

PENGARUH KONSENTRASI NaOH DAN ENZIM SELULASE: XILANASE TERHADAP PRODUKSI BIOETANOL DARI TONGKOL JAGUNG

Abdullah Bin Arif¹, Agus Budiyo¹, Wahyu Diyono¹, Maulida Hayuningtyas¹, Tri Marwati² dan Nur Richana¹

¹Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian
Jl. Tentara Pelajar No 12, Cimanggu Bogor, Indonesia 16114

²Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Yogyakarta
Jl. Stadion Baru No. 22, Wedomartani, Daerah Istimewa Yogyakarta, Indonesia
Email: ab.arif.pascapanen@gmail.com

(Diterima 24-08-2016; Disetujui 18-11-2016)

ABSTRAK

Pencarian bahan energi alternatif yang tidak berkompetisi dengan pangan dan pakan sangatlah perlu dan mendesak untuk dipikirkan. Biomassa lignoselulosa merupakan salah satu sumber energi yang potensial. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mendapatkan perlakuan konsentrasi NaOH dan enzim selulase: xilanase yang optimum untuk produksi bioetanol dari tongkol jagung. Penelitian dilakukan pada bulan Januari 2014 sampai Nopember 2014 di Laboratorium Mikrobiologi dan Kimia Balai Besar Litbang Pascapanen Pertanian dan Pusat Penelitian Kimia LIPI. Bahan baku yang digunakan adalah tongkol jagung. Terdapat empat tahapan dalam penelitian ini, yang meliputi: 1). Karakteristik bahan baku, 2). Optimasi pengaruh perlakuan dosis NaOH pada proses delignifikasi terhadap perubahan karakteristik bahan serbuk tongkol jagung, rancangan percobaan pada tahapan ini yaitu rancangan acak lengkap (RAL) 1 faktor. 3). Optimasi pengaruh penambahan enzim selulase dan xilanase terhadap produksi bioetanol skala 500 g bahan baku, pada tahapan ini terdapat dua perlakuan penambahan perbandingan dosis enzim selulase: xilanase yang berbeda yaitu 1:1 % dan 2:2 %, analisis statistik yang digunakan pada tahapan ini yaitu analisis uji t-student. 4). Optimasi proses produksi bioetanol skala 50 kg bahan baku. Hasil penelitian menunjukkan bahwa teknologi produksi bioetanol dari tongkol jagung yaitu dengan cara serbuk tongkol jagung dilakukan *pretreatment* menggunakan larutan NaOH 10% dan dipanaskan menggunakan autoklaf dengan suhu 120-130 °C selama 20 menit. Selanjutnya bahan hasil delignifikasi dilakukan proses hidrolisis dan sakarifikasi menggunakan enzim xilanase:selulase dengan perbandingan 1 : 1. Proses selanjutnya yaitu proses fermentasi selama 3 hari dengan cara ditambahkan *Saccharomyces cerevisiae* sebanyak 1%. Bioetanol yang dihasilkan sebanyak 14,65% dari total serbuk tongkol jagung yang digunakan dengan kadar alkohol 83,3%.

Kata kunci: tongkol jagung, lignoselulosa, delignifikasi, hidrolisis, sakarifikasi, bioetanol

ABSTRACT

Abdullah Bin Arif, Agus Budiyo, Wahyu Diyono, Maulida Hayuningtyas, Tri Marwati and Nur Richana. 2016. Effect of NaOH Concentration and Cellulase:Xylanase Enzymes For Bioethanol Production From Corn cob.

The effort to search an alternative for energy materials that do not compete with food and feed is necessary and urgent to think about. Lignocellulosic biomass is one potential source of energy. The aim of this study is to obtain treatments NaOH concentration and cellulase:xylanase enzymes that optimum for bioethanol production from corn cobs.. The study was conducted in January until November 2014 at the Laboratory of Microbiology and Chemistry at Indonesian center for Agricultural Postharvest Research and Development and Indonesian Center for Chemical Research of LIPI. The raw material is corn cob. There were four stages in this study: 1). Characteristics of raw materials, 2). Optimization of pretreatment effect NaOH dose on delignification process to change the characteristics of corn cob powder, experimental design at this stage is completely randomized design (CRD) 1 factor 3). Optimization effect of cellulase and xylanase enzymes to bioethanol production scale 500 g of raw materials, there are two treatment concentration of enzymes cellulase:xylanase ie 1: 1% and 2: 2%, statistical analysis that used in this stage is the analysis of t-student test. 4). Optimization of the process of bioethanol production scale 50 kg of raw material. The results showed that the production of bioethanol from corncobs that is the way to do pretreatment of corncob powder using 10% NaOH solution and heated using autoclave at temperature of 120-130 °C for 20 minutes. Furthermore, the resulted material from delignification was procced to saccharification and hydrolysis process using enzyme xylanase: cellulase with ratio of 1:1. The bioethanol produced was 14.65% from total corn cob powder used with alcohol content of 83.3%.

Key words: corn cob, lignocellulosa, delignification, hydrolysis, saccharification, bioethanol

PENDAHULUAN

Seiring bertambahnya jumlah penduduk, semakin majunya teknologi, dan peningkatan perekonomian menyebabkan semakin meningkatnya konsumsi energi di Indonesia khususnya penggunaan bahan bakar minyak (BBM). Sementara itu, produksi minyak dan gas di Indonesia dan di dunia saat ini semakin mengalami penurunan sehingga tidak mampu lagi memenuhi kebutuhan BBM. Di sisi lain, pasokan BBM dari fosil di dunia semakin menurun. Oleh karena itu pemerintah harus dapat mendorong peningkatan penyediaan sumber energi melalui pemanfaatan sumber energi baru dan terbarukan (EBT).

