
REKAYASA GLUKOSA DARI TANDAN KOSONG KELAPA SAWIT MELALUI PROSES FERMENTASI DENGAN *Saccharomyces cerevisiae* MENJADI BIOETANOL

Glucose Engineering of Palm Empty Oil Fruit Bunches Through Fermentation Process by Using *Saccharomyces cerevisiae* Into Bioethanol

Nasruddin

Balai Riset dan Standardisasi Industri Palembang
Jl. Kapten A.Rivai No 92/1975 Palembang 30135
email : nas.bppi@gmail.com

Diterima: 11 Februari 2013, Disetujui: 30 April 2013

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari kinerja *Saccharomyces cerevisiae* merekayasa glukosa menjadi bioetanol. Glukosa berasal dari tandan kosong kelapa sawit yang telah dilakukan *pretreatment* dengan cara delignifikasi dan fermentasi. Larutan glukosa hasil hidrolisis untuk masing-masing perlakuan sebanyak 500 mL difermentasi dengan *S. cerevisiae* (2; 4; 6 dan 8) g, waktu fermentasi (4; 6; 8 dan 10) hari. Hasil fermentasi didestilasi pada suhu $75^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ selama 60 menit. Bioetanol yang dihasilkan diuji yang meliputi : berat jenis dengan menggunakan piknometer dan keasaman diuji dengan metode volumetri. Hasil analisis menunjukkan bioetanol yang terbaik berdasarkan hasil percobaan yang dilanjutkan dengan uji laboratorium didapatkan dari interaksi antar perlakuan untuk waktu hidrolisis dengan *Aspergillus niger* selama 6 hari, fermentasi dengan 4 gram *Saccharomyces cerevisiae* selama 6 hari. Berdasarkan hasil uji bioetanol untuk berat jenis $0,9873 \text{ g/cm}^3$, persentase bioetanol 9,2889% (v/v) dan nilai bilangan asam 1,820 mg/L.

Kata Kunci : Glukosa, *Saccharomyces cerevisiae*, fermentasi, bioetanol

ABSTRACT

This research aims to study the performance of Saccharomyces cerevisiae in glucose engineering into bioethanol. Glucose comes from palm oil empty fruit bunches that had been pretreated by delignification and fermentation. Glucose solution result from hydrolysis for each treatment of 500 ml was fermented with Saccharomyces cerevisiae (2, 4, 6 and 8) g, fermentation time (4, 6, 8 and 10) days. Result of fermentation was distilled at $75^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ for 60 minutes. Bioethanol produced were tested including: specific gravity by using picnometer and acidity was tested by volumetric methods. The analysis showed that the best bioethanol produced in this experiment, followed by laboratory tests obtained from the interaction between treatments for time of hydrolysis by Aspergillus niger for 6 days, with 4 grams of Saccharomyces cerevisiae fermentation for 6 days. Based on the test results of bioethanol obtained density 0.9873 g/cm^3 , percentage of bioethanol 9.2889% (v/v) and acid number value 1.820 mg/L.

Keywords: Glucose, *Saccharomyces. cerevisiae*, fermentation, bioethanol

PENDAHULUAN

Etanol dengan rumus kimia $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ merupakan zat organik dalam kelompok alkohol rantai tunggal, merupakan isomer konstitusional dari dimetil eter. Etanol

digunakan untuk berbagai keperluan antara lain: farmasi, kosmetik dan bioenergi. *Fuel Grade Ethanol* atau etanol kering memiliki berat jenis antara 0,7936-0,7961 ($15,56/15,56^{\circ}\text{C}$), atau berat jenis 0,7871-0,7896 ($25/25^{\circ}\text{C}$), diukur dengan piknometri

atau hidrometri (SNI 7390:2008). Etanol mempunyai panas pembakaran 328 Kkal dan mudah larut dalam air. Etanol dapat dipergunakan sebagai bahan bakar alternatif yang dikenal dengan nama bioetanol.

Karbohidrat dan selulosa mengandung gula sederhana dan pati jika direkayasa dengan menggunakan mikroorganisme melalui proses fermentasi dapat menghasilkan etanol. Karbohidrat dan selulosa dapat diperoleh dari berbagai tumbuh-tumbuhan (Patel *et al*, 2007). Tandan kosong kelapa sawit (TKKS) merupakan salah satu bahan alternatif untuk pembuatan bioetanol. TKKS mengandung selulosa dan lignin masing-masing 45,80% dan 22,60% (Lucy dan Idris, 2011). Selulosa mempunyai sifat mengembang (*sweeling*) jika direaksikan dengan hidroksi logam alkali, garam-garam dalam larutan basa kuat dan senyawa amina (Arnata, 2009).

Etanol umumnya dibuat dengan metode konvensional melalui proses hidrolisis dengan menggunakan asam sulfat atau asam klorida (Lee *et al*, 1997). Hidrolisis merupakan proses dekomposisi kimia dengan menggunakan air sebagai pelarut untuk memotong ikatan kimia dari substansinya. Fengel dan Wegener (1995) menyatakan, hidrolisis asam adalah hidrolisis menggunakan asam sulfat, asam klorida, asam nitrat dan asam lainnya. Metode ini masih mengalami kelemahan antara lain, penggunaan asam dapat menyebabkan korosif terhadap logam. Menurut Kusnadi *et al* (2009), proses hidrolisis dengan asam encer untuk menghasilkan etanol dari bahan baku selulosa yang berasal dari biomassa merupakan proses yang paling konvensional. Selulosa yang terkandung didalam TKKS dapat diuraikan melalui teknologi bioproses dengan melibatkan aktivitas mikroorganisme menjadi persenyawaan kimia lebih sederhana.

