

Pemanfaatan Jerami Sisa Produk Pertanian sebagai Bahan Dasar Produksi Etanol Secara Fermentasi (Optimasi Produksi Berdasarkan Perbedaan Konsentrasi Inokulum dan Lama Fermentasi)

Akmal Djamaan¹, Mahrani Napitupulu² dan Krisyanella²

1. Fakultas Farmasi Universitas Andalas Padang

2. Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFARM) Padang

Abstract

Research about exploiting of straw as component of ethanol as fermentation based on difference able of inoculums concentration and fermentation time has been studied. Straw utilized in this research is result of agriculture raffle from rice plant type IR 46, which taken away from rice field the district of Lubuk Minturun, Padang. The first, stage hydrolysis was done to straw using H₂SO₄ P 1% with various time 30, 60, 120, 180 and 240 minute and determined glucose produced for each sample. The fermentation of ethanol by using *Saccharomyces cereviceae* bacterium were conducted at temperature 30°C with speed 100 rpm. Sampling was taking every 6 hours (6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54, 60, 66). The inoculum's grade level is variation by 1, 2, 3% $\frac{v}{v}$. Results showed that the optimum hydrolysis time wich mark by highest glucose rate is minute 240 with grade level 0.7765 %. The highest ethanol grade of which can be yielded with inoculum 1% was 0.02066 % $\frac{v}{v}$ at yeast inoculum 2 % was of 0.02549 % $\frac{v}{v}$ and yeast inoculum 3 % was of 0.07804 % $\frac{v}{v}$.

Keyword : straw, ethanol, fermentation

Pendahuluan

Pertambahan jumlah penduduk menyebabkan meningkatnya kebutuhan akan sarana transportasi dan sarana industri, yang berakibat pada peningkatan kebutuhan bahan bakar minyak (BBM). Bahan bakar minyak tersebut berasal dari energi fosil yang cadangannya terus menipis dan tidak dapat diperbaharui. Hal ini menyebabkan krisis energi, yang ditandai dengan melambungnya harga minyak, sehingga orang harus mencari bahan bakar alternatif. Bahan bakar alternatif tersebut adalah bahan bakar yang memiliki gas buangan yang ramah lingkungan. Salah satu bahan bakar alternatif yang ramah lingkungan adalah bioetanol. Bioetanol merupakan bahan bakar yang berasal dari tumbuhan dan hasil pembakarannya dapat difotosintesis kembali oleh tumbuhan (Achmadi,1989; Ariestaningtyas,1991).

Ada banyak tumbuh-tumbuhan di negeri ini yang bisa dimanfaatkan untuk menjadi pengganti BBM fosil, jenis tumbuh-tumbuhan yang bisa diolah menjadi bioetanol, antara lain : bahan berpati, seperti : ubi kayu atau singkong, ubi jalar, sagu, biji jagung, biji sorgum, gandum, kentang, ganyong, garut, umbi

dahlia. Bahan bergula, seperti : molasses (tetes tebu), nira tebu, nira kelapa, nira batang sorgum manis, nira aren, nira nipah, gewang, nira lontar dan bahan berselulosa, seperti: limbah logging, limbah pertanian seperti ampas tebu, tongkol jagung, ampas tapioka, batang pisang dan jerami padi (Hidayat *et al*, 2006).

Bioetanol adalah etanol yang dibuat dari biomasa yang mengandung komponen pati, gula atau selulosa. Etanol adalah alkohol yang dihasilkan melalui proses fermentasi, etanol memiliki tiga jenis (grade) berdasarkan kadar alkoholnya. Jenis industrial jika kadar alkoholnya 90-94 %. Jenis netral jika berkadar 96-99,5 % dan digunakan untuk minuman keras atau bahan baku farmasi. Jika kadarnya diatas 99,5-100 % termasuk jenis bahan bakar. Sifatnya yang lain adalah larut dalam air dan eter dan mempunyai panas pembakaran 328 kkal (Duryatmo,2008). Bioetanol selain dapat mengatasi masalah krisis energi, juga mempunyai beberapa keuntungan dibandingkan bahan bakar lainnya, pembakaran etanol tidak menyebabkan peningkatan konsentrasi CO₂ dan mengurangi polusi karena etanol lebih rendah zat beracun dan emisi gasnya, disebabkan etanol terdiri dari substansi murni (Prihandana&Hendroko,2007).

