

Perlakuan Pendahuluan Limbah Padat Tapioka Menggunakan Natrium Karbonat untuk Pembuatan Bioetanol melalui Fermentasi *Saccharomyces cerevisiae*

Andy Trirakhmadi^{1,a*}, Ellyas Alga Nainggolan^{1,b}

¹Program Studi Teknik Bioproses, Fakultas Bioteknologi, Institut Teknologi Del
Jalan Sisingamangaraja, Sitoluama, Laguboti, Toba Samosir 22381, Sumatera Utara, Indonesia
E-mail: ^aandy.trirakhmadi@del.ac.id, ^bellyas.nainggolan@del.ac.id

Abstrak. Industri tepung tapioka berbahan baku singkong (*Manihot esculenta* Crantz) di Indonesia menyebabkan tingginya produksi limbah padat tapioka, dengan rata-rata produksi lebih dari 6.105 ton per tahun. Limbah padat tapioka memiliki potensi menjadi bioetanol, namun seperti bahan biomassa lainnya, membutuhkan perlakuan pendahuluan, salah satunya dengan menggunakan alkali seperti natrium karbonat (Na_2CO_3). Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kondisi perlakuan pendahuluan Na_2CO_3 untuk produksi bioetanol dari limbah padat tapioka dengan dengan cara fermentasi simultan (*simultaneous saccharification and fermentation, SSF*) menggunakan enzim selulase dan ragi *Saccharomyces cerevisiae* dengan metode ulangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa proses perlakuan pendahuluan limbah padat tapioka menggunakan Na_2CO_3 memberikan pengaruh positif terhadap pembentukan glukosa (25-87% untuk Na_2CO_3 0,5 M dan 49-134% untuk Na_2CO_3 1,0 M) namun negatif terhadap pembentukan etanol (59-81% untuk Na_2CO_3 0,5 M dan 63-90% untuk Na_2CO_3 1,0 M) pada akhir proses SSF; mengindikasikan adanya proses penghambatan proses fermentasi oleh Na_2CO_3 .

Kata kunci: : bioetanol; Na_2CO_3 ; *Saccharomyces cerevisiae*; SSF; limbah padat tapioka

Abstract. Tapioca flour industry using cassava (*Manihot esculenta* Crantz) in Indonesia is responsible for the high generation of tapioca solid waste, with average annual production of over 6,105 tonnes. Tapioca solid waste has a potential as bioethanol feedstock; however, similar to other biomass materials, it also requires pre-treatment, e.g. by use of sodium carbonate (Na_2CO_3). This research aims to determine the Na_2CO_3 pre-treatment condition to produce bioethanol from tapioca solid waste by simultaneous saccharification and fermentation (SSF) using cellulase and *Saccharomyces cerevisiae*, with duplication. Result shows that solid waste pre-treatment using Na_2CO_3 affects glucose production positively (25-87% for Na_2CO_3 0.5 M dan 49-134% for Na_2CO_3 1.0 M) but ethanol production negatively (59-81% for Na_2CO_3 0.5 M and 63-90% for Na_2CO_3 1.0 M) at the end of the SSF process; indicating the Na_2CO_3 inhibition to fermentation process.

Keywords: bioethanol; Na_2CO_3 ; *Saccharomyces cerevisiae*; SSF; tapioca solid waste



1. Pendahuluan

Bioetanol merupakan salah satu bahan bakar cair bersih dan terbarukan yang dapat dihasilkan dari bahan-bahan biologis. Bioetanol merupakan salah satu bahan bakar alternatif untuk bahan bakar fosil yang ketersediaannya semakin terbatas. Ada banyak jenis bahan dapat dimanfaatkan untuk menghasilkan bioetanol, seperti singkong, ubi jalar, jagung, padi, dan tebu. Masalah dari bahan-bahan yang tersebut adalah fungsinya yang penting sebagai komoditas pangan utama di Indonesia, sehingga tidak diperbolehkan digunakan sebagai bahan baku bahan bakar karena dapat mengancam ketahanan pangan. Indonesia memiliki lahan perkebunan ubi kayu dengan rata-rata produksi ubi kayu pertahun sebesar 16 juta ton untuk produksi tapioka, yang menghasilkan limbah padat tapioka. Limbah padat tapioka memiliki kandungan gula dalam bentuk polisakarida sehingga potensial untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku bioetanol.

