

**SINTESIS BIOETANOL DARI BAGAS SORGUM SAMURAI 1 HASIL
HIDROLISIS ENZIMATIS DAN FERMENTASI OLEH *SACCHAROMYCES
CEREVISIAE***

Yeti Widyawati^{1*}, Amelia Mardhotillah¹, Irawan Sugoro³

¹Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, Universitas Jayabaya, Jl. Raya Jakarta-Bogor No. KM, RW. 28, Pekayoran, Kec. Cimanggis, Kota Jakarta Timur, 16452

²Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi – Badan Tenaga Nuklir Nasional (BATAN), Jl. Lebak Bulus Raya No. 49, RT. 5/RW. 2, Lb. Bulus, Kec. Cilandak Kota Jakarta Selatan, DKI Jakarta, 12440

*widya.w21@gmail.com

ABSTRAK Bagas sorgum merupakan padatan sisa ekstraksi nira dari bagian batang sorgum. Bagas sorgum memiliki potensi untuk digunakan sebagai substrat pembuatan bioetanol. Penelitian ini bertujuan untuk menghasilkan bioetanol dari bagas sorgum varietas Samurai 1 hasil hidrolisis secara enzimatik yang difermentasi menggunakan khamir *Saccharomyces cerevisiae*. Enzim yang digunakan berasal dari kapang *Trichoderma harzianum*. Substrat bagas hasil hidrolisis digunakan sebagai media fermentasi dan diinkubasi selama 9 hari pada suhu ruang. Kadar gula hasil hidrolisis enzimatik bagas sorgum setelah diinkubasi 24 jam adalah 2,4% brix. Hasil fermentasi dengan menggunakan *S. cerevisiae* menunjukkan bahwa terjadi korelasi negatif antara kadar gula dan bioetanol dengan produksi bioetanol tertinggi dihasilkan setelah 9 hari inkubasi, yaitu sebesar 2,99% dan laju produksi bioethanol terbaik adalah di hari ke-3 dengan hasil sebesar 0,59%/hari.

Kata Kunci: Bagas sorgum, bioetanol, enzimatik hidrolisis,.

PENDAHULUAN

Bioetanol adalah bahan bakar utama yang digunakan sebagai pengganti bensin untuk kendaraan, khususnya di negara-negara maju. Bioethanol merupakan produk etanol yang dihasilkan dari bahan baku hayati dan biomassa lainnya yang diproses secara bioteknologi (Nasional, 2017). Seiring dengan terjadinya krisis energi sebagai akibat berkurangnya cadangan bahan bakar minyak, maka peluang pemanfaatan bioetanol sebagai bioenergi semakin besar. Bioetanol dapat dihasilkan melalui proses sakarifikasi dan fermentasi simultan dari bahan yang mengandung selulosa dan polisakarida (Daud M, Syafii W, Syamsu K, 2012). Pasa proses fermentasi maka dihasilkan bioetanol yang dapat dibuat etanol 99,5% atau *fuel grade ethanol* yang bisa digunakan dalam campuran gasohol. Bioetanol merupakan salah satu sumber energi diklaim ramah lingkungan, akan tetapi kemunculannya sebagai bahan bakar mendapat reaksi negative dari pasar. Kondisi tersebut menjadi kendala dalam hal penerapan bioethanol sebagai bahan bakar wajib di beberapa negara seperti halnya yang terjadi di Indonesia dan Tiongkok. Negara yang sukses menerapkan etanol sebagai komponen wajib dalam campuran bahan bakar kendaraan dengan tingkat produksi bioethanol tertinggi di dunia adalah Brazil dan Amerika Serikat. Amerika Serikat berhasil memproduksi 16,1 miliar gallon sedangkan di posisi kedua, Brazil memiliki jumlah produksi sebesar 7,95 miliar galon di sepanjang tahun 2018 (Persero, 2019).

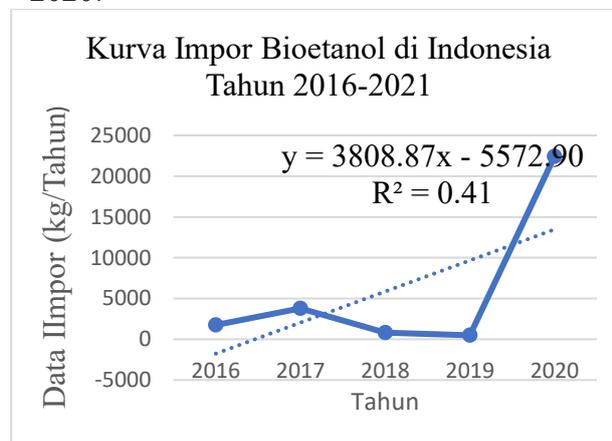
Kebutuhan etanol di Indonesia sebagai campuran bahan bakar kendaraan masih mengandalkan impor dari luar negeri. Kebutuhan etanol berdasarkan sumber Badan Pusat Statistik (BPS) selama periode 2016-2020 dapat dilihat pada Tabel 1 sebagai berikut:

