

Konversi Biomassa Berselulosa Menjadi Bioetanol Dengan Menggunakan Enzim β -Glukoamilase dan *Trichoderma* Pada *Ulva Lactuca*

Fa Wiyan¹, Lia Maharani¹, Ardi Riyanto¹, Yuni Puji Rahmawati¹, Tri Poespowati^{1,*}

¹ Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri

Institut Teknologi Nasional Malang Jawa Timur

Jl Bendungan Sigura-gura No 2 Telp (0341 551431), Malang 64145

* E-mail : poespowati@yahoo.com.au

Abstrak. Bioetanol merupakan bahan bakar alternatif ramah lingkungan yang dapat diproduksi dari alga *Ulva Lactuca* salah satu golongan rumput laut hijau yang memiliki kandungan mineral tinggi. Jenis alga tersebut juga kaya akan polisakarida khususnya selulosa dan hemiselulosa dengan sedikit kandungan lignin sehingga berpotensi untuk dikembangkan sebagai sumber bahan bakar alternatif untuk bioenergi. Langkah pertama dengan melakukan pretreatment, yang bertujuan untuk mengurangi kadar lignin pada *Ulva Lactuca*, dilakukan pengeringan dan pengecilan ukuran bahan. *Ulva Lactuca* dilakukan dengan dua tahap. Tahap pertama dilakukan hidrolisis asam dengan konsentrasi 2% selanjutnya dilakukan hidrolisis enzim β -glukoamilase, *Trichoderma* sesuai variabel yang telah ditentukan yaitu 5, 10, 20, 40 tetes sebagai tahap kedua. Waktu fermentasi selama 7 hari mendapatkan hasil tertinggi 7,06273% yang dihasilkan pada sampel 1-2 β dengan volume enzim 10 tetes.

Kata Kunci: Bioetanol, Hidrolisis Enzim, *Ulva Lactuca*, β -Glukoamilase & *Trichoderma*

1. Tinjauan Pustaka

Ulva Lactuca merupakan golongan rumput laut hijau yang memiliki kandungan mineral tinggi. Jenis tersebut juga kaya polisakarida khususnya selulosa dan hemiselulosa dengan kandungan lignin yang rendah jika dibandingkan dengan tanaman darat sehingga berpotensi untuk dikembangkan sebagai sumber biomassa alternatif untuk berbagai keperluan seperti pakan dan bioenergi (Santi, 2012). Hasil analisisnya mengandung 58% karbohidrat, 12% serat, 15% protein, 1% lipid dan 14% abu. Pada karbohidrat terdiri dari 43% *Ulvon*, 15% pati, 2% karbohidrat bebas, 2% lignin, 16% hemiselulosa dan 22% selulosa (Lars, 2011).

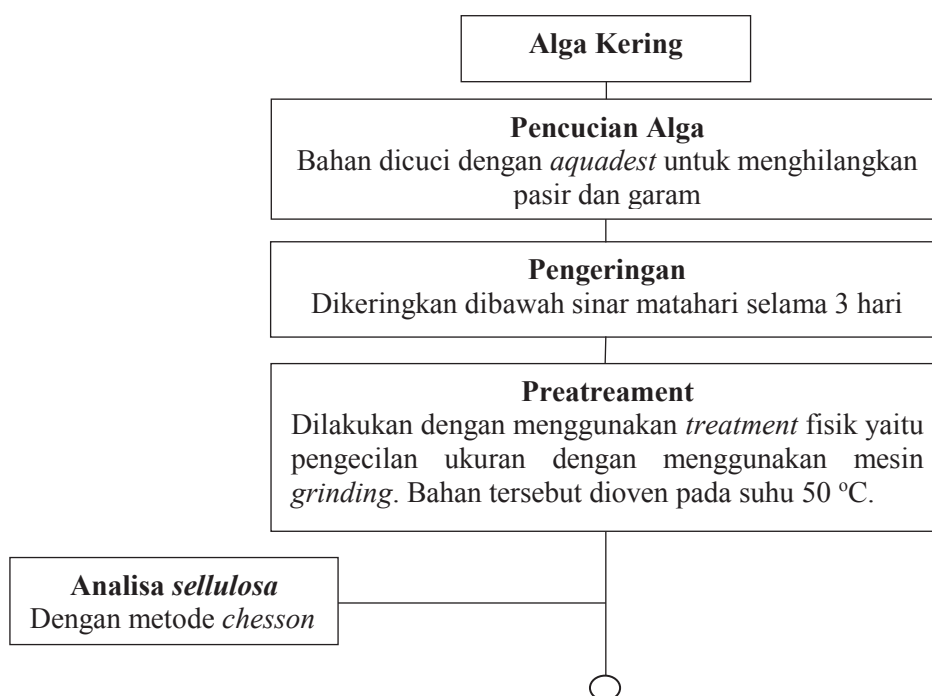
Konversi biomassa berselulosa menjadi bioetanol melibatkan empat langkah meliputi proses pretreatment, proses hidrolisa, proses fermentasi, dan proses destilasi atau proses pemurnian. Untuk proses persiapan bahan, digunakan perlakuan *size reduction* sebagai bagian dari *physical treatment* (Zheng, 2009). Hidrolisis merupakan salah satu tahapan selanjutnya dalam pembuatan etanol berbahan baku lignoselulosa. Hal ini bertujuan untuk memecah selulosa dan hemiselulosa menjadi monosakarida yang kemudian akan difermentasi menjadi etanol. Pada umumnya hidrolisis dibagi menjadi dua, yaitu hidrolisis asam dan hidrolisis enzim. Apabila hidrolisis sempurna selulosa menghasilkan glukosa sedangkan hemiselulosa menghasilkan beberapa monomer gula pentose (C₅) dan heksosa (C₆) (Nababan, 2013).

