p-ISSN: 1907-8056
e-ISSN: 2527-5410
AGROINTEK
Jurnal Teknologi Industri Pertanian
journal homepage: journal.trunojoyo.ac.id/agrointek

Optimasi kombinasi konsentrasi sel dan na-alginat dalam pembuatan sel terimobilisasi terhadap hasil produksi bioetanol dari tandan kosong kelapa sawit

Mar`atul Kibtiyah[1], Ida Bagus Wayan Gunam[1,2*], G.P. Ganda Putra[1], I Gede Arya Sujana[2]

[1]*Program Studi Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana, Badung, 80361 Bali, Indonesia*
[2]*Laboratorium Bioindustri, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana, Denpasar, 80234 Bali, Indonesia*

Article history
Diterima:
17 Maret 2025
Diperbaiki:
2 Februari 2026
Disetujui:
3 Maret 2026

Keyword
Bioethanol;
Entrapment;
Immobilized cells;
R5I3 isolate;
Separate hydrolysis and fermentation

ABSTRACT

Oil Palm Empty Fruit Bunches (OPEFB) are lignocellulosic waste with potential as raw material for bioethanol production. Immobilized cells using Na-alginate matrix offer advantages such as improved stability and reusability. This study aims to determine the effect of cell and Na-alginate concentration on bioethanol production from OPEFB using immobilized cells, and to determine the best combination that produces the highest ethanol yield. This research employed a Factorial Randomized Block Design (RBD) with two factors: cell concentration (OD_{660} 20, 30, and 40) and Na-alginate concentration (3%, 4%, and 5% (b/v)). Fermentation was carried out using the Separate Hydrolysis and Fermentation (SHF) method for 96 hours at 35°C. Observed parameters included pH, total soluble solids (TSS), reducing sugar content, and ethanol content. The results showed that cell and Na-alginate concentration significantly influenced pH, total soluble solids, reducing sugar content, and ethanol content. The best combination was found at a cell concentration of OD_{660} 30 and a Na-alginate concentration of 4%, resulting in the highest ethanol content of 3.26 ± 0.276 % v/v, final pH of 4.37 ± 0.035, total soluble solids of 5.6 ± 0.283 °Brix, and reducing sugar content of 0.22 ± 0.009 g/L. The use of immobilized cells with optimized cell and Na-alginate concentrations proved effective in enhancing fermentation process and bioethanol productivity from OPEFB as substrate.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

* Penulis korespondensi
Email : ibwgunam@unud.ac.id
DOI 10.21107/agrointek.v20i3.29525

PENDAHULUAN

Industri kelapa sawit di Indonesia terus berkembang, diikuti dengan meningkatnya limbah padat yang dihasilkan, salah satunya adalah tandan kosong kelapa sawit (TKKS). TKKS menyumbang sekitar 22–25% dari bobot tandan buah segar dan mengandung lignoselulosa yang terdiri dari selulosa, hemiselulosa, dan lignin (Rezki et al. 2023). Limbah ini berpotensi mencemari lingkungan jika tidak dimanfaatkan dengan baik, sehingga pengelolaannya penting dilakukan untuk meningkatkan nilai tambahnya (Raharjo 2020). Salah satu pemanfaatan TKKS yang menjanjikan adalah sebagai bahan baku produksi bioetanol melalui proses fermentasi. Bioetanol merupakan energi terbarukan yang berpotensi mengurangi ketergantungan pada bahan bakar fosil (Firmansyah 2009). Proses produksi bioetanol dari TKKS meliputi perlakuan awal, hidrolisis, dan fermentasi (Mosier et al. 2005). Pada proses fermentasi, penggunaan sel terimobilisasi menawarkan banyak keuntungan dibandingkan sel bebas, seperti meningkatkan stabilitas, mempercepat proses fermentasi, mempermudah pemisahan sel dari produk akhir, dan dapat digunakan berulang kali (Martini et al. 2011, Gunam et al. 2021, Reshmy et al. 2023). Imobilisasi sel umumnya menggunakan matriks Na-alginat yang dengan mudah dapat membentuk bead dan menjaga sel tetap aktif selama fermentasi (Genisheva et al. 2014).

Na-alginat memiliki beberapa keunggulan dibandingkan bahan lain dalam aplikasi bioteknologi, terutama dalam pembentukan gel tanpa memerlukan pemanasan, viskositasnya dapat disesuaikan, serta kemampuannya membentuk matriks imobilisasi yang stabil dengan ion kalsium (Ca^{2+}). Berbeda dengan agar yang membutuhkan pemanasan hingga 80°C untuk pembentukan gel, Na-alginat mampu membentuk gel pada suhu ruang saat bereaksi dengan ion kalsium, sehingga lebih efisien dalam proses imobilisasi sel atau enzim. Selain itu, stabilitas dan fleksibilitas Na-alginat dapat ditingkatkan dengan modifikasi tertentu, menjadikannya lebih unggul dibandingkan bahan imobilisasi lainnya seperti kitosan dan poliakrilamida (Subaryono 2010).

