

Proses Delignifikasi Limbah Pasar untuk Produksi Bioetanol

Delignification Process of Market-place Waste for Bioethanol Production

Enny Hawani Loebis, Yuliasri Ramadhani Meutia, Lukman Junaidi,
dan Rizal Alamsyah

Balai Besar Industri Agro – Bogor
Jl. Ir. H. Juanda No. 11, Bogor 16122

loebis_enny@yahoo.com.com

Riwayat Naskah:

Diterima 07, 2015
Direvisi 08, 2015
Disetujui 11, 2015

ABSTRAK: Limbah organik pasar merupakan sumber biomassa yang cukup penting untuk dimanfaatkan menjadi bioetanol. Salah satu permasalahan dalam produksi bioetanol dari biomassa adalah adanya kandungan lignin yang sulit untuk diuraikan. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari proses delignifikasi limbah pasar untuk produksi bioetanol. Tahapan proses produksi bioetanol yang diamati meliputi proses delignifikasi serta hidrolisis enzimatis dan fermentasi. Hasil penelitian menunjukkan proses delignifikasi pada sabut kelapa dapat menurunkan kadar lignin sebesar 21,64 %. Proses fermentasi simultan menggunakan *Trichoderma* pada sabut kelapa menghasilkan bioetanol 0,07 % pada hari ke-4 dan hari ke-5. Fermentasi simultan menggunakan *P. nalgiovense* S11, menghasilkan bioetanol mulai pada hari ke-3, dan cenderung terjadi peningkatan sampai hari ke-5. Fermentasi simultan menggunakan *P. nalgiovense* S11 menghasilkan kadar bioetanol, untuk sabut kelapa maksimum 1,07%; kulit jagung maksimum 1%, dan tongkol jagung maksimum 5,51 %. Pada fermentasi terpisah menggunakan *P. nalgiovense* S11, pembentukan bioetanol untuk kulit jagung dan jerami terjadi pada hari ke-4 dan ke-5 maksimum 0,8%. Secara keseluruhan, bioetanol yang terbentuk dari proses fermentasi simultan lebih besar daripada proses fermentasi terpisah.

Kata kunci: limbah organik, delignifikasi, hidrolisis enzimatis, fermentasi, bioetanol

ABSTRACT: Biomass waste from market-place is an important source to be utilized in bioethanol production. One of the problems in the production of bioethanol from biomass is the lignin content that is difficult to degrade. This research aims to study the process of delignification of biomass waste for bioethanol production. Bioethanol production process observed consist of: delignification processes, enzymatic hydrolysis and fermentation. The results showed delignification process in coco-husk can lower lignin content by 21.64%. The simultaneous fermentation process using *Trichoderma* on coconut fiber produce bioethanol 0.07% on day 4 and day 5. The simultaneous fermentation using *P. nalgiovense* S11, produce bioethanol started on the 3rd day of fermentation, and tends to increase until day 5. The simultaneous fermentation using *P. nalgiovense* S11 on coconut husk produced bioethanol content maximum 1.07%; corn husk maximum 1% and corn cobs maximum 5.51%. On a separate fermentation using *P. nalgiovense* S11, the production of bioethanol for raw material corn husks and straw occurred on days 4 and 5 maximum 0.8%. Overall, ethanol produce by simultaneous fermentation process is greater than the separate fermentation process.

Keywords: organic waste, delignification, enzymatic hydrolysis, fermentation, bioethanol

1. Pendahuluan

Bioetanol yang diproduksi saat ini berasal dari bioetanol generasi pertama yaitu bioetanol yang dibuat dari gula (tebu, molase) atau pati-patian (jagung, singkong). Bahan-bahan tersebut adalah bahan pangan yang jika dikonversi menjadi

bioetanol menjadi salah satu penyebab naiknya harga-harga pangan. Oleh karena itu pengembangan bioetanol diarahkan ke arah pengembangan bioetanol generasi kedua, yaitu bioetanol dari biomassa lignoselulosa. Indonesia memiliki keunggulan dalam hal biomassa lignoselulosa karena biomassa tersebut

melimpah, murah, dan juga banyak yang terbuang. Sumber biomassa lignoselulosa antara lain: limbah pertanian (jerami, tongkol jagung, onggok dll), limbah perkebunan (tandan kosong kelapa sawit (TKKS), bagase, kulit buah kakao/kopi), limbah kayu dan kehutanan (sisa gergajian, limbah *sludge* pabrik kertas dll) dan sampah organik (sampah rumah tangga dan sampah pasar). Sampah pasar (sampah organik) perlu dimanfaatkan sebagai sumber biomassa lignoselulosa mengingat sampah tidak dapat dilepaskan dari kehidupan masyarakat.

