

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kegiatan Tahun I (2010)

5.1 Analisa Komposisi *Reject Pulp*

Bahan baku yang digunakan pada proses Sakarifikasi dan Ko-Fermentasi Serentak (SKFS) berupa limbah padat (*reject pulp*) industri *pulp* dan Paper PT.RAPP, Pangkalan Kerinci. *Reject pulp* ini diketahui tersusun dari beberapa komponen kimia yang dapat dikonversi menjadi bioetanol. Komponen kimia tersebut antara lain: alfa-selulosa, hemiselulosa, lignin dan ekstraktif. Hasil analisa berdasarkan Lampiran B dapat dilihat pada Tabel 5.1.

Tabel 5.1 Komposisi *Reject Pulp*

Kandungan Kimia	Nilai (%)
Alfa-selulosa	84,91
Hemiselulosa	10,60
Klason-Lignin	3,20
Ekstraktif -EB	1,295

Dari data pada Tabel 5.1 dapat dilihat bahwa *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. Dan kadar lignin dan ekstraktif yang rendah sekitar 3,2% dan 1,29%. Hal ini disebabkan karena pada proses pembuatan kertas yang dilakukan oleh PT. RAPP telah melalui proses delignifikasi. Sedangkan hasil analisa yang dilakukan oleh PT.RAPP, kadar selulosa dan hemiselulosa sekitar 85,16% dan 10,33%. Kadar holoselulosanya mencapai 95,49%. Jika dibandingkan dengan hasil analisa *reject*

pulp yang dilakukan oleh PT. RAPP, selisih kadar holoselulosa yang dihasilkan tidak jauh berbeda.

5.2 Analisa Yeast Inokulum

Yeast inokulum yang akan digunakan pada proses SKFS terlebih dahulu di analisa dengan tujuan untuk menentukan jumlah *yeast* yang terdapat didalam *yeast* inokulum. Cara menentukan jumlah *yeast* yang digunakan dengan melihat nilai OD (*Optical Density*). Penentuan nilai OD dilakukan secara analisis spektrofotometer. Prinsip kerja dari spektrofotometer adalah analisis turbidometri, yaitu menganalisis konsentrasi suatu zat berdasarkan tingkat kekeruhannya yang dibandingkan dengan larutan blanko. Larutan blanko merupakan larutan pembanding yang tidak mengandung bahan yang akan di analisa. Analisis dilakukan dengan mengambil data absorbansi dengan panjang gelombang yang digunakan yaitu 600 nm. Panjang gelombang ini digunakan untuk menganalisis konsentrasi sel. Setelah dilakukan pengujian, diperoleh nilai OD untuk masing-masing *yeast* inokulum seperti terlihat pada Tabel 5.2.

Tabel 5.2 Nilai OD *Yeast* Inokulum

<i>Yeast</i> Inokulum	Nilai OD
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0,32
<i>Pichia stipitis</i>	0,35

5.3 Hasil Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak

Sebelum digunakan bahan baku (*reject pulp*) dicuci dengan air suhu kamar, kemudian dikeringkan lalu diseragamkan ukuranya 40-60 *mesh*. Berat sampel ditimbang sebanyak 0,5 gram kemudian dimasukan ke dalam erlenmeyer 100 ml, lalu ditambahkan nutrien medium, Na-sitrat buffer (0,1 M) (pH = 4; 4,5; 5; 5,5 dan 6) dan aquades. Kemudian disterilisasi uap dengan menggunakan *autoclave* selama 15 menit. Setelah dingin kemudian ditambahkan enzim dan inokulum khamir, dan *dishaker* sesuai variabel waktu (6, 12, 24, 48, 72 dan 96 jam). Hasil proses SKSF kemudian dipisahkan dengan menggunakan *sentifuge tube* sehingga



diperoleh cairan bersih. Cairan bersih yang diperoleh kemudian dianalisa dengan menggunakan Gas Kromatografi (GC).

Derajat keasaman (pH) merupakan satu diantara beberapa faktor penting yang mampu mempengaruhi proses fermentasi etanol. Derajat keasaman optimum untuk proses fermentasi adalah antara 4-5. Pada pH di bawah 3, proses fermentasi akan berkurang kecepatannya [Samsuri, 2007]. 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.

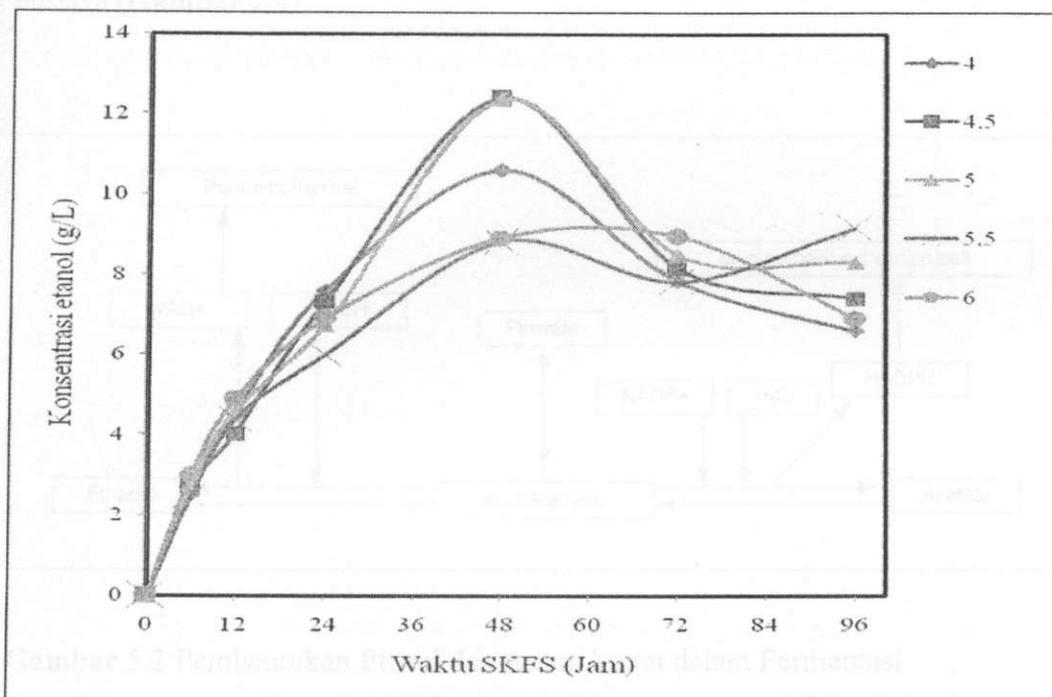
5.3.1. Hasil Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak (2 Enzim Selulase dan Xylanase) Skala Laboratorium

Data hasil analisa etanol hasil proses SKFS yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 5.3. Hasil konsentrasi etanol dari proses SKFS dengan variasi 2 enzim selulase dan xylanase yang diperoleh ditampilkan pada Gambar 5.1 sedangkan untuk konversi dapat dilihat pada Tabel 5.4.

Tabel. 5.3 Hasil Proses SKFS (2 Enzim Selulase dan Xylanase) Skala Laboratorium

No	Waktu pengambilan sampel (jam)	Kadar Etanol (g/L)				
		pH				
		4	4,5	5	5,5	6
1	0	0	0	0	0	0
2	6	2,520	2,730	2,800	2,490	3,020
3	12	4,490	4,020	4,590	4,380	4,880
4	24	7,610	7,330	6,750	6,010	6,930
5	48	10,600	12,410	12,360	8,830	8,940
6	72	7,850	8,170	8,520	7,840	8,970
7	96	6,610	7,440	8,340	9,170	6,930



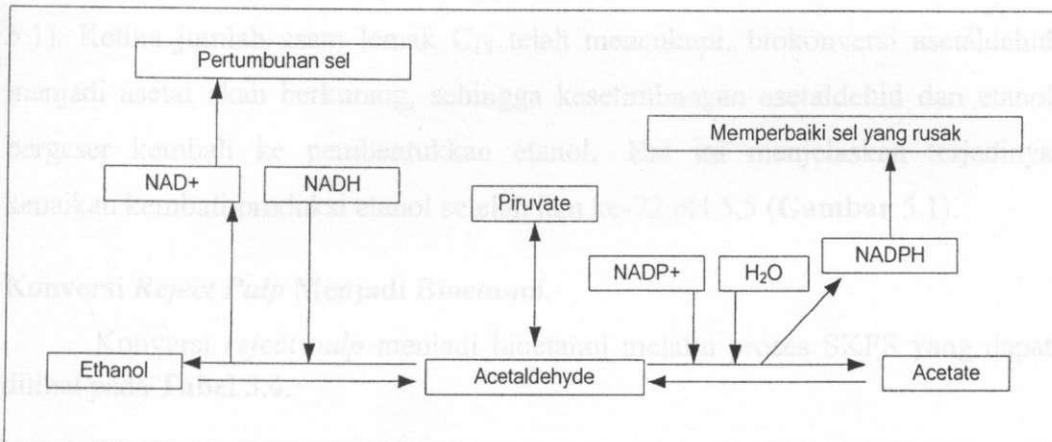


Gambar 5.1 Hasil Etanol Melalui Proses SKSF dengan Variasi pH 2 Enzim (Selulase dan Xylanase) Skala Laboratorium

Dari **Gambar 5.1** Konsentrasi etanol yang dihasilkan paling tinggi terjadi pada jam ke-48. Pada pH 4,5 yaitu sebesar 12,410 g/L, kemudian pH 5 sebesar 12,360 g/L, pH 4 sebesar 10,600 g/L, pH 6 sebesar 8,940 g/L dan terendah pH 5,5 sebesar 8,830 g/L. Hal ini terjadi pada semua variasi pada penelitian ini, sehingga dapat dikatakan bahwa waktu fermentasi optimum adalah 48 jam.