Pengembangan teknologi bioproses untuk menghasilkan bioetanol dengan bantuan mikroorganisme sebagai katalis biokimia telah banyak dilakukan. Pemanfaatan kinerja enzim sebagai katalis biokimia dalam pengembangan teknologi bioproses diyakini lebih ramah lingkungan (Pandey *et al*, 2000). Bakteri dan kapang merupakan

kelompok mikroorganisme penghasil enzim selulase yang mempunyai kemampuan untuk menghidrolisis selulosa untuk digunakan sebagai sumber energi (Enari, 1983). Rekayasa glukosa dari TKKS untuk menghasilkan bioetanol pada kegiatan penelitian ini dilakukan dengan melibatkan mikroorganisme *Saccharomyces cerevisiae* (*S.cerevisiae*).

Penelitian pembuatan bioetanol dari TKKS telah banyak dilakukan oleh para peneliti sebelumnya antara lain: Suyanto (2010), telah melakukan penelitian TKKS pada berbagai temperatur pada hot-compressed water temperatur 220°C waktu 30 menit dilanjutkan dengan sakarifikasi menggunakan *accromonium cellulase* dan optimasi BG serta fermentasi dengan *S.cerevisiae* IR-2 menghasilkan 0,12 ml/g bioethanol. Eni (2008) telah melakukan optimasi proses hidrolisis kimiawi dan enzimatik TKKS, hidrolisis secara kimia menghasilkan bioetanol 1,82% sedangkan hidrolisis secara enzimatik dengan *Trichoderma* sp dilanjutkan dengan *S.cerevisiae* secara simultan menghasilkan bioetanol 0,33%.

S.cerevisiae tergolong ke dalam kelompok mikroorganisme penghasil enzim selulase yang mempunyai kemampuan dapat merekayasa glukosa secara cepat menjadi bioetanol. Mikroorganisme ini mempunyai keunggulan yang dapat menghasilkan bioetanol dengan produktivitas yang lebih tinggi, tahan terhadap konsentrasi etanol tinggi dan substrat yang tinggi, selain itu dapat memfermentasi sukrosa menjadi glukosa (Khaswar, 2007). Penggunaan enzim sebagai katalis biokimia pada pengembangan teknologi bioproses diduga mempunyai keunggulan yang dapat mempersingkat waktu reaksi dengan hasil produk yang lebih baik dan ramah lingkungan.

Enzim selulase sebagai katalis terdiri endo-1,4--glukanase, ekso-1,4--glukanase, dan -D-glukanase. Keunggulan enzim ini dapat memotong ikatan rantai selulosa menjadi molekul selulosa yang lebih pendek, ekso-1,4--glukanase dapat memotong ujung rantai selulosa yang menghasilkan molekul selobiosa, sedangkan -D-glukanase memotong molekul selobiosa menjadi dua molekul glukosa. Selulosa merupakan

polimer glukosa dengan rantai linier yang terdiri dari satuan glukosa anhidrida yang saling berikatan melalui atom karbon pertama dan keempat, ikatan yang terbentuk disebut dengan ikatan -1,4 glikosidik (Arnata, 2009).

Kinerja enzim selulase sebagai katalis biokimia pada kegiatan penelitian ini bertujuan untuk menghidrolisis selulosa menjadi glukosa, selanjutnya glukosa direkayasa dengan *S.cerevisiae* melalui proses fermentasi untuk dikonversi menjadi bioetanol. Diharapkan kinerja enzim selulase dari *S.cerevisiae* dapat meningkatkan konsentrasi bioetanol yang dihasilkan dengan berat jenis sesuai dengan standar berat jenis bioetanol.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan antara lain : TKKS, NaOH, *Trichoderma viride*, *Aspergillus niger*, *S.cerevisiae* dan glukosa dari tandan kosong kelapa sawit.

Peralatan

Peralatan yang digunakan antara lain : autoclave, fermentor, destilator, pengukur temperatur, neraca analitis, gelas ukur, alat pengujian kadar glukosa dan piknometer.

Prosedur dan Rancangan Percobaan

TKKS dengan kadar air $10\% \pm 2\%$ ditimbang (w_{TKKS}) 10 kg lalu didelignifikasi dengan larutan NaOH 8% didalam autoclave selama 100 menit. Cuci dengan air sampai pH antara 6,5 – 7,5 dan difermentasi dengan kapang *Trichoderma viride* selama 4 hari. Selanjutnya dihidrolisis dengan *Aspergillus niger* 35% w/w dengan variasi waktu (t_n) 4 hari dan 6 hari. Larutan glukosa hasil hidrolisis untuk masing-masing perlakuan sebanyak 500 ml difermentasi dengan *S.cerevisiae* ($w_{S.cerevisiae}$) (2; 4; 6 dan 8) g, waktu fermentasi (t_f) (4; 6; 8 dan 10) hari. Hasil fermentasi didestilasi pada suhu $75^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$ selama 60 menit. Penentuan kadar bioetanol berdasarkan berat jenis dengan piknometer.

Masing-masing perlakuan diulang 2

kali, jika hasil anova menunjukkan signifikan dilanjutkan dengan uji Duncan New Multiple Range Test (DNMRT) pada 5% menggunakan program stastika 7. Model linier dari rancangan percobaan dituliskan dengan persamaan (1) (Steel dan Torrie, 1991):

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \delta_k + (\alpha\beta)_{ij} + (\alpha\delta)_{ik} + (\beta\delta)_{jk} + (\alpha\beta\delta)_{ijk} + \varepsilon_{ijk} \dots\dots\dots (1)$$

Keterangan :

- μ = rata-rata respon
- α = pengaruh faktor W_{th} taraf ke i
- β = pengaruh faktor $C_{S.cerevisiae}$ taraf ke j
- δ = pengaruh faktor t_f taraf ke k
- ijk = galat percobaan