Konsentrasi Na-alginat berperan penting dalam menentukan porositas bead, yang mempengaruhi difusi substrat dan pelepasan produk serta mempengaruhi stabilitas beads (Webb 1989). Pereira and Silva (2021) melaporkan Na-alginat 3% menghasilkan etanol 9% v/v, Akhter and Khan (2021) menemukan Na-alginat 4% menghasilkan etanol 9 – 11% v/v, sementara Lee and Kim (2019) mencatat Na-alginat 5% menghasilkan produksi etanol tertinggi sekitar 11% v/v. Sementara itu, Sharma and Kumar (2022) menyatakan kerapatan sel OD 20 meningkatkan kadar alkohol (etanol) secara signifikan, Shi et al. (2019) menunjukkan OD 30 optimal dengan pengaturan aerasi dan pH, sementara Tse et al. (2021) melaporkan OD 40 dapat meningkatkan produksi etanol lebih lanjut.

Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh variasi konsentrasi sel dan Na-alginat terhadap produksi bioetanol dari TKKS, serta menentukan kombinasi perlakuan terbaik yang menghasilkan kadar alkohol (etanol) tertinggi. Hingga saat ini, studi terkait optimasi kedua variabel tersebut secara simultan terhadap efisiensi produksi bioetanol masih terbatas, sehingga hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi baru dalam pengembangan teknologi fermentasi yang efisien, lebih aplikatif dan sekaligus mendukung pengembangan energi terbarukan berbasis limbah kelapa sawit yang ramah lingkungan.

METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan meliputi Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS), Khamir *Candida orthopsilosis* R5I3 diperoleh dari Laboratorium Bioindustri Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana, Na-alginat (Merck), *Sodium Chloride* (Merck), Enzim selulase (Celluclast 1,5 Novozymes), media YPD (*Yeast Peptone Dextrose*), *Natrium Citrate* (Merck), *Citric Acid* (Merck), $CaCl_2$ (Merck), NaOH (Merck), glukosa (Merck), air destilata dan bahan-bahan untuk analisis. Peralatan yang digunakan meliputi oven pengering (Blue-M), penggiling tepung (SY-150 Grinder), ayakan 60 mesh, *microwave* (Samsung MG30), *sentrifuge* (Hero Lab LC04S), *incubator* (Memmert), *autoclave* (Hirayama HVE-50), *laminar air flow* (304-Wina), *water bath shaker* (Shel Lab), *shaker rotator* (Health H-MRS), *spectrophotometer* (Hitachi UV-Vis), pH meter (Senz pH), dan *alcoholmeter.*

Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) pola faktorial dengan 2 faktor. Faktor pertama yaitu konsentrasi sel (OD_{660}) terdiri dari tiga taraf yaitu OD 20, 30 dan 40. Faktor kedua yaitu konsentrasi Na-alginat terdiri dari tiga taraf yaitu 3%, 4% dan 5% (b/v). Berdasarkan rancangan percobaan tersebut diperolah 9 kombinasi perlakuan, dan dikelompokkan menjadi dua kelompok berdasarkan waktu pengerjaannya sehingga diperoleh 18 unit percobaan. Analisis data dilakukan dengan analisis varian (ANOVA) dan apabila perlakuan berpengaruh, maka akan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ). Penentuan perlakuan terbaik berdasarkan kombinasi konsentrasi sel dan Na-alginat yang memberikan hasil total etanol tertinggi.

Peremajaan dan perbanyakan kultur mikroba

Kultur *Candida orthopsilosis* R5I3 dipersiapkan dengan menginokulasi 1 mL kultur stok ke dalam 10 mL media YPG steril, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C. Selanjutnya, stok kultur sebanyak 1 mL diinokulasikan ke dalam 10 mL media YPG, dibagi menjadi 2 tabung masing-masing berisi 5 mL, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C. Kultur sebanyak 5 mL dimasukkan ke dalam 25 mL media YPG, kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 35°C menggunakan *shaker rotator*. Kultur yang dihasilkan sebanyak 50 mL, kemudian disimpan dalam suhu dingin.

Pencucian Sel

Kultur hasil perbanyakan sel disentrifugasi dalam kondisi dingin pada kecepatan 3000 rpm selama 5 menit. Supernatant yang dihasilkan dibuang, dan pellet sel ditambahkan larutan NaCl 0,85%, divortex lalu disentrifugasi lagi pada kecepatan 3000 rpm selama 5 menit. Proses pencucian sel ini dilakukan sebanyak 2 kali dalam kondisi dingin. Suspensi sel disimpan di lemari pendingin sebelum digunakan.

Persiapan Substrat Tandan Kosong Kelapa Sawit

Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS) dibersihkan, dikeringkan di bawah sinar matahari dan dipotong-potong menjadi ukuran kecil, kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50°C selama 96 jam untuk menurunkan kadar air (Nurfahmi et al. 2019). Setelah kadar air mencapai 10%, TKKS dihancurkan menggunakan mesin penggiling, lalu diayak dengan ayakan 60 mesh untuk mendapatkan serbuk TKKS berukuran seragam (Gunam et al. 2020).

