



## Optimalisasi Penerapan Bioteknologi dalam Produksi Bioetanol dari Sagu (*Metroxylon sp.*)

### Optimization of the Biotechnology Application in Production of Bioethanol from Sago (*Metroxylon sp.*)

Sayu Nila Widayanti<sup>1\*</sup>, Mappiratu<sup>1</sup>, Jaya Hardi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Lab. Penelitian, Jurusan Kimia Fakultas MIPA, Universitas Tadulako

<sup>2</sup>Lab. Kimia Fisik & Anorganik, Jurusan Kimia Fakultas MIPA, Universitas Tadulako

#### ABSTRACT

The research about optimization of bioethanol production from sago has been done. The optimization covered the influence of  $\beta$ -amylase enzyme such as concentration and hydrolysis time to produced glucose from sago starch hydrolysis, the fermentation time factor on levels of bioethanol production. Statistically, it was designed by using a completely randomized design (CRD) with three levels of replications. Variation of  $\beta$ -amylase enzyme concentration at 0; 0.05; 0.06; 0.07; 0.08% (v/v) with hydrolysis time at 1; 1.5; 2; 2.5; 3 hours respectively. The glucose levels were analyzed using DNS method. The results showed the enzyme concentration of 0.08 % with a fixed hydrolysis time (1 hour) produces glucose levels are highest at 9.25 % and hydrolysis time of 3 hours with a fixed enzyme concentration (0.08% v/v) produces glucose levels are highest at 11.41 %. The variations of fermentation time at 3; 4; 5; 6; 7 days, whereas bioethanol product was purified by distillation method and measured by alcohol meter. The results showed that highest bioethanol level at 5.75% with 7 days of fermentation time.

**Keywords :** *Sago,  $\beta$ -amylase enzyme, Hydrolysis, Glucose, Fermentation, Bioethanol.*

#### ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang optimalisasi penerapan bioteknologi dalam produksi bioetanol dari sagu. Optimalisasi mencakup pengaruh konsentrasi enzim  $\beta$ -amilase dan waktu hidrolisis terhadap glukosa yang dihasilkan dari hidrolisis pati sagu serta pengaruh waktu fermentasi terhadap kadar bioetanol yang dihasilkan. Penelitian ini dirancang menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga taraf ulangan. Variasi konsentrasi enzim  $\beta$ -amilase dirancang dengan 5 taraf (0; 0,05; 0,06; 0,07; 0,08% (v/v)) dan waktu hidrolisis (1; 1,5; 2; 2,5; 3 jam) dimana kadar glukosa yang dihasilkan dianalisis menggunakan metode DNS. Hasil penelitian menunjukkan konsentrasi enzim 0,08% (v/v) dengan waktu hidrolisis tetap (1 jam) menghasilkan kadar glukosa tertinggi yaitu sebesar 9,25% dan waktu hidrolisis 3 jam dengan konsentrasi enzim tetap (0,08% (v/v)) menghasilkan kadar glukosa tertinggi yaitu sebesar 11,41%. Variasi waktu fermentasi dengan 5 taraf (3; 4; 5; 6; 7 hari) dimana bioetanol yang dihasilkan dimurnikan dengan metode destilasi dan diukur dengan alkohol meter. Hasil penelitian menunjukkan waktu fermentasi tertinggi diperoleh pada hari ke-7 dengan kadar bioetanol 5,75%.

**Kata kunci :** *Sagu, Enzim  $\beta$ -amilase, Hidrolisis, Glukosa, Fermentasi, Bioetanol*

\*)Corresponding Author : [sayunilawidayanti@gmail.com](mailto:sayunilawidayanti@gmail.com)

## LATAR BELAKANG

Indonesia mempunyai potensi sagu nasional yang sangat besar. Khusus untuk daerah Sulawesi Tengah, seperti Buol dan Morowali sugu hanya dijadikan sebagai makanan pokok. Alternatif lain, sugu dapat digunakan sebagai bahan baku industri. Salah satu industri tersebut adalah industri bioetanol (Handoko dan Miryanti, 2009).

