

STUDI LITERATUR PERBANDINGAN PRODUKSI *CRUDE* SELULASE DARI BAHAN BERLIGNOSELULOSA UNTUK PEMBUATAN BIOETANOL

Nikmatul Hasanah, Ifan Nida Nusha Nalaway, Sri Rulianah
Jurusan Teknik Kimia, Politeknik Negeri Malang, Jl. Soekarno Hatta No. 9, Malang, Indonesia
nikmatul12101999@gmail.com, [rulianahpolinema@yahoo.com]

ABSTRAK

Bahan berlignoselulosa yaitu biomassa dari tanaman yang memiliki komponen utama selulosa dan hemiselulosa. Karena memiliki kandungan selulosa yang cukup tinggi, maka bahan berlignoselulosa dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku produksi *crude* selulase dengan bantuan kapang. *Crude* selulase dapat diaplikasikan dalam pembuatan bioetanol. Tujuan studi literatur ini adalah untuk membandingkan produksi *crude* selulase dari bahan berlignoselulosa dengan kapang. Selain itu, juga bertujuan untuk membandingkan pembuatan bioetanol dari bahan berlignoselulosa menggunakan metode *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF) dengan hidrolisis enzimatis. Berdasarkan studi literatur yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa adanya pengaruh kandungan lignoselulosa bahan, waktu inkubasi, dan konsentrasi substrat terhadap aktivitas enzim yang dihasilkan. Nilai aktivitas enzim paling tinggi yaitu ditunjukkan pada produksi *crude* selulase dari ampas tebu menggunakan kapang *Phanerochaete chrysosporium* dengan kondisi terbaik yaitu waktu inkubasi 17 hari dan konsentrasi substrat 7% sebesar 91,304 U/mL. Studi literatur mengenai pembuatan bioetanol dapat disimpulkan bahwa penambahan *crude* selulase dan waktu inkubasi berpengaruh terhadap kadar etanol yang dihasilkan. Kadar etanol tertinggi sebesar 11,04% dari *bagasse* menggunakan *crude* selulase *Phanerochaete chrysosporium* pada penambahan 50% dan waktu fermentasi 144 jam.

Kata kunci: Bioetanol, *crude* selulase, kapang, lignoselulosa, SSF

ABSTRACT

Lignocellulosic materials are biomass derived from plants with the main components of cellulose and hemicellulose. As it has a high content of cellulose, lignocellulose materials can have used as raw materials for the production of crude cellulase with the help of fungi. Crude cellulase could have used to make bioethanol. This literature study aimed to compare the production of crude cellulase from lignocellulosic material. It has produced using fungi. We also examined the bioethanol production using Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF). This method has used with enzymatic hydrolysis. Based on literature studies that have carried out concluded that the influence of the lignocellulosic content of the material, incubation time, and substrate concentration on the activity of the enzymes produced. The highest value of enzyme activity is shown in the production of crude cellulase from bagasse using Phanerochaete chrysosporium fungi with the best conditions, which is 17 days incubation time and 7% substrate concentration of 91.304 U/mL. A literature study on bioethanol production concluded that the addition of crude cellulase and incubation time affect the ethanol content produced. The highest ethanol content was 11.04% of bagasse using Phanerochaete chrysosporium crude cellulase at 50% addition and 144 hour fermentation time.

Keywords: Bioethanol, *crude* cellulase, fungi, lignocellulosic, SSF

1. PENDAHULUAN

Jumlah penduduk Indonesia mengalami peningkatan sebanyak 15,37% dalam 10 tahun atau rata-rata 1,54% per tahun [1]. Kondisi tersebut berbanding terbalik dengan ketersediaan sumber minyak bumi di Indonesia. Berdasarkan data British Petroleum, cadangan minyak Indonesia menunjukkan tren penurunan dari tahun ke tahun. Tahun 1980, cadangan minyak Indonesia mencapai 11,6 miliar barel namun pada 2017 hanya 3,17 miliar barel [2]. Oleh karena itu, pengembangan dan penggunaan bahan bakar alternatif dari sumber daya alam terbarukan menjadi salah satu pilihan yang dapat digunakan. Sumber daya alam terbarukan yang saat ini dapat dikembangkan di Indonesia adalah bioetanol. Bioetanol dapat diproduksi dengan lignoselulosa sebagai bahan bakunya. Bahan lignoselulosa merupakan biomassa dari tanaman yang mempunyai komponen utama selulosa, hemiselulosa, dan lignin [3].

Karakteristik lignoselulosa dari kayu keras yaitu mengandung hemiselulosa (25-40%), selulosa (46-47%), dan lignin (20-25%), sedangkan pada kayu lunak terdiri dari 25-29% hemiselulosa, 40-45% selulosa, dan 30-60% lignin. Kandungan selulosa yang lebih tinggi terdapat pada *bagasse* sebesar 52,7% dengan kandungan hemiselulosa 20% dan 24,2% lignin [4]. Bahan berlignoselulosa lainnya seperti jerami, limbah perkebunan, rerumputan, dan kertas koran masing-masing memiliki kandungan hemiselulosa berkisar 25-50%, selulosa 25-50%, dan lignin 5-30% [4]. Dengan demikian, karena memiliki kandungan selulosa cukup tinggi, maka limbah dari bahan berlignoselulosa berpotensi sebagai bahan baku produksi *crude* selulase yang diaplikasikan dalam pembuatan bioetanol.

Proses pengolahan serbuk kayu menjadi bioetanol dapat dilakukan menggunakan metode *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF). Proses sakarifikasi (hidrolisis) selulosa dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu menggunakan asam kuat dan enzim. Sakarifikasi menggunakan enzim lebih diminati karena ramah lingkungan, dapat dilakukan pada suhu ruang dan tekanan rendah, serta produk yang dihasilkan lebih spesifik [5]. Fermentasi gula pereduksi menjadi etanol dilakukan dengan menggunakan ragi *S. Cerevisiae*. Kendala sakarifikasi serbuk kayu dengan cara enzimatik adalah rendahnya laju hidrolisis akibat rendahnya aksesibilitas selulosa oleh selulase [5].