Salah satu EBT yang potensial yaitu bioetanol. Penelitian pembuatan bioetanol telah lama dilakukan, umumnya menggunakan bahan bergula antara lain ampas nira tebu¹, nira aren². Selain itu digunakan juga bahan berpati, antara lain singkong^{3,4}, sagu⁵, ganyong⁶ dan jagung yang berpotensi juga sebagai bahan pangan.

Pencarian bahan alternatif yang tidak berkompetisi dengan pangan dan pakan sangatlah perlu dan mendesak untuk dipikirkan. Biomassa lignoselulosa merupakan salah satu sumber EBT yang menjanjikan⁷. Bahan lignoselulosa umumnya merupakan limbah hasil pemanenan atau proses pengolahan hasil pertanian yang tertinggal dan selama ini pemanfaatannya di Indonesia belum banyak dilakukan. Penggunaan bahan berlignoselulosa untuk produksi bioetanol mendapatkan perhatian khusus selain untuk mendorong pengembangan usaha energi terbarukan (EBT) dan juga untuk menekan biaya produksi karena harganya murah^{8,9,10}. Konversi bahan lignoselulosa menjadi bioetanol mendapat perhatian penting karena dapat digunakan untuk mensubstitusi kebutuhan BBM Indonesia. Bioetanol diketahui dapat menjadi campuran bensin untuk bahan bakar kendaraan bermotor dengan keunggulan nilai angka oktan dan panas penguapan¹¹.

Potensi bahan lignoselulosa di Indonesia cukup berlimpah, diantaranya tongkol jagung. Produksi jagung tahun 2010 diperkirakan sebesar 17,84 juta ton jagung pipilan kering dan diperkirakan tersedia limbah tongkol jagung sekitar 17,84-21,41 juta ton/tahun. Tongkol jagung merupakan bahan berlignoselulosa (kadar serat 38,99%) yang mengandung selulosa tertinggi (19,49%)¹². Ketersediaan tongkol jagung yang melimpah berpeluang untuk mendatangkan keuntungan pada biokonversi menjadi etanol. Akan tetapi, pengembangan penggunaan bahan lignoselulosa masih terkendala masalah kelayakan ekonominya dan teknologi. Hal ini disebabkan struktur dan karakteristik alami lignoselulosa yang sangat rapat dan membutuhkan pretreatment untuk menguraikan

komponen-komponen gulanya^{13,14,15}. Faktor yang harus diperhatikan untuk mengurangi biaya produksi etanol adalah: pengolahan bahan baku (delignifikasi), hidrolisis, sakarifikasi dan fermentasi yang efisien untuk menghasilkan rendemen etanol tinggi dan konsentrasi etanol yang tinggi^{16,17,18}. Proses *pretreatment* dapat dilakukan pada kondisi asam maupun basa. Fachry¹⁹ dan Fitriani²⁰ menyatakan bahwa produksi bioetanol dari tongkol jagung sangat dipengaruhi oleh waktu fermentasi, dimana waktu fermentasi membutuhkan waktu selama 7 hari. Lama waktu fermentasi tersebut masih dianggap kurang cepat untuk dapat menghasilkan bioetanol. Rendemen bioetanol dari bahan berlignoselulosa sangat dipengaruhi oleh proses *pretreatment* dan sakarifikasinya untuk menghasilkan glukosa dan proses fermentasi glukosa menjadi etanol oleh mikroba *Saccharomyces sp.* Dengan demikian maka perlu penelitian untuk meningkatkan efisiensi proses delignifikasi, sakarifikasi dan fermentasi glukosa yang dihasilkan untuk produksi bioetanol. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mendapatkan perlakuan konsentrasi NaOH dan enzim selulase: xilanase yang optimum untuk produksi bioetanol dari tongkol jagung.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan pada bulan Januari 2014 sampai Nopember 2014 di Laboratorium Mikrobiologi dan Kimia Balai Besar Litbang Pascapanen Pertanian dan Pusat Penelitian Kimia LIPI. Bahan baku yang digunakan adalah tongkol jagung. Tongkol jagung tersebut diperoleh dari pasar di Bogor, dimana merupakan tongkol jagung yang tidak ketahui jenis dan varietasnya. Bahan kimia meliputi aquadest, NaOCl, NaOH, xilanase dan selulase, dan kultur *Saccharomyces cereviceae*.

Terdapat empat tahapan dalam penelitian ini, yang meliputi: 1). Karakteristik bahan baku, 2). Optimasi pengaruh perlakuan dosis NaOH pada proses delignifikasi terhadap perubahan karakteristik bahan serbuk tongkol jagung, 3). Optimasi pengaruh penambahan enzim selulase dan xilanase terhadap produksi bioetanol skala 500 g bahan baku, 4). Optimasi proses produksi bioetanol skala 50 kg bahan baku.

