

Pembuatan Bioetanol dari Limbah Padat Sagu Menggunakan Enzim Selulase dan *Yeast Saccharomyces Cerevisiae* dengan Proses *Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF)* dengan Variasi Konsentrasi Substrat dan Volume Inokulum

Yolanda Amalia¹, Sri Rezeki Muria², Chairul²

¹Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Riau
Kampus Binawidya Jl. HR Subrantas Km. 12,5 Pekanbaru 28293

²Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Riau
Kampus Binawidya Jl. HR Subrantas Km. 12,5 Pekanbaru 28293
Telp./email. 081261692965; amaliayolanda49@yahoo.co.id

ABSTRACT

*Bioethanol is a renewable alternative energy source that can be used as an alternative fuel . One material that has potential as bioethanol feedstock is a solid waste sago , which is the sago industry solid waste that has not been optimally dimanfaatkan . The content of cellulose in the solid waste can be converted into bioethanol sago by using simultaneous saccharification and fermentation (SFS) process . This research aims to find out how much solid waste can be converted into bioethanol sago with variation of substrate concentration and volume of inoculum , and to determine the influence of substrate concentration and volume of inoculum at the SFS . The variation of this research are the substrate concentration 40 g , 60 g and 80 g and volume variations of inoculum 10 % and 12.5 % at the fermentation time for 96 hours at pH optimum of 5. The process of saccharification uses cellulase enzymes and *Saccharomyces cerevisiae* yeast for the fermentation process. The samples were conducted by using alcoholmeter . The results of this research showed that the highest ethanol which obtained at the SFS process using cellulase enzyme and *Saccharomyces cerevisiae* yeast reached 8 % for 72 hours fermentation time, the variation of the substrate concentration 80 g and 12.5 % inoculum volume*

*Keywords : ethanol , cellulase enzymes , fermentation , sago , *Saccharomyces cerevisiae* .*

1. Pendahuluan

Energi merupakan salah satu sumber kehidupan makhluk hidup. Konsumsi energi telah meningkat dengan cepat karena populasi penduduk dunia telah berkembang, begitu juga konsumsi energi untuk kebutuhan di bidang industri. Hingga saat ini Indonesia masih menggunakan bahan bakar fosil sebagai sumber energi utama, karena sifatnya yang tidak terbarukan, penggunaan bahan bakar fosil secara terus menerus menyebabkan munculnya masalah kelangkaan. Untuk Indonesia misalnya, pada

tahun 2002 lalu cadangan minyak bumi sekitar 5 miliar barrel, gas bumi sekitar 90 TSCF, dan batu bara sekitar 5 miliar ton. Apabila tidak ditemukan cadangan baru, minyak bumi diperkirakan akan habis dalam waktu kurang dari 10 tahun, gas bumi 30 tahun, dan batu bara akan habis sekitar 50 tahun[Nurfianadkk, 2009]. Oleh sebab itu, diperlukan suatu alternatif untuk memecahkan permasalahan kebutuhan energi. Sumber energi alternatif bisa jadi berasal dari tanaman yang dapat dikonversi menjadi bioetanol.

Bioetanol merupakan senyawa alkohol yang diperoleh melalui proses fermentasi biomassa dengan bantuan mikroorganisme. Bioetanol dapat diproduksi dari tanaman penghasil karbohidrat atau gula. Bioetanol diperoleh melalui proses fermentasi menggunakan galur khamir *Saccharomyces cerevisiae* yang mampu mengkonversi gula-gula pereduksi seperti glukosa menjadi etanol. Salah satu biomassa yang potensi untuk dimanfaatkan menjadi bioetanol adalah limbah padat sagu.

Potensi sagu di Indonesia (1.128 juta ha) mencapai lebih dari 51.3% potensi pertanian sagu dunia (2.2 juta ha) [Susanto, 2006]. Industri ekstraksi sagu diperoleh 18,5% pati dan 81,5% limbah sagu, limbah dari hasil panen pohon sagu bermacam-macam dan umumnya belum dimanfaatkan, yaitu limbah padat sagu dan air buangan. Limbah dari hasil panen pohon sagu pada umumnya belum dimanfaatkan. Apa bila dibiarkan, limbah ini dapat menimbulkan pencemaran lingkungan berupa bau dan peningkatan keasaman tanah ($\text{pH} < 4$), yang dapat menghambat pertumbuhan, bahkan menyebabkan kematian tanaman [Syakir dkk, 2009]. Limbah padat sagu merupakan biomassa lignoselulosa yang mengandung komponen penting seperti pati dan selulosa. Tabel 1 menyajikan komposisi kimiawi limbah padat sagu.

