

# Pengaruh pH dan Waktu dalam Pembuatan Bioetanol dari *Reject Pulp* dengan

## Metode Sakarifikasi Ko-Fermentasi Serentak (SKFS)

Arbi Maulana, Chairul, Muhammad Iwan Fermi

Laboratorium Teknologi Bioproses

Jurusan Teknik Kimia Universitas Riau

Kampus Binawidya Km. 12,5 Simpang Baru Panam, Pekanbaru 28293

\*E-mail : [chairulunri@yahoo.com](mailto:chairulunri@yahoo.com)

---

### A B S T R A K

#### ABSTRACT

Reject pulp has not been harnessed into value-added products. Utilization of reject pulp containing 85.16% cellulose, 10.33% hemicellulose, lignin-klason 3.15%, 1.16% extractive-EB and 0.20% ash (ash) can be done with the Saccharification and Co-Fermentation unison (SKFS) to be converted into bioethanol. Saccharification process using the enzyme cellulase, xylanase and selobiase and co-fermentation process using the yeast *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia stipitis*. The purpose of this study was to determine the pH and the best time to produce bioethanol. This study varying the pH of the initial solution of 4, 4.5 and 5, and the time variation SKFS 24, 36, 48, 60, 72, 84 hours. Tests on samples made with Alkoholmeter. The results showed that the highest concentration of ethanol obtained in the SKFS to 40 g / L at initial pH 5 solution within 48 hours.

**Keywords :** Bioethanol, *Pichia stipitis*, *Reject pulp*, *Saccharomyces cerevisiae*, SKFS

---

## 1. Pendahuluan

Energi merupakan persoalan yang krusial di dunia beberapa tahun terakhir ini. Peningkatan permintaan energi yang disebabkan oleh pertumbuhan populasi penduduk dan menipisnya sumber cadangan minyak dunia memberikan tekanan kepada setiap negara untuk segera memproduksi dan menggunakan energi terbarukan. Selain itu, peningkatan harga minyak dunia hingga Juni 2012 mencapai 113.95 dollar per barel [OPEC, 2012], juga menjadi alasan serius yang menimpa banyak negara di dunia termasuk Indonesia. Konsumsi BBM Indonesia yang mencapai 1,3 juta barel per hari tidak seimbang dengan produksi yang nilainya sekitar 980 ribu barel per hari sehingga terdapat defisit yang harus dipenuhi melalui impor [Kementerian Energi dan Sumber Daya Mineral, 2012]. Apabila terus dikonsumsi tanpa ditemukannya cadangan minyak baru diperkirakan cadangan minyak ini akan habis dalam dua dekade mendatang, sehingga upaya pengembangan energi alternatif menjadi penting untuk dilakukan.

Salah satu energi alternatif yang relatif murah ditinjau dari aspek produksinya dan ramah lingkungan adalah pengembangan bioetanol dari limbah biomassa yang mengandung banyak lignoselulosa. Lignoselulosa adalah komponen organik di alam yang berlimpah dan terdiri dari tiga tipe polimer, yaitu selulosa, hemiselulosa dan lignin. Salah satu contoh biomassa yang mengandung lignoselulosa adalah *reject pulp* yang diperoleh dari industri *pulp & paper*. Industri *pulp & paper* di Provinsi Riau menghasilkan *reject pulp* yang cukup melimpah. spesies yeast juga digunakan yaitu *Saccharomyces cerevisiae* dan *Pichia stipitis*. Kultur ini

*Reject pulp* yang dibuang sebagai limbah padat oleh PT. Riau Andalan *Pulp & Paper* mencapai 159,6 ton per hari [PT.RAPP, 2010].

*Reject pulp* belum banyak dimanfaatkan menjadi produk yang memiliki nilai tambah, pemanfaatan *reject pulp* hingga kini baru sebatas untuk ditimbun atau langsung dibakar untuk bahan bakar, begitu juga dengan penelitian yang memanfaatkan *reject pulp* untuk dikonversi menjadi etanol belum banyak dilakukan. Apabila produksi bioetanol dari *reject pulp* sebagai bahan bakar alternatif yang bersifat terbarukan dapat dilakukan maka penelitian dengan metode Sakarifikasi dan Ko-Fermentasi Serentak (SKFS) akan menjadi semakin menarik untuk dilakukan.

