



Produksi Bioetanol dari Kertas HVS Bekas melalui Hidrolisis Enzim *Selulase* Jamur Tiram

Siti Maskurotus Sholikhah^{✉1}, Nanik Wijayati¹, Supartono¹, dan Suhartono²

¹Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang Gedung D6 Kampus Sekaran Gunungpati Telp. (024)8508112 Semarang 50229

²Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Jakarta

Info Artikel

Diterima Desember 2017

Disetujui Januari 2018

Dipublikasikan Mei 2018

Keywords:

substrat fermentasi
bioetanol
hidrolisis

Abstrak

Beberapa tahun terakhir Indonesia mengalami kelangkaan bahan bakar minyak (BBM) untuk memenuhi kebutuhan dan konsumsi harus dicari sumber energi alternatif yang terbarukan yaitu bioetanol. Bahan utama untuk produksi bioetanol pada penelitian ini adalah kertas HVS bekas yang mengandung selulosa yang dapat dikonversi menjadi glukosa kemudian difermentasi membentuk etanol. Tinta pada kertas dihilangkan dengan perendaman larutan belimbing wuluh yang mengandung asam format dan diautoclave. Selanjutnya, delignifikasi menggunakan larutan batu kapur. Proses selulase menggunakan enzim *selulase* didapat dari jamur tiram. Proses fermentasi menggunakan ragi tape dan ragi roti. Terdapat perbedaan pada hasil keduanya, distilat ragi tape kandungan etanol lebih banyak dari pada distilat ragi roti. Pada uji kimia dan fisika hanya ragi tape mengarah positif terdapat kandungan etanol dipertegas dari hasil uji analisis menggunakan GC dan FT-IR ragi tape dan ragi roti dengan kadar 0,54 : 0,02% etanol.

Abstract

In recent years, Indonesia has a shortage of oil (BBM) that is caused by a shortage of oil and oil prices are unstable. This is in contrast with the increasing fuel demand and consumption should be sought alternative renewable energy source that is bioethanol. The material used is waste paper containing cellulose, The sample is converted to glucose and fermented to ethanol. The inked paper is removed by soaking wuluh starfruit solution containing formic acid and in autoclave. Then, the delignification using limestone solution. Cellulase process using cellulase enzyme obtained from oyster mushroom. The fermentation process uses yeast tape and bread yeast. Hydrolysis process using cellulase enzyme obtained from oyster mushroom. The fermentation process uses tape yeast catalyst and baker yeast. The conclusions of yeast tape catalysts contain more ethanol than bread yeast. In chemistry and physics test only tape yeast leads positive there is ethanol content. Explained from result of analysis of analysis test results using GC and FT-IR yeast tape and bread with levels of 0.54: 0.02% ethanol.

© 2018 Universitas Negeri Semarang

✉ Alamat korespondensi:
Gedung D6 Lantai 2 Kampus Sekaran, Gunungpati, Semarang 50229
E-mail: sitimaskurotussholikhah@gmail.com

Pendahuluan

Dewasa ini masalah keterbatasan BBM di dunia terjadi karena bahan baku yang berasal dari fosil sudah mulai habis. Semakin berkurangnya sumber bahan bakar minyak di Indonesia sedangkan laju penggunaannya semakin meningkat. Untuk memenuhi kebutuhan dan konsumsi BBM harus mencari sumber energi alternatif yang terbarukan, salah satunya adalah bioetanol (Ariyani, 2013). Bahan baku untuk proses produksi bioetanol diklasifikasikan menjadi tiga kelompok, yaitu gula, pati dan selulosa. Sumber gula yang berasal dari gula tebu, gula bit, molase dan buah-buahan dapat langsung dikonversi menjadi etanol (Indah *et al.*, 2012).

