

PENGARUH WAKTU SAKARIFIKASI DAN FERMENTASI PADA PRODUKSI BIOETANOL DARI RUMPUT ALANG-ALANG (*Imperata cylindrica*) MENGGUNAKAN METODE SSF (*Simultaneous Saccharification and Fermentation*)

THE INFLUENCE OF SSACCHARIFICATION AND FERMENTATION TIMES TO PRODUCING BIOETHANOL FROM WEED GRASS (*Imperata cylindrica*) USING SSF (*Simultaneous Saccharification and Fermentation*)

Vahemas Aditya Pamila Putra dan I Gusti Made Sanjaya*

Departement of Chemistry, Faculty of Matematics and Natural Sciences
State University of Surabaya

Jl. Ketintang Surabaya (60231), telp 031-8298761

*Corresponding author, email : igmasanjaya@unesa.ac.id

Abstrak. Bioetanol sebagai energi alternatif dari biomasa rumput alang-alang (*Imperata cylindrica*) telah berhasil di produksi menggunakan metode SSF (*Simultaneous Saccharification and Fermentation*). Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh waktu sakarifikasi dan fermentasi rumput alang-alang pada produksi bioetanol yang dihasilkan. Biomasa rumput alang-alang mengandung 40,22% selulosa, 18,40% hemiselulosa, dan 31,29% lignin. Proses delignifikasi menggunakan NaOH 10% mampu menghilangkan lignin dan hemiselulosa sebesar 27,6046% dari berat kering biomasa. Tahap sakarifikasi dan fermentasi memanfaatkan mikroorganisme *Aspergillus niger* dan *Saccharomyces cerevisiae*. Mikroorganisme membutuhkan waktu pertumbuhan hingga mampu mengolah selulosa menjadi bioetanol. Maka dari itu dilakukan variasi waktu sakarifikasi dan fermentasi selama 3, 5, 7 dan 9 hari. Hari ke-7 menghasilkan kadar bioetanol terbaik yakni 30% dengan nilai densitas sebesar 0,94454 g/ml. Berdasarkan data tersebut menunjukkan bahwa waktu sakarifikasi dan fermentasi mempengaruhi produksi bioetanol.

Kata Kunci : Bioetanol, biomasa, SSF

Abstract. Bioethanol as an alternative energy from alang-alang grass biomass (*Imperata cylindrica*) has been successfully produced using SSF (*Simultaneous Saccharification and Fermentation*) methods. The purpose of this research is to know the influence of timing in saccharification and fermentation from weed grass on production the bioethanol. The weed grass biomass contains 40.22% cellulose, 18.40% hemicellulose, and 31.29% lignin. The delignification process using 10% NaOH has capability to remove lignin and hemicellulose until 27.6046% mass from the dry weight biomass. The saccharification and fermentation stages utilize *Aspergillus niger* microorganisms and *Saccharomyces cerevisiae*. Those Microorganisms required time to growing until capable to transfrom cellulose into bioethanol. Therefore, this research used saccharification time and fermentation variation by 3, 5, 7 and 9 days. The 7th day producing the best bioethanol product until 30% with 0.94454 g/ml density value. Based on these result, its shows that saccharification time and fermentation affected the production of bioethanol.

Keywords: Bioethanol, biomass, SSF

PENDAHULUAN

Energi merupakan sumber daya yang dapat digunakan untuk melakukan berbagai proses kegiatan termasuk bahan bakar, listrik, energi mekanik, dan panas [1]. Kebutuhan bahan bakar akan terus meningkat seiring dengan naiknya jumlah populasi dan aktifitas manusia. Pada tahun 2025, diperkirakan penyediaan BBM mencapai 672,55 juta barel. Sedangkan

konsumsi BBM melebihi penyediaannya yakni 752,72 juta barel, dan emisi CO₂ yang dihasilkan mencapai 360 miliar ton [2]. Oleh karena itu dibutuhkan sumber energi alternatif dengan bahan dasar melimpah dan belum termanfaatkan di Indonesia [3].

Bioetanol merupakan salah satu sumber energi alternatif yang berpotensi menggantikan bahan bakar fosil dan

bersifat ramah lingkungan [4]. Bioetanol dapat di produksi dari bahan organik seperti rumput alang-alang. Populasi alang-alang di Indonesia dapat mencapai 7–18 ton biomasa daun per hektar [5]. Biomasa rumput alang-alang mengandung 40,22% selulosa, 18,40% hemiselulosa (pentosan), dan 31,29% lignin [6]. Komposisi selulosa yang lebih unggul pada biomasa sering di manfaatkan sebagai produk bioetanol. Namun selulosa pada tumbuhan berasosiasi dengan lignin membentuk lignoselulosa yang menyebabkan proses pengolahan selulosa terhambat. Maka dari itu perlu adanya tahap pendahuluan guna untuk mendegradasi lignin dari struktur selulosa menggunakan proses kimiawi berupa NaOH [7].