Jika dilihat pada awal proses yaitu pada waktu 6 jam konsentrasi etanol yang dihasilkan untuk semua variabel cukup rendah (2,490 g/L-3,020 g/L), kemudian terus meningkat hingga jam ke-48 (8,830 g/L -12,410 g/L). Setelah jam ke-48 konsentrasi etanol yang dihasilkan cenderung menurun, yang menunjukkan khamir sudah tidak bekerja menghasilkan etanol secara optimal. Fase tersebut disebabkan kadar glukosa yang semakin berkurang dan pembentukan etanol produk dari fermentasi dapat menghambat pertumbuhan khamir. Penelitian Pitkanen dkk (2005) menunjukkan hal serupa yaitu setelah 48 jam konsentrasi etanol yang dihasilkan cenderung turun, sebaliknya terjadi peningkatan pembentukan asam asetat. Ini sesuai dengan alur metabolisme glukosa dan xylosa

secara anaerob oleh khamir *S.cerevisiae* seperti yang digambarkan pada tinjauan pustaka (**Gambar 2.4**).



Gambar 5.2 Pembentukan Etanol dan Asam Asetat dalam Fermentasi

Pada fermentasi sistem *batch*, etanol yang dihasilkan selama proses fermentasi dapat menghambat pertumbuhan khamir pada konsentrasi tertentu sesuai dengan galur khamirnya. Dilihat dari **Gambar 5.2**, jika etanol yang dihasilkan berlebih dan mulai mengganggu kehidupan khamir, maka untuk meningkatkan ketahanan hidup sel *S. cerevisiae* terhadap peningkatan konsentrasi etanol di dalam media hidupnya, akan terjadi peningkatan produksi ergosterol [Del Castillo Agudo, 1992] dan asam lemak jenuh C_{18} maupun asam lemak tak jenuh $C_{18:1}$ [Beaven dkk., 1982]. Jadi selain komposisi asam lemak tak jenuhnya meningkat, ternyata sintesis asam lemak C_{18} baik yang jenuh maupun tak jenuh juga meningkat. Asam lemak C_{18} ini kemudian digunakan untuk meningkatkan sintesis fosfolipid beresidu asam lemak C_{18} . Peningkatan sintesis asam lemak C_{18} diperlukan untuk menjaga integritas dari membran sel *S. cerevisiae* dalam lingkungan konsentrasi etanol tertentu sesuai dengan galur khamirnya [Beaven dkk., 1982]. Sintesis sterol (ergosterol), maupun asam lemak dan pemanjangan rantai asam lemak dari C_{16} (palmitat) menjadi asam lemak C_{18} (stearat), memerlukan NADPH [Nelson & Cox, 2004]. NADPH diperoleh dari reaksi biokonversi asetaldehid menjadi asetat. Biokonversi asetaldehid menjadi asetat

akan menggeser kesetimbangan antara etanol dan asetaldehid ke arah pembentukan asetaldehid (**Gambar 5.2**), sehingga konsentrasi etanol berkurang karena terjadi penyerapan etanol dari lingkungan masuk ke dalam sel khamir. Hal ini menyebabkan setelah 48 jam terjadi penurunan konsentrasi etanol (**Gambar 5.1**). Ketika jumlah asam lemak C_{18} telah mencukupi, biokonversi asetaldehid menjadi asetat akan berkurang, sehingga kesetimbangan asetaldehid dan etanol bergeser kembali ke pembentukan etanol. Hal ini menjelaskan terjadinya kenaikan kembali produksi etanol setelah jam ke-72 pH 5,5 (**Gambar 5.1**).

Tabel 5.5 Hasil Percobaan Pada Proses SFS dan SKFS

Konversi *Reject Pulp* Menjadi Bioetanol.

Konversi *reject pulp* menjadi bioetanol melalui proses SKFS yang dapat dilihat pada **Tabel 5.4**.

Tabel 5.4. Tabulasi Hasil Perhitungan Konversi *Reject Pulp* Menjadi Bioetanol Melalui Proses SKSF (2 enzim selulase dan xylanase) skala Laboratorium

No	Waktu pengambilan sampel (jam)	Konversi (%)				
		pH				
		4	4,5	5	5,5	6
1	0	0	0	0	0	0
2	6	13,860	15,015	15,345	13,640	16,610
3	12	24,695	22,110	25,245	24,090	26,840
4	24	41,855	40,315	37,125	33,055	38,060
5	48	58,300	68,255	67,980	48,565	49,115
6	72	43,175	44,935	46,860	43,120	49,335
7	96	36,685	40,865	45,870	50,435	37,565

Dari **Tabel 5.4** dapat diketahui bahwa pH mempengaruhi konversi *reject pulp* menjadi bioetanol melalui proses SKFS (hidrolisis : enzim selulase dan xilanase ; 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 13,860 %-58,300%, kemudian pH 4,5 antara 15,015%-68,255%, pH 5 antara 15,345 %-67,980%, pH 5,5 antara 13,649%-50,435% dan pH 6 antara 16,610%-49,335%. Dilihat secara keseluruhan, konversi tertinggi terjadi

keseluruhan hasil SKFS lebih tinggi dibandingkan proses SFS, Pada SKFS hasil



pada jam ke-48 yaitu pada pH 4,5 sebesar 68,255 %, pH 5 sebesar 67,980 %, pH 4 sebesar 58,300 %, pH 6 sebesar 49,115 % dan pH 5,5 sebesar 48,565 %.

Perbandingan Hasil SSF dan SKFS

Komposisi bahan baku (*reject pulp*) yang digunakan pada proses SFS [Lianti, 2009] tidak jauh berbeda dengan penelitian ini (melalui proses SKFS). Perbedaan hasil tertinggi dapat dilihat pada **Tabel 5.5**.

Tabel 5.5. Hasil Tertinggi Pada Proses SFS dan SKFS

No	pH Proses	SFS (Lianti,2009) Hasil yang diperoleh (g/L)	SKFS Hasil yang diperoleh (g/L)
1	4,0	9,4	10,600
2	4,5	8,7	12,410
2	5,0	4,3	12,360
4	5,5	9,7	9,170
5	6,0	7,5	8,970

Pada SFS [Lianti 2009], untuk proses hidrolisisnya menggunakan enzim selulase dan xilanase, untuk proses fermentasi hanya menggunakan khamir *S.cerevisiae* saja. Dilihat dari **Tabel 4.5** hasil proses SFS tertinggi terjadi pada pH 5,5 yaitu sebesar 9,7 g/L sedangkan pH 4 dan pH 4,5 lebih rendah, pada pH 4 sebesar 9,4 g/L dan pH 4,5 sebesar 8,7 g/L, sehingga dapat dikatakan belum bisa membuktikan bahwa pH optimum proses hidrolisis dan fermentasi adalah 4-5. Hal ini disebabkan ukuran bahan baku (*reject pulp*) yang digunakan pada SFS tidak seragam sehingga kondisi proses masing-masing pH juga tidak seragam. Selain itu proses SFS dilakukan dengan menggunakan tabung reaksi. Tabung reaksi volumenya terlalu kecil, yang memungkinkan efek dari *shaker* juga kecil sehingga kontak antara enzim dengan *reject pulp* dan hasil hidrolisis dengan khamir kecil.

Pada proses SKFS untuk proses hidrolisisnya menggunakan enzim selulase dan xilanase, untuk proses fermentasi menggunakan khamir *S.cerevisiae* dan *P.stipitis*. Dari **Tabel 5.5** hasil pada SKFS, membuktikan bahwa proses hidrolisis dan fermentasi yang optimum terjadi pada pH 4-5. Jika dilihat secara keseluruhan hasil SKFS lebih tinggi dibandingkan proses SFS, Pada SKFS hasil

tertinggi 12,410 g/L sedangkan pada proses SFS diperoleh 9,7 g/L akan tetapi karena proses dilakukan dengan wadah yang berbeda, pada SFS menggunakan tabung reaksi sedangkan SKFS menggunakan Erlenmeyer 100 ml, dengan demikian belum bisa disimpulkan bahwa proses SKFS pada penelitian ini lebih unggul dibandingkan proses SFS.

5.3.2 Hasil Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak (3 Enzim Selulase, Xylanase dan Selubiose) Skala Laboratorium

Data hasil analisa etanol hasil proses SKFS yang diperoleh dapat dilihat pada **Tabel 5.6**. Hasil konsentrasi etanol dari proses SKFS dengan variasi 2 enzim selulase dan xylanase yang diperoleh ditampilkan pada **Gambar 5.3** sedangkan untuk konversi dapat dilihat pada **Tabel 5.7**.