Delignifikasi

Kandungan lignin yang tinggi menghambat akses enzim ke selulosa, sehingga diperlukan proses delignifikasi sebelum hidrolisis enzimatik (Gunam et al. 2021). Serbuk TKKS sebanyak 100 g direndam dalam larutan NaOH 3% dengan perbandingan 1:10 selama 12 jam pada suhu kamar. Gunam et al. (2011) menyatakan bahwa perendaman ampas tebu dalam larutan NaOH selama 12 jam dapat mengurangi lignin secara signifikan. Kemudian proses pre-treatment dilanjutkan dengan dimasukkan ke dalam microwave selama 15-30 menit dengan daya 600 Watt (Gunam et al. 2011). Setelah itu, sampel didinginkan dan disaring menggunakan kertas saring BIPMED BI (ukuran 10 µm) dengan filtrasi vakum untuk memisahkan padatan dan cairan. Fraksi padat dicuci dengan air destilata pada suhu 60°C hingga pH 7 (pH netral), dikeringkan dalam oven suhu 80°C selama 12 jam, lalu digiling dan disimpan dalam botol plastik tertutup pada suhu kamar (Harahap et al. 2019). Delignifikasi dilakukan untuk menurunkan kadar lignin dan meningkatkan kadar selulosa, dan membuat menjadi lebih amorf yang selanjutnya akan diuraikan menjadi gula sederhana melalui proses hidrolisis (Kamal et al. 2023).

Immobilisasi Sel

Na-alginat dengan konsentrasi 3%, 4%, dan 5% (b/v), masing-masing dilarutkan dalam 50 mL air destilata steril, dihomogenkan menggunakan magnetic stirrer hingga larut, lalu disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah dingin, 50 mL larutan Na-alginat dicampur dengan 25 mL suspensi sel yang telah disesuaikan OD660 menggunakan spectrophotometer. Berdasarkan uji pendahuluan yang telah dilakukan sebelum penelitian, diperoleh rasio resuspensi untuk setiap tingkat kepadatan sel (OD660), untuk OD 20 menggunakan rasio pellet : NaCl sebesar 1:15, OD 30 menggunakan rasio sebesar 1:10, dan OD 40 menggunakan rasio sebesar 1:7,5. Rasio tersebut diperoleh melalui serangkaian pengukuran langsung menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 660 nm, dimana hasil absorbansi yang terukur dikalikan dengan faktor pengenceran sesuai rasio yang digunakan. Pengenceran ini bertujuan menyesuaikan kerapatan sel sesuai konsentrasi yang ditargetkan.

Campuran Na-alginat dan suspensi sel kemudian divortex hingga homogen, lalu dipindahkan ke dalam seringe dan diteteskan dan ditampung dalam larutan CaCl2 4% (b/v) pada suhu dingin untuk membentuk beads alginat dengan konsentrasi sel OD 20, 30, dan 40. Beads yang terbentuk didiamkan selama 6 jam pada suhu 4°C untuk pengerasan, kemudian dicuci dengan larutan NaCl 0,85% dan disimpan dalam lemari pendingin suhu 4°C hingga digunakan (Gunam et al. 2021).

Separate Hydrolysis and Fermentation (SHF)

Separate Hydrolysis and Fermentation (SHF) adalah teknik di mana sakarifikasi dan fermentasi dilakukan terpisah dalam reaktor berbeda (Ramadhani et al. 2024). Serbuk TKKS yang telah didelignifikasi, diambil sebanyak 45 g dan dimasukkan ke dalam duran, kemudian dihidrolisis menggunakan enzim selulase 25 FPU/mL dalam buffer sitrat 0,05 M pH 4,8 pada suhu 50°C selama 96 jam. Setelah hidrolisis selesai, gula hasil hidrolisis difermentasi masing-masing sebanyak 200 mL dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 mL, selanjutnya difermentasi menggunakan kultur terimobilisasi sesuai perlakuan pada suhu 35°C selama 96 jam dan dikocok pada kecepatan 100 rpm dalam water bath shaker (Gunam et al. 2021). Pada proses SHF, hidrolisis lignoselulosa dilakukan terlebih dahulu untuk menghasilkan gula sederhana, kemudian gula difermentasi menjadi etanol (Simangunsong et al. 2016).

Variabel yang Diamati

Variabel yang diamati meliputi pengukuran pH menggunakan pH-meter (Senz pH) (Mutirahma et al. 2018), pengukuran TPT menggunakan hand refractometer (Ginting et al. 2019), kadar gula pereduksi dianalisis dengan metode DNS menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Rismawati et al. 2016), serta kadar alkohol (etanol) diukur menggunakan alkoholmeter (Khotimah et al. 2017).

HASIL DAN PEMBAHASAN

pH

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi sel berpengaruh nyata ($p < 0,05$) dan konsentrasi Na-alginat berpengaruh sangat nyata pada ($p < 0,01$), tetapi interaksi antara keduanya tidak berpengaruh nyata ($p > 0,05$) terhadap nilai pH fermentasi bioetanol. Nilai rata-rata pH akhir proses fermentasi pada perlakuan variasi OD dan konsentrasi Na-alginat dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 menunjukkan bahwa nilai rata-rata pH tertinggi diperoleh pada OD 40, yaitu 4,57 ± 0,057, sedangkan nilai rata-rata pH terendah terdapat pada OD 20, yaitu 4,18 ± 0,115. Konsentrasi sel yang lebih tinggi memungkinkan aktivitas metabolisme mikroorganisme yang lebih intensif, yang dapat menghasilkan senyawa tertentu yang membantu mempertahankan keseimbangan pH. Sebaliknya, pada konsentrasi sel yang lebih rendah, aktivitas fermentasi cenderung lebih lambat, sehingga pH cenderung lebih rendah. Perubahan pH ini dapat dipengaruhi oleh produksi asam organik selama fermentasi, yang lebih dominan pada konsentrasi sel yang lebih rendah akibat efisiensi metabolisme yang lebih rendah dibandingkan dengan konsentrasi sel yang lebih tinggi. Efisiensi fermentasi dalam mengubah glukosa menjadi etanol sangat bergantung pada kondisi proses, salah satunya adalah pH yang berfungsi menjaga kinerja mikroorganisme (Arnata and Anggreni 2013).