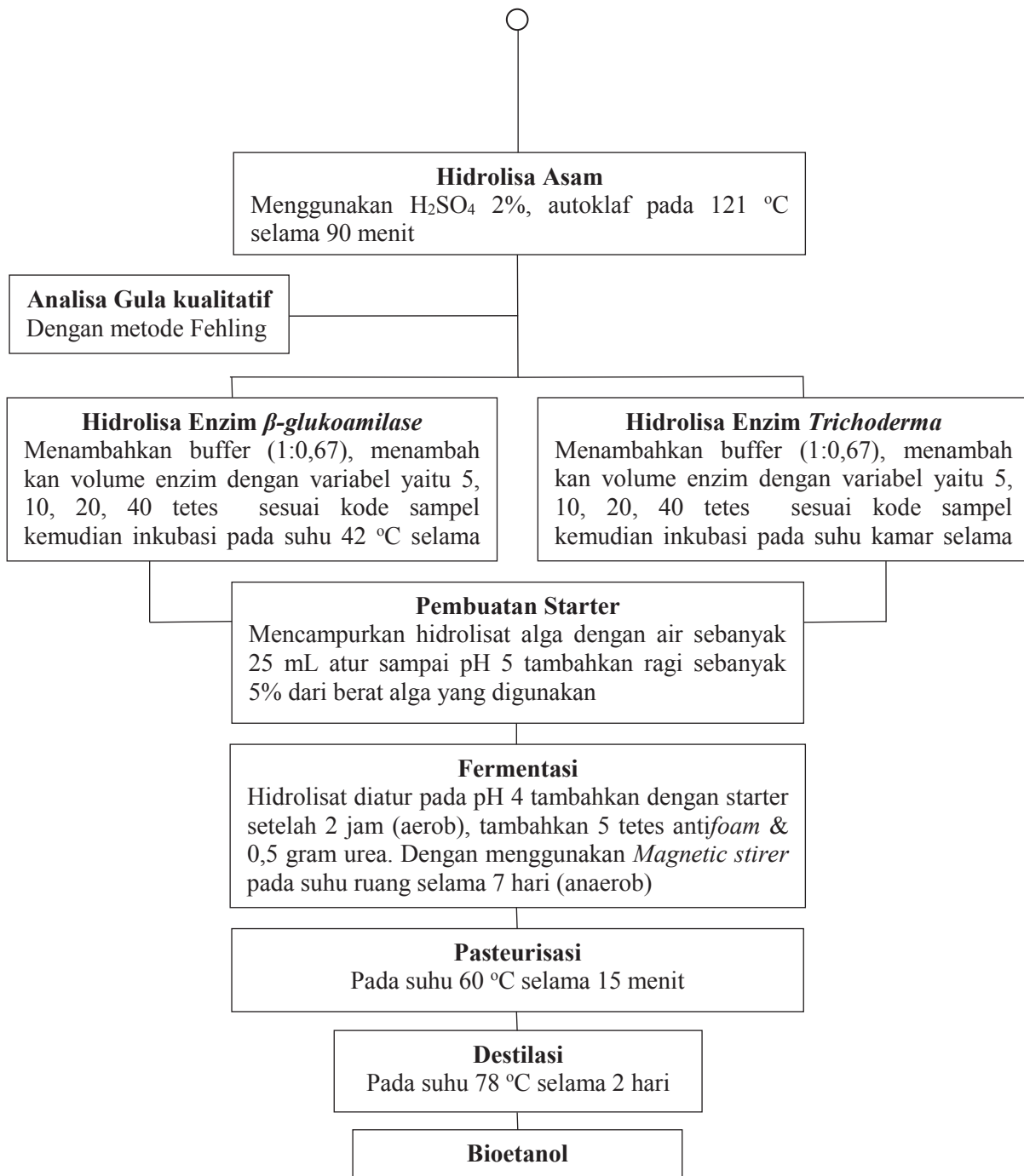
Menurut penelitian yang menggunakan Macroalga *Gracilaria salicornia* sebagai bahan baku, tahapan hidrolisis dilakukan dengan 2 tahap, yaitu hidrolisis asam dan hidrolisis enzim. Hidrolisis asam menggunakan larutan H₂SO₄ 2%, kemudian dimasukkan kedalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 30 menit, dan selanjutnya dihidrolisis dengan menggunakan enzim *E. coli*, namun hasilnya kurang memuaskan karena glukosa yang dimiliki alga bukan glukosa yang mudah difermentasi oleh *E. coli*. Hasil yang didapat sebanyak 79,1 gr EtOH/kg alga segar (Wang, 2011).

