

Produksi Bioetanol dari Gulma Eceng Gondok Berbantuan Mikroba dalam Sistem Pencernaan Rayap (*Macrotermes Gilvus*) untuk Meningkatkan Konversi Enzimatik Menuju Indonesia Mandiri 2025

Dewi Susilowati¹✉, Tri Septyaningsih², Purwaningsih², Isni Nurul Chamidah¹, Pinandhita Putri², Niken Subekti¹

¹Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang, Indonesia

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

Info Artikel

Sejarah Artikel:

Diterima February 2016

Disetujui Maret 2016

Dipublikasikan April 2016

Keywords:

bioetanol, gulma eceng gondok, Macrotermes gilvus

Abstrak

Indonesia merupakan Negara dengan tingkat pertumbuhan penduduk yang tinggi. hal tersebut berdampak pada tingginya permintaan akan kebutuhan minyak nasional, yang diprediksi hanya mampu memenuhi kebutuhan energi selama 11 tahun kedepan. Salah satu solusi untuk mengatasi krisis energi yaitu dengan memanfaatkan sumber energi alternatif seperti bioetanol. Selama ini, pengembangan bioetanol berasal dari bahan berpati dan bergula seperti tebu, ubi dan jagung. Padahal bahan-bahan tersebut merupakan sumber pangan yang cukup komersial, sehingga pengembangan bioetanol dari bahan tersebut dapat menimbulkan masalah yang krusial terhadap pemenuhan kebutuhan pangan masyarakat. Oleh karena itu, perlu adanya pertimbangan dalam pemilihan sumber bioetanol yang ramah lingkungan seperti pemanfaatan gulma eceng gondok. Pengembangan bioetanol dari gulma eceng gondok tersebut melalui 4 tahapan yaitu tahan pre-hidrolisis treatment dengan asam sulfat 2%, hidrolisis dengan larutan buffer pH 7, fermentasi dengan memanfaatkan peran mikroba dalam sistem pencernaan rayap *Macrotermes gilvus* untuk mendegradasi selulosa dan destilasi untuk memurnikan bioetanol yang diperoleh. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan 5 kali ulangan. Variabel penelitian ini yaitu konsentrasi bioaktivator (0%, 10%, 20%, 30%, 40% dan 50%) dan lama waktu fermentasi yaitu 48 jam dan 96 jam. Hasil yang diperoleh pada penelitian menunjukkan sampel dengan lama waktu fermentasi 48 jam dan ditambahkan bioaktivator 50% memiliki kadar alkohol yang paling tinggi yaitu 2,2%.

© 2016 Universitas Negeri Semarang

✉ Alamat korespondensi:

Gedung D7 Lantai 1, Sekaran, Semarang, 50229, Indonesia

E-mail: dewiv5376@gmail.com

p-ISSN 2502-1958

PENDAHULUAN

Data Kementerian Energi Sumber Daya Mineral (2015) melaporkan bahwa kebutuhan minyak nasional mencapai 1,4 juta barel perhari. Sementara rata-rata produksi minyak pada tahun 2015 yaitu 783 ribu barel perhari. Angka tersebut mengalami penurunan jika dibandingkan dengan produksi minyak pada tahun 2012 yang mencapai 700-900 ribu barel perhari. Sehingga dimungkinkan cadangan minyak nasional hanya mampu memenuhi kebutuhan sampai tahun 2026 (Tempo edisi 23/09/2015).

Solusi penanganan terhadap ketersediaan sumber energi di Indonesia yaitu pengembangan energi alternatif yang bersifat terbarukan seperti bioetanol. Selama ini, pengembangan bioetanol berasal dari bahan berpati dan bergula. Padahal bahan-bahan tersebut merupakan sumber pangan yang cukup potensial, sehingga pengembangan bioetanol dari bahan tersebut dapat menimbulkan permasalahan krusial terhadap pemenuhan kebutuhan pangan masyarakat (Daud 2012). Oleh karena itu, perlu adanya pertimbangan dalam pemilihan sumber bioetanol yang ramah lingkungan, mudah didapatkan, murah dan tidak bersaing dengan sumber pangan dan pakan (Kurnawan & Angga 2013), seperti gulma eceng gondok.