Metode Penelitian

Bahan

Jerami padi dari jenis padi IR 64, H₂SO₄ P Teknis (Bratako), urea (Pusri), Nitrogen Phospor Kalium (NPK), Nutrien Broth (NB), Natrium karbonat (Na₂CO₃), ragi roti (Fermipan[®]), aquadest.

Alat

Rotary Shaker inkubator (Heldolp Unimax 1010[®]), waterbath, alat destilasi, kromatografi gas (Flame Ionization Detector atau FID), spektrofotometri UV-VIS (Shimadzu[®]), autoklaf (All American[®]) alat grinder, timbangan analitik (Denver[®]).

Penyiapan media perbenihan

Media perbenihan yang digunakan adalah Nutrient Broth (NB). NB ditimbang sebanyak 13,02 g dan dimasukkan ke dalam 1 labu erlenmeyer, tambahkan aquadest hingga 1 L. Panaskan sambil diaduk hingga diperoleh larutan yang bening, kemudian labu erlenmeyer ditutup dengan sumbat kapas yang dibalut kasa steril kemudian disterilasi didalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

Peremajaan larutan induk ragi (*Saccharomyces cerevicea*)

Ragi roti (fermipan) ditimbang sebanyak 1 gram dan dilarutkan dengan 100 ml media NB dalam erlenmeyer 250 ml, diaduk sampai larutan homogen. Setelah itu, diinkubasi selama 48 jam didalam *rotary shaker incubator* dengan kecepatan 100 rpm pada suhu 30°C. Setelah proses inkubasi selesai, diukur transmitannya dengan Spektrofotometer UV-VIS pada 530 nm sehingga didapatkan transmittan 90 % dengan mengencerkannya menggunakan air suling steril.

Optimasi waktu hidrolisis

Jerami yang sudah dihaluskan dimasukkan kedalam 5 buah erlenmeyer, masing-masing 20 gram, kemudian ditambahkan H₂SO₄ P sebanyak 1% dari volume air yaitu 2,5 ml dan ditambahkan air suling ad 250 ml. Dihidrolisis di atas waterbath sesuai dengan waktu yang telah ditentukan (30 menit, 60 menit, 120 menit, 180 menit dan 240 menit). Setelah hidrolisis selesai, hidrolisat diambil dari dalam waterbath sesuai dengan ketentuan waktunya, kemudian disaring. Dilakukan analisa kadar glukosa pada masing-masing sampel dengan metode Luff Schoorl. Dari hasil analisa glukosa, didapatkan waktu hidrolisis optimum yang ditandai dengan kadar glukosa paling tinggi (Sudarmadji, 1984).

Penentuan kadar glukosa dengan Metode Luff schoorl

Diambil 25 ml hidrolisat dan ditambahkan 25 ml larutan Luff-Schoorl dalam erlenmeyer. Dibuat pula perlakuan blanko yaitu 25 ml larutan Luff-schoorl dengan 25 ml air suling. Dipanaskan sekitar 2 menit sampai mendidih dan diteruskan selama 10 menit dengan nyala kecil. Selanjutnya segera didinginkan dan tambahkan 15 ml kalium iodida (KI) 30% dan dengan hati-hati tambahkan 25 ml asam sulfat (H₂SO₄) 25%. Kemudian titrasi dengan Na-thiosulfat 0,1 N memakai indikator pati sebanyak 2-3 ml. Untuk memperjelas perubahan warna pada akhir titrasi maka sebaiknya pati diberikan pada saat titrasi hampir berakhir.