Enzim selulase dapat diproduksi oleh jamur, bakteri, tumbuhan, dan hewan ruminansia. Berdasarkan penelitian sebelumnya, beberapa jamur yang digunakan dalam produksi selulase adalah *Aspergillus niger*, *Pleoretus chrysosporium*, *Trametes versicolor*, dan *Phanerochaete chrysosporium* [5-8]. Penelitian sebelumnya dalam produksi enzim selulase oleh *Aspergillus niger* dari serbuk kayu jati disimpulkan bahwa waktu inkubasi atau waktu fermentasi pada produksi enzim selulase dari serbuk kayu jati menggunakan *Aspergillus niger* akan berpengaruh pada regenerasi biomassa sel dari fase adaptasi, eksponensial, stasioner, dan kematian. Hal tersebut akan mempengaruhi jumlah enzim selulase yang dihasilkan oleh sel-sel *Aspergillus niger* pada setiap fasenya [6]. Sementara itu, dalam pembuatan *crude* selulase dari serbuk kayu mahoni menggunakan kapang *Phanerochaete chrysosporium* menunjukkan aktivitas *crude* selulase tertinggi sebesar 39,034 U/mL serta penurunan kadar lignin sebesar 54,847% pada penambahan substrat 7% dan waktu inkubasi selama 17 hari [8].

Metode *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF) juga telah berhasil diterapkan pada proses produksi bioetanol dari kayu. Penerapan metode *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF) ini telah terbukti lebih ekonomis dibandingkan

dengan metode *Separate Hydrolysis and Fermentation* (SHF). Hasil penelitian sebelumnya pada pembuatan bioetanol dari limbah kayu sengon dengan perlakuan enzimatis menggunakan metode *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF) menghasilkan kadar etanol 0,79% dan *yield* 8,98% dengan volume etanol 163,20 liter/ton [9].

Oleh karena itu, berdasarkan penelitian-pelitan sebelumnya, kajian ini dilakukan untuk membandingkan hasil produksi *crude* selulase dari bahan berlignoselulosa menggunakan kapang berdasarkan kondisi terbaik yang dipengaruhi oleh variasi waktu inkubasi, jumlah substrat, dan *Saccharomyces cerevisiae* dalam pembuatan bioetanol dengan metode *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF) yang akan dikaji dari beberapa jurnal. Sehingga dari studi literatur ini dapat disimpulkan bagaimana kondisi terbaik berdasarkan waktu inkubasi dan jumlah substrat yang digunakan untuk pembuatan *crude* selulase dari bahan berlignoselulosa menggunakan kapang serta kondisi terbaik pada pembuatan bioetanol berdasarkan jumlah *crude* selulase dan *Saccharomyces cerevisiae* yang digunakan.

2. METODOLOGI PENELITIAN

Metode studi literatur ini dilakukan dengan melakukan kajian beberapa jurnal dengan membandingkan hasil penelitian jurnal-jurnal pembuatan *crude* selulase dari bahan berlignoselulosa dengan kapang serta membandingkan produksi bioetanol menggunakan metode SSF dengan hidrolisis enzimatis. Tahapan-tahapan dalam studi literatur ini adalah:

- a) *Searching*, yaitu pengumpulan data dengan *searching* atau mencari dan mendapatkan artikel dari berbagai sumber jurnal nasional maupun internasional secara *online*.
- b) Studi Pustaka, dilakukan dengan cara merangkum atau melakukan *resume* dari masing-masing jurnal untuk mendapatkan informasi tentang isi masing-masing jurnal yang terdiri dari latar belakang, tujuan, metodologi, hasil, dan kesimpulan.
- c) Komparasi/Perbandingan, setelah mendapatkan informasi tentang isi jurnal, selanjutnya adalah membandingkan antar jurnal yang menyangkut metode, variabel dan parameter yang digunakan, hasil, serta kesimpulan.
- d) Kesimpulan, yaitu menarik suatu kesimpulan dari hasil membandingkan antar jurnal.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Pembuatan Crude Selulase dari Bahan Berlignoselulosa Menggunakan Kapang

Berikut adalah hasil aktivitas enzim pada pembuatan *crude* selulase dari ampas tebu menggunakan berbagai kapang berdasarkan *review* beberapa jurnal yang diringkas dalam tabel berikut. Tabel 1 menunjukkan bahwa hasil pembuatan *crude* selulase dari ampas tebu yang paling baik adalah menggunakan kapang *Phanerochaete chrysosporium* [10]. Hal ini dikarenakan *Phanerochaete chrysosporium* dapat menghasilkan enzim yang mampu mendegradasi lignin, selulosa, dan hemiselulosa [14].