Pembuatan bioetanol dari bahan yang mengandung pati tinggi diawali dengan proses hidrolisis untuk memperoleh glukosa. Proses hidrolisis amilosa dan amilopektin dari pati dapat dilakukan melalui metode enzimatik seperti menggunakan enzim  $\alpha$ -amilase,  $\beta$ -amilase dan glukoamilase yang akan menghasilkan sakarida dengan rantai yang lebih pendek (Mappiratu dan Nurhaeni, 2013). Enzim alfa amilase bersifat endoenzim yang dapat memutus ikatan glikosidik secara acak membentuk maltosa dan dekstrin. Enzim beta amilase dan glukoamilase bersifat eksoenzim yang dapat memutus ikatan glikosidik dari bagian ujung molekul membentuk glukosa (Bastian, 2011).

Tepung sugu dikonversi menjadi gula melalui proses likuifikasi dan sakarifikasi. Enzim alfa amilase ditambahkan pada tahap likuifikasi sedangkan enzim beta amilase/glukoamilase ditambahkan pada

tahap sakarifikasi. Hasil dari proses likuifikasi yaitu berupa maltosa dan dekstrin akan dihidrolisis lebih lanjut oleh enzim beta amilase pada proses sakarifikasi menghasilkan glukosa yang selanjutnya digunakan pada proses fermentasi menjadi bioetanol (Pratiwi dan Muliapakarti, 2011).

Penelitian produksi bioetanol dari sugu secara kimiawi telah dilakukan oleh Rafida (2004), namun hasilnya belum memuaskan sebab kadar bioetanol yang dihasilkan dari hasil hidrolisis dengan HCl (asam klorida) hanya sekitar 3,87%. Bioetanol juga telah dihasilkan oleh Yuniarsih (2009), dari dekstrin dan sirup glukosa sugu dengan hasil  $26,96 \pm 1,80$  g/l dengan perlakuan agitasi penuh dan  $21,21 \pm 2,83$  g/l pada agitasi yang dihentikan pada jam ke-6 dengan menggunakan enzim alfa amilase dan glukoamilase. Handoko dan Miryanti (2009), memproduksi bioetanol dari sugu menggunakan enzim glukoamilase dan alfa amilase dengan hasil yang lebih tinggi dibandingkan dengan hasil Rafida (2004) dan Yuniarsih (2009) yaitu 25 mL/200 g tepung yaitu sekitar 12,5 %. Perlakuan yang diterapkan oleh Handoko dan Miryanti masih terbatas pada kekentalan dan jumlah enzim glukoamilase, belum dikaji waktu hidrolisis dan penggunaan

beta amilase serta waktu fermentasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kondisi optimum hidrolisis pati sagu dan fermentasi bioetanol dari hasil hidrolisis pati sagu.

## BAHAN DAN METODE

### *Bahan dan Peralatan*

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu tepung sagu (*Metroxylon sp.*) yang diperoleh dari Desa Toinasa Kabupaten Poso, akuades, enzim alfa dan beta amilase murni (Lab. Kimia FMIPA UNTAD, Indonesia), ragi, NaOH 0,1 N, HCl 0,1 N, CaCl<sub>2</sub> 1000 ppm, pereaksi DNS (dinitrosalisilat), pupuk NPK dan Urea.

Alat yang digunakan yaitu ayakan ukuran 60 mesh, alkohol meter (Richter-Tralles, Jerman), waterbath (memmert, Jerman), hotplate (Cole Parmer, USA), serangkaian alat fermentor, spektrofotometer UV-Visibel (PerkinElmer), seperangkat alat destilasi dan alat-alat gelas yang umum digunakan di Laboratorium Kimia.

