

Sakarifikasi dan Ko-Fermentasi Serentak Reject Pulp Menjadi Bioetanol Menggunakan Enzim Karbohidrase dan Kombinasi *Saccharomyces cerevisiae*-*Pichia stipitis*

Chairul⁽¹⁾, Misri Gozan⁽²⁾, Syahiddin Dahlan Said⁽³⁾, Said Zul Amraini⁽¹⁾, Sri Rezeki Muria⁽¹⁾, Andi Akbar⁽¹⁾

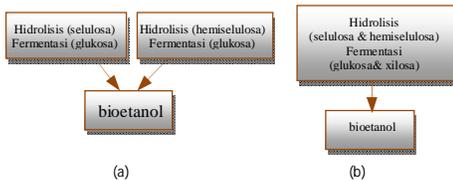
⁽¹⁾Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Riau Kampus Bina Widya Simpang Baru Panam Pekanbaru 28293 Telp./Fax. 0761-566937; Email: chairulunri@yahoo.com

⁽²⁾Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia; ⁽³⁾Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Syiah Kuala

Pendahuluan

Reject pulp merupakan biomassa lignoselulosa, merupakan sisa 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. Jumlah *reject pulp* yang merupakan *non product output* salah satu industri *pulp & paper* sebanyak 2,28% dari total produksi *pulp* per hari sebesar 7000 ton [Chairul, 2009]. 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*.

Sakarifikasi dan ko-fermentasi serentak (SKFS) adalah modifikasi dari sakarifikasi dan fermentasi serentak (SFS) dimana SKFS dihubungkan pada fermentasi gula pentosa (xilosa) dan gula heksosa (glukosa) menjadi bioetanol. Pada SFS heksosa dan pentosa hasil hidrolisis difermentasi dalam bioreaktor yang berbeda, sedangkan proses SKFS heksosa dan pentosa difermentasi di dalam satu reaktor. **Gambar 1.** menunjukkan perbedaan posaes SFS dengan SKFS.



Gambar 1. (a) Sakarifikasi dan fermentasi serentak, SFS; (b) Sakarifikasi dan Ko-Fermentasi Serentak, SKFS

Pada penelitian ini *reject pulp* dijadikan bahan baku produksi bioetanol dengan proses hidrolisis dan fermentasi yang dilakukan secara serentak dengan proses SKFS. Proses hidrolisis akan menggunakan kombinasi enzim karbohidrase yaitu selulase, xilanase dan selubiose dan proses fermentasi menggunakan dua khamir yaitu *Saccharomyces cerevisiadan Pichia stipitis* dengan mengamati pengaruh derajat keasaman dan waktu fermentasi terhadap konsentrasi bioetanol yang dihasilkan.

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.

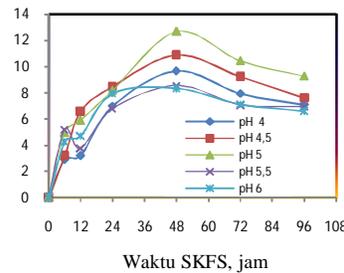
Reject pulp dikonversi menjadi bioetanol melalui proses Sakarifikasi dan ko-fermentasi serentak (SKFS). Tahap hidrolisis menggunakan campuran enzim selulase, xilanase dan selubiose dan tahap fermentasi menggunakan kombinasi khamir *Saccharomyces cerevisiae* dan *Pichia stipitis*. *S.cerevisiae* dan *P.stipitis* segar dari stok pembiakan masing-masing diinokulasi dalam medium inokulasi (glukosa, 10 g⁻¹; yeast extract, 1 g⁻¹; KH₂PO₄, 0,1 g⁻¹; MgSO₄·7H₂O, 0,1 g⁻¹; dan (NH₄)₂SO₄, 0,1 g⁻¹). Sebelum diinokulasi, medium disterilisasasi uap dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian didinginkan. Setelah dingin khamir dimasukkan ke dalam medium lalu *dishaker* selama 24 jam. *Reject pulp* sebanyak 0,5 gram kemudian dimasukan ke dalam erlenmeyer 100 ml, lalu ditambahkan nutrisi medium, Na-sitrat buffer (0,1 M) (pH = 4; 4,5; 5; 5,5 dan 6) dan aquades hingga total volume media fermentasi 27,5 mL. Kemudian disterilisasasi uap dengan menggunakan *autoclave* selama 15 menit. Setelah dingin kemudian ditambahkan enzim masing-masing 0,05 gram selulase, 0,05 gram xilanase, 0,05 gram selubiose dan inokulum khamir masing-masing 7,5 ml inokulum *Saccharomyces cerevisiae* dan 7,5 ml inokulum *Pichia stipitis*. Campuran media SKFS *dishaker* sesuai variabel waktu (6, 12, 24, 48, 72 dan 96 jam).

