

PEMBUATAN BIOETANOL DARI LIMBAH KAYU SENGON (*Falcataria moluccana* (Miq.) Barneby & J.W. Grimes) DENGAN METODE SUBSTRAT KONSENTRASI TINGGI

(*Bioethanol Production of Sengon Wood (Falcataria moluccana (Miq.) Barneby & J. W. Grimes) Waste Using High Loading Substrate Method*)

Ina Winarni¹ & T. Beuna Bardant²

¹ Pusat Penelitian dan Pengembangan Hasil Hutan
Jl. Gunung Batu No. 5, Bogor 16610, Telp. (0251) 8633378, Fax. (0251) 86333413

²Pusat Penelitian Kimia, LIPI
Kawasan Puspitek Serpong, Tangerang 15314, Telp. (021) 7560929, Fax. (021) 7560549
E-mail: inawinarni@yahoo.com

Diterima 9 Juni 2016, Direvisi 10 April 2017, Disetujui 22 September 2017

ABSTRACT

Various sawmilling industries of high, medium and small enterprises operate in Indonesia. During log conversion into sawn timber, wood waste occurs in the form of left over cut and sawdust. Small cut waste is lignocellulose material which is potentially used for bioethanol production. This paper studies the possibility of bioethanol production from sengon sawmill waste. High loading substrate method was applied by hydrolyzing high concentration substrate, i.e 15, 25 and 35% and two concentrations of enzymes (12.5 and 15 FPU/g substrate). Result showed that the treatment of 25% substrate concentration and 15 FPU/g cellulase substrate produced the highest reducing sugar of 248.3 mg/mL, while the substrate concentration of 35% generated the highest ethanol content i.e 17.7% and recovery about 38.4%. It can be concluded that the high loading substrate method could increase the ethanol concentration made from sengon wood waste.

Keywords: Sengon wood waste, lignocellulose, hydrolysis, ethanol content

ABSTRAK

Industri penggergajian kayu baik skala kecil, menengah dan besar banyak beroperasi di Indonesia. Pada saat mengkonversi dolok menjadi kayu gergajian menghasilkan limbah kayu berupa potongan kecil dan serbuk gergaji. Potongan kecil kayu merupakan bahan berlignoselulosa yang berpotensi untuk menghasilkan etanol. Tulisan ini mempelajari kemungkinan pemanfaatan potongan kecil limbah kayu sengon untuk menghasilkan bioetanol. Pembuatan etanol, dilakukan dengan metode substrat konsentrasi tinggi dengan menghidrolisis substrat konsentrasi tinggi, yaitu 15, 25, dan 35% dan dua konsentrasi enzim (12,5 dan 15 FPU/g substrat). Hasil penelitian menunjukkan, perlakuan konsentrasi substrat 25% dan selulase 15 FPU/g substrat menghasilkan gula pereduksi tertinggi sebesar 248,3 mg/mL; sedangkan konsentrasi substrat 35% menghasilkan kadar etanol tertinggi sebesar 17,7% dengan rendemen sebesar 38,4%. Dapat disimpulkan bahwa metode substrat konsentrasi tinggi dapat menghasilkan kadar etanol yang tinggi pada limbah kayu sengon.

Kata kunci: Limbah kayu sengon, lignoselulosa, hidrolisis, kadar etanol

I. PENDAHULUAN

Konsumsi bahan bakar minyak, khususnya bensin mengalami kenaikan yang cukup tajam setiap tahunnya seiring meningkatnya penggunaan kendaraan bermotor. Pada tahun 2016, pengguna premium di Indonesia mencapai 164,6 juta barel, naik sekitar 50% dari tahun 2005 sebanyak 100 juta barel atau 15 juta barel per bulan (Duta, 2016). Salah satu cara untuk mengatasi ketergantungan bahan bakar minyak adalah dengan membuat energi alternatif selain minyak bumi, gas bumi dan batu bara (BBM) yang disebut bahan bakar nabati (BBN) yang berasal dari biomassa.

Salah satu energi alternatif yang menjanjikan adalah bioetanol. Bioetanol perlu dikembangkan sebagai bahan bakar karena merupakan bahan bakar yang ramah lingkungan. Menurut Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi BPPT, tingkat emisi karbon dan hidrokarbon Gasohol E10 (campuran bensin dan etanol 10%) lebih rendah dibanding premium dan pertamax karena etanol mengandung 35% oksigen yang dapat meningkatkan efisiensi pembakaran (Shintawaty, 2006).

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki industri pengolahan kayu yang cukup banyak. Hasil akhir dari industri penggergajian kayu adalah limbah industri yang berupa serpih dan serbuk kayu yang menumpuk dan kurang dimanfaatkan sehingga dapat menyebabkan pencemaran. Purwanto (2009) menyatakan bahwa industri penggergajian kayu rata-rata menghasilkan limbah sebesar 40,48% volume yang terdiri dari sebetan (22,32%), potongan kayu (9,39%), dan serbuk gergaji (8,77%). Menurut data Kementerian Kehutanan Republik Indonesia (2012), produksi kayu gergajian tahun 2011 mencapai 935.000 m³, dan pada tahun 2013 sebanyak 1,218 juta m³, yang naik dari tahun sebelumnya sebanyak 1,053 juta m³, sehingga potensi limbah serbuk penggergajian kayu setiap tahun berlimpah. Untuk mewujudkan industri hijau di bidang pengolahan hasil hutan, maka perlu dilakukan pengolahan bahan material lignoselulosa secara efisien sehingga memenuhi kriteria limbah minimal (*zerowaste*) dan/atau peningkatan nilai tambah limbah atau biomassa.

Hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan pembuatan etanol dari limbah

penjarangan kayu cedar (*Cryptomeria japonica*) menghasilkan konversi selulosa sebanyak 75,1% dengan menggunakan selulase sebanyak 20 FPU/g substrat dan surfaktan PEG 4000 (10%) (Winarni et al., 2013), dan etanol sebanyak 64% menggunakan *lignin derivatives* (Cheng, Yamamoto, Koda, Tamai, & Uraki, 2014). Rathna, Saranya dan Kalaiselvam (2014) menyatakan dengan penambahan waktu fermentasi selama 6 hari, substrat limbah serbuk penggergajian kayu (5 g substrat + 0,5% glukosa pada medium agar 0,5 g/100 g) dapat menghasilkan bioetanol sebanyak 7,2 g/100g dengan metode *shaking*. Sehingga, untuk meningkatkan nilai tambah limbah dan mengurangi pencemaran lingkungan serta polusi udara, perlu dilakukan penelitian pembuatan bioetanol dari limbah penggergajian kayu melalui proses sakarifikasi secara enzimatik dengan penambahan surfaktan dan substrat konsentrasi tinggi.

Penambahan surfaktan *Tween* 20 pada sakarifikasi pulp batang sawit (36,5%) menghasilkan kadar etanol sebesar 8% (Sukmana, 2015). Menurut Bardant, Indiyanti, dan Selviyanti (2012), penambahan konsentrasi substrat pada saat hidrolisis akan meningkatkan kadar etanol yang dihasilkan setelah fermentasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa substrat pulp Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS) sebanyak 23% menghasilkan kadar etanol sebanyak 8,23%, sedangkan 36,5% substrat pulp batang sawit dapat menghasilkan kadar etanol sebanyak 10,48% (Bardant et al., 2012). Diharapkan dengan metode substrat konsentrasi tinggi, limbah kayu pada penelitian ini dapat menghasilkan kadar etanol yang tinggi, dan dapat menjadi salah satu solusi untuk mengatasi krisis energi. Tulisan ini mempelajari potensi kadar etanol limbah kayu sengon yang diolah dengan menggunakan metode substrat konsentrasi tinggi.

II. BAHAN DAN METODE

A. Bahan dan Alat

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah limbah sebetan sengon dari industri penggergajian di Tasikmalaya. Bahan kimia yang digunakan adalah enzim C-Tech (Enzim α -selulase dan β -selulase) dan enzim H-Tech (enzim

β -glukosidase) produksi NOVOZYME, ragi *Sacharomyces cerevisiae*, Tween 20, urea, dan NPK. Peralatan yang digunakan antara lain alat hidrolisis, reaktor fermentasi, unit distilator, alat pengaduk, neraca, *hot plate*, buret, brix meter, pH meter, dan alat gelas/kaca.

B. Metode Penelitian

Tahapan proses penelitian yang dilakukan adalah:

1. Uji proksimat

Dilakukan uji proksimat (analisis komposisi kimia) terhadap bahan baku, yaitu kadar air, kadar abu, kelarutan dalam alkohol benzene, air panas, air dingin, kadar lignin, dan kadar selulosa.

2. Persiapan bahan baku

Sebetan kayu dipotong kecil kemudian dilakukan proses delignifikasi (*pretreatment*) dengan metode sulfat pulping; perbandingan konsentrasi NaOH dan Na_2S (75:25); suhu 170°C selama 4 jam.

3. Sakarifikasi

Sebanyak 100 mL asam sitrat ($C_6H_8O_7$) 0,05 M dimasukkan ke dalam gelas kemudian ditambahkan dengan Tween 20 sebanyak 1% dari volume, setelah tercampur, ditambahkan enzim selulase dan β -glukosidase (1:5) sebanyak 12,5 dan 15 FPU/g substrat. Kontrol disiapkan tanpa penambahan surfaktan. Masing-masing pulp dengan konsentrasi 15, 25, dan 35% (w/v) dimasukkan sedikit demi sedikit ke dalam larutan dan diaduk selama 48 jam. Pada tahap ini akan dihasilkan gula yang siap untuk difermentasi menjadi etanol.

4. Fermentasi

Gula yang telah dihasilkan diambil sedikit untuk dianalisis kadar gula pereduksi dengan metode titrasi menggunakan larutan luff-schrool (SNI 01-2891-1992). Sedangkan sisa larutan difermentasi dengan masing-masing ditambahkan urea, NPK, dan ragi (*Saccharomyces cerevisiae*). Fermentasi berlangsung selama 3-4 hari, selanjutnya siap dilakukan penyulingan untuk memisahkan etanol dengan air.

5 Pengujian gula dan bioetanol

a. Analisis kadar gula pereduksi

a. Analisis kadar gula pereduksi

dan setelah fermentasi diambil 2 mL larutannya dan dianalisis gula pereduksinya.

b. Analisis kandungan etanol

Analisis kandungan etanol pada sampel menggunakan Gas Chromatography (GC) merk Agilent 6890 N dengan kondisi kolom carbowax 20M, detektor FID, suhu injektor 250°C; suhu awal 60° C dan suhu akhir 140°C dengan kenaikan suhu 3°C per menit.

C. Analisis Data

Penelaahan data hasil percobaan fermentasi (kadar gula pereduksi sebelum fermentasi = H; kadar gula produksi setelah fermentasi = Ydata; Yield (konversi selulosa) = Ydata1; dan kadar etanol = Ydata2), diterapkan analisis sidik ragam (*analysis of covariance/ancova*) berpola acak lengkap (RAL). Sebagai perlakuan pada RAL tersebut adalah kombinasi (K) antara faktor FPU dan faktor sampel bahan. Faktor FPU terdiri dari 2 taraf yaitu 12,5 dan 15,0; sedangkan faktor sampel bahan terdiri dari 3 group yaitu (S15 dan C15), (S25 dan C25), dan (S35 dan C25), di mana S = sampel bahan dan C = kontrol (pembanding). Kombinasi (K) antara faktor FPU dan faktor sampel bahan menghasilkan 12 kombinasi yaitu: o, p, q, r, s, t, u, v, w, x, y, dan z. Setiap taraf dari kombinasi faktor FPU dan faktor sampel bahan (SB) diulang sebanyak 3 kali.