Bani *et al.* (2015) melaporkan bahwa eceng gondok memiliki kandungan selulosa mencapai 27,78% yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan bioetanol. Namun dalam proses pemanfaatannya perlu adanya perombakan komponen kompleks menjadi komponen sederhana hingga menghasilkan etanol. Grimaldi *et al.* (2013) melaporkan bahwa mikroba simbiosis rayap *Macrotermes gilvus* berpotensi sebagai mikroba perombak selulosa. Pemanfaatan mikroba usus rayap memiliki kelebihan dibandingkan dengan penggunaan *Saccharomyces cerevisiae* diantaranya produktivitas etanol lebih banyak (3-5 kali) dengan *yield* etanol mencapai 97%, toleran terhadap kadar gula tinggi dan waktu

fermentasi yang lebih singkat (Gunasekaran & Raj 1999).

Potensi dari eceng gondok dan mikroba simbiosis rayap *Macrotermes gilvus* pada pembuatan bioetanol dengan metode fermentasi merupakan solusi dalam penanganan krisis energi yang efektif, efisien dan bersifat terbarukan.

METODE

Lokasi penelitian meliputi Rawa Pening (pengambilan sampel daun eceng gondok), Laboratorium Kimia Universitas Kristen Soegijapranata (proses *prehidrolisis*, hidrolisis, pengujian kadar gula pereduksi dan analisis kadar glukosa), Laboratorium Mikrobiologi Universitas Negeri Semarang (tahap fermentasi dan pengukuran kadar alkohol). Penelitian dilakukan selama 5 bulan pada bulan Februari-Juni 2016.

Pengambilan daun eceng gondok segar sebanyak 1/2 karung (± 7 kg) di Rawa Pening, Ambarawa, Semarang. Daun eceng gondok tersebut kemudian dikeringanginkan selama ± 7 hari. Selanjutnya daun kering digiling sehingga diperoleh tepung daun eceng gondok.

Tahap *pre-hidrolisis* dilakukan dengan 100 g tepung daun ditambahkan 1 L larutan 2% H_2SO_4 (1:10). Selanjutnya sampel diautoklaf pada suhu $121^\circ C$ selama 15 menit. Kemudian sampel didinginkan, disaring dan dicuci menggunakan akuabides sebanyak 3-5 kali agar diperoleh pH 7. Selanjutnya *prehidrolisis* kering dihidrolisis dengan melakukan penambahan 1 L larutan buffer pH 7. Kemudian sampel diaduk dengan menggunakan *jat test* selama 48 jam pada suhu $50^\circ C$ dengan kecepatan 160 rpm. Tahap selanjutnya hidrolisis disaring dan filtrat dioven.

Rayap *Macrotermes gilvus* kasta pekerja diambil di Hutan Mini Kampus Universitas Negeri Semarang. Selanjutnya dilakukan pengambilan usus rayap (200 ekor) secara aseptis dan dikumpulkan dalam mikrotub. Pengkulturan dilakukan dengan menambahkan 1 mL aquades dalam mikrotub berisi sudatan usus rayap kemudian disentrifuse 1000 rpm

selama 1 menit. Selanjutnya 0,3 mL aliquot disuspensikan pada medium NA dan dikultur pada suhu 30°C selama 96 jam. Bakteri hasil biakan ditanam dan dikultur pada medium NB selama 48 jam pada suhu 30°C dengan metode Tay *et al.* (2010). Setelah diinkubasi larutan stok bioaktivator dibuat variasi konsentrasi yaitu 0%, 10%, 20%, 30%, 40% dan 50%.

