

PENGARUH HIDROLISIS ENZIMATIS TERHADAP PRODUKSI BIOETANOL DARI UMBI TALAS (*Colocasia gigantea Hook F*)

Marniati Salim, Elida Mardiah, dan Febby Febrizal

Laboratorium Bioteknologi, Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Andalas

Email : bundosalim@gmail.com, 08126629050

ABSTRACT

Umbi talas (*Colocasia gigantea Hook F*) are rich of starch (77.9%), that could be fermentated to form bioethanol for renewable energy. The ethanol were produced by fermenting the hydrolysed enzymaticly by α -amylase and glucoamylase at the variation 4, 5, 6, 7, and 8 mL for 1, 2, 3, 4, and 5 hours. The glucose produced was measured by Somogy-Nelson methode. The product of hydrolysed were optimum with 6 mL α -amylase and 7 mL glucoamylase for 4 hours wich gave 64,222 g/L of reducing sugar. The product of ethanol were analyzed by Gas Chromatography (GC). The maximum bioethanol production obtained after 5 days fermentation was 4.0123%.

Keywords : Bioethanol, umbi talas, enzymatic hydrolysed, α -amylase, glucoamylase

PENDAHULUAN

Kebutuhan Bahan Bakar Minyak (BBM) di berbagai negara akhir-akhir ini mengalami peningkatan tajam. Demikian juga konsumsi BBM di Indonesia dari tahun 2006 sampai 2011 meningkat masing-masing untuk premium dari 16,81 juta kilo liter (jkl) menjadi 25,49 jkl, sedangkan untuk solar dari 10,67 jkl menjadi 14,49 jkl. Subsidi BBM meningkat lebih dari 100% yaitu 64,212 triliun rupiah menjadi 137,379 triliun rupiah^[1].

Untuk mengantisipasi krisis BBM pada masa yang akan datang, telah berkembang saat ini pemanfaatan etanol sebagai bahan bakar alternatif yaitu pembuatan bioetanol untuk gasohol (campuran gasolin dan alkohol). Jadi bioetanol dapat digunakan dalam sektor transportasi setelah dicampurkan dengan gasoline. Dalam pemanfaatannya sebagai bahan bakar kendaraan dapat digunakan dengan perbandingan 10% bioetanol absolut dan 90% bensin. Campuran dari larutan ini biasa disebut dengan gasohol E-10. Keuntungan penggunaan bioetanol dalam sektor transportasi dapat menurunkan kualitas udara dengan memiliki tekanan uap rendah, daya mudah terbakar yang rendah pada kendaraan, dan mengurangi pembebasan emisi

CO dan SO₂ sehingga mengurangi efek rumah kaca^[2-4].

Bioetanol dapat dihasilkan melalui proses fermentasi glukosa dari penguraian sumber karbohidrat dengan bantuan mikroorganisme sebagai bahan baku. Sumber karbohidrat dapat digunakan umbi talas (*Colocasia gigantea Hook F*) yang termasuk tanaman umbi-umbian dengan kandungan pati yang cukup tinggi 77,9%^[5], maka peneliti mencoba melakukan penelitian untuk menghasilkan bioetanol dengan mengamati variabel-variabel yaitu pengaruh variasi penambahan enzim α -amilase dan glucoamilase serta lama hidrolisisnya, terhadap gula reduksi yang dihasilkan dan juga mengamati lama fermentasi terhadap konsentrasi etanol dan konsentrasi glukosa sisa.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah neraca analitik, alat-alat gelas, inkubator, autoklaf, *hot plate stirrer*, termometer, spektrofotometer (Thermo Spectronic Genesys 20), jarum ose, sentrifus, *shaker*, pH indikator, seperangkat peralatan

destilasi, *stopwatch*, dan peralatan GC (QP 2010 S SHIMADZHU).

Bahan yang digunakan adalah umbi talas (*Colocasia gigantea Hook F*), natrium karbonat (Merck), kalium natrium tartarat (Merck), natrium bikarbonat, natrium sulfat (Merck), tembaga sulfat hidrat (Merck), asam sulfat pekat, natrium tungstat (Merck), asam molibdat, natrium hidroksida, akuabides, asam pospat 85 %, enzim α -amilase dan glukoamilase (Novozyme), asam asetat, natrium asetat, medium Potato Dextrose Agar (PDA), $(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 , yeast extract dan etanol 96%.