Parameter yang Diamati

Parameter yang diamati meliputi berat jenis, konsententrasi bioetanol hasil destilasi dan keasaman sebagai CH_3COOH . Analisis terhadap parameter yang diamati dilakukan melalui pendekatan dengan persamaan berikut ini :

1. Perhitungan berat Jenis bioetanol (SNI 3565:2009)

$$\text{Berat jenis pada } 15^\circ\text{C} = \dots\dots\dots (2)$$

- Keterangan : $\frac{a}{b}$
 a = berat contoh (gram);
 b = berat H_2O (gram)

2. Perhitungan bioetanol (Farmakope Indonesia, 1979)

Persen bioetanol: $\dots\dots\dots (3)$

- Keterangan : $C = A \cdot \left(\frac{b-a}{c-a} \right) (A - B)$
 C = Kadar alkohol
 A = Kadar alkohol tabel sampel yang rendah dari tabel
 B = Kadar alkohol tabel yang tinggi dari tabel
 a = Berat jenis tabel konsentrasi lebih kecil dari tabel
 b = Berat jenis sampel
 c = Berat jenis tabel konsentrasi alkohol yang tinggi dari tabel

3. Perhitungan keasaman sebagai asam

asetat (SNI 3565:2009)

$$Keasaman = V_x N_x 60 x \left(\frac{1000}{20} \right) (mg/L) \dots\dots (4)$$

Keterangan :

- v = volume titeran (ml)
- N = normalitas titeran (ek/L)
- 60 = berat equivalen asam asetat

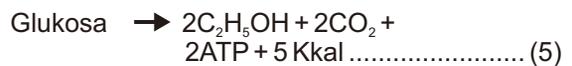
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh waktu fermentasi dan berat *S.cerevisiae* terhadap berat jenis bioetanol

Waktu fermentasi terhadap rekayasa glukosa oleh *S.cerevisiae* menjadi bioetanol berpengaruh nyata terhadap berat jenis bioetanol yang dihasilkan. Adanya pengaruh lamanya waktu fermentasi terlihat dari hasil uji untuk parameter berat jenis dari seluruh interaksi antar perlakuan. Berdasarkan hasil uji berat jenis terhadap bioetanol yang dilanjutkan dengan uji ANOVA dan uji *Duncan New Multiple Range Test (DNMRT)* pada 5% dengan menggunakan program stastika 7 mempunyai perbedaan cukup

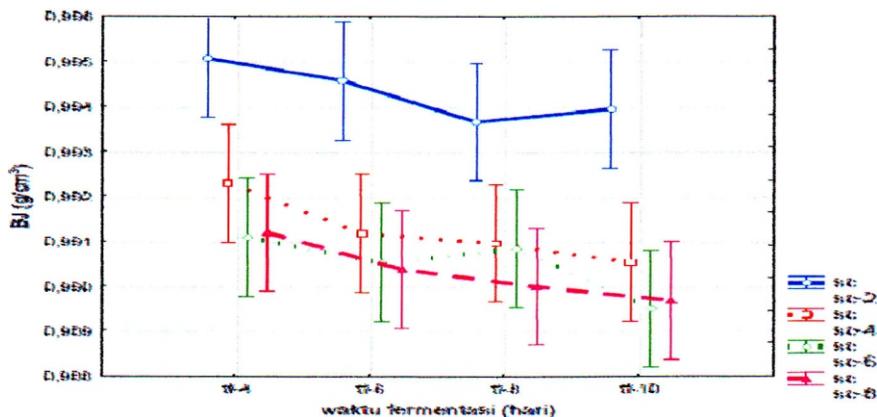
signifikan antara interaksi perlakuan dengan bar vertikal menunjukkan interval kepercayaan 0,95% (Gambar 1 dan Gambar 2).

Fermentasi glukosa dari TKKS dengan melibatkan kinerja *S.cerevisiae* penghasil enzim selulase merupakan cara untuk merekayasa substrat menjadi produk berupa bioetanol. Kinerja *S.cerevisiae* melalui proses fermentasi untuk merekayasa glukosa menjadi bioetanol secara sederhana diperlihatkan pada reaksi (5) (Arnata, 2009).



Dari reaksi (5), 70% energi bebas yang dihasilkan dibebaskan sebagai panas dan secara teoritis 100% karbohidrat diubah menjadi 51,1% etanol dan 48,9% menjadi CO₂ (Arnata, 2009). Lamanya waktu fermentasi glukosa oleh *S.cerevisiae* dari TKKS berdampak pada pemotongan rantai karbon oleh kinerja enzim selulase menjadi rantai karbon yang lebih sederhana (Persamaan 4).

Berdasarkan dari hasil pengukuran



Gambar 1. Pengaruh waktu fermentasi terhadap berat jenis bioetanol

untuk berat jenis menunjukkan, lamanya waktu fermentasi (Gambar 1) dan perbedaan berat *S.cerevisiae* (Gambar 2) berdampak langsung terhadap perubahan perbedaan berat jenis dari bioetanol yang diikuti juga oleh peningkatan gas CO₂ dari masing-masing interaksi antar perlakuan. Lamanya waktu fermentasi seperti terlihat pada Gambar 1, berbanding lurus dengan waktu tinggal *S.cerevisiae* untuk mereka-