Metode yang efektif dan efisien dalam memproduksi bioetanol dari bahan selulosa yaitu menggunakan metode *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF). Metode SSF merupakan proses sakarifikasi dan fermentasi yang dilakukan serentak dalam satu bioreaktor [8]. Sakarifikasi merupakan proses hidrolisis selulosa menjadi glukosa oleh enzim selulase. Jamur berfilamen seperti *Aspergillus niger* adalah salah satu penghasil enzim selulase [7]. Secara bersamaan fermentasi atau konversi glukosa menjadi etanol memanfaatkan jamur *Saccharomyces cerevisiae*. Yeast ini merupakan mikroorganisme yang memiliki kemampuan mengubah glukosa menjadi etanol dan karbondioksida.

Kadar bioetanol hasil sakarifikasi dan fermentasi di pengaruhi oleh banyak faktor, diantaranya yaitu waktu fermentasi dan kadar mikroorganisme [9]. Aktifitas mikroorganisme yang berperan dalam proses fermentasi relatif membutuhkan waktu, sehingga diperlukan optimalisasi peran mikroorganisme [10]. Hal ini

dikarenakan mikroorganisme mengalami beberapa fase dari mulai beradaptasi sampai melepaskan enzim dan memproduksi substrat [11]. Berdasarkan penelitian Usmana (2012) produksi etanol pada tandan kosong kelapa sawit dengan metode SSF di peroleh hasil tertinggi sebesar 4,69 % pada waktu fermentasi 5 hari dengan variasi waktu 1, 2, 3, 4, dan 5 hari. Sehingga dapat diketahui bahwa waktu sakarifikasi dan fermentasi mempengaruhi produksi bioetanol.

METODE PENELITIAN

a. Alat

Gelas kimia, pengaduk, erlenmeyer, magnetic stirrer, blender, oven, termometer, inkubator, vakum filter, evaporator, pH meter (Mi 150), neraca analitik (OHAUS), refraktometer portabel, dan piknomter

b. Bahan

Rumput alang-lang yang diperoleh dari lahan kosong daerah perumahan Ketintang Madya Surabaya, NaOH 10%, HCl 2%, aquades, jamur *Saccharomyces cerevisiae* dan jamur *Aspergillus niger*

PROSEDUR PENELITIAN

a. Preparasi biomasa rumput alang-alang

Rumput alang-alang di potong-potong dan di jemur sampai mudah hancur dan di giling.

b. Tahap delignifikasi

Menimbang sampel kering seberat 100 gram, dimasukan ke dalam gelas kimia 2000 ml dan ditambahkn 10% NaOH. Dipanaskan pada suhu 80°C selama 90 menit dan di aduk menggunakan megnetik stirer. Hasil delignifikasi di saring dan di cuci menggunakan aquades sampai pH

netral. Residu di oven pada suhu 110°C dan ditimbang sampai berat konstan.

c. Tahap sakarifikasi dan fermentasi

Menimbang sampel yang telah melalui tahap delignifikasi seberat 50 gram dimasukan kedalam erlenmeyer 1000 ml dan ditambahkan aquades dengan perbandingan 1:10. Ditambahkan 20% *Aspergillus niger* dan 15% *Saccharomyces cerevisiae* dari berat kering sampel. Pengondisian pH dilakukan pada pH 6 dan di aduk hingga merata. Mulut erlenmeyer ditutup menggunakan kapas dan ditutup menggunakan aluminium foil yang di beri lubang seukuran jarum. Erlenmeyer dimasukan ke dalam inkubator pada suhu 37°C . Proses fermentasi berlangsung dengan variasi waktu 3 hari, 5 hari, 7 hari, dan 9 hari.

d. Tahap pemisahan

Fermentan dari masing-masing variasi waktu di saring menggunakan vakum filter. Tahap pemisahan pertama di distilasi menggunakan vakum epeporator pada suhu 80°C . Tahap kedua dilakukan distilasi pada suhu $65-67^{\circ}\text{C}$. Selanjutnya di ukur nilai densitas dan kadar bioetanol.