Semua alat dengan medium yang digunakan disterilisasi autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit. Pada penelitian ini dilakukan beberapa tahap perlakuan yaitu mengamati:

1. Proses hidrolisis, variasi penambahan α -amilase dan glukoamilase terhadap konsentrasi gula reduksi.
2. Penentuan konsentrasi gula reduksi dengan metode Somogy-Nelson.
3. Penentuan pengaruh variasi lama fermentasi terhadap konsentrasi etanol dengan Gas Chromatography (GC).
4. Penentuan konsentrasi glukosa sisa pada variasi lama fermentasi.

Prosedur Kerja

Persiapan sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tepung talas yang dibuat dari umbi talas (*Colocasia gigantea Hook F*). Umbi talas dikupas dan dicuci, setelah bersih dihaluskan menggunakan penggiling. Umbi yang telah halus dikeringkan \pm 3 hari dengan bantuan sinar matahari hingga menjadi tepung. Tepung diayak menggunakan ayakan dengan pori 425 μm , untuk menyeragamkan ukuran partikel dan disimpan di tempat yang kering. Tepung siap digunakan sebagai sampel dalam jangka waktu yang lama.

Proses hidrolisis penentuan pengaruh variasi penambahan α -amilase terhadap konsentrasi gula reduksi

Tepung umbi talas 15 g ditambah dengan 100 mL akuabides dalam erlenmeyer 250 mL. -

amilase ditambahkan dengan variasi 4, 5, 6, 7 dan 8 mL dan dipanaskan pada suhu 80 °C, diaduk 250 rpm selama 2 jam. Selanjutnya dilakukan pengaktifan enzim dengan cara dipanaskan pada suhu \pm 105°C selama 15 menit. Larutan disentrifus, filtratnya diambil dianalisis dengan metode Somogy-Nelson. Sampel yang memiliki absorbansi paling tinggi dilanjutkan untuk proses hidrolisis dengan menggunakan enzim glukoamilase. Didapatkan kondisi optimum dari variasi penambahan α -amilase^[7].

Penentuan pengaruh variasi penambahan glukoamilase dan lama hidrolisis terhadap konsentrasi gula reduksi

Tepung umbi talas 15 g ditambah 100 mL akuabides dalam erlenmeyer 250 mL, ditambahkan α -amilase 6 mL, dipanaskan pada suhu 80 °C, dan diaduk 250 rpm selama 2 jam. Selanjutnya dilakukan hidrolisis menggunakan enzim glukoamilase 4, 5, 6, 7, dan 8 mL, diatur pH 5 dengan penambahan asam asetat dan pHnya dipertahankan dengan buffer asetat. Larutan diaduk 250 rpm selama 1, 2, 3, 4, dan 5 jam pada $T = 55$ °C. Setelah itu dilakukan pengaktifan enzim dan larutan disentrifus, filtratnya diambil dan konsentrasi gula reduksinya dianalisis dengan metode Somogy-Nelson. Sampel yang memiliki konsentrasi gula reduksi paling tinggi dilanjutkan untuk proses fermentasi. Didapatkan kondisi optimum dari variasi penambahan glukoamilase dan lama hidrolisis^[7].

Penentuan konsentrasi gula reduksi sampel dengan metode Somogy-Nelson

Hidrolisat yang telah diinaktifkan enzimnya, disentrifus, 1 mL filtrat dipipet dan diencerkan dalam labu ukur 10 mL (pengenceran 10^{-1}), kemudian diambil 1 mL dari pengenceran 10^{-1} dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan diencerkan kembali (pengenceran 10^{-2}), demikian selanjutnya sampai pengenceran 10^{-4} . Kemudian 1 mL dari pengenceran 10^{-4} ditambahkan dengan 1 mL reagen Nelson di dalam tabung reaksi, lalu dipanaskan pada air mendidih selama 20 menit. Setelah didinginkan tabung reaksi hingga suhu larutan \pm 25 °C, lalu ditambahkan 1 mL reagen fosfomolibdat dan 7 mL akuades. Larutan dikocok, lalu didiamkan selama 30 menit,

kemudian absorban masing-masing larutan sampel diukur pada panjang gelombang 580 nm dengan spektrofotometer. Konsentrasi gula reduksi didapatkan dengan memasukkan nilai absorban pada persamaan regresi kurva kalibrasi standar.