Tahap fermentasi dilakukan dengan penambahan 10 mL bioaktivator (0%, 10%, 20%, 30%, 40% dan 50%) pada 1 g sampel hidrolisat yang dilarutkan dalam 30 mL akuades. Fermentasi ini dilakukan dengan variasi waktu 48 jam dan 96 jam dengan 5 kali ulangan. Selanjutnya dilakukan perhitungan bakteri pada akhir fermentasi dan pengukuran kadar alkohol pada 10 mL larutan hasil fermentasi yang telah distreilkan dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C.

Data yang diambil meliputi pengukuran biomassa daun eceng gondok, pengujian gula pereduksi (uji benedict) dan pengukuran kadar glukosa (spektrofotometer), perhitungan jumlah bakteri fermentasi dan perhitungan kadar alkohol (alkoholmeter).

Data pengukuran biomassa, pengujian gula pereduksi, pengukuran kadar glukosa dianalisis secara deskriptif. Sementara data pengukuran kadar alkohol dan perhitungan jumlah bakteri di uji F (uji anova) dan uji T (uji parsial) untuk mengetahui pengaruh antar variabel. Sementara untuk mengetahui hubungan jumlah bakteri terhadap kadar alkohol dilakukan uji korelasi dan regresi. Pengolahan dan pengujian menggunakan Microsoft Excel 2010.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa gulma eceng gondok dapat diproduksi melalui cara penguraian komponen kompleks lignoselulosa sampel menjadi lebih sederhana sehingga mudah dirombak oleh mikroba pada proses fermentasi. Pada penelitian penguraian komponen kompleks dilakukan secara kimiawi yaitu *prehidrolisis* dengan 2% H₂SO₄ pada suhu 121°C selama 15 menit dan hidrolisis dengan

buffer pH 7 (Das *et al.* 2013). Alfaro *et al.* (2013) menyatakan bahwa *prehidrolisis* dengan 2% H₂SO₄ dapat melarutkan gula, hemiselulosa dan selulosa daun eceng gondok. Sementara perlakuan suhu tinggi 121°C berfungsi memaksimalkan penguraian hemiselulosa sampel, sehingga pada tahap hidrolisis diperoleh hasil hidrolisat dengan kadar glukosa yang tinggi.

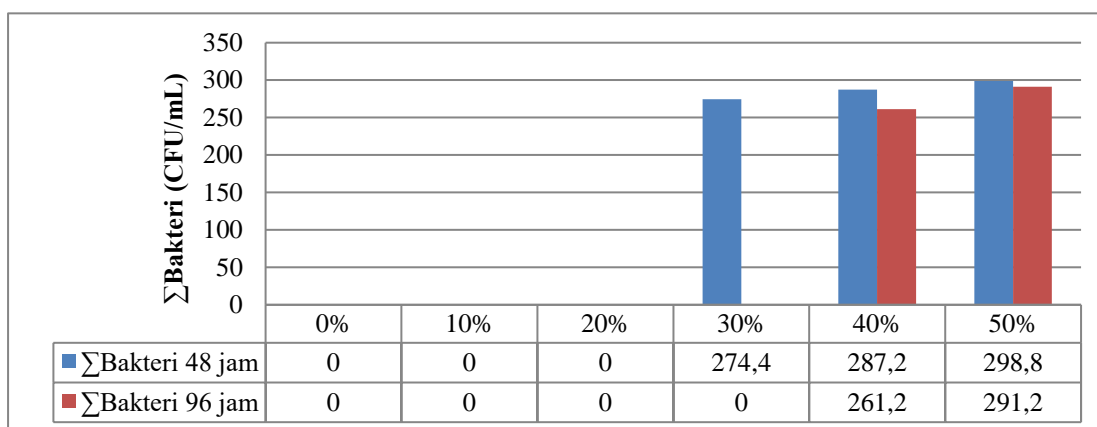
Parameter penguraian komponen kompleks lignoselulosa sampel secara fisik ditunjukkan dengan penurunan biomassa sampel dari proses pengambilan sampel daun segar hingga menjadi sampel hidrolisat, sementara parameter kualitatif dapat ditunjukkan dengan pengukuran kadar glukosa sampel hidrolisat. Data parameter fisik menunjukkan bahwa penurunan biomassa paling tinggi terjadi pada tahap pengambilan daun eceng gondok segar hingga tahap pengeringan yaitu mencapai ±4900 g (3,3%). Hal tersebut karena daun segar memiliki kandungan air 87,0±0.7% yang akan hilang ketika dikeringkan (Bani *et al.* 2015). Sementara pada tahap penggilingan hingga hidrolisis menunjukkan presentase penurunan biomassa yang cenderung tetap yaitu 1,25%-1,3%. Pada tahap penggilingan terjadi perubahan bentuk daun menjadi tepung, sebagaimana dilaporkan Zhu *et al.* (2012) bahwa penggilingan merupakan *pretreatment* fisik dengan memperkecil ukuran dan memperluas permukaan sampel sehingga menurunkan depolarisasi dan pengkristalan selulosa. Tahap *prehidrolisis* terjadi perubahan struktur lignoselulosa menjadi lebih sederhana sehingga mudah dirombak oleh enzim (Bani *et al.* 2015). Data parameter kualitatif menunjukkan bahwa sampel hidrolisat positif ++ (warna hijau) mengandung gula pereduksi pada pengujian benedict dengan kadar glukosa 7,06 (mg/g). Angka tersebut menunjukkan bahwa hemiselulosa sampel tidak dapat terdegradasi secara sempurna, karena pengaruh lama waktu dan terjadi perubahan suhu yang tidak konstan pada perlakuan. Sebagaimana penelitian Alfaro *et al.* (2013) mengenai variasi lama waktu

