

Optimasi pH dan Suhu Proses Sakarifikasi Fermentasi Simultan dalam Produksi Bioethanol dari Ubi jalar

*Optimization of pH and Temperature in Saccharification of Simultaneous
Fermentation Process of Bioethanol Production from Sweet Potatoes.*

Bambang Admadi Harsojuwono* dan I Wayan Arnata

Program Studi Teknologi Industri Pertanian,
Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana, Bukit Jimbaran-Bali.

Diterima 21 Agustus 2014 / Disetujui 28 Agustus 2014

ABSTRACT

The Research objective was to obtain the optimum pH and temperature of simultaneous fermentation scarification (SFS) process on the ethanol production of the sweet potato hydrolyzed. This research used the block random design with factorial experiment. First factor was pH (4.5 ; 5.0 ; 5.5) and the second factor was temperature (30, 35, 40 and 45 °C). The research was conducted with the following stages : production of sweet potato hydrolyzed by enzyme in the liquidation process, preparation of *S. cerevisiae* culture and simultaneous fermentation scarification process. The results showed that the optimum simultaneous fermentation scarification process on temperature of 35°C and pH 4,5 that produce the ethanol of 5,32% (v/v) with the ethanol produce efficiency of 35,79% ; fermentation efficiency of 70,16% and yield of 11,79%.

Key words: *sweet potato, simultaneous fermentation scarification, pH and temperature*

PENDAHULUAN

Produksi bioethanol merupakan upaya alternative untuk mendapatkan sumber energi terbarukan sebagai pengganti BBM yang mulai langka keberadaannya. Bioethanol dapat diproduksi dari bahan-bahan berkarbohidrat, yang salah satunya adalah ubi jalar (Hartoyo, 2007).

Produksi bioethanol dari bahan berkarbohidrat seperti ubi jalar memerlukan proses hidrolisis dan fermentasi.

Selama ini kedua proses dilaksanakan secara bertahap sehingga memerlukan waktu proses yang lebih lama, tidak efisien dan investasi peralatan lebih besar (Nurdyastuti, 2005). Salah satu upaya untuk memproduksi bioethanol dengan waktu lebih cepat, efisien dan peralatan murah adalah menggunakan teknologi proses sakarifikasi fermentasi simultan (SFS). Teknologi ini melangsungkan proses hidrolisis dan fermentasi secara serempak pada satu wadah

*Korespondensi Penulis:
Email: harsojuwono@yahoo.co.id

(Ballesterros, *et al.*, 2004). Namun demikian teknologi proses ini dipengaruhi banyak faktor diantaranya pH dan suhu proses. Kondisi pH dan suhu yang terlalu rendah maupun tinggi akan menghambat aktivitas hidrolisis enzim α -amilase maupun proses fermentasi oleh bakteri *Saccharomyces cerevisiae*. Oleh karena itu, agar proses berlangsung optimal maka perlu dilangsungkan pada kondisi pH dan suhu yang optimum. Permasalahannya pH dan suhu proses yang optimum tersebut belum diketahui, sehingga perlu dicari dalam penelitian ini.

Tujuan penelitian ini memperoleh kondisi pH dan suhu yang optimum pada proses sakarifikasi fermentasi simultan dari hidrolisat ubi jalar dalam pembuatan bioetanol. Dengan diketahuinya pH dan suhu yang optimum dalam proses SFS ini diharapkan produksi bioetanol menjadi maksimal

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan dengan tahapan sebagai berikut : pembuatan hidrolisat ubi jalar melalui proses likuifikasi secara enzimatik, persiapan kultur *S. cerevisiae*, dan proses sakarifikasi fermentasi simultan.

Tahap penelitian pada proses likuifikasi dilaksanakan menggunakan metode hidrolisis enzimatik dengan uraiannya sebagai berikut : Ubi jalar dicuci lalu dihancurkan dengan cara pamarutan dan pemblenderan, selanjutnya dibuat suspensi ubi jalar dengan konsentrasi 30 % (b/v), pH diatur sampai 6,5 dengan menggunakan larutan

NaOH. Enzim α -amilase (Thermamyl, NOVO) ditambahkan dengan konsentrasi 1,2 ml/kg hancuran ubi jalar. Suspensi dipanaskan pada suhu 100 °C selama 1 jam.