Tabel 5.6 Hasil Proses SKFS (3 Enzim Selulase, Xylanase dan selubiose) Skala Laboratorium

No	Waktu SKFS (jam)	Konsentrasi Etanol (g/L)				
		pH				
		4	4,5	5	5,5	6
1	0	0	0	0	0	0
2	6	2,900	3,200	4,940	5,170	4,230
3	12	3,200	6,580	5,880	3,740	4,700
4	24	6,970	8,480	8,160	6,760	7,930
5	48	9,670	10,890	12,670	8,540	8,340
6	72	7,940	9,240	10,440	7,070	7,110
7	96	7,070	7,620	9,260	6,940	6,590

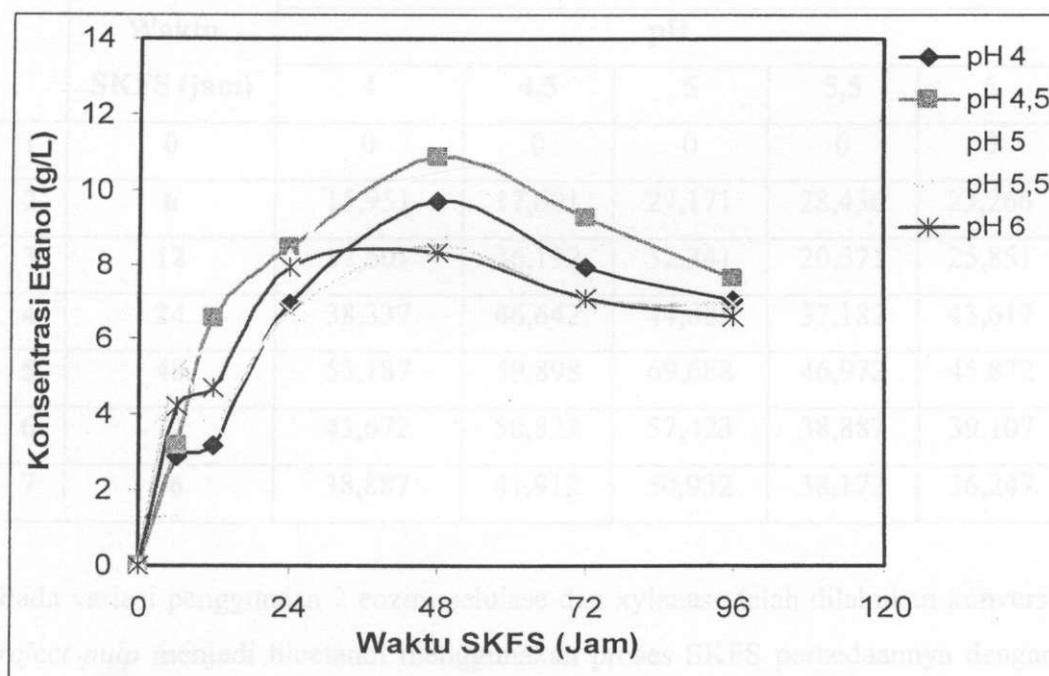
Derajat keasaman (pH) merupakan satu diantara beberapa faktor penting yang mampu mempengaruhi proses fermentasi etanol. Derajat keasaman optimum untuk proses fermentasi adalah antara 4-5. Pada pH < 3, proses fermentasi akan berkurang kecepatannya [Samsuri, 2007]. Pada penelitian ini divariasikan kondisi pH pada proses SKFS yaitu 4; 4,5; 5; 5,5 dan 6. Derajat keasaman yang



diinginkan diperoleh dengan menambahkan *Na-citrate buffer*, penambahan *buffer* disini dimaksudkan agar kondisi pH sesuai dengan besaran yang diinginkan.

Konsentrasi etanol paling tinggi dihasilkan pada proses dengan waktu SKFS 48 jam, tertinggi pada pH 5 yaitu sebesar 12,670 g/L dan terendah pada pH 6 yaitu 8,340 g/L. Dari **Gambar 5.3** dapat disimpulkan bahwa waktu dan pH optimum untuk proses SKFS adalah 48 jam pada pH 5.

Peningkatan konsentrasi etanol pada pH 4, 4,5, 5, 5,5 dan 6 hingga jam ke-48 menunjukkan bahwa *yeast* berada pada fase eksponensial (*log phase*). Sedangkan pada jam ke-72 hingga jam ke-96, *yeast* mengalami fase stasioner yang menunjukkan *yeast* sudah tidak bekerja lagi secara optimal. Fase tersebut disebabkan kadar glukosa yang semakin berkurang dan pembentukan produk samping dari fermentasi. Produk samping tersebut berupa asam asetat yang terbentuk dari etanol yang mengalami reaksi lanjut [Gozan, 2007].



Gambar 5.3 Hasil Etanol pada Proses SKFS dengan Variasi pH

Hasil perhitungan konversi *reject pulp* menjadi bioetanol dengan proses SKFS dapat dilihat pada **Tabel 5.7**. Dari **Tabel 5.7** dapat diketahui bahwa *reject pulp* memiliki potensi untuk dikonversi menjadi bioetanol. Dilihat secara

keseluruhan, konversi etanol 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 46,972 % dan pH 6 sebesar 45,872 %. Dari hasil konversi dapat dilihat pH dan waktu SKFS mempengaruhi konversi *reject pulp* menjadi etanol, dengan konversi tertinggi 69,688% yaitu pada pH 5 dan waktu SKFS 48 jam. Hasil konversi yang didapatkan tidak dapat mencapai 100 %, hal ini dikarenakan tidak seluruh glukosa terkonversi menjadi etanol tetapi sebagian glukosa menjadi CO₂, dengan reaksi sebagai berikut:



Tabel 5.7 Tabulasi Hasil Perhitungan Konversi *Reject Pulp* Menjadi Bioetanol Melalui Proses SKSF (3 enzim selulase, xylanase dan selubiose) skala Laboratorium

No	Waktu SKFS (jam)	Konversi (%)				
		pH				
		4	4,5	5	5,5	6
1	0	0	0	0	0	0
2	6	15,951	17,601	27,171	28,436	23,266
3	12	17,601	36,192	32,341	20,571	25,851
4	24	38,337	46,642	44,882	37,182	43,617
5	48	53,187	59,898	69,688	46,972	45,872
6	72	43,672	50,822	57,423	38,887	39,107
7	96	38,887	41,912	50,932	38,172	36,247

Pada variasi penggunaan 2 enzim selulase dan xylanase telah dilakukan konversi *reject pulp* menjadi bioetanol menggunakan proses SKFS perbedaannya dengan penelitian ini adalah pada enzim yang digunakan. Pada penelitian ini sedangkan pada penelitian sebelumnya hanya

Perbandingan konsentrasi etanol yang dihasil dari penggunaan dua enzim (selulase dan xilanase) dengan tiga enzim (selulase, xilanase dan selobiase) untuk proses hidrolisis dapat dilihat pada Tabel 4.8. Dari **Tabel 5.8** dapat dilihat hasil konsentrasi etanol dengan proses SKFS menggunakan tiga enzim (selulase,

xilanase dan selobiase) menghasilkan konsentrasi etanol lebih tinggi yaitu 12,67 g/L sedangkan hasil konsentrasi dengan menggunakan dua enzim (selulase dan xilanase) sebesar 12,41 g/L. Hal ini disebabkan karena pada proses hidrolisis selulosa tidak semuanya terkonversi menjadi glukosa melainkan ada yang membentuk selobiosa, dimana untuk menghidrolisis selobiosa dibutuhkan enzim selobiase.