perlakuan suhu tinggi (15-25 menit) dengan variasi konsentrasi larutan asam H₂SO₄ (1%-3%) terhadap pengukuran gula pereduksi. Hasil penelitian tersebut menunjukkan perlakuan dengan 2% H₂SO₄ pada suhu 121°C selama 20 menit merupakan kondisi optimum dari pengukuran gula pereduksi (33,3 g/L).

Mekanisme pembuatan bioetanol terjadi secara enzimatik dengan memanfaatkan mikroba dalam sistem pencernaan rayap *Macrotermes gilvus*. Sebagaimana dilaporkan Zhu *et al.* (2012) dan Grimaldi *et al.* (2013) bahwa dalam usus rayap terdapat bakteri simbiosis *Firmiculatus*, *Bacteroidetes* dan *Proteobacteria* yang merupakan bakteri selulase. Bakteri tersebut berperan dalam pengkatalisis selulolisis dari selulosa. Selulolisis

tersebut dilaporkan Ni & Tokuda (2013) dapat dibedakan menjadi 3 yaitu (1) endo-β-1,4-glukanase menghidrolisis ikatan selulose secara acak, (2) exoglukanase seperti selodextrinase atau selobiohidrolase mendepolimerisasi ikatan selulosa dari pereduksi atau non pereduksi secara urut, (3) β-glukosidase memecah selo-oligosakarida (khususnya selobiosa) menjadi glukosa bebas.

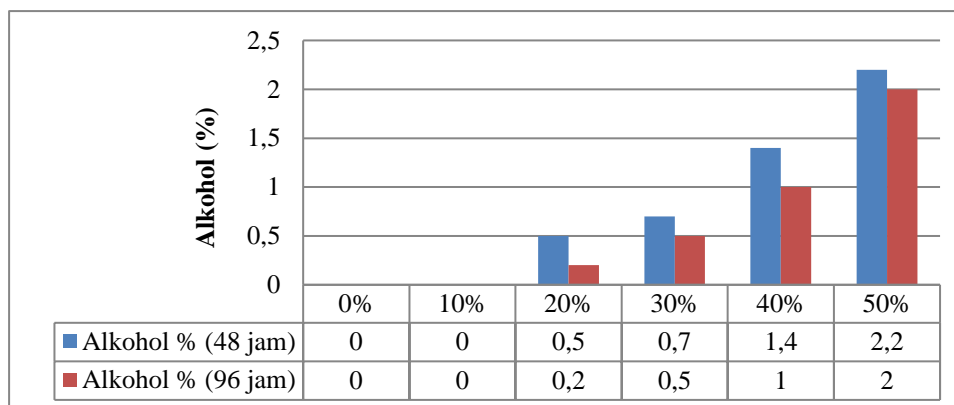
Pada penelitian jumlah bakteri simbiosis rayap yang dimanfaatkan sebagai katalis dalam proses fermentasi berjumlah 208×10⁻⁵ CFU/mL. Penetapan jumlah bakteri tersebut bertujuan untuk mengetahui tingkat pertumbuhan bakteri selama proses fermentasi pada konsentrasi bioaktivator yang berbeda dan lama waktu fermentasi yang berbeda.



