

**Pengaruh Ukuran Baume, Jenis dan Jumlah enzim
Glukoamilase terhadap Perolehan Bioetanol dari
Sagu**

Oleh :

Tony Handoko, ST

Ir. Arry Miryanti, MSi



**JURUSAN TEKNIK KIMIA
FAKULTAS TEKNOLOGI INDUSTRI
UNIVERSITAS KATOLIK PARAHYANGAN
BANDUNG
2009**

PENGARUH UKURAN BAUME, JENIS DAN JUMLAH ENZIM GLUKOAMILASE TERHADAP PEROLEHAN BIOETANOL DARI SAGU

Tony Handoko, Arry Miryanti

**Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri
Universitas Katolik Parahyangan, Bandung**

INTISARI

Sagu merupakan salah satu sumber pangan berkarbohidrat tinggi yang diperoleh dari teras batang pohon sagu atau rumbia. Di Indonesia, sagu mempunyai peranan sosial, ekonomi, dan budaya yang cukup penting karena tepungnya yang berkarbohidrat tinggi digunakan sebagai sumber makanan pokok di daerah tertentu, seperti di daerah pesisir Papua dan Maluku. Sebagai sumber karbohidrat, sagu memiliki keunikan karena mudah tumbuh di daerah rawa-rawa. Seiring perkembangan teknologi, tepung sagu yang berkarbohidrat (pati) tinggi mulai dikembangkan sebagai bahan membuat bioetanol, mengingat jumlah produksinya yang berlimpah di Indonesia.

Bioetanol mulai dikembangkan sebagai bahan bakar alternatif karena sifatnya yang ramah lingkungan, mudah diproduksi dan dapat dibuat dari bahan-bahan alami seperti jagung, tebu dan sagu. Oleh karena itulah, bioetanol merupakan bahan bakar alternatif yang menjanjikan di masa yang akan datang. Pembuatan bioetanol tersebut melalui hidrolisis, fermentasi dan pemurnian. Tahap hidrolisis terdiri dari likuifikasi menggunakan enzim alfa-amilase dan tahap sakarifikasi menggunakan enzim glukoamilase.

Penelitian dilakukan dengan memvariasikan kekentalan larutan pati awal menjadi 10, 12 dan 15 baume dan jumlah enzim glukoamilase sebanyak 0,4 mg/bk dan 0,6 mg/bk. Hasil terbaik yang diperoleh akan dibandingkan dengan penggunaan enzim imobilisasi pada tahap sakarifikasi. Tahap fermentasi dilakukan dengan menggunakan fermipan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kekentalan larutan dengan 10 baume menghasilkan konsentrasi yang cukup baik untuk diolah oleh fermipan menjadi bioetanol. Jumlah enzim glukoamilase sebanyak 0,6 mg/bk memberikan hasil bioetanol yang tinggi. Enzim imobilisasi dapat menghasilkan konsentrasi glukosa yang sama tingginya dengan enzim glukoamilase murni, namun masih sedikit dapat diolah oleh fermipan untuk menghasilkan bioetanol.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis haturkan kepada Tuhan Yang Maha Kuasa atas hikmat dan bimbingan-Nya dalam penyusunan laporan penelitian berjudul ” Pengaruh Ukuran Baume, Jenis dan Jumlah Enzim Glukoamilase terhadap Perolehan Bioetanol dari Sagu”. Dalam kesempatan ini penulis juga ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada pihak-pihak yang telah membantu selama penyusunan laporan ini, yaitu :

1. PT. Halim Sakti, atas bantuan bahan baku penelitian.
2. Bayu Dirgantara, Isabella Sandy dan Trisye Octavia, atas bantuan dalam pengoperasian alat dan pelaksanaan penelitian.
3. Jurusan Teknik Kimia, atas waktu dan semangat yang diberikan kepada penulis.
4. LP UNPAR, atas bantuan dana selama penelitian.

Penulis menyadari bahwa laporan ini masih jauh dari sempurna, karena itu penulis akan menerima saran dan kritik yang membangun dari pembaca. Akhirnya penulis berharap bahwa laporan ini dapat bermanfaat pembaca dan dapat dikembangkan ke arah yang lebih sempurna.

Bandung, Juni 2009

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman Judul	i
Kata Pengantar	ii
Daftar Isi	iii
Daftar Gambar	iv
Daftar Tabel	v
Intisari	vi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tema Sentral Masalah	2
1.3 Ruang Lingkup Masalah	2
1.4 Tujuan Penelitian	2
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tanaman Sagu	4
2.2 Bioetanol dan Teknologi Pembuatannya	5
2.3 Enzim dan Ragi	10
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	13
3.1 Bahan	13
3.2 Tahap-tahap Penelitian	13
3.3 Jadwal Kerja Penelitian	14
BAB IV HASIL PENELITIAN	15
4.1 Hasil Enzim Glukoamilase Murni	15
4.2 Hasil Enzim Glukoamilase Terimobilisasi	15
BAB V PEMBAHASAN	16
5.1 Tahap Likuifikasi	16
5.2 Tahap Sakarifikasi dan Fermentasi	16
5.3 Perbandingan Kinerja Enzim Murni dan Terimobilisasi	18
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	20
DAFTAR PUSTAKA	22

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 <i>Metroxylon sp</i>	4
Gambar 2.2 Tepung sagu	4

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Komposisi Bahan Aci Sagu setiap 100 gram	5
Tabel 2.2 Rasio Biomassa:Bioetanol	6
Tabel 3.1 Jadwal Kerja Penelitian	14

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sagu merupakan salah satu tanaman golongan palmae yang mengandung karbohidrat tinggi. Tanaman ini banyak dijumpai di daerah Maluku dan Papua, mudah tumbuh di daerah rawa-rawa dan tidak membutuhkan irigasi yang teratur. Indonesia merupakan penghasil sagu terbesar di dunia (sekitar 60% kebutuhan sagu dunia). Indonesia memiliki 1,4 juta hektar lahan sagu yang dapat menghasilkan enam juta ton sagu (1,2 juta hektar berada di pulau Irian). Namun selama ini tanaman tersebut tidak diolah dengan maksimal yang dibuktikan dengan adanya 6 juta ton pati sagu yg terbuang tiap tahun. Padahal sagu merupakan salah satu sumber pati yg dapat diolah menjadi bioetanol. Diperkirakan produksi alkohol dari sagu dapat menjadi 600 L/ton pati kering. Apabila 6 juta ton pati sagu tersebut diolah dengan baik maka dapat diperkirakan Indonesia dapat menjadi salah satu produsen etanol yang besar. Oleh karena itu, Indonesia memiliki potensi yang sangat besar sebagai produsen bioetanol dari sagu, apalagi sagu belum dilirik oleh dunia sebagai sumber penghasil bioetanol di masa yang akan datang.