Pasca likuifikasi dipersiapkan kultur *Saccharomyces cerevisiae* melalui perbanyakan solat yeast *Saccharomyces cerevisiae* dalam 10 ml media PDY dan ditumbuhkan selama 1-2 hari (digunakan sebagai stok kultur). Setelah itu isolat ditumbuhkan lagi pada 50 ml media yang terdiri dari glukosa 10 g/l, yeast ekstrak 1 g/l, KH_2PO_4 0,1 g/l, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,1 g/l dan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,1 g/l, di dalam erlenmeyer 200 ml. Inkubasi dilakukan pada shaker berkecepatan 125 rpm dengan suhu 30° C selama 24 jam.

Isolat *Saccharomyces cerevisiae* yang telah siap digunakan tahap penelitian Sakarifikasi Fermentasi Simultan (SFS). Proses sakarifikasi simultan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang disusun secara faktorial dengan 2 faktor yaitu pH substrat dan suhu SFS. Faktor I : pH substrat SFS terdiri dari 3 level yaitu: 4.5; 5.0 dan 5.5, sedangkan factor II : suhu SFS terdiri dari 4 level yaitu : 30 °C, 35 °C, 40 °C dan 45 °C., sehingga diperoleh 12 perlakuan kombinasi yang dikelompokkan dalam 3 (tiga) kelompok waktu pengolahan dengan demikian terdapat tiga puluh enam (36) unit percobaan.

Proses sakarifikasi fermentasi simultan dilakukan secara *batch* dalam erlenmeyer 1000 ml dengan volume substrat 500 ml. Substrat fermentasi sebelum dipergunakan disterilisasi terlebih dahulu pada suhu 121 °C selama 15 menit dan pH-nya diatur sesuai perlakuan (4.5; 5.0 dan 5.5) kemudian

enzim amiloglukosidase dengan konsentrasi 1,2 ml/kg dan kultur *S. cerevisiae* dengan konsentrasi 10% ditambahkan secara simultan pada suhu sesuai perlakuan (30 °C, 35°C, 40 °C dan 45 °C). Proses ini dilakukan di dalam water bath selama 3 hari.

Variabel yang diamati sebagai indikator kinerja proses produksi adalah konsentrasi etanol (*Gas chromatography*) dan konsentrasi total gula, rendemen produksi, efisiensi penggunaan substrat dan efisiensi fermentasi. Data yang diperoleh dianalisis keragamannya dan dilanjutkan dengan uji perbandingan berganda Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Proses sakarifikasi fermentasi simultan adalah proses kombinasi antara hidrolisis secara enzimatis dengan fermentasi gula yang berkelanjutan sehingga menghasilkan produk akhir berupa etanol. Tahapan-tahapan proses sakarifikasi fermentasi simultan pada dasarnya sama dengan tahapan pada hidrolisis dan fermentasi secara terpisah, hanya pada proses sakarifikasi fermentasi simultan ini kedua proses tersebut berlangsung dalam 1 reaktor yang sama.

Analisis keragaman menunjukkan bahwa interaksi perlakuan suhu dan pH pada proses sakarifikasi fermentasi simultan berpengaruh sangat nyata terhadap konsentrasi etanol ($P < 0,01$). Konsentrasi etanol tertinggi yaitu 5,32 % (v/v) dihasilkan dari proses SFS menggunakan suhu 35 °C dengan pH substrat 4,5 dan perlakuan ini berbeda nyata dengan perlakuan yang lain.

Konsentrasi etanol terendah yaitu 0,03 % (v/v) dihasilkan dari perlakuan menggunakan suhu 45 °C dengan pH substrat 5,5 dan perlakuan ini juga berbeda nyata dengan perlakuan yang lain. Nilai rata-rata konsentrasi etanol pada proses SFS disajikan pada Tabel 1.