HASIL DAN PEMBAHASAN

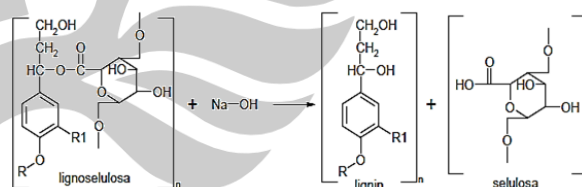
a. Delignifikasi

Proses delignifikasi bertujuan untuk merusak struktur lignoselulosa sehingga mempermudah enzim selulase dalam menghidrolisa selulosa. Secara fisik dapat di amati perbedaan biomasa sebelum dan sesudah proses delignifikasi pada gambar 1.



Gambar 1. Sebelum delignifikasi (a) dan sesudah delignifikasi (b)

Secara visual nampak adanya perbedaan warna pada rumput alang-alang sebelum dan sesudah proses delignifikasi. Rumput alang-alang kering sebelum melalui tahap delignifikasi berwarna coklat, sedangkan sesudah proses delignifikasi nampak lebih pudar. Hal ini menunjukkan bahwa lignoselulosa terdegradasi oleh pelarut NaOH. Reaksi yang terjadi pada proses delignifikasi ditunjukkan pada gambar 2.



Gambar 2. Mekanisme degradasi lignoselulosa menggunakan pelarut NaOH [16]

Pelarut NaOH merupakan larutan elektrolit yang mengalami ionisasi membentuk Na^+ dan OH^- . Ion OH^- dari NaOH akan memutuskan ikatan lignoselulosa sedangkan ion Na^+ akan berikatan dengan lignin membentuk Na-lignin. lignin yang terlarut ditandai dengan warna hitam pada larutan yang disebut lindi hitam (*black liquor*) yang ditunjukkan pada gambar 3.



Gambar 3. Lindi hitam (*black liquor*)

Hasil pengukuran massa sampel kering di peroleh rendemen proses delignifikasi ditunjukkan pada tabel 1.

Tabel 1. Rendemen proses delignifikasi

Hasil pengukuran ke	Massa sebelum delignifikasi (gram)	Massa sesudah delignifikasi (gram)	Rendemen (%)
1	100,0087	72,3065	72,3002
2	100,0103	72,3304	72,3229
3	100,0095	72,4570	72,4501
4	100,0119	72,5055	72,4968
5	100,0213	72,5213	72,5058
6	100,0057	72,3008	72,2966
Rata-rata	100,0112	72,4035	72,3954

Dari data tersebut dapat di ketahui bahawa proses delignifikasi pada biomasa rumput alang-alang mampu menghilangkan kadar lignin dan hemiselulosa sebesar 27,6046% dengan rendemen rata-rata sampel kering sebesar 72,3954%.

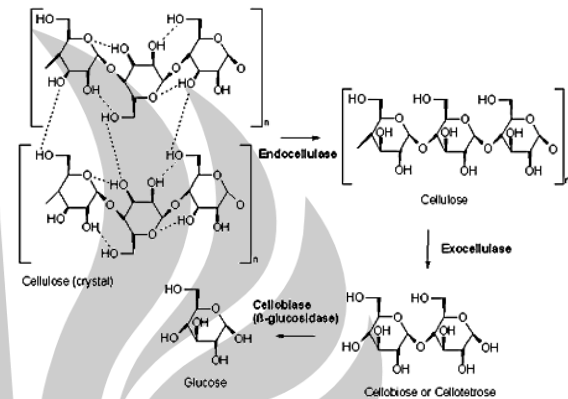
b. Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak

Hasil proses sakarifikasi dan fermentasi di amati secara fisik pada residu fermentan yang ditunjukkan pada gambar 4.



Gambar 4. Residu hasil fermentasi

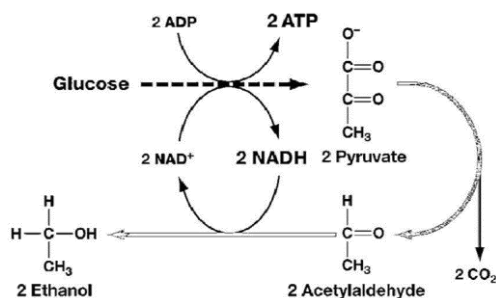
Secara fisik residu hasil fermentasi nampak seperti bubur berwarna kuning. Fenomena ini menandakan bahwa substrat mengalami hidrolisis. Pada permukaan substrat terdapat bintik-bintik putih menandakan adanya pertumbuhan jamur. Mekanisme reaksi yang terjadi pada proses sakarifikasi dan fermentasi ditunjukkan pada gambar 5 dan 6.