I. Karakteristik bahan baku

Pada tahapan ini tongkol jagung diperkecil ukurannya hingga lolos > 40 mesh menggunakan alat hummer mill dan disk mill. Serbuk tongkol jagung yang diperoleh selanjutnya dilakukan analisa terhadap beberapa parameter yang meliputi kadar air²¹, kadar

lemak²¹, kadar protein²¹, kadar abu²¹ dan kadar serat (lignin, hemiselulosa dan selulosa)²¹.

II. Optimasi pengaruh perlakuan konsentrasi NaOH pada proses delignifikasi terhadap perubahan karakteristik bahan serbuk tongkol jagung

Pada tahapan ini serbuk tongkol jagung dengan kadar air < 10% dilakukan proses *pretreatment*. Proses *pretreatment* dilakukan dengan merendam serbuk tongkol jagung dengan larutan NaOH pada suhu 120-130 °C dan tekanan 1 Bar. Rancangan percobaan pada tahapan ini yaitu rancangan acak lengkap (RAL) 1 faktor. Faktor perlakuan berupa konsentrasi NaOH dengan 5 taraf yaitu 0, 4, 6, 8, dan 10%. Setiap perlakuan diulang sebanyak 3 ulangan sehingga terdapat 15 satuan percobaan. Pengamatan yang dilakukan meliputi kadar lignin, hemiselulosa dan selulosa. Data yang diperoleh dari hasil pengamatan dan pengukuran selanjutnya dianalisis menggunakan analisis ragam dan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) untuk melihat perlakuan terbaik. Perlakuan terbaik yang diperoleh selanjutnya dilanjutkan ke tahapan berikutnya.

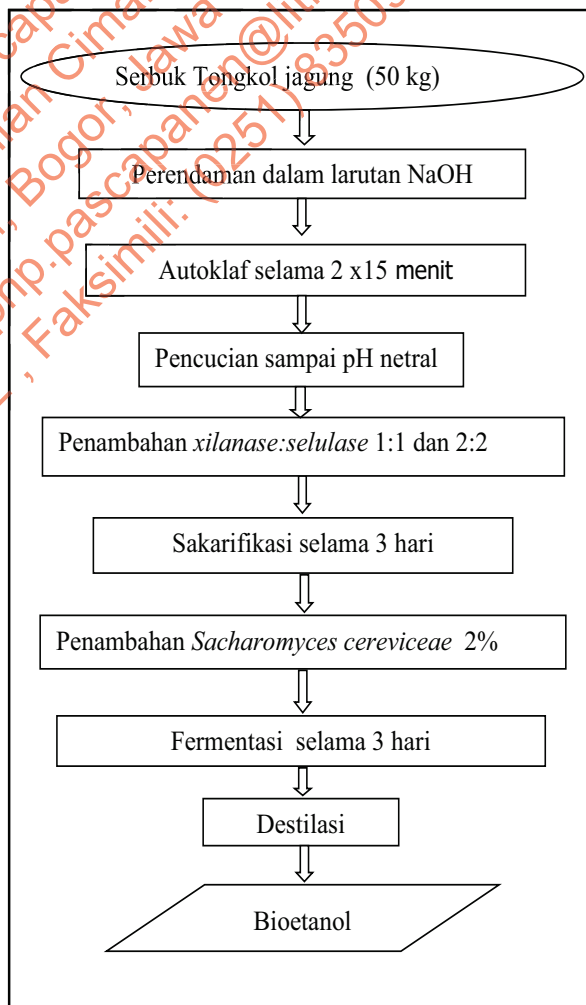
III. Optimasi pengaruh penambahan enzim selulase dan xilanase terhadap produksi bioetanol skala 500 g bahan baku

Perlakuan penambahan konsentrasi NaOH terbaik yang diperoleh pada tahapan II, dilanjutkan ke proses sakarifikasi dan fermentasi. Pada tahapan ini terdapat dua perlakuan penambahan perbandingan konsentrasi enzim selulase: xilanase yang berbeda yaitu 1:1 % (1 gr/100 ml) dan 2:2 % (2 g/100 ml). Setiap perlakuan diulang sebanyak 6 kali ulangan. Pada tahapan ini dilakukan pengamatan terhadap parameter kadar alkohol. Pengukuran terhadap kadar alkohol menggunakan alat *Gas Chromatography* (GC). Data kadar alkohol yang diperoleh dilakukan analisis t-student untuk menentukan perlakuan penambahan konsentrasi enzim terbaik.

IV. Optimasi proses produksi bioetanol skala 50 kg bahan baku.

Pada tahapan ini dilakukan proses optimasi produksi bioetanol dengan menggunakan bahan baku sebanyak 50 kg per ulangan. Pada tahapan ini hanya dilakukan pada perlakuan penambahan konsentrasi enzim terbaik pada tahapan III, dimana pada tahapan ini hanya dilakukan dua kali ulangan. Tahapan ini hanya dilakukan untuk melihat stabilitas dari perlakuan-perlakuan terbaik yang diperoleh dari tahapan-tahapan sebelumnya dalam memproduksi

bioetanol. Proses produksi bioetanol pada tahapan ini sebagai berikut: serbuk tongkol jagung dengan ukuran > 60 mesh dan kadar air < 12% direndam dalam larutan NaOH 10% dan dipanaskan menggunakan autoklaf dengan suhu 120-130 °C selama 20 menit. Selanjutnya bahan hasil delignifikasi dilakukan proses hidrolisis dan sakarifikasi menggunakan enzim xilanase:selulase dengan perbandingan 1% : 1%. Proses tersebut dilakukan selama 48 jam (2 hari). Proses selanjutnya yaitu proses fermentasi selama 3 hari dengan cara ditambahkan *Saccharomyces cereviciae* sebanyak 1%. Proses yang terakhir dilakukan proses destilasi. Adapun diagram alir percobaan ini disajikan pada Gambar 1. Pada tahapan ini dilakukan pengamatan kadar lignin, selulosa, hemiselulosa, xylosa, glukosa, kadar alkohol, volume alkohol dan rendemen alkohol yang dihasilkan.