Tabel 1. Komposisi limbah padat Sagu secara Umum

Komponen	Ampas Sagu (%)
Air	78.34
Lemak	0.2
Protein	1.31
Serat Kasar	13.48
Karbohidrat	6.67

Sumber: [Haryanto, 1992]

Penelitian ini akan memanfaatkan limbah padat sagu sebagai bahan baku untuk memproduksi bioetanol. Proses produksi bioetanol dari limbah sagu meliputi dua

tahapan utama, yaitu sakarifikasi (hidrolisis) menggunakan enzim dan fermentasi dengan bantuan mikroorganisme. Fermentasi adalah proses perubahan gula menjadi alkohol dan CO_2 oleh mikroba, terutama oleh khamir *Saccharomyces cerevisiae*. Karbohidrat akan dipecah dahulu menjadi gula sederhana yaitu dengan hidrolisis selulosa menjadi unit-unit glukosa.

2. Bahan dan Metodologi

2.1 Bahan, Peralatan dan Instrumentasi

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah limbah padat sagu yang merupakan hasil samping dari pengolahan industri sagu yang diperoleh dari Selat Panjang, Kabupaten Meranti. *Yeast* yang digunakan yaitu *saccharomyces Cerevisiae*, yang didapat dari ragi kemasan. Enzim pada proses hidrolisis adalah enzim selulase, erta bahan – bahan kimia lain seperti KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$, *Buffer* Asetat pH 5, glukosa, *yeast extract* dan urea.

Alat yang digunakan adalah Reaktor 2 Liter Berpengaduk, *Shaker*, *Autoclave*, Pipet Tetes, Labu Erlenmeyer, Tabung Reaksi, Timbangan Analitik, Spatula, Rangkaian Alat Evaporasi, Gelas Piala, Kain Kassa, Spektrofotometer, Kapas, Termometer, Alkoholmeter, Aluminium foil

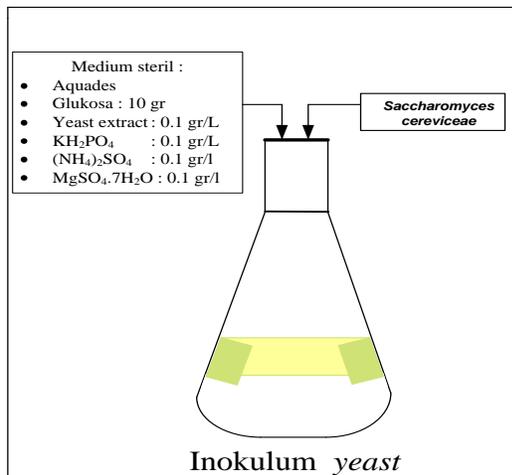
2.2 Metode Penelitian

2.2.1 Persiapan Bahan Baku

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah limbah padat sagu yang diperoleh dari Selat Panjang, Kabupaten Meranti. Sebelum digunakan, limbah padat sagu dicuci hingga bersih dan dikeringkan, setelah itu dihaluskan kemudian diayak hingga berukuran 40-60 mesh dan Aquades hingga 2L.