Pada penelitian ini pembuatan bioetanol dilakukan dengan metode Sakarifikasi dan Ko-Fermentasi Serentak (SKFS). Proses sakarifikasi menggunakan kombinasi tiga enzim yaitu selulase, xilanase, dan selobiase serta proses fermentasi dengan *Saccharomyces cerevisiae* & *Pichia stipitis*. Variasi pH dan waktu pengambilan sampel SKFS menjadi dasar utama dari penelitian ini. Diharapkan dengan variasi pH dan waktu pengambilan sampel SKFS dapat diperoleh pH dan waktu optimal untuk menghasilkan etanol dengan *yield* yang tinggi.

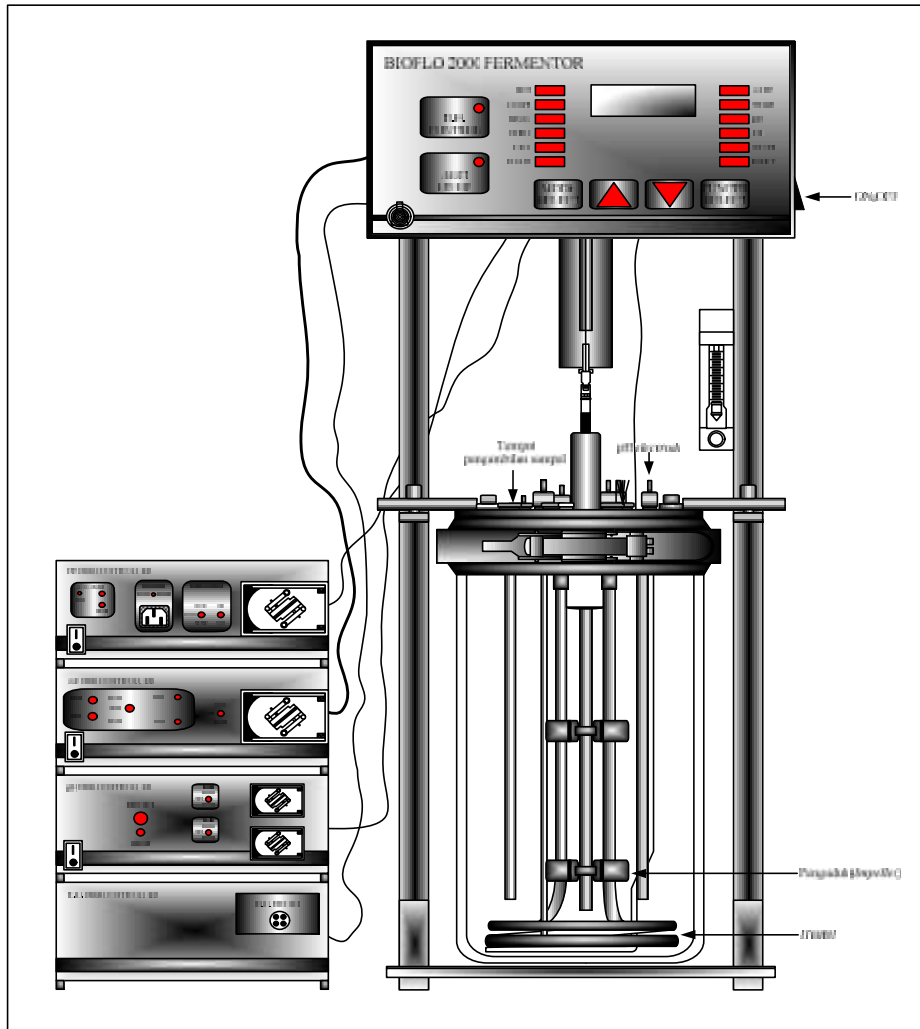
## 2. Metodologi

Bahan baku utama dalam penelitian ini adalah *reject pulp* yang merupakan hasil samping dari pengolahan industri *pulp* dan *paper* PT. RAPP. Dua dipelihara pada media *Potato Dextro Agar* (PDA). Enzim komersial yang dipakai dalam hidrolisis yaitu enzim

selulase, selobiose dan xilanase. Dan bahan-bahan kimia lain seperti  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$ , *Buffer* sitrat, glukosa, dan *yeast extract*.