Tabel 1. Hasil aktivitas enzim dari ampas tebu menggunakan berbagai Kapang

Jenis Kapang	Perlakuan Pendahuluan	Jumlah Inokulum (%)	Waktu Inkubasi (hari)	Jumlah Bahan Baku (% b/v)	Aktivitas Enzim (U/mL)	Sumber
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	-	10 (v/v)	17	7	91,304	[10]
<i>Aspergillus niger</i>	-	10 (v/v)	9	2	0,747	[11]
<i>Aspergillus niger</i>	pretreatment secara biologis dengan jamur Shiitake	2 (v/v)	9	2	0,0631	[12]
<i>Trichoderma viride</i>	Delignifikasi dengan NaOH	10 (b/v)	7	3	0,771	[13]

Aktivitas enzim yang dihasilkan dipengaruhi oleh kandungan lignin bahan karena akan mengganggu proses produksi *crude* selulase. Lignin berfungsi untuk menahan masuknya air dan bahan-bahan lain dari luar biomassa. Lignin memiliki struktur amorf, membungkus hemiselulosa dan selulosa, sehingga supaya selulosa dapat dimanfaatkan dengan baik, maka lignin pada bahan harus dihilangkan. Hal yang dilakukan untuk mengurangi kadar lignin biomassa disebut delignifikasi. Delignifikasi dapat dilakukan dengan berbagai cara, yaitu secara kimia, biologi, dan fisik. Kelebihan dari kapang *Phanerochaete chrysosporium*, selain mampu memutus ikatan selulosa, juga mampu mendegradasi lignin, sehingga dalam pembuatan *crude* selulase menggunakan kapang *Phanerochaete chrysosporium* tidak memerlukan proses delignifikasi lanjutan, cukup dengan *size reduction* [8]. Hal ini berbeda dengan produksi *crude* selulase menggunakan *Aspergillus niger* dan *Trichoderma viride* yang memerlukan proses delignifikasi secara biologi maupun kimia untuk mendegradasi kadar lignin pada bahan [12,13].

Kemampuan *Phanerochaete chrysosporium* dalam mendegradasi lignin (kayu mahoni) pada penelitian sebelumnya menyimpulkan bahwa semakin lama waktu fermentasi dan semakin sedikit substrat yang ditambahkan, maka semakin besar penurunan kadar lignin yang dihasilkan. Hasil yang terbaik yaitu penurunan kadar lignin sebesar 85,33% diperoleh pada waktu fermentasi 17 hari dengan penambahan 5% serbuk kayu mahoni [14]. Terjadinya penurunan kandungan lignin dikarenakan *Phanerochaete chrysosporium* mencapai fase lignolitik dan segera mendegradasi lignin secara efektif dengan cara menghasilkan enzim periksidase ekstraseluler yang berupa lignin peroksidase (LiP) dan mangan peroksidase (MnP). Apabila dilihat dari jumlah substrat kayu mahoni yang ditambahkan, maka semakin kecil jumlah substrat yang ditambahkan semakin besar persentase penurunan kadar lignin yang dihasilkan. Hal ini terjadi karena semakin kecil jumlah substrat yang ditambahkan, semakin cepat degradasi yang dilakukan oleh *Phanerochaete chrysosporium*, sehingga proses degradasi lignin semakin efektif [14].

Azmi Azhari, dkk. [7] melakukan penelitian dengan membandingkan kecepatan degradasi lignin (lindi hitam) oleh *P. chrysosporium* dan *Trametes versicolor*. Media yang digunakan dalam uji ini berisi PDA yang ditambahkan lindi hitam. Degradasi lignin yang

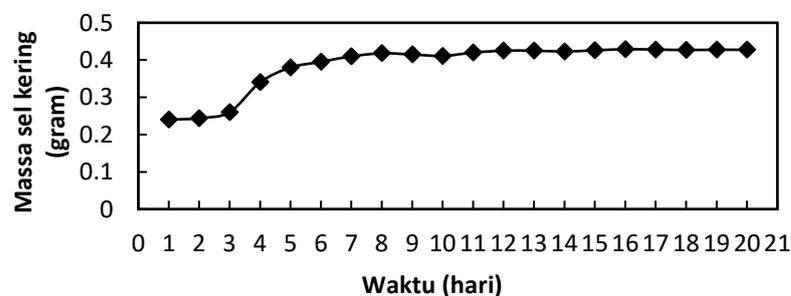
ditunjukkan pada Gambar 1 disertai dengan adanya perubahan warna coklat menjadi coklat keputihan. Warna putih ini dipengaruhi oleh hifa putih kedua jamur tersebut yang menutupi media PDA yang mengandung lindi hitam, namun warna yang lebih terang mengindikasikan terjadinya kemampuan degradasi lignin sampai hari kedua puluh.



Gambar 1. Degradasi lignin setelah inkubasi selama 20 hari menggunakan *P. chrysosporium* (A) dan *T.versicolor* (B) dibandingkan kontrol [7]

Berdasarkan pengamatan pada Gambar 1, cawan Petri yang ditumbuhi *T. versicolor* mengalami perubahan warna lebih terang dibandingkan *P. chrysosporium*. Adanya perbedaan perubahan warna ini mendasari digunakannya isolat *T. versicolor* untuk mendelignifikasi batang kayu sengon yang dilakukan selama 20 hari. Tetapi kadar lignin dari batang kayu sengon hanya mengalami penurunan sebesar 37.31% [7] yang berarti penurunan kadar lignin menggunakan *Phanerochaete chrysosporium* lebih tinggi (85,335%) [14]. Sehingga *Phanerochaete chrysosporium* menjadi pilihan terbaik untuk delignifikasi lignin dikarenakan kemampuan dalam degradasi lignin yang tinggi dan minimal dalam memanfaatkan polimer selulosa dibanding fungi pelapuk putih lainnya [14].