Tabel 1 Data Impor Etanol dari Tahun 2016-2020

Tahun	Data Impor Etanol (kg/Tahun)
2016	1732,411
2017	3797,830
2018	818,928
2019	487,426
2020	22431,979

Sumber: Badan Pusat Statistik 2016-2020

Dari data di atas, maka didapatkan grafik impor etanol tahun 2016-2020:



Grafik 1 Kurva Etanol Tahun 2016-2020

Berbagai jenis tanaman penghasil energi sumber bahan baku bioetanol terdapat di Indonesia. Tanaman tersebut seringkali ditanam secara khusus untuk diubah menjadi energi yang diantaranya: jagung, gandum, jerami, buluh rumput kenari,

rumpun tali, ubi kayu, tebu, dan tanaman sorgum. Bioetanol selama ini disintesis menggunakan tetes tebu dan biji jagung yang merupakan tanaman sumber pangan. Pada masa yang akan, bioetanol akan disintesis dari bahan yang lebih murah atau dari bahan non pangan yang mengandung lignoselulosa. Tanaman sorgum manis berpotensi digunakan sebagai sumber bioetanol yang mungkin lebih murah dan tidak bersaing dengan bahan pangan.

Bagas sorgum masih sangat jarang sekali digunakan di Indonesia sebagai bahan baku pembuatan bioetanol yang ternyata memiliki 75% biomassa tertinggi dari tanaman sorgum. Bagas sorgum diperoleh setelah batang sorgum diekstraksi niranya, yang kemudian limbahnya berupa selulosa yang masih dapat digunakan untuk menghasilkan bioetanol, (B. Marcia, Rosalia, Sarungallo, Mas'ud, 2012)).

Kandungan proksimat bagas batang sorgum Samurai 1 berdasar berat kering yaitu selulosa 23,67%, lignin 69,94%, air 75,01%, abu 6% dan bahan organik 94%. Selulosa pada biomassa tanaman juga perlu diperhitungkan karena proses konversi energi solar menjadi glukosa dari senyawa kompleks menggunakan batang tanaman untuk menimbun sejumlah lignoselulosa sebagai gula sederhana. Lignoselulosa ini dapat digunakan sebagai bahan baku yang dapat dihidrolisis (degradasi) oleh enzim selulase dan menghasilkan glukosa. Glukosa ini yang kemudian akan digunakan lebih lanjut untuk mensintesis bioetanol.

Substrat yang digunakan adalah bagas sorgum varietas BATAN

Samurai 1. Sorgum Samurai 1 dipilih menjadi substrat bioetanol karena biomasanya yang besar. Biomassa dari batang sorgum Samurai 1 bisa mencapai berat sebesar 53,5 ton/ha dan memiliki kadar gula sebesar 12,0% brix (Radiasi, 2020). Hidrolisis bagas sorgum Samurai 1 dilakukan secara enzimatik. Hidrolisis secara enzimatik dilakukan dengan memanfaatkan enzim selulase dari kapang *Trichoderma harzianum* dengan waktu lama inkubasi hidrolisis enzim selama 72 jam. Proses hidrolisis, dilanjutkan dengan proses fermentasi selama 0, 3, 5, 6, 7, 8, dan 9 hari. Fermentasi adalah proses natural yang melibatkan mikroorganisme seperti ragi dan bakteri baik, untuk mengubah karbohidrat (pati dan gula) menjadi alkohol atau asam. Tujuan penelitian adalah mengetahui pengaruh hidrolisis menggunakan enzim selulase dari *Trichoderma harzianum* terhadap produk bioetanol dari bagas sorgum Samurai 1 dan mengetahui pengaruh waktu lama fermentasi dengan khamir *Saccharomyces cerevisiae* dalam proses sintesis bioetanol dari bagas sorgum Samurai 1.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan di antara lain: kentang, bagas sorgum Samurai 1 dengan umur panen \pm 111 hari, diperoleh dari Kebun Percobaan Citayam melalui Badan Tenaga Atom dan Nuklir (BATAN), Lebak Bulus, Jakarta Selatan. Bahan kimia yang digunakan diantaranya: *Aquadest*, Alkohol 70% (Teknis, *Purity* 96%), Ammonium Sulfat ((NH₄)₂SO₄, MERCK), Asam Sulfat pekat (H₂SO₄

Purity 97-98%, MERCK), *Carboxy Methyl Cellulose*, Garam *Rochelle* (K-Na Tetrat), Glukosa anhidrat, Magnesium Sulfat Hepta Hidrat, ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$, MERCK), Kalium Dihirogen Pospat (KH_2PO_4 , MERCK), Kalium Dikromat ($K_2Cr_2O_7$), Natrium Bikarbonat (Na_2CO_3), Natrium Hidroksida 0,1 N (NaOH, Teknis), Natrium Sulfat anhidrat (Na_2SO_4), $Na_2HAsO_4 \cdot 7H_2O$, Natrium Karbonat anhidrat, Perak Nitrat ($AgNO_3$), Pupuk Urea, *Saccharomyces cerevisiae*, dan Sukrosa.