Proses Sakarifikasi dan Ko-Fermentasi Serentak terjadi di dalam reaktor berupa BioFlo 2000 Fermentor dengan volum 10 liter. Analisa etanol menggunakan

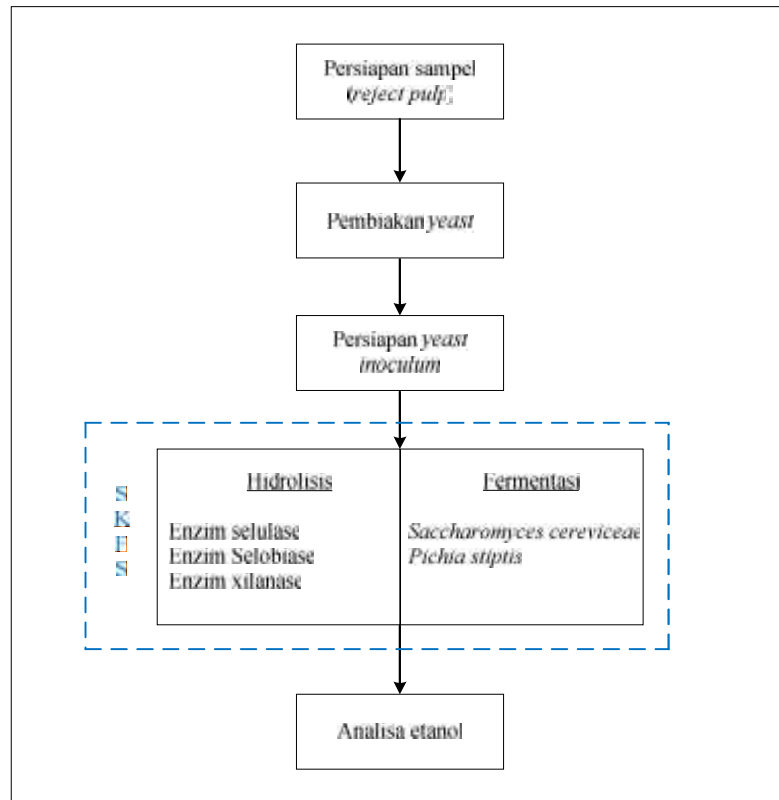
Alkoholmeter. Sterilisasi menggunakan *autoclave*. Inkubator. *Orbital shaker*. Erlenmeyer, cawan petri, pemanas (*heater*), pipet volum, timbangan analitik, jarum ose, spatula, bunsen, pengayak dan gelas ukur. Adapun skema peralatan penelitian (Bioflo 2000 Fermentor) dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1. Skema Peralatan Penelitian Bioflo 2000 Fermentor**

Variasi variabel percobaan pada penelitian pembuatan Bioetanol dari *Reject Pulp* ini adalah pH awal larutan yaitu 4; 4,5; dan 5 dan waktu produksi SKFS yaitu 24, 36, 48, 60, 72 dan 84 jam. Penelitian ini akan menggunakan kombinasi tiga enzim komersial (selulase, selobiose dan xilanase) pada proses hidrolisis dan kombinasi *yeast Saccharomyces cereviceae* dan *Pichia stipitis* dalam proses fermentasi. Rancangan penelitian dapat dilihat pada Gambar 2.

