

Sakarifikasi dan Ko-Fermentasi Serentak (SKFS) untuk Produksi Bioetanol dari Limbah Padat Industri *Pulp* dan *Paper*

Sri Rezeki Muria^a, Putri Safariani Sari^a, Chairul^{a*}, Misri Gozan^b, Hendri Salmi^a, Said Zul Amraini^a

^aJurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik – Universitas Riau
Kampus Binawidya Km. 12,5 Simpang Baru, Pekanbaru 28293
Telp/Fax.(+62761) 566937.

^bDepartemen Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia

*chairulunri@yahoo.com

Abstrak

Reject pulp merupakan limbah padat dari industri pulp dan paper yang belum banyak dimanfaatkan menjadi produk bernilai tambah. *Reject pulp* memiliki 95,51% holoselulosa, sedangkan holoselulosa dapat dimanfaatkan untuk memproduksi bioetanol. Pada penelitian ini dilakukan konversi *reject pulp* menjadi bioetanol menggunakan proses Sakarifikasi dan Ko-Fermentasi Serentak (SKFS) menggunakan bioreaktor 5 L. Proses sakarifikasi menggunakan enzim selulase, selobiose dan xilanase serta proses fermentasi menggunakan dua jenis *yeast* yaitu *Saccharomyces cerevisiae* dan *Pichia stipitis*. Penambahan *yeast Pichia stipitis* selama proses akan meningkatkan perolehan kuantitas etanol. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan waktu optimum SKFS dan membandingkan penggunaan enzim selulase, selobiose dan xilanase pada proses SKFS menggunakan *yeast Saccharomyces cerevisiae* dan *Pichia stipitis*. Waktu SKFS yang digunakan yaitu 6, 12, 24, 48, 72 dan 96 jam serta penggunaan enzim selulase, selobiose dan xilanase pada kondisi optimum pH 5. Waktu tercepat proses SKFS yang didapat selama 48 jam dengan menggunakan 3 jenis enzim. Konsentrasi etanol tertinggi didapat pada proses SKFS menggunakan enzim selulase dengan konsentrasi mencapai 10,97 gr/L pada waktu SKFS 72 jam. Hasil penelitian yang didapatkan menunjukkan bahwa semakin banyak penggunaan enzim maka waktu untuk mencapai konsentrasi etanol maksimum semakin cepat.

Kata kunci: Bioetanol; *Pichia stipitis*; *Reject pulp*; *Saccharomyces cerevisiae*; SKFS

1. Pendahuluan

Reject pulp merupakan biomassa yang berpotensi untuk memproduksi bioetanol karena mengandung kadar holoselulosa (selulosa dan hemiselulosa) yang tinggi dibandingkan dengan biomassa lainnya yaitu sekitar 95,49% berat [PT. RAPP, 2010]. *Reject pulp* merupakan biomassa lignoselulosa berasal dari potongan kayu yang tidak sempurna karena adanya mata kayu (*knot*) pada industri *pulp & paper*.

Komposisi *reject pulp* terdiri dari selulosa, hemiselulosa, lignin, dan bahan anorganik lainnya. *Reject pulp* yang dibuang sebagai limbah padat oleh PT. Riau Andalan *Pulp* dan *Paper* (PT.RAPP) mencapai 159,6 ton per hari [PT.RAPP, 2010]. Kandungan *reject pulp* adalah selulosa 85,16% dan hemiselulosa 10,33%, lignin 3,15%, ekstraktif 1,16% dan abu 0,2%. Dengan tingginya kandungan selulosa dan hemiselulosa serta sedikitnya kandungan lignin maka *reject pulp* sangat potensial untuk dijadikan bahan baku bioetanol. Keunggulan produksi bioetanol dari *reject pulp* adalah tidak dibutuhkannya proses delignifikasi karena *reject pulp* telah mengalami proses pemasakan atau delignifikasi pada tangki digester pabrik *pulp*.

Salah satu faktor penentu harga produksi bioetanol dari biomassa limbah agroindustri adalah harga enzim pendegradasi biomassa yang mengandung selulosa dan hemiselulosa [Yinbo et al, 2006]. Komponen terbesar polisakarida dalam biomassa adalah selulosa dan hemiselulosa, sehingga untuk

memecah komponen–komponen tersebut diperlukan enzim yang spesifik [Latifah, 2008]. Produksi bioetanol dengan bahan baku *reject pulp* membutuhkan kondisi operasi yang optimum, maka perlu dilakukan kombinasi penggunaan enzim selulase, selobiose dan xilanase serta *yeast Saccharomyces cerevisiae* dan *Pichia stipitis* yang mampu mengkonversi *reject pulp* menjadi bioetanol.