Biomassa yang mengandung lignoselulosa merupakan bahan yang cukup sulit digunakan sebagai bahan baku produksi bioetanol. Salah satu kendala yang dihadapi dalam hidrolisis enzimatis bahan lignoselulosa adalah adanya kandungan lignin yang menyebabkan rendahnya laju hidrolisis. Menurut Hendriks & Zeeman, (2009), lignin menyebabkan terbatasnya daya cerna (digestibility) hemiselulosa dan selulosa. Untuk mengatasi hal tersebut perlu dilakukan proses *pre-treatment*. Delignifikasi atau penghilangan lignin perlu dilakukan sebelum fermentasi untuk meningkatkan kemampuan hidrolisis enzim

Akhir-akhir ini banyak penelitian yang dilakukan terkait dengan *pre-treatment* (termal, mekanis, kimiawi, dan mikrobial) dalam proses delignifikasi untuk produksi etanol. Produksi etanol dari bahan lignoselulosa terdiri dari 3 tahap utama yaitu: delignifikasi, depolimerisasi dan fermentasi. Metode *pre-treatment* yang dipilih memberikan pengaruh yang sangat signifikan terhadap efisiensi produksi bioetanol dari biomassa (Singh *et al.* 2014).

Karakteristik biomassa yang mempengaruhi efisiensi hidrolisis enzimatis, antara lain: kandungan lignin, distribusi lignin, struktur area permukaan lignin, dimensi serat, derajat polimerisasi, jenis ikatan lignin dengan karbohidrat, dan interaksi hidrofobik antara lignin dan enzim (Berlin *et al.* 2006 dan 2005; Chang and Holtzapple, 2000; Lu *et al.* 2002; Mooney *et al.* 1998). Hidrolisis enzimatis merupakan tahapan proses yang sangat menentukan untuk mengkonversi biomas yang mengandung lignoselulosa menjadi bioetanol (Yu *et al.* 2011 dan Chen *et al.* 2012).

Selulosa di hidrolisis menjadi mono, di atau oligosakarida secara kimia menggunakan asam kuat, sedangkan dengan cara hayati dapat menggunakan enzim murni atau mikroorganisme (jamur) penghasil enzim selulase. Kemampuan jamur untuk mendegradasi bahan lignoselulosa disebabkan sistem enzimatis yang sangat efisien yang dikandung jamur. Jamur memiliki dua jenis sistem enzim ekstraseluler, yaitu: sistem hidrolitik yang menghasilkan hidrolase yang terkait dengan degradasi polisakarida dan sistem ekstraseluler

lignolitik yang mendegradasi lignin (Sanchez, 2009).

Proses hidrolisis secara enzimatis dari bahan selulosa menjadi glukosa lebih ramah lingkungan. Produksi glukosa dari selulosa yang ideal adalah dengan bakteri selulolitik penghasil enzim selulase karena dapat dilakukan pada suhu rendah sehingga akan menghemat energi. Glukosa hasil hidrolisis tersebut selanjutnya dapat difermentasi menghasilkan bioetanol.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mempelajari pembuatan bioetanol berbahan baku lignoselulosa (sampah organik dari pasar) dengan mengaplikasikan mikroba selulolitik asal rayap.

2. Bahan dan Metoda

2.1. Bahan

Bahan yang digunakan adalah sampah organik berupa sabut kelapa, kulit jagung, tongkol jagung, dan jerami; isolat mikroba selulolitik asal rayap *Penicillium nelgiovense* S11 yang merupakan koleksi Balai Penelitian Ternak (Balitnak) Ciawi, jamur pelapuk putih (*Omphalina* sp.), khamir *Saccharomyces cerevisiae*, Isolat *Trichoderma* serta bahan penunjang lain pada penelitian ini seperti media *Potato Dextrose Agar* (PDA), dan *Potato Dextrose Broth* (PDB), *Yeast Ekstrak*, *Bacto* agar, *Pepton*, glukosa.

Bahan kimia yang digunakan adalah Na₂SO₄, NaOH, CaCl₂, (NH₄)₂SO₄, K₂HPO₄, KH₂PO₄, NaOCl, Alkohol, zeolit, spiritus. Sedang bahan kimia untuk analisis komponen kimiawi terdiri dari DNS (Dinitro Salicylic acid), fenol, Na₂SO₄, Ca (OH)₂, CH₃COOH, kalium Natrium Tartarat, CMC, Selulosa serta bahan kimia untuk analisis lainnya.

Bahan penolong yang digunakan pada penelitian ini antara lain plastik untuk baglog, kertas pH, kertas Saring.

2.2. Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini: autoklaf, oven, refluks, penangas, desikator, shaker inkubator, neraca halus, neraca kasar, pompa vacum, ayakan 50 mesh, vortex, spektrofotometer UVVIS, pH-meter, erlenmeyer, gelas ukur, tabung reaksi, pipet, gelas piala, cawan petri, jarum inkubasi, plastik tahan panas, kapas, lakmus, kertas saring, karet, paralon dan lain-lain.

2.3. Metode

2.3.1. Pembuatan media

Media PDA dan PDB dibuat dengan cara seperti diuraikan dalam Fassatiova, 1986. Sedangkan

Media Fermentasi untuk hidrolisis Enzimatis dibuat dengan cara seperti diuraikan pada Ito *et al.* (2003).

2.3.2. Penyegaran isolat mikroba selulolitik

Penyegaran kultur dilakukan dengan memindahkan sebanyak 1 ose *P.nalgiovensis* S11 dari stok kultur ke dalam erlenmeyer 100 mL yang berisi media PDB dan diinkubasi pada suhu kamar selama 3 hari, sambil dikocok dengan kecepatan 120 RPM. Selain itu dilakukan penyegaran terhadap stok kultur setiap minggu, serta dilakukan pengawetan kultur stok dengan melakukan proses liofilisasi sel kultur tersebut.