Tabel 5.8 Perbandingan Konsentrasi Hasil Proses SKFS

No	pH Proses	Konsentrasi etanol (2 enzim selulase dan xilanase) (g/L)	Konsentrasi etanol (3 enzim selulase, xilanase, selobiase) (g/L)
1	4,0	10,60	9,67
2	4,5	12,41	10,89
2	5,0	12,36	12,67
4	5,5	9,17	8,54
5	6,0	8,97	8,34

5.3.3 Hasil Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak Skala 5 Liter

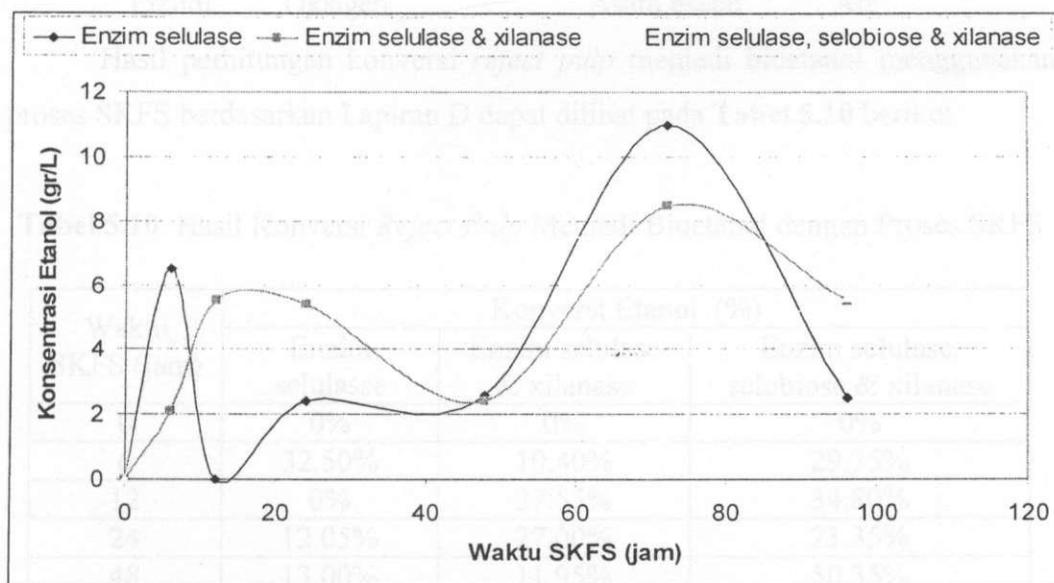
Penggunaan enzim sangat mempengaruhi etanol yang terbentuk pada proses SKFS. Variasi enzim yang digunakan adalah enzim selulase; enzim selulase dan xilanase; enzim selulase, selobiose dan xilanase. Data hasil analisa etanol hasil proses SKFS skala 5 Liter yang diperoleh dapat dilihat pada **Tabel 5.9**. Hasil konsentrasi etanol dari proses SKFS dengan variasi penggunaan enzim ditampilkan pada **Gambar 5.4** sedangkan untuk konversi dapat dilihat pada **Tabel 5.10**.

Dari **Gambar 5.4** 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. Paa saat menggunakan dua enzim yaitu enzim selulase dan xilanase membutuhkan waktu maksimum 72 jam untu 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.

Tabel. 5.9 Konsentrasi Etanol Hasil Proses SKFS Skala 5 Liter

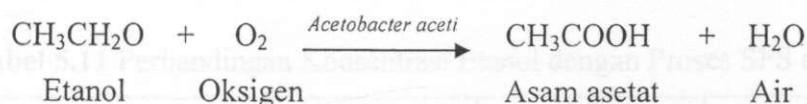
Waktu SKFS (jam)	Konsentrasi Etanol (gr/L)		
	Enzim selulase	Enzim selulase & xilanase	Enzim selulase, selobiose & xilanase
0	0	0	0
6	6.5	2.08	5.87
12	-	5.51	6.96
24	2.41	5.4	4.27
48	2.6	2.39	10.07
72	10.97	8.49	4.55
96	2.52	5.47	5.61



Gambar 5.4 Hasil Etanol pada Proses SKFS skala 5 L dengan Variasi Enzim

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 disebabkan karena selama pengambilan sampel ada sebagian oksigen yang masuk sehingga membuat proses anaerob yang tidak sempurna dan membuat proses sedikit aerob sehingga memungkinkan tumbuhnya *Acetobacter aceti* yang dapat mengkonversi alkohol menjadi asam asetat yang ditandai dengan bau masam pada sampel sehingga menurunkan konsentrasi etanol yang dihasilkan [Rikana, 2009]. Berikut reaksi oksidasi etanol menjadi asam asetat dengan asetaldehid sebagai produk intermediet yang dihasilkan.



Hasil perhitungan konversi *reject pulp* menjadi bioetanol menggunakan proses SKFS berdasarkan Lapiran D dapat dilihat pada **Tabel 5.10** berikut.

Tabel 5.10. Hasil Konversi *Reject Pulp* Menjadi Bioetanol dengan Proses SKFS

Waktu SKFS (jam)	Konversi Etanol (%)		
	Enzim selulase	Enzim selulase & xilanase	Enzim selulase, selobiose & xilanase
0	0%	0%	0%
6	32.50%	10.40%	29.35%
12	0%	27.55%	34.80%
24	12.05%	27.00%	21.35%
48	13.00%	11.95%	50.35%
72	54.85%	42.45%	22.75%
96	12.60%	27.35%	28.05%

Dari **Tabel 5.10** dapat bahwa konversi *reject pulp* menjadi etanol tertinggi dengan menggunakan enzim selulase yaitu 54,85% dan membutuhkan waktu 72



jam. Pada penggunaan dua enzim yaitu enzim selulase dan xilanase, konversi maksimum juga didapat dalam waktu 72 jam sebesar 42,45%. 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 50,35% selama 48 jam.

5.4 Perbandingan Hasil SFS dan SKFS

Pada penelitian ini menggunakan proses SKFS. Jika dibandingkan dengan penelitian sebelumnya yang menggunakan proses Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak (SFS) dengan bahan baku *reject pulp* ataupun bagas, hasil yang diperoleh lebih tinggi. Perbedaan dari proses ini terletak pada *yeast* yang digunakan. Perbandingan konsentrasi etanol hasil penelitian menggunakan proses SFS dan SKFS dapat dilihat pada Tabel 5.11.

Tabel 5.11 Perbandingan Konsentrasi Etanol dengan Proses SFS dan SKFS

Variabel.	SFS [Lianti,2009]	SFS [Latifah,2008]	SKFS [penelitian ini]
Bahan baku	<i>Reject pulp</i>	Bagas	<i>Reject pulp</i>
Volum larutan (ml)	6,75	3500	5000
Enzim	Selulase dan xilanase	Selulase, xilanase dan selubiose	Selulase, xilanase dan selubiose
Yeast	<i>Saccharomyces cerviceae</i>	<i>Saccharomyces cerviceae</i>	<i>Saccharomyces cerviceae</i> dan <i>Pichia stipitis</i>
Waktu optimum (jam)	96	96	^(a) = 72 ^(b) = 72 ^(c) = 48
Konsentrasi etanol maksimum (gr/L)	9,7	3,4	^(a) = 10,97 ^(b) = 8,49 ^(c) = 10,07

Enzim selulase^(a), Enzim selulase dan xilanase^(b), Enzim selulase, selobiose dan xilanase^(c)

Dari **Tabel 5.11** dapat dilihat hasil SKFS menggunakan satu dan tiga enzim lebih tinggi dibandingkan dengan SFS. Pada SKFS. Dengan bahan baku



reject pulp konsentrasi etanol tertinggi yang diperoleh menggunakan proses SKFS mencapai 10,97 gr/L dan 10,07 gr/L, sedangkan yang menggunakan proses SFS yang menggunakan dua enzim diperoleh konsentrasi etanol sebesar 9,7 g/L. Hal ini disebabkan karena pada proses SFS hanya menggunakan *yeast Saccharomyces cereviceae* yang tidak mampu memfermentasi xilosa [Rouhollah *et al*, 2007], sehingga xilosa hasil hidrolisis xilanase tidak terfermentasi. Sedangkan pada proses SKFS ini mengkombinasikan *yeast Saccharomyces cereviceae* dan *Pichia stipitis*. Dimana *Pichia stipitis* mampu memfermentasi xilosa yang terbentuk dari hasil degradasi xilan menggunakan enzim xilanase.

Jika dilihat dari bahan baku yang digunakan, proses SKFS yang menggunakan *reject pulp* menghasilkan etanol dengan konsentrasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan etanol yang dihasilkan dengan proses SFS berbahan baku bagas. Dari Tabel 5.11 dapat dilihat konsentrasi etanol tertinggi menggunakan bahan baku *reject pulp* mencapai 10,97%. Sedangkan konsentrasi etanol maksimal proses SFS yang menggunakan bagas hanya 3,44%. Hal ini disebabkan karena kadar holoseluosa didalam *reject pulp* mencapai 95,51% sedangkan bagas sekitar 70,2%. Selain itu, xilosa yang terbentuk juga tidak dapat terfermentasi karena proses SFS hanya menggunakan *yeast Saccharomyces cereviceae*.

5.6 Hasil Analisa Proses Inokulasi Yeast

Pada persiapan yeast inokulum *Pichia stipitis* yang akan digunakan pada proses SFS setelah 24 jam akan dianalisa terlebih dahulu dengan analisis spektrofotometer (Mulyono, 2011 dan Rouhollah, 2007). Proses analisa ini bertujuan untuk menentukan jumlah *Pichia stipitis* yang terdapat didalam yeast inokulum. Cara menentukan jumlah *Pichia stipitis* yang digunakan dengan



Kegiatan Tahun II (2011)

5.5 Hasil Analisa Komposisi *Reject Pulp*

Bahan baku yang digunakan pada proses Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak (SSF) berupa limbah padat (*reject pulp*) industri *pulp* dan kertas PT.RAPP, Pangkalan Kerinci. *Reject pulp* ini diketahui tersusun dari beberapa komponen kimia yang dapat dikonversi menjadi bioetanol. Komponen kimia tersebut antara lain: alfa-selulosa, hemiselulosa, lignin dan ekstraktif. Hasil analisa **Komposisi *Reject Pulp*** dapat dilihat pada Tabel 5.12.

