

Pembuatan Bioetanol dari Limbah Padat Sagu menggunakan Enzim Selulase dan *Yeast Saccharomyces Cerevisiae* dengan Proses *Simultaneous Sacharificatian and Fermentation (SSF)*

Lidya Nuryanti¹, Sri Rezeki Muria², Chairul²

¹Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Riau
Kampus Binawidya Km 12,5 Simpang Baru Panam, Pekanbaru 28293

²Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Riau
Kampus Binawidya Km 12,5 Simpang Baru Panam, Pekanbaru 28293
lidya.nuryanti@gmail.com

ABSTRACT

Bioethanol is one of alternative energy that more friendly to environment because has an ability to reduce carbon dioxide emissions. Biothehanol produced from fermentation process of glucose that comes from carbohydrate materials with the help of microorganism. The purposes of this research are to get the best operation condition that influenced by particle size and source of the nutrients to produce high level of bioethanol and find the best time to do fermentation process. There are four step in this research, they are : preparation of material, equipment and nutrients sterilization, the making of inoculums and finally is scarification simultaneous fermentation process (SSF). Variations of particle size are 20-40 mesh and 60-80 mesh. Variations of nutrients source are come from urea and yeast extract. Fermentation process is done at pH 5 and room temperature. The highest level of bioethanol produced by material with particle size 60-80 mesh and nutrients from urea. The best time for fermentation process is during 72 hours.

Key Words: Bioetanol, Cellulase enzym, Fermentation, solid waste of sago, Saccharomyces cerevisiae.

1. Pendahuluan

Perkembangan kebutuhan energi dunia yang meningkat seiring terbatasnya cadangan energi fosil yang berasal dari minyak bumi dan gas alam, serta kepedulian terhadap kelestarian lingkungan menyebabkan perlu upaya pengembangan energi alternatif. Hampir seluruh komoditas budidaya di sektor pertanian dapat menghasilkan biomassa, sebagai sumber bahan yang dapat diubah menjadi energi terbarukan. Biomassa adalah semua bahan-bahan organik berumur relatif muda dan berasal dari tumbuhan dan hewan, produk dan limbah industri budidaya (pertanian, perkebunan, kehutanan, peternakan dan perikanan) yang dapat diproses menjadi bioenergi. Salah satu bentuk bioenergi yang dihasilkan bahan bakar nabati [Reksowardojo dan Soeriawidjaja, 2006].

Kebutuhan bahan bakar minyak sebagai sumber energi yang tidak dapat diperbarui akan

semakin meningkat, Kebutuhan bahan bakar minyak Indonesia diprediksi akan mengalami peningkatan hingga tahun 2025 yaitu mencapai 830 juta barrel, sementara produksi minyak bumi yang diperkirakan hanya 130 juta barrel pada tahun 2025 [Permana dkk,2011].

Salah satu energi alternatif yang mulai dikembangkan baik di Indonesia maupun di berbagai negara di dunia adalah *biofuel*. Bioetanol merupakan salah satu jenis *biofuel* ramah lingkungan dan berasal dari biomassa yang dikembangkan dengan teknologi bioproses. Salah satu biomassa limbah agroindustri yang berpotensi sebagai sumber bahan baku pembuatan bioetanol adalah limbah padat sagu.

Limbah padat sagu merupakan gabungan dari ampas sagu dan batang sagu. Ampas sagu berupa serat empulur merupakan sisa dari pemerasan pati sagu memiliki selulosa yang apabila diberikan enzim selulase dapat

dijadikan gula yang selanjutnya dapat dimanfaatkan dalam pembuatan etanol. Populasi tanaman sagu di Indonesia diperkirakan terbesar di dunia, sekitar 1,2 juta ha dan 90% diantaranya tumbuh di provinsi Papua dan Maluku. Luas tersebut merupakan setengah (51,2%) dari populasi sagu di dunia, sehingga dapat dimanfaatkan untuk ketahanan pangan dan energi di masa akan datang [Dep. ESDM 2008].