Persamaan matematika yang digunakan untuk rancangan tersebut di atas adalah :

$$Y_{datai}(ij) = u + K_i + B^*H_i + e_{ij} \dots \dots \dots (1)$$

Keterangan: u = nilai tengah umum; K_i = perlakuan (kombinasi antara faktor FPU yang terdiri atas dua taraf dan faktor sampel bahan yang terdiri atas tiga group); H_i = kadar gula pereduksi sebelum fermentasi (sebagai peragam); B = koefisien regresi antara K terhadap Y_{datai} ; e_{ij} = galat (error); $Y_{datai} (ij)$ = aspek yang diamati (sebagai ragam) yaitu mencakup: kadar gula produksi setelah fermentasi (Y_{data}); Yield/ konversi selulosa (Y_{data1}); dan kadar etanol (Y_{data2r}); pada ulangan ke j

Selanjutnya dalam menerapkan penelaahan data dengan ancova tersebut, dibantu dengan paket pro SAS.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Analisis Kimia Bahan Baku dan Pulp Limbah Kayu

Hasil analisis proksimat bahan baku dan pulp limbah kayu dapat dilihat pada Tabel 1. Dari tabel tersebut, dapat dilihat bahwa kadar lignin mengalami penurunan yang sangat drastis dari bahan baku (26,6%) menjadi 2,5% setelah dilakukan perlakuan pendahuluan berupa sulfat pulping. Tanpa perlakuan pendahuluan atau *pretreatment*, konversi selulosa menjadi gula sangat rendah, yaitu kurang dari 20% (Lynd, 1996). Dengan tingginya kandungan lignin pada dinding sel tumbuhan akan menghambat jalannya enzim selulase ke substrat yaitu selulosa. Sehingga, perlu dilakukan ekstraksi lignin sebagai salah satu metode *pretreatment* untuk mengurangi kadar lignin substrat sehingga enzim selulase akan lebih mudah mengkonversi selulosa dengan proses hidrolisis.

Kadar selulosa bahan baku limbah kayu sengon adalah sebesar 51,8% (Tabel 1). Setelah dilakukan

delignifikasi, kadar selulosa meningkat seiring dengan menurunnya kadar lignin (87,7%). Pulp limbah kayu berpotensi tinggi untuk dijadikan bahan baku pembuatan bioetanol dengan tingginya kadar selulosa. Hasil kadar selulosa dan lignin tersebut sesuai dengan hasil penelitian kadar selulosa dan lignin yang telah dilakukan sebelumnya, yaitu sebesar 47,2% dan 26,3% (Winarni, Komarayati, & Djarwanto, 2017).

Converse, Ooshima, dan Burns (1990) menyatakan bahwa lignin dapat mengganggu reaksi hidrolisis oleh enzim. Selain itu, lignin juga melindungi pengerutan dinding sel secara signifikan sehingga menyulitkan aksesibilitas enzim untuk mengurai selulosa menjadi glukosa (Mooney et al., 1998). Dengan demikian, perlakuan pendahuluan pada bahan berlignoselulosa perlu dilakukan dengan tujuan untuk menghilangkan lignin, mengurangi kristalinitas selulosa, dan mengecilkan ukuran polisakarida agar lebih mudah terhidrolisis sehingga meningkatkan kadar etanol (Silverstein, Chen, Sharma-Shivappa, Boyette, & Osborne, 2007).

Tabel 1. Analisis proksimat bahan baku dan pulp limbah penggerajian kayu sengon
Table 1. Proximate analysis of raw materials and sawmill waste pulp of sengon

No.	Parameter (<i>Parameters</i>)	Analisis proksimat (<i>Proximate analysis</i>)	
		Bahan baku (<i>Raw material</i>)	Pulp (<i>Pulp</i>)
1.	Kadar air (<i>Water content, %</i>)	9,90	9,26
2.	Kadar abu (<i>Ash content, %</i>)	0,73	1,27
3.	Kadar silika (<i>Silica content, %</i>)	0,15	0,28
4.	Kelarutan dalam air panas (<i>Hot water solubility, %</i>)	6,91	0,25
5.	Kelarutan dalam air dingin (<i>Cold water solubility, %</i>)	7,61	0,38
6.	Kelarutan dalam NaOH (<i>NaOH solubility, 1%</i>)	17,7	2,38
7.	Kelarutan dalam alkohol benzene (<i>Alcohol benzene solubility, %</i>)	6,9	3,27
8.	Kadar Lignin (<i>Lignin content, %</i>)	26,6	2,5
9.	Kadar selulosa (<i>Cellulose content, %</i>)	51,8	87,7
10.	Kadar pentosan (<i>Pentosan content, %</i>)	12,8	0,005
11.	Kadar holo selulosa (<i>Holocellulose content, %</i>)	65,6	89,7
12.	Kadar alpha selulosa (<i>Alpha cellulose content, %</i>)	30,7	85,2
13.	Kadar hemiselulosa (<i>Hemicellulose content, %</i>)	34,9	4,46

B. Kadar Gula Pereduksi Sebelum dan Sesudah Fermentasi dengan Konsentrasi Enzim 12,5 FPU/g Substrat dan 15 FPU/g Substrat

Pengujian kadar gula pereduksi pada pulp limbah kayu adalah untuk mengetahui kandungan monomer glukosa yang dihasilkan setelah proses sakarifikasi dan setelah fermentasi untuk mengetahui sisa glukosa setelah diubah menjadi etanol. Aktivitas selulase yang digunakan adalah sebesar 50 FPU/g substrat, dengan kadar lignin substrat sebesar 2,5%. Tabel 2 menunjukkan konsentrasi substrat sebanyak 25% dengan aktivitas selulase 15 FPU menghasilkan kadar gula pereduksi sebelum fermentasi tertinggi (optimum) sebesar 248,3 mg/mL dan terendah adalah sebesar 66 mg/mL pada perlakuan konsentrasi substrat sebanyak 15% dengan aktivitas 15 FPU/g substrat.

Sementara itu, kadar gula pereduksi setelah fermentasi menurun, karena glukosa yang terbentuk setelah sakarifikasi dan diikuti proses fermentasi akan merubah sebagian besar glukosa tersebut menjadi etanol dan akan menyisakan sedikit gula pada filtrat. Menurut Sukmana (2015), analisis kadar gula pereduksi tertinggi pada pulp batang sawit yaitu 148,7 mg/mL dengan

konsentrasi substrat sebanyak 23% sebanyak 12 FPU/g substrat. Sedangkan untuk substrat 35%, proses sakarifikasi atau perubahan selulosa menjadi gula terus berjalan, meskipun telah memasuki proses fermentasi, dimana masih terdapat substrat yang dihidrolisis oleh selulase yang masih bekerja.

