

BIOETHANOL FERMENTATION FROM MOLASSES AND CASSAVA SLURRY USING A THERMOTOLERANT MUTANT OF *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

ABSTRACT

By

Wahyu Firmansyah

14/369421/TP/11110

Over the past decade there has been an increasing interest in using bioethanol as a substitute for fossil fuels since it is a renewable bioenergy. Bioethanol can be produced from a variety of feedstocks containing fermentable sugars and their polymers. Industrial scale production of bioethanol is popularly performed using mesophilic yeast, especially *Saccharomyces cerevisiae*. This yeast grows optimally in a temperature range of 25–37°C. As heat is generated and accumulated during large scale fermentation, due to fermentation metabolic activities, it is desirable to use a thermotolerant yeast strain to withstand higher temperatures that otherwise could inhibit growth of mesophilic microorganisms. Athermotolerant yeast is one solution to help industry minimize fermentation costs associated with applying required cooling systems. This research aimed to obtain a mutant thermotolerant yeast strain that can grow at a higher temperatures than its wild type. *Saccharomyces cerevisiae*, as being the most widely used strain for ethanol fermentation, was used as the wild type strain in this experiment.

Wild type *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088, obtained from Khon Kaen University, Thailand was subjected to 3% ethyl methanesulfonate to induce mutagenesis. As a result 44 stable thermotolerant mutants were obtained. Randomly chosen mutants were then used for fermentation using molasses and cassava hydrolysate to check fermentation performance. When using molasses as substrate, mutants yielded ethanol up to 0.25 g/g at 37°C, 0.31 g/g at 40°C and 0.26 g/g at 42°C, whereas wild types have ethanol yields up to 0.24 g/g at 37°C and 0.25 g/g at 40°C. When using cassava hydrolysate as substrate mutants yielded ethanol up to 0.37 g/g at 37°C, 0.36 g/g at 40°C and 0.33 g/g at 42°C, while wild types have ethanol yields up to 0.40 g/g at 37°C and 0.35 g/g at 40°C. This indicates that the thermotolerant mutants (coded MT07) of *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 had an advantage over their wild types when fermenting ethanol at higher temperature ($\geq 40^\circ\text{C}$) using molasses and cassava hydrolysates as substrate.

Keywords : ethanol, yeast, mutant, thermotolerant, molasses, cassava

FERMENTASI ETHANOL DARI MOLASE DAN HIDROLISAT SINGKONG MENGUNAKAN THERMOTOLERANT MUTANT YEAST DARI *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* TISTR 5088

ABSTRAK

Oleh :

Wahyu Firmansyah
14/369421/TP/11110

Belakangan ini terdapat peningkatan dalam penggunaan etanol sebagai pengganti bahan bakar fosil. Etanol sendiri dapat diproduksi dari berbagai macam bahan baku yang mengandung gula and polimernya. Pada skala industri produksi etanol biasanya menggunakan mikroorganisme termofilik, contohnya adalah yeast. Mikroorganisme tersebut dapat tumbuh secara optimal pada rentang suhu 25-37°C. Akan tetapi fermentasi dalam skala besar dapat menghasilkan panas yang tinggi hasil dari aktivitas metabolisme mikroorganisme. Suhu yang tinggi ini dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Oleh karena itu, yeast thermotolerant merupakan salah satu solusi yang dapat membantu industri dalam mengurangi pengeluaran untuk menerapkan sistem pendingin. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh mutan thermotolerant yang dapat tumbuh dalam suhu yang lebih tinggi dari wild type-nya. *Saccharomyces cerevisiae* sebagai yeast yang paling banyak digunakan untuk fermentasi etanol dipilih dalam penelitian ini.

Wild type *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088, yang diperoleh dari Khon Kaen University, Thailand diperlakukan dengan 3% ethyl methanesulfonate untuk melakukan mutagenesis. Hasilnya, diperoleh 44 thermotolerant mutan yang stabil. Kemudian mutan dipilih secara acak untuk melakukan fermentasi menggunakan molase dan hidrolisat singkong untuk menguji performanya. Hasilnya, ketika menggunakan molase sebagai substrate, mutant memiliki yield etanol sampai 0.25 g/g pada suhu 37°C, 0.31 g/g pada suhu 40°C dan 0.26 g/g pada suhu 42°C. Sedangkan wild type memiliki yield etanol sampai 0.24 g/g pada suhu 37°C dan 0.25 g/g pada suhu 40°C. Sementara itu ketika menggunakan hidrolisat singkong sebagai substrate mutan memiliki yield etanol sampai 0.37 g/g pada suhu 37°C, 0.36 g/g pada suhu 40°C dan 0.33 g/g pada suhu 42°C. Sedangkan wild type memiliki yield etanol sampai 0.40 g/g pada suhu 37°C dan 0.35 g/g pada suhu 40°C. Dengan hasil tersebut, thermotolerant mutan dari *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 memiliki kelebihan dibandingkan wild type-nya ketika fermentasi etanol dilakukan pada suhu tinggi ($\geq 40^\circ\text{C}$) menggunakan molase dan hidrolisat singkong sebagai substrate.

Keywords : ethanol, yeast, mutant, thermotolerant, molasses, cassava