Alat

Peralatan yang digunakan diantaranya: autoklaf, *blender*, cawan petri, cawan porselen, *fortex*, inkubator atau oven Memmert, kawat ose, kertas saring, kuvet, labu Erlenmeyer 250 mL, *laminar air flow*, mikropipet, dan tip, penangas air, pH Meter, refraktometer (Japan 0-32% Brix), *scalpel*, *shaker*, *centrifuge*, spatula, spektrofotometer UV Genesis, tabung reaksi, tanur, serta toples ulir.

Preparasi Bahan Baku

Bagas sorgum *Samurai 1* dianginkan di bawah sinar matahari hingga kering, lalu digiling dengan mesin penggiling padi. Setelah itu, bagas sorgum dihaluskan dan dikeringkan kembali dalam oven bersuhu $105^\circ C$ selama 24 jam.

Penetapan Kadar Air (SNI, 2005)

Cawan aluminium dicuci bersih lalu dikeringkan dalam oven pada suhu $105^\circ C$ selama 1 jam. Setelah itu cawan dikeluarkan dari oven dan dimasukkan ke dalam desikator selama 15-30 menit dan ditimbang hingga bobot konstan.

Sampel yang telah diperkecil ukurannya ditimbang sebanyak 5 gram ke dalam cawan aluminium dan dimasukkan ke dalam oven pada suhu $105^\circ C$ selama 2 jam, lalu cawan dikeluarkan dan dimasukkan ke dalam desikator selama 15-30 menit dan ditimbang bobotnya hingga konstan.

Penetapan Kadar Abu (SNI, 2006)

Penetapan kadar abu ini menggunakan metode AOAC, 2005 yang telah dimodifikasi. Cawan porselen dicuci bersih lalu dikeringkan ke dalam oven pada suhu $200^\circ C$ selama 15 menit. Setelah itu, cawan porselen dimasukkan ke dalam tanur dan dipanaskan pada suhu $600^\circ C$ selama 2 jam dan didinginkan ke dalam desikator selama 10-30 menit lalu ditimbang hingga bobot konstan. Sampel dimasukkan ke dalam cawan porselen sebanyak 2 gram lalu dibakar di dalam *furnace controller* pada suhu $200^\circ C$ sampai tidak berasap lagi (menjadi arang). Setelah itu, suhu dalam *furnace controller* dinaikkan menjadi $600^\circ C$ untuk pembakaran selama 2 jam (hingga diperoleh abu putih) dan didinginkan ke dalam desikator selama 10-30 menit lalu ditimbang hingga bobot konstan. Percobaan dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan.

Kadar Selulosa (Modifikasi dari SNI 14-0444-1989)

Sejumlah contoh 3,0 gram bagas sorgum *Samurai 1* ditimbang dalam gelas kimia 250 mL lalu ditambahkan karutan NaOH 17,5% sebanyak 15 mL. Pengadukan dilakukan selama tiga menit dalam bak perendam pada suhu $20^\circ C$. Selanjutnya ditambahkan larutan NaOH 17,5% sebanyak 10 mL dan diaduk selama 45 detik.

Penambahan larutan NaOH 17,5% berikutnya disertai pengadukan selama 15 detik. Campuran didiamkan dalam bak perendam selama 3 menit. Selanjutnya ditambahkan 10 mL larutan NaOH 17,5%, aduk selama 15 menit dan ditambahkan NaOH 17,5% 10 mL. Lalu ditutup dan diamkan selama 30 menit, setelah didiamkan tambahkan 100 mL *aquadest*. Kemudian diamkan kembali 30 menit. Larutan siap disaring, bilas gelas dengan larutan NaOH 8,3 % 25 ml, kemudian disaring kembali. Endapan dalam kertas saring dikembalikan ke dalam gelas kimia. Endapan dicuci 5x dengan *aquadest* sebanyak 400 mL, dan di tambah 25 mL Asam Asetat 2N. Endapan diaduk selama 5 menit dan dicuci menggunakan *aquadest* sampai netral. Kemudian endapan disaring lalu dioven suhu 105°C dan ditimbang sampai bobot konstan.

Kadar Lignin (Lignin Klason)

Penentuan kadar lignin Klason dilakukan merujuk pada prosedur dalam Dence (1992) (C, 2002).