Pati merupakan butiran atau granula yang berwarna putih mengkilat, tidak berbau, dan tidak mempunyai rasa. Pati sagu berbentuk elips (*prolate ellipsoidal*) dengan ukuran 5-80 mm. Pada dasarnya pati merupakan polimer glukosa dengan ikatan 1,4-*alpha* glukosa. Pati terdiri dari dua fraksi yang dapat dipisahkan dengan air panas. Fraksi yang larut dalam air disebut *amilosa* dan fraksi yang tidak larut disebut *amilopektin*. Pati sagu mengandung sekitar 27 % *amilosa* dan 73% *amilopektin*. Rasio *amilosa* dan *amilopektin* akan mempengaruhi sifat-sifat pati itu sendiri.

Pengolahan pati sagu menjadi bioetanol bukan merupakan suatu proses yang sulit sehingga sangat mungkin dilakukan. Yang harus diperhatikan dalam proses pembuatan bioetanol dari pati sagu adalah tahap sakarifikasi dan fermentasi karena kedua tahap tersebut akan memberikan pengaruh yang besar terhadap jumlah bioetanol yang dihasilkan. Pada tahap sakarifikasi yang harus diperhatikan adalah jumlah enzim dan lama waktu sakarifikasi hingga diperoleh glukosa tertinggi. Sedangkan pada tahap fermentasi perlu diperhatikan jumlah ragi, jenis ragi dan lama waktu fermentasi hingga

akan memberikan etanol yang banyak. Selain itu, penggunaan enzim glukoamilase murni akan mempertinggi biaya operasi pembuatan karena enzim tersebut hanya sekali pakai sehingga perlu dicoba menggunakan enzim murni yang terimobilisasi yang dapat menurunkan biaya operasi.

Penggunaan bioetanol sebagai campuran bensin dapat memperpanjang usia cadangan minyak bumi yang merupakan sumber daya alam *non-renewable*. Sebagai contoh nyata, bahwa kebutuhan BBM di Indonesia saat ini mencapai 215 juta liter/hari, sedangkan produksi dalam negeri hanya 178 juta liter/hari, sehingga Indonesia harus mengimpor sekitar 37 juta liter/hari. Keunggulan penggunaan bioetanol yang sangat penting adalah dapat mengurangi tingkat polusi udara yang sangat tinggi seiring pesatnya perkembangan dunia industri dan transportasi, sehingga dapat mereduksi efek gas rumah kaca yang menyebabkan pemanasan secara global (*Global Warming*).

1.2 Tema Sentral Masalah

Tema sentral masalah adalah ukuran kekentalan bahan baku, dalam hal ini derajat Baume, memberikan hasil yang berbeda terhadap perolehan bioetanol sehingga perlu ditentukan titik optimumnya. Enzim glukoamilase yang digunakan dapat diperoleh dengan immobilisasi dari pisang sereh sehingga perlu untuk dilihat rentang operasi dari enzim secara optimum terhadap ukuran kekentalan bahan baku, demikian pula halnya dengan enzim glukoamilase yang diperoleh secara murni.

1.3 Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup penelitian adalah : penggunaan tepung sagu sebagai bahan baku dengan enzim glukoamilase yang diperoleh dari PT. Halim Sakti dan enzim hasil immobilisasi dari pisang sereh. Hasil yang diperoleh adalah produk bioetanol yang diperoleh dari fermentasi menggunakan fermipan.

1.4 Tujuan Penelitian

Penelitian bertujuan untuk :

1. Menentukan ukuran kekentalan yang optimum untuk pembuatan bioetanol dari sagu,

2. Menentukan dan melihat pengaruh jumlah enzim alfa-amilase terhadap proses likuifikasi,
3. Menentukan dan melihat pengaruh jumlah enzim glukoamilase terhadap proses sakarifikasi dan hasil bioetanol,
4. Membandingkan hasil kinerja enzim glukoamilase murni dengan enzim immobilisasi,
5. Menentukan perolehan bioetanol dari enzim glukoamilase murni dan enzim immobilisasi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Sagu

Sagu merupakan salah satu sumber pangan berkarbohidrat tinggi yang diperoleh dari teras batang pohon sagu atau rumbia. Sagu memiliki nama latin *Metroxylon, sp* yang termasuk dalam ordo Spadiciflora, dan familia Palmae yang banyak terdapat tepung karbohidrat. Tepung sagu tulen ini banyak disebut sebagai palma sagu, lapia, sago atau angkrik. Tepung sagu ini dapat diperoleh dengan cara menghancurkan atau menggiling biji sagu. Untuk lebih jelas, bentuk pohon sagu dan tepung sagu dapat dilihat pada gambar 2.1 dan gambar 2.2.