Provinsi Riau khususnya di Kepulauan Meranti merupakan salah satu daerah penghasil sagu. Di daerah ini terdapat pabrik pengolahan sagu yang menghasilkan produk samping berupa limbah padat sagu. Limbah padat sagu belum dimanfaatkan dengan baik oleh masyarakat setempat, limbah hanya ditumpuk dan dikumpulkan di dalam pit-pit pembuangan limbah, sedangkan sebagian lagi dibakar. Limbah juga dimanfaatkan sebagai bahan pakan ternak. Dengan jumlah limbah padat sagu yang cukup banyak tersebut, berpotensi untuk diolah menjadi bioetanol. Pengolahan limbah padat sagu menjadi bioetanol akan memberikan manfaat kepada masyarakat, karena Kepulauan Meranti termasuk daerah yang masih kekurangan energi. Sehingga diharapkan bioetanol hasil pengolahan dari limbah padat sagu dapat membantu memenuhi kebutuhan energi di Kepulauan Meranti.

Penelitian ini akan memanfaatkan limbah padat sagu sebagai bahan baku untuk memproduksi bioetanol. Proses produksi bioetanol dari limbah padat sagu meliputi dua tahapan utama yaitu sakarifikasi (hidrolisis) menggunakan enzim dan fermentasi dengan bantuan mikroorganisme. Proses hidrolisis dan fermentasi untuk memproduksi bioetanol biasanya dilakukan secara terpisah, atau *Separate Hydrolysis and Fermentation* (SHF). Namun proses tersebut masih kurang efektif karena dilakukan dalam dua buah reaktor dan tidak dilakukan secara berkelanjutan atau simultan tanpa melalui tenggang waktu yang lama. Penelitian ini akan memanfaatkan satu reaktor untuk memproduksi bioetanol dengan proses *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF) sehingga bisa mengurangi biaya produksi bioetanol [Latifah, 2008].

Tujuan Penelitian ini adalah mendapatkan kondisi operasi produksi bioetanol pada kadar tertinggi (%) dengan variasi ukuran partikel limbah padat sagu dan sumber nutrisi.

2. Metodologi

Penelitian ini melalui beberapa tahapan.

a. Persiapan Bahan Baku Limbah Padat Sagu
Limbah padat sagu yang digunakan diperoleh dari hasil samping industri sagu di Selat Panjang, Kepulauan Meranti. Sebelum digunakan, limbah padat sagu dicuci, kemudian dikeringkan dan dihaluskan sesuai dengan ukuran 20-40 mesh, 40-60 mesh dan 60-80 mesh.

b. Tahap Sterilisasi

Alat-alat yang digunakan pada proses pembuatan dan penyiapan inokulum (starter) serta proses SSF harus disterilisasi terlebih dahulu. Sterilisasi dilakukan pada temperatur 121°C selama 15 menit dengan menggunakan *autoclave*.

c. Tahap persiapan Inokulum *Yeast*

Pembuatan inokulum *yeast* bertujuan untuk mengadaptasikan sel *yeast* terhadap media fermentasi. Dengan adanya adaptasi diharapkan fase lambat 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 erlenmeyer 500 ml [Gozan, 2007]. Sebelum diinokulasi, medium disterilisasi uap 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. Fungsi *shaker* adalah mempermudah difusi oksigen ke dalam medium dan campuran menjadi homogen. Untuk membuktikan *yeast* berkembang biak, dilakukan pengecekan inokulum menggunakan spektrofotometer.

d. Proses Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak (SFS)

Proses SSF ini menggabungkan antara hidrolisis enzim dan fermentasi yang dilakukan serentak di dalam reaktor. Enzim yang digunakan adalah Enzim Selulase dan *Yeast*

Saccharomyces cerevisiae. Medium untuk SSF sebanyak 2000 ml terdiri dari limbah padat sagu (40 gram), enzim selulase (0,4 gram), Inokulum yeast (200 ml) dan aquades. Untuk menjaga pH ditambahkan 3-5 tetes *buffer* asetat pH 5. Nutrisi terdiri dari 1,0 gr/L $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, 0,05 gr/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dan 2 gr/L *yeast extract* atau urea.

e. Analisa Hasil

Pada penelitian ini parameter yang dianalisa yaitu konsentrasi bioetanol dan konsentrasi gula substrat. Pemisahan bioetanol menggunakan alat *Rotary evaporator*. Konsentrasi bioetanol diukur menggunakan alkoholmeter. Konsentrasi gula substrat berupa kadar gula awal dan kadar gula akhir dianalisa dengan metode *Nelson-Samogyi* [Sudarmadji, 1997].