. Serbuk bagas sorgum 500 mg disiapkan dan ditempatkan ke dalam gelas piala 50 mL. Selanjutnya, ditambahkan 5 mL larutan asam sulfat 72% secara perlahan sambil diaduk hingga serbuk terdispersi sempurna. Sampel uji selanjutnya disimpan ke dalam Labu Erlenmeyer 500 mL dan diencerkan hingga konsentrasi asam sulfat menjadi 3% yaitu dengan penambahan aquades hingga total volume 191 mL (total volume 381 mL untuk penggunaan asam sulfat 72% sebanyak 10 mL) sampel uji kemudian dipanaskan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 30 menit. Selanjutnya dilakukan penyaringan

dengan *glass filter*, lalu dioven dan ditimbang sampai diperoleh berat konstan.

$$\text{Kadar Lignin (\%)} = (A/B) * 100\%$$

A = bobot lignin (g)

B = bobot kering serbuk (g)

Hidrolisis secara Enzimatis

Pembuatan Media *Potato Dextrose Agar*

Sebanyak 200 gram kentang direbus dengan *aquadest* sebanyak 1 L, lalu hasil rebusan kentang disaring dan ditambahkan 20 gram gula, 20 gram agar dan ditambahkan *aquadest* sampai volume larutan menjadi 1 L. Selanjutnya larutan dicek pH hingga netral. Kemudian media dimasak hingga mendidih dan bening. Lalu media disterilisasi dalam autoklaf bersuhu 121°C selama 15 menit.

Perbanyak Kultur *T. harzianum*

Kultur *T. harzianum* induk digoreskan sedikit pada ujung tip mikropipet lalu diencerkan dengan 100 μ L *aquadest* steril lalu dikocok. Dipipet sebanyak 50 μ L lalu disebarkan ke dalam media *potato dextrose agar* dan diinkubasi pada suhu ruang selama 3x24 jam pada suhu ruang (25-30°C).

Uji Kualitatif Selulolitik

Uji kualitatif selulolitik. Isolat Aktinomiset yang telah murni ditumbuhkan pada media *PDA* pH 7 dan diinkubasi selama 2 hari pada suhu ruang. Untuk mengetahui indeks selulolitik dilakukan pewarnaan dengan *congo red* 1 % sehingga zona bening yang terbentuk disekitar koloni terlihat jelas.

Pembuatan Enzim Selulase

Penyiapan Inokulum

Persiapan 1000 mL media cair sudah disterilisasi

Media cair ini terdiri dari: kentang 200 gram dalam 1 L *aquadest* dan 20 gram gula lalu. atur pH media cair hingga pH 6. Biakan *T. harzianum* dari media padat diambil menggunakan kawat ose steril lalu dicelupkan ke dalam media cair beberapa kali hingga media cair tampak keruh. Pekerjaan dilakukan secara aseptik. Media ditutup dengan kapas dan *wrap*, lalu diinkubasi pada suhu ruang selama 72 jam.

Pemanenan Enzim

Hasil fermentasi diekstrak dengan *aquadest* steril sebanyak 100 mL lalu dilakukan pemisahan dengan sentrifugasi. Sentrifugasi dilakukan selama 10 menit dengan kecepatan 3500 rpm. Cairan enzim yang dihasilkan kemudian disaring dengan kertas saring agar terpisah dengan residu padatan. Enzim yang diperoleh siap untuk digunakan untuk hidrolisis serbuk bagas sorgum. Enzim disimpan dalam lemari es pada suhu 5-10°C (NCBE, 2018).

Uji Aktivitas Enzim Selulase

Absorbansi hasil pengukuran dikorelasikan dengan kadar gula pereduksi atau diasumsikan sebagai glukosa yang dihasilkan terhadap waktu inkubasi merupakan aktivitas enzim tersebut. Perhitungan aktivitas enzim selulase diperoleh dari kadar gula pereduksi yang terbentuk pada waktu inkubasi reaksi enzimatik selama 72 jam dilakukan dengan Metode Nelson Somologiy.

Hidrolisis Bagas Sorgum dengan Enzim Selulase dari Kapang *T. harzianum*

Bagas sorgum varietas BATAN dihaluskan dan dikeringkan dalam oven bersuhu 105°C selama 24 jam. Ditimbang 20 gram bagas sorgum ke dalam toples 300 mL dan ditambahkan nutrisi NPK 0,03 gram, MgSO₄.7H₂O 0,005 gram, dan KH₂PO₄ 0,02 gram. Selanjutnya, ditambahkan sebanyak 200 mL akuades ke dalam media Diatur pH larutan hingga menjadi pH 6. Kemudian sebanyak 2,5 mL enzim ditambahkan ke media bagas sorgum tersebut. Lalu media diinkubasi selama 24 jam. Media hasil hidrolisis lalu diperiksa pH dan kadar gulanya dengan refraktometer.

Proses Fermentasi

Bagas sorgum yang telah dihidrolisis ditambahkan dengan 20 mL *Saccharomyces cerevisiae*. dan diatur kondisi larutan pada pH 5,5, selanjutnya diaduk sampai homogen. Media difermentasi selama 0, 3, 5, 6, 7, 8, dan 9 hari pada suhu ruang ±25°C.

