

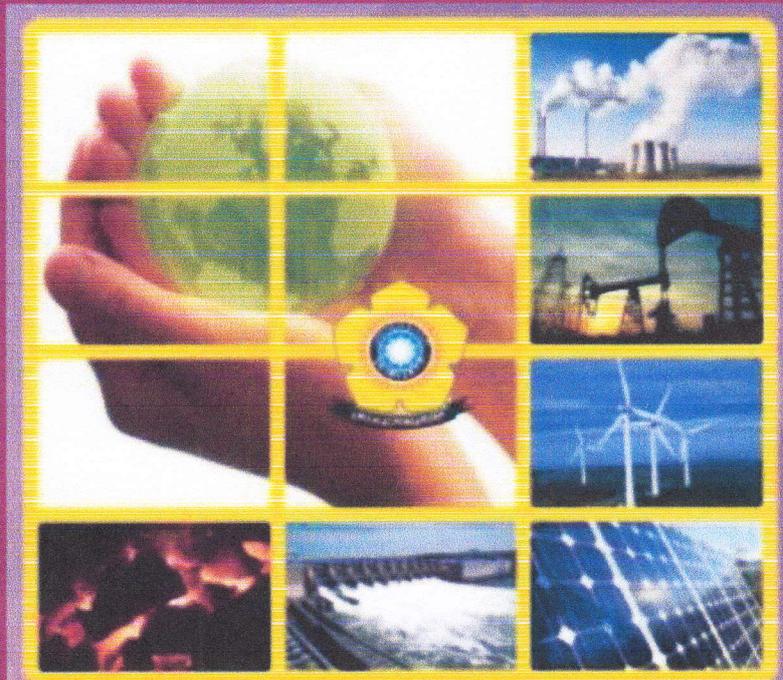
PROSIDING



**SEMINAR NASIONAL
AVoER ke-3 Tahun 2011**



**Universitas Sriwijaya
Fakultas Teknik**



Gedung Serba Guna Program Pasca Sarjana

**Jl. Sriwijaya Negara Kampus UNSRI Bukit Pesar Palembang
Rabu-Kamis/26 - 27 Oktober 2011**

Supported by :



PERTAMINA



PT PLN (PERSERO)



FT UNSRI



PUGERI



Bukit Asam



MEDCOENERGI



BNI



TIRTA MURNI

KM-2

HIDROLISIS ENZIMATIK DAN FERMENTASI TKKS YANG DIDELIGNIFIKASI DENGAN ASAM SULFAT DAN NaOH UNTUK MEMPRODUKSI ETANOL

Novia¹, Muhammad Faizal¹, Meilinda Fitriani Ariko², Daru Hw
Yogamina²

¹Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik Universitas Sriwijaya, Jl. Raya Inderalaya
Km.32, Inderalaya

²Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik Universitas Sriwijaya, Jl. Sriwijaya Negara,
Kampus UNSRI Bukit Besar, Palembang

*Korespondensi: Phone: +62 711 580303 / 081368632611, Fax: +62 711 580303
Email: noviasumardi@yahoo.com

ABSTRAK

Tandan kosong kelapa sawit (TKKS) adalah limbah yang dihasilkan oleh pabrik *Crude Palm Oil* (CPO) yang belum banyak dimanfaatkan menjadi produk yang mempunyai nilai tambah. Sementara TKKS memiliki kandungan lignoselulosa yang cukup tinggi. Selulosa yang ada dalam TKKS berpotensi untuk digunakan sebagai sumber energi terbarukan berupa bioetanol. Namun kandungan lignin yang ada dalam TKKS perlu dihilangkan/dirusak strukturnya. Pada penelitian ini, metode yang digunakan untuk mendegradasi lignin adalah pretreatment menggunakan H₂SO₄ encer (1%) dan NaOH (4%). Selanjutnya TKKS yang telah diberi perlakuan H₂SO₄ encer (1%) dan NaOH (4%), dihidrolisis secara enzimatik menggunakan enzim selulase dan difermentasi dengan yeast *saccharomyces cerevisiae*. Setelah itu, larutan bioetanol hasil fermentasi dipisahkan dari residu, kemudian etanol dimurnikan menggunakan distilasi. Penelitian dilakukan pada berbagai volume enzim dan waktu fermentasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar etanol yang dihasilkan semakin tinggi sampai waktu fermentasi tertentu (waktu optimum) dan setelah waktu optimum terlewati kadar etanol yang dihasilkan menurun. Kadar etanol tertinggi yang dihasilkan sebesar 13,8900 %, pada hari fermentasi ke-5 menggunakan enzim sebanyak 9 ml.

Keywords: Etanol, Fermentasi, Hidrolisis Enzimatik, TKKS

1. PENDAHULUAN

Indonesia memiliki beragam kekayaan alam terbarukan yang sangat berpotensi sebagai penghasil bioenergi. Namun dalam pengembangannya, bahan bakar nabati yang dihasilkan menggunakan bahan baku yang juga dimanfaatkan sebagai bahan pangan. Bahan bakar nabati seperti bioetanol, masih dibuat dari bahan berpati dan bergula yang merupakan bahan pangan. Hal ini akan berdampak buruk bagi penyediaan pangan. Karena jika bahan bakar nabati (BBN) terus menerus dibuat dari bahan pangan, maka akan terjadi persaingan antara penyediaan pangan dan energi.