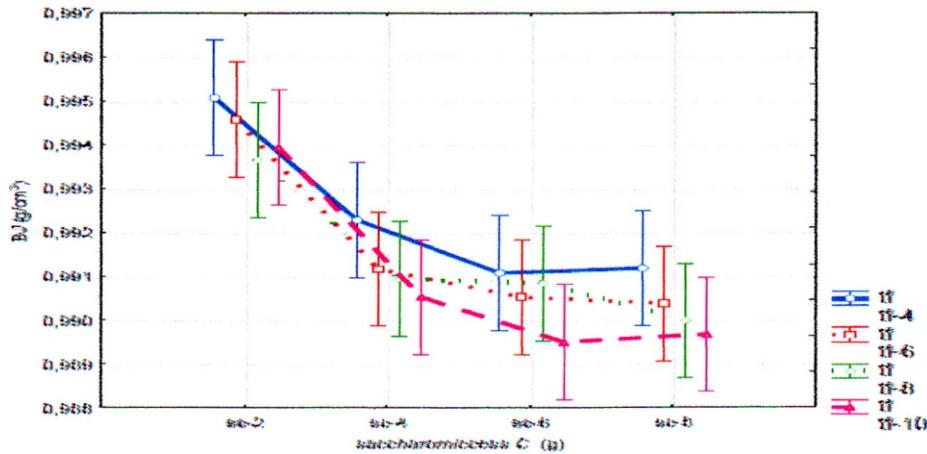
yasa glukosa menjadi bioetanol. Waktu fermentasi merupakan waktu kinerja enzim selulase untuk melakukan aktivitasnya menguraikan glukosa menjadi alkohol (Gambar 1 dan Persamaan 4).

Hasil pengukuran berat jenis seperti terlihat pada Gambar 1 menunjukkan bahwa, berat jenis bioetanol telah terjadi penurunan yang cukup signifikan terhadap waktu fermentasi untuk semua interaksi antar perlakuan. Penurunan nilai berat jenis

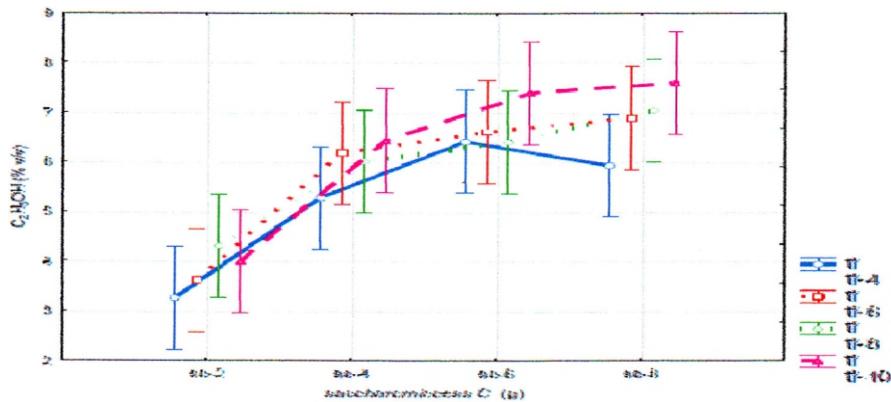
(Gambar 1) disebabkan oleh semakin lama waktu fermentasi dan kenaikan berat *S.cerevisiae* (Gambar 2), karena dengan konsentrasi umpan glukosa yang tetap, bioetanol yang dihasilkan persentasenya mengalami peningkatan (Gambar 3). Hal ini disebabkan semakin lamanya waktu fermentasi maka semakin banyak glukosa

yang terkonversi oleh enzim selulase yang dihasilkan oleh *S.cerevisiae*. Namun, jumlah bioetanol berdasarkan perhitungan dengan konversi dari berat jenis mengalami titik optimum pada penambahan berat *S.cerevisiae* 8 gram (Gambar 3).

Hasil uji berat jenis bioetanol dari



Gambar 2. Pengaruh berat *S.cerevisiae* terhadap BJ bioetanol



Gambar 3. Pengaruh berat *S.cerevisiae* terhadap persentase bioetanol

seluruh interaksi antar perlakuan menunjukkan, untuk perlakuan waktu hidrolisis dengan *Aspergillus niger* selama 4 hari yang dilanjutkan dengan fermentasi dengan 2 gram *S.cerevisiae* selama 4 hari berat jenis reratanya sangat tinggi yaitu $0,9985 \text{ g/cm}^3$ (Gambar 1) mendekati berat jenis air. Berat jenis ini sangat tinggi jika dibandingkan dengan interaksi perlakuan yang lainnya. Hal ini terlihat bahwa, interaksi antar seluruh perlakuan untuk waktu fermentasi selama 4 hari dengan 2 gram *S.cerevisiae* rantai karbon glukosa belum

secara tuntas dapat direkayasa menjadi rantai karbon sederhana ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) seperti terlihat pada reaksi diatas (Persamaan 4).

Pengaruh perbedaan berat *S.cerevisiae* dari seluruh interaksi antar perlakuan berdasarkan hasil uji berat jenis yang dilanjutkan uji ANOVA dan uji *Duncan New Multiple Range Test* (DNMRT) pada 5% menggunakan program stastika 7 mempunyai perbedaan yang cukup signifikan antar interaksi perlakuan dengan bar vertikal menunjukkan interval tingkat kepercayaan 0,95%.

Gambar 1 dan Gambar 2 merupakan hubungan interaksi antar perlakuan yang

menggambarkan keterkaitan antara waktu hidrolisis, berat *S.cerevisiae* dan waktu fermentasi untuk merekayasa glukosa menjadi bioetanol. Gambar 2 memperlihatkan, kinerja *S.cerevisiae* dari hasil percobaan lebih efektif dengan berat *S.cerevisiae* optimum (8 gram) untuk merekayasa glukosa menghasilkan bioetanol. Untuk mengetahui kinerja *S.cerevisiae* untuk menghasilkan berat jenis bioetanol yang mendekati berat jenis bioetanol menurut SNI 7390:2008 dapat dilakukan melalui pendekatan dengan cara pengukuran berat jenis bioetanol dari masing-masing interaksi seluruh perlakuan.