3. Hasil dan Pembahasan

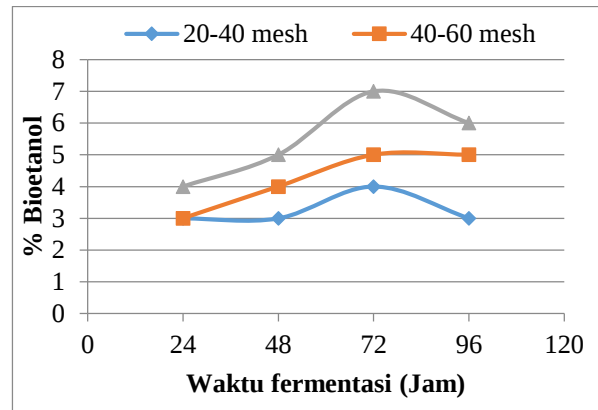
3.1 Analisa Inokulum Yeast

Untuk memastikan inokulum yang digunakan pada proses fermentasi terdapat populasi mikroorganisme (*Saccharomyces cerevisiae*) perlu dilakukan analisa inokulum dengan cara melihat nilai OD (*Optical Density*). Penentuan OD dilakukan dengan cara analisa spektrofotometri. Prinsip spektrofotometri adalah analisa turbidimetri yaitu menganalisa konsentrasi suatu zat berdasarkan kekeruhannya dibandingkan sampel blanko yang tidak mengandung konsentrasi yang dianalisa.

Pada penentuan OD inokulum kekeruhan disebabkan oleh suspensi sel *yeast*. Analisa dilakukan dengan cara mengambil data absorbansi. Panjang gelombang yang digunakan untuk menganalisa konsentrasi sel adalah 600 nm. Setelah dilakukan pengujian, diperoleh nilai OD untuk inokulum *Saccharomyces cerevisiae* 0,687. Nilai ini memenuhi syarat nilai OD untuk proses fermentasi yang berkisar antara 0,6-0,8 (Rouhollah, 2007).

3.2 Pengaruh Ukuran Partikel Limbah Padat Sagu terhadap Bioetanol yang dihasilkan

Pada penelitian ini dilakukan variasi ukuran partikel 20-40 mesh, 40-60 mesh dan 60-80 mesh. Berikut bioetanol yang dihasilkan dapat dilihat pada Gambar 3.1

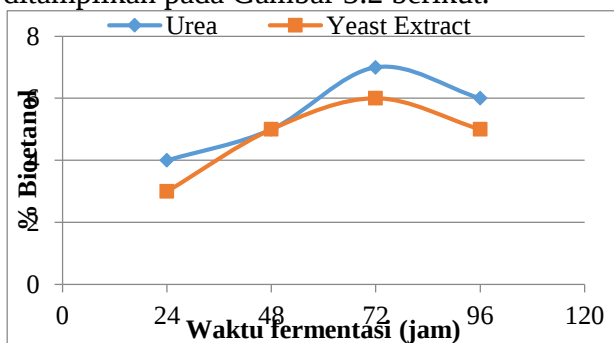


Gambar 3.1 Hasil Konsentrasi Bioetanol pada proses SFS dengan variasi ukuran partikel