Sumber selulosa yang berasal dari kayu, limbah pertanian, limbah pabrik *pulp* dan kertas, semuanya harus dikonversi menjadi gula (Lin dan Tanaka, 2006). Kertas sebagai material yang mengandung kandungan selulosa yang cukup tinggi, karena kertas terbuat dari kayu. Kertas merupakan salah satu alternatif bahan baku yang potensial untuk dapat dikonversikan menjadi etanol (Franceschim *et al.*, 2010). Pengotor pada kertas bekas ini dihilangkan dengan menggunakan asam sulfat 0,005-1,00 N. Penelitian ini menginovasikan asam herbal yang berasal dari belimbing wuluh, karena limbah asam sulfat dapat merusak lingkungan. Pelarut organik tentunya ramah lingkungan dan ini yang menjadi alasan menggunakan belimbing wuluh sebagai pelarut penghilang tinta Kumar *et al.*, (2012).

Proses delignifikasi dengan cara merendam serbuk halus kertas bekas dengan larutan batu kapur agar kandungan lignin berkurang dan selulosa bertambah. Bahan yang mengandung gula dapat langsung difermentasi, akan tetapi bahan yang mengandung pati dan selulosa harus dihidrolisis terlebih dahulu menjadi komponen yang sederhana (Setyawati *et al.*, 2011). Hidrolisis enzimatis adalah hidrolisis menggunakan enzim *selulase* yang didapat dari jamur tiram. Kemudian glukosa difermentasi menggunakan bakteri atau ragi yang dapat mengkonversi gula menjadi bioetanol. Proses fermentasi dilakukan dengan penambahan ragi roti dan ragi tape (*Saccharomyces cerevisiae*), salah satu spesies ragi yang dikenal mempunyai daya konversi gula menjadi etanol, yang menghasilkan enzim *zimase* dan *invertase* (Judoamidjojo *et al.*, 2002).

Metode

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah kertas HVS bekas, belimbing wuluh, batu kapur, H_2SO_4 , HCl , jamur tiram, $NaOH$, anthrone, protein, glukosa, buffer fosfat, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, $KNaC_4O_6 \cdot 4H_2O$, urea, ragi roti dan ragi tape (*Saccharomyces cerevisiae*), dan ammonium sulfat padat, etanol dengan *grade pro analyst* buatan *Merck*. Alat yang digunakan spektrofotometer Genesys 20, FT-IR Shimadzu 8201 PC, GC 6820 Agilent.

Prosedur kerja dalam penelitian meliputi persiapan sampel, penghilangan tinta pada kertas HVS bekas dengan cara direndam pada filtrat belimbing wuluh dengan kadar (25; 50; 75; 100%) dan diautoclave selama 2 jam. Kemudian tinta dicuci agar hilang, dikeringkan dan dihaluskan. Delignifikasi dengan merendam kertas tak bertinta dalam larutan kapur selama 24 jam pada suhu kamar dan dicuci menggunakan air panas hingga bersih dari batu kapur dan dikeringkan (sampel).

Proses hidrolisis dilakukan dengan menyiapkan enzim *selulase* dari jamur tiram terlebih dahulu. Jamur tiram 150 g ditambah buffer fosfat 0,1 M pH 8 sebanyak 150 mL dihaluskan dengan blender didapat ekstrak kasar kemudian masukkan ke dalam pendingin (kulkas) selama 1 jam. Setelah itu disentrifuge pada kecepatan 3500 rpm selama 20 menit didapat enzim *selulase* (supernatan dan pelet dibuang). Proses hidrolisis dilakukan dengan cara 50 g sampel ditambah buffer fosfat 0,1 M pH 8 sebanyak 150 mL aduk hingga sampel terendam sempurna kemudian tambahkan 50 mL enzim *selulase*. Di inkubasi selama 2 jam pada temperatur 40°C. Setelah itu dididihkan selama 15 menit bertujuan agar enzim *selulase* non aktif. Dinginkan dan pisahkan antara residu dan filtrat, kemudian difermentasi.

Proses fermentasi pada penelitian ini menggunakan dua variasi menggunakan ragi roti dan ragi tape sebagai katalisator. Dua filtrat hasil hidrolisis dikondisikan pada pH 5 dan tambahkan 3 g ammonium sulfat dan urea, dipanaskan pada temperatur 80°C selama 15 menit. Setelah dingin masing-masing ditambahkan 3 g ragi roti dan ragi tape tutup rapat dan letakan pada tempat yang kedap udara diamkan pada suhu ruang selama 14x24 jam. Llarutan disaring kemudian distilasi, hasil yang didapat adalah etanol diuji dengan uji kimia, fisika dan analisis GC dan FT-IR.