2.2.2 Tahap Persiapan Inokulum

Pembuatan inokulum *yeast* bertujuan untuk mengadaptasi sel *yeast* terhadap media fermentasi, dengan adanya adaptasi diharapkan fase *Lag* sebagai tahap awal fermentasi dilewati. *Saccharomyces cereviceae* dari ragi kemasan diinokulasi dalam 200 ml medium (10 gr/L glukosa, 1 gr/L *yeast extract*, 0,1 gr/L KH_2PO_4 , 0,1 gr/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dan 0,1 gr/L $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dan *aquades*) dalam 250 ml erlenmeyer. Sebelum diinokulasi, medium disterilisasi dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian didinginkan. Setelah dingin 8 gr/L *yeast* dimasukkan ke dalam medium lalu diaduk dengan menggunakan *shaker* selama 24 jam [Sukmawati, 2009]. Fungsi *shaker* adalah mempermudah difusi oksigen ke dalam medium dan campuran menjadi homogen. Tahapan proses pembuatan inokulum *yeast* dapat dilihat pada Gambar 1 berikut ini :

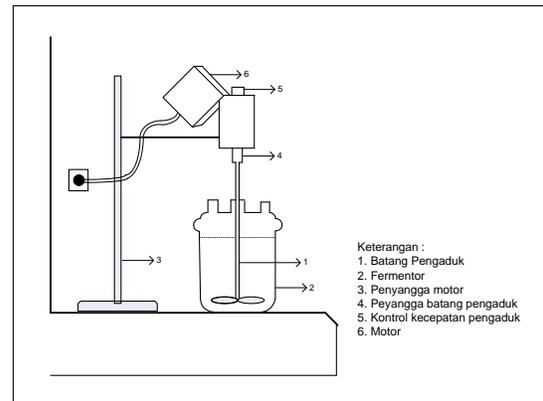


Gambar 1. Inokulum *yeast*

2.3 Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak

Proses fermentasi ini menggunakan metoda SSF dimana proses hidrolisis enzim dan fermentasi dilakukan serentak bersamaan di dalam reaktor. Enzim yang

digunakan adalah enzim selulase dan *yeast saccharomyces cereviceae*. Medium untuk Sakarifikasi dan Fermentasi sebanyak 2000 ml terdiri dari limbah padat sagu sesuai dengan variabel penelitian yang divariasikan (40 gr, 60 gr, dan 80 gr), medium nutrisi, buffer asetat pH 5, enzim selulase (0,4 gram), volume inokulum sesuai dengan variabel penelitian yang divariasikan (200 ml, 250 ml) dan aquades. Medium nutrisi terdiri dari 1,0 gr/L $(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$, 0,05 gr/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dan 2 gr/L urea[Sari, 2011]. Waktu fermentasi selama 96 jam dan dilakukan pengambilan sampel pada 24, 48, 72 dan 96 jam untuk mengamati konsentrasi gula substrat, pengaruh variasi konsentrasi substrat dan variasi inokulum terhadap bioetanol yang dihasilkan. Analisa bioetanol yang terbentuk dilakukan dengan alat alkoholometer serta untuk analisa gula sisa menggunakan spektrofotometer.



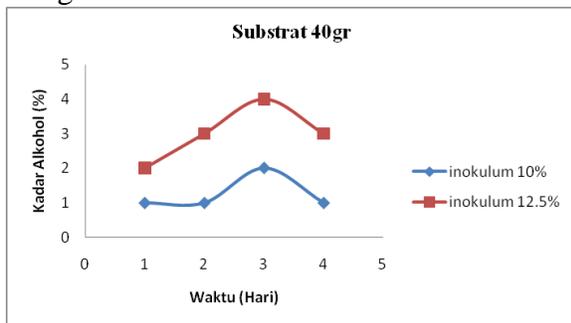
Gambar 2. Rangkaian Alat Fermentor

3. Hasil dan Pembahasan

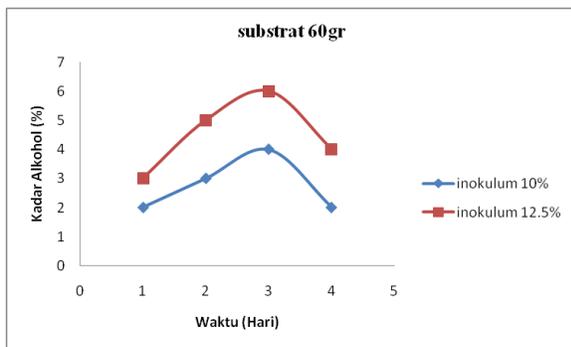
3.1 Pengaruh Konsentrasi Substrat dan Waktu Fermentasi terhadap Kadar Bioetanol.