Perhitungan

Dengan mengetahui selisih larutan Na-thiosulfat yang terpakai antara titrasi blanko dan titrasi sampel, yang kemudian hasilnya dicocokkan pada Tabel 1 maka dapat diketahui jumlah glukosa dalam sampel.

Tabel 1. Penentuan kadar glukosa dengan metode Luff Schoorl

ml 0,1 N Na. thio	Glukosa Mg C ₆ H ₁₂ O ₆		ml 0,1 N Na. thio	Glukosa Mg C ₆ H ₁₂ O ₆	
		Δ			Δ
1	2,4	2,4	13	33,0	2,7
2	4,8	2,4	14	35,7	2,8
3	7,2	2,5	15	38,5	2,8
4	9,7	2,5	16	41,3	2,9
5	12,2	2,5	17	44,2	2,9
6	14,7	2,5	18	47,1	2,9
7	17,2	2,6	19	50,0	3,0
8	19,8	2,6	20	53,0	3,0
9	22,4	2,6	21	56,0	3,1
10	25,0	2,6	22	59,1	3,1
11	27,6	2,7	23	62,2	-
12	30,3	2,7	24	-	-

Selanjutnya dihitung kadar glukosa dengan menggunakan rumus :

$$\text{Kadar glukosa} = \frac{\text{mg glukosa} \times \text{pengenceran}}{\text{vol sampel (mL)} \times 1000} \times 100\%$$

Persentasi ragi dan lama fermentasi

Dari tahap sebelumnya di dapat perlakuan yang paling baik, ditandai dengan kadar glukosa yang paling tinggi, diambil sebagai perlakuan untuk tahap selanjutnya. Jerami halus sebanyak 20 gr dimasukkan ke dalam 33 buah erlenmeyer. Ditambahkan 150 ml air dan H₂SO₄ p 1%, sampel di hidrolisis sesuai dengan waktu hidrolisis terbaik pada tahap sebelumnya dengan kompor gas. Saring hidrolisat yang diperoleh, kemudian didinginkan hingga suhu 30°C, pH diatur sekitar 4,5 – 5,5 menggunakan larutan Na₂CO₃. Ditambahkan urea sebanyak 0,32 gram dan NPK 0,07 gram serta inokulum ragi sesuai dengan perlakuan (1%, 2%, 3% dari 150 ml hidrolisat). Fermentasi dilakukan sesuai perlakuan (6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54, 60, dan 66 jam). setiap 6 jam, 3 sampel diambil sesuai dengan inokulum ragi. Fermentasi dilakukan di dalam rotary shaker incubator pada suhu 30°C. Hasil

fermentasi yang diperoleh dianalisa kadar etanolnya dengan kromatografi gas.

Analisis kuantitatif etanol

Sampel dari kultur disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 15 menit, dan supernatan yang diperoleh dianalisis kandungan etanolnya. Analisis kuantitatif etanol dilakukan menggunakan kromatografi gas pada kondisi sebagai berikut: panjang kolom 150 m, temperatur awal 60°C, temperatur akhir 250°C/menit, suhu injektor 300°C. Tipe detektor yaitu FID (nyala pengion) dengan temperatur 300°C dan gas pembawa adalah Helium. Sebelumnya dibuat juga larutan standar etanol dengan konsentrasi masing-masing 0,02%; 0,04%; 0,08%; 0,1% dari stok 5% untuk membuat kurva standar konsentrasi etanol. Larutan standar maupun sampel diinjeksikan sebanyak 1 µL ke dalam alat kromatografi gas pada kondisi yang sama.