Untuk dapat memanfaatkan limbah padat tapioka menjadi bioetanol, diperlukan proses perlakuan pendahuluan, hidrolisis, dan fermentasi. Perlakuan pendahuluan dapat dilakukan secara fisik, fisikokimia, kimia, dan proses biologis telah diterapkan pada bahan lignoselulosa sebelum proses hidrolisis. Perlakuan pendahuluan dengan alkali merupakan salah satu metode yang paling efektif karena mampu menghilangkan lignin, dan meningkatkan aksesibilitas enzim selulase. Natrium karbonat (Na_2CO_3) merupakan salah satu alkali yang murah dan ramah lingkungan serta dapat digunakan dalam perlakuan pendahuluan dengan kondisi yang keras, misalnya pada kondisi 20 bar dan 180°C ^[1].

Peningkatan rendemen bioetanol dengan adanya perlakuan pendahuluan menjadi perhatian utama dalam pemanfaatan limbah padat tapioka sebagai bahan baku dalam memproduksi bioetanol. Hasil penelitian tentang produksi bioetanol dari limbah padat singkong yang dilakukan oleh Manurung^[2] menunjukkan bahwa fermentasi secara *repeated-batch* oleh *S. cerevisiae* terimobilisasi menghasilkan etanol berkadar 42.72-63.66 g/L dengan produktivitas 1.78-2.66 g/L/jam; berbeda dengan Eleveri dan Putra^[3] yang melakukan produksi etanol menggunakan *S. cerevisiae* menghasilkan kadar etanol sebesar 31.9 g/L dengan produktivitas 0.66 g/L/jam.

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka ditetapkan tujuan penelitian ini untuk untuk mengetahui pengaruh perlakuan pendahuluan menggunakan natrium karbonat (Na_2CO_3) pada limbah padat tapioka terhadap produksi bioetanol yang diperoleh melalui proses fermentasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*.

2. Metodologi Penelitian

2.1. Pengambilan Bahan Baku

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah limbah padat tapioka yang diperoleh dari pabrik tapioka PT. Hutahaean, Sitoluama, Kabupaten Tobasa, Sumatera Utara. Limbah padat diambil sebanyak 1 kg dan disimpan di dalam kulkas 4°C hingga dipakai

2.2. Perlakuan pendahuluan

Perlakuan pendahuluan menggunakan natrium karbonat (Na_2CO_3) dengan variasi konsentrasi Na_2CO_3 (0,5 dan 1 M) dan waktu perlakuan pendahuluan (1, 3, dan 7 jam). Sebanyak 25 g limbah padat tapioka dicampurkan dengan 500 mL larutan Na_2CO_3 , kemudian disiapkan dalam erlenmeyer 500 ml, lalu dijaga pada temperatur 100°C dalam keadaan teraduk menggunakan *magnetic stirrer* hingga waktu perlakuan pendahuluan sesuai variasi (1, 3, dan 7 jam). Campuran ini kemudian disaring dan dicuci menggunakan akuades hingga mencapai pH netral, kemudian disaring untuk menghilangkan akuades pencuci. Limbah padat yang diperoleh digunakan untuk fermentasi.

2.3. Persiapan Inokulum

Inokulum dibuat dengan medium glukosa-ekstrak ragi (*glucose-yeast extract medium*) yang mengandung 50 g/L glukosa, 5 g/L ekstrak ragi, 3,5 g/L K_2HPO_4 , 0,75 g/L $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 1 g/L; $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, dan 0,05 M buffer sitrat pH 5,5. Sebanyak 50 ml medium ditempatkan dalam labu erlenmeyer 250 ml, lalu disterilkan dengan *autoclave* pada 121°C. Medium kemudian diinokulasi dengan *S. cerevisiae* dari kultur simpan (*stock culture*) dan diinkubasi selama 30 jam, 30°C, dan 130 rpm. Pada akhir inkubasi, isi labu erlenmeyer tersebut disentrifugasi secara aseptik pada kecepatan 3000 rpm selama 15 menit dan padatan sel *S. cerevisiae* yang diperoleh seterusnya digunakan untuk fermentasi produksi bioetanol.