Gambar 2.1 Metroxylon sp (sagu)



Gambar 2.2 Tepung Sagu

Di Indonesia, sagu mempunyai peranan sosial, ekonomi, dan budaya yang cukup penting karena tepungnya yang berkarbohidrat tinggi digunakan sebagai sumber makanan pokok di daerah tertentu, seperti di daerah pesisir Papua dan Maluku. Sebagai sumber karbohidrat, sagu memiliki keunikan karena mudah tumbuh di daerah rawa-rawa. Kondisi ini memiliki keuntungan ekologis tersendiri, walaupun secara ekonomis kurang menguntungkan (menyulitkan distribusi)^[1]. Namun bila ditinjau dari segi budidaya, sagu memiliki sifat yang sangat baik karena memiliki potensi produksi yang tinggi, mudah tumbuh, dan berproduksi pada daerah rawa. Tanaman sagu termasuk dalam kelompok tanaman tahunan dan cocok untuk daerah basah dataran rendah tropis, dimana daerah ini cocok untuk usaha tanaman semusim dimana irigasi masih sulit untuk dibuat.

Selain sebagai makanan pokok, tanaman sagu masih mempunyai banyak manfaat lainnya. Tepung sagu banyak digunakan sebagai bahan baku untuk membuat kue dan mie. Sedangkan di daerah pedalaman batang sagu dapat digunakan sebagai tiang, daunnya dapat digunakan sebagai atap rumah, dan pelepahnya dapat digunakan sebagai dinding rumah. Selain itu, ampas sagu dapat digunakan untuk pulp dalam industri kertas dan juga pakan ternak^[5]. Namun seiring perkembangan teknologi, tepung sagu yang berkarbohidrat (pati) tinggi mulai dikembangkan sebagai bahan membuat bioetanol, mengingat jumlah produksinya yang berlimpah di Indonesia

Komponen yang paling dominan dalam aci sagu adalah pati (karbohidrat). Dalam setiap 100 gram aci sagu mengandung 84.7 g pati, 14.0 g air, 0.7 g protein, 0.2 g lemak, dan sejumlah kecil fosfor, kalsium, serta besi dengan energi 353 kalori. Kandungan aci sagu setiap 100 gram secara lengkap dapat dilihat pada tabel 2.1.^[1]

Tabel 2.1 Komposisi Bahan Aci Sagu setiap 100 gram

Komponen	Aci Sagu
Kalori (Kal)	353
Protein (g)	0.7
Lemak (g)	0.2
Karbohidrat (g)	84.7
Air (g)	14
Fosfor (mg)	13
Kalsium (mg)	11
Besi (mg)	1.5

2.2 Bioetanol dan Teknologi Pembuatannya

Bioetanol adalah bahan yang berasal dari etanol (*ethyl alcohol*) yang bersumber dari sumber daya alam hayati yang dapat digunakan untuk berbagai macam kebutuhan termasuk bahan bakar alternatif. Selain itu, bioetanol banyak digunakan sebagai campuran untuk bensin. Penggunaan bioetanol sebagai bahan bakar alternatif

telah banyak digunakan di berbagai negara, terutama di kawasan Amerika latin. Bioetanol mulai dikembangkan sebagai bahan bakar alternatif karena sifatnya yang ramah lingkungan, mudah diproduksi dan dapat dibuat dari bahan-bahan alami seperti jagung, tebu dan sagu. Oleh karena itulah, bioetanol merupakan bahan bakar alternatif yang menjanjikan di masa yang akan datang. Untuk mengetahui perbandingan antara biomassa dengan perolehan bioetanol dapat dilihat pada tabel 2.2. Penggunaan bioetanol sebagai bahan bakar alternatif memiliki beberapa keuntungan daripada bahan bakar konvensional, diantaranya:

- Ketersediaan yang berlimpah.
- Mereduksi Polusi Udara
- Memperpanjang Sumber Daya Alam Non-Renewable
- Mudah terbiodegradasi dan tidak beracun
- Produksi dan Penggunaan yang mudah
- Biaya Produksi yang lebih murah
- Peningkatan Ekonomi Pedesaan

Tabel 2.2 Rasio Biomassa:Bioetanol

Biomassa (kg)	Kandungan gula (Kg)	Jumlah hasil bioethanol (Liter)	Biomasa :Bioethanol
Ubi kayu 1.000	250-300	166,6	6,5 : 1
Ubi jalar 1.000	150-200	125	8:01
Jagung 1.000	600-700	400	2,5 : 1
Sagu 1.000	120-160	90	12:01
Tetes 1.000	500	250	4:01

• Sumber data : Balai Besar Teknologi Pati-BPPT,2006

Etanol dapat diproduksi dari biomassa oleh proses hidrolisis dan fermentasi gula. Limbah biomassa yang mengandung campuran karbohidrat kompleks dari dinding sel tanaman yang disebut dengan selulosa, hemiselulosa dan lignin. Untuk menghasilkan gula dari biomassa, biomassa perlu di pre-treatment dengan asam atau enzim untuk mengecilkan ukuran umpan dan untuk membuka struktur tanaman. Bagian selulosa dan hemiselulosa dihidrolisis dengan enzim-enzim atau larutan asam-asam ke dalam gula sukrosa yang akan difermentasi menjadi etanol. Lignin yang terdapat juga pada

biomassa digunakan sebagai *boiler* pada tanaman produksi etanol. Pada umumnya terdapat tiga metode dasar ekstraksi gula dari biomassa, yaitu:

1. Proses Hidrolisis Konsentrasi Asam (arkanol)

Proses arkanol berlangsung dengan penambahan 70-77% asam sulfat ke biomassa yang telah dikeringkan sampai kelembaban 10%. Asam yang ditambahkan memiliki rasio mol 1.25 asam untuk 1 biomassa dan pada temperature 50°C. Air kemudian ditambahkan untuk mencairkan asam sampai 20-30% dan campuran dipanaskan kembali sampai 100°C selama 1 jam. Gel yang dihasilkan dari campuran ini kemudian ditekan (*di-pressing*) untuk melepaskan campuran gula asam, dan kolom *chromatografi* digunakan untuk memisahkan asam dan gula.