2.3.3. Persiapan bahan baku sampah organik

2.3.3.1. Pengumpulan dan pemilahan sampah organik

Sampah organik dari sampah pasar dikumpulkan dan dipilah sesuai jenis sampah organiknya, kemudian dicuci, dicacah, serta direndam 1 malam dan ditiriskan. Cacahan sampah organik kemudian dimasukkan ke dalam plastik tahan panas dan dilanjutkan dengan perlakuan delignifikasi.

2.3.3.2. Delignifikasi oleh jamur perlapuk putih (*Omphalina* sp.)

Cacahan sampah organik yang telah dimasukkan ke dalam plastik tahan panas masing-masing sebanyak 240 gram disterilisasi tiga kali ulangan dengan suhu 121°C dan tekanan 760 mmHg selama 15 menit. Setelah dingin sebanyak 100 ml inokulum Jamur Pelapuk Putih (JPP) *Omphalina* sp dari media PDB (stok kerja) diinokulasikan ke dalam cacahan sampah organik tersebut dan diinkubasi selama 20 hari pada suhu ruang (30°C) dan pH 6-7 sampai miselium JPP *Omphalina* sp menyelimutinya. Setelah itu dikeringkan dalam oven 60°C atau dijemur di bawah sinar matahari. Kemudian digiling dengan *pen mill* 40 mesh. Sebelum dan sesudah delignifikasi dilakukan analisis kadar air, kadar lignin, dan kadar selulosa.

2.3.3.3. Hidrolisis enzimatis sampah organik menggunakan bakteri selulolitik

Hidrolisis secara enzimatis dan fermentasi etanol dilakukan dengan metode simultan dan terpisah.

2.3.3.3.1. Metode simultan

Hidrolisis dan fermentasi dilakukan dengan cara menambahkan 100 g sampah organik terdelignifikasi yang telah steril ke dalam 1000 ml

media fermentasi. Kemudian ditambahkan 5% isolat mikroba selulolitik asal rayap dan 10% inokulum cair *Sacharomyces cerevisiae* (v/v). Inkubasi dilakukan selama 5 hari (120 jam). Tiap 24 jam dilakukan pengambilan contoh untuk dianalisis kadar gula pereduksi, pH, etanol, dan CO₂ (Ito *et al.* 2003).

2.3.3.3.2. Metode terpisah

Ke dalam 1000 ml media fermentasi dimasukkan 100 g sampah organik terdelignifikasi yang telah steril, dan ditambahkan 5% isolat bakteri selulolitik asal rayap, kemudian diinkubasi selama 48 jam. Setiap 24 jam dilakukan pengambilan contoh untuk dianalisis kadar gula pereduksi, pH, dan CO₂. Setelah 48 jam ditambahkan 10 % inokulum cair *Saccharomyces cerevisiae* (v/v), inkubasi dilanjutkan hingga 120 jam. Setiap 2 jam dilakukan pengambilan contoh untuk dianalisis kadar gula pereduksi (metode DNS), kadar etanol (metode hidrometer), pH (pH meter), dan volume CO₂ (Spangler and Emert, 1986).

2.4. Analisis bahan baku dan produk

Analisis yang dilakukan meliputi: Analisis Selulosa, Analisis Lignin, Analisis Kadar Air, Analisis Kadar Gula Pereduksi, dan Analisis Kadar Etanol. Analisis selulosa dilakukan sesuai dengan *TAPPI Metode T203* (Anaonim, 1983). Analisis lignin dilakukan sesuai dengan metode yang diuraikan dalam *Goering dan Van soest* (1970). Analisis Kadar Air (AOAC, 1984). Analisis Kadar Gula Pereduksi dilakukan sesuai dengan Metode Dinitro salicylic Acid (Loebis *et al.*, 2011). Analisis Kadar Etanol dilakukan menggunakan Metode Hydrometer (AOAC, 1984) dengan membandingkan volume sulingan dengan nilai air pada suhu 20°C, sehingga nilai bobot jenis (BJ) sulingan dapat diketahui. Dengan menggunakan daftar BJ dapat ditetapkan kadar etanol.

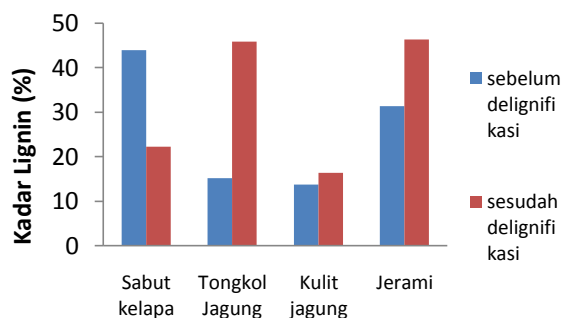
3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Delignifikasi oleh jamur perlapuk putih (*Omphalina* sp.)