*Reject pulp* yang digunakan pada penelitian di ambil dari PT. RAPP, Pangkalan Kerinci. Sebelum digunakan, *reject pulp* terlebih dahulu dicuci hingga bersih dan kemudian dikeringkan dengan cara dijemur. Setelah itu, *reject pulp* dihaluskan dengan cara diayak hingga berukuran kurang lebih 60 - 80 mesh sehingga ukuran partikel lebih seragam, kemudian *Reject pulp* dianalisa kadar airnya hingga 10%.



**Gambar 2. Diagram Alir Tahapan Penelitian**

*Saccharomyces cerevisiae* dan *Pichia stipitis* di *preculture* pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA) di dalam *petri dish* (kentang 200 gr/L, *dextrosa* 10 gr/L dan agar 15 gr/L). Sebelum digunakan media PDA disterilisasi menggunakan *autoclave* temperatur 121 °C selama 20 menit dengan tekanan 15 psia [Gozan, 2007]. Tujuan dari sterilisasi ini adalah untuk membunuh mikroorganisme lain yang tidak diinginkan selama proses pembiakan berlangsung. Selanjutnya diinkubasi selama 2 - 4 hari pada suhu 28 - 32°C, kemudian digunakan sebagai *yeast* pada proses SKFS. Tujuan dari pembiakan ini adalah untuk mendapatkan jumlah *yeast* sebanyak 7-8 ose untuk memulai proses fermentasi.

*Saccharomyces cerevisiae* dan *Pichia stipitis* *fresh* dari *stock* pembiakan di *preculture* pada 800 ml medium yang terdiri dari glukosa, 10 g/L; *yeast extract*, 1,0 g/L;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  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* 1000 ml [Gozan, 2007]. Sebelum di inokulasi, medium di sterilisasi menggunakan *autoclave* pada tekanan 15 psia dan temperatur 121°C selama 15 menit. Setelah medium dingin, kemudian kedalam masing-masing medium tersebut ditambahkan *yeast* sebanyak 7 - 8 ose lalu di *shaker* selama 24 jam dengan kecepatan putaran 150 rpm. Fungsi *shaker* adalah mempermudah difusi oksigen ke dalam medium dan campuran menjadi homogen. Adapun kegunaan dari inokulum ini adalah mengadaptasikan sel terhadap media fermentasi, sehingga diharapkan fasa lag sebagai awal fermentasi dilewati.

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 Serevisiae* dan *Pichia Stipitis*. Medium untuk SKFS sebanyak 8000 ml terdiri dari sampel *reject pulp* (100 gr), *nutrients* medium 800 ml, bufer sitrat (variasi pH 4; 4,5 dan 5) 800 ml, enzim selulase 1 gr, enzim selobiose 0,5 gr, enzim xilanase 0,5 gr, *yeast inoculum* (masing-masing 800 ml) dan aquades. *Nutrients* medium terdiri dari 1,0 gr/L  $(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$ ; 0,05 gr/L  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  dan 2 gr/L *yeast extract*.

Campuran semua bahan disterilisasi selama 15 menit pada *autoclave* dengan tekanan 15 psia dan temperatur 121°C, namun enzim ditambahkan tanpa sterilisasi. Kemudian proses SKFS dilakukan pada pH 4; 4,5 dan 5 dengan kecepatan 170 rpm pada suhu  $\pm 30^\circ\text{C}$ . Kultivasi diambil tiap 24, 36, 48, 60, 72 dan 84 jam kemudian di Distilasi. Setelah itu dilakukan pengujian konsentrasi etanol yang dihasilkan menggunakan Alkoholmeter.