2. Hidrolisis Asam Cair

Proses hidrolisis asam cair merupakan salah satu metode yang tertua, paling sederhana, dan paling efisien dalam memproduksi etanol dari biomassa. Asam cair digunakan untuk menhidrolisis biomassa menjadi sukrosa. Langkah pertama menggunakan 0.7 % asam sulfur pada 190°C untuk menhidrolisis *hemiselulosa* yang ada pada biomassa. Langkah kedua adalah mengoptimalkan perolehan fraksi selulosa yang lebih resisten. Ini dicapai dengan penggunaan 0.4% asam sulfur pada 215 °C. Cairan hasil hidrolisis ini kemudian dinetralkan dan diperoleh dari proses.

3. Hidrolisis Enzimatik

Selain penggunaan asam untuk menhidrolisis biomassa menjadi sukrosa, dapat juga digunakan enzim untuk menhidrolisis biomassa dengan cara yang sama. Walaupun proses ini sangat mahal, namun masih tetap banyak dikembangkan sebagai langkah awal.

Selain dapat diproduksi dari biomassa berlignin, gula juga dapat dihasilkan dari tanaman-tanaman berpati, seperti jagung, tebu, singkong, sagu, ubi kayu, dll. Proses yang digunakan untuk mendapatkan gula dari tanaman berpati ini berbeda dari proses yang dilakukan untuk mendapatkan gula dari biomassa. Proses untuk mendapatkan gula dari tanaman berpati ini terbagi menjadi dua jenis, yaitu:

a. Proses Penggilingan Basah (*Wet Milling Process*)

Dilakukan dengan merendam ke dalam air hangat, untuk membantu memecah protein dan melepaskan zat tepung yang ada dalam tanaman, membantu melunakkan biji untuk proses penggilingan (milling). Tanaman ini kemudian digiling untuk menghasilkan germ, serat dan tepung. Tepung ini yang kemudian dikonversi menjadi gula melalui proses *liquefaction* dan *sakarifikasi*.^[6]

1. Proses Liquefaction

Proses pemecahan tepung secara kimiawi menjadi gula kompleks (dextrin). Proses Liquefaction ini dilakukan dengan cara:

- Pencampuran dengan air secara merata hingga menjadi bubur
- Pengaturan pH agar sesuai dengan kondisi kerja enzim yaitu 6.0-6.5 dengan penambahan CaCO_3
- Penambahan enzim alpha-amilase dari termamyl 60 L dengan perbandingan yang tepat (sekitar 0.001 ml per gram aci).
- Pemanasan bubur hingga kisaran 80 sd 90 C, dimana tepung-tepung yang bebas akan mengalami gelatinasi (mengental seperti Jelly) seiring dengan kenaikan suhu, sampai suhu optimum enzim bekerja memecahkan struktur tepung secara kimiawi menjadi gula kompleks (*dextrin*)

Berakhirnya proses *liquefaction* ini ditandai dengan parameter dimana bubur yang diproses menjadi lebih cair seperti sup.^[1&8] Enzim alfa-amilase adalah enzim yang ditambahkan pada tahapan liquefaction/likuifikasi yang berfungsi untuk memecahkan struktur tepung secara kimiawi menjadi gula kompleks (*dextrin*). Setelah penambahan enzim ini, viskositas campuran tersebut menjadi menurun. Karakteristik enzim ini meliputi kondisi katalitik (pH dan suhu) optimum, kestabilan, kinetik, bobot molekul, inhibisi dan aktivitasnya terhadap beberapa senyawa kimia, serta kemampuan menghidrolisis pati ubi kayu. Enzim alfa amylase akan bekerja secara optimum pada pH 7.0 dan suhu optimum 50-60 °C. Enzim alfa amilase ini dapat stabil pada pH 7,0 selama 24 jam pada suhu 40°C dan pada suhu 70°C selama 5 menit. Sifat kinetika enzim yang ditunjukkan oleh nilai Km adalah 0,169% terhadap substrat *soluble starch* setara dengan 1,69 mg/ml.

2. Proses Sakarifikasi

Proses sakarifikasi merupakan proses pemecahan gula kompleks menjadi gula sederhana. Proses sakarifikasi ini dilakukan dengan cara:

- Pendinginan bubur sampai suhu optimum enzim sakarifikasi bekerja
- Pengaturan pH optimum enzim yaitu 4.5 dengan menambahkan HCl 0.1 M
- Penambahan enzim glukoamilase (amiloglukosidase) dari AMG 200L secara tepat (sekitar 0.001 ml per gram aci)
- Mempertahankan pH dan temperature pada rentang 50 sd 60 C sampai proses sakarifikasi selesai (dilakukan dengan pengetesan gula sederhana yang dihasilkan) atau sampai pati telah terhidrolisis 96-97 % (DE 96-98)^[1&8]

Pada tahap ini, tepung telah sampai pada titik telah berubah menjadi gula sederhana (glukosa dan sebagian fruktosa). Setelah itu, proses dilanjutkan dengan proses fermentasi yang dilakukan dengan penambahan ragi (yeast) *Saccharomyces cerevisiae*. *Saccharomyces* memiliki pH optimum 5.0 dan memiliki rentang suhu antara 30-37°C dan akan mulai sangat terganggu di atas suhu 37°C.^[4]

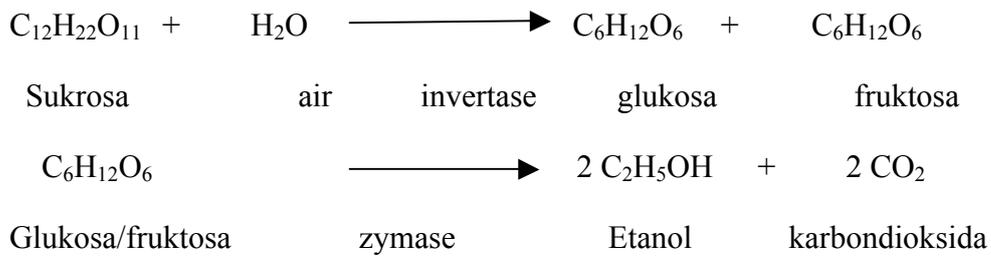
Proses fermentasi ini akan menghasilkan etanol dan CO₂. Bubur kemudian dialirkan kedalam tangki fermentasi dan didinginkan pada suhu optimum kisaran 27 sd 37°C, dan membutuhkan ketelitian agar tidak terkontaminasi oleh mikroba lainnya. Karena itu keseluruhan rangkaian proses dari *liquefaction*, sakarifikasi dan fermentasi haruslah dilakukan pada kondisi bebas kontaminan. Selanjutnya ragi akan menghasilkan ethanol sampai kandungan ethanol dalam tangki mencapai 8 sd 12 % (biasa disebut dengan cairan beer), dan selanjutnya ragi tersebut akan menjadi tidak aktif, karena kelebihan ethanol akan berakibat racun bagi ragi. Proses ini banyak digunakan pada pabrik yang memproduksi ratusan juta gallon ethanol per tahun.