Fermentasi bioetanol

Penentuan pengaruh variasi lama fermentasi terhadap konsentrasi etanol

Sebanyak 50 mL hidrolisat dimasukkan ke dalam 100 mL medium nutrisi, diatur pHnya menjadi 5, ditambahkan 20 mL *Saccharomyces cerevisiae*, ditutup dengan aluminium foil. Kemudian sampel di-shaker pada kecepatan 200 rpm selama 3, 4, 5, 6, dan 7 hari. Proses fermentasi etanol dilakukan secara anaerob. Hasil fermentasi selanjutnya didestilasi untuk memisahkan etanol dari larutan lainnya, sampai didapatkan destilat yang diindikasikan sebagai etanol. Destilat diukur konsentrasi etanolnya dengan menggunakan GC dengan kondisi operasional: gas pembawa Helium, tekanan 52,3 kPa, kolom yang digunakan Rtx 5 MS dengan panjang kolom 30 m dan diameter dalam 0,25 μ m, suhu oven 60 °C, suhu injeksi 150 °C, volume injeksi 0,5 μ L, total alir 0,94 mL/min dan detektor FID serta konsentrasi glukosa sisa fermentasi juga diukur dengan spektrofotometer.

Penentuan konsentrasi glukosa sisa pada variasi lama fermentasi

Hasil fermentasi yang telah diinaktifkan enzimnya, disentrifus, 1 mL filtrat diencerkan dalam labu ukur 10 mL (pengenceran 10^1). 1 mL larutan dari pengenceran 10^1 dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan diencerkan kembali (pengenceran 10^2). Kemudian 1 mL dari pengenceran 10^2 ditambahkan dengan 1 mL reagen Nelson di dalam tabung reaksi, lalu dipanaskan pada air mendidih selama 20 menit. Setelah itu didinginkan tabung reaksi hingga suhu larutan ± 25 °C, lalu ditambahkan 1 mL reagen fosfomolibdat dan 7 mL akuades. Larutan dikocok lalu didiamkan selama 30 menit, kemudian absorban masing-masing larutan sampel diukur pada panjang gelombang 580 nm dengan spektrofotometer. Konsentrasi gula reduksi didapatkan dengan memasukkan

nilai absorban pada persamaan regresi kurva kalibrasi standar.

HASIL DAN DISKUSI

Pengaruh variasi penambahan -amilase terhadap konsentrasi gula reduksi

Pengaruh variasi penambahan -amilase terhadap konsentrasi gula reduksi pada proses hidrolisis umbi talas (*Colocasiagigantea Hook F*) dapat dilihat pada Gambar 1. Pada Gambar 1, dapat dilihat bahwa variasi penambahan -amilase yang dilakukan berpengaruh terhadap konsentrasi gula reduksi. Konsentrasi akan meningkat seiring dengan peningkatan variasi penambahan -amilase (4 - 6 mL). Hal itu terjadi karena jumlah enzim belum cukup untuk menghidrolisis substrat pati. Akan tetapi setelah mencapai titik optimum tidak ada lagi peningkatan konsentrasi karena sudah terjadi kesetimbangan reaksi antara substrat dengan enzim. Konsentrasi maksimum diperoleh pada variasi penambahan -amilase 6 mL sebesar 14,222 g/L. -amilase pada proses hidrolisis akan membantu pemecahan pati menjadi maltosa.

Pengaruh variasi penambahan glukoamilase dan lama hidrolisis terhadap konsentrasi gula reduksi

Variasi penambahan glukoamilase dilakukan setelah proses hidrolisis dengan -amilase 6 ml selama 2 jam. Proses hidrolisis menggunakan glukoamilase dilakukan selama 1- 5 jam.