### *Metode*

#### **Persiapan pati sagu**

Sagu disaring menggunakan kain saring Wifon untuk memisahkan kotoran-kotoran yang terikut pada sagu. Larutan kemudian didiamkan selama beberapa

menit hingga semua pati sagu mengendap, lalu didekantasi dan dikeringkan di bawah sinar matahari. Pati kering diblender kering dan diayak dengan ayakan ukuran 60 mesh untuk memperoleh tepung pati yang halus dan selanjutnya digunakan dalam penelitian (Rafida, 2004).

#### **Hidrolisis Pati Sagu secara Enzimatis**

Larutan CaCl<sub>2</sub> 1000 ppm dibuat dengan cara melarutkan CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O sebanyak 1 g ke dalam 1000 mL *aquadest*. Tepung sagu sebanyak 5 g dilarutkan ke dalam 50 mL larutan CaCl<sub>2</sub> 1000 ppm. pH diatur hingga pH 7 dengan NaOH 0,1 N. Suspensi pati dimasukkan dalam erlenmeyer di atas *waterbath* berisi air. Enzim  $\alpha$ -amilase ditambahkan sebanyak 0,09% (v/v) sambil diaduk. Campuran dipanaskan sampai 90°C selama 2,5 jam. Campuran didinginkan dengan air dingin sampai suhu 30-40°C. pH diatur sampai pH 3-4 dengan HCl 0,1 N lalu dipanaskan pada air mendidih untuk menghentikan aktivitas enzim. Selanjutnya suhu diatur hingga mencapai 60°C lalu enzim  $\beta$ -amilase ditambahkan sesuai perlakuan (0% (A<sub>1</sub>), 0,05% (A<sub>2</sub>), 0,06% (A<sub>3</sub>), 0,07% (A<sub>4</sub>) dan 0,08% (A<sub>5</sub>) v/v). Larutan dibiarkan pada suhu tersebut selama 1 jam (B<sub>1</sub>), 1,5 jam (B<sub>2</sub>), 2 jam (B<sub>3</sub>), 2,5 jam (B<sub>4</sub>) dan 3 jam (B<sub>5</sub>). Selanjutnya larutan dipanaskan hingga

## **Optimalisasi Penerapan Bioteknologi dalam Produksi Bioetanol dari Sagu (*Metroxylon sp.*)**

(Sayu Nila Widayanti dkk)

mendidih untuk menginaktivasi enzim. Larutan didinginkan hingga suhu ruang, kemudian volume gula hasil hidrolisis diukur (Modifikasi Metode Chafid dan Khusumawardani, 2010).

### **Fermentasi Glukosa Menjadi Bioetanol**

Konsentrasi enzim  $\beta$ -amilase dan waktu hidrolisis yang terbaik digunakan dalam proses fermentasi. Pelaksanaan fermentasi sebagai berikut: gula hasil hidrolisis dengan konsentrasi enzim  $\beta$ -amilase sebanyak 0,08% (v/v) dan waktu hidrolisis 3 jam pada pH 4 sebanyak 200 ml, ditambahkan ragi roti 2 g, urea 2 g, pupuk NPK 0,2 g, kemudian dimasukkan ke dalam fermentor yang telah dirangkai dan disterilisasi. Campuran diinkubasi pada suhu ruang dengan waktu masing-masing 3 hari (C<sub>1</sub>), 4 hari (C<sub>2</sub>), 5 hari (C<sub>3</sub>), 6 hari (C<sub>4</sub>) dan 7 hari (C<sub>5</sub>) dengan pengulangan sebanyak tiga kali. Produk fermentasi dipisahkan massa sel dengan cara penyaringan yang dilanjutkan dengan destilasi. Alkohol yang dihasilkan dari proses destilasi diukur volumenya dan ditentukan kadarnya menggunakan alkohol meter (Rafida, 2004).

### **Penetapan Kadar Glukosa dengan Metode DNS**

Sebanyak 1 mL larutan gula hasil hidrolisis dimasukkan ke dalam tabung

reaksi dan ditambahkan dengan 3 mL pereaksi DNS, selanjutnya dipanaskan pada penangas air mendidih selama 5 menit kemudian didinginkan pada suhu ruang. Larutan dipindahkan ke dalam kuvet, absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum 550 nm. Kadar gula ditentukan dengan menggunakan persamaan regresi absorbansi larutan standar (Daud dkk., 2012).