b. Proses Penggilingan Kering (Dry Milling Process)

Proses ini terdiri atas pembersihan dan penghancuran biji tanaman menjadi partikel-partikel kecil dengan hammer mill. Proses ini menghasilkan serbuk yang rata. Serbuk ini mengandung germ, tepung dan serat. Untuk menghasilkan larutan gula, campuran ini kemudian dihidrolisis menjadi gula sukrosa dengan bantuan enzim atau asam cair. Setelah larutan gula sukrosa ini didapatkan, dilanjutkan dengan

proses fermentasi gula menjadi etanol. Ragi ditambahkan pada larutan dan kemudian dipanaskan. Ragi ini mengandung enzim yang disebut *invertase*, yang bereaksi sebagai katalis dan membantu menkonversi gula sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa (C₆H₁₂O₆).

Berikut ini merupakan reaksi pemecahan sukrosa dan pembentukan etanol :



Proses fermentasi ini berlangsung sekitar tiga hari (3 x 24 jam) dan pada rentang temperature antara 32°C dan 37°C. Proses ini umumnya digunakan pada pabrik yang menghasilkan etanol kurang dari 50 juta gallon per tahun.^[6]

Setelah proses-proses fermentasi di atas, produk etanol yang dihasilkan masih mengandung sejumlah air yang signifikan dan harus dipisahkan. Pemurnian etanol ini dilakukan dengan *proses distilasi fraksional*. Proses distilasi ini bekerja pada titik didih campuran air dan etanol. Oleh karena titik didih etanol 78,3 °C sedangkan air 100°C pada 1 atm, maka etanol dipanaskan pada rentang suhu 78.3-100°C, dan uap yang dihasilkannya dikondensasikan dengan kondensor serta hasilnya dipisahkan dalam wadah terpisah. Konsentrasi etanol yang didapatkan setelah proses distilasi ini berkisar 95% volume. Namun, untuk campuran bensin (gasohol) Bioetanol yang digunakan haruslah fuel grade (memiliki kadar kemurnian 99.5%). Oleh karena itu, dilakukanlah proses dehidrasi untuk meningkatkan kadar etanol dari 95% menjadi 99.5% dengan cara filtrasi air dari etanol. Filtrasi ini dapat dilakukan engan menggunakan zeolit (ukuran 3 angstrom) atau dengan batu gamping/kapur dengan cara merendamnya atau mengkontakkannya dalam fasa cair atau fasa uap agar lebih baik.^[9]

2.3 Enzim dan Ragi

Enzim alfa-amilase adalah enzim yang ditambahkan pada tahapan liquefaction/likuifikasi yang berfungsi untuk memecahkan struktur tepung secara

kimia menjadi gula kompleks (*dextrin*). Setelah penambahan enzim ini, viskositas campuran tersebut menjadi menurun. Karakteristik enzim ini meliputi kondisi katalitik (pH dan suhu) optimum, kestabilan, kinetik, bobot molekul, inhibisi dan aktivitasnya terhadap beberapa senyawa kimia, serta kemampuan menghidrolisis pati ubi kayu.

Enzim alfa amylase akan bekerja secara optimum pada pH 7.0 dan suhu optimum 50-60 °C. Enzim alfa amilase ini dapat stabil pada pH 7,0 selama 24 jam pada suhu 40°C dan pada suhu 70°C selama 5 menit. Sifat kinetika enzim yang ditunjukkan oleh nilai Km adalah 0,169% terhadap substrat *soluble starch* setara dengan 1,69 mg/ml.

Enzim alfa amilase memiliki afinitas cukup baik terhadap substrat dan mampu mencapai kecepatan katalitik maksimum pada konsentrasi substrat yang rendah (1.5% berat/volume). Inhibisi enzim alfa-amilase yang terjadi disebabkan oleh Na₂CO₃ (2 mM) 82,5%, AgNO₃ (2 mM) 22%, EDTA (0,5 mM) 78%. Sedangkan enzim ini bersifat aktif untuk glukosa (2 mM) 98% dan maltosa 94%. Amilase kasar dari isolat *Bacillus* sp. menghasilkan nilai dekstrosa ekivalen (DE) 9,96.^[3]

Enzim amylase merupakan katalis hidrolisis dari alfa-1,4 glikosidic daei polisakarida untuk memperoleh dekstrins, oligosakarida, maltose dan D-glukosa. Amilase diperoleh dari hewan, jamur, dan tanaman. Amilase juga diperoleh dari jamur *Aspergillus oryzae*. Ada beberapa perbedaan amylase. Enzim-enzim ini diklasifikasi menurut sifat dimana ikatan glikosidic yang diserang. Alfa amylase termasuk endo amylase.^[10]

Enzim glukoamilase merupakan enzim yang penting dalam dunia industri yang banyak digunakan oleh pabrik High Fructose syrup (HFS). HFS banyak digunakan pada indsutri minuman dan roti karena lebih manis dan lebih murah.