Metoda Analisa

Uji Kadar Etanol dengan Spektrofotometer UV Gen pada λ560 nm. Siapkan larutan K₂Cr₂O₇ 0,25 M, larutan H₂SO₄ 6 M, dan larutan AgNO₃ 0,1 M. Masukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing; 5 mL K₂Cr₂O₇ 0,25 M, 5 mL larutan H₂SO₄ 6 M, dan 1 tetes larutan AgNO₃ 0,1 M. Lalu kocok larutan dengan *fortex*, lalu masukkan larutan standar alkohol 10% masing-masing sebanyak: 0;5; 10; 20 tetes dan tambahkan akuades masing-masing sebanyak: 20; 15; 10;0 tetes, serta

untuk pengukuran sampel, teteskan sebanyak 20 tetes sampel bioetanol ke dalam tabung reaksi tersebut. Setelah itu, diamkan larutan selama 5 menit, lalu kocok dengan *fortex* hingga larutan homogen. Ukur absorbansi larutan standar, blanko, dan sampel dengan spektrofotometer UV Gen pada panjang gelombang 560 nm. Kemudian buat kurva kalibrasi, tentukan regresi linier yang dihasilkan, dan hitung kadar etanol pada sampel.

Rumus:

$$y = ax + b \quad (1)$$

$$x = \frac{y+b}{a} \quad (2)$$

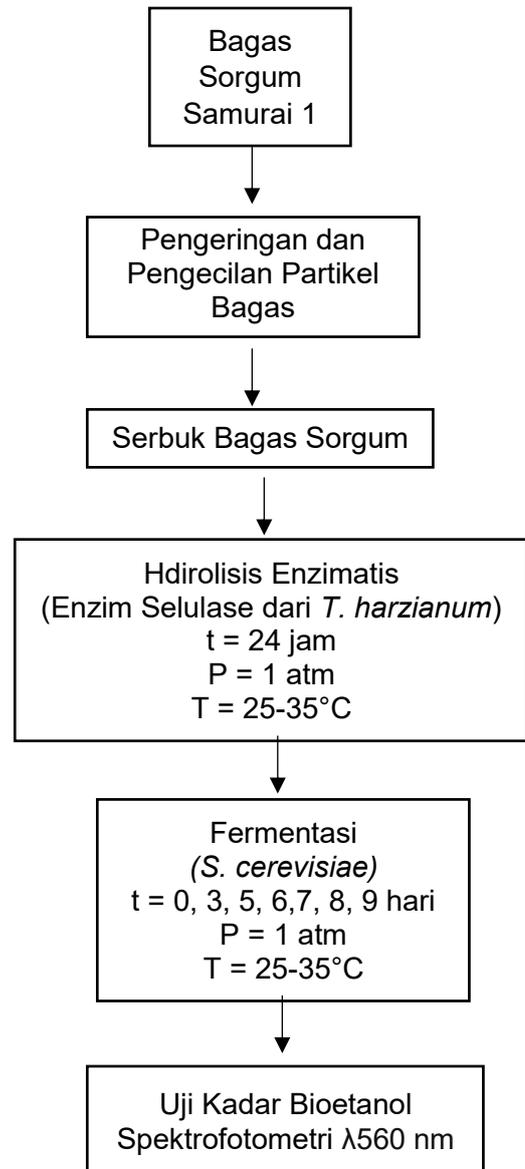
$$y = 0,1509x - 0,1276 \quad (3)$$

$$x = \frac{y + 0,1276}{0,1509} \quad (4)$$



Gambar 1 Larutan Standar Etanol

Diagram Alir Penelitian



HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakterisasi Proksimat Komposisi Bagas Sorgum Samurai 1

Bagas sorgum yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah bagas sorgum Samurai 1 yang diperoleh dari Daerah Citayam, Jawa Barat. Karakterisasi pada bagas sorgum perlu diketahui agar dapat

ditentukan komponen-komponen yang terkandung di dalamnya (Arifiani, 2012). Bagas sorgum sebelum dijadikan sebagai substrat fermentasi, terlebih dahulu dihaluskan menjadi serbuk yang bertujuan untuk memperluas permukaan bagas sorgum sehingga diharapkan, bagas sorgum dapat bereaksi dan dihidrolisis secara sempurna. Pengecilan ukuran partikel bagas sorgum menyebabkan perubahan fisik dan kimia pada polimer selulosa, sehingga dapat menyebabkan perubahan bentuk pola geometric kristal serta pengurangan derajat polimerisasi (Irawadi, 2010).