Dari Gambar 3.1 dapat dilihat dengan menggunakan ukuran partikel limbah padat sagu 60-80 mesh menghasilkan bioetanol dengan konsentrasi tertinggi yaitu 7% (v/v) pada waktu fermentasi 72 jam. Pada penggunaan ukuran partikel limbah padat sagu 20-40 mesh dan 40-60 mesh menghasilkan bioetanol tertinggi 4% (v/v) dan 5%(v/v) dengan waktu fermentasi selama 72 jam. Dari ketiga variasi ukuran partikel limbah padat sagu terjadi penurunan konsentrasi bioetanol pada waktu fermentasi 96 jam. Produksi bioetanol dipengaruhi oleh variasi ukuran partikel, dimana semakin kecil ukuran partikel limbah padat sagu akan memperbesar luas permukaan partikel. Hal ini akan mempermudah terjadinya tumbukan antar partikel yang mengubah selulosa menjadi monomer glukosa. Semakin banyak selulosa yang diubah menjadi monomer glukosa maka akan semakin besar konsentrasi bioetanol yang dihasilkan.

3.3 Pengaruh Sumber Nitrogen terhadap Bioetanol yang dihasilkan

Nitrogen merupakan sumber nutrisi yang sangat penting. Nitrogen berfungsi sebagai penyedia asam nukleat dan asam amino tunggal serta vitamin yang dibutuhkan *yeast* untuk hidup. Sumber nitrogen yang digunakan dalam penelitian ini adalah Urea dan *Yeast Extract*. Konsentrasi bioetanol yang dihasilkan dengan variasi sumber nitrogen pada nutrisi ditampilkan pada Gambar 3.2 berikut.



Gambar 3.2 Hasil Konsentrasi Bioetanol pada proses SFS dengan variasi sumber nitrogen

Dari Gambar 3.2 dapat dilihat dengan menggunakan urea sebagai sumber nitrogen diperoleh konsentrasi bioetanol tertinggi 7%. Urea memiliki unsur nitrogen lebih tinggi dibandingkan *yeast extract* yang mengakibatkan *yeast* menyerap nitrogen dari urea lebih baik sehingga konsentrasi bioetanol yang dihasilkan juga lebih tinggi. Berikut ditampilkan komposisi *yeast extract* yang digunakan dalam penelitian ini pada Tabel 3.1:

Tabel 3.1 Komposisi *yeast extract*

Grade	For microbiology
Total Nitrogen	~11%
Amino Nitrogen	~5%
Ign Residu	≤ 15%
pH	7,0 ± 0,2 (2% in H ₂ O)
Solubility	H ₂ O : soluble 2%, clear, yellow

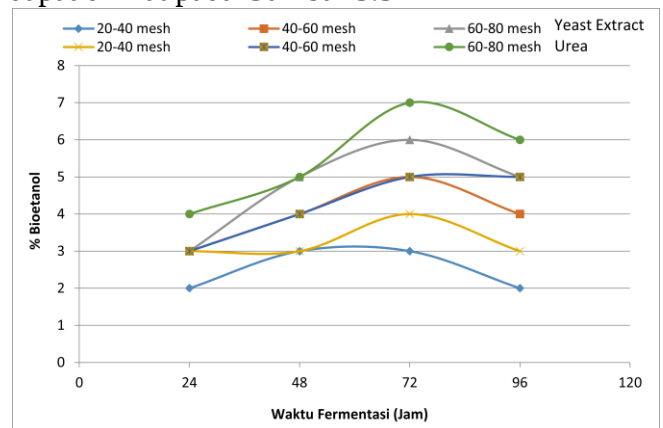
Sumber : [Sigma-Aldrich, 2013]

Sedangkan urea merupakan pupuk buatan hasil persenyawaan NH₄ (ammonia) dengan CO₂. Kandungan N total dalam pupuk urea adalah 46 %. Artinya setiap 100 kg Urea, di dalamnya terkandung 46 kg unsur hara nitrogen. Mikroorganisme yang membutuhkan nutrisi nitrogen untuk pembentukan asam

nukleat dan asam amino mendapatkan nitrogen yang lebih banyak dari sumber urea dibandingkan dari *yeast extract*. Nitrogen yang cukup terpenuhi untuk pertumbuhan *yeast* mengakibatkan *yeast* berkembang dengan baik dan *yeast* bekerja dengan baik dalam mengubah monomer glukosa menjadi bioetanol.