Untuk menghindari persaingan tersebut, telah dikembangkan teknologi bahan bakar nabati generasi kedua. Teknologi bahan bakar nabati generasi kedua merupakan

teknologi yang mampu memproduksi bahan bakar nabati, seperti biodiesel atau bioetanol dari bahan lignoselulosa. Pada saat membudidayakan tanaman, bahan yang diproduksi terbesar oleh tanaman adalah lignoselulosa. Ketika hasil-hasil pertanian dan perkebunan dipanen, bahan lignoselulosa akan tertinggal sebagai limbah pertanian yang biasanya kurang termanfaatkan secara optimal. Padahal lignoselulosa dapat digunakan sebagai bahan baku untuk memproduksi bahan bakar nabati seperti bioetanol.

Pada penelitian ini digunakan biomassa lignoselulosa tandan kosong kelapa sawit (TKKS). Bahan baku ini tidak berkompetensi dengan pangan maupun pakan, tersedia melimpah, murah dan terbarukan. Tandan kosong kelapa sawit merupakan limbah dengan kandungan lignoselulosa yang cukup tinggi, sehingga limbah ini berpotensi untuk digunakan sebagai sumber energi terbarukan berupa bioetanol generasi kedua. Lignoselulosa mengandung tiga komponen penyusun utama, yaitu selulosa (30-50 %-berat), hemiselulosa (15-35 %-berat) dan lignin (13-30 %-berat). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kondisi optimum proses hidrolisis enzimatis dan fermentasi dengan mempelajari pengaruh penambahan jumlah enzim terhadap etanol yang dihasilkan serta pengaruh waktu fermentasi terhadap kadar etanol.

2. TINJAUAN PUSTAKA

Bioetanol merupakan salah satu *biofuel* yang hadir sebagai bahan bakar alternatif yang lebih ramah lingkungan dan sifatnya yang terbarukan. Bioetanol adalah etanol yang diproduksi dengan cara fermentasi menggunakan bahan baku hayati. Etanol atau *Etil Alcohol* (lebih dikenal dengan alkohol, dengan rumus kimia C_2H_5OH) merupakan cairan tak berwarna dengan karakteristik antara lain mudah menguap, mudah terbakar, larut dalam air, tidak karsinogenik dan jika terjadi pencemaran tidak memberikan dampak lingkungan yang signifikan.

Bioetanol bersifat multi-guna karena dicampur dengan bensin pada komposisi berapapun memberikan dampak yang positif. Pencampuran bioetanol absolut sebanyak 10% dengan bensin (90%) disebut juga Gasohol E-10. Gasohol singkatan dari gasoline (bensin) plus alkohol (bioetanol). Etanol absolut memiliki angka oktan (ON) 117, sedangkan Premium hanya 87-88. Gasohol E-10 secara proporsional memiliki ON 92 atau setara Pertamina. Pada komposisi ini bioetanol dikenal sebagai *octan enhancer* (aditif) yang paling ramah lingkungan dan negara-negara maju telah mengganti penggunaan *Tetra Ethyl Lead* (TEL) maupun *Methyl Tertiary Butyl Ether* (MTBE).

Indonesia memiliki bahan baku untuk memproduksi bioetanol yang sangat berlimpah. Tanaman yang berpotensi sebagai penghasil bioetanol diantaranya:

1. Bahan yang mengandung glukosa
Bahan ini ada pada tetes tebu / molasse, nira aren, nira kelapa, nira tebu, sari buah-buahan dan lain-lain.
2. Bahan yang mengandung pati / karbohidrat
Bahan ini terdapat pada umbi-umbian seperti sagu, singkong, ketela, gapek, ubi jalar, talas, ganyong, jagung dan lain-lain.
3. Bahan yang mengandung selulosa

Selulosa terdapat dalam serat seperti serat kayu, serat tandan kosong kelapa sawit. Tandan kosong kelapa sawit memiliki kandungan lignoselulosa yang cukup tinggi yang dapat didegradasi menjadi bentuk yang lebih sederhana yaitu glukosa sebagai sumber pembentukan bioetanol. Setiap pengolahan 1 ton TBS (Tandan Buah Segar)

akan dihasilkan TKKS sebanyak 22 – 23% TKKS atau sebanyak 220 – 230 kg TKKS. Jumlah limbah TKKS seluruh Indonesia pada tahun 2004 diperkirakan mencapai 18.2 juta ton (Prawita, 2008). Namun limbah ini belum dimanfaatkan secara baik oleh sebagian besar pabrik kelapa sawit di Indonesia. serat pisang, serat nanas, ampas tebu dan lain-lain). Dalam waktu yang relatif panjang keberadaan limbah tandan kosong kelapa sawit mendatangkan masalah pencemaran. Pemanfaatan limbah tersebut diharapkan akan mengurangi masalah serta mendatangkan keuntungan dengan menjadi tingginya nilai tambah dari limbah tersebut.