Sedangkan hidrolisis enzim yaitu reaksi antara bahan dengan air disertai dengan penambahan enzim sebagai katalis (Didu, 2010). Seperti pada penelitian yang dilakukan oleh Yazdani (2011) yang menggunakan enzim β -glukosidase selama 24 dan 48 jam. Enzim glukoamilase memecah ikatan polimer monosakarida pada bagian luar dan menghasilkan unit-unit glukosa dari ujung non-pereduksi rantai polimer polisakarida. Aktivitas enzim ini akan menurun secara drastis bila sampai pada ikatan glukosida α -1.6. Enzim-enzim yang tergolong di dalam kelompok glukoamilase ini dapat diperoleh dari bagian strain *Aspergillus* dan *Rhizopus*. Enzim glukoamilase bersifat eksoamilase yaitu dapat memutus rantai pati menjadi molekul-molekul glukosa pada bagian non pereduksi dari molekul tersebut. Baik ikatan α -1.4 maupun α -1.6 dapat diputuskannya. Aktivitas optimum enzim glukoamilase dipengaruhi oleh pH dan suhu. Sumber enzim yang berbeda akan menghasilkan enzim dengan kondisi aktivitas yang berbeda pula. pH optimal enzim tersebut berkisar antara 4,5–5,0, tetapi hal itu juga tergantung sumber enzimnya. Suhu optimumnya berkisar antara 40–50 °C (Didu, 2010). Herawati (2008) juga telah melakukan penelitian yang bertujuan untuk memproduksi bioetanol dengan bahan baku berupa bagas dan menggunakan enzim selulase yang dihasilkan oleh *Trichoderma* sp. dilanjutkan dengan fermentasi alkohol oleh *Saccharomyces cerevisiae*. Kadar alkohol tertinggi yang diperoleh mencapai 3,23%. Pertumbuhan *T. Viridae* optimal pada pH sekitar 4,0 sedangkan untuk produksi enzim selulase mendekati pH 3,0. Selama produksi enzim, pH harus dipertahankan dalam kisaran 3,0-4,0 karena inaktivasi enzim akan terjadi dibawah pH 2,0. Suhu optimum pertumbuhan sekitar 32-35 °C dan untuk produksi enzim sekitar 25-28 °C. Karakteristik dari enzim selulase *T. Viride* adalah memiliki pH optimum 4,0 dan akan tetap stabil pada pH 3-7. Suhu optimum adalah 50 °C dan aktivitasnya akan menurun jika suhunya lebih dari 50 °C (Aranata, 2009).

2. Metode Pelaksanaan

Penelitian dilakukan di Laboratorium Teknik Kimia ITN Malang dengan melakukan pretreatment awal bahan baku yaitu alga *Ulva Lactuca* dilanjutkan dengan hidrolisa asam dan enzim (β -glukoamilase, *Trichoderma*). Kemudian fermentasi dan proses terakhir destilasi. Dengan penggambaran proses sebagai berikut:





3. Hasil dan Pembahasan

Sistematis penomoran sampel dengan jelas akan ditunjukkan dalam table berikut.