Proses delignifikasi mereduksi kandungan lignin yang terdapat pada sampah organik. Sebelumnya isolat JPP ditumbuhkan pada media PDB selama 5 hari, kemudian dituangkan sebanyak 100 ml ke dalam masing-masing *baglog* dan kemudian didiamkan selama 20 hari.

Pengamatan pada pertumbuhan JPP menunjukkan bahwa isolat JPP dapat tumbuh baik pada *baglog* yang tidak terlalu basah dan lebih sering terpapar sinar matahari.

Kandungan lignin pada bahan baku sebelum dan sesudah proses delignifikasi dengan *Omphalina* sp. Dapat dilihat pada grafik pada Gambar 1 berikut.



Bahan baku
Gambar 1. Kadar lignin pada bahan baku sebelum dan sesudah proses delignifikasi

Berdasarkan Gambar 1 dapat dilihat penurunan kadar lignin setelah proses delignifikasi hanya terjadi pada sabut kelapa sebesar 21,64 %. Sedangkan pada tongkol jagung, kulit jagung, dan jerami kadar lignin tidak mengalami penurunan, bahkan terlihat mengalami peningkatan. Hal ini diduga dikarenakan JPP tidak memilih lignin yang terdapat pada bahan baku untuk menjadi substratnya. Van Dyk and Pletschke (2012) menyatakan jamur bersifat selektif dalam melakukan kolonisasi pada jaringan lignoselulosa. Jamur tidak memilih untuk mendegradasi komponen lignin pada bahan dikarenakan kelarutan lignin tersebut pada dinding sel tanaman. Jadi diduga isolat JPP yang digunakan belum dapat merombak kandungan lignin yang terdapat pada bahan baku. Banyak faktor yang dapat mempengaruhi kurang optimumnya kerja JPP dalam mendegradasi lignin. Selain sifatnya yang selektif, juga dipengaruhi oleh kondisi pH. Kondisi pH optimum untuk degradasi lignin berbeda antara spesies JPP satu dengan lainnya. Pedersen and Meyer (2010) melaporkan adanya hubungan antara pH *pre-treatment* dengan *yield* dari proses hidrolisis.

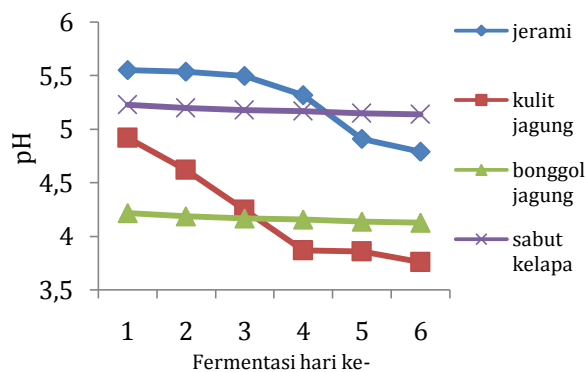
3.2. Hidrolisis selulosa secara enzimatis menggunakan mikroba selulolitik dan fermentasi etanol dengan *Saccharomyces cerevisiae*

Bahan baku sabut kelapa, kulit jagung, tongkol jagung, dan jerami yang telah didelignifikasi dengan *Omphalina* sp. kemudian dilanjutkan ke tahapan hidrolisis secara enzimatis dengan menggunakan 2 jenis mikroba selulolitik yaitu *Trichoderma* dan *Penicillium nalgiovense* S11.

Tahap hidrolisis selulosa dan fermentasi etanol dilakukan dengan 2 metode, yaitu metode fermentasi terpisah dan metode fermentasi simultan. *Trichoderma* hanya digunakan pada

proses fermentasi simultan sedangkan *Penicillium nalgiovense* S11 digunakan pada proses fermentasi secara terpisah dan juga proses fermentasi secara simultan.

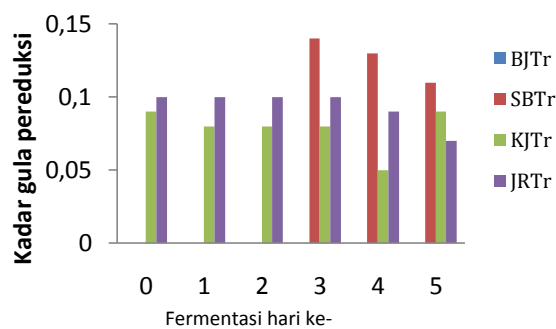
Selama proses fermentasi simultan dengan menggunakan *Trichoderma* sp. terjadi penurunan pH selama 5 hari fermentasi seperti yang dapat dilihat pada Gambar 2. Pada hidrolisis dengan *Trichoderma* bahan baku diberi kode sesuai dengan jenisnya yaitu JRTr untuk jerami, KJTr untuk kulit jagung, BJTr untuk bonggol jagung, dan SBTr untuk sabut kelapa.



Gambar 2. Penurunan pH pada fermentasi simultan menggunakan *Trichoderma*

Berdasarkan Gambar 2, dari keempat bahan baku tersebut yang memiliki pH paling tinggi (penurunan pH paling rendah) adalah sabut kelapa (SBTr), diikuti dengan jerami (JRTr). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Gozan *et al.* (2007) yang membandingkan berbagai tingkat pH (pH 4,0; 4,5; dan 5,0) terhadap fermentasi bagas tebu menjadi bioetanol dilaporkan bahwa pada pH lebih tinggi (pH 5,0) menghasilkan konsentrasi etanol yang lebih tinggi sehingga disimpulkan bahwa pH 5,0 merupakan pH optimum untuk pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae*.