Pada penelitian ini, dipelajari pengaruh variasi penggunaan enzim dan waktu produksi bioetanol dari *reject pulp* menggunakan enzim selulase, selobiose dan xilanase serta kombinasi *yeast Saccharomyces cerevisiae* dan *Pichia stipitis* untuk meningkatkan konversi selulosa dan hemiselulosa dengan proses Sakarifikasi dan Ko-Fermentasi Serentak (SKFS).

2. Metodologi

Reject pulp yang digunakan berasal dari PT.RAPP berlokasi di Pengkalan Kerinci Kabupaten Palalawan Propinsi Riau. *Reject pulp* dicuci dengan air kemudian dikeringkan dan dihaluskan menjadi ukuran 40-60 *mesh* selanjutnya ditentukan komposisi selulosa, hemiselulosa, lignin dan ekstraktif. Penentuan kadar selulosa menggunakan metoda pengujian standar **TAPPI T 203 om-93**, kadar lignin menggunakan metoda pengujian standar **SII 0528-81** dan kadar ekstraktif dilakukan menurut metoda pengujian standar **TAPPI T-222 cm-98**.

Reject pulp dikonversi menjadi bioetanol melalui proses sakarifikasi dan ko-fermentasi serentak (SKFS). Proses SKFS ini menggabungkan antara hidrolisis enzim dan fermentasi yang dilakukan serentak di dalam satu reaktor. Enzim yang digunakan adalah selulase, selobiose dan xilanase, serta *yeast* yang digunakan adalah *Saccharomyces cerevisiae* dan *Pichia stipitis*. Medium untuk SKFS sebanyak 5000 ml terdiri dari sampel *reject pulp* (100 gram), *nutrients* medium (500 ml), bufer asetat pH 5 (500 ml), enzim, *yeast inoculum* (masing-masing 500 ml) dan aquades. *Nutrients* medium terdiri dari 1,0 gr/L (NH₄)₂PO₄; 0,05 gr/L MgSO₄.7H₂O dan 2 gr/L *yeast extract*.

Untuk run pertama menggunakan satu jenis enzim yaitu enzim selulase. *Reject pulp*, *nutrients* medium, bufer asetat pH 5 dan aquades di masukkan ke dalam bioreaktor. Campuran bahan disterilisasi selama 15 menit pada *autoclave* dengan tekanan 15 psia dan temperatur 121^oC. Setelah campuran dingin, lalu ke dalam campuran dimasukkan enzim selulase dan *yeast inoculum*. Kemudian dilakukan proses SKFS dengan kecepatan pengadukan 170 rpm dan suhu ± 30^oC. Kultivasi diambil tiap 6, 12, 24, 48, 72 dan 96 jam dan disaring menggunakan *syringe filter* 0,45 µm CA *membranes corning* dan dimasukkan ke dalam *test tube*. Cairan bersih yang diperoleh kemudian dianalisa dengan menggunakan Gas Kromatografi (Shimadzu GC-14B, Kolom Poli Etilen Glikol Adipat (PEG-20).

3. Hasil dan Pembahasan

Analisa Komposisi *Reject pulp*

Hasil analisa komposisi *reject pulp* memiliki kadar alfa-selulosa yang tinggi yaitu sebesar 84,91% dan kadar hemiselulosa 10,6%. Kadar holoselulosa didalam *reject pulp* sekitar 95,51%. Sehingga 95,51% komponen yang ada didalam *reject pulp* tersebut dapat dikonversi menjadi etanol. Kadar lignin dan ekstraktif yang rendah sekitar 3,2% dan 1,29%.