Bagas sorgum yang telah halus selanjutnya dianalisis komposisi kimianya, yang meliputi: kadar air, kadar abu, kadar selulosa, dan kadar lignin. Hasil analisis komposisi kimia bagas sorgum Samurai 1 dapat dilihat pada

Tabel 2 Komposisi Kimia Bagas Sorgum

Analisa	Kadar (%)
Kadar Air	75,01
Kadar Abu	6
Kadar Bahan Organik	94
Kadar Selulosa	23,67
Kadar Lignin	69,94

1. Kadar Air

Kadar air perlu ditentukan karena berpengaruh terhadap kesegaran dan daya simpan bahan. Banyaknya kadar air dalam bahan, dapat dipengaruhi oleh: varietas, umur tanam, unsur hara tanah, dan iklim. Pada penelitian ini, kadar air yang didapatkan dalam serbuk bagas sorgum Samurai 1 adalah sebesar 75,01%

2. Kadar Abu

Kadar abu dalam bahan ditentukan karena berkaitan dengan kandungan mineral-mineral anorganik sisa pembakaran bahan organik pada suhu sekitar 600°C (AOAC, 2005) dan merupakan faktor penting yang dapat berpengaruh terhadap rendemen alkohol yang dihasilkan (Arif, *et al*, 2017). Syarat kadar abu suatu bahan baku untuk produksi bioetanol yaitu jika bahan baku tersebut tidak mengandung kadar abu lebih dari 10%. Mineral-mineral yang penting dalam formulasi media diantaranya: magnesium (Mg), kalium (K), sulfur (S), kalsium (Ca), dan klor (Cl). Pada kadar yang cukup, mineral-mineral yang terkandung dalam bahan juga dibutuhkan oleh mikroorganisme sebagai sumber nutrisi untuk pertumbuhannya, dalam memperoleh energi, pembentukan sel, dan biosintesis produk-produk metabolisme pada proses fermentasi. Kadar abu yang tinggi, dapat menyebabkan terhambatnya proses fermentasi dan menyebabkan kerak pada saat proses destilasi (Arif, *et al*, 2017) karena kadar abu yang tinggi, menandakan bahwa bahan tersebut mengandung kadar mineral yang tinggi pula. Berdasarkan hasil analisis, kadar abu pada serbuk bagas sorgum Samurai 1 sebesar 6,0%) (Tabel 4). Kadar abu serbuk sorgum Samurai 1 tersebut masih sangat layak untuk dijadikan bahan baku bioetanol.

3. Kadar Lignoselulosa

Lignoselulosa merupakan sebuah komponen organik yang jumlahnya berlimpah dan merupakan sumber utama dalam menghasilkan gula dari hasil fermentasi, bahan kimia, bahan bakar cair, sumber karbon, dan energi, serta memiliki

kemampuan untuk didegradasi oleh selulase. Namun karena komponen yang terkandung dalam lignoselulosa sangat kompleks, maka dalam penggunaannya sebagai substrat harus melalui beberapa tahapan, diantaranya: delignifikasi untuk melepas selulosa dan hemiselulosa yang berikatan dengan lignin, depolimerisasi untuk mendapatkan gula bebas, dan fermentasi gula heksosa dan pentose untuk mendapatkan produksi bahan baku cair. Pada penelitian ini, lignin didegradasi secara kimiawi menggunakan larutan asam sulfat yang dilanjutkan dengan degradasi secara fisika menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 10 menit agar lignin dapat terurai sempurna. Setelah degradasi, sampel disaring untuk diambil semua lignin yang telah didegradasi, dan dikeringkan dalam oven bersuhu 100-110°C lalu ditimbang hingga bobot konstan. Pada penelitian ini, didapatkan kadar lignin pada bagas sorgum Samurai 1 sebesar 69,94% (Tabel 2). Degradasi selulosa dilakukan dengan bantuan basa kuat natrium hidoksida. Selama proses degradasi ini, larutan harus sering diaduk agar selulosa dapat terlarut sempurna dalam larutan basa dan terpisah dari lignin dan hemiselulosa. Setelah itu, dilakukan penetralan dengan larutan asam asetat dan dipisahkan dari pengotornya dengan dicuci menggunakan akuades sampai pH netral dan bersih dari NaOH. lalu disaring selulosanya dan dikeringkan dalam oven pada suhu 100-110°C. Pada penelitian ini, didapatkan kadar selulosa sebesar 23,67% (Tabel 2). Pada penetapan ini, dapat disimpulkan bahwa kadar lignin yang terkandung dalam bagas sorgum Samurai 1 lebih besar dibandingkan dengan kadar selulosanya.

Perbandingan kadar ini dapat dilihat pada Gambar yang dimana menunjukkan bahwa lignin yang dihasilkan setelah pemerasan bagas lebih banyak dibandingkan dengan selulosanya.