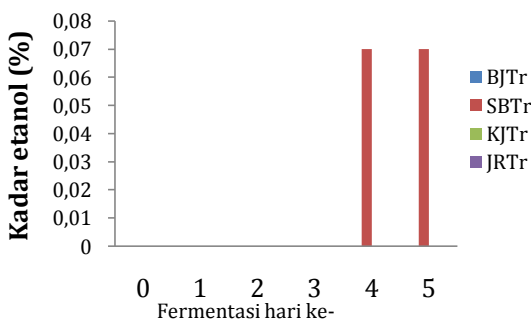
Hasil analisis gula pereduksi pada fermentasi simultan dengan *Trichoderma* ini dapat dilihat pada Gambar 3. Proses hidrolisis dengan *Trichoderma* diharapkan dapat meningkatkan kadar gula pereduksi pada bahan baku yang menandakan berhasilnya proses degradasi selulosa menjadi monosakarida.



Gambar 3. Kadar gula pereduksi pada fermentasi simultan dengan *Trichoderma* sebagai mikroba selulolitik

Berdasarkan Gambar 3, dapat dilihat bahwa pada bahan baku tongkol jagung (BJTr) sama sekali tidak terdeteksi pembentukan gula pereduksi selama 5 hari fermentasi, pada bahan baku sabut kelapa (SBTr) gula pereduksi baru dapat diukur setelah 3 hari fermentasi dan segera mengalami penurunan pada hari ke empat dan kelima, diduga karena gula pereduksi tersebut terkonversi menjadi alkohol. Pada bahan baku kulit jagung (KJTr) dan jerami (JRTr) gula pereduksi dapat diukur mulai dari hari pertama fermentasi, dan mengalami penurunan kembali pada hari ke-4 dan ke-5 fermentasi. Meskipun kadar gula pereduksi dapat diukur pada fermentasi dengan *Trichoderma* ini, namun kadar gula pereduksi tersebut dapat dikatakan sangat kecil (di bawah 1%), dan dapat dikatakan pula bahwa perombakan selulosa oleh *Trichoderma* tidak berlangsung optimum. Banyak hal yang mempengaruhi tahap hidrolisis selulosa dan fermentasi alkohol ini. Diduga hal yang menyebabkan *Trichoderma* tidak dapat bekerja optimum adalah kesalahan atau *human error* pada saat proses fermentasi. Pada saat proses desinfeksi wadah untuk fermentasi digunakan cairan klorin yang cukup pekat, sehingga pada saat fermentasi berlangsung, masih terdapat residu-residu klorin yang menghambat aktivitas *Trichoderma* dalam menghidrolisis selulosa pada bahan baku. Selain itu aktivitas *Trichoderma* yang rendah diduga juga karena kultur *Trichoderma* yang digunakan sebelum proses fermentasi tidak dimasukkan dalam *shaker* terlebih dahulu, karena proses *shaking* dapat menstimulasi sel untuk dapat memproduksi metabolitnya berupa enzim-enzim pemecah selulosa. Sesuai dengan pernyataan Scragg (1988) bahwa faktor-faktor yang mempengaruhi proses fermentasi antara lain media fermentasi, inokulum, dan oksigen terlarut. Proses *shaker* dapat membantu meningkatkan kadar oksigen terlarut pada media pertumbuhan kultur sehingga pada saat digunakan pada proses fermentasi, kultur yang digunakan dalam kondisi siap pakai.

Alkohol yang terbentuk selama proses fermentasi simultan dengan *Trichoderma* ini dapat dilihat pada Gambar 4.

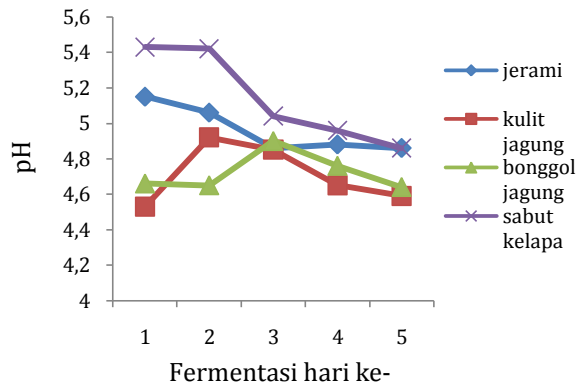


Gambar 4. Kadar etanol pada fermentasi simultan dengan *Trichoderma* sebagai mikroba selulolitik

Berdasarkan Gambar 4 dapat dilihat bahwa etanol hanya terbentuk pada bahan baku sabut kelapa (SBTr) yaitu sebesar 0,07 % pada hari ke-4 hari ke-5. Hal ini memperkuat hasil analisis kadar gula pereduksi pada Gambar 3, dimana diantara sampel bahan baku yang digunakan, kadar gula pereduksi paling tinggi terdapat pada SBTr. Pada bahan baku lainnya alkohol tidak dapat terbentuk karena gula pereduksi yang digunakan untuk mengkonversi gula menjadi etanol kurang mencukupi atau bahkan tidak ada. Karena itu tahapan sakarifikasi proses pembuatan bioetanol dari bahan baku sampah organik berlignoselulosa menjadi hal penting untuk diperhatikan, karena semakin banyak kandungan selulosa yang terombak menjadi gula pereduksi, maka akan semakin tinggi pula kadar alkohol yang terbentuk.