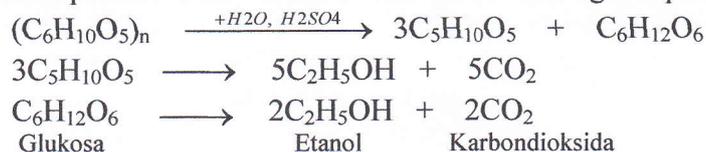
Gambar 1. Tandan Kosong Kelapa Sawit

Tabel 1
Komponen Tandan Kosong Kelapa Sawit

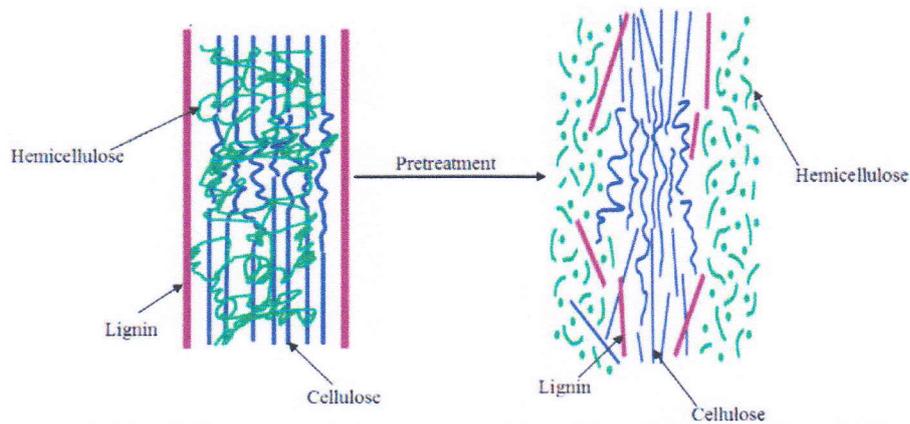
Komponen	% Berat
Selulosa	44,2
Hemiselulosa	33,5
Lignin	20,4

Sumber : (Astima et al., 2002)

Mekanisme pembentukan bioetanol dari tandan kosong kelapa sawit (Risvank, 2008):



Pretreatment biomassa lignoselulosa harus dilakukan untuk mendapatkan hasil yang tinggi. Tujuan dari pretreatment adalah untuk membuka struktur lignoselulosa agar selulosa menjadi lebih mudah diakses oleh enzim yang memecah polymer polisakarida menjadi monomer gula. Jika lignoselulosa tidak dipretreatment terlebih dahulu, maka selulosa sulit untuk dihidrolisis menjadi glukosa, karena lignin sangat kuat melindungi selulosa sehingga sangat sulit melakukan hidrolisis sebelum memecah pelindung lignin. Gula yang diperoleh tanpa pretreatment kurang dari 20%, sedangkan dengan pretreatment dapat meningkat menjadi 90% dari hasil teoritis (Isroi, 2008). Tujuan pretreatment secara skematis ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Skema pretreatment biomassa lignoselulosa (Kumar dkk, 2009)

Menurut Sun dan Cheng (2002) metode - metode yang digunakan untuk pretreatment antara lain: pretreatment fisika (*Mechanical comminution*, *Pirolisis*); pretreatment fisika – kimia (*Steam explosion* (Autohidrolisis), *Ammonia fiber explosion* (AFEX), *CO₂ explosion*); pretreatment kimia (*Ozonolisis*, *Hidrolisa asam*, *Hidrolisa alkali*, *Oxidative delignification*, *Organosolv process*).

Pretreatment kimia untuk tandan kosong kelapa sawit menggunakan bahan kimia yang berbeda seperti asam, alkali dan pengoksidasian yaitu peroksida dan ozon. Diantara metode ini, *pretreatment* asam encer menggunakan H₂SO₄ adalah metode yang paling banyak digunakan (Sun dan Cheng, 2002).

Hidrolisis merupakan proses pemecahan polisakarida di dalam biomassa lignoselulosa, yaitu selulosa dan hemiselulosa menjadi monomer gula penyusunnya. Pada hidrolisis sempurna selulosa akan menghasilkan glukosa, sedangkan hemiselulosa menghasilkan beberapa monomer gula pentose (C₅) dan heksosa (C₆). Hidrolisis dapat dilakukan secara kimia (asam) atau enzimatik.

Hidrolisis selulosa menjadi glukosa dapat dilakukan menggunakan cara kimiawi dan hayati. Hidrolisis dengan cara kimiawi menggunakan asam, sedangkan dengan cara hayati menggunakan enzim murni atau mikroorganisme penghasil enzim selulase. Kendala yang dihadapi yaitu rendahnya laju hidrolisis karena adanya kandungan lignin dalam bahan lignoselulosa. Oleh karena itu dilakukan proses delignifikasi sebelum dihidrolisis.

Beberapa asam yang umum digunakan untuk hidrolisis asam antara lain adalah asam sulfat (H₂SO₄), asam perklorat dan HCl. Asam sulfat merupakan asam yang paling banyak diteliti dan dimanfaatkan untuk hidrolisis asam.

Aplikasi hidrolisis menggunakan enzim secara sederhana dilakukan dengan mengganti tahap hidrolisis asam dengan tahap hidrolisis enzim selulosa. Hidrolisis enzimatik memiliki beberapa keuntungan dibandingkan hidrolisis asam, antara lain: tidak terjadi degradasi gula hasil hidrolisis, kondisi proses yang lebih rendah (suhu rendah), berpotensi memberikan hasil yang tinggi dan biaya pemeliharaan peralatan relatif rendah karena tidak ada bahan yang korosif. Beberapa kelemahan dari hidrolisis enzimatik antara lain adalah membutuhkan waktu yang lebih lama, dan kerja enzim dihambat oleh produk. Di sisi lain harga enzim saat ini lebih mahal daripada asam sulfat, namun demikian pengembangan terus dilakukan untuk menurunkan biaya dan meningkatkan efisiensi hidrolisis maupun fermentasi (Isroi, 2008).

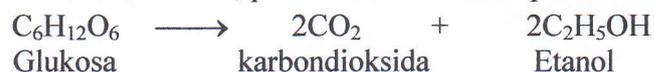
Pemanfaatan limbah berlignoselulosa dengan menggunakan jasa mikroorganisme dapat menghasilkan enzim ekstraseluler yang mampu mendegradasi bahan berlignoselulosa menjadi fraksi penyusunnya. Enzim selulase adalah enzim yang bisa mengurai selulosa menjadi glukosa, setelah diurai bisa difermentasikan menjadi etanol. Enzim selulase yang dapat merombak bahan berlignoselulosa berupa jerami atau serat.