Glukoamilase berfungsi sebagai katalis yang memecahkan maltooligosakarida menjadi glukosa. Berbeda dengan enzim alpha amylase, enzim glukoamilase ini merupakan enzim exoamilase. Enzim yang tergolong exoamilase ini adalah beta amylase dan glukoamilase. Beta amylase menghasilkan beta limit dextrans dan maltosa. Sedangkan glukoamilase menghasilkan glukosa.

Glukoamilase merupakan enzim persiapan untuk mendekomposisi zat tepung menjadiglukosa oleh pemecahan unit-unit glukosa dari rantai polisakarida.

Enzim glukoamilase digunakan untuk sakarifikasi dari cairan karbohidrat pada:

- Persiapan dari hidrolisis amylase dan kristal glukosa
- Membuat bir dengan kandungan dekstrin yang rendah
- Produksi roti dan jus^[10]

Saccharomyces cerevisiae berasal dari dua kata, *saccharomyces* (yunani) yang berarti cetakan gula dan *cerevisiae* (latin) yang berarti bir. *Saccharomyces cerevisiae* merupakan salah satu jenis ragi yang banyak digunakan karena memiliki banyak kegunaan sejak dulu kala dalam industri roti dan bir. Pada saat ini, *saccharomyces cerevisiae* banyak digunakan pada industri bir, roti, anggur, dan etanol. *Saccharomyces cerevisiae* merupakan organisme eukariotik yang umum digunakan dalam berbagai jenis fermentasi. Ragi jenis ini berbentuk memiliki dinding yang tebal, bulat oval, dan memiliki diameter 5-10 μm .^[11]

Untuk daur hidupnya, ada 2 bentuk dimana sel ragi dapat bertahan dan tumbuh, haploid dan diploid. Sel haploid mengalami pertumbuhan dan daur hidup mitosis yang sederhana, dan di bawah kondisi tekanan tinggi umumnya akan mati. Sedangkan sel diploid mengalami pertumbuhan dan daur hidup mitosis yang sederhana juga, namun dalam kondisi tekanan tinggi dapat mengalami sporulation, dan masuk tahap meiosis dan menghasilkan beragam spora haploid, yang dapat berkonjugasi membentuk kembali menjadi diploid.^[8] *Saccharomyces* memiliki pH optimum 5.0 dan memiliki rentang suhu antara 30-37°C dan akan mulai sangat terganggu di atas suhu 37°C.^[4]

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian adalah :

1. enzim alfa amilase dan glukoamilase
2. fermipan,
3. tepung sagu

3.2 Tahap-tahap Penelitian

Metodologi penelitian yang dilakukan terdiri dari :

1. Pencarian literatur,
2. Analisis awal bahan tepung sagu berupa analisis karbohidrat,
3. Analisis kinerja enzim,
4. Pelaksanaan penelitian dengan variasi ukuran kekentalan,
5. Analisis hasil perolehan dan kemurnian bioetanol,
6. Pelaksanaan penelitian dengan variasi jumlah enzim glukoamilase murni,
7. Analisis hasil perolehan dan kemurnian bioetanol,
8. Pelaksanaan penelitian dengan variasi jenis enzim,
9. Analisis hasil perolehan dan kemurnian bioetanol,
10. Pelaksanaan penelitian dengan penentuan jumlah enzim immobilisasi,
11. Analisis hasil perolehan dan kemurnian bioetanol,
12. Penentuan kondisi optimum,
13. Pembuatan laporan

Variabel-variabel yang akan diteliti :

1. ukuran kekentalan : 10, 12, 15 °Baume
2. jumlah enzim glukoamilase : 0,4 dan 0,6 g/L
3. jenis enzim : glukoamilase murni dan enzim immobilisasi

3.3 Jadwal Kerja Penelitian

Penelitian akan dilakukan di laboratorium penelitian Jurusan Teknik Kimia UNPAR, Bandung dan Jakarta. Tabel jadwal kerja disajikan dalam tabel 3.1.

Tabel 3.1. Jadwal kerja penelitian

No	Kegiatan	Februari	Maret	April	Mei	Juni
1	Pencarian literatur					
2	Analisis awal bahan dan enzim					
3	Variasi kekentalan					
4	Variasi jumlah enzim					
5	Penggunaan enzim immobilisasi					
6	Analisis hasil					
7	Pembuatan laporan					

BAB IV

HASIL PENELITIAN

Kadar Pati awal : 70,6 %-b

4.1 Hasil Enzim Glukoamilase Murni

Jml	Baume	Indeks	%T	C (mg/L)	etanol (mL)
0,4 mL/bk	10	1,392	9	147,29	5
	15	1,387	1,2	270,54	30
0,6 mL/bk	10	1,379	1,8	245,73	25
	12	1,3795	1,15	273,14	19,5
	15	1,378	0,2	380,14	12

4.2 Hasil Enzim Glukoamilase Terimobilisasi

Jml	Baume	Indeks	%T	C (mg/L)	etanol (mL)
0,6 mL/bk	10	1,381	2,3	230,74	1
	10	1,385	1	281,69	5

BAB V

PEMBAHASAN

5.1 Tahap Likuifikasi

Pada tahap likuifikasi, setiap tempuhan dengan perbedaan derajat baume dilakukan sampai semua pati terputus menjadi dekstrin dengan uji Iod. Hasil proses likuifikasi untuk setiap tempuhan adalah sama, yaitu pati tergelatinasi dan semua molekul pati menjadi dekstrin, yang ditunjukkan dengan perubahan warna pada uji Iod. Perbedaan kekentalan akan mempengaruhi dispersi enzim pada setiap bagian dari larutan pati. Namun dalam hal ini, pengaruh kekentalan dapat dihilangkan karena setiap tempuhan dilakukan sampai terbentuk dekstrin. Perbedaan derajat baume hanya mempengaruhi lama waktu tahap likuifikasi. Lama waktu tahap likuifikasi untuk derajat baume 10-15 adalah 5 – 10 menit, sedangkan larutan dengan derajat baume di atas 15 lebih dari 20 menit. Oleh karena itu, penelitian ini digunakan larutan dengan derajat baume 10-15. Perbedaan derajat baume dalam tempuhan adalah perbedaan jumlah air yang ditambahkan. Dalam hal ini, perbedaan derajat tidak terlalu signifikan terhadap kinerja enzim sehingga lama waktu tahap likuifikasi tidak berbeda untuk setiap tempuhan.