Hasil proses SKFS kemudian dipisahkan dengan menggunakan *sentifuge tube* sehingga diperoleh cairan bersih. Cairan bersih yang diperoleh kemudian dianalisa dengan

menggunakan Gas Kromatografi (Shimadzu GC-14B, Kolom Poli Etilen Glikol Adipat (PEG-20).

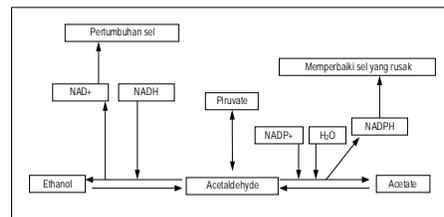
Hasil dan Pembahasan

Hasil analisa komponen selulosa, hemiselulosa, lignin dan ekstraktif yang terkandung dalam *reject pulp* adalah selulosa 84,91%, hemiselulosa 10,60 %, lignin 3,2%. Hasil analisa ini tidak jauh berbeda dengan analisa sebelumnya [Chairul, 2009] dengan komposisi selulosa 85,16%, hemiselulosa 10,33%, lignin 3,15 %. Derajat keasamaan merupakan satu diantara beberapa faktor penting yang mampu mempengaruhi proses fermentasi bioetanol. Pada penelitian ini divariasikan kondisi pH pada proses SKFS yaitu 4; 4,5; 5; 5,5 dan 6. Derajat keasaman yang diinginkan diperoleh dengan menambahkan Na-sitrat buffer (0,1 M), penambahan buffer disini dimaksudkan agar kondisi pH sesuai dengan besaran yang diinginkan. Konsentrasi bioetanol hasil proses SKFS pada variasi derajat keasaman dan waktu ditampilkan pada **Gambar 2**. Konsentrasi bioetanol yang dihasilkan paling tinggi terjadi pada jam ke-48. Pada pH 5 yaitu sebesar 12,67 g/L, kemudian pH 4,5 sebesar 10,89 g/L, pH 4 sebesar 9,67 g/L, pH 5,5 sebesar 8,54 g/L dan terendah pH 5,5 sebesar 8,34 g/L. Hal ini terjadi pada semua variasi pH, sehingga dapat dikatakan bahwa waktu fermentasi optimum adalah 48 jam.



Gambar 2. Konsentrasi bioetanol hasil proses SKSF dengan variasi pH

Jika dilihat pada awal proses yaitu pada waktu 6 jam konsentrasi bioetanol yang dihasilkan untuk semua variabel cukup rendah (2,9 g/L - 5,17 g/L), kemudian terus meningkat hingga jam ke-48 (8,34 g/L - 12,67 g/L). Setelah jam ke-48 konsentrasi bioetanol yang dihasilkan cenderung menurun, yang menunjukkan khamir sudah tidak bekerja menghasilkan bioetanol secara optimal. Fase tersebut disebabkan kadar glukosa yang semakin berkurang dan pembentukan etanol produk dari fermentasi dapat menghambat pertumbuhan khamir. Penelitian Pitkanen (2005) menunjukkan hal serupa yaitu setelah 48 jam konsentrasi bioetanol yang dihasilkan cenderung turun, sebaliknya terjadi peningkatan pembentukan asam asetat. Ini sesuai dengan alur metabolisme glukosa dan xilosa secara anaerob oleh khamir *S.cerevisiae* seperti yang digambarkan pada **Gambar 3**.



Gambar 3 Pembentukan etanol dan asam asetat dalam proses fermentasi [Pitkanen, 2005]

Pada fermentasi sistem *batch*, bioetanol yang dihasilkan selama proses fermentasi dapat menghambat pertumbuhan khamir pada konsentrasi tertentu sesuai dengan galur khamirnya. Dilihat dari **Gambar 3**, jika etanol yang dihasilkan berlebih dan mulai mengganggu kehidupan khamir, maka untuk meningkatkan ketahanan hidup sel *S. cerevisiae* terhadap peningkatan konsentrasi bioetanol di dalam media hidupnya, akan terjadi peningkatan produksi ergosterol [Del Castillo Agudo, 1992] dan asam lemak jenuh C₁₈ maupun asam lemak tak jenuh C_{18:1} [Beaven, 1982]. Jadi selain komposisi asam lemak tak jenuhnya meningkat.