Tabel 5.12 Komposisi *Reject Pulp*

Kandungan Kimia	Nilai (%)
Alfa-selulosa	91,46 %
Hemiselulosa	4,79 %
Lignin	3 %
Ekstraktif	0,75 %

Dari Tabel 5.12 terlihat bahwa komposisi kimia penyusun *reject pulp* terbesar adalah selulosa dan hemiselulosa yaitu 91,46% dan 4,79%. Dari keempat komposisi kimia penyusun *reject pulp* di atas, hanya selulosa dan hemiselulosa saja yang bisa dimanfaatkan oleh *yeast* menjadi bioetanol melalui proses fermentasi.

5.6 Hasil Analisa Proses Inokulasi *Yeast*

Pada persiapan *yeast* inokulum *Pichia stipitis* yang akan digunakan pada proses SFS setelah 24 jam akan dianalisa terlebih dahulu dengan analisis spektrofotometer (Mulyono, 2011 dan Rouhollah, 2007). Proses analisa ini bertujuan untuk menentukan jumlah *Pichia stipitis* yang terdapat didalam *yeast* inokulum. Cara menentukan jumlah *Pichia stipitis* yang digunakan dengan

melihat nilai OD (*Optical Density*). Prinsip kerja dari spektrofotometer adalah analisis turbidometri, yaitu menganalisis konsentrasi suatu zat berdasarkan tingkat kekeruhannya yang dibandingkan dengan larutan blanko. Larutan blanko merupakan larutan pembanding yang tidak mengandung bahan yang akan di analisa. Analisis dilakukan dengan mengambil data absorbansi dengan panjang gelombang yang digunakan yaitu 600 nm. Panjang gelombang ini digunakan untuk menganalisis konsentrasi sel. Setelah dilakukan pengujian, diperoleh nilai OD untuk *yeast* inokulum *pichia stipitis* sebesar 0,617. Nilai ini memenuhi syarat nilai OD untuk proses fermentasi yang berkisar antara 0,1-0,8 (Rouhollah, 2007).

Tabel 5.14 Konsentrasi Bioetanol Hasil Proses SFS dengan Massa *Reject Pulp*

5.7 Hasil Analisa Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak

Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak (SFS) merupakan metode yang dapat digunakan dalam memproduksi bioetanol dari bahan baku berlignoselulosa. Pada SFS proses hidrolisis dan fermentasi berlangsung dalam satu wadah reaktor. Proses hidrolisis menggunakan tiga jenis enzim (selulase, xilanase, dan selobiase) yang memiliki peranan spesifik untuk memecah polimer selulosa dan hemiselulosa menjadi monomernya. Monomer gula selulosa dan hemiselulosa dari bahan *reject pulp* merupakan sumber substrat yang dapat langsung difermentasi oleh *yeast Pichia stipitis* sehingga mencegah monomer gula menjadi inhibitor pada proses hidrolisis (Lelana, 2010). Kerja enzim akan mempengaruhi jumlah etanol yang terbentuk. Enzim memiliki karakteristik jumlah substrat yang mampu dihidrolisisnya. Penggunaan perbandingan enzim dengan jumlah substrat yang tepat akan memberikan hasil hidrolisis yang optimal. Hasil hidrolisis enzim menghasilkan monomer gula yang kemudian akan difermentasi menjadi bioetanol. Etanol yang dihasilkan dari proses SFS dianalisa menggunakan *Gas Chromatography* (GC). Konsentrasi bioetanol yang diperoleh dari variasi massa *reject pulp* dan waktu fermentasi dapat dilihat pada **Tabel 5.13 s/d Tabel 5.15** dan **Gambar 5.5 s/d Gambar 5.7**.

Tabel 5.13 Konsentrasi Bioetanol Hasil Proses SSF dengan Massa *Reject Pulp* dan enzim Selulase

Waktu SFS (jam)	Konsentrasi Biotanol (g/L)		
	Massa <i>Reject Pulp</i>		
	0,5 gr	0,75 gr	1 gr
0	0	0	0
6	5,77	5,34	4,54
12	4,57	4,21	4,4
24	3,94	2,95	3,7
48	0	0	2,05
72	0	0	0
96	0	0	0

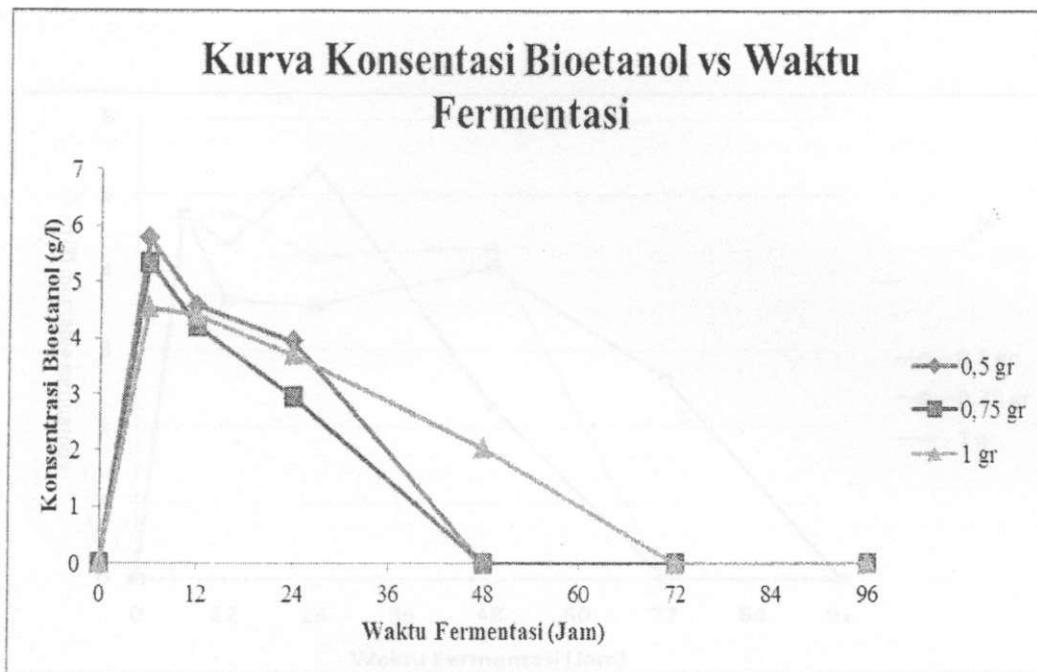
Tabel 5.14 Konsentrasi Bioetanol Hasil Proses SSF dengan Massa *Reject Pulp* dan enzim Selulase dan xylanase

Waktu SFS (jam)	Konsentrasi Biotanol (g/L)		
	Massa <i>Reject Pulp</i>		
	0,5 gr	0,75 gr	1 gr
0	0	0	0
6	3,76	3,93	3,33
12	2,57	3,02	5,25
24	2,48	3,4	2,83
48	0	2,34	0
72	0	0	0
96	0	0	0

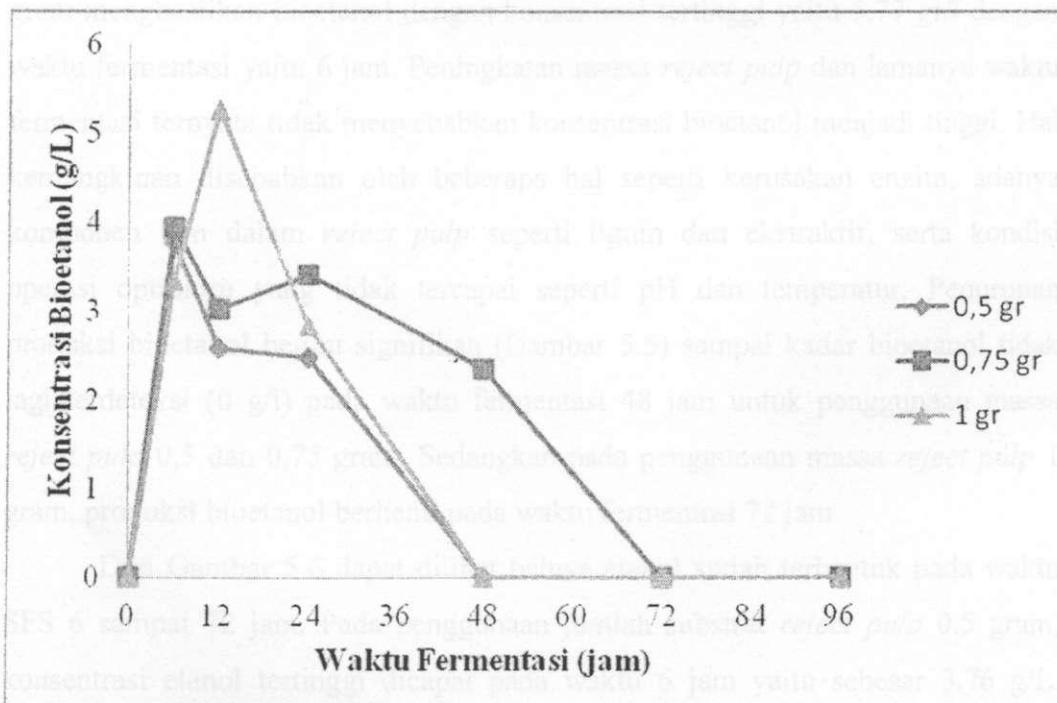
Tabel 5.15 Konsentrasi Bioetanol Hasil Proses SSF dengan Massa *Reject Pulp* dan enzim Selulase, xylanase dan selubiose