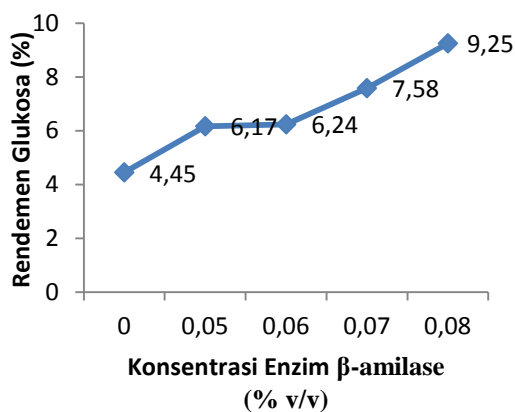
### **Analisis Kadar Bioetanol**

Kadar alkohol dalam produk destilasi ditentukan dengan metode Brix-Hidrometer. Sampel hasil destilasi dimasukkan ke dalam gelas ukur 100 ml, kemudian dimasukkan alat alkohol meter dan kadarnya ditentukan berdasarkan skala alkohol meter (Rafida, 2004).

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Glukosa Hasil Hidrolisis Pati dengan $\alpha$ dan $\beta$ -amilase**

Hasil pengukuran kadar glukosa dengan metode DNS pada berbagai konsentrasi enzim  $\beta$ -amilase dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Kurva hubungan konsentrasi enzim  $\beta$ -amilase (% v/v) dengan % rendemen glukosa yang dihasilkan

Konsentrasi enzim  $\beta$ -amilase divariasikan untuk mendapatkan konsentrasi enzim terbaik yang menghasilkan glukosa tertinggi yaitu mulai dari 0%, 0,05%, 0,06%, 0,07%, dan 0,08% (v/v) dengan waktu hidrolisis tetap (1 jam).

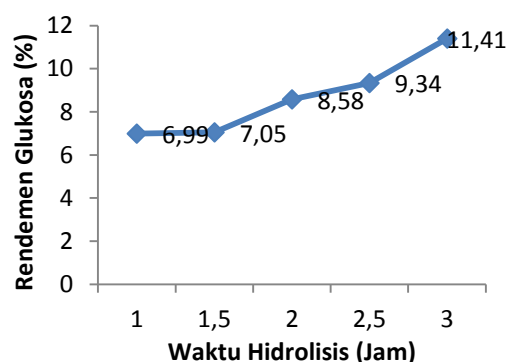
Hasil yang diperoleh menunjukkan semakin tinggi penggunaan enzim  $\beta$ -amilase, semakin tinggi pula konsentrasi glukosa yang dihasilkan. Hal ini disebabkan karena semakin banyak sisi aktif enzim yang membentuk kompleks dengan substrat (pati) sehingga semakin banyak pula produk (glukosa) yang terbentuk. Konsentrasi glukosa terendah (4,45%) ditemukan pada penggunaan enzim  $\beta$ -amilase 0%, dan tertinggi (9,25%) terdapat pada penggunaan enzim  $\beta$ -amilase 0,08% (v/v).

Hasil yang diperoleh lebih rendah dari Yunianta dkk. (2010), yang

melaporkan bahwa hasil hidrolisis secara sinergis pati garut pada produksi sirup glukosa menggunakan enzim  $\alpha$ -amilase yaitu sebesar 24,26% dengan konsentrasi enzim 0,065% (b/b) dan lama likuifikasi 120 menit. Hal ini kemungkinan disebabkan karena enzim  $\beta$ -amilase yang digunakan aktivitasnya rendah.

Glukosa dengan rendemen tertinggi pada variasi konsentrasi enzim  $\beta$ -amilase diterapkan untuk penentuan waktu hidrolisis terbaik.