Gambar 1. Jumlah total bakteri akhir fermentasi (CFU/mL) dengan konsentrasi bioaktivator mikroba dalam sistem pencernaan rayap *Macrotermes gilvus* Hagen 0%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50% selama 48 jam dan 96 jam.

Berdasarkan analisis data jumlah total bakteri menggunakan uji t, diperoleh nilai F_o adalah 0,39 sedangkan nilai F hitung 0,35. F_o lebih besar daripada F hitung maka H₀ ditolak dan H₁ diterima yang artinya terdapat perbedaan mean perlakuan-mean perlakuan pada Rancangan Blok Random Lengkap dalam penelitian. Selanjutnya dilakukan uji lanjut dengan tabel Anova untuk mengetahui mean perlakuan-mean perlakuan mana yang berbeda. Hasil uji lanjut dengan Anova menunjukkan perbedaan signifikan terdapat pada konsentrasi

40% dengan 50% pada perlakuan lama waktu 48 jam dan 96 jam. Data hasil perhitungan bakteri menunjukkan bahwa jumlah total bakteri pada lama waktu fermentasi 48 jam lebih tinggi daripada jumlah total bakteri pada lama waktu fermentasi 96 jam. Hal tersebut karena pada lama waktu 48 jam bakteri fermentasi memasuki fase log. Pada fase tersebut bakteri membelah dengan cepat dan konstan mengikuti kurva lagartmik. Sementara pada lama waktu 96 jam pertumbuhan bakteri mulai memasuki masa pertumbuhan lambat.



Gambar 2. Kadar alkohol (%) dengan konsentrasi bioaktivator mikroba dalam sistem pencernaan rayap *Macrotermes gilvus* Hagen 0%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50% selama 48 jam dan 96 jam.

Berdasarkan analisis data kadar alkohol menggunakan uji t, diperoleh nilai F_0 adalah 0,39 sedangkan nilai F hitung 0,36. F_0 lebih besar daripada F hitung maka H_0 ditolak dan H_1 diterima yang artinya terdapat perbedaan mean perlakuan-mean perlakuan pada Rancangan Blok Random Lengkap dalam penelitian. Selanjutnya dilakukan uji lanjut dengan tabel Anova untuk mengetahui mean perlakuan-mean perlakuan mana yang berbeda. Hasil uji lanjut dengan Anova menunjukkan terjadi perbedaan secara nyata antar konsentrasi kecuali konsentrasi 0% dan 10% pada perlakuan lama waktu 48 jam dan 96 jam yang menunjukkan kadar alkohol 0%.

Hasil analisis hubungan jumlah total bakteri fermentasi dengan kadar alkohol diperoleh nilai korelasi 0,86 dan persamaan regresi $Y=0,04x+1,6$. Nilai korelasi tersebut mengindikasikan hubungan yang kuat antara jumlah total bakteri fermentasi dengan kadar alkohol yang diperoleh, sebagaimana dapat dilihat pada tabel penafsiran koefisien korelasi (Terlampir). Data hasil penelitian menunjukkan kadar alkohol tertinggi yaitu 2,2% pada konsentrasi bioaktivator 50% yang difermentasi selama 48 jam, dengan jumlah total bakteri fermentasi mencapai 298,8 CFU/mL.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan tersebut dapat disimpulkan bahwa

bioetanol dari gulma eceng gondok dapat dihasilkan dengan cara perombak komponen lignoselulosa menjadi komponen glukosa. Bioetanol dibuat melalui mekanisme fermentasi gulma eceng gondok dengan penambahan mikroba dalam sistem pencernaan rayap. Konsentrasi bioaktivator yang efektif digunakan pada proses fermentasi yaitu 50% dengan kadar alkohol $\pm 2,8\%$ dalam 10 ml sampel.

