira Tebu (*Sachharum officinarum*) dengan Proses Fermentasi Ekstraktif', *Jurnal Teknik Pomits*, 3(2), pp. 3–5.
- Caylak, B. & F. Vardar-Sukan. 1998. Comparison of Different Production Processes for Bioethanol. *Turk.J.Chem.* 22 : 351-359.



- Colagrande, O., Silva, A., Fumi, M.D., 1994. Recent applications of biotechnology in wine production. *Rev. Biotechnol. Progr.* 10, 2–18.
- Firdausi, Z.N., Samodra, B.N., dan Hargono. 2013. “Pemanfaatan Pati Singkong Karet (Manihot glaziovii) Untuk Produksi Bioetanol Fuel Grade Melalui Proses Distilasi Dehidrasi Menggunakan Zerolit Alam”. Skripsi. (<http://www.ejurnal.com./2013/10/pemanfaatan-patisingkong-karet-manihot.html>) (Diakses tanggal 25 September 2014).
- Freeman, A., 1984. Gel entrapment of whole cells and enzymes in cross-linked, prepolymerized polyacrylamide hydrazide. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 434, 418–426.
- Gryta, M., 2002. The assessment of microorganism growth in the membrane distillation system. *Desalination* 142, 79–88.
- Huang, J., et al., 1990. Effect of free-cell growth parameters on oxygen concentration profiles in gelimmobilized recombinant *Escherichia coli*. *Appl. Microbiol Biotechnol.* 33, 619–623.
- Johannesen, R. 1991. Alcohol Production From Biomass. Energy Efficiency & Environmental News, Florida Cooperative Extension Service, Gainesville.
- Karel, S.F., Libicki, S.B., Robertson, C.R., 1985. The immobilization of whole cells-engineering principles. *Chem. Eng. Sci.* 40, 1321–1354.
- Kargupta, K., Siddhartha, D., Sanyal, S.K., 1998. Analysis of the performance of a continuous membrane bioreactor with cell recycling during ethanol fermentation. *Biochem. Eng. J.* 1, 31–37.
- Kourkoutas, Y. *et al.* (2004) ‘Immobilization technologies and support materials suitable in alcohol beverages production: A review’, *Food Microbiology*, 21(4), pp. 377–397. doi: 10.1016/j.fm.2003.10.005.
- Lebeau, T., Jouenne, T., Junter, G.A., 1997. Simultaneous fermentation of glucose and xylose by pure and mixed cultures of *Saccharomyces cerevisiae* and *Candida shehatae* immobilized in a two-chambered bioreactor. *Enzyme Microb. Technol.* 21, 265–272.
- Lonvaud-Funel, A., 1995. Microbiology of the malolactic fermentation: molecular aspects. *FEMS Microbiol. Lett.* 126, 209–214.
- Maemunah, S., T.A. Priatna, & A.A. Sjamsuriputra. 2005. Aplikasi Enzim Selulase Dari *Trichoderma reesei* QM 9414 Untuk Peningkatan Produksi Etanol dari Singkong melalui Proses Sakarifikasi Fermentasi Simultan. *Jurnal JTKI*, Vol.4, No.2, Hal:1-10.
- Mappiratu., Murhadi, & N. Alam. 1994. Penerapan Sel Ragi Amobil Untuk Memproduksi Alkohol dari Limbah Pabrik Gula Tebu. *Jurnal Agroland*, No.4,



- Th.1, hal:13-17. Page, D.S. 1997. *Prinsip-prinsip Biokimia*. Edisi Kedua. Alih Bahasa R. Soendoro. Erlangga. Jakarta. hal 122-123.
- Melzoch, K., Rychtera, M., Habova, V., 1994. Effect of immobilization upon the properties and behavior of *Saccharomyces cerevisiae* cells. *J. Biotechnol.* 32, 59–65.
- Navarro, J.M., Durand, G., 1977. Modification of yeast metabolism by immobilization on to porous glass. *Eur. J. Appl. Microbiol.* 4, 243–254.
- Norton, S., D'Amore, T., 1994. Physiological effects of yeast cell immobilization: applications for brewing. *Enzyme Microb. Technol.* 16, 365–375.
- Park, J.K., Chang, H.N., 2000. Microencapsulation of microbial cells. *Biotechnol. Adv.* 18, 303–319.
- Pilkington, P.H., Margaritis, A., Mensour, N.A., Russell, I., 1998. Fundamentals of immobilized yeast cells for continuous beer fermentation: a review. *J. Inst. Brew.* 104, 19–31.
- Ramon-Portugal, F., Silva, S., Taillandier, P., Strehaiano, P., 2003. Immobilized yeasts: actual oenologic utilizations. *Wine Internet Technical Journal.* (1), (www.vinidea.net).
- Scott, J.A., O'Reilly, A.M., 1996. Co-immobilization of selected yeast and bacteria for controlled flavour development in an alcoholic cider beverage. *Process Biochem.* 31, 111–117.
- Sebayang, F. (2006) 'Pembuatan Etanol dari Molase Secara Fermentasi Menggunakan Sel *Saccharomyces cerevisiae* yang Terimobilisasi pada Kalsium Alginat', *Jurnal Teknologi Proses*, 5(2).
- Versari, A., Parpinello, G.P., Cattaneo, M., 1999. *Leuconostoc oenos* and malolactic fermentation in wine: a review. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 23, 447–455.
- Volk, W.A & M.F. Wheeler. 1990. *Mikrobiologi Dasar*. Jilid 2. Edisi kelima. Terjemahan Soenartono Adisoemarto. Erlangga, Jakarta. hal 309.