Analisa Bioetanol

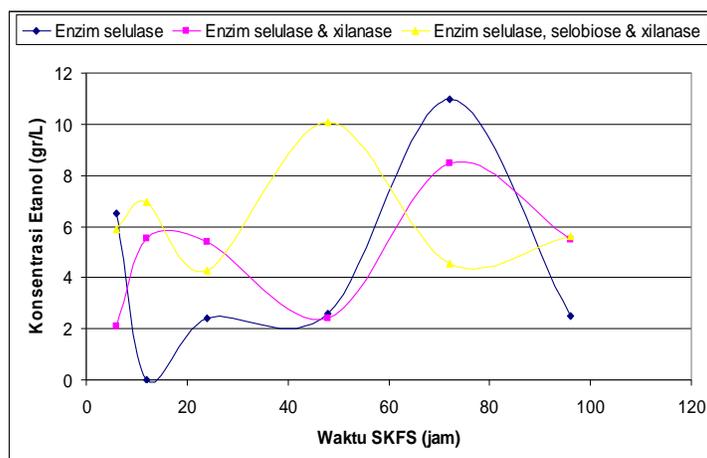
Proses produksi bioetanol dari biomassa dilakukan menggunakan metode SKFS dengan variasi penggunaan enzim dan waktu SKFS. Hidrolisis menggunakan enzim dapat bekerja pada kondisi: pH 4,5-5 dan temperatur 30-50^oC. Hal ini dapat mengurangi terjadinya masalah korosi, konsumsi utilitas rendah dan bahaya racun rendah [Taherzadeh, 2007]. Kerja enzim akan mempengaruhi jumlah etanol yang terbentuk, karena gula-gula sederhana seperti glukosa dan xilosa hasil hidrolisis enzimatik oleh enzim selulase, selobiose dan xilanase tersebutlah yang akan dimanfaatkan oleh mikroorganisme dalam penelitian ini yaitu *yeast Saccharomyces cerevisiae* dan *Pichia stipitis* yang pada akhirnya dapat memproduksi bioetanol. Etanol yang dihasilkan dari proses SKFS dianalisa menggunakan *Gas Chromatography* (GC). Konsentrasi etanol yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1: Konsentrasi Etanol Hasil Proses SKFS

Waktu SKFS (jam)	Konsentrasi Etanol (gr/L)		
	Enzim selulase	Enzim selulase & xilanase	Enzim selulase, selobiose & xilanase
6	6.5	2.08	5.87
12	0	5.51	6.96
24	2.41	5.4	4.27
48	2.6	2.39	10.07
72	10.97	8.49	4.55
96	2.52	5.47	5.61

Pengaruh Penggunaan Enzim Terhadap Produksi Bioetanol

Penggunaan enzim sangat mempengaruhi etanol yang terbentuk pada proses SKFS. Dimana enzim berfungsi sebagai biokatalisator yang dapat mendegradasi selulosa, selobiosa dan xilan menjadi gula-gula penyusunnya. Komponen kimia ini terdapat di dalam *reject pulp*. Pada penelitian ini dilakukan variasi penggunaan enzim yang terdiri dari satu jenis enzim saja yaitu enzim selulase; dua jenis enzim yaitu enzim selulase dan xilanase; serta tiga jenis enzim yaitu enzim selulase, selobiose dan xilanase. Konsentrasi etanol yang diperoleh dapat dilihat pada Gambar 1 berikut.

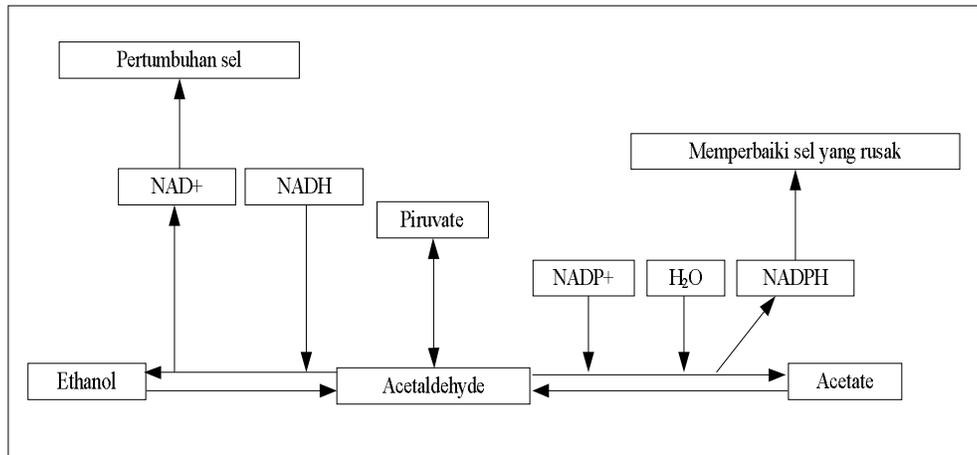
**Gambar 1: Hasil Konsentrasi Etanol pada Proses SKFS dengan Variasi Enzim**

Dari Gambar 1 dapat dilihat dengan menggunakan enzim selulase menghasilkan etanol dengan konsentrasi tertinggi yaitu 10,97 gr/L tetapi membutuhkan waktu yang lama untuk mencapai hasil maksimum yaitu 72 jam. Pada saat menggunakan dua enzim yaitu enzim selulase dan xilanase membutuhkan waktu maksimum 72 jam untuk mencapai produksi etanol maksimal sebesar 8,49 gr/L. Sedangkan pada saat menggunakan tiga enzim yaitu enzim selulase, selobiose dan xilanase membutuhkan waktu yang lebih cepat jika dibandingkan dengan penggunaan satu enzim dan dua enzim. Waktu yang dibutuhkan hanya 48 jam dengan konsentrasi etanol mencapai 10,07 g/L.