Hasil dan Pembahasan

Perlakuan awal pada penelitian ini menggunakan filtrat belimbing wuluh untuk merendam kertas bertinta divariasikan dengan kadar 25; 50; 75; dan 100%. Dari percobaan yang telah dilakukan kadar 75% filtrat belimbing wuluh yang paling efektif menghilangkan tinta pada kertas. Serbuk kertas HVS bekas dianalisis lignin dan selulosanya terlebih dahulu sebelum didelignifikasi. Hal ini dilakukan untuk mengetahui efektivitas proses penghilangan lignin (delignifikasi) yang dilakukan. Analisis lignin dan selulosa dilakukan

dengan metode *Chesson*. Analisis ini dilakukan di laboratorium *Chem-Mix Pratama* Yogyakarta dengan hasil tertera pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi kimia substrat kertas HVS bekas

Komposisi kimia	Jumlah (%)
Lignin	0,1994
Selulosa	64,8465

Komposisi kimia substrat kertas HVS bekas ini yang tertera pada Tabel 1 menunjukkan hasil yang hampir sama dengan penelitian Ye Sun (2002). Ye Sun (2002) menggunakan kertas bekas dari *pulp* kimiaawi dengan kandungan lignin sebesar 10-20% dan selulosa 60-70%. Perbedaan pada kandungan lignin, hal ini disebabkan karena berbedanya bahan baku dan proses pre-treatment dengan perendaman belimbing wuluh yang diduga mengurangi kandungan lignin serta menghilangkan tinta pada kertas HVS bekas.

Proses delignifikasi menggunakan larutan batu kapur. Pemilihan batu kapur sebagai pelarut terinspirasi dari penelitian Habibah (2015) yang menggunakan NaOH, yang mana batu kapur mengandung CaOH termasuk gugus basa. Namun, batu kapur mudah didapat, harga lebih murah dan ramah lingkungan dari pada NaOH dan dapat mengurangi lignin pada kertas HVS bekas yang telah dihilangkan dengan belimbing wuluh. Delignifikasi bertujuan penghilangan maupun pengurangan lignin.

Hidrolisis secara enzimatis memiliki perbedaan mendasar dibandingkan hidrolisis secara kimiaawi dan fisik dalam hal spesifitas pemutusan rantai polimer pati dan selulosa. Hidrolisis enzimatis memiliki beberapa keuntungan dibandingkan hidrolisis asam, antara lain: tidak terjadi degradasi gula hasil hidrolisis, kondisi proses yang lebih lunak (suhu dan tekanan rendah, pH netral), serta proses enzimatis merupakan proses yang ramah lingkungan (Gunam, *et al.* 2011).

Pada produksi glukosa menggunakan metode hidrolisis enzimatis dengan media enzim *selulase*. Enzim *selulase* didapat dari jamur tiram yang segar dan dibuat pada hari itu juga untuk proses hidrolisis. Kertas HVS bekas hasil delignifikasi dilarutkan dalam buffer fosfat 0,1 M pada pH 8, kemudian ditambahkan enzim *selulase* jamur tiram dan diinkubasi pada temperatur 40°C selama 2 jam. Tujuannya agar enzim *selulase* bereaksi membentuk glukosa karena pada temperatur dan pH yang tepat untuk tumbuh kembang enzim *selulase*nya. Setelah itu, campuran dididihkan selama 15 menit untuk menghentikan aktifitas enzim sebelum diuji menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan difermentasi.

Hasil pengukuran sampel hasil hidrolisis enzimatis kertas HVS bekas menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 512 nm sebelum dan sesudah delignifikasi. Tabel 2 kadar glukosa sebelum dan sesudah delignifikasi.