Gambar 5. Mekanisme hidrolisis selulosa oleh enzim selulase [13].

Struktur yang linier menyebabkan selulosa bersifat kristalin dan tidak mudah larut. Endo- β -1,4-D-glukanase bertugas untuk memecah ikatan internal glikosidik yang berada diantara rantai glukosa atau pada struktur kristalin selulosa dan membuka rantai polisakarida. Selanjutnya Ekso- β -1,4-D-glukanase mengurai selulosa dari ujung pereduksi dan nonpereduksi untuk menghasilkan sebagian besar selobiosa dan beberapa glukosa. Pada tahap akhir β -glukosidase menghidrolisis produk dari enzim eksoselulase yakni selobiosa menjadi glukosa [13]

Secara bersamaan glukosa yang dihasilkan di konversi menjadi bioetanol melalui proses fermentasi.



Gambar 6. Mekanisme fermentasi [14].

Glukosa diasimilasi melalui jalur glikolisis untuk menghasilkan asam piruvat. Asam piruvat dalam kondisi anaerob akan mengalami penguraian oleh piruvat dekarboksilase menjadi karbondioksida (CO_2) menghasilkan asetaldehid. Asetaldehid dengan alkohol dehidrogenase diubah menjadi etanol [14]

c. Nilai Densitas dan Kadar Bioetanol

Pengukuran kadar bioetanol ditunjukkan pada tabel 2.

Tabel 2. Pengukuran kadar bioetanol

Variasi waktu	Kadar (%)
3 hari	10,312
5 hari	17,500
7 hari	30,000
9 hari	21,250

Berdasarkan data tersebut dapat diketahui bahwa kadar bioetanol tertinggi terdapat pada variasi waktu 7 hari sebesar 30%. Sedangkan pada hari ke-9 mengalami penurunan. Diduga *microbial* memasuki fase kematian sehingga hasil fermentasi berupa asam organik seperti asam laktat, asam asetat dan ester [17]. Hal ini dapat menyebabkan produksi utama dari proses fermentasi tidak hanya bioetanol, melainkan inhibitor yang justru akan menurunkan kadar bioetanol.

Pengukuran densitas dilakukan pada suhu 30°C . Di hitung berdasarkan persamaan(1)

$$r = m/V_p \text{ (g/ml)}$$

Ket :

m = massa (piknometer + sampel) –
massa piknometer kosong

V_p = Volume piknometer (25 ml)

Tabel 3. Massa jenis detilat

Variasi waktu	Masa jenis rata-rata (g/ml)	Kadar bioetanol (%)
3 hari	0,96468	10,312
5 hari	0,95810	17,500
7 hari	0,94454	30,000
9 hari	0,95430	21,250

Hasil pengukuran nilai densitas dapat diketahui bahwa massa jenis berbanding terbalik dengan kadar bioetanol. Menurut Khodijah dan Ahmad (2015) Semakin tinggi nilai kadar etanol maka rantai karbon semakin panjang dan mengakibatkan rantai karbon mudah terputus dengan bertambahnya suhu. Ketika suhu ruang naik maka etanol mengalami penguapan dengan berkurangnya nilai densitas. Sehingga semakin tinggi konsentrasi bioetanol maka nilai densitas akan semakin rendah.

PENUTUP

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh waktu sakarifikasi dan fermentasi pada produksi bioetanol. Dari variasi waktu sakarifikasi dan fermentasi selama 3, 5, 7 dan 9 hari. Hari ke-7 menghasilkan kadar bioetanol terbaik yakni 30% dengan nilai densitas sebesar 0,94454 g/ml.. Semakin tinggi kadar bioetanol maka nilai densitas akan semakin kecil.

Saran

Berdasarkan penelitian yang dilakukan maka:

1. Disarankan adanya penelitian lebih lanjut mengenai pemurnian bioetanol sehingga mampu di aplikasikan secara langsung.
2. Diharapkan adanya pengujian karakteristik standart lain seperti viskositas, *flash point*, *pure point*, dan *fire point* karena pada penalitian ini hanya dilakukan pengujian densitas bioetanol.