Dapat dilihat pada Tabel 2 perlakuan konsentrasi substrat sebanyak 25% dengan aktivitas selulase 15 FPU menghasilkan kadar gula pereduksi sebelum fermentasi tertinggi (optimum) sebesar 248,3 mg/mL dan terendah adalah sebesar 66 mg/mL pada perlakuan konsentrasi substrat sebanyak 15% dengan aktivitas 15 FPU/g substrat. Kadar gula pereduksi setelah fermentasi menurun, karena gula atau glukosa yang terbentuk setelah sakarifikasi dan diikuti proses fermentasi akan merubah sebagian besar glukosa tersebut menjadi etanol dan akan menyisakan sedikit gula pada filtrat. Proses enzimatik ini dilakukan dalam waktu 48 jam berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Winarni et al. (2013). Menurut Sukmana (2015), analisis kadar gula pereduksi tertinggi pada pulp batang sawit yaitu 148,7 mg/mL dengan konsentrasi substrat sebanyak 23% dan 12 FPU/g substrat.

Tabel 2. Kadar gula pereduksi sebelum dan sesudah fermentasi
Table 2. Reducing sugar content before and after fermentation

No	Sampel (Samples)	FPU (g/substrat)	Kadar gula pereduksi (Reducing sugar content)	
			Sebelum Fermentasi (Before fermentation, mg/mL)	Sesudah fermentasi (After fermentation, mg/mL)
1.	S15	12,5	149,7	28,5
2.	C15	12,5	82,9	26,4
3.	S15	15	80,9	37,0
4.	C15	15	66,0	33,8
5.	S25	12,5	200,8	53,8
6.	C25	12,5	128,4	49,1
7.	S25	15	248,3	84,4
8.	C25	15	170,2	33,2
9.	S35	12,5	173,9	61,2
10.	C35	12,5	139,4	47,0
11.	S35	15	193,3	50,5
12.	C35	15	160,53	41,7

Keterangan (Remarks): S15= Sampel (Sample) 15%; C15= Kontrol (Control) 15%; S15= Sampel (Sample) 15%; C15= Kontrol (Control) 15%; S25= Sampel (Sample) 25%; C25= Kontrol (Control) 25%

Berdasarkan analisis statistik dengan menggunakan rancangan percobaan Ancova (*Analysis of covariance*) dengan pola acak lengkap RAL (Lampiran 1), menunjukkan bahwa kombinasi (K) antara faktor FPU dan faktor sampel bahan berpengaruh nyata terhadap kadar gula pereduksi sesudah fermentasi. Demikian pula kadar gula pereduksi sebelum fermentasi (H) juga berpengaruh nyata terhadap kadar gula sesudah fermentasi. Ternyata peranan kadar gula sebelum fermentasi (H) positif terhadap kadar gula sesudah fermentasi (Y_{data}), dengan koefisien regresi (B) = + 0,244249, atau dengan perkataan lain semakin tinggi kadar gula pereduksi sebelum fermentasi (H) maka akan memberikan kadar yang tinggi sesudah fermentasi (Y_{data}).

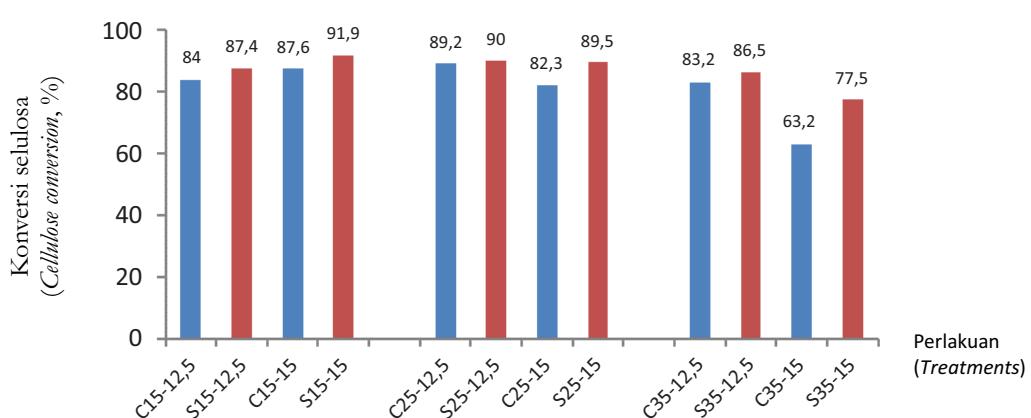
Lebih lanjut, pengaruh kombinasi (K) yang nyata terhadap kadar gula pereduksi sesudah fermentasi, diuji lebih lanjut dengan uji t (Lampiran 2). Pada Lampiran 2 tersebut, dapat dilihat bahwa nilai kadar gula pereduksi sesudah fermentasi pada bahan contoh (S) cenderung lebih tinggi dibandingkan nilai pada kontrol (C). Selanjutnya peningkatan nilai FPU dari 10 ke 15 untuk kode bahan S15 dan C15 menyebabkan peningkatan kadar gula pereduksi sesudah fermentasi (Y_{data}). Sebaliknya, peningkatan nilai FPU tersebut untuk nilai bahan S25 dan C25 dan S35 dan C25 mengakibatkan penurunan kadar gula sesudah fermentasi. Hal ini disebabkan dengan semakin tingginya konsentrasi substrat yang akan dihidrolisis (35%), maka semakin lama waktu yang dibutuhkan selulase untuk

mengkonversi selulosa menjadi glukosa meskipun sudah masuk proses fermentasi.