jenuh juga meningkat. Asam lemak C₁₈ ini kemudian digunakan untuk meningkatkan sintesis fosfolipid beresidu asam lemak C₁₈. Peningkatan sintesis asam lemak C₁₈ diperlukan untuk menjaga integritas dari membran sel *S. cerevisiae* dalam lingkungan konsentrasi etanol tertentu sesuai dengan galur khamirnya [Beaven, 1982]. Sintesis sterol (ergosterol), maupun asam lemak dan pematangan rantai asam lemak dari C₁₆ (palmitat) menjadi asam lemak C₁₈ (stearat), memerlukan NADPH [Nelson, 2004]. NADPH diperoleh dari reaksi biokonversi asetaldehid menjadi asetat. Biokonversi asetaldehid menjadi asetat akan menggeser kesetimbangan antara bioetanol dan asetaldehid ke arah pembentukan asetaldehid (**Gambar 3**), sehingga konsentrasi bioetanol berkurang karena terjadi penyerapan bioetanol dari lingkungan masuk ke dalam sel khamir. Hal ini menyebabkan setelah 48 jam terjadi penurunan konsentrasi bioetanol (**Gambar 2**).

Konversi etanol terhadap *reject pulp* ditampilkan pada Tabel 2. Dari **Tabel 1** dapat diketahui bahwa pH mempengaruhi konversi *reject pulp* menjadi etanol melalui proses SKFS (hidrolisis : enzim selulase, xilanase, selubiose; fermentasi : *S.cerevisiae* dan *P.stipitis*), hal ini dapat dilihat konversi yang diperoleh tiap pH hasilnya berbeda. Konversi *reject pulp* yang diperoleh pada pH 4 antara 15,951%-53,187%, kemudian pH 4,5 antara 17,601%-59,898%, pH 5 antara 27,171%-69,688%, pH 5,5 antara 20,571%-48,972% dan pH 6 antara 23,266%-45,872%. Dilihat secara keseluruhan, konversi tertinggi terjadi pada jam ke-48 yaitu pada pH 5 sebesar 69,688 %, pH 4,5 sebesar 59,898 %, pH 4 sebesar 53,187 %, pH 5,5 sebesar 48,972 % dan pH 6 sebesar 45,872 %.

Tabel 1. Tabulasi Hasil Perhitungan Konversi *Reject Pulp* Menjadi Bioetanol Melalui Proses SKSF

Waktu SKFS (jam)	Konversi (%)				
	pH				
	4	4,5	5	5,5	6
0	0	0	0	0	0
6	15,951	17,601	27,171	28,436	23,266
12	17,601	36,192	32,341	20,571	25,851
24	38,337	46,642	44,882	37,182	43,617
48	53,187	59,898	69,688	46,972	45,872
72	43,672	50,822	57,423	38,887	39,107
96	38,887	41,912	50,932	38,172	36,247

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat diambil kesimpulan bahwa:

1. Produksi etanol melalui proses SKFS tertinggi adalah pada kondisi derajat keasaman (pH) 5 yaitu sebesar 12,67 g/L dan waktu fermentasi yang paling optimum terjadi pada jam ke-48.
2. Konversi *reject pulp* menjadi etanol tertinggi pada pH 5 sebesar 69,688 %.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Pemerintah Republik Indonesia melalui Dirjen DIKTI yang telah membiayai penelitian ini melalui Program Hibah Kompetitif Strategis Nasional Tahun 2010.

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) Chairul, Peratenta, M., dan Gozan, M., 2009, Pemanfaatan *Reject Pulp* untuk Produksi Bioetanol Melalui Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak dengan Enzim Selulase dan Xylanase, *Prosiding Simposium Nasional Bioenergi 2009*, 23 Nopember 2009, IPB, Bogor.
- 3) Del Castillo Agudo, L., 1992, Lipid content of *Saccharomyces cerevisiae* strains with different degrees of ethanol tolerance, *Appl Microbiol Biotechnol*, 37: 647-651.
- 4) Nelson, D.L., Cox, M. M., 2004, *Lehninger: Principles of Biochemistry*, Fourth Edition, W.H. Freeman & Co., New York.
- 5) Pitkanen, J.P., Rintala, E., Aristidou, A., Rouhonen, L dan Penttila, M., 2005, Xylose Chemostat Isolates of *Saccharomyces cerevisiae* show altered metabolite and enzyme levels compared with xylose, glucose, and ethanol metabolism