5.2 Tahap Sakarifikasi dan Fermentasi

Ada pengaruh 2 variabel yang dilihat dalam kedua tahap terakhir, yaitu kekentalan yang dinyatakan dengan derajat baume dan jumlah enzim glukamilase. Pengaruh dari kedua variabel adalah sebagai berikut :

1. Pengaruh derajat baume.

Derajat baume menunjukkan viskositas larutan pati. Semakin besar derajat baume menunjukkan semakin tinggi viskositas atau semakin kental, yang akan mempengaruhi kinerja dari enzim. Hasil glukosa yang diperoleh dari tahap sakarifikasi dilakukan pengujian dengan menggunakan indeks bias dan konsentrasi glukosa menggunakan spektrofotometer.

Indeks bias tidak menunjukkan perubahan yang signifikan karena indeks tersebut tidak mengukur jumlah konsentrasi yang ada namun mengukur banyak sinar yang dapat dipantulkan dan diteruskan oleh senyawa sukrosa. Hal ini tidak dapat

dijadikan sebagai pegangan dalam menentukan konsentrasi glukosa hasil sakarifikasi.

Hasil spektrofotometer menunjukkan bahwa semakin tinggi derajat baume maka semakin banyak konsentrasi glukosa yang diperoleh. Hal ini disebabkan karena semakin tinggi derajat baume maka semakin tinggi konsentrasi pati, yang akan mempermudah pengolahan enzim alfa untuk menghasilkan dekstrin. Tingginya konsentrasi dekstrin akan membuat enzim glukoamilase gampang untuk terdispersi dalam larutan, memperpendek jarak enzim untuk bertumbukan dengan molekul dekstrin, dan mengalami tumbukan dengan molekul-molekul substrat sehingga glukosa yang diperoleh akan semakin banyak.

Namun hal ini berbanding terbalik dengan hasil bioetanol yang diperoleh. Semakin tinggi derajat baume maka semakin sedikit bioetanol yang dihasilkan. Tingginya derajat baume membuat tinggi konsentrasi glukosa yang dihasilkan. Tingginya konsentrasi glukosa ini akan mempengaruhi pH larutan yang diperkirakan menjadi salah satu penghambat dalam pertumbuhan fermipan sehingga tidak dapat mengkonversi glukosa menjadi bioetanol dengan baik. Untuk data derajat baume 15 pada enzim glukoamilase sebesar 4 mL/bk memberikan hasil berbeda karena kekentalan tersebut diubah setelah tahap likuifikasi. Pengenceran tahap likuifikasi tersebut menjadikan enzim glukoamilase menjadi lebih mudah terdispersi dan bertumbukan dengan molekul dekstrin sehingga menghasilkan konsentrasi yang cocok dengan fermipan untuk dikonversi menjadi bioetanol.

2. Pengaruh jumlah enzim glukoamilase

Bertambahnya jumlah enzim yang digunakan pada tahap sakarifikasi akan membuat glukosa yang dihasilkan akan semakin banyak karena semakin banyak enzim yang terdispersi dan bertumbukan dengan molekul-molekul substrat. Tumbukan tersebut akan memicu enzim untuk mengubah dekstrin menjadi glukosa. Hal ini terlihat dari naiknya konsentrasi glukosa hasil spektrofotometer seiring dengan ditambahkan enzim glukoamilase. Hal ini berlaku juga terhadap hasil bioetanol. Semakin banyak enzim glukoamilase yang ditambahkan maka semakin banyak glukosa yang dihasilkan sehingga fermipan mendapatkan makanan yang lebih banyak untuk dikonversi menjadi bioetanol.

Dari kedua hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa kekentalan larutan pati dan jumlah enzim glukoamilase akan mempengaruhi konsentrasi glukosa yang dihasilkan. Namun ada batasan terhadap konsentrasi glukosa yang dapat dikonversi oleh fermipan dengan baik menjadi bioetanol. Batasan konsentrasi tersebut dapat dilihat melalui derajat baume larutan pati awal. Dalam penelitian ini diperoleh bahwa derajat baume yang baik adalah 10 baume dengan penambahan enzim glukoamilase sebanyak 0,6 mL/bk.

5.3 Perbandingan Kinerja Enzim Glukoamilase Murni dengan Enzim Terimobilisasi

Dengan menggunakan derajat baume dan jumlah enzim yang terbaik, penelitian dilakukan dengan mengganti enzim glukoamilase murni dengan enzim yang terimobilisasi. Kondisi operasi yang digunakan untuk enzim terimobilisasi adalah larutan pati dengan 10 baume dan enzim sebanyak 0,6 mL/bk. Hasil yang diperoleh adalah :

- Enzim imobilisasi dapat menghasilkan konsentrasi glukosa yang sama seperti enzim murni. Hal ini terlihat dari hasil analisis spektrofotometer. Hal ini menunjukkan bahwa enzim terimobilisasi dapat mempunyai aktivitas yang sama dengan enzim murni. Hasil analisis tersebut juga menyatakan bahwa penggunaan enzim yang berulang tidak menurunkan aktivitas enzim, dengan catatan bahwa enzim tersebut disimpan cukup lama dan dalam ruangan sejuk. Dalam penelitian ini, enzim terimobilisasi telah digunakan dua kali dan telah disimpan di kulkas dalam jangka waktu 1-2 bulan.
- Namun hasil bioetanol yang dihasilkan lebih sedikit dibandingkan dengan bioetanol dari enzim murni. Hal ini diduga karena enzim terimobilisasi yang digunakan adalah enzim dari pisang serih, yang mengandung enzim-enzim lain selain glukoamilase. Salah satu yang diduga adalah enzim alfa-amilase. Enzim alfa-amilase tersebut masih dapat menguraikan sisa-sisa pati yang ada di dalam larutan pati, akibat dari pengadukan dan penguraian yang kurang optimal saat likuifikasi. Hal ini disebabkan karena belum ditentukannya rasio optimal antara enzim alfa-amilase terhadap kekentalan larutan pati. Sampling yang dilakukan saat uji Iod juga masih memungkinkan adanya bagian-bagian dari larutan yang belum teruraikan menjadi dekstrin karena belum ditentukannya rasio enzim alfa-