Tabel 1 Nilai rata-rata pH akhir proses fermentasi pada perlakuan variasi OD dan konsentrasi Na-alginat

Konsentrasi Sel (OD_{660})	Konsentrasi Na-alginat (%)			Rata- rata
	A1 (3)	A2 (4)	A3 (5)	
S1 (20)	4,14 ± 0,021	4,16 ± 0,028	4,25 ± 0,064	4,18 ± 0,115[c]
S2 (30)	4,39 ± 0,127	4,37 ± 0,035	4,43 ± 0,035	4,39 ± 0,060[b]
S3 (40)	4,55 ± 0,064	4,56 ± 0,014	4,60 ± 0,028	4,57 ± 0,057[a]
Rata-rata	4,36 ± 0,414[b]	4,36 ± 0,400[b]	4,42 ± 0,355[a]	

Keterangan: Huruf berbeda di belakang nilai rata-rata pada baris dan kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata pada Uji BNJ dengan taraf kesalahan 5% ($p \leq 0,05$); pH awal fermentasi adalah 4,8.

Tabel 2 Nilai rata-rata total padatan terlarut (°Brix) setelah proses fermentasi pada perlakuan variasi OD dan konsentrasi Na-alginat

Konsentrasi Sel (OD_{660})	Konsentrasi Na-alginat (%)		
	A1 (3)	A2 (4)	A3 (5)
S1 (20)	4,60 ± 0,283[b]	4,70 ± 0,424[b]	4,20 ± 0,283[b]
S2 (30)	6,00 ± 0,283[a]	5,60 ± 0,283[a]	5,60 ± 0,566[a]
S3 (40)	4,30 ± 0,141[b]	4,70 ± 0,141[b]	4,70 ± 0,141[b]

Keterangan: Huruf berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukan perbedaan yang nyata pada Uji BNJ dengan taraf kesalahan 5% ($p \leq 0,05$); TPT rata-rata awal fermentasi adalah 6,4 °Brix

Nilai rata-rata pH tertinggi diperoleh pada konsentrasi Na-alginat 5%, yaitu 4,42 ± 0,355, sedangkan nilai rata-rata pH terendah terdapat pada konsentrasi Na-alginat 4%, yaitu 4,36 ± 0,400, tidak berbeda nyata dengan konsentrasi Na-alginat 3%, yaitu 4,36 ± 0,414. Peningkatan konsentrasi Na-alginat cenderung meningkatkan nilai pH fermentasi. Hal ini disebabkan oleh sifat netral dari Na-alginat, yang ketika ditambahkan dalam konsentrasi tinggi, dapat meningkatkan nilai pH produk akhir mendekati netral (Arisanty et al. 2016). Selain itu, selama fermentasi, mikroorganisme juga memproduksi asam-asam organik seperti asam laktat, asetat, dan piruvat, yang dapat menurunkan pH medium fermentasi. Produksi CO_2 yang terlarut dalam medium membentuk asam karbonat (H_2CO_3), yang juga berkontribusi dalam penurunan pH fermentasi (Lynd et al. 1999).

Total Padatan Terlarut (TPT)

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi Na-alginat berpengaruh sangat nyata ($p < 0,01$), sedangkan konsentrasi sel tidak berpengaruh nyata ($p > 0,05$), dan interaksi antara kedua faktor menunjukkan pengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap total padatan terlarut. Hal ini mengindikasikan bahwa kombinasi kedua faktor tersebut dapat saling memengaruhi dan memberikan efek berbeda terhadap hasil, meskipun salah satunya tidak signifikan secara tunggal. Nilai rata-rata total padatan terlarut setelah proses fermentasi pada perlakuan variasi OD dan konsentrasi Na-alginat dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. menunjukkan bahwa total padatan terlarut (TPT) tertinggi diperoleh pada perlakuan S2A1 (OD 30, Na-alginat 3%) dengan nilai 6,0 ± 0,283 °Brix, tetapi tidak berbeda nyata dengan perlakuan S2A2 (OD 30, Na-alginat 4%) yang memiliki nilai 5,6 ± 0,283 °Brix, serta S2A3 (OD 30, Na-alginat 5%) yang memiliki nilai 5,6 ± 0,566 °Brix, sedangkan TPT terendah diperoleh pada perlakuan S1A3 (OD 20, Na-alginat 5%) dengan nilai 4,2 ± 0,283 °Brix, tetapi tidak berbeda nyata dengan perlakuan S1A2 (OD 20, Na-alginat 4%) dengan nilai 4,7 ± 0,424 °Brix, S3A2 (OD 40, Na-alginat 4%) dengan nilai 4,7 ± 0,141 °Brix, S3A3 (OD 40, Na-alginat 5%) dengan nilai 4,7 ± 0,141 °Brix, S1A1 (OD 20, Na-alginat 3%) dengan nilai 4,6 ± 0,283 °Brix, S3A1 (OD 40, Na-alginat 3%) dengan nilai 4,3 ± 0,141 °Brix.