Gambar 1. Diagram alir proses produksi bioetanol dari serbuk tongkol jagung

Figure 1. The flow diagram of process bioethanol production from corn cob powder

HASIL DAN PEMBAHASAN

I. Karakteristik bahan baku

Bahan-bahan lignoselulosa umumnya terdiri dari selulosa, hemiselulosa dan lignin. Selulosa secara alami diikat oleh hemiselulosa dan dilindungi oleh lignin. Adanya senyawa pengikat lignin inilah yang menyebabkan bahan-bahan lignoselulosa sulit untuk dihidrolisa¹⁸. Tongkol jagung memiliki kandungan serat (35,90%) dan lignin (18,66%) yang tinggi (Tabel 1). Hasil tersebut hampir senada dengan hasil yang diperoleh oleh Eylon²² yang menyatakan bahwa karakteristik tongkol jagung sebagai berikut: kandungan selulosa (34%), hemiselulosa (33%) dan lignin (17%). Kandungan serat yang tinggi diharapkan akan meningkatkan rendemen selulosa dan xilan yang dihasilkan. Berdasarkan kandungan lignin yang cukup tinggi (Tabel 1) maka perlu dilakukan *pretreatment* baik pengecilan bahan baku maupun penggunaan bahan kimia. Proses *pretreatment* dan hidrolisa merupakan tahapan proses yang sangat penting yang dapat mempengaruhi perolehan hasil etanol.

Tabel 1. Karakteristik serbuk tongkol jagung
Table 1. Characteristic of corn cob powder

No	Parameter/parameters	Kadar/content (%)
1.	Air/moisture	10,07 ± 1,35
2.	Lemak/fat	3,07 ± 0,65
3.	Protein/protein	1,89 ± 0,24
4.	Abu/ash	1,60 ± 0,16
5.	Kadar serat/fiber content:	35,90 ± 2,79
a.	Selulosa/cellulose	37,45 ± 2,45
b.	Hemiselulosa/hemicellulose	16,51 ± 3,98
c.	Lignin/lignin	18,66 ± 2,87

II. Optimasi pengaruh perlakuan dosis NaOH pada proses delignifikasi terhadap perubahan karakteristik bahan serbuk tongkol jagung

Pada penelitian ini, proses *pretreatment* dilakukan dengan menggunakan penambahan larutan NaOH. Proses *pretreatment* dilakukan karena beberapa faktor seperti kandungan lignin, ukuran partikel serta kemampuan hidrolisis dari selulosa dan hemiselulosa. Hendriks²³ menyatakan bahwa metode alkali (NaOH) *treatment* lebih efektif merusak ikatan ester antara lignin, hemiselulosa dan selulosa dan mencegah fragmentasi polimer hemiselulosa. Proses *pretreatment* yang sekaligus proses hidrolisa meliputi : perlakuan secara fisik, fisik-kimiawi, kimiawi dan enzimatik^{24,25}. Tujuan dari *pretreatment*

adalah untuk membuka struktur lignoselulosa agar selulosa menjadi lebih mudah diakses oleh enzim yang memecah polimer sakarida menjadi monomer gula. Selain itu, *pretreatment* bertujuan untuk mengurangi kristalinitas dari selulosa, meningkatkan porositas biomassa dan mencapai fraksinasi yang diinginkan²⁶. Dengan semakin banyaknya lignin yang terdegradasi maka proses hidrolisis akan semakin sempurna sehingga proses fermentasi untuk mengkonversi menjadi etanol akan optimal²⁷.

Perlakuan perendaman dengan larutan NaOH 10% dapat menurunkan kadar lignin menjadi 8,82% dan menaikkan kadar selulosa tertinggi yaitu 55,84% dibandingkan perlakuan konsentrasi NaOH yang lainnya (Tabel 2). Hal tersebut senada dengan hasil yang diperoleh oleh Fitriani²⁰ yaitu perendaman serbuk tongkol jagung dengan NaOH 10% selama 28 jam dapat menghasilkan selulosa sebanyak 57,29%. Peningkatan kadar selulosa ini diduga oleh terjadinya penurunan tingkat kelarutan karbohidrat pada bahan serbuk tongkol jagung. Penambahan NaOH pada *Chlorella vulgaris* sebanyak 5% pada suhu 50 °C dapat menurunkan tingkat kelarutan karbohidrat sebesar 9,8% dibandingkan tanpa adanya penambahan NaOH, sehingga dapat meningkatkan kadar selulosa²⁸. Siregar¹³ menyatakan bahwa proses perusakan struktur pada ikatan lignin dan hemiselulosa mampu mengakibatkan peningkatan jumlah selulosa bebas yang ada pada suatu biomassa. Zhao²⁹ menyatakan bahwa *pretreatment* dengan penambahan NaOH menghasilkan rasio konversi selulosa yang lebih tinggi. Fachry²⁸ juga menambahkan bahwa penggunaan NaOH sebagai alkali *pretreatment* dapat meningkatkan kandungan selulosa dan efektif untuk menghilangkan lignin.