amilase untuk derajat baume 10 sampai dengan 15. Dengan adanya enzim alfa tersebut maka sisa larutan pati akan membentuk dekstrin, yaitu heksosa yang memiliki struktur yang mirip dengan glukosa. Akibatnya dekstrin dan glukosa yang ada terbaca oleh spektrofotometer sebagai golongan heksosa. Hal ini yang membuat tingginya nilai konsentrasi glukosa hasil spektrofotometer, hampir sama dengan nilai konsentrasi glukosa yang dihasilkan oleh enzim glukamilase murni.

Dari hasil perbandingan kedua enzim tersebut, diperoleh suatu kesimpulan bahwa enzim terimobilisasi harus dapat dispesifikasi jenisnya agar dapat digunakan sesuai dengan kinerja enzim tersebut. Selain itu, penyimpanan enzim yang baik, yang berada dalam ruangan sejuk, akan membantu menjaga stabilitas aktivitas enzim. Metode analisis yang digunakan untuk hasil sakarifikasi sebaiknya menggunakan HPLC sehingga dapat diperoleh data-data jenis gula dengan detail. Tahap fermentasi juga merupakan tahap yang utama dalam pembentukan bioetanol sehingga harus dapat ditentukan kondisi optimum yang merupakan rentang kerja dari fermipan.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan yang dapat diperoleh dari penelitian ini adalah :

1. Kekentalan dan jumlah enzim glukoamilase akan mempengaruhi konsentrasi glukosa pada tahap sakarifikasi
2. pH akhir sakarifikasi perlu diperhatikan dan diperhitungkan dengan konsentrasi glukosa yang dihasilkan.
3. Terdapat batasan konsentrasi glukosa yang dapat dikonversi dengan baik oleh fermipan, yang dapat ditentukan dengan menentukan derajat baume.
4. Penambahan enzim glukoamilase juga perlu diperhatikan supaya konsentrasi glukosa yang dihasilkan tidak menghambat kinerja fermipan.
5. Kekentalan yang baik dalam penelitian ini adalah 10 baume dengan jumlah enzim glukoamilase 0,6 mL/bk yang menghasilkan bioetanol sebanyak 25 mL / 200 g tepung.
6. Lama waktu tahap likuifikasi adalah 5 – 10 menit dan lama waktu tahap sakarifikasi adalah 24 jam.
7. Penggunaan enzim terimobilisasi pisang sereh kurang menghasilkan konsentrasi yang sama tingginya dengan enzim murni namun spesifikasi dari jenis gula yang dihasilkan masih harus dianalisis lebih detail.
8. Enzim terimobilisasi yang akan digunakan harus dikarakterisasi jenisnya dan disimpan dalam ruangan yang sejuk dengan waktu yang cukup lama untuk menjaga stabilitas aktivitasnya.
9. Analisis hasil sakarifikasi sebaiknya menggunakan HPLC agar diperoleh kadar glukosa yang spesifik sehingga dapat ditentukan rasio penggunaan fermipan.

Saran untuk melanjutkan penelitian ini adalah :

1. Perlu dilihat pengaruh penambahan jumlah enzim alfa amilase terhadap konsentrasi glukosa yang dihasilkan pada tahap likuifikasi dan penentuan rasio enzim alfa-amilase yang optimum terhadap derajat kekentalan pati.
2. Perlu dicoba penggunaan enzim murni yang terimobilisasi untuk melihat perbandingan kinerjanya terhadap enzim murni,

3. Perlu dilihat perubahan konsentrasi glukosa yang dihasilkan terhadap waktu.
4. Perlu dilakukan penelitian terhadap variabel-variabel yang ada dalam tahap fermentasi untuk mendapatkan rasio penggunaan fermipan yang optimum.

DAFTAR PUSTAKA

1. Haryanto, Bambang, (1992),”*Potensi dan Pemanfaatan Sagu*”. Kanisius.
2. Tim Trubus, (2007), “Pelatihan Produksi Bioetanol Skala Rumahan”. Trubus
3. Departemen Energi dan Sumber Daya Mineral, (2007), “Bioetanol”, http://www.energiterbarukan.net/index.php?content=biofuel/biofuel_utama.php&with=bioethanol.php
4. <http://www.colorado.edu>
5. Kanro.M, Zain. “Tanaman Sagu dan Pemanfaatannya di Papua”.
6. “What is Bioethanol?”, http://www.esru.strath.ac.uk/EandE/Web_sites/02-03/biofuels/what_bioethanol.htm
7. <http://www.indobiofuel.com>
8. Nur Richana, M.D. Ahmadi, R. Masrina, D.S. Damardjati, dan U. Murdiyatmo “Purifikasi Menggunakan Prep Cell dan Karakterisasi alfa-amilase dari Isolat *Bacillus* sp. MII-10” Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman.
9. Wiguna, Imam, (2007) “Murnikan Saja dengan Gamping”, Trubus, hal 24-25.
10. (2006), “Amyloglukosidase”, <http://www.enzymeindia.com>
11. (2006), “*Saccharomyces cerevisiae* - Wikipedia, the free encyclopedia”, http://www.google.com/search?q=cache:UtRTIAKuMfMJ:en.wikipedia.org/wiki/Saccharomyces_cerevisiae+saccharomyces+cerevisiae
12. Mampioper, Dominggus,(2006), “Sagu Sumber Karbohidrat yang Dilupakan”, <http://www.beritabumi.or.id/artikel3>