Penentuan kadar etanol dilakukan dengan membandingkan luas puncak sampel dengan kurva standar etanol. Kadar etanol yang terdapat dalam sampel dihitung dengan menggunakan persamaan kurva standar :

$$\% \text{ etanol} = \frac{\text{luas area sampel}}{\text{area standar}} \times [\text{standar luas}]$$

Hasil dan Pembahasan

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah jerami padi dari jenis padi IR 64, yang diambil dari areal persawahan di daerah Lubuk Minturun, Padang, Sumatera Barat. Bagian yang digunakan adalah batang, tangkai daun, dan daunnya. Sebelum digunakan, jerami yang masih segar dikeringkan kemudian dicacah dan dihaluskan (grinder). Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air jerami sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lama, tanpa ditumbuhi oleh jamur.

Pencacahan dimaksudkan untuk memperkecil ukuran jerami. Pada penelitian ini, hidrolisis jerami dilakukan dengan menggunakan asam sulfat (H_2SO_4 p). Asam berfungsi sebagai katalis non spesifik yang dapat membebaskan struktur kristal selulosa dengan memperluas daerah amorf serta membebaskan dari lapisan lignin (Kosaric,1983). Asam pekat dapat menghidrolisis selulosa pada tingkat konversi yang tinggi. Hidrolisis menggunakan asam akan lebih ekonomis, akan tetapi asam pekat bersifat korosif sehingga memerlukan biaya tambahan untuk perawatan alat-alat produksi (Oura,1983). Karena beberapa pertimbangan tersebut, maka hidrolisis jerami dilakukan dengan menggunakan asam sulfat pekat (H_2SO_4 p) sebanyak 1 % dari volume air. Pada penelitian ini digunakan khamir *Saccharomyces cereviceae* karena memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan bakteri. Keunggulan tersebut diantaranya mempunyai laju fermentasi dan laju pertumbuhan yang cepat, dan tahan terhadap konsentrasi garam yang tinggi. Setelah hidrolisis selesai, hidrolisat disaring kemudian didinginkan hingga suhu $30^{\circ}C$, yang merupakan suhu optimum pertumbuhan khamir *Saccharomyces cereviceae*. Kemudian dilakukan proses fermentasi, pH awal medium fermentasi adalah 4,8 diatur dengan penambahan Na_2CO_3 . Menurut literatur, pH optimum pertumbuhan *Saccharomyces cereviceae* di dalam medium fermentasi adalah 4,5-5,5 (Moat,1997). Ini berarti pH yang digunakan untuk fermentasi substrat masih dalam kisaran optimum. Netralisasi dengan menggunakan Na_2CO_3 menghasilkan garam dalam jumlah yang relatif rendah dan tetap

larut dalam medium fermentasi. Oleh karena itu, dibiarkan dalam medium fermentasi karena tidak begitu mempengaruhi proses fermentasi. Di samping kondisi lingkungan seperti suhu dan pH, kebutuhan nutrien juga memegang peranan penting bagi kehidupan khamir. Oleh karena itu, pada medium fermentasi ditambahkan urea dan NPK sebagai sumber nitrogen karena mampu mendorong pertumbuhan sel khamir sehingga meningkatkan produktivitas etanol.

Proses fermentasi berlangsung selama 66 jam, dimana setiap 6 jam sampel diambil sesuai dengan masing-masing inokulum ragi. Etanol yang dihasilkan dari proses fermentasi dianalisa dengan alat kromatografi gas.