Peningkatan TPT ini dapat dikaitkan dengan pelepasan senyawa organik selama proses fermentasi, terutama akibat aktivitas mikroba dalam menghidrolisis substrat (Agustina et al. 2023). Penurunan total padatan terlarut pada konsentrasi Na-alginat yang lebih tinggi (5%) disebabkan oleh efek pembentukan matriks gel yang lebih padat, sehingga membatasi difusi substrat dan produk metabolisme keluar dari matriks (Liu et al. 2020). Lee and Kim (2019) menyatakan bahwa peningkatan viskositas dan keterbatasan transfer massa dalam sistem imobilisasi dapat menghambat pelepasan senyawa terlarut ke dalam medium fermentasi. Peningkatan nilai OD yang mencerminkan konsentrasi sel yang lebih tinggi secara langsung meningkatkan laju reaksi enzimatik fermentasi, semakin banyak sel yang terimobilisasi, semakin cepat hidrolisis substrat terjadi dan semakin banyak senyawa organik terlarut yang dilepaskan ke medium, sehingga nilai TPT meningkat. Hal ini juga didukung oleh Ratnasari et al. (2014), yang menunjukkan bahwa peningkatan OD berbanding lurus dengan peningkatan TPT, karena jumlah sel yang tinggi memfasilitasi transfer massa yang lebih optimal.

Kadar Gula Reduksi

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi sel dan konsentrasi Na-alginat berpengaruh sangat nyata ($p < 0,01$), sedangkan interaksi keduanya tidak berpengaruh nyata ($p > 0,05$) terhadap kadar gula reduksi. Nilai rata-rata kadar gula reduksi akhir fermentasi pada

perlakuan variasi OD dan konsentrasi Na-alginat dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3 menunjukkan bahwa rata-rata kadar gula reduksi tertinggi diperoleh pada OD 30 dengan nilai 0,22 ± 0,004 g/L, sedangkan rata-rata gula reduksi terendah diperoleh pada konsentrasi sel OD 40 dengan nilai 0,17 ± 0,025 g/L. Nilai rata-rata gula reduksi tertinggi diperoleh pada Na-alginat 4% dengan nilai 0,20 ± 0,037 g/L, tetapi tidak berbeda nyata dengan Na-alginat 3% dengan nilai 0,20 ± 0,058 g/L, sedangkan rata-rata gula reduksi terendah diperoleh pada konsentrasi Na-alginat 5% dengan nilai 0,19 ± 0,062 g/L.

Penurunan kadar gula reduksi pada konsentrasi sel yang lebih tinggi dapat disebabkan oleh peningkatan konsumsi gula oleh mikroorganisme selama fermentasi. Semakin tinggi konsentrasi sel, semakin banyak gula yang dikonversi menjadi produk fermentasi seperti etanol dan asam organik. Selain itu, peningkatan konsentrasi Na-alginat yang berlebihan dapat menghambat pelepasan gula reduksi ke dalam larutan, karena matriks alginat yang lebih padat dapat memperlambat difusi substrat ke dalam sel mikroba (Zhao et al. 2021). Selama fermentasi, akumulasi produk samping seperti asam organik dapat menurunkan pH, yang pada akhirnya dapat menghambat aktivitas enzim dan mengurangi pelepasan gula reduksi (Kumar et al. 2020).

Kadar Alkohol (Etanol)

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi sel dan konsentrasi Na-alginat berpengaruh sangat nyata ($p < 0,01$), sedangkan interaksi keduanya tidak berpengaruh nyata ($p > 0,05$) terhadap kadar alkohol (etanol). Nilai rata-rata kadar alkohol (etanol) pada akhir fementasi pada perlakuan variasi OD dan konsentrasi Na-alginat dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4 menunjukkan bahwa rata-rata kadar alkohol (etanol) tertinggi diperoleh pada OD 30 dengan nilai 2,7 ± 0,959 v/v, tetapi tidak berbeda nyata dengan OD 20 dengan nilai 2,4 ± 1,177 v/v, sedangkan rata-rata kadar alkohol (etanol) terendah diperoleh pada OD 40 dengan nilai 1,9 ± 0,931 v/v, tetapi tidak berbeda nyata dengan OD 20 dengan nilai 2,4 ± 1,177 v/v.

Tabel 3 Nilai rata-rata kadar gula reduksi (g/L) akhir fermentasi pada perlakuan variasi OD dan konsentrasi Na-alginat

Konsentrasi Sel (OD_{660})	Konsentrasi Na-alginat (%)			Rata- rata
	A1 (3)	A2 (4)	A3 (5)	
S1 (20)	0,20 ± 0,007	0,20 ± 0,009	0,18 ± 0,002	0,20 ± 0,023[b]
S2 (30)	0,23 ± 0,005	0,22 ± 0,009	0,22 ± 0,000	0,22 ± 0,004[a]
S3 (40)	0,17 ± 0,000	0,19 ± 0,003	0,16 ± 0,006	0,17 ± 0,025[c]
Rata-rata	0,20 ± 0,058[a]	0,20 ± 0,037[a]	0,19 ± 0,062[b]	