Tabel 2. Kadar glukosa sebelum dan sesudah delignifikasi

Sampel	Absorbansi	Konsentrasi (ppm)
Sebelum delignifikasi	0,059	90
Sesudah delignifikasi	3,018	3.078,89

Proses fermentasi dilakukan untuk memastikan bahwa substrat dari hasil hidrolisis enzimatis yang mengandung gula pereduksi ketika difermentasi dengan *S. cerevisiae* dapat menghasilkan etanol. Dua macam ragi yang digunakan dalam proses fermentasi ini, yaitu ragi roti dan ragi tape dan ragi roti. Penelitian ini dalam penelitian ini menggunakan CO(NH₂)₂ (urea) dan (NH₄)₂SO₄ (ammonium sulfat) dengan pH 8 sebagai sumber nutrisi untuk mempercepat pertumbuhan mikroba. Hasil fermentasi didistilasi, distilasi dihentikan jika sudah tidak ada distilat yang menetes dalam erlenmeyer. Selanjutnya distilat dimasukkan dalam botol sampel untuk kemudian dianalisis dengan uji kimia dan fisika serta menggunakan instrumen FT-IR dan GC.

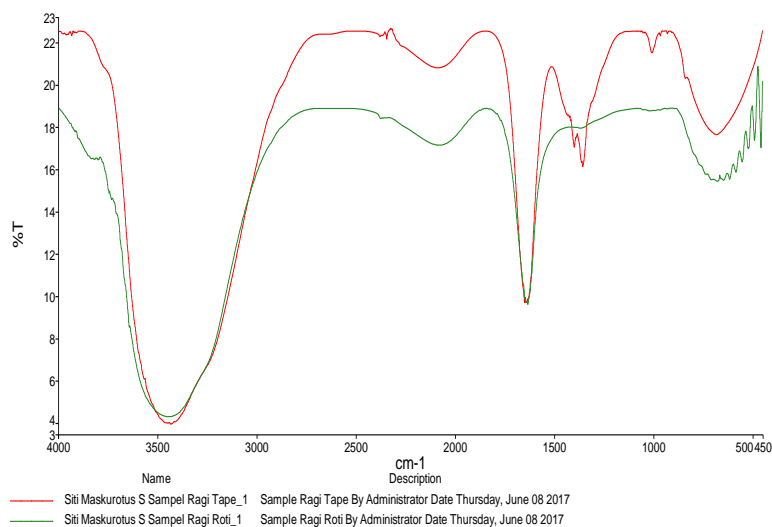
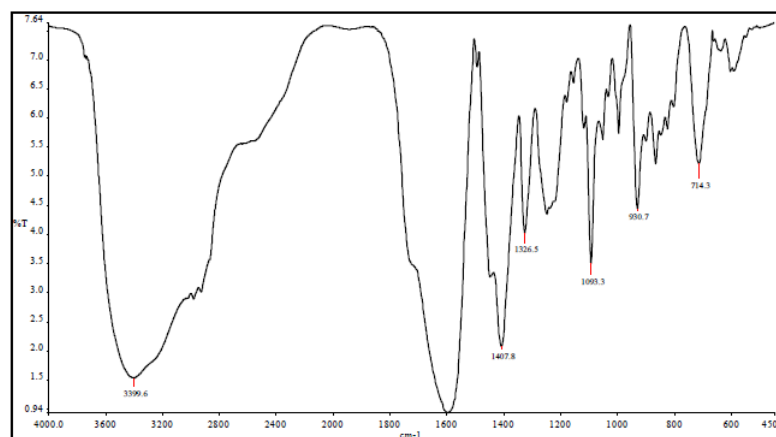
Hasil distilat diuji dengan uji kimia dan fisika, pada uji kimia hasil distilat direaksikan dengan kalium kromat dan diasamkan dengan asam sulfat encer. Pada ragi tape berubah menjadi warna oranye yang semula berwarna kuning, tetapi pada ragi roti tetap berwarna kuning. Uji fisika dilakukan dengan cara meneteskan hasil distilat pada kertas kemudian dibakar, pada ragi tape kertas terbakar sedangkan ragi roti tidak terbakar.