Produksi komersial selulase pada umumnya menggunakan fungi atau bakteri yang telah diisolasi. Meskipun banyak mikroorganisme yang dapat mendegradasi selulosa, hanya beberapa mikroorganisme yang memproduksi selulase dalam jumlah yang signifikan yang mampu menghidrolisa kristal selulosa. Fungi adalah mikroorganisme utama yang dapat memproduksi selulase, meskipun beberapa bakteri dan *actinomycetes* telah dilaporkan juga menghasilkan aktivitas selulase. Fungi berfilamen seperti *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* adalah penghasil enzim selulase secara komersial. Fungi-fungi tersebut sangat efisien dalam memproduksi enzim selulase (Eprint, 2006).

Aspergillus niger merupakan fungi dari filum ascomycetes yang berfilamen, mempunyai bulu dasar berwarna putih atau kuning pada media Agar Dextrosa kentang (PDA) dengan lapisan konidiospora tebal berwarna coklat gelap sampai hitam. Kepala konidia berwarna hitam, bulat, cenderung memisah menjadi bagian-bagian yang lebih longgar dengan bertambahnya umur. *Aspergillus niger* tumbuh pada suhu 35 – 37°C (optimum), 6 – 8°C (minimum), 45 - 47°C (maksimum) dan memerlukan oksigen yang cukup (*aerobic*). *Aspergillus niger* digunakan secara komersial dalam produksi asam sitrat, asam glukonat dan pembuatan beberapa enzim seperti selulase, amilase, pektinase, dan amiloglukosidase. *Aspergillus niger* memerlukan mineral (NH₄)₂SO₄, KH₂PO₄, MgSO₄, urea, CaCl₂.7H₂O, FeSO₄, MnSO₄.H₂O untuk menghasilkan enzim selulase (Wikipedia, 2007).

Fermentasi berasal dari bahasa latin “*Ferfere*” yang berarti mendidihkan (Muljono, 2002). Seiring perkembangan teknologi, definisi fermentasi meluas menjadi proses yang melibatkan mikroorganisme untuk menghasilkan suatu produk. Pada mulanya istilah fermentasi digunakan untuk menunjukkan proses pengubahan glukosa menjadi etanol. Namun, kemudian istilah fermentasi berkembang lagi menjadi seluruh perombakan senyawa organik yang dilakukan oleh mikroorganisme.

Dari beberapa peneliti didapat angka-angka yang menunjukkan bahwa proses fermentasi mengikuti hukum konservasi zat seperti pada reaksi-reaksi kimia biasa. Menurut Gay-Lussac tahun 1810, persamaan fermentasi pembuatan Alkohol adalah:



Fermentasi merupakan kegiatan mikrobial pada bahan pangan sehingga dihasilkan produk yang dikehendaki. Mikrobial yang umumnya terlibat dalam fermentasi adalah bakteri, khamir, dan kapang. Contoh bakteri yang digunakan dalam fermentasi adalah *Acetobacter Xylinum* pada pembuatan *nata decoco*, *Acetobacter Aceti* pada pembuatan asam asetat. Contoh khamir dalam fermentasi adalah *Saccharomyces Cerevisiae* dalam pembuatan alkohol sedangkan contoh kapang adalah *Rhizopus sp* pada pembuatan tempe, *Monascus Purpureus* pada pembuatan anggur dan sebagainya. Fermentasi dapat dilakukan menggunakan kultur murni ataupun alami serta dengan kultur tunggal ataupun kultur campuran. Fermentasi menggunakan kultur alami umumnya dilakukan pada proses fermentasi tradisional yang memanfaatkan mikroorganisme yang ada di lingkungan.

Faktor-faktor yang mempengaruhi fermentasi (Muljono, 2002): ragi, suhu, oksigen, pH dan kadar gula.

Pada proses pembuatan etanol dari tandan kosong kelapa sawit, pemurnian merupakan tahapan akhir proses. Destilasi dilakukan untuk memisahkan etanol dari *beer* (sebagian besar adalah air dan etanol) titik didih etanol murni adalah 78°C sedangkan air adalah 100°C (kondisi standar). Dengan memanaskan larutan pada suhu rentang 78 - 90°C akan mengakibatkan sebagian besar etanol menguap. Proses destilasi akan meningkatkan kandungan ethanol hingga 95%. Sisa air yang masih ada dihilangkan dengan proses dehidrasi hingga kandungan ethanol mencapai 99,5%.

4. METODOLOGI PENELITIAN

Metode yang digunakan adalah eksperimental, dilakukan untuk mengetahui sejauh mana tandan kosong kelapa sawit (TKKS) dapat menghasilkan alkohol (etanol) melalui proses Hidrolisis Enzimatik dan Fermentasi. Proses konversi lignoselulosa tandan kosong kelapa sawit menjadi bioetanol terjadi melalui tahap – tahap berikut, yaitu :

1. Pretreatment atau delignifikasi dengan H₂SO₄ 1% dan NaOH 4 %
2. Hidrolisis enzimatik dengan enzim selulase
3. Fermentasi menjadi etanol
4. Destilasi
5. Analisa produk