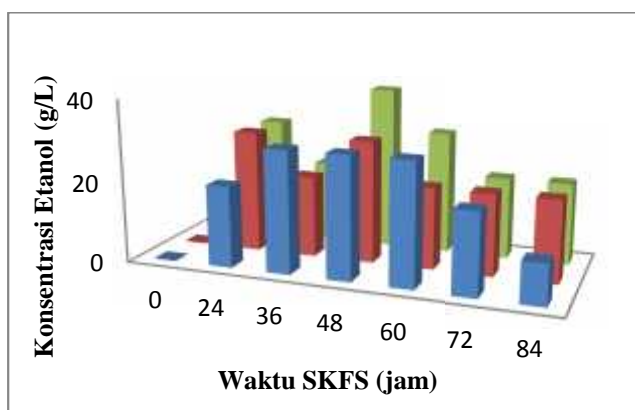
### 3. Hasil dan Pembahasan

Proses produksi Bioetanol dari biomassa dilakukan menggunakan metode Sakarifikasi dan Ko-Fermentasi Serentak (SKFS) dengan variasi pH dan waktu SKFS. SKFS merupakan metode yang dapat digunakan dalam memproduksi bioetanol dari bahan baku berlignoselulosa. Pada metode SKFS proses hidrolisis dan fermentasi berlangsung dalam satu reaktor. Proses hidrolisis menggunakan tiga jenis enzim (selulase; selobiose dan xilanase), dimana enzim berfungsi sebagai

biokatalisator yang dapat mendegradasi Komponen kimia yang terdapat di dalam *reject pulp* seperti selulosa, selobiosa dan xilan menjadi gula-gula penyusunnya. Proses fermentasi menggunakan *yeast Saccharomyces cerevisiae* yang memiliki kemampuan mengubah glukosa menjadi alkohol dan CO<sub>2</sub>, dan *yeast Pichia stipitis* yang memiliki kemampuan mengubah xilosa menjadi Bioetanol. Konsentrasi Etanol yang dihasilkan dari proses SKFS dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 3.

**Tabel 1. Hasil Analisa Konsentrasi Bioetanol**

Waktu SKFS (jam)	Konsentrasi Etanol (g/L)					
	pH 4		pH 4.5		pH 5	
	%	g/L	%	g/L	%	g/L
0	0	0	0	0	0	0
24	2	20	3	30	3	30
36	3	30	2	20	2	20
48	3	30	3	30	4	40
60	3	30	2	20	3	30
72	2	20	2	20	2	20
84	1	10	2	20	2	20



**Gambar 3. Konsentrasi Etanol pada Proses SKFS dengan Variasi pH**

Dari Gambar 3 dapat dilihat bahwa Konsentrasi etanol paling tinggi dihasilkan pada proses dengan waktu SKFS 48 jam, tertinggi pada pH 5 yaitu sebesar 40 g/L dan terendah pada pH 4 yaitu 10 g/L. Dari Gambar 4.1 dapat disimpulkan bahwa waktu dan pH optimum untuk proses SKFS adalah 48 jam pada pH 5.

Peningkatan konsentrasi etanol pada pH 4; 4,5 dan 5 hingga jam ke-48 menunjukkan bahwa *yeast* berada pada fase eksponensial (*log phase*). Sedangkan pada jam ke-60 hingga jam ke-84 terjadi penurunan konsentrasi etanol, karena *yeast* mengalami fase stasioner yang

menunjukkan *yeast* sudah tidak bekerja lagi secara optimal. Penurunan ini juga disebabkan karena selama pengambilan sampel ada sebagian oksigen yang masuk membuat proses anaerob yang tidak sempurna dan menjadikan proses sedikit aerob sehingga memungkinkan tumbuhnya *Acetobacter aceti* yang dapat mengkonversi alkohol menjadi asam asetat yang ditandai dengan bau masam pada sampel dan menurunkan konsentrasi etanol yang dihasilkan [Richana, 2009]. Berikut reaksi oksidasi etanol menjadi asam asetat dengan asetaldehid sebagai produk intermediet yang dihasilkan.



Hidrolisis menggunakan enzim dapat bekerja pada kondisi pH 4,5-5 dan temperatur 30-50<sup>0</sup>C, hal ini dapat mengurangi terjadinya masalah korosi, konsumsi utilitas rendah dan bahaya racun rendah [Taherzadeh, 2007], dan pada penelitian ini konsentrasi etanol yang paling tinggi terjadi pada pH 5 yaitu sebesar 40 g/L. 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]. Hasil konsentrasi etanol yang paling tinggi yang ditampilkan pada gambar 4.1 adalah dengan pH 5 pada waktu 48 jam sedangkan untuk pH 4 menghasilkan konsentrasi etanol paling sedikit. Maka terbukti bahwa *yeast* dan enzim dapat berkembang dan bekerja dengan baik pada pH 5, oleh karena itu konsentrasi etanol yang dihasilkan lebih tinggi.