C. Konversi Selulosa Menjadi Gula

Pada proses hidrolisis, semua sampel (S) diberi tambahan surfaktan, yaitu 1% v/v tween 20, dan tidak ada penambahan surfaktan pada kontrol (C). Nilai konversi selulosa kontrol menunjukkan angka yang lebih rendah dari semua sampel dengan penambahan surfaktan. Hal ini disebabkan surfaktan dapat membantu kinerja enzim selulase sehingga berfungsi secara optimal untuk mengkonversi selulosa menjadi glukosa. Konversi selulosa tertinggi (89,5 – 90%) ditunjukkan pada konsentrasi substrat 25% dan aktivitas selulase 10 dan 15 FPU/g substrat (Gambar 1). Konversi selulosa mengalami penurunan pada waktu penambahan sampel menjadi 35% pada aktivitas selulase 10 dan 15 FPU/g susbtrat. Hal ini disebabkan, dengan semakin banyaknya substrat yang dimasukkan pada saat hidrolisis, dibutuhkan waktu yang lebih lama untuk mengkonversi selulosa menjadi gula. Konversi selulosa pulp *japanese cedar* dengan kadar lignin sebesar 6,75% adalah sebesar 78,5% dengan konsentrasi substrat sebesar 10%; konsentrasi enzim 10 FPU/g substrat dan menggunakan PEG4000 sebagai surfaktan, sedangkan kontrol (tanpa surfaktan) mencapai 59% (Winarni et al., 2013).

Hasil analisis statistik dengan ancova (Lampiran 3) menunjukkan bahwa pengaruh kombinasi (K) antara faktor FPU dan faktor



Keterangan (Remarks) : S15 = Sampel (Sample) 15%; C15 = Kontrol (Control) 15%; S15 = Sampel (Sample) 15%; C15 = Kontrol (Control) 15%; S25 = Sampel (Sample) 25%; C25 = Kontrol (Control) 25%

Gambar 1. Grafik konversi selulosa menjadi gula (%) pada beberapa perlakuan

Figure 1. Cellulose conversion into glucose (%) in several treatments

sampel bahan juga nyata terhadap nilai konversi selulosa. Demikian pula kadar gula pereduksi sebelum fermentasi (H) juga berpengaruh nyata terhadap nilai konversi selulosa (Ydata1). Ternyata peranan kadar gula sebelum fermentasi (H) positif pula terhadap nilai konversi selulosa, dengan koefisien regresi (B) = + 0,3555, atau dengan perkataan lain semakin tinggi kadar gula pereduksi sebelum fermentasi (H) maka semakin tinggi nilai konversi selulosa (Ydata1). Lebih lanjut, pengaruh kombinasi (K) yang nyata terhadap nilai konversi selulosa, ditelaah lebih lanjut dengan uji t (Lampiran 4).

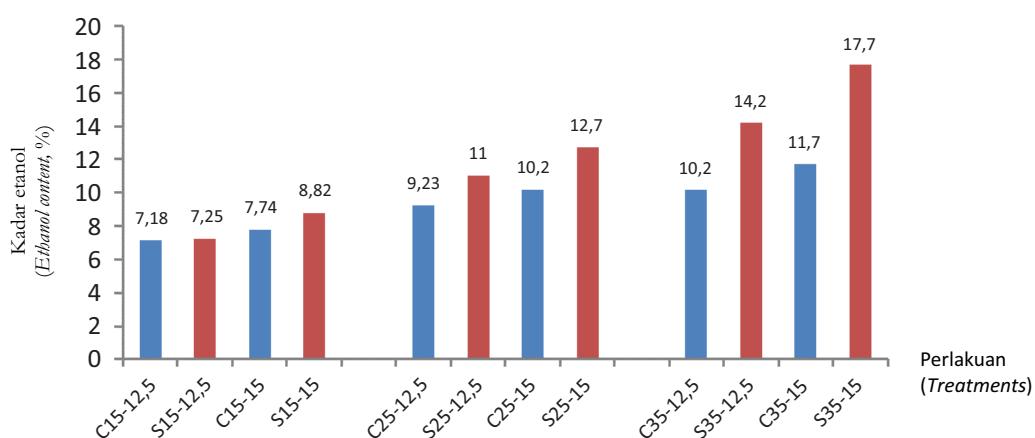
Dari Lampiran 4 dapat dilihat bahwa nilai konversi selulosa pada bahan contoh (S) cenderung lebih tinggi dibandingkan nilai pada kontrol (C). Selanjutnya peningkatan nilai FPU dari 10 ke 15 untuk kode bahan S15 dan C15 menyebabkan peningkatan nilai kadar konversi selulosa (Ydata1). Sebaliknya, peningkatan nilai FPU tersebut untuk kode bahan S25 dan C25 serta S35 dan C25 mengakibatkan penurunan nilai konversi selulosa. Nilai konversi selulosa tertinggi terdapat pada bahan contoh S15 dan C15, diikuti berturut-turut oleh konversi selulosa pada bahan contoh S25 dan C25, dan pada bahan contoh S35 dan C35, sebagai urutan tertinggi kedua dan ketiga (terendah). Hal ini disebabkan selulase sebanyak 10 dan 15 FPU/g substrat efektif dan optimal bekerja mengkonversi selulosa pada penambahan konsentrasi substrat 25%, apabila ada penambahan substrat, maka perlu penambahan aktivitas enzim.

D. Kadar Etanol dengan Aktivitas Enzim 10 dan 15 FPU/g Substrat

Prinsipnya, fermentasi adalah perubahan 1 mol glukosa (gula) menjadi 2 mol etanol dan 2 mol karbon dioksida. Pada proses fermentasi etanol, ragi akan melakukan metabolisme glukosa dan fruktosa membentuk asam piruvat melalui tahapan reaksi pada jalur Embden-Meyerhof-Parnas, sedangkan asam piruvat yang dihasilkan akan didekarboksilasi menjadi asetaldehida yang mengalami dehidrogenasi menjadi etanol.

Gambar 2 menunjukkan semua kadar etanol kontrol dan perlakuan memenuhi target kelayakan produksi, karena menghasilkan kadar etanol > 5% v/v (pabrik alkohol Madukismo) (Saputro, 2015). Sementara itu, semua kadar etanol kontrol lebih rendah dari kadar etanol sampel (penambahan surfaktan) pada semua perlakuan. Meskipun, tidak ada perbedaan yang signifikan pada kadar etanol kontrol dan perlakuan pada konsentrasi substrat 15% dan penambahan selulase 10 dan 15 FPU/g substrat. Perbedaan yang signifikan lebih terlihat setelah konsentrasi substrat 25% dan 35% masing-masing pada waktu hidrolisis.