Dapat disimpulkan bahwa dengan menggunakan tiga enzim membutuhkan waktu yang relatif lebih cepat untuk memproduksi etanol. Berdasarkan tiga pola pertumbuhan dan pembentukan produk, hasil yang didapat mengikut fermentasi "Tipe I". Dimana pertumbuhan mikroorganisme dan pembentukan etanol sejalan.

Penurunan konsentrasi etanol yang terbentuk terjadi pada penggunaan enzim selulase. Terjadi penurunan yang signifikan dari jam ke-6 sampai jam ke-12 sebesar 6,5 gr/L dan pada akhir proses dari jam ke-72 sampai jam 96 juga mengalami penurunan sebesar 8,45 gr/L. Pada penggunaan dua enzim juga mengalami penurunan dari jam ke-12 sampai jam ke-24 dan ke-48 dan juga pada jam ke-72 sampai jam ke-96. Masing-masing penurunan konsentrasi etanol yaitu 0,11 gr/L, 3,12 gr/L dan 3,02gr/L. Pada saat penggunaan 3 enzim (enzim selulase, selobiose dan xilanase) juga mengalami penurunan konsentrasi etanol dari jam ke-12 sampai jam ke-24 sebesar 2,69 gr/L dan pada jam ke-48

sampai jam ke-72 sebesar 5,52 gr/L. Penurunan ini menunjukkan bahwa *yeast* sudah tidak bekerja menghasilkan etanol secara optimal. Hal ini disebabkan oleh kadar glukosa yang semakin berkurang dan pembentukan etanol yang berlebih akan menghambat pertumbuhan *yeast*. Sehingga konsentrasi etanol yang dihasilkan cenderung menurun dan terjadi peningkatan pembentukan asam asetat [Pitkanen et al, 2005]. Ini sesuai dengan alur metabolisme glukosa dan xyloosa secara anaerob oleh khamir *Saccharomyces cerevisiae* seperti yang digambarkan pada gambar 2.



Gambar 2: Pembentukan Etanol dan Asam Asetat dalam Fermentasi [Pitkanen et al, 2005].

Pada fermentasi sistem *batch*, etanol yang dihasilkan selama proses fermentasi dapat menghambat pertumbuhan khamir pada konsentrasi tertentu sesuai dengan galur khamirnya. Dapat dilihat dari Gambar 4.2, jika etanol yang dihasilkan berlebih dan mulai mengganggu kehidupan khamir, maka untuk meningkatkan ketahanan hidup sel *Saccharomyces cerevisiae* terhadap peningkatan konsentrasi etanol di dalam media hidupnya, akan terjadi peningkatan produksi ergosterol [Agudo *at al*, 1992], asam lemak jenuh C_{18} maupun asam lemak tak jenuh $C_{18:1}$ [Beaven *at al*, 1982].

Dengan menggunakan enzim selulase, setelah mengalami penurunan konsentrasi etanol terjadi kenaikan konsentrasi etanol pada jam ke-12 hingga jam ke-72 sebesar 10,97 gr/L. Untuk proses SKFS menggunakan enzim selulase dan xilanase, mengalami peningkatan konsentrasi etanol yang diperoleh. Peningkatan terjadi dari jam ke-48 sampai jam ke-72 sebesar 6.1 gr/L dan dengan yang menggunakan enzim selulase, selobiose dan xilanase juga mengalami kenaikan konsentrasi etanol kembali dari jam ke-24 sampai jam ke-48 sebesar 5,8 gr/L dan dari jam ke-72 sampai jam ke-96 sebesar 1,06 gr/L. Peningkatan ini terjadi karena produksi asam asetat semakin berkurang dikarenakan jumlah asam lemak C_{18} didalam proses telah mencukupi, sehingga biokonversi asetaldehid menjadi asetat akan semakin berkurang. Maka kesetimbangan asetaldehid dan etanol bergeser kembali ke pembentuk etanol. Hal ini yang menyebabkan konsentrasi etanol yang dihasilkan meningkat kembali setelah mengalami penurunan.

