

BIOETANOL DARI LIMBAH KULIT SINGKONG MELALUI PROSES HIDROLISIS DAN FERMENTASI DENGAN *Saccharomyces cerevisiae*

Anis Artiyani¹⁾, Eddy Setiadi Soedjono²⁾

Program Pascasarjana, Jurusan Teknik Lingkungan, FTSP

Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya

E-mail: anisartiyani@ymail.com¹⁾, soedjono@enviro.its.ac.id²⁾

ABSTRAK

Bioetanol merupakan senyawa alkohol yang diperoleh lewat proses fermentasi dengan mikroorganisme. *Pretreatment* substrat padatan kering kulit singkong direndam larutan NaOH (1%, 5%, 10%), hasil terbaik pada NaOH 10% dimana lignin yang tersisa dalam tepung kulit singkong 2,035% dan menghasilkan glukosa tertinggi 4,249%. Hidrolisis kimia dengan asam H₂SO₄ pada (0,25%, 2,5%, 4%), hasil terbaik glukosa pada hidrolisis asam H₂SO₄ 4% yaitu sebesar 4,160 % dan hidrolisis biologis dari *Trichoderma viride* pada (0,5%, 0,75% dan 1%) v/v, hasil terbaik glukosa pada hidrolisis *T.viride* 1% sebesar 3,005%. Proses fermentasi oleh ragi *Saccharomyces cerevisiae* sebanyak 20% selama 96 jam hasil terbaik pada variasi hidrolisis asam H₂SO₄ 4% selama 240 menit menghasilkan etanol sebesar 0,225%. Proses distilasi didapatkan kadar bioetanol 1,637%

Kata kunci: Bioetanol, distilasi, fermentasi, hidrolisis asam, *pretreatment*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Trichoderma viride*

PENDAHULUAN

Sumber daya alam yang dapat menghasilkan energi selama ini sebagian besar sumber berasal dari sumber daya alam yang tidak terbarukan. Menurut Kementerian Energi dan Sumber Daya Mineral (2009) dalam (Nurfiana *et al.*, 2009), cadangan energi bahan bakar yang ada saat ini tidak dapat diharapkan untuk jangka lama. Hal ini semakin mendorong dikembangkannya bahan bakar alternatif yang bersifat terbarukan dan konservasi energi.

Bioetanol salah satu bahan bakar alternatif yang mempunyai kelebihan dibandingkan BBM. Berdasarkan siklus karbon, bioetanol dianggap lebih ramah lingkungan karena CO₂ yang dihasilkan akan diserap oleh tanaman, selanjutnya tanaman tersebut digunakan sebagai bahan baku pembuatan bahan bakar, dan seterusnya sehingga tidak terjadi akumulasi karbon di atmosfer (Costello and Chun, 1988),

Penelitian ini berupaya memberi solusi dalam membantu mengatasi masalah sampah dengan mengkonversi kulit singkong menjadi bioetanol. *Pretreatment* hasil ayakan dilakukan perendaman dengan NaOH. Proses hidrolisis dengan asam sulfat (H₂SO₄), dan khamir *Trichoderma viride*. Proses fermentasi dengan *Saccharomyces cerevisiae*. Distilasi pada suhu 78 – 80⁰C untuk mendapatkan bioetanol dengan kadar lebih tinggi.

BAHAN METODA PENELITIAN

Bahan:

Kulit singkong kondisi segar. Bahan kimia aquades, NaOH, H₂SO₄, KH₂PO₄, (NH₄)₂SO₄, reagen. Khamir *Saccharomyces cerevisiae* dan *Trichoderma viride*.

Alat-alat yang digunakan:

Alat fermentor, autoclave, incubator, spektrofotometer, kromatografi gas, magnetic stirer, oven, blender, desikator, cawan, neraca teknis dan analitik, peralatan gelas (beaker glass, erlenmeyer, gelas ukur, pipet volum, cawan petri, tabung reaksi, peralatan distilasi) selang, pemanas elektrik.