Kadar etanol tertinggi dihasilkan dari perlakuan konsentrasi substrat 35 % dengan aktivitas selulase sebanyak 15 FPU/g substrat (17,7%) dengan rendemen 38,4% dan terendah adalah 7,2% (rendemen 36,7%) yaitu kontrol dengan konsentrasi substrat 15% dan aktivitas selulase 10 FPU/g substrat. Semakin tinggi konsentrasi selulosa pada waktu hidrolisis, maka semakin tinggi



Keterangan (Remarks) : S15 = Sampel (Sample) 15%; C15 = Kontrol (Control) 15%; S15 = Sampel (Sample) 15%; C15 = Kontrol (Control) 15%; S25 = Sampel (Sample) 25%; C25 = Kontrol (Control) 25%.

Gambar 2. Kadar etanol (%) pada beberapa perlakuan
Figure 2. Ethanol content (%) of several treatments

etanol yang dihasilkan. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Bardant et al. (2012), semakin tinggi substrat pulp TKKS (36,5%), semakin tinggi kadar etanol yang dihasilkan (10,5%).

Hasil analisis statistik dengan ancova (Lampiran 5) menunjukkan bahwa pengaruh kombinasi (K) antara faktor FPU dan faktor sampel bahan juga nyata terhadap kadar etanol (Lampiran 2). Demikian pula kadar gula pereduksi sebelum fermentasi (H) juga berpengaruh nyata terhadap kadar etanol (Y_{data2r}). Ternyata peranan kadar gula sebelum fermentasi (H) positif pula terhadap kadar etanol, dengan koefisien regresi (B) = + 0,0773 atau dengan perkataan lain semakin tinggi kadar gula pereduksi sebelum fermentasi (H) maka semakin tinggi kadar etanol (Y_{data2r}). Lebih lanjut, pengaruh kombinasi (K) yang nyata terhadap kadar etanol, diuji lebih lanjut dengan uji t (Lampiran 6).

Pada Lampiran 6 dapat dilihat bahwa nilai kadar etanol pada bahan contoh (S) cenderung lebih tinggi dibandingkan nilai pada kontrol (C). Selanjutnya peningkatan nilai FPU dari 10 ke 15 untuk kode bahan S15 dan C15 dan S25 dan C25 menyebabkan sedikit penurunan kadar etanol (Y_{data2r}). Sebaliknya, peningkatan nilai FPU tersebut untuk kode bahan S35 dan C35 mengakibatkan peningkatan kadar etanol. Nilai kadar etanol tertinggi terdapat pada bahan contoh S15 dan C15, diikuti berturut-turut oleh konversi selulosa pada bahan contoh S35 dan C35, dan pada bahan contoh S25 dan C25, sebagai urutan tertinggi kedua dan ketiga (terendah).

Umumnya, pada hasil sarakifikasi kecenderungan yang terjadi yaitu semakin naiknya konsentrasi gula pereduksi maka akan menghasilkan etanol yang makin tinggi. Karena glukosa yang dihasilkan setelah proses fermentasi menjadi sumber makanan bagi ragi untuk dirubah menjadi etanol. Sedangkan berdasarkan hasil analisis gula pereduksi sebelumnya (Tabel 2), menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi substrat 25% menghasilkan gula pereduksi yang lebih tinggi daripada konsentrasi substrat 35 %, tetapi kadar etanol substrat 35% lebih tinggi dari 25%. Hal ini disebabkan pada saat proses fermentasi, selain ragi yang bekerja, selulase masih bekerja mengurai selulosa menjadi glukosa, dan

kemudian diurai oleh ragi menjadi etanol selama 72 jam fermentasi. Pada konsentrasi 25%, saat fermentasi, selulase tidak mempunyai lagi selulosa untuk dikonversi menjadi gula. Hal ini yang menyebabkan konsentrasi substrat 25% telah maksimal dikonversi selulase pada saat hidrolisis.

E. Kelayakan Produksi dan Kelayakan Harga Pokok Produksi

Kelayakan produksi dan kelayakan harga pokok produksi merupakan salah satu komponen yang dapat dikaji sebagai sumber yang dapat mendukung hasil yang telah didapatkan pada proses produksi bioetanol. Masing-masing kajian ini memiliki batasan diantaranya kelayakan produksi dinyatakan layak jika hasilnya $\geq 5\%$ etanol, sedangkan kelayakan harga pokok produksi dinyatakan layak jika harga pokok produksi minimal setara dengan harga pertamax.

1. Kelayakan produksi bioetanol pulp limbah kayu

Dalam produksi bioetanol terdapat standar kelayakan produksi dimana kelayakan mengacu pada konsentrasi bioetanol yang didapatkan. Standar yang ditetapkan pada produksi bioetanol adalah limit $\geq 5\%$ etanol. Kelayakan produksi ini didasarkan pada kolom destilasi alkohol komersial PT. Madukismo, Yogyakarta. Hasil penelitian yang dilakukan untuk fermentasi dari tiga perlakuan yang telah dilakukan menunjukkan semua perlakuan menunjukkan hasil sesuai standar ($\geq 5\%$) yaitu substrat 10%, 15%, dan 35%.

2. Kelayakan harga pokok produksi pulp limbah kayu

Selain kelayakan produksi maka harus ada tinjauan mengenai harga pokok produksi sebagai acuan bahwa produksi bioetanol ini dapat dilakukan dalam skala industri sebagai salah satu alternatif pengganti bensin. Komponen biaya produksi bioetanol disajikan pada Tabel 3.

Selain faktor kelayakan harga pokok produksi, perkembangan bioetanol di dunia khususnya di Indonesia dipengaruhi juga oleh harga perkembangan minyak mentah dunia. Harga bioetanol diharapkan dapat bersaing dengan harga bahan bakar di pasaran. Kisaran yang didapatkan untuk harga bioetanol adalah Rp 10.208,- sedangkan bioetanol diharapkan dapat menyamai atau lebih rendah dari pertamax 92 sebesar Rp 8.950,-.