Menurut Fachry¹⁹ secara skematis pada prinsipnya kerja alkali adalah sebagai berikut: 1). Memutuskan sebagian ikatan antara selulosa dan hemiselulosa dengan lignin, 2). Esterifikasi gugus asetil dengan membentuk asam uronat, 3). Merombak struktur dinding sel, melalui pengembangan jaringan serat, dan memudahkan penetrasi molekul enzim mikroorganisme. Alkali mempunyai kemampuan untuk mengurangi ikatan hidrogen di dalam molekul selulosa kristal sehingga selulosa membengkak dan bagian selulosa kristal akan berkurang. Alkali mampu menghasilkan perubahan terhadap struktur dinding sel yang mencakup hilangnya grup asetil dan fenolik, larutnya silika dan hemiselulosa serta kemungkinan hidrolisis ikatan hemiselulosa – lignin. Pembengkakan selulosa dapat dibedakan menjadi dua macam yakni pembengkakan di dalam kristal (*intercrystalline swelling*) dan pembengkakan antar kristal (*intracrystalline swelling*). Air tidak dapat menembus struktur selulosa, akan tetapi berpengaruh

terhadap pembengkakan antar kristal di dalam selulosa. Membengkaknya selulosa menyebabkan renggangnya ikatan lignoselulosa dan lignohemiselulosa dan pecah sehingga dinding sel menjadi lemah

Tabel 2. Kadar lignin, selulosa dan hemiselulosa dari serbuk tongkol jagung setelah proses *pretreatment* pada beberapa perlakuan dosis NaOH

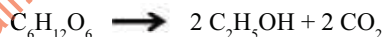
Table 2. Lignin, cellulose and hemicellulose from corn cob powder after pretreatment process at several doses of NaOH

Parameter/ <i>parameter</i>	Konsentrasi NaOH/NaOH Concentration (%)				
	0	4	6	8	10
Lignin/lignin (%)	18,54 ^a	17,02 ^{ab}	14,23 ^b	11,09 ^c	8,86 ^d
Selulosa/ <i>cellulose</i> (%)	34,37 ^c	38,97 ^d	42,63 ^c	48,67 ^b	55,84 ^a
Hemiselulosa/ <i>hemicellulose</i> (%)	16,43 ^a	16,01 ^a	15,56 ^{ab}	14,23 ^b	13,34 ^c

Keterangan/*remarks*: angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada pada baris yang sama, tidak berbeda nyata berdasarkan uji lanjut DMRT pada taraf 0,05 / *Means in the same line sharing the same letters did not differ significantly according to Duncan at 0.05 level*

III. Optimasi pengaruh penambahan enzim selulase dan xilanase terhadap produksi bioetanol skala 500 g bahan baku

Hasil perlakuan terbaik pada tahapan II selanjutnya dilanjutkan dengan perlakuan penambahan enzim untuk mendapatkan produksi bioetanol terbaik melalui proses hidrolisis, sakarifikasi hingga fermentasi. Hidrolisis dapat dilakukan dengan penambahan enzim selulase dan xilanase. Kartika³⁰ menyatakan bahwa penambahan pencampuran enzim selulase dan xilanase sebanyak 1% (1 gr/100 ml buffer sitrat 0,1 M) dapat menghasilkan gula tertinggi dibandingkan perlakuan penambahan enzim selulase atau xilanase saja. Secara teoritis, hidrolisis glukosa akan menghasilkan etanol dan karbondioksida. Perbandingan mol antara glukosa dan etanol dapat dilihat pada reaksi berikut ini:



Satu mol glukosa menghasilkan 2 mol ethanol dan 2 mol karbondioksida, atau dengan perbandingan bobot tiap 180 g glukosa akan menghasilkan 90 g etanol. Perlakuan konsentrasi NaOH 10% dan konsentrasi enzim selulase:xilanase 1% : 1% dapat menghasilkan kadar alkohol yang cenderung lebih tinggi (5,038%) dibandingkan perlakuan yang konsentrasi enzim selulase:xilanase 2% : 2% (Tabel 3). Hal ini senada dengan

hasil yang diperoleh Retnoningtyas³¹ yaitu penggunaan *crude* enzim selulase 10 ml/liter (1%) menghasilkan kadar alkohol tertinggi dari tongkol jagung. Pada penambahan konsentrasi enzim selulase:xilanase 2% : 2% tidak menambah kemampuan hidrolisis selulosa, hal ini diduga karena semakin tinggi konsentrasi enzim yang diberikan maka sisi aktif enzim yang berkontak dengan substrat (selulosa dan xilan) juga semakin banyak, sehingga semakin banyak pula selulosa yang dihidrolisis menjadi glukosa, akan tetapi kandungan glukosa yang terlalu banyak menyebabkan inhibisi produk glukosa karena glukosa tersebut akan menempel pada sisi aktif enzim sehingga luas permukaan enzim yang kontak dengan substrat menjadi lebih sedikit³².