Bahan baku yang digunakan yaitu limbah tandan kosong kelapa sawit yang berasal dari PT. LONSUM, Musi Rawas, Sumatera Selatan. Bahan Kimia yang dibutuhkan: Enzim Selulase berasal dari fungi *Aspergillus niger*, PDA (*Potato Dextrose Agar*), sukrosa 12,5 %, (NH₄)₂SO₄ 0,25 %, KH₂PO₄ 0,2 %, C₂H₅OH 96 %, Urea, MgSO₄.7H₂O, KH₂PO₄, Yeast *Saccromyces Cerevisiae*, NaOH 4 %, H₂SO₄ 1 %, 25 %, Aquadest, Acetone, BSA (Bovine Serum Albumin), Luff Schoorl, Na₂S₂O₃ 0,1 N, Kalium Iodida 1%. Peralatan yang digunakan: beaker Gelas, erlemeyer, gelas ukur, labu takar, cawan petri, spatula, bunsen, kawat ose, pH meter / kertas pH, rotary shaker, autoclave, corong gelas, pipet tetes, pipet ukur, neraca analitik, blender, oven, batu didih, labu bundar, peralatan destilasi, piknometer, buret digital, kuvet, spektrofotometer, *Hot plate*

Parameter yang digunakan

Massa bahan baku	: 50 gram
pH	: 4 – 5
Waktu hidrolisis	: 24 jam
Volume Enzim	: 1 ml, 3 ml, 5 ml, 7 ml, 9 ml
Waktu fermentasi	: 1 hari, 3 hari, 5 hari, 6 hari, 7 hari

Pembuatan Enzim Selulase

A. Pembenihan Inokulasi

Mikroba yang digunakan adalah *Aspergillus niger*. Pembenihan dilakukan pada media PDA (*Potato Dextrose Agar*) secara zig-zag dengan menggunakan kawat inokulasi di dalam cawan petri secara aseptik. Mikroba diinkubasi pada suhu ± 30°C selama 120 jam.

B. Penyiapan Inokulum

- 100 ml media cair (media cair ini terdiri dari sukrosa 12,5%, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,25 %, KH_2PO_4 0,2 %).
- pH media cair diatur dengan HCl hingga pH 3.
- Ujung kawat ose dicelupkan ke dalam etanol 96 % lalu dipanaskan pada api bunsen sampai berwarna merah.
- Biakan *Aspergillus niger* dari media PDA diambil dengan menggunakan kawat ose lalu dicelupkan beberapa saat pada media cair hingga tampak keruh. Pekerjaan ini dilakukan di ruang aseptik.
- Media cair ditutup dengan kapas dan diinkubasi pada suhu $\pm 30^\circ\text{C}$ selama 24 jam.

C. Produksi Enzim selulase dalam media cair padat

- TKKS dicacah dan dikeringkan kemudian dihaluskan.
- Menimbang 20 gram TKKS dimasukkan ke dalam beaker glass 250 ml dan menambahkan nutrisi urea 0,03 gr, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,005 gr, KH_2PO_4 0,0023 gr.
- 80 ml aquadest ditambahkan dalam media tersebut
- pH diatur hingga pH 5 lalu media disterilkan di dalam autoclave pada suhu 120°C selama 15 menit.
- Media yang telah disterilkan kemudian didinginkan.
- Suspensi spora aspergillus niger ditambahkan sebanyak 10 ml pada media tersebut.
- Media diinkubasi pada suhu $\pm 30^\circ\text{C}$ dengan waktu fermentasi 96 jam.

D. Pengambilan Enzim

- Hasil fermentasi diekstrak dengan aquadest sebanyak 100 ml lalu di letakkan pada rotari shaker 150 rpm selama 1 jam
- Cairan hasil fermentasi dipisahkan dengan menggunakan kertas saring.
- Enzim yang diperoleh kemudian disimpan di lemari pendingin dan siap digunakan.

Pretreatment Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS)

- Memotong TKKS lalu dikeringkan di panas matahari dan oven.
- Menggiling / menghaluskan TKKS sampai ukuran tertentu.
- Menimbang 50 gram TKKS, memasukkan kedalam erlemeyer 500 ml.
- Menambahkan 100 ml H_2SO_4 1 % dan menutup rapat erlenmeyer dengan gabus kemudian dipanaskan dalam autoclave pada suhu 121°C selama 30 menit.
- Memisahkan fase airnya sehingga tersisa fase seluligninnya
- Menambahkan 100 ml NaOH 4 % dan menutup rapatnya lalu dipanasi kembali pada suhu 121°C selama 30 menit. Mencuci fase solidnya dengan air beberapa kali.

Proses Hidrolisis Enzimatik

- Hasil pretreatment dimasukkan kedalam erlenmeyer 500 ml lalu ditambahkan 100 ml aquadest dan mengatur pH 4 – 5.
- Kemudian dipanaskan dalam autoclave pada suhu 100°C selama 30 menit.
- Bubur TKKS dibiarkan menjadi dingin.

- Menambahkan enzim selulase sebanyak 1 ml, 3 ml, 5 ml, 7 ml, 9 ml (sesuai perlakuan) kedalam bubur TKKS tersebut lalu menutup rapat erlenmeyer dengan gabus.
- Kemudian diletakkan pada rotary shaker 160 rpm selama 24 jam.

Proses Fermentasi

- Bubur TKKS yang telah dihidrolisis ditambahkan dengan 4 gr *Saccaromyces Cerevisiae* dan diaduk pada 150 rpm sampai homogen.
- Setelah itu menghubungkan erlemeyer 500 ml yang berisi bubur TKKS tersebut dengan selang karet dan ujung selang dimasukkan kedalam air agar tidak terjadi kontak langsung dengan udara.
- Selanjutnya larutan difermentasikan selama 1 hari, 3 hari, 5 hari, 6 hari dan 7 hari (sesuai dengan perlakuan).
- Selanjutnya memisahkan larutan dengan bubur TKKS sehingga diperoleh cairan alkohol + air.