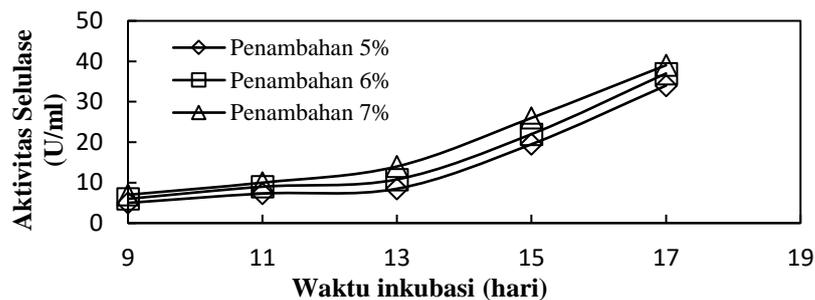
Berdasarkan Tabel 1, juga dapat diketahui bahwa aktivitas enzim yang dihasilkan oleh masing-masing mikroba berbeda-beda. Hal ini dikarenakan mikroorganisme mempunyai masa pertumbuhan yang bervariasi. Masa pertumbuhan terdiri dari beberapa fase yaitu: a) Fase lag, yaitu fase penyesuaian sel-sel dengan lingkungan pembentukan enzim-enzim untuk mengurai substrat; b) Fase eksponensial, yaitu fase perbanyak jumlah sel di mana aktivitas sel sangat meningkat; c) Fase stasioner, yaitu fase dengan jumlah sel yang bertambah dan jumlah sel yang mati relatif seimbang di mana senyawa metabolit sekunder dapat dipanen; d) Fase kematian, yaitu fase dengan jumlah sel yang mati lebih banyak daripada jumlah sel yang hidup [15]. Kurva pertumbuhan Kapang *Phanerochaete chrysosporium* sebagai berikut:



Gambar 2. Kurva Pertumbuhan *Phanerochaete chrysosporium* pada media kayu mahoni [8]

Gambar 2 menunjukkan bahwa fase lag *Phanerochaete chrysosporium* terjadi mulai hari ke-1 hingga ke-3, fase log dimulai dari hari ke-3 hingga ke-5, dan fase stasioner dimulai dari hari ke-6 sampai hari ke-20 masih berlangsung. Pada hari ke-6, fase log *Phanerochaete*

chryso sporium berakhir dan memulai fase stasioner. Kondisi ini menunjukkan bahwa mulai hari ke-6 kapang tersebut sudah memulai untuk memproduksi enzim-enzim yang bisa mendegradasi lignin, selulosa, dan hemiselulosa [8]. Hal ini dikarenakan pada fase stasioner dihasilkan metabolit sekunder yang mengaktifasi keadaan lignolitik *Phanerochaete chryso sporium* [10]. Oleh karena itu, proses produksi metabolit sekunder dimulai dari hari ke-6 hingga ke-20 [8]. Keadaan ini dibuktikan pada produksi *crude* selulase dari kayu mahoni dengan variasi waktu inkubasi 9, 11, 13, 15, dan 17 hari dengan diperoleh data aktivitas enzim dimulai pada hari ke-9 tidak sama dengan nol yang berarti adanya produksi enzim (Gambar 3). Pada hari ke 20 belum menunjukkan tanda-tanda adanya fase kematian, sehingga perlu



dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui sampai berapa lama fase stasioner berlangsung [8].

Gambar 3. Pengaruh waktu fermentasi dan konsentrasi penambahan kayu mahoni terhadap aktivitas *crude* selulase yang dihasilkan [8]

Hasil penelitian terbaik (Tabel 1) ditunjukkan dari produksi *crude* selulase menggunakan Kapang *Phanerochaete chryso sporium* dari ampas tebu yang diperoleh pada waktu fermentasi 17 hari dan konsentrasi penambahan substrat 7% dengan aktivitas sebesar 91,304 U/mL [10]. Pada kondisi yang sama, nilai aktivitas enzim dari ampas tebu jauh lebih tinggi daripada dari kayu mahoni menggunakan *Phanerochaete chryso sporium*. Hasil penelitian menunjukkan kondisi operasi terbaik diperoleh pada waktu inkubasi selama 17 hari, dan jumlah penambahan serbuk kayu mahoni 7% , diperoleh aktivitas *crude* selulase sebesar 39,034 U/ml [8]. Perbedaan hasil ini juga dipengaruhi oleh kandungan lignoselulosa pada kedua bahan yang dapat terlihat pada tabel berikut:

Tabel 2. Perbandingan karakteristik selulosa dan aktivitas enzim menggunakan Kapang *Phanerchaete chryso sporium*

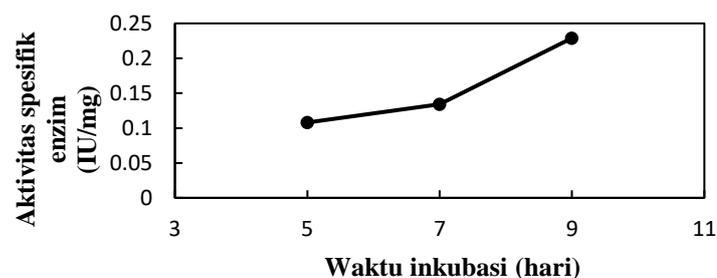
Bahan berlignoselulosa	Kadar hemiselulosa (%)	Kadar lignin (%)	Kadar selulosa (%)	Aktivitas enzim (U/mL)	Sumber
Ampas tebu	20	24,2	52,7	91,304	[10]
Kayu mahoni	22,05	42,72	42,61	39,034	[8]

Berdasarkan Tabel 2 dapat dilihat bahwa kadar hemiselulosa dan lignin ampas tebu lebih rendah daripada yang terdapat pada kayu mahoni dan kadar selulosa ampas tebu lebih tinggi daripada kayu mahoni. Keadaan tersebut menyebabkan nilai aktivitas enzim pada ampas tebu lebih tinggi daripada kayu mahoni. Hal ini dikarenakan secara fisik lignin