Gambar 2 Bagas Sorgum Samurai 1

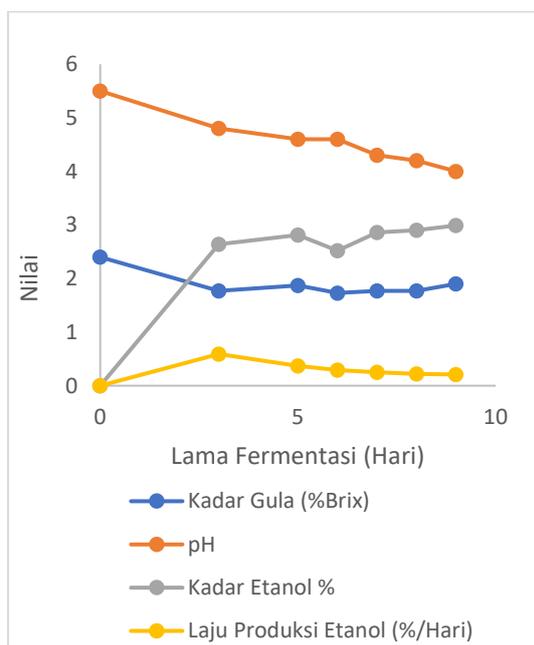
Hidrolisis pada Proses Sintesis Bioetanol

Hidrolisis bagas merupakan salah satu tahapan dalam pembuatan etanol berbahan baku lignoselulosa. Hidrolisis bertujuan untuk memecah selulosa dan hemiselulosa menjadi monosakarida (glukosa dan xilosa) yang kemudian akan difermentasi menjadi etanol. Pada penelitian ini, digunakan metode hidrolisis enzimatis. Hidrolisis enzimatis dilakukan menggunakan bantuan produksi enzim selulase dari kapang *Trichoderma harzianum*. Beberapa hal yang harus diperhatikan ketika mensintesis bioetanol yaitu: pH, suhu lingkungan, dan substrat.

Tabel 3 Laju Produksi Bioetanol (%/Hari)

Hari	Kadar Gula (%Brix)	pH	Kadar Etanol (%)	Laju Produksi Etanol (%/Hari)
0	2.4	5.5	0	0

3	1.77	4. 8	2.64	0.59
5	1.87	4. 6	2.81	0.37
6	1.73	4. 6	2.52	0.29
7	1.77	4. 3	2.86	0.25
8	1.77	4. 2	2.9	0.22
9	1.9	4	2.99	0.21



Grafik 2 Kurva Produksi Bietanol

Pengaruh Suhu Optimum dan pH terhadap Hidrolisis Enzimatis

Suhu dan pH memiliki peranan penting dalam reaksi enzimatis. Suhu untuk aktivitas enzim menentukan sifat pertumbuhan mikroorganisme. Suhu optimum untuk pertumbuhan jamur ini sebagai agen hidrolisis enzimatis adalah 15-35°C, dengan suhu maksimumnya 25-35 °C (K. K. Sharma and U. S. Singh, 2014), maka media dihidrolisis pada suhu ruang berkisar antara 25-30°C dan pH 5,5. Suhu dan pH optimum akan memberikan nilai aktivitas

enzim maksimum karena menyebabkan reaksi enzimatis berlangsung paling cepat. Makin rendah suhu fermentasi makin banyak alkohol yang dihasilkan, karena pada suhu rendah fermentasi akan lebih kompleks dan kehilangan alkohol yang dibawa gas CO₂ akan lebih sedikit, pada suhu yang tinggi akan mematikan mikroba dan menghentikan proses fermentasi.

Pada tahapan hidrolisis enzimatis, untuk meningkatkan aktivitas enzimatis yang dibutuhkan dalam mendegradasi selulosa menjadi glukosa ditambahkan mineral-mineral anorganik seperti MgSO₄·7H₂O dan KH₂PO₄ Kalium dan magnesium merupakan dua ion anorganik utama yang berpengaruh terhadap produktivitas selulase. Magnesium (Mg²⁺) diperlukan untuk produksi enzim selulase, tetapi ketika konsentrasinya ditingkatkan, maka akan menunjukkan aktivitas inhibisi.

Hasil hidrolisis pada larutan bagas sorgum dapat menghasilkan kadar gula tertinggi yaitu 2,4% brix. Nilai gula total yang dihasilkan proses hidrolisis enzimatis tersebut masih tergolong sangat rendah diduga karena tidak semua bahan dapat dihidrolisis melalui proses enzimatis terutama lignin.

Kadar Etanol dari Bagas Sorgum Samurai 1 melalui Fermentasi oleh *Saccharomyces cerevisiae*.

Bagas tanaman sorgum Samurai 1 digunakan untuk menghasilkan bioetanol. Khamir *Saccharomyces cerevisiae* digunakan sebagai agen fermentasi mengubah gula-gula sederhana dari bagas sorgum yang telah dihidrolisis secara enzimatis menjadi bioetanol. Khamir *Saccharomyces cerevisiae* dapat tumbuh dan memfermentasi gula