Destilasi (Pemurnian etanol)

- Merangkai dan menyalakan peralatan destilasi dengan benar.
- Cairan hasil fermentasi lalu dimasukkan kedalam labu destilasi.
- Temperatur pemanas dijaga pada suhu 80 °C.
- Proses destilasi dilakukan selama 1,5 – 2 jam sampai etanol tidak menetes lagi.
- Mengukur destilat (etanol) yang didapat.

6. ANALISA PRODUK

Penentuan kadar Etanol

Untuk menganalisa kadar alkohol (etanol) yang didapat digunakan analisa density. Analisa density ini dilakukan dengan menggunakan alat piknometer, piknometer yang digunakan adalah piknometer 5 ml pada suhu kamar.

Prosedur perhitungan density dengan menggunakan piknometer yaitu :

1. Menimbang berat piknometer kosong pada suhu kamar diperoleh a gr.
2. Menimbang berat piknometer yang telah berisi aquadest penuh pada suhu kamar diperoleh b gr.
3. Menghitung volume piknometer dengan menggunakan rumus

$$\text{Volume piknometer} = \frac{b-a}{0.995797} = c \text{ ml}$$

4. Menimbang berat piknometer yang telah diisi penuh dengan zat (etanol) yang akan ditentukan densitynya pada suhu kamar diperoleh d gr.

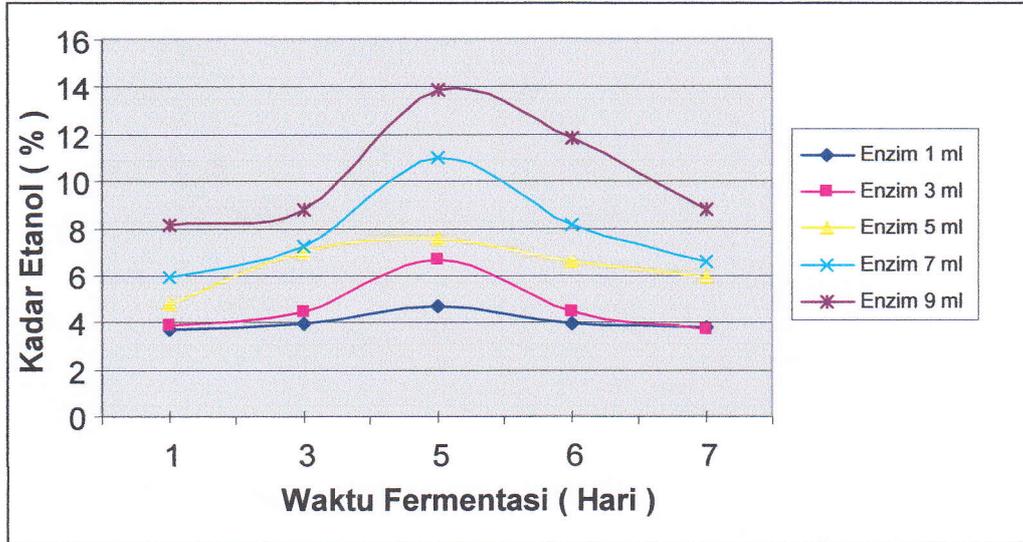
$$\text{Density} = \frac{\text{Berat piknometer isi zat} - \text{Berat piknometer kosong}}{\text{Volume piknometer}}$$

$$\text{Density} = \frac{d - a}{c}$$

Dari density yang diperoleh, dapat ditentukan kadar alkohol (etanol) yang terkandung, dengan melihat tabel density standar etanol pada suhu kamar (terlampir). Analisa ini dilakukan terhadap hasil fermentasi yang telah di destilasi, gunanya untuk mengetahui kadar alkohol (etanol) yang terdapat dalam hasil fermentasi.

7. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Etanol Pada Berbagai Variasi Volume Enzim

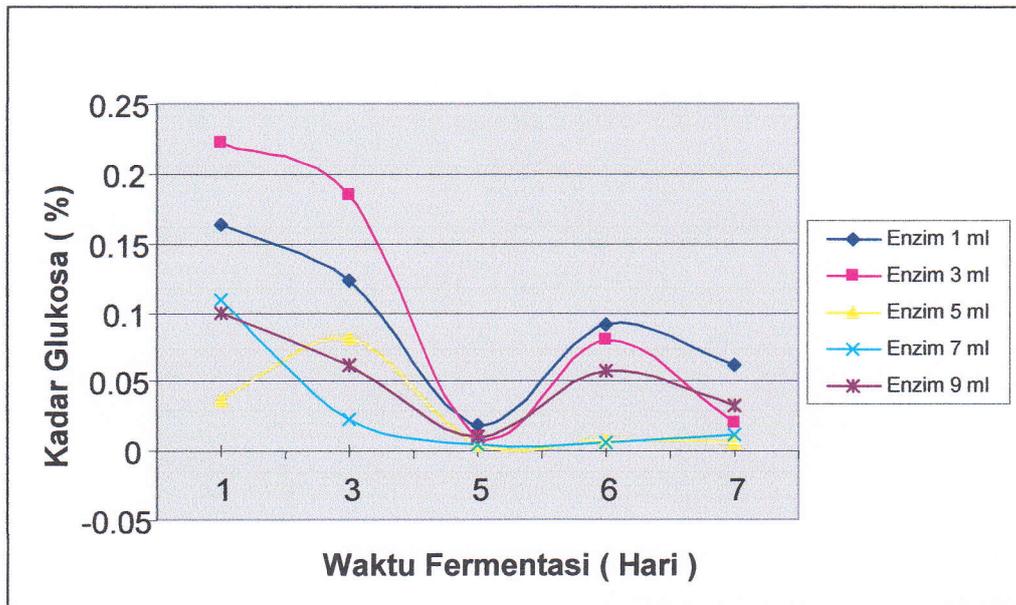


Gambar 3. Pengaruh waktu fermentasi terhadap kadar etanol pada berbagai variasi volume enzim