A. Tahap Persiapan Bahan Baku Kulit Singkong.

Kulit singkong segar dicuci, dikeringkan 24 jam dan dilanjutkan dengan oven pada suhu $\pm 105^{\circ}\text{C}$ selama 16 jam, penghalusan 120 mesh (Iranmahboob *et al*, 2002). Analisis awal kandungan gula, karbon, hidrogen, nitrogen, kadar air, posfat, oksigen, COD, pati, selulosa, hemiselulosa, lignin, abu dan volatile.

B. Tahap Pretreatment

Tahap *pretreatment* serbuk kulit singkong direndam dengan NaOH 1%; 5% dan 10% selama 24 jam dimana tiap perlakuan terdiri dari 180 gram berat kering kulit singkong/2160ml aquadest (Uduak *et al.*,2008) dipanaskan dalam autoklaf pada suhu 160 °C selama 30 menit pada tekanan 1 atm, dipisahkan dari filtrate, diuji kadar hemiselulosa dan ligninnya, padatan kulit singkong dicuci dengan air aquades steril sampai diperoleh pH netral, dikeringkan pada suhu 65 °C. Residu diuji kadar selulosa dan pati. Hasil yang terbaik padatan kulit singkongnya digunakan sebagai substrat dalam hidrolisis.

C. Tahap Hidrolisis

Kulit singkong yang telah dipretreatment dihidrolisis dengan secara kimia dan biologis, 180 grm hasil terbaik dibagi dalam 2 (dua) bagian terdiri dari 90 gram untuk uji hidrolisis asam H₂SO₄ dan 90 gram yang lain untuk uji hidrolisis biologi *Trichoderma viride*.

Perlakuan padatan kulit singkong:

1. Hidrolisis dengan Asam Sulfat (H₂SO₄)

Hasil yang terbaik 90 gr pertama dibagi dalam 18 buah erlenmeyer masing-masing berisi 5 gr serbuk kulit singkong. 6 erlenmeyer pertama ditambah dengan asam sulfat (H₂SO₄) konsentrasi 0,25 % (v/v), 6 erlemeyer ke dua konsentrasi 2,5 % (v/v), 6 erlenmeyer ketiga konsentrasi 4 % (v/v), diambil 60 ml dimasukkan pada setiap erlenmeyer (Nguyen dan Tucker, 2002). Kemudian ke 18 erlenmeyer disterilisasi dengan autoklaf selama 30 menit pada suhu 200°C, didinginkan dan netralisasi dengan Na₂CO₃ 10%, hingga pH 4.

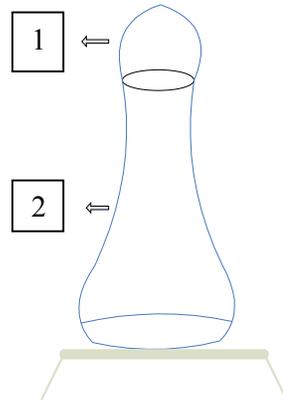
2. Hidrolisis dengan *Trichoderma viride*

90 gr lainnya dibagi dalam 18 buah erlenmeyer masing-masing berisi 5 gr serbuk kulit singkong, Ke 18 erlenmeyer disterilisasi dengan autoklaf selama 30 menit pada suhu 120°C, setelah dingin netralisasi dengan Na₂CO₃ 10%, hingga mencapai pH 4, 6 erlenmeyer pertama ditambah dengan *Trichoderma viride* pada konsentrasi 0,5 % (v/v), 6 erlemeyer ke dua ditambah dengan konsentrasi 0,75 % (v/v) dan 6 erlenmeyer ketiga konsentrasi 1 % (v/v) (Saraswati, 2003),

Selanjutnya pengukuran gula pereduksi setiap 24 jam, 48 jam dan 72 jam untuk tiap 2 erlenmeyer bagian pertama, kedua dan ketiga semua variasi.