Pembentukan alkohol pada sampel SBTr menyebabkan pH sedikit di atas sampel bahan baku yang lain (pH > 5). Hal ini disebabkan dengan terbentuknya alkohol maka akan bertambah gugus OH dalam larutan yang menyebabkan pH larutan akan meningkat. Fermentasi simultan dengan *P.nalgioense* S11 menghasilkan perubahan pH seperti pada Gambar 4.

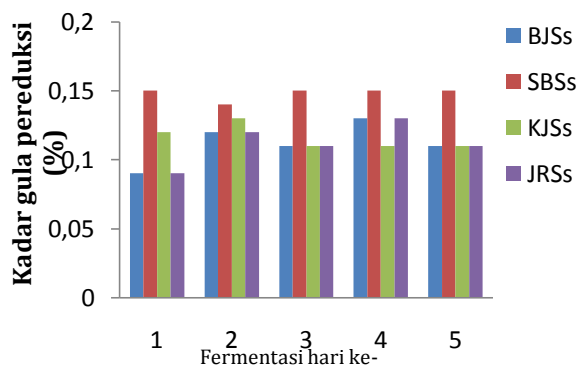
Berdasarkan Gambar 4 dapat dilihat bahwa semua sampel mengalami sedikit penurunan pH. Sampel sabut kelapa (SBSs) mempunyai pH awal tertinggi yaitu 5,43 namun pH semakin menurun dengan bertambahnya waktu fermentasi.



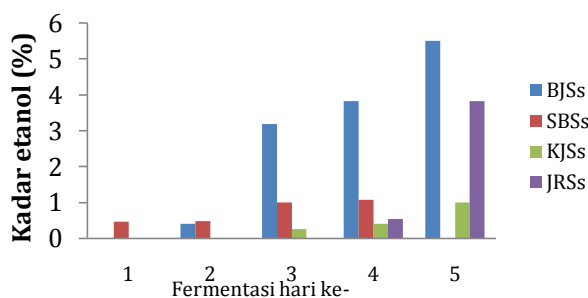
Gambar 4. Penurunan pH pada fermentasi simultan bioetanol dengan *P. nalgioense* S11 sebagai mikroba selulolitik

Kadar gula pereduksi pada fermentasi simultan dengan *Penicillium nalgioense* S11 sebagai mikroba selulolitik ditunjukkan pada Gambar 5.

Berdasarkan Gambar 5 dapat dilihat bahwa pembentukan gula pereduksi tertinggi terjadi pada bahan baku sabut kelapa (SBSs), diikuti oleh kulit jagung (KJSs), jerami (JRSs), dan tongkol jagung (BJSs). Namun pembentukan gula pereduksi sebagai hasil hidrolisis selulosa pada bahan baku tidak terlalu besar (di bawah 1%). Sehingga bioetanol yang terbentuk pada tahapan fermentasi lanjutannya (fermentasi alkohol) tidak dapat



Gambar 5. Kadar gula pereduksi pada fermentasi simultan dengan *Penicillium nalgiovense* S11 sebagai mikroba selulolitik

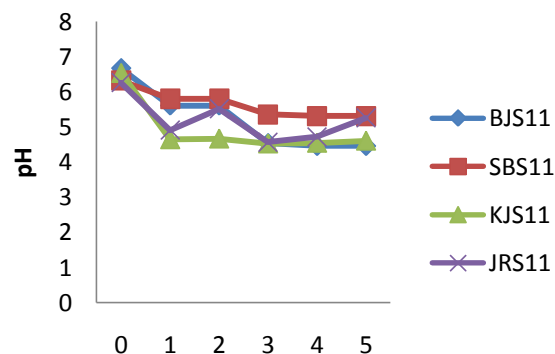


Gambar 6. Kadar etanol pada fermentasi simultan dengan *Penicillium nalgiovense* S11 sebagai mikroba selulolitik

diharapkan terlalu tinggi. Etanol yang terbentuk pada fermentasi simultan ini dapat dilihat pada Gambar 6.

Berdasarkan Gambar 6 dapat dilihat bahwa proses pembentukan etanol dimulai pada hari ke-3 fermentasi, dimana kecenderungannya terus terjadi peningkatan pada hari ke-5. Bahan baku yang sudah mengalami pembentukan alkohol pada hari pertama fermentasi adalah sabut kelapa (SBSs) dimana bahan baku tersebut juga memiliki kadar gula pereduksi tertinggi pada saat awal fermentasi dibandingkan bahan baku lainnya. Namun pembentukan alkohol tersebut terhenti pada hari ke-4 fermentasi yaitu maksimum sebesar 1,07 %. Pada bahan baku kulit jagung (KJSs), alkohol terbentuk mulai hari ke-3 fermentasi hingga hari ke-5 fermentasi dengan kadar alkohol maksimum 1%. Pada bahan baku tongkol jagung (BJSs) alkohol mulai terbentuk pada hari ke-2 fermentasi dan terus mengalami peningkatan hingga hari ke-5 fermentasi dengan kadar alkohol maksimum 5,51 %. Bila dilihat dari *trend* pembentukan alkohol pada bahan baku tongkol jagung dapat dilihat bahwa fermentasi alkohol masih terus berlangsung, dalam artian belum terjadi penghambatan yang disebabkan oleh *product inhibition* atau penurunan dari fase pertumbuhan *S.cerevisiae* yang digunakan.