Penelitian pendahuluan yang dilakukan adalah penggilingan limbah padat sagu untuk penyeragaman ukuran yaitu 40 – 60 mesh, pembuatan inokulum dan nutrisi, setelah itu dilakukan pembuatan bioetanol dengan metode sakarifikasi dan fermentasi secara serentak, dimana penelitian ini

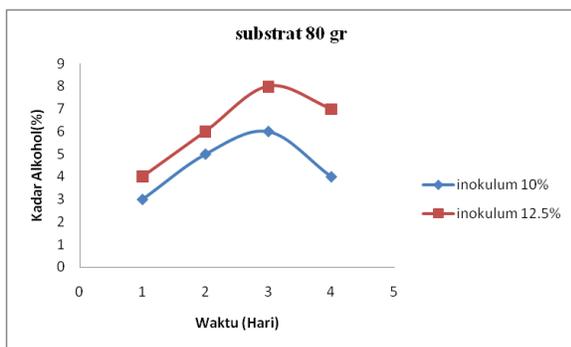
dilakukan untuk menentukan pengaruh konsentrasi substrat dan volume inokulum terhadap konsentrasi bioetanol hasil dengan variasi konsentrasi substrat 40 gr, 60 gr, dan 80 gr, serta variasi inokulum 10% dan 12.5% terhadap volume fermentor. Proses hidrolisis dibantu dengan enzim selulase dan proses fermentasi dilakukan dengan penambahan yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Konsentrasi bioetanol hasil fermentasi diukur dengan menggunakan alkoholmeter. Dari hasil penelitian diperoleh data yang tersaji pada Gambar 4 dan 5 sebagai berikut :



Gambar 3



Gambar 4



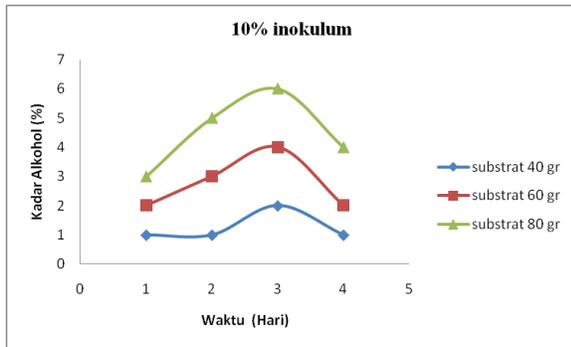
Gambar 5

Pada gambar 3, 4 dan 5 kadar bioetanol setelah didestilasi menggunakan alat *rotary evaporator* tertinggi didapat pada konsentrasi substrat 80 gr dan volume inokulum 12.5% dengan waktu fermentasi 72 jam yaitu sebesar 8% (v/v). Disini hasil kadar bioetanol dipengaruhi oleh 3 faktor utama yaitu substrat, inokulum dan waktu. Dengan adanya substrat yang lebih banyak maka glukosa yang terkonversi oleh enzim meningkat dibandingkan dengan konsentrasi substrat 40gr dan 60 gr, serta pertumbuhan mikroba akan lebih baik karena kebutuhan nutrisinya yang semakin terpenuhi, sehingga yang terkonversi menjadi bioetanol juga semakin banyak.

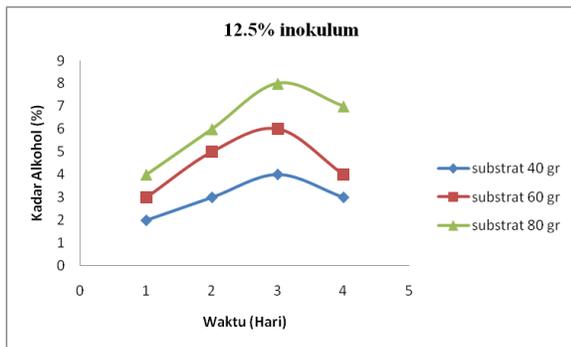
Dengan adanya penambahan substrat membuat jumlah selulosa yang akan dikonversi menjadi glukosa semakin banyak pula, sehingga kadar etanol semakin meningkat. Hal ini sesuai dengan pendapat Winarti (1996) yang menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi substrat atau gula reduksi yang dapat dipecah oleh sel khamir menjadi etanol maka semakin tinggi pula konsentrasi etanol yang dihasilkan.