Hasil pengukuran berat jenis bioetanol dari masing-masing interaksi antar perlakuan yang mendekati berat jenis bioetanol (SNI 7390:2008), didapat untuk waktu hidrolisis dengan *Aspergillus niger* selama 6 hari, fermentasi dengan 4 gram *S.cerevisiae* selama 6 hari berat jenis bioetanolnya adalah $0,9873 \text{ g/cm}^3$. Pada interaksi antar perlakuan ini memperlihatkan berat *S.cerevisiae* dan lamanya waktu fermentasi dapat menguraikan glukosa menjadi rantai karbon lebih sederhana. Fermentasi merupakan proses perubahan dari glukosa menjadi alkohol (Lee, 1992).

Pengukuran berat jenis dapat menggambarkan konsentrasi bioetanol yang dihasilkan, dimana hubungan tersebut terlihat dari penurunan berat jenis akan berbanding terbalik dengan terjadinya kenaikan persentase bioetanol yang dihasilkan. Berat jenis yang rendah menggambarkan rekayasa glukosa oleh *S.cerevisiae* yang lebih baik menjadi bioetanol. Untuk berat jenis $0,9985 \text{ g/cm}^3$ bioetanol reratanya dari 3 kali ulangan berdasarkan hasil perhitungan adalah $0,8500\%$ (v/v), sedangkan untuk berat jenis $0,9873 \text{ g/cm}^3$ bioetanol reratanya dari 3 kali ulangan $9,1167\%$ (v/v). Hal ini terlihat bahwa telah terjadi kenaikan persentase bioetanol sebesar 10,7255 kali dari berat jenis $0,9985 \text{ g/cm}^3$ ke berat jenis $0,9873 \text{ g/cm}^3$. Waktu fermentasi yang optimum jika dilihat dari berat jenis yang dihasilkan antara seluruh interaksi perlakuan adalah 6 hari. Sedangkan waktu fermentasi optimum menurut Jumari (2009) adalah 10 hari.

Pembuatan bioetanol dengan bahan dasar glukosa dari TKKS melalui proses

hidrolisis, fermentasi dan destilasi dapat merekayasa glukosa menjadi bioetanol dengan bantuan bakteri *S.cerevisiae* dengan menghasilkan perbedaan berat jenis bioetanol dari masing-masing interaksi antar perlakuan. Untuk proses destilasi merupakan proses pemurnian bioetanol dari hasil fermentasi berdasarkan fraksi temperatur destilasi (80°C). Destilasi pada temperatur ini memungkinkan bioetanol akan mengalami penguapan terlebih dahulu. Hal ini disebabkan rantai karbon bioetanol dengan berat molekul terendah ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) akan mengalami penguapan terlebih dahulu. Etanol memiliki massa jenis $0,7893 \text{ g/ml}$ dengan titik didih pada tekanan atmosfer adalah $78,32^\circ\text{C}$ (Ronny, 2011).

Pengaruh berat *S.cerevisiae* terhadap persentase bioetanol

Perbedaan berat *S.cerevisiae* dan lamanya waktu fermentasi dan interaksi antar seluruh perlakuan berdasarkan dari hasil uji statistik berbeda cukup signifikan. Uji statistik yang dilakukan dengan uji anova dan uji Duncan New Multiple Range Test (DNMRT) pada 5% dengan program stastika 7 bioetanol yang dihasilkan mempunyai perbedaan cukup signifikan antar interaksi perlakuan dengan bar vertikal menunjukkan interval tingkat kepercayaan 0,95% (Gambar 3).

Gambar 3 memperlihatkan dengan adanya penambahan berat *S.cerevisiae* maka diiringi juga oleh peningkatan persentase bioetanol yang dihasilkan dan mendekati konstan pada penambahan 4 gram menuju 8 gram. Persentasi bioetanol yang optimum ($9,2889\%$ v/v) dihasilkan dari perlakuan waktu hidrolisis dengan *Aspergillus niger* selama 6 hari yang dilanjutkan dengan fermentasi 6 gram *S.cerevisiae* selama 6 hari. Berdasarkan lamanya waktu fermentasi berpengaruh nyata terhadap kinerja *S.cerevisiae* untuk merekayasa glukosa menjadi bioetanol. Dari semua interaksi antar perlakuan hasil bioetanol terendah berdasarkan hasil uji didapat dari perlakuan waktu hidrolisis dengan *Aspergillus niger* selama 4 hari yang dilanjutkan dengan fermentasi dengan 2 gram *S.cerevisiae* selama 4 hari. Bioetanol yang dihasilkan dari perlakuan ini adalah

0,85% (v/v) lebih rendah 10,93 kali jika dibandingkan dengan perlakuan waktu hidrolisis dengan *Aspergillus niger* selama 6 hari, 6 gram *S.cerevisiae* dan fermentasi 6 hari. Berdasarkan hasil penelitian Dyrah dan Nuri, (2011), waktu optimum fermentasi 144 jam dengan kadar etanol 13,5406%.

Rendahnya kadar bioetanol hal ini disebabkan oleh waktu yang tidak cukup untuk merekayasa glukosa oleh *S.cerevisiae* dan pada waktu hidrolisis selama 2 hari. Waktu hidrolisis selama 2 hari merupakan fase waktu adaptasi *S.cerevisiae* terhadap media sangat singkat, sehingga glukosa yang terkonversi oleh *S.cerevisiae* menjadi bioetanol rendah (gambar 3). Menurut Budiyanto (2003) konsentrasi gula yang optimum untuk menghasilkan kadar alkohol yang optimum adalah 14%-28% (v/v). Lamanya waktu fermentasi > 8 hari kemungkinan akan terjadi penurunan bioetanol yang dihasilkan. Dimana *S.cerevisiae* kemungkinan akan memasuki fase kematian akibat dari bioetanol yang dihasilkan dengan konsentrasi tinggi sehingga bersifat racun dan menghambat pertumbuhan *S.cerevisiae*. Selain itu lamanya waktu fermentasi akan terbentuk persenyawaan kimia berupa CH_3COOH yang dapat menghambat kinerja *S.cerevisiae* untuk merekayasa glukosa menjadi bioetanol karena CH_3COOH yang terbentuk bersifat racun terhadap *S.cerevisiae*. Selain itu lamanya waktu fermentasi akan terbentuk H^+ yang terdapat dalam media, sehingga waktu fermentasi yang lama akan berpengaruh terhadap penurunan pH media. Waktu fermentasi yang lama akan berpeluang terjadi penguapan alkohol yang dihasilkan ke udara bebas selama waktu fermentasi berlangsung.