3.4 Pengaruh Waktu Fermentasi terhadap Bioetanol yang dihasilkan

Bioetanol yang dihasilkan dari proses SFS membutuhkan waktu fermentasi yang bervariasi. Waktu fermentasi adalah waktu yang dibutuhkan mikroorganisme (*Saccharomyces cerevisiae*) untuk mengubah monomer glukosa menjadi bioetanol. Selama proses fermentasi, waktu fermentasi memiliki peranan yang penting. Waktu fermentasi akan mempengaruhi konsentrasi bioetanol yang dihasilkan. Pengaruh waktu fermentasi terhadap konsentrasi bioetanol yang dihasilkan dapat dilihat pada Gambar 3.3



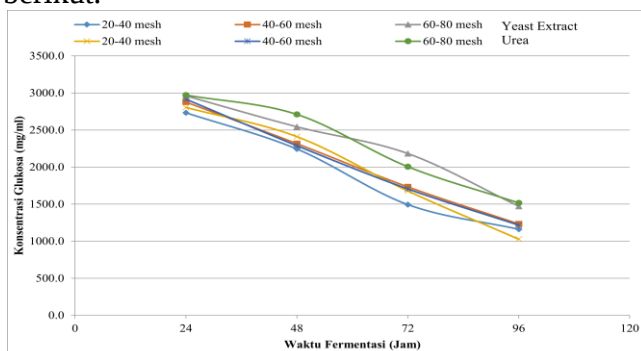
Gambar 3.3 Pengaruh Waktu fermentasi terhadap Konsentrasi Bioetanol

Dari Gambar 3.3 dapat dilihat bahwa semakin lama waktu fermentasi maka semakin tinggi konsentrasi bioetanol yang dihasilkan. Jika bioetanol yang terkandung di dalam substrat tinggi, maka bioetanol bisa bersifat racun untuk *saccharomyces cerevisiae*. Oleh karena itu dibutuhkan lama waktu fermentasi yang tepat untuk proses fermentasi bioetanol agar didapatkan konsentrasi bioetanol yang tinggi [Azizah, 2012].

Pada penelitian ini, variasi waktu fermentasi yang dilakukan adalah 24 jam, 48 jam, 72 jam dan 96 jam. Tujuannya adalah untuk mengetahui dan memperoleh data pengaruh waktu fermentasi terhadap kadar bioetanol yang dihasilkan serta waktu fermentasi optimum limbah padat sagu menggunakan proses SFS dengan bantuan enzim selulase dan *Saccharomyces cerevisiae*. Pada penelitian ini, waktu fermentasi optimum untuk proses SFS yang dibantu oleh mikroorganisme *saccharomyces cerevisiae* adalah 72 jam. Pada waktu fermentasi 96 jam, konsentrasi bioetanol mengalami penurunan.

3.5 Pengaruh Konsentrasi Gula Sisa terhadap Waktu Fermentasi

Proses SFS dengan bantuan Enzim Selulase untuk mengubah selulosa menjadi monomer glukosa dan *Yeast Saccharomyces cerevisiae* untuk mengubah monomer glukosa menjadi bioetanol akan berpengaruh terhadap konsentrasi gula sisa. Proses SFS yang berlangsung di dalam satu fermentor, dimana selulosa yang sudah diubah menjadi monomer glukosa akan langsung diubah menjadi bioetanol secara serentak. Hal ini menyebabkan glukosa awal dari proses hidrolisis selulosa menjadi monomer glukosa tidak dapat dideteksi karena proses terjadi secara serentak sedangkan konsentrasi gula sisa dapat dilihat dengan mengukur absorbansi sampel pada masing-masing waktu fermentasi. Hubungan antara konsentrasi gula sisa terhadap waktu fermentasi ditampilkan pada Gambar 3.4 berikut.