D.Fermentasi Kulit Singkong

Pastikan kadar gula larutan maksimal 17-18% (Styawan, 2009). Masukkan hasil hidrolisis ke dalam tangki fermentasi. Fermentasi dengan *Saccharomyces cerevisiae* 20% (v/w), Tutup rapat tangki fermentasi untuk mencegah kontaminasi dan *Saccharomyces* bekerja mengurai glukosa lebih optimal. Fermentasi berlangsung anaerob (tidak membutuhkan oksigen), suhu pada suhu 28-32 °C dan pH 4,5- 5,5. Pemberian nutrient KH_2PO_4 3 gr/l dan nutrient $(NH_4)_2SO_4$ 3 gr/l. Proses fermentasi dilakukan selama 96 jam. Saring hasil fermentasi dengan kertas saring berukuran 1 mikron, dilakukan destilasi. Gambar 1 menunjukkan gambar alat fermentor yang digunakan.



Gambar 1 Fermentor dari Tabung Erlenmeyer 100 ml

Keterangan gambar:

1. Sumbatan mengkondisikan fermentasi secara anaerobik
2. Tabung fermentor

E. Distilasi Batch

Distilasi dilakukan dengan memanaskan larutan campuran air dan etanol pada suhu 78 °C atau setara titik didih etanol. Menggunakan distilasi batch. Uap etanol dialirkan melalui pipa yang terendam air sehingga terkondensasi dan kembali menjadi etanol cair. Kadar etanol dalam distilat dianalisis dengan kromatografi gas HP 5890.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Pretreatment Asam

Pretreatment dilakukan untuk mengurangi kadar lignin, hemiselulosa dan mengurangi selulosa kristal serta menaikkan porositas bahan (Sun dan Cheng, 2002). Penghalusan kulit singkong merupakan *pretreatment* mekanik (Laser, 2001), Hasil analisis awal seperti dalam Tabel 1 berikut ini:

Tabel 1 Analisa Awal Kandungan Kulit Singkong

No	Komponen	Kandungan (%)
1.	Selulosa	43,626
2.	Pati/amilum	36,580
3.	Hemiselulosa	10,384
4.	Lignin	7,646
5.	Lainnya	1,764
Total		100 %

Dari Tabel 1 diatas menunjukkan bahwa kulit singkong mengandung pati/amilum, selulosa yang tinggi. Kandungan ini cukup berpotensi sebagai bahan baku bioetanol. Pada Tabel 2 ditunjukkan hasil uji setelah dilakukan *pretreatment* dengan perendaman NaOH 1%; 5% dan 10%.

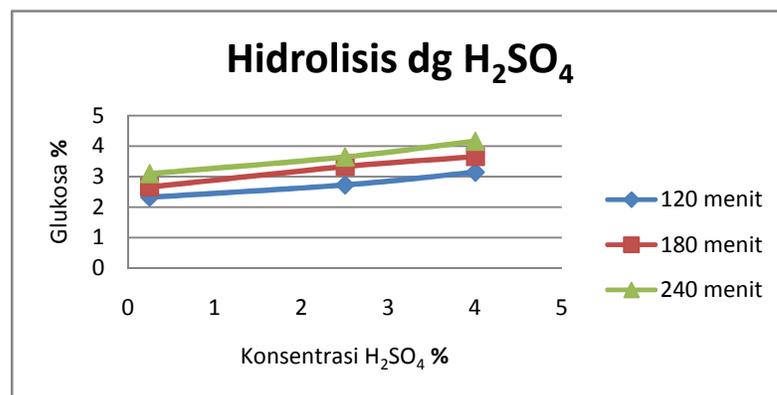
Tabel 2 Hasil *Pretreatment* dengan Perendaman NaOH

No	Katalis dengan Konsentrasi	Amilum (%)	Selulosa (%)	Hemiselulosa (%)	Lignin dlm cairan sisa pencucian (%)	Lignin (%)	Glukosa (%)	Lainnya (%)
1.	NaOH 1%	33,837	41,301	6.731	1,640	6,006	2,326	8,159
2.	NaOH 5%	29,623	36,593	5,896	3,295	4,351	2,706	17,533
3.	NaOH 10%	24,081	31,763	5,424	5,611	2,035	4,279	26,780