Keterangan: Huruf berbeda di belakang nilai rata-rata pada baris dan kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata pada Uji BNJ dengan taraf kesalahan 5% ($p \leq 0,05$); Kadar gula reduksi rata-rata awal fermentasi adalah 0,37

Tabel 4 Nilai rata-rata kadar alkohol (etanol) (v/v) akhir fementasi pada perlakuan variasi OD dan konsentrasi Na-alginat

Konsentrasi Sel (OD)	Konsentrasi Na-alginat (%)			Rata- rata
	A1 (3)	A2 (4)	A3 (5)	
S1 (20)	1,93 ± 0,042	3,04 ±0,124	2,14 ± 0,018	2,4 ± 1,177[ab]
S2 (30)	2,63 ± 0,948	3,26 ± 0,276	2,31 ± 0,088	2,7 ± 0,959[a]
S3 (40)	2,01 ± 0,053	2,36 ± 0,053	1,44 ± 0,057	1,9 ± 0,931[b]
Rata-rata	1,93 ± 0,042	3,04 ±0,124	2,14 ± 0,018	

Keterangan: Huruf berbeda di belakang nilai rata-rata pada baris dan kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata pada Uji BNJ dengan taraf kesalahan 5% ($p \leq 0,05$)

Peningkatan kadar alkohol (etanol) disebabkan oleh meningkatnya jumlah sel yang aktif dalam sistem fermentasi, sehingga konversi substrat menjadi etanol lebih optimal. Pada OD 30, jumlah sel yang cukup memungkinkan reaksi metabolisme berlangsung secara maksimal dan menghasilkan kadar etanol tertinggi. Hal ini sejalan dengan penelitian Widyanti and Moehadi (2016) yang menyebutkan bahwa peningkatan sel dalam sistem fermentasi dapat meningkatkan aktivitas enzimatis, mempercepat proses glikolisis, dan menghasilkan lebih banyak etanol. Selain itu, kondisi lingkungan yang masih mendukung, seperti ketersediaan oksigen dan nutrisi yang cukup juga berperan dalam mempertahankan efisiensi fermentasi. Penurunan kadar alkohol (etanol) disebabkan oleh keterbatasan nutrisi dan oksigen, serta akumulasi produk samping yang dapat menghambat aktivitas mikroba dan menurunkan efisiensi produksi etanol (Widyanti and Moehadi 2016).

Nilai rata-rata kadar alkohol (etanol) tertinggi diperoleh pada Na-alginat 4% dengan nilai 2,89 ± 0,931 v/v, sedangkan rata-rata kadar alkohol (etanol) terendah diperoleh pada Na-alginat 5% dengan nilai 1,96 ± 0,923 v/v, tetapi tidak berbeda nyata dengan Na-alginat 3% dengan nilai 2,19 ± 0,765 v/v. Kadar alkohol (etanol) yang tinggi kemungkinan disebabkan oleh kondisi fermentasi yang optimal, di mana jumlah sel yang cukup dan struktur Na-alginat yang tidak terlalu padat memungkinkan total etanol yang maksimal konsentrasi Na-alginat yang terlalu tinggi juga dapat menurunkan produksi etanol hal ini disebabkan oleh struktur gel imobilisasi atau kerapatan matriks gel, sehingga menghambat difusi substrat dan produk selama fermentasi (Laurentina 2009).

KESIMPULAN

Konsentrasi Na-alginat berpengaruh sangat nyata terhadap pH, kadar gula reduksi, kadar alkohol (etanol), dan total padatan terlarut (TPT). Konsentrasi sel berpengaruh sangat nyata terhadap kadar gula reduksi dan kadar alkohol (etanol), dan berpengaruh nyata terhadap pH, tetapi tidak berpengaruh terhadap total padatan terlarut. Sementara itu, interaksi antara konsentrasi sel dan Na-alginat hanya berpengaruh nyata terhadap total padatan terlarut, tetapi tidak berpengaruh terhadap pH, kadar gula reduksi, dan kadar alkohol (etanol). Kombinasi perlakuan terbaik untuk menghasilkan bioetanol menggunakan sel terimobilisasi adalah konsentrasi sel OD 30 dan Na-alginat 4%, yang menghasilkan kadar alkohol (etanol) tertinggi sebesar 3,26 ± 0,276% (v/v). Perlakuan ini menghasilkan pH akhir 4,37 ± 0,035, total padatan terlarut 5,6 ± 0,283 ºBrix, dan kadar gula reduksi 0,22 ± 0,009 g/L. Hasil ini menunjukkan bahwa metode SHF dengan sel terimobilisasi cukup efisien dalam meningkatkan performa fermentasi dibandingkan fermentasi konvensional.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Riset, Teknologi, dan Pengabdian kepada Masyarakat (DRTPM) yang telah memberikan dukungan pendanaan melalui skema Penelitian Fundamental Regular (PFR) dengan Kontrak Penelitian, No. B/461-11/UN14.4.A/PT.01.05/2023, tanggal 16 Juni 2023. Terima kasih juga disampaikan kepada Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Udayana atas dukungan berupa fasilitas laboratorium dan sarana lainnya selama penelitian ini berlangsung.

DAFTAR PUSTAKA

Agustina, A., Taufiq, T. T.,, and Guspratiwi, R. 2023. Identifikasi profil mikroorganisme dan kondisi fermentasi kakao lokal Sumatera Barat. *Jurnal Sains dan Teknologi Pangan* 8(6):6825–6834. https://doi.org/10.33772/jstp.v8i6.46187.