Waktu SFS (jam)	Konsentrasi Biotanol (g/L)		
	Massa <i>Reject Pulp</i>		
	0,5 gr	0,75 gr	1 gr
0	0	0	0
6	4,76	4,75	4,66
12	4,37	3,64	4,79
24	5,35	3,58	4,2
48	2,28	4,07	4,34
72	0	2,64	0
96	0	0	0

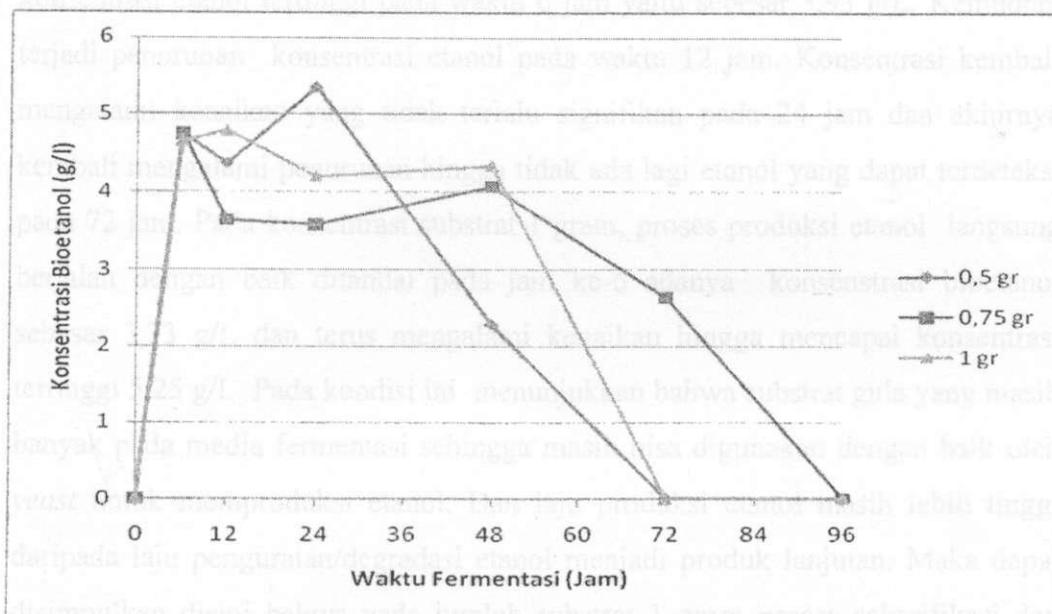




Gambar 5.5 Hasil Bioetanol pada Proses SSF dengan Variasi Massa *Reject Pulp* dan enzim Selulase



Gambar 5.6 Hasil Bioetanol pada Proses SSF dengan Variasi Massa *Reject Pulp* dan enzim Selulase dan xylanase



Gambar 5.7 Hasil Bioetanol pada Proses SSF dengan Variasi Massa *Reject Pulp* dan enzim Selulase, xylanase dan selubiose

Dari Gambar 4.5 dapat dilihat dengan menggunakan massa *reject pulp* 0,5 gram menghasilkan bioetanol dengan konsentrasi tertinggi yaitu 5,77 gr/l dengan waktu fermentasi yaitu 6 jam. Peningkatan massa *reject pulp* dan lamanya waktu fermentasi ternyata tidak menyebabkan konsentrasi bioetanol menjadi tinggi. Hal kemungkinan disebabkan oleh beberapa hal seperti kerusakan enzim, adanya komponen lain dalam *reject pulp* seperti lignin dan ekstraktif, serta kondisi operasi optimum yang tidak tercapai seperti pH dan temperatur. Penurunan produksi bioetanol begitu signifikan (Gambar 5.5) sampai kadar bioetanol tidak lagi terdeteksi (0 g/l) pada waktu fermentasi 48 jam untuk penggunaan massa *reject pulp* 0,5 dan 0,75 gram. Sedangkan pada penggunaan massa *reject pulp* 1 gram, produksi bioetanol berhenti pada waktu fermentasi 72 jam.

Dari Gambar 5.6 dapat dilihat bahwa etanol sudah terbentuk pada waktu SFS 6 sampai 72 jam. Pada penggunaan jumlah substrat *reject pulp* 0,5 gram, konsentrasi etanol tertinggi dicapai pada waktu 6 jam yaitu sebesar 3,76 g/L. Selanjutnya pada waktu 12 jam bioetanol yang dihasilkan berangsur-angsur menurun menjadi 2,57 g/L hingga jam ke-48 tidak terdeteksi lagi adanya etanol

yang terbentuk. Penambahan jumlah *reject pulp* menjadi 0,75 gram, menghasilkan konsentrasi etanol tertinggi pada waktu 6 jam yaitu sebesar 3,93 g/L. Kemudian terjadi penurunan konsentrasi etanol pada waktu 12 jam. Konsentrasi kembali mengalami kenaikan yang tidak terlalu signifikan pada 24 jam dan akhirnya kembali mengalami penurunan hingga tidak ada lagi etanol yang dapat terdeteksi pada 72 jam. Pada konsentrasi substrat 1 gram, proses produksi etanol langsung berjalan dengan baik ditandai pada jam ke-6 adanya konsentrasi bioetanol sebesar 3,33 g/L dan terus mengalami kenaikan hingga mencapai konsentrasi tertinggi 5,25 g/L. Pada kondisi ini menunjukkan bahwa substrat gula yang masih banyak pada media fermentasi sehingga masih bisa digunakan dengan baik oleh *yeast* untuk memproduksi etanol. Dan laju produksi etanol masih lebih tinggi daripada laju penguraian/degradasi etanol menjadi produk lanjutan. Maka dapat disimpulkan disini bahwa pada jumlah substrat 1 gram proses sakarifikasi dan fermentasi serentak dengan menggunakan jumlah enzim dan *yeast* yang sama lebih banyak menghasilkan konsentrasi bioetanol dibanding jumlah substrat 0,75 dan 0,5 gram.

Dari Gambar 5.7 dapat dilihat bahwa bioetanol sudah terbentuk pada waktu SFS 6 sampai 72 jam. Pada penggunaan jumlah substrat *reject pulp* 0,5 gram, konsentrasi bioetanol tertinggi diperoleh pada waktu 24 jam yaitu sebesar 5,35 gr/L. Selanjutnya pada waktu 48 jam, konsentrasi bioetanol terus menurun menjadi 2,28 gr/L hingga tidak terdeteksi lagi adanya bioetanol yang terbentuk pada 72 dan 96 jam. Penambahan jumlah *reject pulp* menjadi 0,75 gram, menghasilkan konsentrasi bioetanol tertinggi pada waktu 6 jam yaitu sebesar 4,75 gr/L. Kemudian terjadi penurunan konsentrasi bioetanol pada waktu 12 dan 24 jam. Kenaikan konsentrasi bioetanol kembali terjadi pada 48 jam menjadi 4,07 gr/L dan akhirnya kembali mengalami penurunan hingga tidak ada lagi bioetanol yang dapat terdeteksi pada 96 jam. Pada penggunaan jumlah *reject pulp* 1 gram, konsentrasi bioetanol tertinggi diperoleh pada waktu SFS 12 jam yaitu sebesar 4,79 gr/L. Konsentrasi bioetanol tidak mengalami penurunan yang signifikan sampai 48 jam, tetapi pada jam ke 72 dan 96 tidak terdeteksi lagi adanya bioetanol yang dihasilkan.



Penurunan konsentrasi bioetanol sebelum mencapai konsentrasi optimum yang diperoleh pada tiap variabel jumlah substrat *reject pulp* ini disebabkan karena laju proses hidrolisis yang lebih rendah dibandingkan laju fermentasinya. Saat laju fermentasi yang cepat dan kondisi kekurangan substrat gula untuk proses fermentasi, sebagian yeast *Pichia stipitis* cenderung untuk mengkonsumsi bioetanol. Bioetanol dengan bantuan oksigen yang masih terdapat dalam fermentor mengalami reaksi lanjut membentuk asam asetat dan air.



Etanol	Oksigen		Asam asetat	Air
--------	---------	--	-------------	-----

Pembentukan asam asetat akan mempengaruhi kondisi pH proses hidrolisis sehingga terjadinya penurunan aktifitas enzim setelah aktifitas puncaknya. Pengaruh dari terdapatnya senyawa kimia yang masih tersisa pada *reject pulp* dan bioetanol yang terbentuk pada proses persiapan inokulum juga berperan sebagai inhibitor yang dapat menghambat proses hidrolisis enzim pada SFS (Sun dan Cheng, 2002). Terhambatnya proses hidrolisis menyebabkan tidak terbentuknya lagi monomer gula yang berperan sebagai substrat untuk fermentasi.