Hal lain disebabkan karena glukosa yang tersedia tidak seluruhnya dapat direkayasa atau dikonversi menjadi bioetanol karena sebagian glukosa digunakan oleh *S.cerevisiae* untuk mempertahankan hidupnya, sehingga kenaikan konsentrasi bioetanol yang dihasilkan mengalami penurunan terutama pada penambahan berat *S.cerevisiae* 8 gram. Kinerja *S.cerevisiae* untuk merekayasa glukosa menjadi bioetanol dipengaruhi oleh lamanya waktu fermentasi dan rasio antara waktu fermentasi dan jumlah *S.cerevisiae* yang

ditambahkan.

Selain itu, lamanya waktu fermentasi berdampak pada penurunan konsentrasi glukosa namun sebaliknya persentase etanol dapat mengalami peningkatan. Hal ini disebabkan karena lamanya waktu kontak maka kinerja *S.cerevisiae* semakin optimal sehingga pengkonversian glukosa menjadi bioetanol mengalami peningkatan. Dari Gambar 3 terlihat bahwa, persentase bioetanol yang dihasilkan mengalami peningkatan seiring dengan bertambahnya berat *S.cerevisiae* dan lamanya waktu fermentasi yang optimum. Bioetanol yang dihasilkan pada berat *S.cerevisiae* 8 gram berdasarkan uji dengan program statistika 7 sangat berbeda nyata dengan bar vertikal menunjukkan interval tingkat kepercayaan 0,95% dengan berat *S.cerevisiae* dari interaksi antar perlakuan yang lainnya.

Jika dilihat dari pencapaian kondisi optimum untuk persentase bioetanol yang dihasilkan dari interaksi antar perlakuan yaitu lamanya waktu fermentasi dan peningkatan jumlah *S.cerevisiae* yang ditambahkan maka untuk mencapai kondisi optimum perolehan bioetanol dari Gambar 1 dan 2 maka pada Gambar 3 terlihat kondisi optimum adalah 6 gram *S.cerevisiae* dengan waktu fermentasi selama 8 hari. Gambar 3 menunjukkan hubungan antara berat *S.cerevisiae* dan persentase bioetanol yang dihasilkan selama proses fermentasi pada waktu fermentasi yang berbeda. Dari Gambar 3 terlihat bahwa adanya perbedaan konsentrasi bioetanol yang cukup signifikan dimana pada berat *S.cerevisiae* 8 gram, bioetanol yang dari hasil pengukuran berdasarkan konversi dari berat jenis mempunyai perbedaan yang cukup signifikan dari perlakuan waktu fermentasi dan berat *S.cerevisiae* yang lainnya. Pada waktu fermentasi selama 8 hari dengan berat *S.cerevisiae* 8 gram, kondisi bioreaktor dengan pH pertumbuhan *S.cerevisiae* yang lebih baik sehingga jumlah bioetanol yang didapatkan selama proses fermentasi berlangsung lebih banyak. Hal tersebut memungkinkan persentase bioetanol yang terukur pada sampel lebih optimum.

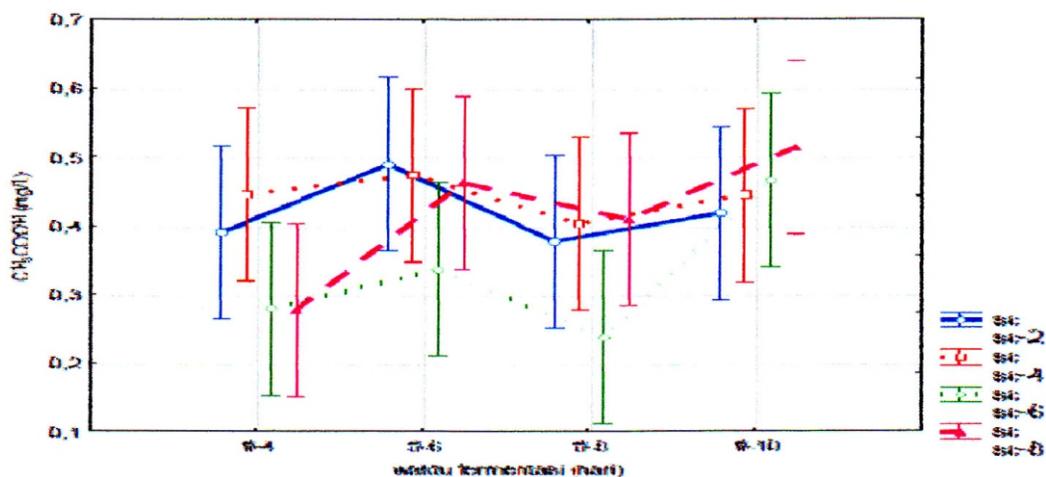
Pengaruh waktu fermentasi terhadap keasaman bioetanol

Interaksi antar perlakuan (waktu hidrolisis, berat *S.cerevisiae* dan waktu fermentasi) berpengaruh signifikan terhadap perubahan nilai keasaman. Nilai keasaman akan mempengaruhi kinerja *S.cerevisiae* untuk melakukan rekayasa glukosa menjadi bioetanol. pH yang optimum untuk pertumbuhan khamir adalah 4-4,5 (Budiyanto, 2003).