Tabel 1. Pengkodean Variabel Hidrolisa

Jenis enzim	<i>β</i> -glukoamilase	<i>Trichoderma</i>	-	-
Volume enzim (tetes)	5	10	20	40
Kode	A	B	C	D

Tabel 2. Korelasi Antar Variabel Dan Penomoran Sampel Hidrolisa

Jenis enzim	Volume enzim (tetes)	Nomor Sampel
A	A	1-1 B
A	B	1-2 B
A	C	1-3 B
A	D	1-4 B
B	A	1-1 T
B	B	1-2 T
B	C	1-3 T
B	D	1-4 T

Menurut penelitian Wang yang berjudul *Two-stage Hydrolysis of Invasive Algal Feedstock for Ethanol Fermentation* untuk proses hidrolisa asam jenis asam yang dipakai adalah asam kuat H_2SO_4 dengan konsentrasi 2% namun pemanasan selama 90 menit pada suhu $121^\circ C$ (variable tetap). Setelah itu dilakukan analisa kualitatif dengan metode Uji Fehling, pada uji ini terbentuk endapan merah bata pekat dengan komposisi endapan 70%. Hal ini mengindikasikan bahwa kadar glukosa yang dihasilkan sangat baik.

Sebelum masuk ke tahap hidrolisa enzim perlu dilakukan proses penyesuaian pH yang sesuai dengan kondisi optimum enzim yang digunakan dengan bantuan NaOH 2N. Enzim *β -glukoamilase* dan *Trichoderma* memiliki kondisi pH optimum 5. Penambahan buffer pada proses ini untuk mempertahankan nilai pH optimum dari kedua jenis enzim. Sebab apabila pH berubah maka enzim yang terlibat tidak akan bekerja secara optimal dan glukosa yang dihasilkan semakin sedikit. Untuk sampel dengan kode 1-1 B, 1-2 B, 1-3 B dan 1-4 B enzim yang ditambahkan adalah *β -yang* berjudul *glukoamilase* dengan volume enzim sesuai variable yang ditentukan.

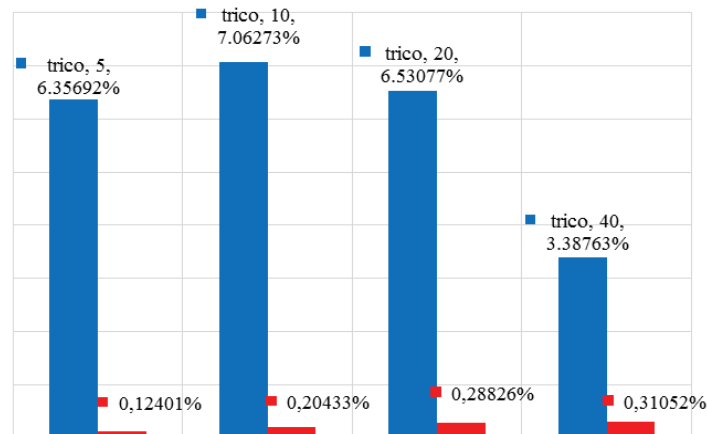
Menurut penurur penelitian Didu *Produksi Bioetanol Dari Sirup Glukosa Ubi Jalar (Ipomoea Batatas L) Secara Fed Batch Dengan Menggunakan Saccharomyces Cerevisiae* sumber enzim yang berbeda akan menghasilkan enzim dengan kondisi aktivitas yang berbeda pula. pH optimal enzim tersebut berkisar antara 4,5–5,0, tetapi hal itu juga tergantung sumber enzimnya. Suhu optimumnya berkisar antara $40\text{--}50^\circ C$. Enzim ini bekerja baik yaitu pada suhu $40^\circ C$. Sedangkan sampel dengan kode 1-1 T, 1-2 T, 1-3 T dan 1-4 T enzim yang ditambahkan adalah *Trichoderma* dengan volume enzim sesuai variable yang ditentukan. Suhu optimum enzim ini sekitar $25\text{--}30^\circ C$. Semua sampel tersebut diinkubasi selama 42 jam dengan kondisi terisolasi (*anaerobic*). Setelah waktu yang ditentukan, sampel tersebut memiliki warna coklat keruh. Perlakuan analisa Uji Fehling juga dilakukan pada tahap ini, hasil dari uji ini endapan merah bata yang terbentuk lebih banyak dan pekat dari uji awal. Hal ini menunjukkan bahwa hidrolisa enzim yang dilakukan berhasil.

Sebelum masuk ke tahap fermentasi semua sampel dilakukan proses penyaringan untuk memisahkan cairan dan padatan. Dimana yang dipakai di proses selanjutnya adalah cairannya saja. Setelah itu sampel cair diatur pada pH 4 karena starter yang berisi *Saccharomyces cerevisiae* bekerja baik pada kondisi tersebut. Proses fermentasi dilakukan dengan pengadukan dan suhu di set $30^\circ C$. 1 jam pertama dilakukan pada kondisi *aerobic*, selanjutnya pada kondisi *anaerobic*. Selama proses fermentasi berlangsung terbentuk gas CO_2 yang menandakan mikroba tersebut hidup.