Akhter, M.,, and Khan, S. 2021. Impact of sodium alginate concentration on ethanol production using immobilized yeast cells. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 48(6):877–886. https://doi.org/10.1007/s10295-021-02400-w.

Arisanty, D., Wibowo, S.,, and Utomo, M. 2016. Pengaruh penambahan natrium alginat terhadap kualitas nugget lele dumbo (Clarias sp.). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* 19(1):74–82. https://doi.org/10.17844/jphpi.v19i1.15093.

Arnata, I. W.,, and Anggreni, A. A. M. 2013. Rekayasa bioproses produksi bioetanol dari ubi kayu dengan teknik ko-kultur ragi tape dan Saccharomyces cerevisiae. *Agrointek* 7(1):21–26. https://doi.org/10.21107/agrointek.v7i1.2046.

Firmansyah, I. 2009. Biokonversi lignoselulosa dari biomassa tandan kosong kelapa sawit (TKKS) menjadi etanol melalui proses sakarifikasi dan fermentasi serentak (SFS). Universitas Indonesia.

Genisheva, Z., Teixeira, J. A.,, and Oliveira, J. M. 2014. Immobilized cell systems for batch and continuous winemaking. *Food Science & Technology* 40:33–47. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.07.009.

Ginting, S. O., Bintoro, V. P.,, and Rizqiati, H. 2019. Analisis total BAL, total padatan terlarut, kadar alkohol, dan mutu hedonik pada kefir susu sapi dengan variasi konsentrasi sari buah naga merah (Hylocereus polyrhizus). *Jurnal Teknologi Pangan* 3(1):104–109. https://doi.org/10.14710/jtp.2019.23017.

Gunam, I. B. W., Dewi, I. A. P. K., Antara, N. S., Anggreni, A. A. M. D.,, and Setiyo, Y. 2021. Bioethanol production from sugarcane bagasse by Saccharomyces cerevisiae ATCC 9763 immobilized in Na-alginate. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 824(1). https://doi.org/10.1088/1755-1315/824/1/012054.

Gunam, I. B. W., Setiyo, Y., Antara, N. S., Wijaya, I. M. M., Arnata, I. W.,, and Putra, I. W. W. P. 2020. Enhanced delignification of corn straw with alkaline pretreatment at mild temperature. *Rasayan Journal of Chemistry* 13(2):1022–1029. https://doi.org/10.31788/RJC.2020.1325573.

Gunam, I. B. W., Wartini, N. M., Anggreni, A. A. M. D.,, and Suparyana, P. M. 2011. Delignifikasi Ampas Tebu dengan Larutan Natrium Hidroksida Sebelum Proses Sakaraifikasi Secara Enzimatis Menggunakan Enzim Selulase Kasar dari Aspergillus niger Fnu 6018. *Jurnal Teknologi Indonesia* 34:24–32.

Harahap, A. F. P., Rahman, A. A., Sadrina, I. N.,, and Gozan, M. 2019. Optimization of Pretreatment Conditions for Microwave-Assisted Alkaline Delignification of Empty Fruit Bunch by Response Surface Methodology. *International Journal of Technology* 10(8):1479–1487. https://doi.org/10.14716/ijtech.v10i8.3431.

Kamal, A. F., Mardawati, E., Purwanto, E. H.,, and Rosalinda, S. 2023. Optimasi microwave-assisted pretreatment dalam delignifikasi asam oksalat pada kulit kakao menggunakan response surface methodology (RSM). *Agrointek* 17(4):724–736. https://doi.org/10.21107/agrointek.v17i4.15471.

Khotimah, S., Hidayati, N.,, and Wahyuni, T. 2017. Pengaruh lama fermentasi terhadap produksi bioetanol dari nira nipah (Nypa fruticans Wurmb) dengan penambahan ragi tape. *Jurnal Penelitian Sains* 20(3):117–122. https://doi.org/10.26740/jps.v20n3.p117-122.

Kumar, R., Singh, S.,, and Singh, O. V. 2020. Bioconversion of lignocellulosic biomass: biochemical and molecular perspectives. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 47(1):1–9. https://doi.org/10.1007/s10295-019-02211-4.

Laurentina, P. 2009. Produksi bioetanol dari bagas tebu (Saccharum officinarum L.) dengan menggunakan Saccharomyces cerevisiae yang diimobilisasi dalam matriks natrium alginat. [Skripsi Sarjana. Universitas Indonesia]. https://lib.ui.ac.id/file?file=digital/20293757-S-Putri%2 [Universitas Indonesia]. https://lib.ui.ac.id/file?file=digital/20293757-S-Putri Laurentina.pdf.

Lee, J. S.,, and Kim, S. Y. 2019. Effect of sodium alginate concentration on ethanol production with immobilized yeast cells in a batch fermentation system. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 46(10):1481–1490.

Liu, Y., Xie, X., Wenhuan Liu, a H. X.,, and Cao, Y. 2020. Consolidated Bioprocess for Bioethanol Production from Lignocellulosic Biomass Using Clostridium thermocellum DSM 1237. *BioResources* 15(4):8355–8368. https://doi.org/10.15376/biores.15.4.8355-8368.