Gambar 4 memperlihatkan, nilai asam berfluktuasi yaitu cenderung naik dan turun, hal ini menunjukkan laju pembentukan asam dipengaruhi oleh interaksi antar perlakuan

dan kinerja *S.cerevisiae* pada saat mereka-yasa glukosa menjadi bioetanol dan gas karbon dioksida. Perubahan nilai asam kemungkinan terjadi pada saat fermentasi berlangsung yang disebabkan oleh tumbuhnya bakteri penghasil asam laktat. Bakteri asam laktat merupakan mikrobial alami yang ada di dalam bahan dan memiliki peran penting dalam proses fermentasi (Helen, 2012).

Gambar 4 menunjukkan hubungan antara waktu fermentasi dengan pertumbuhan kinerja *S.cerevisiae* dan perubahan



Gambar 4. Pengaruh waktu fermentasi terhadap keasaman bioetanol

nilai asam. Pengaruh waktu fermentasi terhadap nilai asam untuk perlakuan waktu hidrolisis 6 hari, berat *S.cerevisiae* 8 gram dengan waktu fermentasi selama 10 hari nilai asam bioetanolnya adalah 2,6776 mg/L lebih tinggi jika dibandingkan dengan semua interaksi antar perlakuan. Nilai asam yang tinggi kemungkinan disebabkan telah terjadi perubahan glukosa oleh bakteri penghasil asam asetat yang mempengaruhi kenaikan nilai asam. Lamanya waktu fermentasi selama 10 hari bioetanol yang terbentuk kemungkinan mengalami perubahan menjadi asam asetat dan asam laktat oleh kinerja bakteri. Dengan adanya kenaikan asam cenderung hasil fermentasi bergeser menuju kearah pH ≤ 4 . Mirdamadi *et al.* (2002) menyebutkan bahwa glukosa adalah sumber karbon yang paling baik dalam produksi asam laktat oleh *R. oryzae*.

Glukosa merupakan sumber energi dan sumber karbon bagi *R. oryzae*. Sebagai sumber energi, glukosa difermentasi oleh *R.*

oryzae menjadi asam laktat, etanol dan asam organik lainnya, serta menghasilkan energi. Sedangkan sebagai sumber karbon, glukosa diubah menjadi biomassa oleh *R. oryzae*. Oleh karena itu konsumsi glukosa dan biomassa sampai 24 jam fermentasi tertinggi diperoleh dari medium tanpa kontrol pH dan dengan kontrol pH 6 (Idayu, 2004).

Perubahan nilai asam (Gambar 4) selama fermentasi meningkat seiring dengan lamanya waktu fermentasi. Setelah 8 hari fermentasi berlangsung peningkatan nilai asam cenderung mengalami peningkatan yang cukup signifikan hingga fermentasi pada hari ke 10. Sementara untuk waktu fermentasi pada hari keempat nilai keasaman cenderung mulai mengalami peningkatan menuju hari keenam, sementara pada hari keenam menuju hari kedelapan fermentasi nilai bilangan asam mempunyai kecenderungan untuk semua perlakuan mengalami penurunan cukup signifikan. Dari hasil analisis menunjukkan pada hari kedelapan fermentasi nilai

keasaman 1,82 mg/L (waktu hidrolisis 4 hari, berat *S.cerevisiae* 8 gram dengan waktu fermentasi 8 hari). Fenomena ini disebabkan pada hari ke delapan fermentasi berlangsung terjadi nilai keseimbangan antara bioetanol yang dihasilkan dengan nilai pH pertumbuhan *S.cerevisiae* mendekati pH 4,9. Menurut Mahreni (2011) pH terbaik untuk pertumbuhan *S.cerevisiae* adalah pada pH 5. Pengkondisian pH secara kontinyu pada medium selama fermentasi berlangsung akan meningkatkan kinerja *S.cerevisiae* untuk merekayasa glukosa menjadi bioetanol.

KESIMPULAN

Rekayasa glukosa dari tandan kosong kelapa sawit yang difermentasi dengan *S.cerevisiae* berdasarkan hasil percobaan dapat memotong rantai karbon glukosa menjadi bioetanol dan gas karbon dioksida. Kondisi operasi (waktu hidrolisis, berat *S.cerevisiae* dan waktu fermentasi sangat berpengaruh nyata terhadap kinerja *S.cerevisiae* untuk menghasilkan bioetanol. Berdasarkan hasil analisis menunjukkan, kondisi optimum *S.cerevisiae* yang terbaik untuk merekayasa glukosa menjadi bioetanol didapatkan dari hasil percobaan dengan interaksi antar perlakuan yaitu untuk waktu hidrolisis dengan *Aspergillus niger* selama 6 hari, fermentasi dengan 4 gram *S.cerevisiae* selama 6 hari. Karakteristik sifat fisika kimia bioetanolnya adalah untuk berat jenis 0,9873 g/cm³, persentase bioetanol 9,2889% (v/v) dan nilai bilangan asam 1,820 mg/L. Disarankan perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mendapatkan berat jenis etanol 0,7871-0,7896 (25/25°C) sesuai dengan SNI 7390:2008 dengan cara mendapatkan enzim yang lebih baik kinerjanya untuk memotong glukosa menjadi bioetanol.

UCAPAN TERIMA KASIH

1. Kepala Baristand Industri Palembang yang telah memberikan fasilitas penelitian
2. Kepala Baristand Padang beserta Dewan Redaksi yang memberikan kesempatan memuat Karya Tulis Ilmiah ini pada Jurnal Baristand Industri Padang.