Gambar 3.4 Pengaruh Konsentrasi Gula Sisa terhadap Waktu Fermentasi

Dari Gambar 3.4 dapat dilihat bahwa konsentrasi gula sisa mengalami penurunan seiring dengan lamanya waktu fermentasi. Hal ini menunjukkan bahwa selulosa yang sudah

diubah menjadi monomer glukosa sudah diubah oleh *Saccharomyces cerevisiae* menjadi bioetanol. Aktifitas mikroorganisme tersebut membuktikan bahwa enzim selulase yang berperan mengubah selulosa menjadi glukosa telah bekerja dengan baik, begitu juga dengan mikroorganisme *Saccharomyces cerevisiae* yang berperan mengubah glukosa menjadi bioetanol bekerja dengan baik.

Hal ini juga menunjukkan bahwa aktifitas pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* berjalan dengan baik, mulai dari fase adaptasi dimana bioetanol mulai terbentuk dimana mikroorganisme mulai mengkonsumsi glukosa, selanjutnya fase eksponensial dimana bioetanol yang dihasilkan meningkat seiring dengan penurunan konsentrasi gula sisa, kemudian menuju ke fase kematian dimana bioetanol yang dihasilkan mengalami penurunan seiring dengan menurunnya konsentrasi gula dan waktu fermentasi yang semakin lama.

4. Kesimpulan

1. Proses Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak (SFS) dengan bantuan enzim selulase dan *yeast Saccharomyces cerevisiae* menghasilkan konsentrasi bioetanol lebih tinggi dibandingkan dengan menggunakan proses hidrolisis asam dan bakteri *Zymomonas mobilis*.
2. Konsentrasi Bioetanol tertinggi dihasilkan melalui proses SFS dengan bantuan enzim selulase dan *Yeast Saccharomyces cerevisiae* mencapai 7% pada kondisi ukuran partikel 60-80 mesh dan sumber nitrogen untuk nutrisi dari urea.
3. Waktu proses SFS untuk konsentrasi bioetanol tertinggi yaitu pada 72 jam.

5. Saran

1. Sebaiknya teknik pengambilan sampel dilakukan tanpa membuka bagian dari fermentor sehingga oksigen tidak masuk ke dalam fermentor dan proses SFS dapat terjaga.
2. 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.

6. Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Ibu Sri Rezeki Muria, ST., MT., MSc dan Bapak Chairul, ST., MT yang telah membimbing dan memberikan ilmu-ilmu yang bermanfaat kepada penulis dalam menyelesaikan penelitian ini.

7. Daftar Pustaka

- Departmen Energi dan Sumber Daya Mineral. (2008). *Kemajuan Pemanfaatan Bahan Bakar Nabati* (BBN). Jakarta: Dep. ESDM.
- Gozan, 2007. Produksi Bioetanol dari Reject Pulp dengan Sakarifikasi dan Ko-Fermentasi Serentak menggunakan enzim Karbohidrase dan Kombinasi *Saccharomyces cerevisiae*-*Pichia stipitis*. Skripsi Sarjana, Fakultas Teknik, Universitas Riau, Pekanbaru.
- Latifah, S. 2008. Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak Untuk Produksi Bioetanol dari Hasil Samping Industri Gula. Skripsi S1. Fakultas Teknik, Universitas Riau, Pekanbaru.
- Permana, A.D (Ed.), Sugiyono, A (E.d)., Boedoyo, M.S (E.d), & Oktaufik. M.A.M. (E.d). (2011). Minyak Bumi dan BBM. *Outlook Energi Indonesia Teknologi Energi untuk Mendukung Keamanan Pasokan Energi*, 4-4
- Reksowardojo dan Soeriawidjaja. (2006). Konversi Biomassa menjadi Bahan Bakar Alternatif. Semarang: Institut Teknologi Semarang.
- Rouhollah, H., dkk, 2007, Mixed sugar fermentation by *Pichia stipitis*, *Sacharomyces cerevisiae*, and an isolated xylosefermenting *Kluyveromyces marxianus* and their cocultures. Academic Jurnal : 1112-1113.
- Sudarmadji, S., B. Haryono, dan Suhardi. (1997). *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*, Yogyakarta: UNY-Press.