DAFTAR PUSTAKA

1. Siswanti, Aulia Cita dan I Gusti Made Sanjaya. 2016. "Pengaruh Variasi Optical Density Bakteri Bacillus Subtilis Terhadap Efisiensi Listrik Microbial Fuel Cell". *UNESA Journal of Chemistry Vol. 5, No. 3*.
2. Sa'adah, Ana Fitriyatus; Akhmad Fauzi; Bambang Juanda. 2017. "Peramalan Penyediaan dan Konsumsi Bahan Bakar Minyak Indonesia dengan Model Sistem Dinamik". *Departemen Energi dan Sumber Daya Mineral Vol 17, No 2*.
3. Hambali, E., S. Mujdalipah, A. H. Tambunan, A. W. Pattiwiri dan Hendroko. 2007. *Teknologi Bioenergi*. Agromedia. Jakarta.
4. Ernes, A., L. Ratnawati., A. K. Wardani, dan J. Kusnadi. 2014. "Optimasi Fermentasi Bagas Tebu oleh *Zymomonas mobilis* CP4 (NRRL B-14023) untuk Produksi Bioetanol". *Jurnal AGRITECH (Vol.34)*: hal. 247-256.
5. Suryaningtyas, Heru. 1996. *Pengolahan Alang-alang di Lahan Petani*. Jakarta: Pusat Penelitian Karet, Balai Penelitian Sambawa.
6. Sutiya, Budi; Wiwin Tyas Istikowati; Adi Rahmadi; Sunardi. 2012. "Kandungan Kimia dan Sifat Serat Alang-alang (*Imperata cylindrica*) sebagai Gambaran Bahan Baku Pulp dan Kertas". *Bioscientiae. Volume 9, Nomor 1*, Januari 2012: hal. 8-19.
7. Safaria, S. 2013. "Efektivitas Campuran Enzyme Selulase dari *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei* dalam Menghidrolisi Substrat Serabut Kelapa". ISSN: 23031077, 2(1): hal. 46-51.
8. Rana, V., A. D. Eckard., dan B. K. Ahring. 2014. "Comparison of SHF and SSF of Wet Exploded Corn Stover And Loblolly Pine Using In-House Enzymes Produced from *T. reesei* RUT C30 and *A. Saccharolyticus*". *SpringerPlus*. 3 (1) : 516.
9. Retno, D.T. dan W. Nuri. 2011. "Pembuatan Bioetanol dari Kulit Pisang". UPN "Veteran" : Yogyakarta.
10. Sanjaya, I Gusti Made. 2012. "Bioconversion of Organic Waste into Biogas by Using Effective Microorganisms Starter (EM₄)". *Sains & Mat, Vol. 1. No. 1*
11. Moor, E & Landecker. 1996. *Fundamental of The Fungi. Fourth Ed.* New Jersey: Prentice-Hall
12. Usmana, A. S., Septa R., dan Novia. 2012. "Pengaruh Waktu Fermentasi terhadap Kadar Etanol (Bahan Baku Tandan Kosong Kelapa Sawit dengan Pretreatment Alkali)". *Jurnal Teknik Kimia. No. 2, Vol. 18*: hal. 17-25.
13. Chapin III, F.S., P.A. Matson, dan H.A. Mooney. 2002. *Principles of Terrestrial Ecosystem Ecology*. Springer-Verlag New York.
14. Chairul dan Yenti, Silvia Reni. 2013. "Pembuatan Bioetanol dai Nira Nipah Menggunakan *Sacharomyces cerevisiae*". *Jurnal Teknobiologi. IV (2)* : 105-108. ISSN : 2087-5428.
15. Khodijah, Siti; Ahmad Abtokhi. 2015. "Analisis Pengaruh Variasi Persentase

- Ragi (*Saccharomyces cerevisiae*) dan Waktu pada Proses Fermentasi dalam Pemanfaatan Duckweed (*Lemna minor*) Sebagai Bioetanol”. *Jurnal Neutrino*. Vol. 7, No. 2.
16. Kurniaty, Ika; Ummul Habibah H; Devi Yustiana; Isnaini Fajriah M. 2017. “Proses Delignifikasi Menggunakan NaOH dan Amonia (NH₃) pada Tempurung Kelapa”. *Jurnal Integrasi Proses*. Vol. 6, No. 4 :197 – 201.
17. Wahono, Satriyo K; Ema Damayanti; Vita Taufika Rosyida; dan Evi Irina Sadyastuti. 2011. “Laju Pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* pada Proses Fermentasi Pembentukan Bioetanol dari Biji Sorgum (*Sorghum bicolor* L.)”. *Seminar Rekayasa Kimia Dan Proses*. ISSN : 1411-4216.