Konversi Holoselulosa menjadi Bioetanol

Perhitungan konversi yang dilakukan berbasis pada jumlah holoselulosa (selulosa dan hemiselulosa) yang terkandung di dalam *reject pulp*. Konversi ini menunjukkan banyaknya holoselulosa yang diubah menjadi etanol dengan bantuan enzim dan *yeast*. Hasil perhitungan konversi *reject pulp* menjadi bioetanol menggunakan proses SKFS dapat dilihat pada Tabel 2 berikut.

Tabel 2: Hasil Konversi *Reject pulp* Menjadi Bioetanol dengan Proses SKFS

Waktu SKFS (jam)	Konversi Etanol (%)		
	Enzim selulase	Enzim selulase & xilanase	Enzim selulase, selobiose & xilanase
6	34.03%	10.89%	30.73%
12	0%	28.85%	36.44%
24	12.62%	28.27%	22.35%
48	13.61%	12.51%	52.72%
72	57.43%	44.45%	23.82%
96	13.19%	28.64%	29.37%

Dari Tabel 2 didapat bahwa konversi *reject pulp* menjadi etanol tertinggi dengan menggunakan enzim selulase yaitu 57,43% dan membutuhkan waktu 72 jam. Pada penggunaan dua enzim yaitu enzim selulase dan xilanase, konversi maksimum juga didapat dalam waktu 72 jam sebesar 44,45%. Sedangkan pada penggunaan tiga enzim (enzim selulase, selobiose dan xilanase) membutuhkan waktu yang lebih cepat untuk menghasilkan konversi maksimal. Waktu yang dibutuhkan untuk mencapai konversi 52,72% selama 48 jam.

4. Kesimpulan

- Konsentrasi bioetanol tertinggi yang dihasilkan melalui proses SKFS mencapai 10,97% menggunakan enzim selulase dengan waktu 72 jam dibandingkan menggunakan enzim selulase dan xilane dengan waktu yang sama menghasilkan 8,49% sedangkan yang menggunakan enzim selulase, selobiose dan xilanase konsentrasi bioetanol mencapai 10,07% dengan waktu 48 jam.
- Banyaknya enzim yang digunakan mampu mempercepat proses SKFS. Dengan menggunakan tiga enzim yaitu enzim selulase, selobiose dan xilanase terbukti membutuhkan waktu 48 jam untuk mencapai kondisi optimum dibandingkan dengan menggunakan enzim selulase ataupun yang menggunakan enzim selulase dan xilanase membutuhkan waktu 72 jam.

Ucapan Terima Kasih:

Daftar Pustaka

- 1) Beaven, M.J., Charpentier, C., dan Rose, A. H., 1982, Production and Tolerance of Ethanol in Relation to Phospholipid Fatty-acyl Composition in *Saccharomyces cerevisiae* NCYC 431, *Journal of General Microbiology* (1982), 128, 1447-1455.
- 2) Del Castillo Agudo, L., 1992, Lipid content of *Sacharomyces Cerevisiae* strains with different degrees of ethanol tolerance, *Appl Microbiol Biotechnol*, 37: 647-651.
- 3) Latifah, S. 2008. Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak Untuk Produksi Bioetanol dari Hasil Samping Industri Gula. Skripsi S1. Fakultas Teknik, Universitas Riau, Pekanbaru.
- 4) Pitnaken, J.P., Rintala, E., Aristidou, A., Rouhonen, L dan Penttila, M., 2005, Xylose Chemostat Isolates of *Sacharomyces Cerevisiae* show altered metabolite and enzyme levels compared with xylose, glucane, and ethanol metabolism of the original strain. *Appl Microbiol Biotechnol*, 67:827-837.
- 5) PT. RAPP. 2010. Produksi Pulp dan Komposisi *Reject pulp* PT. RAPP. Komunikasi internal dengan Unit Digerster PT. RAPP. Pangkalan Kerinci.
- 6) Taherzadeh, M.J. dan K. Karimi. 2007. Enzyme-Based Hydrolysis For Ethanol From Lignocellulosic Materials. A Review *BioResources* 2(4), 707-738.
- 7) Yinbo, Q., M. Zhu, K. Liu, X. Bao, dan J. Lin. 2006. Studies on cellulosic ethanol production for sustainable supply of liquid fuel in China. *Biotechnology J.* 1: 1235-1240.