Penambahan konsentrasi substrat *reject pulp* tidak menyebabkan terjadinya hasil optimal pembentukan bioetanol. Hasil konsentrasi bioetanol optimum diperoleh pada jumlah *reject pulp* 0,5 gram dan waktu SFS 24 jam yaitu sebesar 5,35 gr/L (Gambar 5.7). Pada waktu yang sama konsentrasi bioetanol yang diperoleh pada jumlah *reject pulp* 0,75 dan 1 gram masing-masing sebesar 3,58 dan 4,2 gr/L. Ditinjau dari proses hidrolisis, penambahan jumlah *reject pulp* tanpa mengubah jumlah enzim menyebabkan semakin banyaknya jumlah *reject pulp* yang harus dihidrolisis, sementara enzim memiliki keterbatasan dalam aktifitasnya. Hasil konsentrasi bioetanol optimum pada 0,5 gr, membuktikan bahwa proses hidrolisis optimum terjadi pada perbandingan jumlah enzim dan *reject pulp* 1 : 10.



5.8 Konversi *Reject Pulp* menjadi Bioetanol

Hasil perhitungan konversi *reject pulp* menjadi bioetanol menggunakan proses SSF dapat dilihat pada **Tabel 5.16** s/d **Tabel 5.18** berikut.

Tabel 5.16 Hasil Konversi *Reject Pulp* Menjadi Bioetanol dengan Proses SSF dengan enzim selulase

Waktu SSF (jam)	Konversi Bioetanol (%)		
	Massa <i>Reject Pulp</i> 0,5 gram	Massa <i>Reject Pulp</i> 0,75 gram	Massa <i>Reject Pulp</i> 1 gram
6	31,74%	19,58%	12,49%
12	25,14%	15,44%	12,10%
24	21,67%	10,82%	10,18%
48	0%	0%	5,64%
72	0%	0%	0%
96	0%	0%	0%

Konversi *reject pulp* menjadi bioetanol tertinggi pada Proses SSF dengan enzim selulase dengan menggunakan massa *reject pulp* 0,5 gram yaitu 31,74% membutuhkan waktu 6 jam. Pada penggunaan massa *reject pulp* yang lebih tinggi, konversi menjadi bioetanol semakin menurun. Pada waktu SSF 48 jam bioetanol tidak lagi terdeteksi untuk variabel massa *reject* 0,5 dan 0,75 gram. Penurunan konversi *reject pulp* pada penelitian ini diduga karena adanya faktor-faktor yang menghambat proses sakarifikasi *reject pulp* menjadi glukosa, seperti kerusakan enzim, adanya lignin dan ekstraktif serta kondisi operasi pada proses SSF tidak pada kondisi optimum. Namun, pada prinsipnya proses fermentasi glukosa menjadi bioetanol menggunakan *yeast Pichia stipitis* berjalan dengan baik.

Dari Tabel 5.17 Konversi *Reject Pulp* Menjadi Bioetanol dengan Proses SSF dengan enzim selulase dan xylanase didapat bahwa persentase konversi *reject pulp* menjadi bioetanol tertinggi pada setiap konsentrasi *reject pulp* dalam volume tetap larutan SFS tetap, berturut-turut sebesar 21,75%; 15,16%; 15,19%. Pada



penggunaan massa reject pulp yang semakin tinggi, pada setiap jamnya justru mengalami fluktuasi perubahan nilai konversi yang dihasilkan. Fluktuasi yang dihasilkan diduga karena adanya faktor-faktor yang menghambat proses sakarifikasi reject pulp menjadi glukosa dan xilosa, seperti kerusakan yang terjadi pada sebagian enzim, adanya senyawa kimia yang masih tersisa didalam reject pulp serta kondisi operasi yang tidak optimum. Namun, pada prinsipnya proses fermentasi glukosa dan xilosa menjadi bioetanol menggunakan yeast *pichia stipitis* berjalan baik.

Tabel 5.17 Hasil Konversi *Reject Pulp* Menjadi Bioetanol dengan Proses SSF dengan enzim selulase dan xylanase

Waktu SSF (jam)	Konversi Bioetanol (%)		
	Massa <i>Reject Pulp</i> 0,5 gram	Massa <i>Reject Pulp</i> 0,75 gram	Massa <i>Reject Pulp</i> 1 gram
6	21,75%	15,16%	9,63%
12	14,87%	11,65%	15,19%
24	14,35%	13,11%	8,19%
48	0%	9,02%	0%
72	0%	0%	0%
96	0%	0%	0%

Tabel 5.18 Hasil Konversi *Reject Pulp* Menjadi Bioetanol dengan Proses SSF dengan enzim selulase dan xylanase

Waktu SSF (jam)	Konversi Bioetanol (%)		
	Massa <i>Reject Pulp</i> 0,5 gram	Massa <i>Reject Pulp</i> 0,75 gram	Massa <i>Reject Pulp</i> 1 gram
6	31,74%	19,58%	12,49%
12	25,14%	15,44%	12,10%
24	21,67%	10,82%	10,18%
48	0%	0%	5,64%
72	0%	0%	0%
96	0%	0%	0%



Dari Tabel 5.18 Hasil Konversi *Reject Pulp* Menjadi Bioetanol dengan Proses SSF dengan enzim selulase dan xylanase, konversi *reject pulp* menjadi bioetanol tertinggi dengan menggunakan massa *reject pulp* 0,5 gram yaitu 31,74% membutuhkan waktu 6 jam. Pada penggunaan massa *reject pulp* yang lebih tinggi, konversi menjadi bioetanol semakin menurun. Pada waktu SSF 48 jam bioetanol tidak lagi terdeteksi untuk variabel massa *reject* 0,5 dan 0,75 gram. Penurunan konversi *reject pulp* pada penelitian ini diduga karena adanya faktor-faktor yang menghambat proses sakarifikasi *reject pulp* menjadi glukosa, seperti kerusakan enzim, adanya lignin dan ekstraktif serta kondisi operasi pada proses SSF tidak pada kondisi optimum. Namun, pada prinsipnya proses fermentasi glukosa menjadi bioetanol menggunakan yeast *Pichia stipitis* berjalan dengan baik.

5.9 Perbandingan Konsentrasi Bioetanol dalam Penelitian ini dengan Penelitian sebelumnya

Konsentrasi bioetanol dengan proses Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak (SSF) dapat dibandingkan dengan proses Sakarifikasi dan Ko-Fermentasi Serentak (SSKF) menggunakan *reject pulp* sebagai bahan dasar dapat dilihat pada Tabel 5.19. Dari Tabel 5.19 dapat dilihat bahwa penggunaan *pichia stipitis* untuk proses fermentasi gula secara langsung menghasilkan konsentrasi bioetanol yang lebih tinggi dibandingkan penggunaannya pada proses SKFS maupun SFS. Fermentasi gula murni menggunakan yeast *pichia stipitis* menghasilkan konsentrasi bioetanol paling besar yaitu 30,23 g/L dengan waktu optimum 72 jam, hal ini dikarenakan gula murni yang menjadi substrat utama langsung difermentasi sehingga fermentasi berlangsung sesuai jumlah substrat yang tersedia pada awal proses.

Sementara pada proses SFS dan SKFS dibutuhkan waktu terlebih dahulu untuk substrat bahan baku menjalani proses hidrolisis untuk menghasilkan monomermonomer gula. Proses fermentasi baru akan berjalan pada saat substrat bahan baku yang mengandung komponen polisakarida telah diubah dalam bentuk monomer-monomer gulanya. Gangguan dari inhibitor pada saat hidrolisis dapat



mempengaruhi jumlah gula yang terbentuk sehingga proses fermentasinya tidak berlangsung optimum karena kekurangan substrat gula monosakarida.