Efisiensi pembentukan produk oleh substrat merupakan persentase perbandingan antara konsentrasi etanol yang dihasilkan dari proses fermentasi dengan banyaknya konsumsi glukosa selama proses fermentasi.

Pada analisis keragaman efisiensi pembentukan etanol oleh substrat menunjukkan bahwa interaksi perlakuan suhu dengan pH juga berpengaruh sangat nyata terhadap efisiensi pembentukan etanol oleh substrat. Efisiensi pembentukan etanol oleh substrat tertinggi 35,78 % diperoleh dari interaksi perlakuan suhu 35 °C dengan pH substrat 4,5 dan perlakuan ini juga berbeda nyata dengan perlakuan yang lain. Efisiensi terendah yaitu 0,26 % dihasilkan oleh interaksi perlakuan suhu 45 °C dengan pH 5,5 dan perlakuan ini juga berbeda nyata dengan perlakuan yang lain. Nilai efisiensi pembentukan etanol oleh substrat disajikan pada Tabel 2 .

Efisiensi fermentasi merupakan persentase konsentrasi etanol yang dihasilkan terhadap etanol yang diperoleh secara teoritis. Etanol teoritis diperoleh dari perbandingan stoikiometri proses fermentasi dimana 1 mol glukosa akan menghasilkan 2 mol etanol dan 2 mol CO₂.

Analisis keragaman terhadap efisiensi fermentasi diperoleh bahwa interaksi perlakuan suhu dengan pH juga berpengaruh sangat nyata terhadap efisiensi fermentasi.

Tabel 1. Nilai rata-rata konsentrasi etanol (% v/v) pada proses SFS

Kode	Perlakuan	Rata-rata konsentrasi etanol (%)
P1T1	pH 4,5 ; 30 °C	4,65 b
P1T2	pH 4,5 ; 35 °C	5,32 a
P1T3	pH 4,5 ; 40 °C	3,13 d
P1T4	pH 5,0 ; 45 °C	0,10 g
P2T1	pH 5,0 ; 30 °C	3,89 c
P2T2	pH 5,0 ; 35 °C	3,93 c
P2T3	pH 5,0 ; 40 °C	2,36 e
P2T4	pH 5,0 ; 45 °C	0,07 g
P3T1	pH 5,5 ; 30 °C	3,09 d
P3T2	pH 5,5 ; 35 °C	3,15 d
P3T3	pH 5,5 ; 40 °C	1,16 f
P3T4	pH 5,5 ; 45 °C	0,03 h

Keterangan: notasi dengan huruf yang berbeda di belakang angka rata-rata menunjukkan adanya perbedaan nyata antar perlakuan ($p < 0,05$).

Tabel 2. Efisiensi pembentukan etanol oleh substrat (%) pada proses SFS

Kode	Perlakuan	Efisiensi pembentukan etanol (%)
P1T1	pH 4,5 ; 30 °C	33,85 b
P1T2	pH 4,5 ; 35 °C	35,79 a
P1T3	pH 4,5 ; 40 °C	21,45 d
P1T4	pH 5,0 ; 45 °C	0,90 g
P2T1	pH 5,0 ; 30 °C	26,74 c
P2T2	pH 5,0 ; 35 °C	26,79 c
P2T3	pH 5,0 ; 40 °C	15,31 e
P2T4	pH 5,0 ; 45 °C	0,65 g
P3T1	pH 5,5 ; 30 °C	20,72 d
P3T2	pH 5,5 ; 35 °C	20,70 d
P3T3	pH 5,5 ; 40 °C	7,70 f
P3T4	pH 5,5 ; 45 °C	0,26 h

Keterangan: notasi dengan huruf yang berbeda di belakang angka rata-rata menunjukkan adanya perbedaan nyata antar perlakuan ($p < 0,05$)

Efisiensi fermentasi tertinggi yaitu 70,16% terhadap produksi etanol secara teoritis dan dihasilkan dari interaksi perlakuan suhu 35 °C dengan pH substrat 4,5. Perlakuan ini juga berbeda nyata dengan perlakuan yang lain. Efisiensi terendah yaitu 0,51 % dihasilkan oleh interaksi perlakuan suhu 45°C dengan pH 5,5 dan perlakuan ini juga berbeda nyata dengan perlakuan yang lain. Nilai efisiensi fermentasi pada proses SFS disajikan pada Tabel 3.