Setelah proses fermentasi dilakukan proses destilasi yang bertujuan untuk meningkatkan konsentrasi ethanol yang dihasilkan. Destilasi yang dipakai ada destilasi jenis sederhana. Sampel hasil destilasi kemudian di uji kandungan *ethanol* dengan menggunakan alat GC di Laboratorium Kimia UBAYA Surabaya.

Tabel 3. Hasil Analisa Kadar *Ethanol* Menggunakan GC

Volume Enzim (tetes)	Kode	Kadar etanol, % v/v	Kode	Kadar etanol, % v/v
5	1-1 B	6,35692%	1-1 T	0,12401%
10	1-2 B	7,06273%	1-2 T	0,20433%
20	1-3 B	6,53077%	1-3 T	0,28826%
40	1-4 B	3,38763%	1-4 T	0,31052%



Dari hasil analisa diatas, terlihat jelas perbandingan konsentrasi etanol yang dihasilkan sangat jauh. Hasil terbaik diperoleh dari hidrolisa enzim dengan menggunakan β -glukoamilase dengan hasil tertinggi 7,06273% (v/v) yaitu pada penambahan enzim sebanyak 10 tetes. Sedangkan hasil terendah pada penambahan 5 tetes enzim *Trichoderma* yaitu dengan hasil kadar *ethanol* sebesar 0,12401% (v/v).

4. Kesimpulan

- Hasil yang didapati dari penelitian pada *ulva lactuca* ini memiliki prospek menjanjikan untuk dijadikan salah satu *alternative* untuk bahan bakar. Hasil terbaik diperoleh dari hidrolisa enzim dengan menggunakan β -glukoamilase dengan hasil tertinggi 7,06273% (v/v) yaitu pada penambahan enzim sebanyak 10 tetes.
- Sangat penting pengkajian pada penelitian dan pengembangan serta riset yang dilakukan secara berkala, karena kita ketahui bersama bahwasanya energi fosil sebagai bahan bakar utama bagi umat manusia mengalami penipisan dan memberikan dampak negatif pada lingkungan, dengan adanya bahan bakar bioenergi yang ramah lingkungan .

5. Daftar Referensi

- [1] Arnata I Wayan. 2009. *Pengembangan Alternatif Teknologi Bioproses Pembuatan Bioetanol dari Ubi Kayu Menggunakan Trichoderma Viride, Aspergillus Niger dan Saccharomyces cerevisiae*. Bogor. Institut Pertanian Bogor.
- [2] Didu, Nurhidayah. 2010. *Produksi Bioetanol Dari Sirup Glukosa Ubi Jalar (Ipomoea Batatas L) Secara Fed Batch Dengan Menggunakan Saccharomyces Cerevisiae*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- [3] Herawati Dewi Astuti, Puspawati Nony. 2008. *Produksi Bioetanol Dari Bagas Melalui Penggunaan Enzim Ekstrasel Tricoderma sp. dan Fermentasi Saccharomyces cerevisiae*. Surakarta. Universitas Setia Budi.

- [4] Lars et al., 2011. *Energy Production From Sea Lettuce (Ulva Lactuca)*. Danish Technological Institute, Kongsvang alle 29, DK-8000 Aarhus C.
- [5] Nababan Dody Alexander. 2013. *Hidrolisis Enzimatik Untuk Meningkatkan Produksi Bioetanol Dari MakroAlga (Eucheuma cottoni)*. Bogor. Institut Pertanian Bogor.
- [6] Santi R. A. dkk., 2012. *Komposisi Kimia dan Profil Polisakarida Rumput Laut Hijau*. Akuatika Vol.III No.2, (105-114) ISSN 0853-2523.
- [7] Wang et al., 2011. *Two-stage Hydrolysis of Invasive Algal Feedstock for Ethanol Fermentation*. Integrative Plant Biology, 53 (3): 246–252.
- [8] Yazdani, Pravis., Karimi, Keikhosro., Taherzadeh, M.J. 2011. “*Improvement of enzymatic hydrolysis of marine macro-alga by dilute acid hydrolysis pretreatment.*” Bioenergy Technology, 8-13, 186-191.
- [9] Zheng, Y., Pan, Z., Zhang, R. 2009. “*Overview of Biomass Pretreatment For Cellulosic Ethanol Production.*” Int J Agric & Biol Eng, Vol.2(3), 51-58.