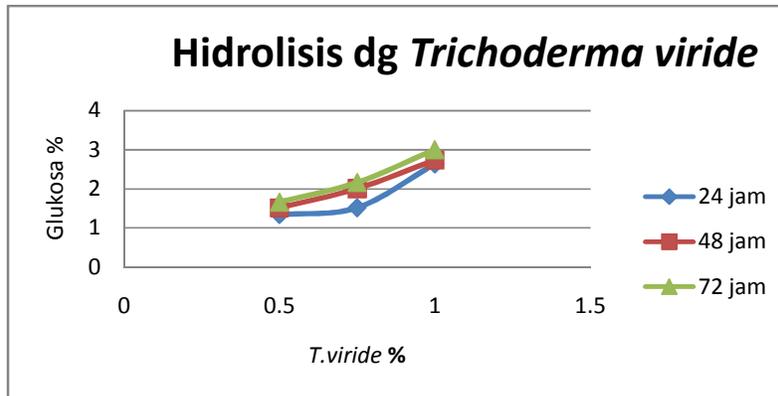
Dari hasil uji berdasarkan Tabel 2, *pretreatment* menggunakan NaOH 1% dan NaOH 5% paling tinggi meninggalkan amilum/ pati, selulosa, hemiselulosa dan lignin tetapi sedikit glukosa. Ini disebabkan *pretreatment* pada dosis NaOH 1% dan 5% lebih sedikit dalam mendegradasi kadar pati, selulosa hemiselulosa dan lignin daripada NaOH 10%. *Pretreatment* NaOH 10% paling tinggi dalam menghasilkan gula reduksi yaitu 4,279%, ini menunjukkan proses *pretreatment* dengan perendaman menggunakan larutan NaOH 10 % lebih baik dalam meningkatkan yield glukosa yang dibutuhkan selama proses hidrolisis. *Pretreatment* yang dilakukan dapat meningkatkan pembentukan gula atau kemampuan menghasilkan gula pada proses berikutnya melalui proses hidrolisis (Sun dan Cheng, 2002). Kandungan lignin yang tersisa dalam tepung berkurang lebih banyak yaitu 2,903%, hasil lebih kecil dari perendaman NaOH 1% dan 5%.

B. Hidrolisis

Penelitian ini dilakukan hidrolisis kimia dengan asam H₂O₄ dan hidrolisis biologis dengan *Trichoderma viride* sebagai katalis. Pada Gambar 2 pengaruh konsentrasi katalis H₂SO₄ terhadap kadar glukosa. Dan Gambar 3 pengaruh konsentrasi katalis *Trichoderma viride* terhadap kadar glukosa.



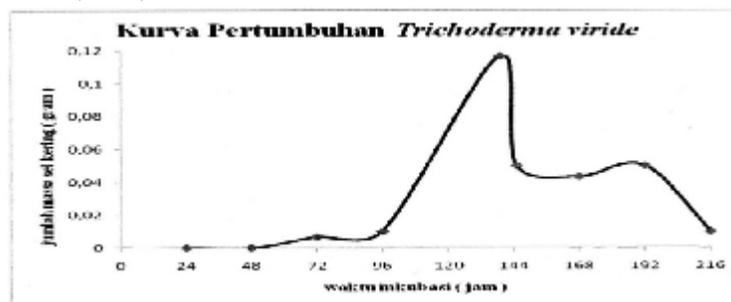
Gambar 2 Pengaruh Konsentrasi Katalis H₂SO₄ terhadap Kadar Glukosa.



Gambar 3 Pengaruh Konsentrasi Katalis *T.viride* terhadap Kadar Glukosa.