Tabel 3. Kadar etanol setelah fermentasi dari serbuk tongkol jagung pada dua perbandingan konsentrasi enzim dan penambahan *Saccharomyces cerevisiae* 1%

Table 3. Etanol content after fermentation from corn cob powder at two enzyme concentration treatment and addition *Saccharomyces cerevisiae* 1%

Konsentrasi enzim selulase:xilanase/ <i>Concentration enzyme of cellulase:xilanase</i>	Kadar alkohol / <i>Alcohol content</i> (%)
1% : 1%	5,038
2% : 2%	3,098
T-hitung / <i>T-value</i>	4,657 *
T-tabel / <i>T-table</i>	2,228

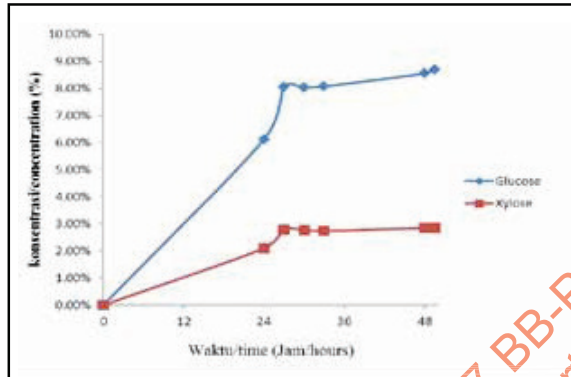
Keterangan/*remarks*: * = berbeda nyata berdasarkan uji t-student/significant according to t-Student test

IV. Optimasi proses produksi bioetanol skala 50 kg bahan baku.

Tahapan ini merupakan percobaan mengulang tahapan sebelumnya (tahapan I-III) dari masing-masing perlakuan terbaik, namun dengan skala bahan baku yang lebih banyak yaitu menggunakan bahan baku serbuk tongkol jagung sebanyak 50 kg. Kadar air bahan baku untuk proses pembuatan bioetanol akan menghasilkan rendemen yang lebih tinggi jika kadar air bahan baku berkisar dibawah 10%. Pada penelitian ini, kadar air serbuk tongkol jagung sebesar 7% (Tabel 4). Pada proses *pretreatment* ditambahkan NaOH 10% selama 20 menit setelah suhu mencapai 130-150 °C. Berat kering bahan baku setelah proses *pretreatment* menjadi 30-50% dari total bahan baku yang digunakan. Kadar lignin, selulosa, hemiselulosa dan kadar abu bahan baku sebelum dan setelah *pretreatment* disajikan pada Tabel 4. Pada tahapan ini, kadar lignin setelah proses *pretreatment* mengalami penurunan dari 19,03% menjadi 8,63% (Tabel 4).

Tabel 4. Rata-rata kadar lignin, selulosa, hemiselulosa dan abu serbuk tongkol jagung sebelum dan setelah pretreatment
 Table 4. Moisture, lignin, cellulose, hemicellulose and ash from corn cob powder before and after pretreatment process

Kondisi/condition	Kadar air/ Moisture content (%)	Lignin/ lignin (%)	Selulosa/ cellulose (%)	Hemiselulosa/ hemicellulose (%)	Kadar Abu/ash content (%)
Sebelum pretreatment / before pretreatment	7,00	19,03	31,82	17,78	0,32
Setelah pretreatment/ After pretreatment	7,38	8,63	60,37	13,69	0,06



Gambar 3. Grafik hubungan glukosa dan xilosa dengan waktu sakarifikasi untuk produksi bioetanol dari tongkol jagung

Figure 3. Graph of glucose and xylose relationship with time saccharification for bioethanol production from corn cobs

Proses selanjutnya yaitu sakarifikasi dimana selulosa menghasilkan glukosa, sedangkan xilan atau hemiselulosa menjadi xilosa. Hidrolisis sempurna akan menghasilkan monomer selulosa yaitu glukosa, hidrolisis tidak sempurna akan menghasilkan disakarida dari selulosa yaitu selobiosa, jika dihidrolisis lebih lanjut menjadi glukosa¹¹. Rusaknya struktur kristal selulosa akan mempermudah terurainya selulosa menjadi glukosa. Selain itu, hemiselulosa turut terurai menjadi senyawa gula sederhana: glukosa, galaktosa, manosa, heksosa, pentosa, xilosa dan arabinosa. Selanjutnya senyawa-senyawa gula sederhana tersebut yang akan difermentasi oleh mikroorganisme menghasilkan etanol²⁶. Kadar glukosa dan xilosa semakin meningkat pada selang waktu 1-2 hari selama proses sakarifikasi (Gambar 3). Kadar glukosa hasil proses sakarifikasi 3-5 hari dari tongkol jagung maksimum berkisar antara 8,55-10,23%³³.

Dalam tahapan ini kadar glukosa pada saat sakarifikasi berkisar 8% dan menjadi etanol sebanyak 4% pada saat proses fermentasi selama 72 jam (3 hari) (Gambar 4). Konsumsi glukosa oleh *Saccharomyces cerevisiae* akan meningkat hingga 48 jam (2 hari), namun konsumsi tersebut akan menurun setelah 48 jam,

kondisi tersebut mengindikasikan bahwa *Saccharomyces cerevisiae* telah memasuki fase stasioner, hal ini ditandai dengan peningkatan kadar etanol. Retnoningtyas³¹ menyatakan bahwa pada produksi bioetanol dari tongkol jagung, fase stasioner akan terjadi pada saat waktu fermentasi setelah 48 hingga 120 jam. Mutreja³⁴ juga menyatakan bahwa pada fase stasioner produksi etanol akan mencapai maksimum. Kandungan etanol akan mencapai maksimum terjadi pada saat proses fermentasi selama 76 jam yaitu 4,3% (Gambar 4). Hubungan kadar glukosa dengan kadar etanol berbanding terbalik, dimana semakin tinggi kadar etanol maka semakin menurun kadar glukosanya, grafik hubungan tersebut disajikan pada Gambar 4.