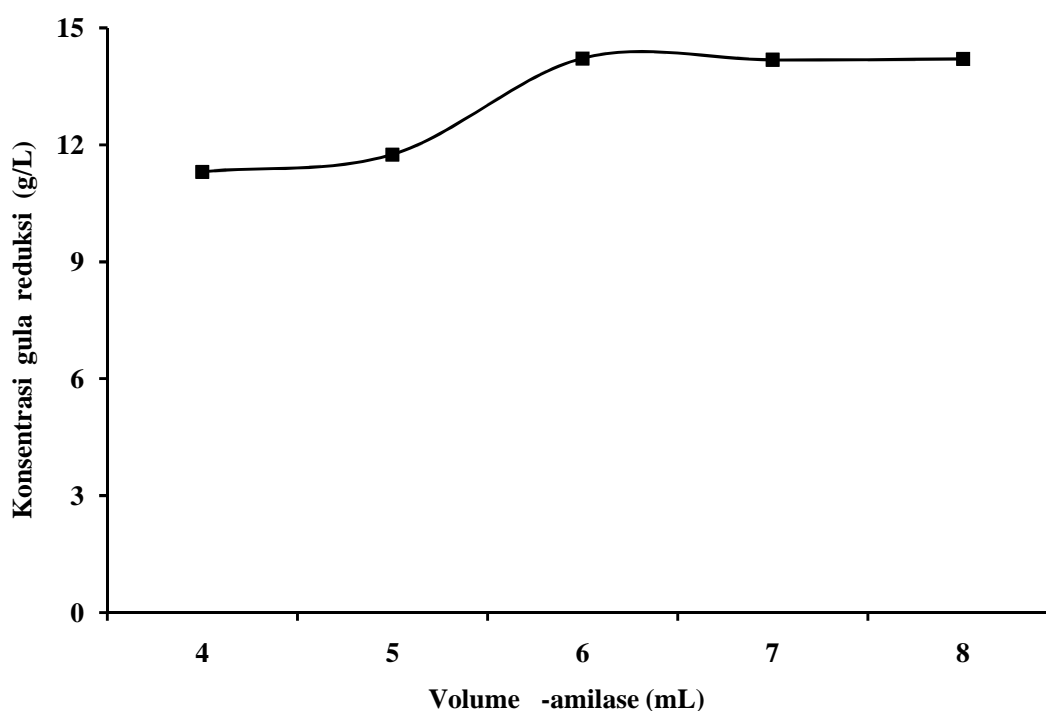
Pada Tabel 1, terlihat bahwa variasi penambahan glukoamilase dan lama hidrolisis mempengaruhi konsentrasi gula reduksi yang dihasilkan. Pada awalnya konsentrasi meningkat seiring dengan penambahan glukoamilase (4 - 7 mL), sedangkan pada penambahan 8 mL tidak terjadi kenaikan lagi karena sudah terjadi kesetimbangan reaksi.

Pengukuran konsentrasi diketahui meningkat secara drastis setelah 4 jam. Hal tersebut diindikasikan bahwa pada hidrolisis selama 4 jam dan dibantu dengan penambahan glukoamilase, pemecahan maltosa menjadi dua gugus glukosa telah sempurna. Pada keadaan ini, dapat dilihat kondisi optimum

terbentukanya gula reduksi. Hidrolisis pada 1 - 4 jam terjadi peningkatan konsentrasi. Sedangkan pada hidrolisis 5 jam terjadi penurunan konsentrasi, karena kestabilan enzim mulai menurun pada waktu inkubasi yang terlalu lama.

Pada Tabel 2, terlihat bahwa pada penambahan glukoamilase 4 - 7 mL terjadi peningkatan konsentrasi gula reduksi yang dihasilkan. Hal tersebut sebanding dengan kenaikan

absorbannya. Pada penambahan 8 mL tidak terjadi lagi kenaikan konsentrasi. Konsentrasi gula reduksi tertinggi didapatkan pada penambahan glukoamilase sebanyak 7 mL sebesar 64,222 g/L. Pada penambahan glukoamilase 7 mL komposisinya tepat untuk membantu proses pemecahan maltosa menjadi dua gugus glukosa.



Gambar 1. Kurva konsentrasi gula reduksi yang dihasilkan dengan variasi penambahan -amilase

Tabel 1. Data konsentrasi gula reduksi pada variasi penambahan glukoamilase dan lama hidrolisis

Penambahan Glukoamilase (mL)	Lama Hidrolisis (jam)				
	1	2	3	4	5
	Konsentrasi gula reduksi (g/L)				
4	9,955	10,977	20,088	41,333	17,977
5	12,444	12,444	28,444	42,666	28,444
6	13,488	15,955	34,666	44,444	32,222
7	11,288	19,866	45,555	64,222	41,777
8	12,666	19,466	45,333	64	40,666