Dari Gambar 2 hasil gula terbaik pada konsentrasi H_2SO_4 4% disetiap waktu hidrolisis yaitu pada menit ke-120 sebesar 3,139%, , pada menit ke-180 sebesar 3,656 % dan pada menit ke-240 sebesar 4,160%, dan Gambar 3 hidrolisis biologis dengan *Trichoderma viride* menghasilkan gula terbaik pada konsentrasi 1 % disetiap waktu hidrolisis yaitu pada jam ke-24 sebesar 2,637%, pada jam ke-48 sebesar 2,738% dan pada jam ke-72 sebesar 3,005%, ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi katalis asam yang ditambahkan dan semakin lama waktu hidrolisis maka kadar glukosa akan semakin meningkat, sesuai hasil penelitian Kartika, (2009) mengatakan semakin tinggi konsentrasi asam maka semakin pekat larutan asam yang dihasilkan dan konsentrasi asam dalam air penghidrolisia ditekan sekecil mungkin, sehingga daya hidrolisanya lebih banyak untuk menghasilkan glukosa

Sedangkan hidrolisis biologis dengan *Trichoderma viride* pada Gambar 3 menghasilkan glukosa lebih kecil dari pada hidrolisis kimia dengan H_2SO_4 ini disebabkan pada jam ke – 96/4 hari *Trichoderma viride* masih mengalami fase dimana sel baru sempurna beradaptasi dengan lingkungan tetapi sel masih akan bertambah. Sel aktif baru mulai membelah agar jumlah sel lebih meningkat. Menurut Kartika (2009) jam ke-96 *Trichoderma viride* baru mengalami fase stasioner hingga pada jam ke 139, dimana hal ini dikuatkan dengan adanya hasil uji aktivitas enzim selulosa yang dilakukan, diperoleh bahwa aktivitas enzim tertinggi pada fase stasioner jam ke- 139 yang ditunjukkan dalam Gambar 4 kurva pertumbuhan *Trichoderma viride* dalam penelitian Kartika (2009).



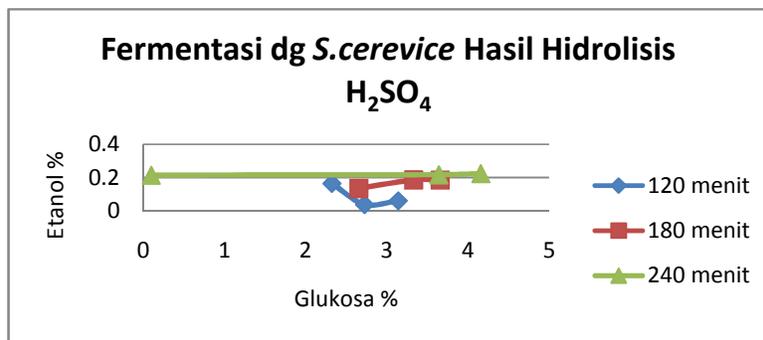
Gambar 4 Kurva Pertumbuhan *Trichoderma viride* (Kartika, 2009)

D.Fermentasi

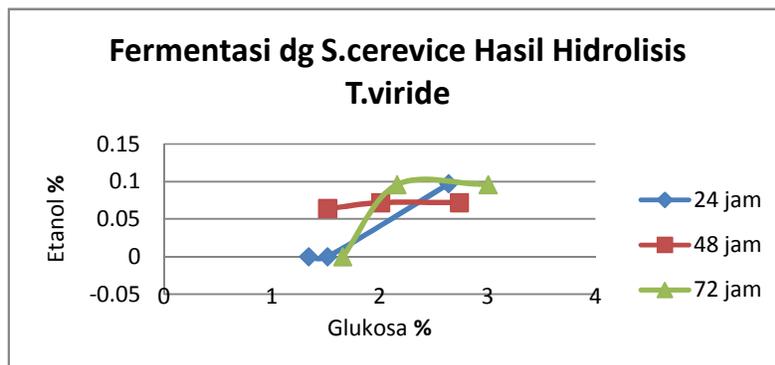
Bioetanol merupakan senyawa alkohol yang diperoleh lewat proses fermentasi biomassa dengan bantuan mikroorganismenya. Mikroorganismenya yang biasa digunakan