Lynd, L. R., Weimer, P. J., van Zyl, W. H.,, and Pretorius, I. S. 1999. Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 63(3):506–577. https://doi.org/10.1128/MMBR.63.3.506-577.1999.

Martini, E., Andriani, D., Gobi Krishnan, S., Kang, K. E., Bark, S.-T., Sunwoo, C., Prasetya, B.,, and Park, D. H. 2011. Immobilization of Saccharomyces cerevisiae in rice hulls for ethanol productioin. Makara of Technology Series, 14(2). https://doi.org/10.7454/mst.v14i2.693.

Mosier, N., Wyman, C., Dale, B.,, and Elander, R. 2005. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology* 96(6):673–686. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.06.025.

Mutirahma, S., Pramono, Y. B.,, and Nurwantoro. 2018. Evaluasi kadar gula, kadar air, kadar asam dan pH pda pembuatan tablet effervescent buah nangka. *Jurnal Teknologi Pangan* 3(1):36–41. https://doi.org/10.14710/jtp.2019.20519.

Nurfahmi, Mofijur, M., Ong, H. C., Jan, B. M., Kusumo, F., Sebayang, A. H., Husin, H., Silitonga, A. S., Mahlia, T. M. I.,, and Rahman, S. M. A. 2019. Production process and optimization of solid bioethanol from empty fruit bunches of palm oil using response surface methodology. *Processes* 7(10):1–16. https://doi.org/10.3390/pr7100715.

Pereira, N.,, and Silva, S. 2021. Effects of sodium alginate concentration on ethanol production using immobilized yeast cells. *Journal of Applied Microbiology* 131(3):1054–1063.

Raharjo, B. 2020. Pemanfaatan limbah tandan kosong kelapa sawit sebagai bahan pengganti alternatif papan partikel. *Indonesian Journal of Laboratory* 2(2):1–9. https://doi.org/10.22146/ijl.v2i1.54156.

Ramadhani, G. H., Syamsu, K., Kartika, I. A.,, and Kartawiria, I. S. 2024. Aplikasi sakarifikasi dan fermentasi simultan dalam produksi bioetanol dari rebung bambu. *Agrointek* 18(2):312–319. https://doi.org/10.21107/agrointek.v18i2.17294.

Ratnasari, N., Kusumawati, N.,, and Kuswardani, I. 2014. Pengaruh konsentrasi natrium alginat sebagai penjerat sel Lactobacillus acidophilus FNCC 0051 dan lama penyimpanan terhadap jumlah sel yang terlepas dan karakter carrier. *Jurnal Teknologi Pangan dan Gizi* 13(2):81–86. https://doi.org/10.33508/jtpg.v13i2.1507.

Reshmy, R., Philip, E., Unni, R.,, and Paul, S. A. 2023. Chapter 10-bioethanol - a promising alternative fuel for sustainable future. Valorization of Biomass to Bioproducts, 179–196. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822888- 3.00006-2.

Rezki, A. S., Wulandari, Y. R., Alvita, L. R.,, and Sari, N. P. 2023. Potential of empty fruit bunches (EFB) waste as bioenergy to produce bio-oil using pyrolysis method: temperature effects. *Rekayasa Bahan Alam dan Energi Berkelanjutan* 7(1):22–29. https://doi.org/10.21776/ub.rbaet.2023.007.01.04.

Rismawati, Y., Bahri, S.,, and Prismawiryanti. 2016. Produksi glukosa dari jerami padi (Oryza sativa) menggunakan jamur Trichoderma sp. *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia* 2(2):67–76.

Sharma, P.,, and Kumar, S. 2022. High Optical Density Fermentation for Enhanced Ethanol Production Using Immobilized Yeast Cells. *Biotechnology Reports* 35:1024–1032.

Shi, X., Liu, Y.,, and Dai, J. 2019. A novel integrated process of high cell-density culture combined with simultaneous saccharification and fermentation for ethanol production. *Biomass and Bioenergy* 121:115–121. https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2018.12.020.

Simangunsong, J., Tarigan, E.,, and Nurhayati, T. 2016. Optimasi produksi bioetanol dari tandan kosong kelapa sawit (TKKS) menggunakan metode hidrolisis asam dan fermentasi terpisah (SHF). *Jurnal Teknik Kimia USU* 5(3):35–41.

Subaryono. 2010. Modifikasi alginat dan pemanfaatan produknya. *Squalen Bulletin of Marine and Fisheries Postharvest and Biotechnology* 5(1):1–7.

Tse, T. J., Wiens, D. J.,, and Reaney, M. J. T. 2021. Production of Bioethanol — A Review of Factors Affecting Ethanol Yield. *Fermentation* 7(268):1–18. https://doi.org/10.3390/fermentation7040268.

Webb, C. 1989. The role of cell immobilization in fermentation technology. Aust J

Biotechnol. National library of medicine. *National Library of Medicine* 3(1):50–55.

Widyanti, E. M.,, and Moehadi, B. I. 2016. Proses pembuatan etanol dari gula menggunakan Saccharomyces cerevisiae amobil. *METANA* 12(2):31–38.

Zhao, X., Zhang, L.,, and Liu, D. 2021. Biomass recalcitrance: engineering lignocellulosic feedstock for efficient biofuel production. *Biotechnology Advances* 53:107–127. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2020.107127.