3.2 Pengaruh Konsentrasi Inokulum dan Waktu Fermentasi terhadap Kadar Bioetanol.

Pada penelitian ini menggunakan bantuan yeast *saccharomyces cerevisiae*. Untuk memperoleh bioetanol. Media utama fermentasi dengan yeast *saccharomyces cerevisiae* adalah glukosa. Dimana pada penelitian ini volume inokulum divariasikan yaitu 10% dan 12.5% terhadap waktu fermentasi 24 jam, 48 jam, 72 jam dan 96 jam yang dapat dilihat pada Gambar berikut ini:



Gambar 6



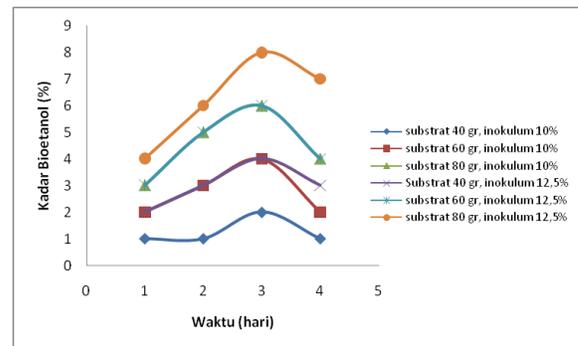
Gambar 7

Pada Gambar 6 dan 7 pengaruh volume inokulum terhadap kadar bioetanol yang diperoleh, dimana kadar bioetanol tertinggi didapat pada saat volume inokulum tertinggi yaitu 12.5%, hal tersebut sesuai dengan Suyandra [2007] yaitu semakin banyak inokulum, bioetanol yang terbentuk semakin banyak pula. Volume inokulum merupakan salah satu variabel berpengaruh dalam menghasilkan alkohol, bahwa semakin besar % volume inokulum maka akan semakin besar pula kadar alkohol yang diperoleh. Hal ini dikarenakan % volume inokulum dipengaruhi fase lag (fase adaptasi), dimana semakin besar inokulum maka semakin pendek fase lag sehingga cepat mencapai fase eksponensial yaitu yeast tumbuh dengan sempurna dan mampu beradaptasi dengan baik, sehingga glukosa dapat terkonversi dengan maksimal dan mulai terbentuk produk. Fungsi dari pembuatan inokulum adalah mengurangi fase lag, sehingga waktu fermentasi semakin

cepat dan kadar alkohol yang dihasilkan semakin besar pula [Sari, 2009].

3.3 Pengaruh Waktu Fermentasi terhadap Kadar Bioetanol yang dihasilkan.

Waktu fermentasi adalah waktu yang dibutuhkan yeast *saccharomyces cerevisiae* untuk mengubah glukosa hasil hidrolisis menjadi bioetanol. Waktu fermentasi yang divariasikan akan mempengaruhi kadar bioetanol yang dihasilkan. Pengaruh waktu fermentasi dapat dilihat pada Gambar dibawah ini.