Tabel 3. Biaya produksi bioetanol
Table 3. Ethanol cost production

Komponen biaya (Cost components)	Jumlah (Amount)	Harga (Price, Rp)
Pulp (<i>Pulp</i>) ^{a)}	2167 %	7.800
Buruh dan utilitas (<i>Labor and utilities</i>) ^{b)}	1.000/liter	1.000
Selulase (<i>Cellulase</i>) ^{c)}	8% x 8.800	704
Ragi dan nutrien (<i>Nutrient and yeast</i>) ^{d)}	8% x 8.800	704
Total Biaya (Total cost)		10.208/liter

Keterangan (Remarks):

- a) Biaya produksi pulp Rp. 3.600,-/kg setara dengan ongkos produksi pulp per Desember 2014. Biaya produksi tersebut sudah termasuk biaya pengiriman bahan baku, upah buruh, energi (listrik), bahan-bahan kimia yang digunakan saat produksi pulp,
- b) Biaya utilitas (listrik, pengolahan limbah), laba dan buruh Rp. 1.000,-/liter (setara kinerja buruh) berdasarkan sistem yang diterapkan oleh PT. PS Madukismo. Perusahaan tersebut menjual produknya seharga Rp.6.000,-/liter dengan laba yang diperoleh sebesar Rp. 1.000,-
- c) Konversi selulosa menjadi glukosa > 90% dengan harga selulase 8% bahan + buruh + utilitas (setara kinerja amilase)
- d) Konversi glukosa menjadi etanol > 40% dengan kebutuhan ragi dan nutrien tambahan 8% bahan + buruh + utilitas (setara kinerja ragi pada etanol dari molases) yang didasarkan oleh sistem yang diterapkan oleh PT. PS Madukismo

IV. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Konversi selulosa tertinggi adalah sebesar 91,9% pada perlakuan konsentrasi substrat 15% dan selulase 15 FPU/g substrat. Semua perlakuan sampel mengalami peningkatan sebanyak 5 – 20% konversi selulosa dibandingkan tanpa surfaktan. Metode substrat konsentrasi tinggi menghasilkan kadar etanol tertinggi sebesar 17,7% dengan rendemen 38,4% pada perlakuan konsentrasi sampel 15% dengan aktivitas selulase 15 FPU/g substrat.

Pada penggunaan metode substrat konsentrasi tinggi, perlu dilakukan perlakuan pendahuluan untuk mengetahui kadar selulase optimal yang dibutuhkan pada saat hidrolisis, atau penambahan waktu sakarifikasi atau fermentasi agar gula pereduksi dan kadar etanol lebih maksimal.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Pusat Penelitian dan Pengembangan Hasil Hutan

(P3HH) yang telah membiayai penelitian ini melalui DIPA P3HH tahun 2015, dan semua pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian terutama para teknisi di laboratorium Kelti Pengolahan Kimia Energi dan Hasil Hutan Bukan Kayu.

DAFTAR PUSTAKA

- Bardant, T. B., Indiyanti, & Selviyanti, T. (2012). Study of response surface methodology (RSM) on the effect of span 85 in high substrate loading enzymatic hydrolysis of palm oil EFB. Dalam *The 2nd Korea-Indonesia Workshop & International Symposium on Bioenergy from Biomass* (pp. 124-153).
- Cheng, N., Yamamoto, Y., Koda, K., Tamai, Y., & Uraki, Y. (2014). Amphiphatic lignin derivatives to accelerate simultaneous saccharification and fermentation of unbleached softwood pulp for bioethanol production. *Bioresource Technology*, 173, 104-109. doi: 10.1016/j.biortech.2014.09.093.

- Converse, A. O., Ooshima, H., & Burns, D. S. (1990). Kinetics of enzymatic hydrolysis of lignocellulose materials based on surface area of cellulose accessible to enzyme and enzyme adsorption on lignin and cellulose. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 24, 67-73.
- Duta, D. K. (2016). 2016, Pertamina impor BBM 8 juta barel per bulan. Diakses dari [http://www.slideshare.netAdgilo/laporan-kunjungan-industri-pt-madu-kusumo-magelang](https://www.cnnindonesia.com/ekonomi/20160311182221-85-116856/2016-pertamina-impor-bbm-8-juta-barel-per-bulan/pada tanggal 16 Agustus 2017.</p><p>Kementerian Kehutanan Republik Indonesia. (2012). <i>Statistik kehutanan Indonesia</i>. Kementerian Kehutanan, Jakarta</p><p>Lynd, L. R. (1996). Overview and evaluation of fuel ethanol from cellulosic biomass?: Technology, economics, the environment, and policy. <i>Annual Review of Energy and the Environment</i>, 21, 403-465. doi: 10.1146/annurev.energy.21.1.403</p><p>Purwanto, D. (2009). Analisa jenis limbah kayu pada industri pengolahan kayu di Kalimantan Selatan. <i>Jurnal Riset Industri Hasil Hutan</i>, 1(1), 14-20.</p><p>Rathna, G. S., Saranya, R., & Kalaiselvam, M. (2014). Bioethanol from sawdust using cellulase hydrolysis of <i>Aspergillus ochraceus</i> and fermentation by <i>Saccharomyces cerevisiae</i>. <i>Microbiology Applied Science</i>, 3(12), 733-742.</p><p>Saputro, D. E. (2015). Laporan kunjungan industri PT. Pabrik Gula Madukismo. <i>Laporan kunjungan mahasiswa</i>. diakses dari <a href=), pada tanggal 3 Agustus 2017.
- Shintawaty, A. (2006). Prospek pengembangan biodiesel dan bioetanol sebagai bahan bakar alternatif di Indonesia. Diakses dari <https://id.scribd.com/document/80902141/Prospek-Biodiesel>, pada tanggal 28 Agustus 2017.
- Silverstein, R. A., Chen, Y., Sharma-Shivappa, R. R., Boyette, M. D., & Osborne, J. (2007). A comparison of chemical pretreatment methods for improving saccharification of cotton stalks. *Bioresource Technology*, 98(16), 3000-3011. doi: 10.1016/j.biortech. 2006. 10.022.
- Sukmana, H. (2015). Penggunaan pulp kayu kelapa sawit dalam produksi bioetanol dari limbah lignoselulosa. (Skripsi) Program Pendidikan Sarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Winarni, I., Komarayati, S., & Djarnarto. (2017). Formulasi ragi campuran untuk produksi bioetanol dari limbah kayu sengon. *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*, 35(2), 135-143. doi: 10.20886/jphh.2017.35.2.135-143.
- Winarni, I., Oikawa, C., Yamada, T., Igarashi, K., Koda, K., & Uraki, Y. (2013). Improvement of enzymatic saccharification of unbleached cedar pulp with amphipathic lignin derivatives. *BioResources*, 8(2), 2195-2208.