Tabel 5.19 Perbandingan Konsentrasi Bioetanol pada Proses Fermentasi, SSF dan SSKF

Variabel	Rouhollah,2007	Lianti, 2009	Mulyono, 2011	Penelitian ini	Penelitian ini	Penelitian ini
	Fermentasi	(SSF)	(SSKF)	(SSF)	(SSF)	(SSF)
Bahan baku	gula	<i>reject pulp</i>	<i>reject pulp</i>	<i>reject pulp</i>	<i>reject pulp</i>	<i>reject pulp</i>
Ukuran Reject Pulp (mesh)	-	Dihaluskan tanpa penyeragaman	20-40 40-60 60-80	60-80	60-80	60-80
Volum larutan (ml)	100	6,75	27,5	27,5	27,5	27,5
Enzim	-	<i>Selulase dan xilanase</i>	<i>Selulase, xilanase dan selubiose</i>	<i>Selulase</i>	<i>Selulase dan xilanase</i>	<i>Selulase, xilanase dan selubiose</i>
Enzim/substrat* (gr/gr)	-	0,025/0,25	0,05/0,5	0,05/0,5 0,05/0,75 0,05/1	0,05/0,5 0,05/0,75 0,05/1	0,05/0,5 0,05/0,75 0,05/1
Yeast	<i>Pichia stipitis</i>	<i>Saccharomyces cereviceae</i>	<i>Saccharomyces cereviceae dan Pichia stipitis</i>	<i>Pichia stipitis</i>	<i>Pichia stipitis</i>	<i>Pichia stipitis</i>
Optical density	-	-	**0,21 *** 0,24	0,617	0,617	0,617
pH medium	4,5	4; 4,5; 5; 5,5 dan 6	5	5	5	5
Waktu optimum (jam)	72	96	48	12	12	24
Konsentrasi bioetanol maksimum (gr/L)	30,33	9,7	13,04	5,77	5,25	5,35

*massa masing-masing enzim didalam substrat, ** *Saccharomyces cereviceae*, *** *Pichia stipitis*

Penyeragaman ukuran sangat berpengaruh pada lama waktu yang dibutuhkan unntuk sebuah proses sakarifikasi dan fermentasi serentak. Lianti (2009), melakukan proses SFS dengan bahan baku *reject pulp* yang telah dihaluskan tanpa adanya penyeragaman ukuran dengan bantuan fermentor *Saccharomyces cereviceae* dan didapat konsentrasi etanol maksimum 9,7 g/L pada waktu 92 jam, jauh lebih lama bila dibandingkan penelitian ini yang menggunakan fementor *Pichia stipitis*. hal ini disebabkan oleh enzim dan yeast yang mengalami kesulitan dalam mengakses bahan baku untuk melakukan proses



hidrolisis dan fermentasi akibat distribusi bahan baku dan luas permukaan yang tidak merata.

Penelitian ini melakukan variasi konsentrasi substrat *reject pulp*. Dimana variasi ini belum pernah dilakukan pada penelitian-penelitian sebelumnya. Lianti (2009) dan Mulyono (2011) melakukan penelitian dengan perbandingan konsentrasi enzim terhadap substrat yang tetap yaitu 1:10. Penelitian ini memvariasikan jumlah *reject pulp* terhadap jumlah enzim yang tetap yaitu 1:10, 1:15, dan 1:20, dengan hasil konsentrasi bioetanol maksimum didapat pada nilai perbandingan enzim terhadap *reject pulp* berbeda-beda untuk variasi penggunaan kombinasi enzim. Penggunaan enzim selulase menghasilkan konsentrasi bioetanol 5,77 gr/L pada variasi 1: 10 (0,05 gram enzim terhadap 0,5 gram *reject pulp*). Penggunaan kombinasi enzim selulase dan xylanase menghasilkan konsentrasi bioetanol 5,25 gr/L pada variasi 1:20 (0,05 gram enzim terhadap 1 gram *reject pulp*). Proses hidrolisis yang berjalan tidak sempurna diduga juga ikut membentuk molekul selubiosa yang merupakan jenis disakarida hasil hidrolisis parsial, molekul selubiosa yang terbentuk akan mudah dihidrolisis lebih lanjut menggunakan enzim selubiase seperti pada penelitian Mulyono (2011).

Berdasarkan pengamatan nilai OD (*optical density*), maka besarnya nilai yang ditampilkan juga berpengaruh terhadap konsentrasi etanol maksimum yang bisa dihasilkan. Pada volum larutan yang sama 27,5 ml, dengan OD *yeast* inokulum untuk *Saccharomyces cereviceae* 0,21 dan *Pichia stipitis* 0,24 akan menghasilkan konsentrasi bioetanol yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan dengan nilai OD inokulum 0,617. hal ini mengindikasikan bahwa jumlah populasi *yeast* yang lebih banyak dan lebih rapat maka proses fermentasi akan berlangsung lebih cepat. Namun jika tidak diiringi laju hidrolisis yang seimbang maka *yeast* dalam usaha mempertahankan hidupnya akan cenderung mengkonsumsi etanol yang tersedia didalam proses metabolisme. Sehingga konsentrasi etanol yang ingin dicapai lebih tinggi justru semakin menurun.



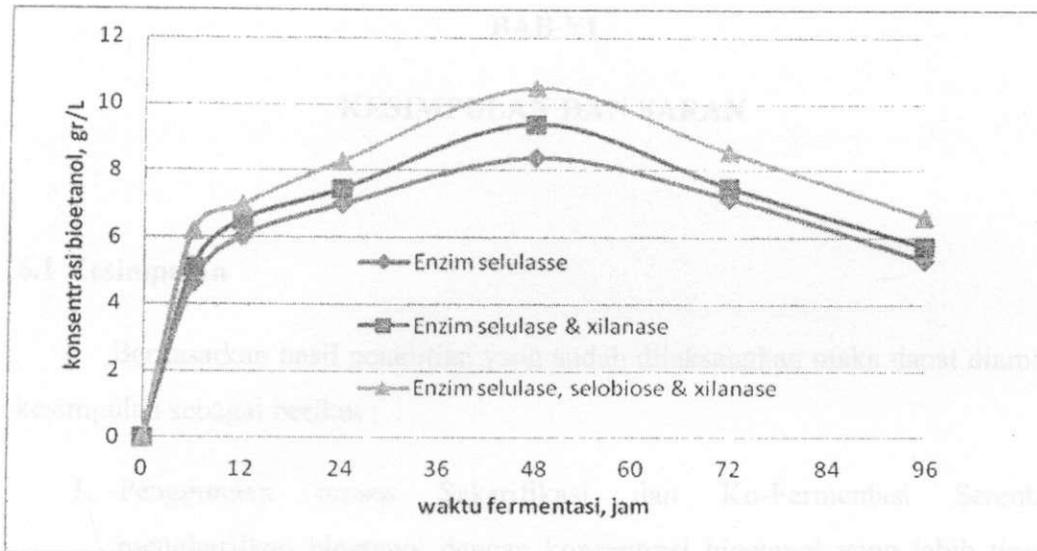
5.10 Hasil Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak Skala 10 Liter

Penggunaan enzim sangat mempengaruhi bioetanol yang terbentuk pada proses SKFS. Pada percobaan konversi reject pulp menjadi bioetanol dengan proses SKFS menggunakan biofermentor 10 L, variasi enzim yang digunakan adalah enzim selulase; enzim selulase dan xilanase; enzim selulase, selobiose dan xilanase. Data hasil analisa bioetanol pada biofermentor skala 10 Liter dapat dilihat pada **Tabel 5.20**. Profil konsentrasi bioetanol dari proses SKFS dengan variasi penggunaan enzim ditampilkan pada **Gambar 5.8**.

Tabel. 5.20 Konsentrasi Etanol Hasil Proses SKFS Skala 10 Liter

Waktu SKFS (jam)	Konsentrasi Etanol (gr/L)		
	Enzim selulase	Enzim selulase & xilanase	Enzim selulase, selobiose & xilanase
0	0	0	0
6	4,62	5,08	6,18
12	6,03	6,51	6,96
24	6,98	7,43	8,27
48	8,38	9,39	10,47
72	7,17	7,49	8,55
96	5,32	5,73	6,61

Dari Gambar 4.8 dapat dilihat dengan menggunakan variasi 3 enzim selulase, xylanase dan selubiose menunjukkan hasil bioetanol dengan konsentrasi tertinggi untuk semua pengamatan waktu. Konsentrasi bioetanol tertinggi tercapai pada waktu fermentasi 48 jam dengan konsentrasi 10,47 gr/L. Penggunaan variasi dua enzim yaitu enzim selulase dan xilanase menghasilkan konsentrasi bioetanol tertinggi 9,39 gr/L dan untuk variasi satu enzim selulase menghasilkan konsentrasi bioetanol tertinggi 8,38 gr/L.



Gambar 5.8 Hasil bioetanol pada Proses SKFS dengan Variasi Enzim menggunakan biofermentor 10 L

2. Konsentrasi bioetanol tertinggi yang dihasilkan melalui proses SKFS skala laboratorium dengan variasi enzim selulase dan xilanase mencapai konsentrasi etanol 11,510 g/L pada pH 4,5 jam ke-48 dengan konversi 79,42% pada menjadi bioetanol sebesar 68,25%.
3. Konsentrasi bioetanol tertinggi yang dihasilkan melalui proses SKFS skala laboratorium dengan variasi enzim selulase, xilanase dan selobiose mencapai konsentrasi etanol 11,570 g/L pada pH 5 jam ke-48 dengan konversi 79,42% menjadi bioetanol sebesar 68,45%.
4. Konsentrasi bioetanol tertinggi yang dihasilkan melalui proses SKFS skala laboratorium dengan variasi enzim selulase, xilanase dan selobiose mencapai 10,97% menggunakan enzim selulase dengan waktu 72 jam.
5. Konsentrasi bioetanol tertinggi yang dihasilkan melalui proses SFS skala laboratorium dengan enzim selulase dan yeast *Pichia stipitis* serta variasi massa substrat mencapai konsentrasi bioetanol 5,77 g/L pada jam ke-6.
6. Konsentrasi bioetanol tertinggi yang dihasilkan melalui proses SFS skala laboratorium dengan enzim selulase, enzim xylanase dan yeast *Pichia stipitis* serta variasi massa substrat mencapai konsentrasi bioetanol 5,25 g/L pada jam ke-12.