Hasil pengukuran kadar glukosa dengan variasi waktu hidrolisis yaitu 1 jam, 1,5 jam, 2 jam, 2,5 jam dan 3 jam dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Kurva hubungan waktu hidrolisis (jam) dengan % rendemen glukosa yang dihasilkan

Rendemen glukosa terendah (6,99%) terdapat pada penggunaan waktu hidrolisis 1 jam dan waktu hidrolisis 3 jam menghasilkan rendemen glukosa tertinggi (11,41%) dengan konsentrasi enzim 0,08% (v/v). Pada kurva memperlihatkan bahwa

### Optimalisasi Penerapan Bioteknologi dalam Produksi Bioetanol dari Sagu (*Metroxylon sp.*)

(Sayu Nila Widayanti dkk)

terdapat kemungkinan rendemen glukosa meningkat jika waktu hidrolisis dinaikkan. Hal ini dipengaruhi lama waktu kontak antara enzim dan substrat pati membentuk kompleks enzim substrat (ES), yang mengakibatkan semakin banyak terjadi pemotongan rantai pati untuk membentuk produk glukosa. Saryono (2011) menyatakan hal yang sama, yakni semakin lama waktu hidrolisis semakin tinggi rendemen glukosa yang dihasilkan.

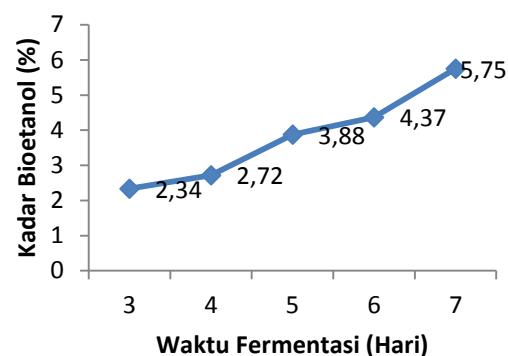
Hasil yang diperoleh lebih rendah dari Jamilatun dkk. (2004), yang melaporkan bahwa hasil terbaik pengambilan glukosa dari tepung biji nangka dengan cara hidrolisis enzimatis kecambah jagung adalah 43,50% dengan waktu hidrolisis 20 jam. Hal ini disebabkan pada hidrolisis biji nangka menggunakan waktu hidrolisis yang lebih lama. Pada waktu hidrolisis tertentu maka kerja enzim akan mencapai maksimum sehingga produk (glukosa) yang dihasilkan tidak berubah secara signifikan. Glukosa dengan rendemen tertinggi selanjutnya digunakan untuk penentuan waktu fermentasi terbaik untuk memperoleh kadar bioetanol tertinggi.

#### **Kadar Bioetanol pada Berbagai Waktu Fermentasi**

Fermentasi dilakukan dengan ragi roti sebagai sumber khamir yaitu

*Saccharomyces cerevisiae* sebanyak 2 g dalam 200 mL glukosa hasil hidrolisis pati sagu.

Hasil pengukuran kadar bioetanol dengan variasi waktu fermentasi 3, 4, 5, 6, dan 7 hari dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Kurva hubungan waktu fermentasi (hari) dengan kadar bioetanol yang dihasilkan (%)

Peningkatan waktu fermentasi meningkatkan kadar bioetanol yang dihasilkan. Hal ini disebabkan waktu kontak antara khamir *Saccharomyces cerevisiae* dengan sumber karbon (glukosa) semakin lama sehingga menghasilkan bioetanol yang lebih banyak. Kadar bioetanol tertinggi (5,75%) ditemukan pada penggunaan waktu fermentasi 7 hari, dan kadar bioetanol terendah (2,34%) terdapat pada penggunaan waktu fermentasi 3 hari. Terdapat peluang kadar bioetanol meningkat dengan meningkatnya waktu fermentasi.