2.4. Fermentasi Etanol

Etanol diproduksi dengan metode *simultaneous saccharification and fermentation* (SSF) pada temperatur 37°C dan 130 rpm dalam kondisi tidak diaerasi selama 72 jam. Media yang digunakan mengandung 5 g/L ekstrak ragi, 3,5 g/L K_2HPO_4 , 0,75 g/L $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 1 g/L; $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, dan 0,05 M buffer sitrat pH 5,5, (untuk seterusnya disebut nutrien) dan limbah padat tapioka, baik yang diberi perlakuan pendahuluan maupun yang tidak. Larutan nutrien disiapkan sebanyak 100 mL, lalu disterilkan secara terpisah dengan limbah padat tapioka dengan *autoclave* pada 121°C. Setelah didinginkan, larutan nutrien dicampurkan dengan 25 g/L limbah padat tapioka secara aseptis, lalu ditambahkan enzim selulase 30 FPU (*filter paper unit*) dan dicampurkan dengan 1 g/L sel *S. cerevisiae* yang telah disiapkan sebelumnya.

2.5. Perlakuan pendahuluan Sampel

Sampel diperiksa pada akhir proses SSF. Sampel diambil sebanyak 15 mL, kemudian disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Supernatan yang diperoleh kemudian diambil untuk analisis kadar glukosa dan etanol.

2.6. Analisis Glukosa

Analisis glukosa dilakukan dengan metode DNS (*dinitrosalicylic acid*). Reagen disiapkan sebanyak 2 macam, yaitu reagen DNS dan reagen Rochelle. Reagen DNS disiapkan dengan cara mencampurkan 10 g/L padatan DNS dengan 2 g/L fenol, 0,5 g/L Na_2SO_3 , 10 g/L NaOH dengan air hingga larut. Reagen Rochelle dibuat dengan mencampurkan garam Rochelle (kalium natrium tartrat) dengan air sebanyak 40%-berat.

Sebelum melakukan prosedur analisis sampel, terlebih dahulu disiapkan kurva kalibrasi glukosa. Sebanyak 3 mL larutan glukosa dengan konsentrasi divariasikan sebanyak 8 titik (0,1-2,0 g/L) dicampur dengan 3 mL reagen DNS, lalu dipanaskan di dalam penangas air (*water bath*) pada temperatur 90°C selama 15 menit hingga larutan berwarna merah-kecoklatan. Selama pemanasan, campuran ditutup dengan lilin paraffin agar tidak ada air yang menguap. Campuran kemudian ditambahkan dengan 1 mL larutan Rochelle untuk menstabilkan warna yang terbentuk, lalu diperiksa pada spektrofotometer UV-vis pada panjang gelombang 575 nm. Absorbansi yang terbaca untuk setiap larutan dicatat. Kurva baku disusun dengan mengalurkan data absorbansi larutan terhadap konsentrasi glukosa nyata, kemudian diregresi linier untuk memperoleh persamaan seperti pada Persamaan (1).

$$\text{konsentrasi glukosa } \left(\frac{g}{L}\right) = K \times \text{absorbansi} \quad (1)$$

Hasil regresi linier diperiksa apakah memiliki $R > 0,95$. Apabila sudah, persamaan regresi yang diperoleh dapat digunakan untuk menghitung konsentrasi glukosa dalam sampel. Sampel dianalisis dengan cara yang sama dengan larutan-larutan standar glukosa. Absorbansi yang terbaca untuk setiap larutan dicatat. Konsentrasi glukosa pada sampel dapat dihitung dengan Persamaan (1).

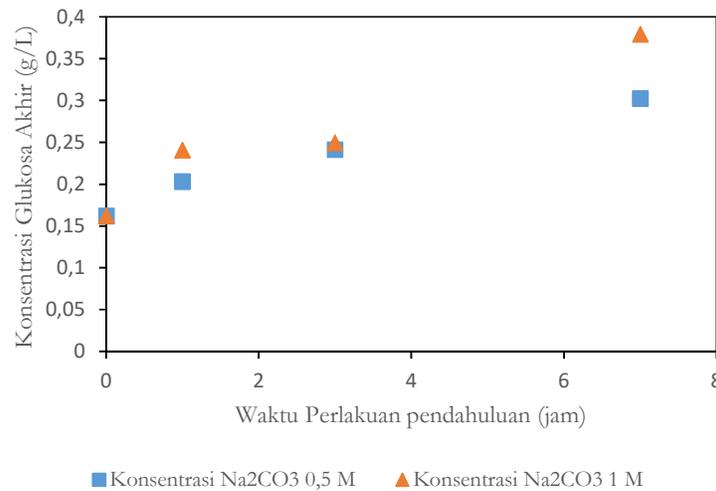


2.7. Analisis Etanol

Sebanyak 5 mL sampel difilter hingga bersih dari padatan. Sampel lalu dianalisis menggunakan kromatografi gas (*gas chromatography*, GC). Pengujian dengan GC ini dilakukan di Pusat Penelitian Kelapa Sawit (PPKS), Medan.