Lampiran 1. Analisis statistik
Appendix 1. Statistical analysis

Sumber keragaman (Source of variance)	db	Data hasil fermentasi (Data fermentation Result)					
		Kadar gula pereduksi sesudah fermentasi (Ydata) (Reduction sugar after fermentation)	Konversi selulosa (Ydata1) (Cellulose conversion)	Kadar etanol (Ydata2) (Ethanol content)	F-hitung	P	F-hitung
Total	35						
K	11	415,95	0,001	252,92	0,001	488,65	0,001
H	1	31,48	0,001	74,32	0,001	80,04	0,001
Galat (Error)	23						
Rata-rata (Mean)		45,55		84,35833		10,66	
KK		1,9737		1,009			

Lampiran 2. Pengaruh kombinasi faktor FPU dan SB (K) terhadap kadar gula pereduksi sesudah fermentasi (Ydata) dengan uji beda t

Appendix 2. Combination effect of filter paper unit factor and treatment to reducing sugar after fermentation using t test

No.	SB	F	K	Kadar gula pereduksi sesudah fermentasi (Reduction sugar content after fermentation, Ydata)		Mutu (Grades)	Nilai (Score)
1.	S15	10	o	42,6737		C	2
2.	C15	10	p	28,4579		D	1
3.	S15	15	q	54,2015		AB	3,5
4.	C15	15	r	53,7622		AB	3,5
5.	S25	10	s	54,2604		AB	3,5
6.	C25	10	t	41,2768		C	2
7.	S25	15	u	60,2749		A	4
8.	C25	15	v	28,1508		D	1
9.	S35	10	w	55,2470		AB	3,5
10.	C35	10	x	49,4736		B	3
11.	S35	15	y	39,8086		CD	1,5
12.	C35	15	z	39,0127		CD	1,5

Keterangan (Remarks): Y data = rerata dari 3 ulangan, diterapkan pada kadar gula pereduksi (H) = 149,5275 (Average of 3 replications, adjusted on reducing sugar levels (H) = 149,5275); Angka pada kolom Y data yang diikuti secara mendekati oleh huruf yang sama, tidak saling berbeda nyata; SB=Substrat, %; F= aktivitas enzim, FPU/g substrat; K= perlakuan (The numbers in column Y data followed horizontally by the same letters are not distinctly different; SB=Substrate, %; F= enzyme activity, FPU/g substrat; K= treatment

Lampiran 3. Pengaruh kombinasi faktor FPU dan SB (K) terhadap nilai konversi selulosa (Ydata1) dengan uji beda t

Appendix 3. Combination effect of filter paper unit factor and treatment to cellulose conversion using t test

No.	SB	F	K	Konversi selulosa (Cellulose conversion) (Ydata1)	Mutu (Grades)	Nilai (Score)
1.	S15	10	o	107,6840	AB	7,5
2.	C15	10	p	87,3387	C	6
3.	S15	15	q	117,2914	A	8
4.	C15	15	r	116,2949	A	8
5.	S25	10	s	96,7102	B	7
6.	C25	10	t	71,7742	F	3
7.	S25	15	u	74,9516	E	4
8.	C25	15	v	54,3895	H	1
9.	S35	10	w	86,8000	C	6
10.	C35	10	x	77,8363	D	5
11.	S35	15	y	61,9402	G	2
12.	C35	15	z	59,2890	GH	1,5

Keterangan (Remarks): Y data1 = rerata dari 3 ulangan, ditera pada kadar gula pereduksi (H) = 149,5275 (Y data = average of 3 replications, adjusted on reducing sugar levels (H) = 149,5275); Angka pada kolom Y data1 yang diikuti secara mendatar oleh huruf yang sama, tidak saling berbeda nyata; SB=Substrat, %; F= aktivitas enzim, FPU/g substrat; K= perlakuan (The numbers in column Y data 1 followed horizontally by the same letters are not distinctly different; SB=Substrate, %; F= enzyme activity, FPU/g substrat; K= treatment

Lampiran 4. Pengaruh kombinasi faktor FPU dan SB (K) terhadap kadar etanol (Ydata2r) dengan uji beda t

Appendix 4. Combination effect of filter paper unit factor and treatment to ethanol content using t test

No.	SB	F	K	Kadar etanol (Ethanol content) (Ydata2)	Mutu (Grades)	Nilai (Score)
1.	S15	10	o	12,3278	C	6
2.	C15	10	p	17,2367	A	8
3.	S15	15	q	11,1936	D	5
4.	C15	15	r	14,1224	B	7
5.	S25	10	s	10,8624	E	4
6.	C25	10	t	7,0385	G	2
7.	S25	15	u	8,6028	F	3
8.	C25	15	v	5,0686	H	1
9.	S35	10	w	10,3169	E	4
10.	C35	10	x	10,9825	DE	4,5
11.	S35	15	y	14,3180	B	7
12.	C35	15	z	10,8499	E	4

Keterangan (Remarks): Y data2 = rerata dari 3 ulangan, ditera pada kadar gula pereduksi (H) = 149,5275 (Y data = average of 3 replications, adjusted on reducing sugar levels (H) = 149,5275); Angka pada kolom Y data2 yang diikuti secara mendatar oleh huruf yang sama, tidak saling berbeda nyata; SB=Substrat, %; F= aktivitas enzim, FPU/g substrat; K= perlakuan (The numbers in column Y data 2 followed horizontally by the same letters are not distinctly different; SB=Substrate, %; F= enzyme activity, FPU/g substrat; K= treatment