Jumlah enzim yang ditambahkan pada hidrolisis enzimatik bervariasi : 1 ml, 3 ml, 5 ml, 7 ml, dan 9 ml. Gambar 3 menunjukkan pengaruh waktu fermentasi terhadap kadar etanol pada berbagai variasi volume enzim. Dari gambar 3, terlihat bahwa semakin lama waktu fermentasi kadar bioetanol akan mengalami kenaikan, namun setelah hari kelima kadar bioetanol pada masing-masing sampel mengalami penurunan. Hal ini disebabkan karena proses fermentasi telah mencapai optimum pada waktu 5 hari, kadar bioetanol mengalami penurunan setelah melewati waktu optimalnya. Kenaikan kadar bioetanol ini terjadi karena lama waktu fermentasi berhubungan erat dengan kurva pertumbuhan mikroba. Pertumbuhan mikroba terjadi dari enam fase, yaitu fase adaptasi, fase permulaan pembiakan, fase pembiakan cepat, fase konstan atau stasioner dan fase terakhir adalah fase kematian.

Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Glukosa Pada berbagai Variasi Volume Enzim

Pengaruh waktu fermentasi terhadap kadar glukosa pada berbagai variasi volume enzim dapat dilihat pada gambar 4. Massa TKKS yang digunakan 50 gram dan waktu hidrolisis selama 24 jam.



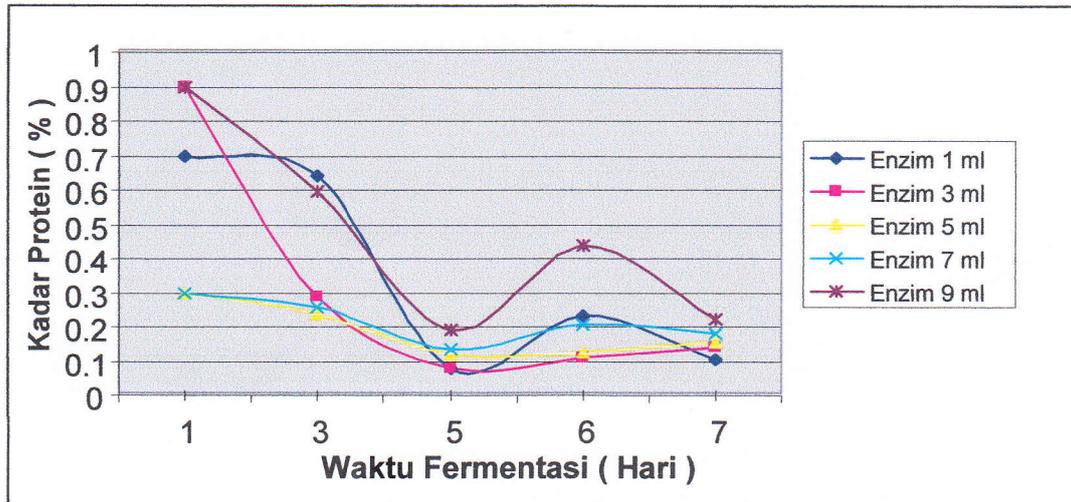
Gambar 4. Pengaruh waktu fermentasi terhadap kadar glukosa pada berbagai variasi volume enzim.

Gambar 4 menunjukkan bahwa sebelum 5 hari fermentasi, kadar glukosa semakin menurun seiring dengan bertambahnya waktu fermentasi. Hal ini menunjukkan bahwa glukosa hasil hidrolisis telah difermentasi secara sempurna menjadi etanol. Namun pada waktu fermentasi lebih dari 5 hari, kadar glukosa mengalami kenaikan. Kenaikan jumlah glukosa disebabkan karena kecepatan reaksi dipengaruhi oleh banyaknya selulosa yang ada. Sementara selulosa semakin lama semakin berkurang disebabkan pecah menjadi unit glukosa. Oleh karena itu kecepatan reaksi semakin lama semakin kecil sehingga kenaikan kadar selulosa yang terhidrolisa persatuan waktu semakin kecil. Hal ini mengakibatkan kenaikan glukosa yang terbentuk persatuan waktu.

Dari gambar 4 juga terlihat bahwa untuk waktu fermentasi yang sama, penambahan jumlah enzim tidak selalu mengakibatkan kadar glukosa bertambah atau berkurang. Hal ini mungkin disebabkan oleh variasi volume enzim yang terlalu kecil. Sebaiknya jumlah volume enzim yang ditambahkan lebih dari 7 ml. Fenomena ini mungkin juga disebabkan karena metode penentuan kadar glukosa yang kurang tepat, sebaiknya kadar glukosa diukur dengan HPIC (High Pressure Ion Chromatography) yang juga bisa menganalisa kadar arabinosa, xylosa, mannosida dan lain - lain.

Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Protein Pada Berbagai Variasi Volume Enzim

Analisa kadar protein dilakukan untuk mengetahui banyaknya enzim yang dihasilkan oleh *Aspergillus niger*. Analisa kadar protein dilakukan dengan menggunakan metode Lowry secara lengkap. Apabila ditinjau dari pengaruh jumlah enzim yang ditambahkan dan lamanya waktu fermentasi terhadap kadar protein, tampak ada hubungan antara kadar protein yang dihasilkan dengan aktivitas enzim. Pada kondisi dimana kadar protein yang terukur tinggi, maka aktivitas enzim juga tinggi. Sebaliknya pada kondisi dimana kadar protein yang terukur rendah, maka aktivitas enzim juga rendah.



Gambar 5. Pengaruh waktu fermentasi terhadap kadar protein pada berbagai variasi volume enzim yang ditambahkan saat hidrolisis.

Gambar 5 menunjukkan pengaruh waktu fermentasi terhadap kadar protein pada berbagai variasi volume enzim. Dari gambar tersebut terlihat bahwa pada waktu fermentasi kurang dari 5 hari, kadar protein semakin berkurang dengan bertambahnya jumlah enzim.

8. KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa untuk rentang waktu fermentasi sampai 5 hari, semakin banyak jumlah enzim yang digunakan, maka kadar bioetanol yang dihasilkan semakin tinggi. Namun kadar bioetanol mengalami penurunan setelah melewati waktu optimalnya (5 hari). Kenaikan kadar bioetanol ini terjadi karena lama waktu fermentasi berhubungan erat dengan kurva pertumbuhan mikroba. Pertumbuhan mikroba terjadi dari enam fase, yaitu fase adaptasi, fase permulaan pembiakan, fase pembiakan cepat, fase konstan atau stasioner dan fase terakhir adalah fase kematian.

Kadar glukosa semakin menurun seiring dengan bertambahnya waktu fermentasi. Hal ini menunjukkan bahwa glukosa hasil hidrolisis telah difermentasi secara sempurna menjadi etanol. Namun pada waktu fermentasi lebih dari 5 hari, kadar glukosa mengalami kenaikan. Kenaikan jumlah glukosa disebabkan karena kecepatan reaksi dipengaruhi oleh banyaknya selulosa yang ada. Sementara selulosa semakin lama semakin berkurang disebabkan pecah menjadi unit glukosa. Oleh karena itu kecepatan reaksi semakin lama semakin kecil sehingga kenaikan kadar selulosa yang terhidrolisa persatuan waktu semakin kecil. Hal ini mengakibatkan kenaikan glukosa yang terbentuk persatuan waktu.

Kondisi penelitian terbaik adalah pada saat penambahan jumlah enzim 9 ml dan waktu fermentasi 5 hari, dengan kadar bioetanol yang dihasilkan 13,89 %.

9. DAFTAR PUSTAKA



- Balai Pemeriksaan Obat dan Makanan. 1979. *Farmakop Indonesia*. Edisi ketiga. Kopri Sub Unit Direktorat Jenderal Departemen Kesehatan RI.
- Balat, M., Balat, H., Oz, C., 2008. Progress in Bioethanol Processing, *Progress in Energy and Combustion Science*, 34, 551 – 573
[http://eprints.undip.ac.id/13064/1/BAB I - V.pdf](http://eprints.undip.ac.id/13064/1/BAB_I_-_V.pdf) enzim selulase diakses 25 januari 2011.
- Isroi. 2008. *Potensi Biomassa Lignoselulosa di Indonesia Sebagai Bahan Baku Bioetanol: Tandan Kosong Kelapa Sawit*. Online di <http://isro.wordpress.com>. Diakses 26 Juni 2010.
- Hahn-Hagerdal B., Galbe M., Gorwa-Grauslund M.F., Liden G., Zacchi G., 2006. Bio-ethanol—the fuel of tomorrow from the residues of today. *Trends Biotechnol*, 24, 549–56.
- Hamelinck, C.N., van Hooijdonk G., Faaij A.P.C., 2005. Ethanol from lignocellulosic biomass: techno-economic performance in short-, middle- and long-term. *Biomass Bioenergy*, 28, 384–410.
- Kumar, P., Barrett, D.M., Delwiche, M.J., and Stroeve, P. 2009. *Methods for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Efficient Hydrolysis and Biofuel Production*, Ind. Eng. Chem. Res., 48(8), 3713-3729.
- Mangunwidjaja, D. dan Suryani, A., 1994. *Teknologi Bioproses*. Penebar swadaya, Jakarta
- Mosier N., Wyman C., Dale B., Elander R., Holtzapple Y.Y.L.M., Ladisch M., 2005. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technol*, 96, 673–86.
- Muljono, Judoamidjojo, Darwis, Aziz, A., dan Gumbira, E. 2002. *Teknologi Fermentasi*. Rajawali pers: Jakarta.
- Prawita, Dewi. 2008. *Mengolah Limbah Sawit Menjadi Bioetanol dan Kompos*. Online di <http://blogs.unpad.ac.id>. Diakses 13 Juni 2010.
- Sudarmadji, S., Haryono, B., dan Suhardi. 1984. *Prosedur analisa untuk bahan makanan dan pertanian*. Edisi ketiga. Liberty: Yogyakarta.
- Sun, Y., dan Cheng, J., 2002. *Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review*. *Bioresource Technology* 83, 1 – 11.
- UKM, B. 2009. *Bahan Bakar Nabati (Bioetanol)*. Khalifah Niaga Lantabura: Yogyakarta.
WWW.Wikipedia.org/wiki/cellulase diakses 1 Agustus 2010.