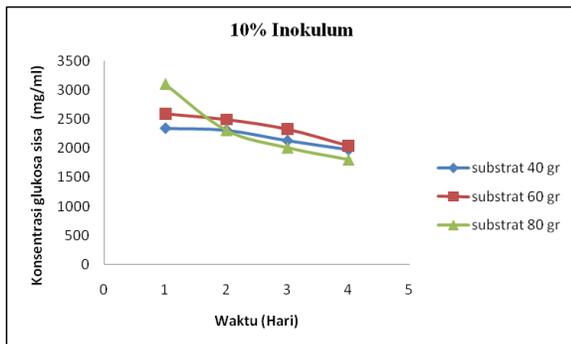


Gambar 8

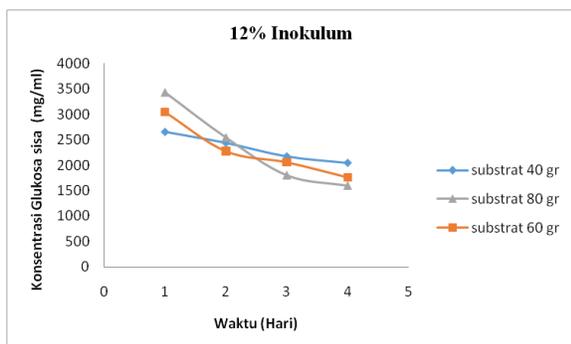
Waktu fermentasi adalah waktu yang dibutuhkan oleh *Saccharomyces cerevisiae* mengubah atau memfermentasi glukosa menjadi bioetanol. Pada proses fermentasi, waktu fermentasi mempengaruhi kadar bioetanol yang dihasilkan. Semakin lama waktu fermentasi maka semakin tinggi kadar bioetanol yang dihasilkan hingga tercapai kadar etanol optimum. Pada penelitian ini, variasi waktu yang dilakukan adalah 1 hari, 2 hari, 3 hari dan 4 hari pada berbagai variasi konsentrasi substrat dan volume inokulum. Tujuannya yaitu untuk mengetahui dan memperoleh data pengaruh waktu fermentasi terhadap kadar bioetanol yang dihasilkan. Dari gambar 4.3 kadar etanol tertinggi didapatkan pada hari ke 3 dengan konsentrasi substrat 80 gr dan volume inokulum 12.5% yaitu 8% etanol (v/v), dimana kadar etanol terus meningkat hingga hari ketiga dan mengalami penurunan pada

hari berikutnya. Menurut Sari,dkk [2008], menyatakan bahwa lama fermentasi yang paling optimal untuk proses pembuatan bioetanol dengan *yeast saccharomyces cerevisiae* adalah 3 hari. Jika fermentasi dilakukan lebih dari 3 hari, justru kadar alkoholnya dapat berkurang. Berkurangnya kadar alkohol disebabkan karena alkohol telah dikonversi menjadi senyawa lain, misalnya ester. Menurut Kunaepah [2008] semakin lama waktu fermentasi maka jumlah mikroba semakin menurun, dan akan menuju ke fase kematian karena alkohol yang dihasilkan semakin banyak dan nutrient yang ada sebagai makanan mikroba semakin menurun.

3.4 Pengaruh Konsentrasi Substrat dan Volume Inokulum Terhadap Konsentrasi Gula Sisa.



Gambar 9



Gambar 10

Dari gambar 9 dan 10 dapat dilihat semakin lama waktu fermentasi maka konsentrasi gula sisa yang dihasilkan

semakin mengalami penurunan. Ini menunjukkan bahwa terjadi aktivitas mikroorganisme selama fermentasi untuk mengkonversi glukosa menjadi bioetanol atau dengan kata lain bakteri *saccharomyces cerevisiae* termutasi telah mampu beradaptasi sehingga glukosa yang terkonversi menjadi etanol semakin banyak. Alasan lainnya kadar gula cenderung menurun disebabkan gula yang terdapat dalam media digunakan sebagai sumber karbon bagi sel khamir untuk mensintesis energi melalui proses fermentasi etanol [Usmana dkk, 2012].

Pengambilan sampel dilakukan pada waktu 24 jam, 48 jam dan 72 jam dan 96 jam. Kadar glukosa setelah proses fermentasi mengalami penurunan seiring dengan bertambahnya waktu fermentasi. Perubahan selulosa menjadi glukosa dan selanjutnya menjadi bioetanol sangat dipengaruhi oleh kinerja enzim, substrat dan *yeastsaccharomyces cerevisiae*, dimana semakin tinggi konsentrasi substrat, maka selulosa yang terkonversi menjadi glukosa semakin banyak juga dan etanol yang didapat juga akan semakin tinggi. Dari gambar 4.3 diatas dapat dilihat pada saat konsentrasi substrat 80 gr dan volume inokulum 12.5% diperoleh konsentrasi gula sisa terendah, ini disebabkan glukosa yang terkonversi saat proses hidrolisis tinggi dan dengan penggunaan jumlah mikroorganisme yang banyak, sehingga menyebabkan banyak gula yang dikonsumsi oleh mikroorganisme dan menyebabkan konsentrasi gula sisa yang diperoleh semakin rendah, menurut Rahman [1989] semakin rendahnya konsentrasi glukosa berarti etanol yang terkonversi tinggi.