### 3.1 Perbandingan Konsentrasi Bioetanol Penelitian ini dengan Penelitian lainnya

Penelitian ini menggunakan metode Sakarifikasi dan Ko-Fermentasi Serentak (SKFS) dengan volume total larutan 8000 ml dan analisa hasilnya menggunakan Alkoholmeter, jika dibandingkan dengan penelitian sebelumnya yang menggunakan *Gas Chromatography* (GC), hasil konsentrasi etanol yang diperoleh lebih tinggi. Perbedaan dari proses ini terletak pada ukuran partikel *Reject Pulp* dan jumlah enzim yang digunakan. Akbar [2010] menggunakan ukuran partikel *Reject Pulp* 40-60 *mesh* dengan jumlah enzim selulase 0,05 gr, selobiase 0,05 gr dan xilanase 0,05 gr, dan Sari [2011] menggunakan ukuran partikel *Reject Pulp* 40-60 *mesh* dengan jumlah enzim selulase 1 gr, selobiase 0,25 gr dan xilanase 0,25 gr, serta kombinasi enzim (selulase; selulase,xylanase dan selulase,selobiase,xylanase). Perbandingan konsentrasi bioetanol hasil penelitian dapat dilihat pada Tabel 2 berikut.

**Tabel 2. Perbandingan Konsentrasi Bioetanol dengan Penelitian lainnya**

Variabel	Akbar (2010)	Sari (2011)	Penelitian ini
Bahan Baku	<i>Reject Pulp</i>	<i>Reject Pulp</i>	<i>Reject Pulp</i>
Volume Larutan (ml)	20	5000	8000
Massa Reject Pulp (gr)	0.5	100	100
Ukuran Partikel <i>Reject Pulp</i> (mesh)	40-60	40-60	60-80
Enzim	Selulase 0,05 gr Selobiase 0,05 gr Xylanase 0,05 gr	Selulase 1 gr Selobiase 0,25 gr Xylanase 0,25 gr	Selulase 1 gr selobiase 0,5 gr Xylanase 0,5 gr
<i>Yeast</i>	<i>S. Ceriviceae</i> <i>Pichia stipitis</i>	<i>S. Ceriviceae</i> <i>Pichia stipitis</i>	<i>S. Ceriviceae</i> <i>Pichia stipitis</i>
Waktu Optimum (jam)	48	72	48
<i>pH</i>	4	5	(a) 4
	4.5		(b) 4.5
	5		(c) 5
	5.5		
	6		
Analisa hasil	<i>Gas Chromatography</i>	<i>Gas Chromatography</i>	Alkoholmeter
Konsentrasi Etanol (g/L)	12,67	10.97	(a) 30 (b) 30 (c) 40

Dari Tabel 2 dapat dilihat bahwa penelitian ini dibandingkan dengan penelitian sebelumnya yang menggunakan proses SKFS dan bahan baku yang sama, tetapi ukuran partikel *reject pulp*, jumlah enzim yang digunakan dan analisa hasilnya berbeda, hasil etanol yang diperoleh dari penelitian ini lebih tinggi. Dari Tabel 2 dapat dilihat bahwa partikel *reject pulp* dengan ukuran 60-80 *mesh* menghasilkan konsentrasi etanol sebesar 40 g/L sedangkan partikel *reject pulp* dengan ukuran 40-60 *mesh* menghasilkan etanol sebesar 12,67 g/L dan 10,97 g/L. Hal ini dikarenakan semakin kecil ukuran partikel *reject pulp* konsentrasi etanol yang dihasilkan akan semakin tinggi. Dengan semakin kecilnya ukuran partikel *reject pulp*, maka luas permukaan padatan makin besar. Luas permukaan yang besar akan menyebabkan intensitas kontak antara permukaan padatan dengan cairan semakin banyak bila dibandingkan dengan ukuran partikel *reject pulp* yang lebih kecil [Mulyono, 2011].