Distilat hasil hidrolisis ini selanjutnya diuji menggunakan instrumen IR untuk mengetahui komponen dalam sampel dilihat dari gugus yang muncul. Di bawah ini Tabel 3 terlampir keterangan gugus serapan dari spektra IR distilat fermentasi menggunakan ragi tape dan ragi roti yang dibandingkan dengan hasil spektrum standar etanol.

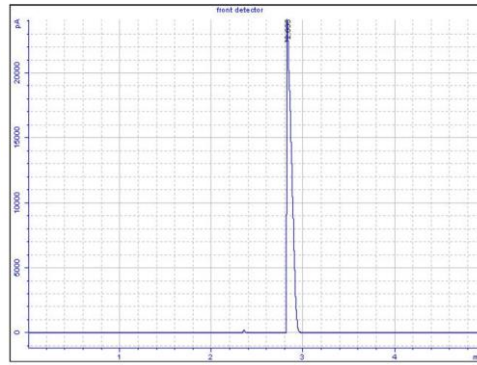
Tabel 3. Serapan gugus spektra IR distilat fermentasi ragi roti & tape

Gugus	Ragi Tape (cm ⁻¹)	Ragi Roti (cm ⁻¹)	Standart etanol (cm ⁻¹)
O—H	3435,96	3444,89	3500-3400
C=C atau C≡N	2091,47	2090,97	-
C=O	1651,27 dan 1639,27	1633,99	1700-1600
tekukan O—H	1357,47 dan 1400,24	-	-
C—O	1008,16	-	1260-1050

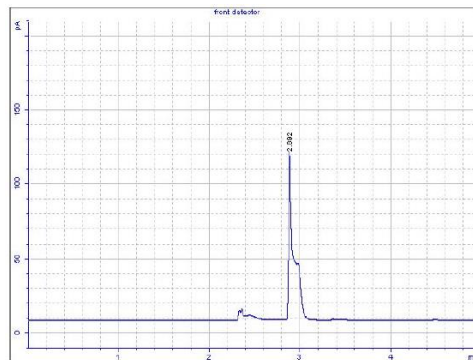
Spektra IR sampel distilat hasil fermentasi glukosa (ragi tape dan ragi roti) dari hidrolisis ditunjukkan pada Gambar 1 dan 2 spektrum standar etanol.

**Gambar 1.** Spektra IR distilat fermentasi ragi roti & tape**Gambar 2.** Spektrum IR dari etanol 99% (Fauzia *et al.*, 2016)

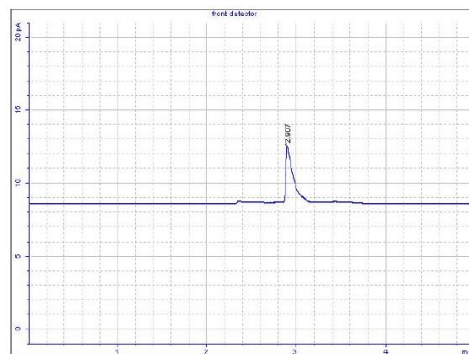
Distilat fermentasi menggunakan ragi tape lebih cenderung mengandung etanol dari pada yang menggunakan ragi roti. Kesimpulan ini didapat dengan cara membandingkan spektrum keduanya dengan spektrum standar etanol. Analisis menggunakan GC dilakukan untuk mengetahui kadar etanol yang terdapat pada hasil distilat hasil fermentasi mengandung etanol. Di bawah ini spektrum uji menggunakan GC dilampirkan Gambar 3 spektrum bioetanol Gambar 4 spektrum distilat menggunakan ragi tape Gambar 5 spektrum distilat menggunakan ragi roti.