4. Kesimpulan

Adapun kesimpulan yang didapat dari penelitian ini adalah :

1. Bioetanol dapat diproduksi dari bahan baku limbah padat sagu dengan proses Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak menggunakan enzim selulase serta *yeast saccharomyces cerevisiae*.
2. Waktu fermentasi terbaik untuk menghasilkan kadar bioetanol tertinggi adalah 72 jam.
3. Konsentrasi etanol tertinggi yaitu 8 % pada saat konsentrasi substrat 80 gr dan volume inokulum 12.5%.

5. Saran

1. Untuk mendapatkan kadar bioetanol yang lebih tinggi sebaiknya dilakukan proses terpisah antara hidrolisis dan fermentasinya agar diketahui waktu hidrolisis terbaik untuk mengkonversi selulosa menjadi glukosa sehingga kadar bioetanol yang didapat lebih tinggi.
2. Sebaiknya untuk penelitian berikutnya analisa kadar bioetanol dianalisa menggunakan GC untuk mendapatkan nilai yang lebih akurat.
3. Sebaiknya untuk penelitian selanjutnya digunakan enzim xilanase untuk memecah ikatan lignin di dalam limbah padat sagu sehingga membantu enzim selulase untuk mengubah selulosa yang terikat di dalam lignin menjadi glukosa.

Daftar Pustaka

- Haryanto. 1992. Sagu Manfaat dan Kegunaannya. BPPT. 182h
- Kunaepah, U. 2008. Pngaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Glukosa Terhadap Aktifitas Antibakteri, Polifenol Total dan Mutu Kimia Kefir Susu Kacang Merah. Tesis. Universitas Diponegoro, Semarang.
- Nurfiana, Fifi. 2009. Pembuatan Bioethanol dari Biji Durian sebagai Sumber Energi Alternatif. Teknokimia Nuklir, Sekolah Tinggi Teknologi Nuklir Badan Tenaga Nuklir Nasional (STTN-BATAN).Yogyakarta.
- Rahman, A. 1989. Pengantar Teknologi Fermentasi. Bogor: PAU Institut Pertanian Bogor.
- Sari, I.M., Noverita & Yulneriwarni. 2008. Pemanfaatan Jerami Padi dan Alang-Alang dalam Fermentasi Etanol Menggunakan Kapang *Trichoderma Viride* dan Khamir *Saccaromyces cerevisia*. *Vis Vitalis*. 5(2): 55-62.
- Sari, Nurlaila. 2009. Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak untuk Produksi Bioetanol dari Reject Pulp dengan Menggunakan Enzim Selulase dan *Yeast Saccharomyces cereviceae*. Laporan Penelitian, Fakultas Teknik Universitas Riau Pekanbaru.
- Sari, Putri. 2011. Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak untuk Produksi Bioetanol dari Limbah Industri Pulp dan Paper. Laporan Penelitian. Fakultas Teknik Universitas Riau Pekanbaru.
- Sukmawati, Reza Fahmi. 2009. Pembuatan Bioetanol dari Kulit Singkong. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Susanto AN. 2006. Potensi dan Perhitungan Luas Lahan Sagu Untuk Perencanaan Ketahanan Pangan Spesifik Lokasi di Provinsi Maluku. Di dalam: Prosiding Lokakarya Sagu dalam Revitalisasi Pertanian Maluku; Ambon 29-31 Mei 2006. Ambon: Fakultas Pertanian Universitas Pattimura. hlm 173-184
- Suyandra D. I. 2007. Pemanfaatan Hidrolisat Pati Sagu (*Metroxylon*, sp) sebagai

Sumber Karbon pada Fermentasi Etanol oleh *Saccharomyces cerevisiae*, Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian, IPB.

Syakir M, Bintoro MH, & Agusta H. 2009. *Pengaruh Ampas Sagu dan Kompos Terhadap Produktivitas Ladaperdu. J Litri*4:168-173.

Winarti, S.. 1996. Pengaruh Lama Fermentasi dan Kadar Substrat Terhadap Produksi Etanol Pada Fermentasi Onggok oleh *Saccharomyces cerevisiae*, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya, Malang.