Setelah dilakukan proses fermentasi selama 3 hari maka dilanjutkan proses destilasi. Destilasi dilakukan untuk memisahkan etanol. Destilasi merupakan pemisahan komponen berdasarkan titik didihnya. Titik didih etanol murni adalah 78 °C sedangkan air adalah 100 °C (kondisi standar). Dengan memanaskan larutan pada suhu rentang 78 – 100 °C akan mengakibatkan sebagian besar etanol menguap, dan melalui unit kondensasi akan bisa dihasilkan etanol dengan konsentrasi 95 % volume. Pada penelitian ini dihasilkan kadar alkohol sekitar 82-85% dengan rendemen 14,65 % (Tabel 5). Dari proses pretreatment hingga proses destilasi dibutuhkan waktu selama 6 hari.

Tabel 5. Rendemen dan kadar alkohol dari hasil proses destilasi untuk produksi bioetanol dari tongkol jagung

Table 5. Yield and alcohol content from destilation process for bioethanol production from corn cob

Ulangan/ replication	Bahan baku/ Raw material (kg)	Volume alkohol/ alcohol volume (liter)	Rendemen/ Yield (%) liter/kg)	Kadar alkohol/ alcohol content (%)
1	50	7,25	14,50	84,5
2	50	7,40	14,80	82,1
Rata-rata/ average	50	7,325	14,65	83,3

KESIMPULAN

Perlakuan perendaman dengan larutan NaOH 10% pada proses *pretreatment* dapat menurunkan kadar lignin menjadi 8,82% dan menaikkan kadar selulosa tertinggi yaitu 55,84% dibandingkan perlakuan konsentrasi NaOH yang lainnya. Perlakuan dosis NaOH 10% dan dosis enzim selulase:xilanase 1% : 1% pada proses fermentasi dapat menghasilkan kadar alkohol yang cenderung lebih tinggi yaitu 5,038% dibandingkan perlakuan yang dosis enzim selulase:xilanase 2% : 2%. Teknologi produksi bioetanol dari limbah (tongkol) jagung melalui proses *pretreatment* (delignifikasi) menggunakan larutan NaOH 10%, proses sakarifikasi dan fermentasi menggunakan enzim xilanase:selulase dengan perbandingan 1% : 1% selama 60 jam (5 hari) dapat dihasilkan bioetanol sebanyak 14,65% dari total serbuk tongkol jagung yang digunakan dengan kadar alkohol 83,3%. Dari proses *pretreatment* hingga proses destilasi tersebut dibutuhkan waktu selama 6 hari.

DAFTAR PUSTAKA

- Sebayang F. Pembuatan etanol dari molase secara fermentasi menggunakan sel *Saccharomyces cerevisiae* yang terimobilisasi pada kalsium alginat. *Jurnal Teknologi Proses*. 2006; 5(2): 68-74.
- Rasyid R. Pengaruh penambahan kapur dan arang aktif pada konversi arak dari aren menjadi bioetanol. *Iltek*. 2012; 7(13): 970-973
- Hapsari MA, Pramashinta A. Pembuatan bioetanol dari singkong karet untuk bahan bakar kompor rumah tangga sebagai upaya mempercepat konversi minyak tanah ke bahan bakar nabati. *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri*. 2013; 2(2): 240-245.
- Arnata IW, Anggreni AAMD. Rekayasa bioproses produksi bioetanol dari ubi kayu dengan teknik ko-kultur ragi tape dan *Saccharomyces cerevisiae*. *Agrointek*. 2013; 7(1): 21-28.
- Idral DE, Salim M, Mardiah E. Pembuatan bioetanol dari ampas sagu dengan proses hidrolisis asam dan menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*. *Jurnal Kimia Unand*. 2012; 1(1): 34-39.
- Putri LSE, Sukandar D. Konversi pati ganyong menjadi bioetanol melalui hidrolisis asam dan fermentasi. *Biodiversitas*. 2008; 9(2): 112-116.
- Anindyawati T. Prospek enzim dan limbah lignoselulosa untuk produksi bioetanol. *BS*. 2009; 44(1): 49-56
- Knauf M, Moniruzzaman M. Lignocellulosic biomass processing: Aperspective. *Intl. Sugar J*. 2004; 106(1263): 147-150.
- Ragauskas AJ, Williams CK, Davison BH, Britovsek G, Cairney J, Eckert CA, Frederick WJ Jr, Hallett JP, Leak DJ, Liotta CL, Mielenz JR, Murphy R, Templer R, Tschaplinski T. The path forward for biofuels and biomaterials. *Science*. 2006; 311:484-489.
- Schubert C. Can biofuels finally take center stage. *Nature Biotechnology*. 2006; 24(7):777-784.
- Chen, Hongzhang, Qiu W. Key Technologies for bioethanol production from lignocellulose. *Biotechnology Advances*. 2010; 28: 556 - 562.
- Richana N, Lestina P dan Irawadi TT. Karakterisasi lignoselulosa dari limbah tanaman pangan dan pemanfaatannya untuk pertumbuhan bakteri RXA III-5 penghasil xilanase. *Jurnal Penelitian Pertanian Tanaman Pangan*. 2004; 23: 171-176.
- Siregar MR, Hendrawan Y, Nugroho WA. Pengaruh konsentrasi NaOH dan lama waktu pemanasan microwave dalam proses *pretreatment* terhadap kadar lignoselulosa *Chlorella vulgaris*. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 2014; 15(2): 129-138.
- Li, Xuan, Tae HK, Nghiem NP. Bioethanol production from corn stover using aqueous ammonia *pretreatment* and two-phase simultaneous saccharification and fermentation (TPSSF). *Bioresource Technology*. 2010; 101: 5910-5916.
- Alvira PE, Tomas-Pejo, Ballesteros M, Negro MJ. *Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis*. *Bioresource Technology*. 2010; 101: 4851-4861.
- Oswaldo ZS, Putra SP, Faizal M. Pengaruh konsentrasi asam dan waktu pada proses hidrolisis dan fermentasi pembuatan bioetanol dari alang-alang. *Jurnal Teknik Kimia*. 2012; 2(18): 52-62.
- Gnansounou E. Review: Production and use of lignocellulosic bioethanol in Europe: Current situation and perspectives. *Bioresource Technology*. 2010; 101: 4842-4850.
- Iranmahboob, Nadim JF, Monemi S. Optimizing acid hydrolysis: a critical step for production of ethanol from mixed wood chips. *Biomass and Bioenergy*. 2002; 22: 401-404.
- Fachry AR, Astuti P, Puspitasari TG. Pembuatan bioetanol dari limbah tongkol jagung dengan variasi konsentrasi asam klorida dan waktu fermentasi. *Jurnal Teknik Kimia*. 2013; 1(19): 60-69.
- Fitriani, Bahri S, Nurhaeni. Produksi bioetanol dari tongkol jagung dari proses delignifikasi. *Online Journal of Natural Science*. 2013; 2(3): 66-74.