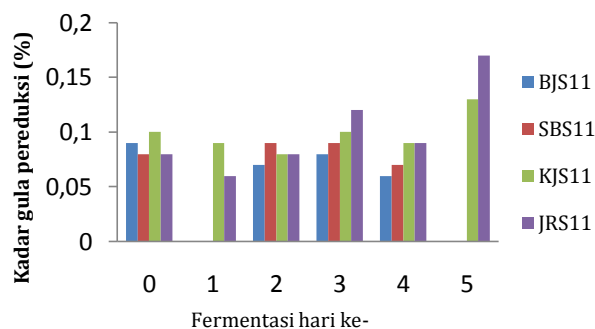
Fermentasi terpisah dengan *Penicillium nalgiovense* S11 menghasilkan perubahan pH seperti yang dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Perubahan pH pada fermentasi terpisah bioetanol dengan *P. nalgiovense* S11 sebagai mikroba selulolitik

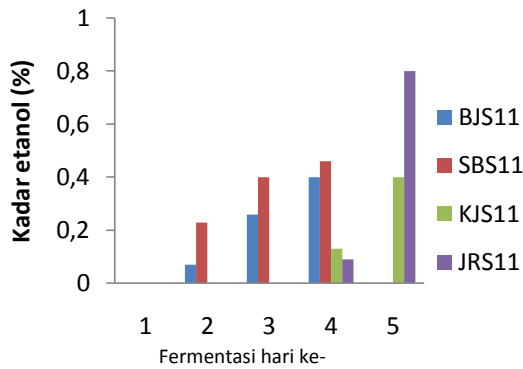
Berdasarkan Gambar 7 dapat dilihat bahwa pH pada hasil fermentasi hari pertama mengalami penurunan, kemudian pada hari ke-2 fermentasi kembali mengalami kenaikan pH yang perlahan menurun kembali hingga hari ke-5 fermentasi. Penurunan pH pada hari pertama fermentasi terpisah ini dikarenakan proses yang terjadi adalah proses hidrolisis selulosa menjadi gula pereduksi tanpa pembentukan etanol. Setelah etanol mulai terbentuk pada hari berikutnya, maka pH mengalami peningkatan karena gugus OH yang terdapat pada etanol dapat meningkatkan pH pada larutan.

Kadar gula pereduksi dan kadar etanol pada fermentasi terpisah dengan *P. nalgiovense* S11 dapat dilihat pada Gambar 8 dan 9 berikut .



Gambar 8. Kadar gula pereduksi pada fermentasi terpisah dengan *Penicillium nalgiovense* S11 sebagai mikroba selulolitik

Kadar gula pereduksi pada fermentasi terpisah dengan *P. nalgiovense* S11 tidak terlalu besar. Hal ini disebabkan oleh proses hidrolisis selulosa dan gula pereduksi yang terjadi tidak terlalu optimum. Ketidakefektifan ini dapat disebabkan oleh kondisi inokulum pada saat digunakan, kandungan oksigen terlarut pada jar fermentasi, suhu, dan lain sebagainya. Terbatasnya kadar gula pereduksi yang terbentuk berakibat pula dengan rendahnya kadar alkohol pada fermentasi tersebut, karena gula yang akan dikonversi menjadi alkohol juga dalam jumlah yang terbatas. Kadar alkohol pada fermentasi bertahap ini dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Kadar etanol pada fermentasi terpisah dengan *Penicillium nalgiovense* S11 sebagai mikroba selulolitik

4. Kesimpulan

Hasil proses delignifikasi menunjukkan bahwa penurunan kadar lignin terjadi pada sampel sabut kelapa sebesar 21,64 %, yaitu dari kadar lignin 43,95 % (sebelum delignifikasi) menjadi 22,31 % (setelah delignifikasi).

Pada proses Fermentasi simultan menggunakan *Trichoderma* produk bioetanol hanya terbentuk pada proses yang menggunakan bahan baku sabut kelapa yaitu sebesar 0,07 % pada hari ke-4 dan hari ke-5.

Pada proses Fermentasi simultan menggunakan *P. nalgiovense* S11, pembentukan bioetanol dimulai pada hari ke-3 fermentasi, dimana kecenderungannya terus terjadi peningkatan pada hari ke-5 (kecualai untuk bahan baku sabut kelapa, yang sudah mengalami pembentukan bioetanol pada hari pertama fermentasi).