dalam fermentasi glukosa menjadi etanol adalah khamir dari spesies *Saccharomyces cerevisiae*. Pada umumnya fermentasi etanol dilakukan pada kondisi anaerob, karena adanya cukup oksigen (aerob) akan menjadikan *Saccharomyces cerevisiae* berkembang bagus tetapi pembentukan etanol sebagai salah satu produk metabolismenya hanya sedikit. *Saccharomyces cerevisiae* menghasilkan enzim zimase dan invertase. Dalam keadaan anaerob enzim zimase dapat berfungsi sebagai pemecah sukrosa menjadi monosakarida (glukosa dan fruktosa) dan enzim invertase berfungsi untuk mengubah glukosa menjadi etanol dengan melepaskan energi dan CO₂.

Hasil fermentasi dianalisis menggunakan instrumen kromatografi gas untuk menentukan kadar etanol. Etanol yang terdeteksi pada hari ke-4/96 jam setelah fermentasi dari hidrolisis dengan asam H₂SO₄ dan *Trichoderma viride*. Hasil uji kadar etanol dengan fermentasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* 20% menghasilkan kadar etanol antara 0,039 % -0,225 % yang ditunjukkan dalam Gambar 5 dan 6 berikut ini:



Gambar 5 Kadar Etanol pada jam ke-96 Hasil Fermentasi S. cerevice 20% Hidrolisis H₂SO₄



Gambar 6 Kadar Etanol pada jam ke-96 Fermentasi S. cerevice 20% Hidrolisis Trichoderma viride

Dari Gambar 5 dapat dilihat bahwa fermentasi dengan S. cerevice 20% sampai hari ke-96 yang optimum adalah fermentasi dari variasi 9 sebesar 0,225 %, merupakan fermentasi dari hasil hidrolisis kimia H₂SO₄ 4% menit ke 240. Sedangkan dari Gambar 6 dilihat bahwa fermentasi dengan *Sacharomices cerevice* sebanyak 20% pada hari ke-4 yang optimum adalah fermentasi variasi 18 sebesar 0,097 %, merupakan fermentasi dari hasil hidrolisis biologis dengan *Trichoderma viride* 1 % jam ke – 72. Hasil fermentasi dari variasi 18, kurang baik jika dibanding dengan fermentasi variasi 9 ini dipengaruhi

kondisi sebelumnya yang dihasilkan selama proses hidrolisis seperti energi seperti kadar gula yang berasal dari karbon. Gula merupakan substrat yang paling disukai *S. cerevice* karena konsentrasi gula sangat mempengaruhi kualitas etanol yang dihasilkan. Pada variasi 10; 11 dan 16 didapatkan konsentrasi etanol 0, dengan kata lain tidak terdeteksinya kadar etanol dalam sampel meskipun sebelum fermentasi memiliki kadar glukosa yang cukup. Hal ini disebabkan banyak faktor seperti media yang digunakan mengandung zat yang bisa menghambat pertumbuhan sel dan terdapat kontaminan yang dapat meningkatkan persaingan dalam penggunaan substrat.

F. Distilasi

Setelah difermentasi selama 96 jam, destilasi dari sampel terbaik variasi 9 dan 18 didapatkan hasil distilasi yang telah dianalisis kadar etanolnya dengan menggunakan GC 5890 yang terlihat pada Tabel 3 sebagai berikut:

Tabel 3 Kadar Etanol dari Fermentasi setelah Destilasi

No	Sampel	Kadar etanol (%)
1.	Destilasi dari sampel F9H9	1,637
2.	Destilasi dari sampel F18H18	0,546