DAFTAR PUSTAKA

- [ESDM] Energi Sumber Daya Mineral. 2015. Migas. <http://esdm.go.id> [23 Oktober 2015]
- Alfaro JGR, Lizeth TTD, Gisella AL, Hader ICP & Angel DPC. 2013. Acid Hydrolysis of Water Hyacinth to Obtain Fermentable Sugars. *CT&F Ciencia, Tecnologia y Futura* 5(2): 101-112.
- Bani O, Taslim, Irvan & Iriany. 2015. Process Selection on Bioethanol Production from Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*). *Journal of Engineering Science & Technology* 5(1): 29-39.
- Das A, Priyanka G, Tanmay, Uma G, Bikas RP & Keshab CM. 2016. Production of bioethanol as useful biofuel through the bioconversion of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). *3 Biotech* 6:70.
- Daud M, Wasrin S & Khaswar S. 2012. Bioconversion of Lignocellulosic Materials to Bioethanol Using *Aspergillus*

- niger and *Saccharomyces cerevisiae*. *Jurnal Parennial*.
- Grimaldi DB, Marcelo NM, Ricardo PV, Alexander M C, Aline ST, Cynthia BS, Rodolpho MA, Suzete BN, Elói SG, Wanderley de S, Orlando B M and Ednildo AM. 2013. Bacterial community composition shifts in the gut of *Periplaneta americana* fed on different lignocellulosic materials. *A Springer Open Journal*. 2:609.
- Gunasekaran P & Raj KC. 1999. Fermentation Technology *Zymomonas mobilis*. Department of microbial Technology. School of Biological Sciences. India: Mandural Kamaraj University.
- Kurnawan E & Angga D. 2013. Jerami Padi (*Oryza sativa*) Agen Penghasil Bahan Bakar Nabati (BBN) Terbarukan Sebagai Solusi Alternatif Bahan Bakar Minyak (BBM) Untuk Membangun Kalimantan Barat yang Mandiri dan Bebas Emisi. Pontianak: Utan press.
- Manivannan A, P Hepsibha J & RT Narendhirakannan. 2012. Enhanced Acid Hydrolysis for Bioethanol Production from Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*) Using Fermenting Yeast *Candida intermedia* NRRL Y-981. *Journal of Scientific & Industrial Research* 71: 51-56.
- Pothiraj C, Ramasubramanian A & Muthukrishnan G. 2014. Sustaining Ethanol Production from Lime Pretreated Water Hyacinth Biomass Using Mono and Co-Cultures of Isolated Fungal Strains with *Pichia stipitis*. *Bioresources and Bioprocessing* 1: 27.
- Tay BY, Lokesh BE, Lee CY, Sudesh K. 2010. Polyhydroxyalkanoate (PHA) Accumulating Bacteria From The Gut of Higher Termite *Macrotermes carbonarius* (Blattodea : Termitidae). *Journal Microbiology Biotechnology*. 26 (6): 1015-1024.
- Tempo. 2015. 2026, Cadangan Minyak Nasional Bakal Habis. Edisi 23/09/2015.
- Yanuar B & Apip A. 2015. Uji Eksperimental Kadar Bioetanol Eceng Gondok Hasil Destilasi dengan Variasi Waktu Fermentasi. *SNTTM XIV*.
- Zhu Y, Jian L, Huhu L, Hui Y, Sheng X, Fei Z, Xuejia Z, Yun T & Xiangyang L. 2012. Phylogenetic Analysis of The Gut Bacterial Microflora of The Fungus-Growing Termite *Macrotermes barneyi*. *African Journal of Microbiology Research* 6(9):2071-2078.