membungkus mikrofibril dalam suatu matriks hidrofobik dan terikat secara kovalen dengan hemiselulosa. Hubungan antara lignin karbohidrat ini berperan dalam mencegah hidrolisis polimer selulosa [14]. Hal ini berarti rendahnya kadar lignin dan hemiselulosa akan memudahkan proses hidrolisis selulosa. Semakin besar kadar selulosa maka semakin tinggi nilai aktivitas enzimnya, sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyimpulkan bahwa semakin besar konsentrasi substrat, maka semakin tinggi aktivitas enzim yang dihasilkan dengan batasan variabel 5%, 6% dan 7%. Jika persentase penambahan substrat terus diperbesar maka akan terjadi penambahan aktivitas [10]. Hasil tersebut selaras dengan penelitian menggunakan *T. viride* yang menunjukkan nilai aktivitas enzim tertinggi pada penambahan substrat 3% dari batasan variabel 1%, 2%, dan 3%. Hal ini dikarenakan semakin tinggi substrat maka hidrolisis substrat oleh *T. viride* akan meningkat, sehingga semakin banyak selulase yang dihasilkan. Namun, apabila substrat terlalu besar bisa menjadi penghambat bagi enzim, sehingga perlu dicari kondisi yang optimum [11]. Ketika penambahan substrat melebihi titik optimal, maka terjadi kompetisi antara bagian aktif substrat dalam memperebutkan sisi afinitas enzim dan terjadi penghambatan pada proses penggabungan enzim-substrat. Bila terjadi demikian, maka aktivitas enzim yang terukur menjadi rendah karena proses pengikatan enzim-substrat tidak lagi berlangsung efisien, yang disebut dengan *substrate inhibition* [10].

Dari penelitian yang telah dilakukan, juga disimpulkan bahwa semakin lama waktu inkubasi, maka semakin tinggi hasil aktivitas *crude* selulase yang dihasilkan [8,10,12]. Peningkatan aktivitas enzim tersebut menunjukkan semakin lama waktu inkubasi hingga mencapai waktu inkubasi optimum menyebabkan semakin lama enzim selulase menghidrolisis substrat ampas tebu untuk menghasilkan produk glukosa. Semakin banyak produk glukosa yang dihasilkan menunjukkan semakin meningkatnya aktivitas spesifik enzim selulase [12].

Berdasarkan hasil penelitian menggunakan *Aspergillus niger* menunjukkan kondisi optimum dengan waktu inkubasi 9 hari dari perlakuan berubah 5, 7, dan 9 hari dengan aktivitas enzim sebesar 0,0631 U/mL [12]. Hal ini menunjukkan bahwa kontak antara sisi aktif enzim selulase dengan substrat ampas tebu yang optimum pada waktu inkubasi 9 hari. Aktivitas spesifik enzim selulase terus meningkat dari waktu inkubasi hari ke-5 hingga ke-9. Peningkatan aktivitas spesifik enzim tersebut menunjukkan semakin lama waktu inkubasi (hingga mencapai waktu inkubasi optimum), maka semakin baik enzim selulase menghidrolisis substrat ampas tebu dalam memproduksi glukosa. Semakin banyak produk glukosa yang dihasilkan menunjukkan semakin meningkatnya aktivitas spesifik enzim selulase [12].



Gambar 4. Aktivitas spesifik enzim (U/mg) *A. niger* FNCC 6018 pada tiap variasi perlakuan waktu inkubasi [12]

Dengan demikian, apabila dibandingkan, degradasi lignin dan produksi *crude* selulase menggunakan *Phanerochaete chrysosporium* memiliki nilai aktivitas enzim yang lebih tinggi daripada produksi *crude* selulase menggunakan *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride*, atau *Trametes versicolor*. Aktivitas enzim juga dipengaruhi oleh waktu inkubasi, karakteristik bahan (kadar lignin, hemiselulosa, dan selulosa), serta penambahan substrat. Hasil penelitian terbaik ditunjukkan dari produksi *crude* selulase menggunakan Kapang *Phanerochaete chrysosporium* dari ampas tebu yang diperoleh pada waktu fermentasi 17 hari dan konsentrasi penambahan substrat 7% dengan aktivitas sebesar 91,304 U/mL. Oleh karena itu, apabila ke depan dilakukan penelitian produksi *crude* selulase dari limbah serbuk kayu jati dan sengon untuk hasil yang lebih baik, disarankan menggunakan kapang *Phanerochaete chrysosporium* dengan waktu inkubasi yang lebih lama (lebih dari 17 hari) karena dalam penelitian Rulianah, dkk. [10] menunjukkan bahwa waktu terbaik yaitu 17 hari, sedangkan pada kurva pertumbuhan sampai dengan hari ke 20 menunjukkan fase stasioner masih tetap berlangsung. Dengan demikian perlu adanya percobaan variasi waktu inkubasi yang lebih lama agar didapatkan nilai aktivitas enzim selulase yang lebih optimum. Pada penelitian menggunakan kapang *Phanerochaete chrysosporium* menunjukkan bahwa semakin besar penambahan substrat yang mengandung selulosa akan semakin menaikkan aktivitas enzim selulosa yang dihasilkan. Berdasarkan hal tersebut, diusulkan melakukan penelitian produksi enzim selulase menggunakan kayu jati yang memiliki kandungan selulosa sebesar 46,72-50,90% yang lebih tinggi dari selulosa kayu sengon (41,1%).