Pada tabel III, IV dan V pada 6 jam pertama dihasilkan kadar etanol sebanyak 0,01181% untuk pemakaian inokulum ragi 1%, sedangkan untuk inokulum ragi 2% dihasilkan kadar etanol sebanyak 0,01182% dan untuk pemakaian inokulum ragi 3% dihasilkan kadar etanol sebanyak 0,01188%. Hal ini disebabkan karena pada awal fermentasi kondisi lingkungan masih belum sepenuhnya anaerob, tetapi masih terdapat oksigen sehingga khamir cenderung melakukan asimilasi sel sehingga proses fermentasi belum sepenuhnya terjadi. Akibatnya produk metabolit primer yang dihasilkan masih sangat rendah. Khamir bersifat fakultatif anaerobik, dimana pada saat tidak ada oksigen atau ada dalam jumlah yang sedikit terjadi konversi sumber karbon menjadi etanol dan CO_2 lebih banyak. Sebaliknya, apabila terdapat oksigen dalam jumlah yang mencukupi, konversi akan menuju ke arah asimilasi sel dengan pembentukan produk metabolit dan produk antara rendah. Dari data yang diperoleh diketahui bahwa etanol yang dihasilkan oleh *Saccharomyces cereviceae* terus bertambah sedikit demi sedikit seiring dengan makin lamanya fermentasi. Hal ini disebabkan karena populasi khamir di dalam medium fermentasi terus meningkat sehingga daya konversi glukosa menjadi etanol semakin besar. Pada inokulum ragi 1%, kadar etanol tertinggi yang dihasilkan *Saccharomyces cereviceae* sebanyak 0,02066%. Kadar ini lebih rendah dibandingkan dengan pemakaian inokulum ragi 2% yaitu 0,02549% (Tabel III-IV). Hal ini disebabkan karena inokulum ragi yang digunakan masih

rendah sehingga proses fermentasi berjalan lambat. Perkembangan populasi khamir sedikit dan tentunya enzim yang akan merombak glukosa menjadi etanol juga sedikit. Inokulum adalah substansi yang mengandung mikroorganisme/ bahan lain yang dimasukkan pada proses inokulasi. Inokulum (starter) yang digunakan untuk industri fermentasi harus memenuhi beberapa kriteria, yaitu: kultur mikroba harus dalam keadaan aktif, sehat sehingga fase lag dalam proses fermentasi seminimal mungkin, harus tersedia dalam jumlah yang memadai untuk tercapainya proporsi inokulum dan media fermentasi yang optimal, harus terbebas dari kontaminan, kemampuan membentuk produk harus stabil (Djamaan,2002). Pada inokulum *Saccharomyces cereviceae* 3%, dihasilkan kadar etanol tertinggi yaitu sebanyak 0,07804% (Tabel V). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ragi yang cocok terhadap material fermentasi akan memberikan hasil yang baik pula. Semakin tinggi inokulum ragi yang diberikan pada proses fermentasi

maka semakin banyak etanol yang dihasilkan sampai pada batas tertentu. Ini berarti, pemakaian inokulum ragi yang tinggi tidak selalu menghasilkan etanol dalam jumlah yang besar. Hal ini disebabkan karena semakin banyak khamir (ragi) yang terdapat dalam medium fermentasi maka jumlah glukosa yang dibutuhkan untuk pertumbuhannya juga semakin besar. Apabila kandungan glukosa dan nutrien di dalam medium fermentasi berkurang maka aktifitas kehidupan khamir akan terhambat. Akibatnya etanol yang dihasilkan akan menurun. Pada pH akhir medium fermentasi, masing-masing inokulum ragi berbeda-beda. Turun naiknya pH menunjukkan bahwa pada saat pH turun berarti banyak dihasilkan metabolit sekunder seperti asam-asam organik. Hasil fermentasi tidak seluruhnya adalah etanol, tetapi juga asam organik seperti asam asetat yang merupakan produk sampingan fermentasi akibat adanya kontaminasi atau penguraian (oksidasi) etanol selama penyimpanan maupun pembuatan etanol (Ratledge,1991).