menjadi etanol secara optimum pada pH 5,5 dan suhu 30-32°C (UKEssays, 2018). Suhu yang digunakan dalam proses fermentasi akan mempengaruhi mikroba yang berperan dalam proses fermentasi. Suhu yang semakin rendah maka akan menghasilkan alkohol yang lebih banyak karena pada suhu rendah fermentasi akan lebih kompleks dan kehilangan alkohol yang dibawa oleh CO₂ akan semakin sedikit. Suhu yang tinggi akan mematikan mikroba dan menghentikan proses fermentasi (Ratledge, 2011). Proses fermentasi yang dilakukan bersifat anaerob dengan pH substrat 5,5. Pada umumnya, fermentasi dilakukan selama 4-20 hari untuk menghasilkan fermentasi yang sempurna (Fessenden et al, 2002). Lamanya waktu fermentasi merupakan faktor utama yang mempengaruhi hasil fermentasi. Selain itu, hasil fermentasi ditentukan pada jenis bahan, jenis ragi, dan jenis gula. Bagas sorgum Samurai 1 merupakan salah satu jenis sorgum manis yang memiliki kandungan lignin dan selulosa yang tinggi, sehingga dapat dijadikan bahan baku bioetanol generasi II. Inokulum yang dipakai sebanyak 20. Kadar gula hasil hidrolisis enzimatis bagas sorgum selama 24 jam sebesar 2,4% brix, dan menghasilkan kadar bioetanol selama fermentasi 0-9 hari sebesar 2,52-2,99%. Waktu terbaik untuk sintesis bioetanol dengan metode hidrolisis enzimatis adalah hari ke-9. Meskipun kadar bioetanol tertinggi dihasilkan pada fermentasi hari ke-9, tetapi laju produksi bioetanol terbaik terjadi pada hari ke-3 sebesar 0,59% (Tabel 3), yang artinya proses fermentasi dapat dihentikan ketika hari ke-3 karena hasil fermentasi setelah hari ke-3 tidak memiliki dampak yang

besar pada hasil kadar bioetanol. Secara teoritis 100% glukosa dapat dikonversi menjadi sekitar 51% etanol dan 49% menjadi CO₂. Fermentasi oleh *S. cerevisiae* adalah proses perubahan sebagian besar energi dari gula ke dalam bentuk etanol dengan efisiensi perubahan energi sekitar 97% (Azura, 2015).

KESIMPULAN DAN SARAN

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa laju produksi bioetanol terbaik dari hasil hidrolisis enzimatis adalah di hari ke-3 sebesar 0,59%/hari.

SARAN

Perlu dilakukan tambahan perlakuan delignifikasi pada hidrolisis enzimatis, sehingga dapat diperoleh kadar lignin yang semakin rendah, kadar selulosa yang semakin tinggi, sehingga kadar etanol yang didapatkan menjadi lebih tinggi.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada FTI Jayabaya atas fasilitas yang diberikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Arifiani. (2012). *Skripsi "Karakterisasi simplisia dan standarisasi ekstrak etanol biji jinten hitam (Nigella sativaL)".* Jakarta: Program Studi Farmasi FKIK UIN Syarif Hidayatullah.
- Azura. (2015). *Pembuatan Bioetanol dari Bagas Batang Sorgum.* Bogor: Departemen Biokimia

- Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- B. Marcia, Rosalia, Sarungallo, Mas'ud. (2012). Pemanfaatan Nira Batang, Bagas, dan Biji Sorgum Manis sebagai Bahan Baku Bioetanol. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan*, 31, 3.
- C, B. F. (2002). *Ethanol from Cellulose*. Alexandria, VA: ASHS Press.
- Daud M, Syafii W, Syamsu K. (2012). Bioethanol Production from Several Tropical Wood Species Using Simultaneous Saccharification and Fermentation Process. *Wood Res J*, 3((2)), 106-116.
- Fessenden et al. (2002). *Kimia Organik Jilid 2*. Jakarta: Erlangga.
- Irawadi, T. (2010). *Selulase*. Bogor: PAU-Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor.
- K. A. Jaques, T. P. Lyons, and D. R. Kelsall. (1999). *The Alcohol Textbook*. United Kingdom: Nottingham University Press.
- K. K. Sharma and U. S. Singh. (2014). Cultural and morphological characterization of rhizospheric isolates of fungal antagonist *Trichoderma*. *Journal of Applied and Natural Science* 6 (2):, 451-456.
- Nasional, S. J. (2017, Desember). Outlook Energi Indonesia. *Outlook Energi indonesia*, 46.
- Persero, P. P. (2019, 11 03). *Ethanol Dilemma*. (PT Pertamina (Persero)) Dipetik 08 19, 2021, dari <https://www.pertamina.com/id/news-room/market-insight/ethanol-dilemma>
- Radiasi, P. I. (2020). *Pemuliaan Tanaman dengan Teknik Mutasi Radiasi*. Jakarta: BATAN.
- Ratledge. (2011). Yeast Physiology a Microsynopsis. *Bioprocess Engineering*, 6, 195-203.
- Samsuri, Gozan M, Prasetya B, Naskin M. (2009). Enzymatic Hydrolysis of Lignocellulose Bagasse for Bioethanol Production. *Journal of Biotechnology Reserch in Tropicl Region*, 2.
- UKEssays. (2018). Factors Affecting *Saccharomyces cerevisiae*. (<https://www.ukessays.com/biology/factors-affecting-saccharomyces-cerevisiae>).