21. AOAC [Association of Official Analytical Chemist]. Official Methods of Analytical of The Association of Official Analytical Chemist. Washington, DC: AOAC. 2006.
22. Eylen DV, Dongen FV, Kabel M, Bont JD. Corn fiber, cobs and stover: enzyme aided saccharification and co-fermentation after dilute acid pretreatment. 2011; 102: 5995-6004.
23. Hendriks ATWM, Zeeman G. Pretreatments to enhance the digesbily of lignocellulose biomass. Biosource Technology. 2009; 100: 10-18.
24. Mosier N, Wyman C, Dale B, Elander R, Lee Y, Holtzapple M, Ladish M. Features of promising technologies for pre-treatment of lignocellulosic biomass. Bio-resource. Technol. 2005. 96: 673-686.
25. Sun Y, Cheng J. Hidrolysis of lignocellulosic material for ethanol production: a review. Biosource Technology. 2002; 83: 1-11.
26. Kristina, Sari ER, Novia. Alkaline pretreatment dan proses simultan sakarifikasi-fermentasi untuk produksi etanol dari tandan kosong kelapa sawit. Jurnal Teknik Kimia. 2012; 3(18): 34-43.
27. Samsuri M, Gozan M, Mardias R, Baiquni M, Hermansyah H, Wijarnako A, Prasetya B, Nasikin M. Pemanfaatan selulosa bagas untuk produksi bioetanol melalui sakarifikasi dan fermentasi serentak dengan enzyme xylanase. Makara Teknologi. 2007; 11(1): 17-24.
28. Mahdy A, Lara M, Mercedes B, Cristina GF. Autohydrolysis and alkaline pretreatment effect on *Chlorella vulgaris* and *Schedesmus sp.* methane production. Energy. 2014; 30 : 1-5.
29. Zhao X, Zhang L, Liu D. Comparative study on chemical pretreatment methods for improving enzymatic digestibility of crofton weed stem. Bioresource Technology. 2007; 99: 3729-3736.
30. Kartika AA, Mariana HS, Widjaya A, Mulyanto. Penggunaan pretreatment basa pada proses degradasi enzimatik ampas tebu untuk produksi etanol. Jurnal Teknik Pomits. 2013; 2(1): 1-5.
31. Retnoningtyas ES, Antaresty, Aylilianawati. Aplikasi crude enzim selulase dari tongkol jagung pada produksi etanol dengan metode simultaneous saccharification and fermentation (SSF). Reaktor. 2013; 14(4): 272-276.
32. Roukas T. Continuous bioethanol production from nonsterilized carob pod extract by immobilized *Saccharomyces cerevisiae* on mineral kissiris using a two reactor system. Applied Biochemistry and Biotechnology. 1996; 59 (3): 299-307.
33. Khaira ZF, Yenie E, Muria SR. Pembuatan bioetanol dari limbah tongkol jagung menggunakan proses simultaneous saccharification and fermentation (SSF) dengan variasi konsentrasi enzim dan waktu fermentasi. Jomfiteknik. 2015; 2(2): 1-8.
34. Mutreja R, Das D, Goyal D, Goyal A. Bioconversion of agricultural waste to ethanol by SSF using recombinant cellulose from *clostridium thermocellum*. Enzyme Research. 2011; 20(11): 1-6