3. Hasil dan Pembahasan

Hasil percobaan menunjukkan bahwa baik waktu perlakuan pendahuluan maupun konsentrasi Na_2CO_3 menyebabkan konsentrasi glukosa pada akhir fermentasi semakin tinggi, seperti yang dapat dilihat pada Gambar 1.

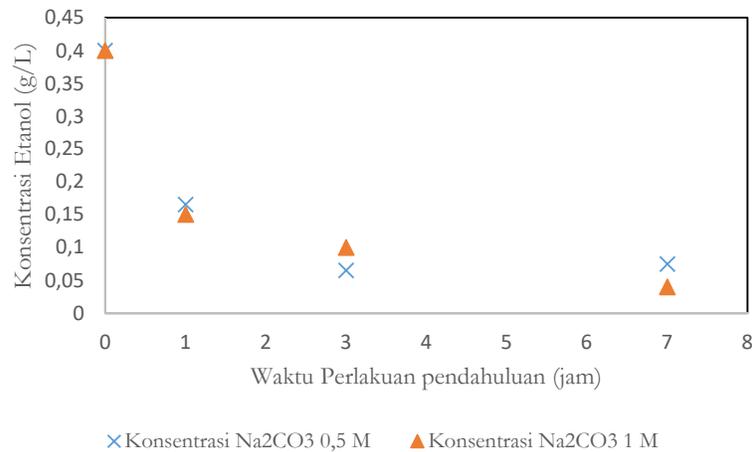


Gambar 1. Konsentrasi glukosa hasil SSF limbah padat tapioka dengan berbagai variasi perlakuan pendahuluan

Kenaikan konsentrasi glukosa seperti pada Gambar 1 (25-87% untuk sampel dengan perlakuan pendahuluan Na_2CO_3 0,5 M dan 49-134% untuk sampel dengan perlakuan pendahuluan Na_2CO_3 1,0 M) menunjukkan bahwa baik waktu maupun konsentrasi Na_2CO_3 pada perlakuan pendahuluan berdampak positif pada keefektifan proses hidrolisis karena pada umumnya laju hidrolisis selulosa oleh selulase lebih tinggi daripada laju pembentukan etanol oleh *Saccharomyces cerevisiae* pada lingkungan anaerob. Hal ini menunjukkan bahwa proses perlakuan pendahuluan dengan menggunakan alkali seperti Na_2CO_3 , membantu proses hidrolisis selulosa karena mengubah strukturnya^[6], walaupun tidak bertujuan menyingkirkan lignin, seperti pada jenis biomassa lain^{[4][5]}.

Hidrolisis limbah padat tapioka yang tidak diberikan perlakuan pendahuluan sama sekali dan dilakukan selama 96 jam memberikan konsentrasi glukosa sebesar 2,658 g/L; secara signifikan lebih tinggi daripada konsentrasi glukosa yang diperoleh dari limbah padat tapioka hasil SSF. Hal ini menunjukkan bahwa masih banyak selulosa yang belum terhidrolisis selama proses SSF. Hal ini didukung dengan fakta bahwa jumlah limbah padat tapioka yang digunakan adalah 25 g/L, sehingga kadar selulosa dan hemiselulosa gabungan secara teoretis seharusnya berjumlah sekitar 9,425 g/L^[7].

Walaupun hasil percobaan menunjukkan bahwa baik waktu perlakuan pendahuluan maupun konsentrasi Na_2CO_3 memberikan dampak positif pada proses hidrolisis limbah padat tapioka, hasil tersebut juga menyatakan turunnya produksi etanol selama proses fermentasi, seperti yang dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Konsentrasi etanol hasil SSF limbah padat tapioka dengan berbagai variasi perlakuan pendahuluan

Fermentasi limbah padat tapioka yang tidak diberi perlakuan pendahuluan memberikan konsentrasi etanol 0,4 g/L; secara signifikan lebih tinggi daripada yang diberi perlakuan pendahuluan (konsentrasi etanol akhir lebih rendah 59-81% untuk sampel dengan perlakuan pendahuluan Na₂CO₃ 0,5 M dan 63-90% untuk sampel dengan perlakuan pendahuluan Na₂CO₃ 1,0 M). Waktu perlakuan pendahuluan menyebabkan jumlah etanol yang lebih sedikit, dengan perbedaan yang tidak terlalu mencolok terhadap variasi konsentrasi Na₂CO₃. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan pendahuluan memberikan efek negatif terhadap fermentasi bioetanol. Salah satu kemungkinan terjadinya hal ini adalah karena keberadaan Na₂CO₃ yang menyebabkan terhambatnya pembentukan etanol oleh *Saccharomyces cerevisiae*.