3.2. Produksi Bioetanol dari bahan berlignoselulosa menggunakan metode Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF) dengan hidrolisis enzimatis

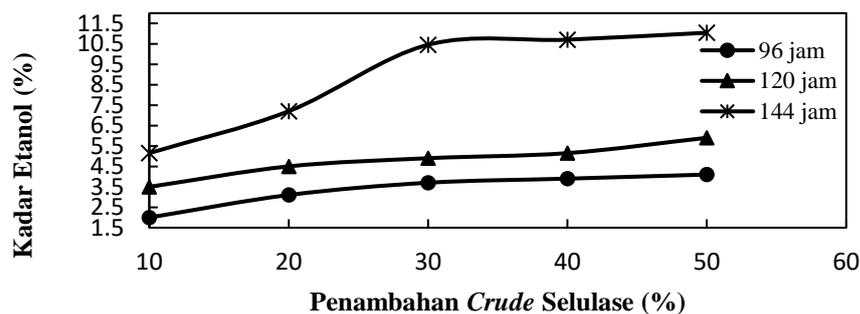
Hasil *review* jurnal pembuatan bioetanol diringkas dalam tabel berikut :

Tabel 3. Hasil *review* jurnal pembuatan bioetanol bahan berlignoselulosa

Bahan Baku	Penghasil <i>Crude</i> Selulase	Jumlah Substrat (g)	Jumlah <i>Crude</i> Selulase (%)	Waktu Inku basi (Jam)	Jumlah Yeast (g)	Kadar Etanol (%)	Sum ber
Baggase	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	8	50	96	2	9,22	[16]
Tandan Kosong Kelapa Sawit	<i>Aspergillus niger</i>	20	8,3	120		4,69	[17]
Tandan Kosong Kelapa Sawit	<i>Aspergillus niger</i>	30	8,3	120	4	4,37	[18]
Baggase	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	8	50	144	2	11,04	[19]
Sekam Padi	Komersial	20	20	120	0,6		[3]

Tabel 3. merupakan hasil *review* jurnal terkait produksi bioetanol dengan bantuan enzim selulase yang diproduksi dari beberapa spesies yeast. Hasil tersebut merupakan penerapan pada penelitian pembuatan bioetanol dengan formulasi campuran menggunakan

metode Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF) dengan hidrolisis enzimatis dari limbah bahan berlignoselulosa. Studi literatur pada proses pembuatan bioetanol menunjukkan hubungan faktor-faktor yang berpengaruh terhadap pembuatan bioetanol. Penambahan kadar jumlah enzim yang bervariasi sangat berpengaruh pada proses SSF. Penambahan enzim menunjukkan adanya peningkatan kadar ethanol [16,17,19]. Peningkatan tersebut dikarena semakin banyak jumlah crude yang ditambahkan akan mempercepat proses hidrolisis, sehingga lebih banyak gula yang tersedia untuk difermentasikan menjadi bioetanol [20]. Namun, pada konsentrasi tertentu laju hidrolisis selulosa oleh enzim akan mencapai titik optimal sehingga enzim tidak lagi dapat menghidrolisis selulosa melebihi titik optimalnya [21].



Hubungan antara penambahan enzim dan waktu fermentasi terhadap konsentrasi bioethanol dapat dilihat pada gambar berikut:

Gambar 5. Pengaruh penambahan *crude* selulase (% v/v) dan waktu fermentasi (jam) terhadap konsentrasi bioethanol (%) [19]

Semakin banyak jumlah *crude* yang ditambahkan maka, semakin banyak *crude* selulase yang menghidrolisis selulosa menjadi selobiosa dan kemudian menjadi glukosa [22]. Secara kimiawi, enzim selulase mampu memutuskan ikatan glikosidik β (1,4) pada selulosa, selodekstrin, selobiosa, dan turunan selulosa lainnya menjadi gula yang bisa difermentasi. Dalam proses hidrolisis selulosa, enzim selulase bekerja secara sinergis dengan enzim endoglukanase, eksoglukanase, dan β -glukosidase. Endoglukanase berfungsi untuk memecah polisakarida selulosa secara acak menjadi rantai yang lebih pendek yaitu oligosakarida. Eksoglukanase (cellobiohidrolase) berfungsi mengubah satuan oligisakarida menjadi molekul-molekul disakarida. Sedangkan β -glukosidase berfungsi untuk mengkonversi atau memecah satuan disakarida menjadi dua molekul glukosa yang merupakan gula sederhana yang dapat diubah menjadi etanol [23].

Proses fermentasi bioetanol dilakukan dengan menggunakan *Saccaromyces cereviceae*. *Saccaromyces cereviceae* merupakan jenis khamir yang dapat mengubah gula menjadi produk lain berupa alkohol (etanol). Khamir tersebut menghasilkan enzim *invertase* dan *zimase*. Enzim *invertase* berfungsi memecah polisakarida dan sukrosa yang belum mengalami proses hidrolisis menjadi glukosa (monosakarida). Sedangkan enzim *zimase* berfungsi mengonversikan glukosa (monosakarida) menjadi produk alkohol (etanol). Peningkatan kadar etanol terjadi pada metode SSF terjadi pada waktu 3-5 hari yang merupakan fase pertumbuhan. Namun, pada waktu SSF 6-7 hari kadar etanol mengalami penurunan dikarenakan memasuki fase kematian [3]. Waktu fermentasi pada proses SSF juga menjadi faktor yang berpengaruh terhadap hasil bioetanol. Hal ini terjadi karena lama waktu

fermentasi berhubungan erat dengan kurva pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* yang berperan mengubah glukosa menjadi bioetanol [3]. Hal ini didukung oleh pendapat Sitoresmi [24] yang menyatakan bahwa kadar etanol pada fermentasi hari ke-3 mengalami peningkatan yang signifikan, karena *Saccaromyces cereviceae* mengalami fase pertumbuhan yang sangat cepat. Namun, berdasarkan penelitian Widyastuti [25], peningkatan kadar etanol terjadi pada hari ke-4, hari ke-6 sampai hari ke-8. Pada hari ke-10 terjadi penurunan kadar etanol dikarenakan etanol telah dikonversi menjadi senyawa lain seperti asam karboksilat dan ester [25].