Tabel 2. Kadar glukosa jerami padi setelah dihidrolisis dengan H₂SO₄ P 1 %

Lama Hidrolisis (Menit)	Hasil Titrasi dengan Na.Thiosulfat (ml)	Glukosa (%)
30	25,30	0,1935
60	25,00	0,2241
120	24,65	0,2597
180	24,20	0,3063
240	19,30	0,7765

Tabel 3. Etanol yang dihasilkan dengan konsentrasi inokulum ragi 1%

No	Lama fermentasi (Jam)	Biomassa (g)	pH	Kadar etanol (%)
1	6	0,01	5	0,01181
2	12	0,02	5	0,01182
3	18	0,03	5	0,01188
4	24	0,03	5	0,01189
5	30	0,04	5	0,01193
6	36	0,05	5	0,01250
7	42	0,05	6	0,01335
8	48	0,06	5	0,01420
9	54	0,07	7	0,01476
10	60	0,08	5	0,01980
11	66	0,10	6	0,02066

Tabel 4. Etanol yang dihasilkan dengan konsentrasi inokulum ragi 2%

No	Lama fermentasi (Jam)	Biomassa (g)	pH	Kadar etanol (%)
1	6	0,02	5	0,01182
2	12	0,03	5	0,01188
3	18	0,04	5	0,01189
4	24	0,04	5	0,01193
5	30	0,05	6	0,01255
6	36	0,06	6	0,01476
7	42	0,06	6	0,01550
8	48	0,07	6	0,01750
9	54	0,08	6	0,01980
10	60	0,10	6	0,02066
11	66	0,11	5	0,02549

Tabel 5. Etanol yang dihasilkan dengan konsentrasi inokulum ragi 3%

No	Lama fermentasi (Jam)	Biomassa (g)	pH	Kadar etanol (%)
1	6	0,03	5	0,01188
2	12	0,04	5	0,01190
3	18	0,05	5	0,01193
4	24	0,05	5	0,01230
5	30	0,06	6	0,01476
6	36	0,07	6	0,01980
7	42	0,08	6	0,02066
8	48	0,10	6	0,02549
9	54	0,11	6	0,03988
10	60	0,13	6	0,06910
11	66	0,15	6	0,07804

Kesimpulan

1. Jerami padi dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku dalam pembuatan etanol secara fermentasi
2. Hidrolisis jerami padi selama 4 jam (240 menit) dengan menggunakan H_2SO_4 p (1% dari volume air) sebagai katalis menghasilkan kadar glukosa tertinggi sebesar 0,7765%
3. Hasil percobaan menunjukkan bahwa inokulum ragi 3% merupakan inokulum terbaik dalam menghasilkan kadar etanol dari jerami padi yaitu sebanyak 0,07804% dengan lama fermentasi 66 jam.

Ratledge, C., 1991, *Yeast Physiology – a micro-synopsis*, Bioprocess Engineering, 6:195-203.

Sudarmadji, S., dkk., 1984, *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*, edisi ketiga, Liberty, Yogyakarta.

DAFTAR PUSTAKA

Achmadi. 1989. *Kimia Kayu*. Diktat PAU Ilmu Hayati. Institut Pertanian Bogor.

Ariestaningtyas, Y. 1991. *Pemanfaatan Tongkol Jagung untuk Produksi Enzim Selulase oleh Trichoderma viride*. Skripsi. Departemen Teknologi Pertanian. Fateta IPB. Bogor.

Djamaan, A. 2002. *Teknologi Fermentasi Industri I*, Hand Out (Modul) I Mata Kuliah Bioteknologi Farmasi. Program Studi Farmasi FMIPA UNAND, Padang.

Duryatmo, S. *Bensin Singkong dari Halaman*. Majalah Trubus No. 458 Edisi Januari 2008.

Hidayat, N. M. Padaga dan S. Suhartini. 2006. *Mikrobiologi Industri*. ANDI. Yogyakarta.

Kosaric, H., and Wieozorek, A., 1983, *Ethanol Fermentation, Biotechnology*, **3**, Verlag Chemie, Weinheim.

Moat, A. G., 1997, *Microbial Physiology*, John Wiley and Sons Inc. New York.

Oura, E., 1983, *Reaction Product of Yeast Fermentations, Biotechnology*, **3**, Academic Press, New York.

Prihandana, R dan R. Hendroko, 2007, *Energi Hijau Pilihan Bijak Menuju Negeri Mandiri Energi*, Penebar Swadaya, Jakarta.