Hasil yang diperoleh lebih tinggi dari Rafida (2004), yang melaporkan bahwa hasil produksi bioetanol dari sagu secara kimiawi dengan waktu fermentasi yang digunakan yaitu 48 jam, 72 jam, 96 jam, dan 120 jam yaitu berturut-turut 2,4%, 2,67%, 2,93% dan 3,87%. Hal ini sesuai dengan hasil bioetanol yang dihasilkan yaitu semakin tinggi waktu fermentasi maka semakin tinggi pula kadar bioetanol karena waktu kontak antara khamir *Saccharomyces cerevisiae* dengan sumber karbon (glukosa) semakin lama sehingga menghasilkan bioetanol yang lebih banyak.

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa:

1. Konsentrasi enzim  $\beta$ -amilase 0,08% (v/v) menghasilkan rendemen glukosa tertinggi pada hidrolisis pati sagu yaitu 9,25%.
2. Waktu hidrolisis 3 jam menghasilkan glukosa tertinggi pada hidrolisis pati sagu yaitu 11,41%.
3. Waktu fermentasi 7 hari menghasilkan kadar bioetanol tertinggi yaitu 5,75%.

#### DAFTAR PUSTAKA

Bastian, F. 2011. *Teknologi Pati dan Gula*. Hibah Penulisan Buku Ajar Bagi Tenaga Akademik. Universitas Hasanuddin. Makassar.

Chafid, A. dan Kusumawardhani, G. 2010. *Modifikasi Tepung Sagu*

menjadi *Maltodekstrin menggunakan Enzim  $\alpha$ -amilase*. Skripsi. Universitas Diponegoro. Semarang.

Daud, M., Safii, M. dan Syamsu, K. 2012. *Biokonversi Bahan Berlignoselulosa Menjadi Bioetanol Menggunakan Aspergillus niger Dan Saccharomyces cereviceae*. Jurnal Perennial. 8 (2) : 43 – 51.

Handoko, T. dan Miryanti, A. 2009. *Pengaruh Ukuran Baume, Jenis dan Jumlah Enzim Glukoamilase terhadap Perolehan Bioetanol dari Sagu*. Laporan Penelitian. Fakultas Teknologi Industri Universitas Katolik Parahyangan. Bandung.

Jamilatun, S., Sumiyati, Y. dan Handayani, R.N. 2004. *Pengambilan Glukosa dari Tepung Biji Nangka dengan Cara Hidrolisis Enzimatis Kecambah Jagung*. Jurnal. Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, Universitas Ahmad Dahlan. Yogyakarta.

Mappiratu dan Nurhaeni. 2013. *Penuntun Praktikum Enzim Pangan*. Jurusan Kimia FMIPA Universitas Tadulako. Palu

Pratiwi, D. B. dan Muliapakarti, R. 2011. *Tugas Akhir Perancangan Pabrik Etanol dari Singkong Kering (Gaplek) dengan Proses Enzimatis Kapasitas 140 KL/Tahun*. Skripsi. Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Sebelas Maret. Surakarta.

Rafida. 2004. *Biosintesis Bioetanol dari Pati Sagu menggunakan Inokulum Ragi Roti*. Skripsi. Universitas Tadulako. Palu.

**Optimalisasi Penerapan Bioteknologi dalam Produksi Bioetanol dari Sagu (*Metroxylon sp.*)**

(Sayu Nila Widayanti dkk)

Saryono. 2011. *Biokimia Enzim*. Nuha Medika. Jogjakarta.

Yunianta, Sulistyoto, Apriliastuti, Estiasih, T., dan Wulan, S.N. 2010. *Hidrolisis Secara Sinergis Pati Garut (Marantha arundinaceae L.) Oleh Enzim  $\alpha$ -Amilase, Glukoamilase, dan Pullulanase Untuk Produksi Sirup Glukosa*. Jurnal Teknologi Pertanian. 11 (2) : 78 – 86.

Yuniarsih, F. N. 2009. *Pembuatan Bioetanol Dari Dekstrin dan Sirup Glukosa Sagu (Metroxylon sp.) menggunakan Saccharomyces cerevisiae var. ellipsoideus*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.