Efisiensi fermentasi 70,16 % menunjukkan bahwa glukosa yang dipergunakan sebagai substrat tidak sepenuhnya dimanfaatkan untuk pembentukan etanol. Selama proses fermentasi glukosa juga dimanfaatkan untuk mempertahankan metabolisme sel, untuk pembentukan biomassa atau asam piruvat yang terbentuk pada proses glikolisis belum mampu sepenuhnya dirubah menjadi etanol oleh *S. cerevisiae*, tetapi dapat membentuk senyawa-senyawa asam organik. Senyawa asam-asam organik dapat berupa asam asetat, laktat dan asam piruvat (Arnata 2009).

Rendemen merupakan persentase produk etanol yang dihasilkan terhadap bobot bahan baku yang dipergunakan dalam proses fermentasi. Analisis keragaman terhadap rendemen etanol diperoleh bahwa interaksi perlakuan suhu dengan pH juga berpengaruh sangat nyata terhadap rendemen etanol. Rendemen etanol tertinggi yaitu 11,79 % dihasilkan dari interaksi perlakuan suhu 35 °C dengan pH substrat 4,5 dan perlakuan ini juga berbeda nyata dengan perlakuan yang lain. Efisiensi terendah

Tabel 3. Efisiensi fermentasi (% terhadap etanol teoritis) pada proses SFS

Kode	Perlakuan	Efisiensi fermentasi (%)
P1T1	pH 4,5 ; 30 °C	66,36 b
P1T2	pH 4,5 ; 35 °C	70,16 a
P1T3	pH 4,5 ; 40 °C	42,06 d
P1T4	pH 5,0 ; 45 °C	1,77 g
P2T1	pH 5,0 ; 30 °C	52,44 c
P2T2	pH 5,0 ; 35 °C	52,52 c
P2T3	pH 5,0 ; 40 °C	30,02 e
P2T4	pH 5,0 ; 45 °C	1,27 g
P3T1	pH 5,5 ; 30 °C	40,64 d
P3T2	pH 5,5 ; 35 °C	40,58 d
P3T3	pH 5,5 ; 40 °C	15,09 f
P3T4	pH 5,5 ; 45 °C	0,51 h

Keterangan: notasi dengan huruf yang berbeda di belakang angka rata-rata menunjukkan adanya perbedaan nyata antar perlakuan ($p < 0,05$)

yaitu 0,07 % dihasilkan oleh interaksi perlakuan suhu 45 °C dengan pH 5,5 dan perlakuan ini juga berbeda nyata dengan perlakuan yang lain. Nilai rata-rata rendemen pada proses SFS disajikan pada Tabel 4.

Berdasarkan rendemen yang dihasilkan sebesar 11,79 % maka dapat diperkirakan untuk membuat 1 L etanol akan diperlukan sekitar 8,49 kg ubi jalar segar. Sebagai perbandingan konversi bahan baku pati ubi kayu menjadi bioetanol menghasilkan rendemen sekitar 16,67 %, ini berarti setiap pengolahan 1 ton ubi kayu akan menghasilkan 166,70 liter bioetanol (Nurdyastuti 2005).

Rendemen yang dihasilkan pada proses pembuatan bioetanol dari bahan baku berpati seperti ubi jalar dan ubi kayu sangat tergantung pada kemampuan proses hidrolisis komponen-komponen

Tabel 4. Nilai rata-rata rendemen (%) pada proses SFS

Kode	Perlakuan	Rata-rata rendemen (%)
P1T1	pH 4,5 ; 30 °C	10,30 b
P1T2	pH 4,5 ; 35 °C	11,79 a
P1T3	pH 4,5 ; 40 °C	6,93 d
P1T4	pH 5,0 ; 45 °C	0,22 g
P2T1	pH 5,0 ; 30 °C	8,61 c
P2T2	pH 5,0 ; 35 °C	8,70 c
P2T3	pH 5,0 ; 40 °C	5,21 e
P2T4	pH 5,0 ; 45 °C	0,16 g
P3T1	pH 5,5 ; 30 °C	6,85 d
P3T2	pH 5,5 ; 35 °C	6,97 d
P3T3	pH 5,5 ; 40 °C	2,58 f
P3T4	pH 5,5 ; 45 °C	0,07 h