Etanol yang dihasilkan juga dipengaruhi oleh hasil selulosa pada proses hidrolisis yang melibatkan jumlah enzim yang digunakan. Enzim selulase yang menghidrolisis selulosa telah meningkatkan jumlah glukosa sehingga *Saccharomyces cereviceae* akan memfermentasi glukosa dengan jumlah yang lebih besar dan menghasilkan kadar bioetanol yang lebih tinggi serta konversi bioetanol yang tinggi [20]. Kadar etanol yang dihasilkan juga dipengaruhi oleh kandungan selulosa pada substrat yang digunakan. Kandungan selulosa dari keempat bahan secara berturut turut *baggase* (48%), tandan kosong kelapa sawit (38,76%), sekam padi (50%), dan kulit pisang (50-60%). Semakin tinggi kandungan selulosa pada substrat, maka semakin tinggi pula hasil kadar etanolnya [26]. Oleh karena itu, berdasarkan Tabel 3 dapat dilihat bahwa kadar etanol tertinggi sebesar 11,04% dari *bagasse* menggunakan *crude* selulase *Phanerochaete chrysosporium* dengan penambahan 50% dan waktu fermentasi 144 jam [19].

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan studi bioetanol pembuatan *crude* selulase dari bahan berlignoselulosa menggunakan kapang yang berbeda-beda, disimpulkan bahwa nilai aktivitas enzim paling tinggi yaitu ditunjukkan pada produksi *crude* selulase dari ampas tebu menggunakan kapang *Phanerochaete chrysosporium* dengan kondisi terbaik yaitu waktu inkubasi 17 hari dan konsentrasi substrat 7% sebesar 91,304 U/mL [10]. Aktivitas enzim dipengaruhi oleh kandungan lignoselulosa bahan, waktu inkubasi, dan konsentrasi substrat. Nilai aktivitas enzim akan meningkat seiring lamanya waktu inkubasi hingga mencapai waktu inkubasi optimum [8,10,12]. Pengaruh substrat menunjukkan bahwa semakin besar penambahan substrat yang mengandung selulosa akan semakin menaikkan aktivitas enzim selulase [8,10,11].

Studi bioetanol mengenai pembuatan bioetanol dari bahan berlignoselulosa menggunakan metode SSF dengan hidrolisis enzimatis, diperoleh kadar etanol tertinggi sebesar 11,04% dari *bagasse* menggunakan *crude* selulase *Phanerochaete chrysosporium* pada penambahan 50% dan waktu fermentasi 144 jam [19]. Kadar etanol dipengaruhi oleh penambahan *crude* selulase dan waktu inkubasi. Penambahan *crude* selulase atau enzim dapat mengoptimalkan kadar bioetanol [14]. Waktu fermentasi juga berpengaruh karena berhubungan dengan pertumbuhan *Saccharomyces* [3,17,18,19].

Untuk penelitian yang akan dilakukan ke depan mengenai produksi *crude* selulase menggunakan kapang perlu adanya pembuatan kurva pertumbuhan untuk mengetahui waktu inkubasi optimum agar diperoleh hasil yang lebih tinggi. Pada pembuatan bioetanol digunakan *crude* selulase dengan kadar yang lebih tinggi agar didapatkan hasil yang lebih optimum dan meminimalkan penambahan jumlah *crude* selulase.

REFERENSI

- [1] Badan Pusat Statistik. 2010. Penduduk Indonesia menurut Provinsi 1971, 1980, 1990, 1995, 2000 dan 2010. Online, <https://www.bps.go.id/statictable/2009/02/20/1267/penduduk-indonesia-menurut-provinsi-1971-1980-1990-1995-2000-dan-2010.html> diakses pada 29 Desember 2019.
- [2] British Petroleum Global Company. 2018. Statistical Review of World Energy. Online, <https://www.bp.com/en/global/corporate/energy-economics/statistical-review-of-world-energy.html> diakses pada 29 Desember 2019.
- [3] Novia, D. W., dan Yanti P., 2017, *Pengaruh Waktu Delignifikasi terhadap Lignin dan Waktu SSF terhadap Etanol Pembuatan Bioetanol dari Sekam Padi*, Jurnal Teknik Kimia, Vol. 23, No. 1, 19-27.
- [4] Limayem, A., dan Ricke, S. C., 2012, *Lignocellulosic biomass for bioethanol production: Current perspectives, potential issues and future prospects*, Progress in Energy and Combustion, Vol. 38, No. 4, 449-467.
- [5] Irawati, D., Sutapa, J. P. G., Firmansyah, A. B., Mardika, P. A., Nugroho, F. W., dan Marsoem, S. N., 2013, *Produksi Etanol dari serbuk Kayu dengan Perlakuan Kalsium Hidroksida Menggunakan Metode SSF*, Jurnal Ilmu dan Teknologi Kayu Tropis, Vol. 11, No. 1, 38-45.
- [6] Asta, P. D., dan Taufik, H., 2019, *Serbuk Kayu Jati (Tectona Grandis Linn. F.) sebagai Substrat Alternatif untuk Produksi Enzim Selulase*, Scripta Biologica, Vol. X, No. X, 1-8.
- [7] Azhari, A., Falah, S., Nurjannah, L., Suryani, dan Bintang, M., 2014, *Delignifikasi Batang Kayu Sengon oleh Trametes versicolor*, Current Biochemistry, Vol. 1, No. 1, 1-10.
- [8] Rulianah, S., Sindhuwati, C., dan Prayitno, 2019, *Produksi Crude Selulosa dari Limbah Kayu Mahoni Menggunakan Phanerochaete chrysosporium*, Jurnal Teknik Kimia dan Lingkungan, Vol. 3, No. 1, 39-49.
- [9] Daud, M., Syafii, W., dan Syamsu, K., 2012, *Produktivitas Bioetanol dari Kayu Sengon (Paraserianthes falcataria) dengan Perlakuan Enzimatis*, Seminar Nasional Masyarakat Peneliti Kayu Indonesia XV, Makassar.
- [10] Rulianah, S., Z. Irfin, Mufid, dan Prayitno, 2017, *Produksi Crude Selulase dari Bahan Baku Ampas Tebu Menggunakan Kapang Phanerochaete chrysosporium*, Jurnal Teknik Kimia dan Lingkungan, Vol. 1, No. 1, 17-27.
- [11] Gunam, I. B. W., Aryanta, W. R., dan Darma, I. B. N. S., 2011, *Produksi Selulase Kasar dari Kapang Trichoderma Viride dengan Perlakuan Konsentrasi Substrat Ampas Tebu dan Lama Fermentasi*, Jurnal Biologi, Vol. 15, No. 2, 29-33.
- [12] T., Rosyida V., N., Hayati S., W., Indrianingsih A., R., Maryana A., Y., Purwestri, dan S., Ayesda C., 2018, *Enzim Selulase Kasar Aspergillus niger FNCC 6018 untuk Produksi Bioetanol melalui Proses Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak*, Jurnal Mikologi Indonesia, Vol. 2, No. 2, 77-90.
- [13] Gunam, I. B. W., Wartini, N. M., Anggreini, A. A. M. D., dan Suparyana, P. M., 2011, *Delignifikasi Ampas Tebu dengan Larutan Natrium Hidroksida Sebelum Proses Sakarifikasi secara Enzimatis Menggunakan Enzim Selulase Kasar dari Aspergillus Niger FNU 6018*, Jurnal Teknologi Indonesia, Vol. 34, 24-32.