Dari Tabel 3 terlihat dari sampel F9H9 diperoleh kadar etanol 1,637% dan sampel F18H18 diperoleh kadar 0,546%, ini menunjukkan adanya peningkatan yang tinggi dari hasil fermentasi sebelum didestilasi. Destilasi merupakan proses pemisahan komponen berdasarkan titik didihnya, dimana titik didih etanol murni sebesar 78°C sedangkan air adalah 100°C dengan pemanasan larutan pada suhu rentang 78°C-100°C akan mengakibatkan sebagian besar etanol menguap dan melalui unit kondensasi akan dihasilkan etanol dengan konsentrasi lebih tinggi, Bioetanol yang digunakan sebagai campuran bahan bakar untuk kendaraan harus benar-benar kering dan anhydrous supaya tidak korosif, sehingga bioetanol harus mempunyai grade 99,5- 100% volume, oleh karena itu hasil destilasi dalam penelitian ini harus ditambahkan suatu bahan yang dapat menyerap atau menarik kandungan air yang masih terdapat dalam bioetanol.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis yang telah dilakukan, maka kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Proses *pretreatment* yang optimum adalah *pretreatment* dengan NaOH 10% dimana paling tinggi mendegradasi lignin dan banyak menghasilkan glukosa. Lignin yang tertinggal dalam tepung hanya sebesar 2,035%. Kadar glukosa yang diperoleh sebesar 4,279%.
2. Proses hidrolisis yang lebih baik adalah hidrolisis asam dengan H₂SO₄ 4% dengan waktu hidrolisis selama 240 menit. Sedangkan hidrolisis biologis dengan *Trichoderma viride* menghasilkan glukosa terbaik pada konsentrasi 1% dengan waktu hidrolisis 72 jam
3. Kombinasi variabel yang menghasilkan bioetanol terbanyak dalam proses fermentasi selama 96 jam dari kulit singkong dengan *Saccharomyces cerevisiae* 20% adalah fermentasi dari hasil hidrolisis asam H₂SO₄ 4% selama 240 menit yaitu menghasilkan etanol sebesar 0,225%, selanjutnya di destilasi konsentrasi etanol meningkat menjadi 1,637%

DAFTAR PUSTAKA

- Costello. R., dan Chum. H. (1988), "Biomass Bioenergy and Carbon Management", In Bioenergy '98: Expanding Bioenergy Partnerships" (D. Wichert. Ed.), hal. 11-17. Omnipress. Madison. WI.
- Iranmahboob, J.,F. Nadim, dan S. Monemi, 2002. "Optimizing Acid-hydrolysis: a Critical step for production of ethanol from mixed wood chips. Biomass and Bioenergy
- Kartika R., (2009), "Pengaruh pH dan Ukuran Praktikel Substrat dalam Pretreatment dari Sampah Rumah Tangga menjadi Glukosa" Skripsi Jurusan Teknik Kimia, ITN Malang.
- Kementerian Energi dan Sumber Daya Mineral (KESDM) " Diperkirakan Cadangan Energi Tidak Bisa diharapkan Jangka Panjang".Artikel, Saturday, 14 March 2009.
- Laser, M.,(2001), "A Comparison of Liquid Hot Water and Steam Pretreatments of Sugar Cane Bagasse for Bioconversion to Ethanol". *Thayer School Engineering, USA.*
- Nguyen, M.P. Tucker, F.A. (2002) "Hidrólisis de la fracción hemicelulósica de la madera de pino".*Journal of Food Engineering* 52 (2002), pp. 285–291
- Saraswati. (2003). "Pembuatan Glukosa dari Bagas secara Enzimatik dengan Perlakuan Pendahuluan", *Laporan Penelitian*, ITS.
- Sun,Y.,dan Cheng, J. (2002), "Hidrolysis of Lignocellulose Material for Ethanol Production: a review", *Bioresource Technology*, Vol. 83 hal. 1-11.
- Uduak, Adamu, Udeme (2008), " Production of Ethanol Fuel from Organic and Food Wastes" *Leonardo Elektronik Journal of Practices and Technologies*. ISSN 1583-1078