3. Teman dari Laboratorium Mikrobiologi dan Teknologi Proses Baristand Industri Palembang yang telah membantu terlaksananya kegiatan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Arnata, I.W. 2009. Pengembangan Alternatif Teknologi Bioproses Pembuatan Bioetanol dari Ubi Kayu Menggunakan *Trichoderma viride*, *Aspergillus niger* dan *Saccharomyces cerevisiae*. Tesis Sekolah Pasca sarjana Institut Pertanian Bogor. <http://repository.ipb.ac.id>. Diakses tanggal 11 November 2012.
- Badan Standardisasi Nasional. SNI 7390:2008. Bioetanol Terdenaturasi Untuk Gasohol
- Badan Standardisasi Nasional. SNI 3565:2009. Etanol Nabati
- Budiyanto, M. A. K. 2003. Mikrobiologi Terapan. Malang: UMM Press.
- Dyah, T. R dan W. Nuri. 2011. Pembuatan Bioetanol dari Kulit Pisang. Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan". Pengembangan Teknologi Kimia untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia. <http://repository.upnyk.ac.id>. Diakses tanggal 11 November 2012.
- Enari, T.M. 1983. Microbial Cellulase. Di dalam W. M. Fogarty (ed). Microbial Enzyme and Biotechnology Applied S cerevisiaeience Publisher. New York.
- Eni, H.L. 2008. Optimasi Proses Hidrolisis Kimiawi dan Enzimatis Tandan Kosong Kelapa Sawit Menjadi Glukosa untuk Produksi Etanol. Tesis Sekolah Tinggi Paca sarjana Institut Pertanian Bogor. <http://repository.ipb.ac.id>. Diakses tanggal 25 Juni 2012.
- Farmakope Indonesia. 1979. Edisi Ketiga. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Fengel D., Wegener, G. 1995. *Kayu : Kimia, Ultrastruktur, Reaksi-reaksi*, Penerbit UGM, Yogyakarta.

- Helen, J.L. 2012. Keanekaragaman Bakteri Asam Laktat Penghasil Antimikrobia Selama Proses Fermentasi Bakasang. Disertasi Universitas Gajah Mada Yogyakarta. <http://lib.ugm.ac.id>. Diakses tanggal 22 Januari 2013.
- Idayu, R.P., Tyahyadi, P dan A. Pangastuti. 2004. Pengaruh Pengaturan pH dengan CaCO₃ terhadap Produksi Asam Laktat dari Glukosa oleh *Rhizopus oryzae*. *Bioteknologi* 1 (1): 19-24. <http://biosains.mipa.uns.ac.id>. Diakses tanggal 25 Oktober 2012.
- Jumari, A, W.A. Wibowo, Handayani, dan A. Ariyani. 2009. Pembuatan etanol dari jambu mete dengan metode fermentasi. *Jurnal Fakultas Teknik Kimia UNS Solo*.
- Khaswar, S. 2007. Rekayasa Bioproses Produksi Bioethanol dari Hidrolisat Pati Ubi Jalar (*Ipomoea batatas* L) Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*. Laboratorium Rekayasa Bioproses, Pusat Penelitian Sumberdaya Hayati dan Bioteknologi, IPB. <http://repository.ipb.ac.id>. Diakses tanggal 11 Oktober 2012.
- Kusnadi, Syulasma, A., Adisenjaya, Y. H. 2009. Pemanfaatan Sampah Organik Sebagai Bahan baku Produksi Bioetanol Sebagai Energi Alternatif, Laporan Penelitian Strategi Nasional, Universitas Pendidikan Indonesia, Bandung.
- Lee, M.J. 1992. *Biochemical Engineering*. Prentice-Hall, Inc. New Jersey
- Lee, S. S., J. K. Ha, H. S. Kang, T. McAllister, and K.-J. Cheng. 1997. *Overview of energy metabolism, substrate utilization and fermentation characteristics of ruminal anaerobic fungi*. *Korean J. Anim. Nutr. Feedstuffs* 21:295–314.
- Lucy, A dan N Idiawati. 2011. Penentuan Lignin dan Kadar Glukosa Dalam Hidrolisis Organosolv Dan Hidrolisis Asam. *Sains dan Terapan Kimia*, Vol.5, No. 2 (Juli 2011), 140-150.
- Mahreni dan S. Suhenry. 2011. Kinetika Pertumbuhan Sel *Sacharomyces Cerevisiae* Dalam Media Tepung Kulit Pisang. Seminar Rekayasa Kimia Dan Proses. <http://repository.upnyk.ac.id>. Diakses tanggal 6 November 2012.
- Mirdamadi, S., H. Sadeghi, N. Sharafi, M. Fallahpour, F. Mohseni, and M.R. Bakhtiari. 2002. Comparison of lactic acid isomers produced by fungal and bacterial strains. *Iran Biomedic Journal* 6 (2&3): 69-75.
- Pandey, A. Soccol, C.R. Nigam, P. And Soccol, V.T. 2000. Biotechnological potential of agro-industrial residues. *Sugarcane bagasse*. *Bioresour Technol.* 74: 69-80
- Patel, S.J., R. Onkarappa, and K.S. Shobha. 2007. Study of ethanol production from fungal pretreated wheat and rice straw. *The Internet Journal of Microbiology* 4 (1): www.ispub.com. Diakses tanggal 16 November 2012.
- Ronny. K, S. Juhanda, R. Syamsudin dan M.A. Lukman. 2011. Pengaruh Jenis dan Kecepatan Pengaduk pada Fermentasi Etanol Secara Sinambung dalam Bioreaktor Tangki Berpengaduk Sel Tertambat. <http://lib.itenas.ac.id>. Diakses tanggal 5 November 2012.
- Suyanto. 2010. Proses Produksi Bioetanol dari Tandan Kosong Kelapa Sawit dengan Hot-Compressed-Water. Seminar Rekayasa Kimia dan Proses Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Diponegoro Semarang. (B-11-1 – B-11-4).
- Steel, R.G.D, dan J.H. Torrie. 1991. Prinsip dan Prosedur Statistika Suatu Pendekatan Biometrik. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.