- [14] Rulianah, S., Prayitno, P., Sindhuwati, C., Ayu, D. R. A., dan Sa'diyah, K., 2020, *Penurunan Kadar Lignin pada Fermentasi Limbah Kayu Mahoni Menggunakan Phanerochaete chrysosporium*, Jurnal Teknik Kimia dan Lingkungan, Vol. 4, No. 1, 81-89.
- [15] Idiawati, N., Harfinda, E. M., dan Arianie, L., 2014, *Produksi Enzim Selulase oleh Aspergillus niger pada Ampas Sagu*, Jurnal Natur Indonesia, Vol. 6, No. 1, 1-9.
- [16] Rulianah, S., Gunawan, P., Hendrawati, N., dan Nafisa, K. N., 2020, *Production of Bioethanol from Bagasse with A Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF) Process Using Crude Cellulase from Phanerochaete chrysosporium*, Proceedings of 2nd International Conference on Chemical Process and Product Engineering, Vol. 2197, No. 1, 030007.
- [17] Usmana A. S., Rianda, S., dan Novia, 2012, *Pengaruh Volume Enzim dan Waktu Fermentasi terhadap Kadar Etanol (Bahan Baku Tandan Kosong Kelapa Sawit Dengan Pretreatment Alkali)*, Jurnal Teknik Kimia, Vol. 18, No. 2, 17-25.
- [18] Kristina., Sari, E. R., dan Novia, 2012, *Alkaline Pretreatment dan Proses Simultan Sakarifikasi – Fermentasi untuk Produksi Etanol dari Tandan Kosong Kelapa Sawit*, Jurnal Teknik Kimia, Vol. 18, No. 3, 34-43.
- [19] Rulianah, S., Prayitno, P., Indiastari, A., dan Fatmawati, D., 2021, *The effect of fermentation time and addition of crude cellulase to concentration of bioethanol in bagasse fermentation*, IOP Conference Series: Materials Science and Engineering, Vol. 1073, No. 1, 012007.
- [20] Khaira, Z. F., Yenie, E., dan Muria, S. R., 2015, *Pembuatan Bioetanol dari Limbah Tongkol Jagung Menggunakan Proses Simultaneous Sacharification and Fermentation (SSF) dengan Variasi Konsentrasi Enzim dan Waktu Fermentasi*, Jurnal Online Mahasiswa Fakultas Teknik Universitas Riau, Vol. 2, No. 2.
- [21] Safaria, S., Idiawati, N., dan Zaharah, T.A., 2013, *Efektivitas Campuran Enzim Selulase dari Aspergillus niger dan Trichoderma reesei dalam Menghidrolisis Substrat Sabut Kelapa*, Jurnal Kimia Khatulistiwa, Vol. 2, No. 1, 46-51, ISSN 2303-1077.
- [22] Fuadi, A.M., Abdillah, M., Achmad, A., P. Danang E., dan Setiawan A., 2015, *Pengaruh Kadar Glukosa dan Waktu Inokulasi pada Optimasi Pembuatan Enzim Selulase dengan Menggunakan Jamur Aspergillus Niger dan Substrat Kertas*, Simposium Nasional RAPI, ISSN 1412-9612.
- [23] Kodri., Argo, B.D., dan Yulianingsih, R., 2013, *Pemanfaatan Enzim Selulase dari Trichoderma Ressei dan Aspergillus Niger sebagai Katalisator Hidrolisis Enzimatik Jerami Padi dengan Pretreatment Microwave*, Jurnal Bioproses Komoditas Tropis, Vol. 1, No. 1, 36-43.
- [24] Sitoresmi, S., Rosyadi, F.A., Laily, E.N., Fadholi, L., dan Yushardi, Y., 2017, *Bioetanol dari Buah Kersen (Muntingia Calabura) Menggunakan Saccharomyces Cerevisiae*, Jurnal Teknik Kimia, Vol. 12, No. 1, 19–23.
- [25] Widyastuti, P., 2019, *Pengolahan Limbah Kulit Singkong sebagai Bahan Bakar Bioetanol melalui Proses Fermentasi*, Jurnal Kompetensi Teknik, Vol. 11, No. 1, 41–46.
- [26] Handoko, T., 2018, *Hidrolisis Serat Selulosa dalam Buah Bintaro sebagai Sumber Bahan Baku Bioetanol*, Jurnal Teknik Kimia Indonesia, Vol. 11, No. 1, 26-33.