Enzim yang digunakan selama proses SKFS berpengaruh terhadap konsentrasi etanol yang dihasilkan. Dengan massa *reject pulp* 0,5 gr dan massa enzim selulase 0,05 gr, selobiase 0,05 gr dan xilanase 0,05 gr akan menghasilkan konsentrasi etanol yang rendah. Sedangkan pada penelitian ini, *reject pulp* yang digunakan 100 gr dengan massa enzim selulase 1 gr, selobiase 0,5 gr dan xilanase 0,5 gr menghasilkan konsentrasi yang lebih tinggi. Semakin banyak enzim yang digunakan, semakin tinggi rendemen dan kecepatan

hidrolisis, namun hal ini akan meningkatkan biaya proses [Herniati, 2010].

#### 4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang sudah dilaksanakan maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Produksi Bioetanol melalui proses Sakarifikasi dan Ko-Fermentasi Serentak terbaik adalah pada kondisi derajat keasaman (*pH*) 5 dengan menghasilkan konsentrasi Bioetanol 40 g/L.
2. Waktu produksi Bioetanol terbaik melalui proses Sakarifikasi dan Ko-Fermentasi Serentak adalah 48 jam dengan menghasilkan konsentrasi Bioetanol 40 g/L.

#### DAFTAR PUSTAKA

- [1] Akbar, A. 2011. *Produksi Bioetanol dari Reject Pulp dengan Sakarifikasi dan Ko-Fermentasi Serentak Menggunakan Enzim Karbohidrase dan Kombinasi Saccharomyces cerevisiae-Pichia stipitis*. Skripsi S1. Fakultas Teknik, Universitas Riau, Pekanbaru.
- [2] Herniati, E., Mangunwijdjaja, D., Sunarti, T.C., Suparno, O., dan Prasetya, B., 2010, Pemanfaatan Biomassa Lignoselulosa Ampas

- Tebu untuk Produksi Bioetanol. *Jurnal Litbang Pertanian*, 29 (4).
- [3] Kementerian Energi dan Sumber Daya Mineral. 2012. *Perbandingan Produksi dan Konsumsi Minyak Harian*
- [4] Mulyono, T. 2011. *Variasi Ukuran Partikel Reject Pulp pada Sakarifikasi dan Ko-Fermentasi Serentak untuk Produksi Etanol*. Skripsi S1. Fakultas Teknik, Universitas Riau, Pekanbaru
- [5] Organization of the Petroleum Exporting Countries (OPEC). 2012. *OPEC Basket Price*
- [6] PT. RAPP. 2008. *Produksi Pulp dan Komposisi Reject Pulp PT. RAPP*. Komunikasi internal dengan Unit Digerster PT. RAPP. Pangkalan Kerinci.
- [7] Richana, N. 2008. *Produksi dan Prospek Enzim dalam Pengembangan Bioindustri di Indonesia*. Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan, Bogor.
- [8] Samsuri, M., Gozan, M., Mardias, R., Baiquni, M., Hermansyah, H., Wijanarko, A., Prasetya, B., dan Nasikin M., 2007, "Pemanfaatan Sellulosa Bagas untuk Produksi Ethanol Melalui Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak dengan Enzim Xylanase". *Makara teknologi*, vol 11 : 17-24.
- [9] Sari,. P.S. 2011. *Sakarifikasi dan Ko-Fermentasi Serentak (SKFS) untuk Produksi Bioetanol dari Limbah Industri Pulp dan Paper*. Skripsi S1. Fakultas Teknik, Universitas Riau, Pekanbaru.
- [10] Taherzadeh, M.J. dan K. Karimi. 2007. *Enzyme-Based Hydrolysis For Ethanol From Lignosellulosic Materials*. A Review *BioResources* 2(4), 707-738.