Keterangan: notasi dengan huruf yang berbeda di belakang angka rata-rata menunjukkan adanya perbedaan nyata antar perlakuan ($p < 0,05$)

pati menjadi glukosa, selanjutnya tinggi rendahnya kandungan glukosa hasil hidrolisis akan mempengaruhi proses fermentasi dalam pembentukan etanol.

Menurut Roukas (2006), rendemen alkohol dari substrat glukosa dalam fermentasi menggunakan yeast dari genus *Saccharomyces* dapat mencapai 90 %. Proses fermentasi oleh *Saccharomyces* adalah proses pengubahan sebagian besar energi dari gula ke dalam bentuk etanol. Efisiensi pengubahan energi tersebut dapat mencapai 97 % (Ballesterros, *et. al.*, 2004). Adanya perbedaan konsentrasi etanol dan efisiensi produksi pada masing-masing perlakuan disebabkan oleh adanya perbedaan kondisi optimal fermentasi menggunakan *S. cerevisiae* untuk memproduksi etanol dengan kondisi optimal dari proses hidrolisis secara enzimatik menggunakan amiloglukosidase. Adanya perbedaan ini merupakan

kekurangan dari proses SFS. Kondisi suhu optimum untuk aktivitas enzim amiloglukosidase sebesar 45 – 55°C, sedangkan *Saccaromyces cerevisiae* mempunyai aktivitas optimum pada suhu 30- 35 °C dan tidak aktif pada suhu lebih dari 40 °C (Jeon, 2007). Biakan *S. cerevisiae* mempunyai kecepatan fermentasi optimum pada pH 4,48 (Nowak, 2000) dan enzim amilo glukosidase optimum pada pH 4,0 - 5,0 (Judoamidjojo *et al.* 1989). Lebih lanjut Nowak (2000) menunjukkan bahwa proses sakarifikasi fermentasi simultan dilakukan pada suhu antara 37 – 38 °C. Hal tersebut merupakan nilai antara suhu optimal untuk proses hidrolisis yaitu 45 – 55 °C menggunakan katalis enzim dan suhu optimal untuk pertumbuhan selama proses fermentasi yaitu 30 °C. Pengembangan mikroorganisme termofilik yang dapat tumbuh dengan baik pada suhu di atas 40 °C dan toleran terhadap etanol dalam konsentrasi tinggi merupakan salah satu tantangan dalam proses sakarifikasi fermentasi simultan.

Beberapa penelitian mengenai produksi etanol melalui proses sakarifikasi fermentasi simultan telah dilakukan. Poosaran, *et al.* (1985) melaporkan bahwa sakarifikasi fermentasi simultan berbahan bahan baku pati singkong menggunakan strain *Zymomonas mobilis* membutuhkan waktu lebih cepat dibandingkan dengan menggunakan strain *Saccharomyces uvarum* yaitu membutuhkan waktu fermentasi 20 jam dan menghasilkan rendemen 95%, sedangkan *S. uvarum* membutuhkan waktu fermentasi 33 jam dan menghasilkan rendemen 90%. Peningkatan produksi etanol dari sorgum dengan proses SFS menggunakan kultur

campuran mikroba *Fusarium oxysporum* dengan *Z. mobilis* menghasilkan 29,7 g etanol/100 g sorgum kering. Penggunaan kultur campuran mikroba *S. fibuligera* dengan *Z. mobilis* menghasilkan 28 g/l etanol, yield etanol ini dapat ditingkatkan dengan menambahkan kultur *S. fibuligera* pada pati yang telah dilikuifikasi selama 12 jam dan diikuti dengan penambahan *Z. mobilis* untuk fermentasi (Tao, *et. al.*, 2003).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Kondisi optimum proses sakarifikasi fermentasi simultan pada suhu 35°C dengan pH 4,5 yang menghasilkan konsentrasi etanol 5,32% (v/v) dengan efisiensi pembentukan etanol 35,79%; efisiensi fermentasi 70,16% serta rendemen 11,79%.