Proses Fermentasi simultan menggunakan *P. Nalgiovense* S11, untuk sabut kelapa menghasilkan kadar bioetanol maksimum sebesar 1,07%; kulit jagung, menghasilkan kadar bioetanol maksimum 1%; tongkol jagung, menghasilkan kadar bioetanol maksimum 5,51 %.

Pada proses Fermentasi terpisah menggunakan *P. Nalgiovense* S11, pembentukan bioetanol untuk bahan baku kulit jagung dan jerami baru terjadi pada hari ke-4 dan ke-5 fermentasi dengan menghasilkan kadar bioetanol maksimum 0,8 %.

Secara keseluruhan, bioetanol yang terbentuk dari proses sakarifikasi-fermentasi simultan lebih besar daripada proses sakarifikasi-fermentasi terpisah.

Ucapan terima kasih

Terima kasih diucapkan kepada BBIA yang telah mendanai kegiatan penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Anonim, 1983. *Alpha Beta and Gamma-Cellulose of pulp*. TAPPI Testing Procedure. (TAPPI T 203, OM d3) USA
- AOAC. 1984. Official Method of Analysis. Association of Official Analytical Chemist. Washington DC.
- Berlin, A., Balakshin, M., Gilkes, N., Kadla, J., Maximenko, V., Kubo, S., Saddler, J. (2006). Inhibition of cellulase, xylanase and b-glucosidase activities by softwood lignin preparations. *Journal of Biotechnology* 125 (2), 198–209.
- Berlin, A., Gilkes, N., Kurabi, A., Bura, R., Tu, M., Kilburn, D., Saddler, J. (2005). Weak lignin-binding enzymes. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 121–124, 163–170.
- Chang, V.S., Holtzapple, M.T. (2000). Fundamental factors affecting biomass enzymatic reactivity. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 84–86, 5–37.
- Chen W. H., Ye S.C., Sheen, H.K. (2012). Hydrolysis characteristics of sugarcane bagasse pretreated by dilute acid solution in a microwave irradiation environment. *Applied Energy* 93 (2012) 237–244.
- Fassatiava, O. (1986). *Moulds and Filamentaneous Fungi in Technical Microbiology*. New York Elsevier.
- Gozan, M., M. Samsuri, F. Siti, P. Bambang, dan M. Nasikin. (2007). Sakarifikasi dan Fermentasi Bagas Menjadi Ethanol Menggunakan Enzim Selulase Dan Enzim Sellobiase. *Jurnal Teknologi* 209 -215.
- Goering, H.K. and Van Soest P.J. 1970. Forage Fiber Analysis. U.S. Department Agriculture, *Agrie, Handb.* 379: 1-19.
- Hendriks, A.T.W.M. and Zeeman, G. (2009). Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology* 100: 10–18.
- Ito H, Wada M, Honda Y, Kuwahara M, Watanabe T. (2003). Bioorganosolve Pretreatments for Simultaneous Saccharification and Fermentation of Buch Wood by Ethanolysis and White Rot. *Fungi. Journal of Biotechnology*, 103 : 273-280.
- Loebis, E.H., Meutia, Y.R., Junaidi, L., Heryani, S. Wirawan, I., dan Sudewi, I. (2011). *Aplikasi Mikroba Selulolitik Penghasil Enzim Selulase untuk Produksi Bioetanol dengan Bahan Baku Lignoselulosa*. Laporan Penelitian DIPA BBIA 2011.
- Lu, Y., Yang, B., Gregg, D., Saddler, J., Mansfield, S.D. (2002). Cellulase adsorption and an evaluation of enzyme recycle during hydrolysis of steam-exploded softwood residues. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 98–100, 641–654.
- Mooney, C.A., Mansfield, S.D., Touhy, M.G., Saddler, J.N. (1998). The effect of initial pore volume and lignin content on the enzymatic hydrolysis of softwoods. *Bioresource Technology* 64, 113–119.
- Pedersen, M., & Meyer, A. S. (2010). Lignocellulose pretreatment severity-relating pH to biomatrix opening. *New Biotechnology*, 27(6), 739-750.
- Sanchez, C. (2009). Lignocellulosic residues: Biodegradation and bioconversion by fungi. *Biotechnology Advances*, Vol 27, Issue 2, 185–194.
- Schragg, A.H. (1988). *Biotechnology for Engineers. Biological Systems in Technological Processes*. Ellis Horwood Ltd. Chichester, UK
- Singh, R., Shukla A., Tiwari, S. and Srivastava, M. (2014). A review on delignification of lignocellulosic biomass for enhancement of ethanol production potential. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. Vol 32, Pages 713–728.
- Spangler, D.J and Emert, G.H. (1986). Simultaneous Saccharification and Fermentation with *Zymomonas mobilis*. *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXVIII, Pp. 115-118.
- Van Dyk, J. S. and Pletschke, B. I. (2012). A review of lignocelluloses bioconversion using enzymatic hydrolysis and synergistic cooperation between enzymes-factors affecting enzymes, conversion and synergy. *Biotechnology advances*, 30(6), 1458-1480.
- Yu, Z., Jameel, H., Chang, H.M., and Park, S.K. (2011). The effect of delignification of forest biomass on enzymatic hydrolysis. *Bioresource Technology* 102. Pp. 9083–9089.