Gambar 3. Spektrum GC standar etanol



Gambar 4. Spektrum GC distilat menggunakan ragi tape



Gambar 5. Spektrum GC distilat menggunakan ragi tape

Dari Spektrum analisis GC didapat hasil yang terlampir pada Tabel 5 perbandingan persentasi area antara standar etanol, ragi tape, ragi roti sebagai berikut:

Tabel 4. Hasil analisis menggunakan GC

	Standar etanol	Ragi tape	Ragi roti
Retensi waktu	2,833	2,892	2,907
Width	0,061	0,054	0,091
Luas Area	87106,371	466,831	21,225
Kadar etanol (%)	99,00	0,54	0,02

Tabel 4 dapat dilihat distilat yang menggunakan ragi tape kadar etanol lebih tinggi dari pada distilat yang menggunakan ragi roti. Kadar etanol dari ragi tape 0,54% dan ragi roti 0,02%. Jadi lebih baik menggunakan ragi tape dari pada ragi roti pada proses fermentasi untuk mendapatkan etanol. Kadar etanol pada penelitian ini hanya sedikit mungkin sampel kertas yang digunakan hanya sedikit atau proses hidrolisis belum didapat kadar glukosa yang banyak sehingga hanya sedikit kadar etanol yang didapat.

Simpulan

Kadar filtrat belimbing wuluh 75% untuk perendaman kertas HVS bekas yang paling optimal dan efektif untuk menghilangkan tinta pada kertas. Substrat yang dihasilkan dari proses hidrolisis ketika difermentasi menggunakan ragi tape lebih banyak kadar etanol daripada ragi roti, dibuktikan dengan hasil analisis distilat hasil fermentasi secara fisika dan kimia sama dengan hasil analisis etanol (pa) dan ketika dianalisis menggunakan GC, dan FT-IR diketahui distilat mengandung senyawa etanol.

Daftar Pustaka

- Ariyani, E, E. Kusumo, Supartono. 2013. Produksi Bioetanol dari Jerami Padi (*Oryza sativa L.*). *Indonesian Journal of Chemical Science*, 2(2): 167-172
- Fauzia R.P., A. Mutalib, U.M.S. Sodjanaatmadja, A. Anggraeni, H.H. Bahti. 2016. Modifikasi Metode Sintesis Gadolinium Dietilentriaminpentaasetat sebagai Senyawa Pengontras *Magnetic Resonance Imaging*. *Jurnal Chimica et Natura Acta*, 4(1): 7-15
- Franceschin, G., Favaon, C., Carvalheiro, F., Duarte, L. C., Marques, S., & Bogel. Source for Biofuel Production an Experimental Investigation. *Cheical Engineering Transactions*, 20: 279-284
- Gunam, I.B., K. Buda, I.M.Y.S. Guna. 2010. Pengaruh Perlakuan Delignifikasi dengan Larutan NaOH dan Konsentrasi Substrat Jerami Padi terhadap Produksi Enzim *Selulase* dari *Aspergillus niger* NRRL A-11, 264, *Jurnal Biologi*, XIV: 55-61
- Habibah, F. 2015. Produksi Substrat Fermentasi Bioetanol dari Alga Merah *Gracilaria verrucosa* melalui Hidrolisis Enzimatik dan Kimiawi. *Skripsi*. Universitas Negeri Semarang, Semarang
- Judoamidjojo, M., Abdul A.D., Endang G.S. 2011. *Teknologi Fermentasi*. Jakarta: Rajawali Press
- Kumar, D.A., Gupta, P.K., Garg, N., & Naithani, S. 2012. *Bioethanol Production from Waste Paper Acid Pretreated Hydrolyzate with Xylose Fermenting Pichia Stipitis*. Departement of Microbiology, Kurukshetra University, Kurukshetra, Haryana, India
- Lin, Y., dan S. Tanaka. 2006. Ethanol Fermentation from Biomass Resources: Current State and Prospects. *Appl. Microbiol Biotechnol*, 69:627-642
- Setyawati, H. dan Rahman, N.A. 2011. Pemanfaatan Kulit Pisang sebagai Bahan Baku Bioetanol dengan Proses Hidrolisis Enzimatik. *Sains dan Terapan Kimia*, 5(2): 105-111
- Sun, Y. and Cheng, J., 2002. Hydrolysis of Lignocellulosic Materials for Ethanol Production: A Review. *Bioresource Technology*, 83(1):1-11