Saran

Perlu dilaksanakan penelitian lebih lanjut dengan memperlakukan pH dan waktu proses pada likuifikasi sedang pada sakarifikasi fermentasi simultan perlu memperlakukan konsentrasi enzim dan lama proses fermentasi agar diperoleh hasil yang maksimum.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Universitas Udayana yang telah membiayai penelitian ini dari DIPA tahun anggaran 2010 serta LPPM Unud yang telah memfasilitasi sehingga terlaksananya penelitian dan publikasi ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Arnata I W., 2009. Alternatif Pengembangan Teknologi Bioproses Pembuatan Bioetanol Dari Ubi Kayu Menggunakan Kultur Campuran *Trichoderma viride*, *Aspergillus niger* dan *Saccharomyces cerevisiae*. Tesis. Institut Pertanian Bogor.
- Ballesteros M, J. M. Olivia, M. J. Negro, P. Manzanares, I. Ballesteros, 2004. Ethanol from Lignocellulosic Material by a Simultaneous Saccarification and Fermentation Process (SFS) With *Kluyveromyces marxianus* CECT 10875. *Journal of Process Biochemistry* 39 : 1843-1848.
- Hartoyo, T., 2007. The Sweet Potato Product.
http://homecooking.about.com/library/weekly/the_sweet_potato_product.html
Di-access 20 Januari 2010.
- Jeon, B. Y., 2007, Development of a Serial Bioreactor System for Direct Ethanol Production from Starch Using *Aspergillus niger* and *Saccharomyces cerevisia*. *Journal of Biotechnology and Bioprocess Engineering*, Vol. 12, pp. 566-573.
- Judoamidjojo R.M., E.G. Said, L. Hartoto, 1989. *Biokonversi*. Bogor : Pusat Antar Universitas Bioteknologi.
- Nowak, J., 2000, Ethanol Yield and Productivity of *Saccharomyces cerevisiae* in Various Fermentation Methods, *Journal of Polish Agricultural Universities*, Vol. 3, No. 2 seri *Food Science and Technology*.
- Nurdyastuti I., 2005. Teknologi Proses Produksi Bio-Ethanol. Prospek Pengembangan Bio-Fuel Sebagai Substitusi Bahan Bakar
- Minyak.http://Geocities.com/markal_bppt/publish/biofbbm/biindy.pdf, diakses 19 November 2010.
- Poosaran, N., Heyes, R. H. and Rogers, P. L., 1985. Biomass. Di dalam : Gunasekaran, P. Dan K. Chandra Raj. *Ethanol Fermentation Technology-Zymomonas mobilis*. Departement of Microbial Technology, School of Biological ciences, Mandurai Kamaraj University, India.
- Roukas, T., 2006, Continuous Ethanol Production from Nonsterilized Carob Pod Extract by Immobilized *Saccharomyces cerevisiae* on Mineral Kissiris Using A Two-reactor System, *Journal of Applied Biochemistry and Biotechnology*, Vol. 59, No. 3.
- Taherzadeh M. J. and K. Karimi, 2007a. Acid-Based Hydrolysis Processes for Ethanol from Lignocellulosic Materials. *Journal of Bio Resources* 2 (3) : 472-499.

Taherzadeh M. .J. and K. Karimi, 2007b.
Enzyme-Based Hydrolysis Process for
Ethanol from Lignocellulosic Material.
Review: Journal of BioResources 2
(4) : 707-738.

Tao, F., Miao, J. Y., Shi, G. Y., dan Zhang,
K. C., 2003, Ethanol Fermentation by
an Acid-Toleran *Zymomonas mobilis*
Under Non sterilized Condition,
Journal of Process
Biochemistry,40:183-187.