Pada penelitian ini, tidak dapat disimpulkan apakah penghambatan ini menyatakan konversi etanol yang lebih rendah atau laju pembentukan etanol yang menurun. Untuk mengklarifikasi hal ini, disarankan untuk memperpanjang waktu fermentasi untuk penelitian lanjutan.

Kesimpulan

Proses perlakuan pendahuluan limbah padat tapioka menggunakan Na₂CO₃ diketahui berdampak positif terhadap pembentukan glukosa selama proses hidrolisis namun berdampak negatif terhadap pembentukan etanol selama proses fermentasi. Untuk mengatasi masalah serupa, dianjurkan untuk melakukan proses hidrolisis dan fermentasi secara terpisah, memperpanjang waktu fermentasi, dan menyingkirkan Na₂CO₃ semaksimal mungkin sebelum memulai proses fermentasi..

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi (RISTEKDIKTI) Republik Indonesia atas pendanaan penelitian ini dengan skema Penelitian Dosen Pemula (PDP) untuk tahun pendanaan 2017. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (LPPM) Institut Teknologi Del atas fasilitasnya dan Pusat Penelitian Kelapa Sawit (PPKS) Medan atas bantuannya untuk jasa analisis.

Referensi

- [1] Salehi, S.M.A., Karimi, K., Behzad, T., Poornejad, N., 2012. "Efficient conversion of rice straw to bioethanol using sodium carbonate pretreatment". *Energy Fuels* 26, 7354–7361.



- [2] Manurung, A.J. 2013. “Produksi Bioetanol dari Hidrolisat Pati Singkong Racun dengan Fermentasi Repeated-Batch oleh *Saccharomyces cerevisiae* Terimobilisasi pada Limbah padat Singkong”. Central Library of Bogor Agricultural University.
- [3] Elevery, P.S., Putra, S.R. 2006. “Produksi Etanol Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* yang Diamobilisasi dengan Agar Batang”. *J. Akta Kim. Indones.* 1(2), 105-114
- [4] Kim, T.H., Kim, J.S., Sunwoo, C., Lee, Y.Y. 2003. “Pretreatment of corn stover by aqueous ammonia”. *Bioresour. Technol.* 90(1), 39–47
- [5] Kim, I., Lee, B., Song, D., Han, J.I., 2014. “Effects of ammonium carbonate pretreatment on the enzymatic digestibility and structural features of rice straw”. *Bioresour. Technol.* 166, 353-357.
- [6] Kim, S., Holtzapple, M.T. 2005. “Lime pretreatment and enzymatic hydrolysis of corn stover”. *Bioresour. Technol.* 96, 1994–2006
- [7] Soemarno. 2000. “Rancangan Teknologi Proses Pengolahan Tapioka dan Produk-produknya”. *Kanisius*: Jakarta. 54 hal.





Pemakalah :
Andy Trirahmadi
12.05-12.20 WIB

<p>Pertanyaan :</p> <ol style="list-style-type: none">1. Apabila di lihat dari segi ekonomi, bagaimana efisiensi dari pengolahan limbah padat untuk menjadi produk? (Lani Gunawan)2. Hasil dari penelitian ada ampas yang dihasilkan yang menurut saya juga sebagai waste, apakah penelitian ini focus pada otanolnya atau juga ada treatment untuk ampas tersebut? (Sayyida Asyifaa)	<p>Jawaban :</p> <ol style="list-style-type: none">1. Proses destilasi min 6-7 g/L, tetapi pada penitian saya masih sangat rendah, masih jauh dari diharapkan, mungkin jika dilakukan penelitian lebih lanjut bisa diperbaiki.2. Ampas yang dihasilkan di penelitian ini sedikit, dan belum ada perlakuan menjajikan untuk ampas ini.
--	--