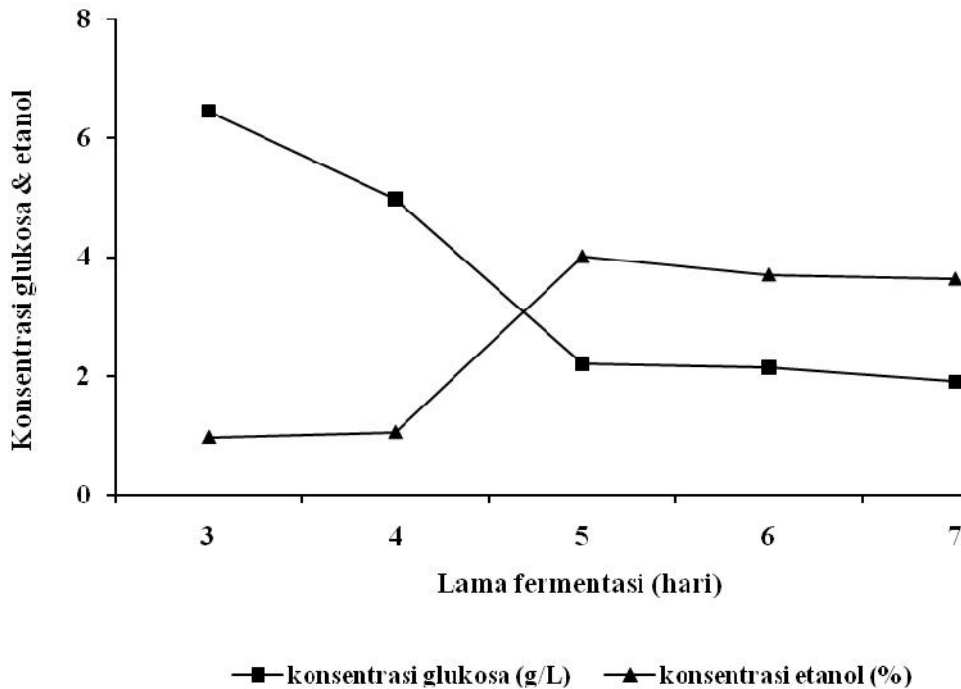
Tabel 2. Data konsentrasi gula reduksi setelah dihidrolisis dengan glukoamilase selama 4 jam

Penambahan Glukoamilase (mL)	Absorban	Konsentrasi Gula Reduksi (g/L)
4	0,158	41,333
5	0,164	42,666
6	0,172	44,444
7	0,261	64,222
8	0,26	64

Untuk menghasilkan konsentrasi gula reduksi yang tinggi, pengaturan pH dan suhu hidrolisis juga harus diperhatikan. pH sangat berpengaruh karena dapat meningkatkan kerja enzim dan pengaturan suhu dapat mempercepat proses hidrolisis. Pada penelitian ini digunakan pH 5 dan suhu hidrolisis 55 °C.

Pengaruh variasi lama fermentasi terhadap konsentrasi etanol

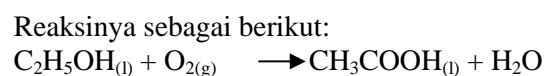
Konsentrasi etanol yang dihasilkan untuk variasi lama fermentasi dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Kurva konsentrasi etanol yang dihasilkan serta konsentrasi glukosa sisa fermentasi terhadap variasi lama fermentasi

Pada Gambar 2, terlihat bahwa semakin lama waktu fermentasi, maka konsentrasi etanol yang dihasilkan juga semakin meningkat mulai dari 3 - 5 hari. Hal tersebut terjadi karena semakin lama waktu maka semakin banyak glukosa yang dapat dikonversi menjadi etanol oleh *S.cerevisiae*. Akan tetapi, pada 6 - 7 hari terjadi penurunan konsentrasi etanol yang dihasilkan. Hal ini disebabkan karena proses fermentasi aerob fakultatif ini memungkinkan

tumbuhnya *Acetobacter aceti*. Bakteri ini dapat mengkonversi alkohol yang terbentuk menjadi asetat yang ditandai aroma asam pada sampel sehingga menurunkan konsentrasi etanol.



Konsentrasi etanol tertinggi dihasilkan pada fermentasi selama 5 hari sebesar 4,0123%. Ini

merupakan kondisi optimum dari pembentukan etanol, dilihat juga dari konsentrasi glukosa sisa fermentasinya.

Dari Gambar 2 dapat dilihat, semakin lama waktu fermentasi, jumlah pengurangan glukosa juga semakin besar, terlihat penurunan yang tajam konsentrasi glukosa pada 3 - 5 hari fermentasi karena pada keadaan tersebut glukosa digunakan untuk membentuk etanol dan untuk pertumbuhan *S.cerevisie*. Sedangkan pada 5 - 7 hari terjadi sedikit penurunan karena glukosa hanya dipergunakan sebagai sumber energy *S.cerevisie* dalam kelangsungan hidupnya. Konsentrasi glukosa pada 5 hari 0,220 g/L.

Konsentrasi etanol optimum yang didapatkan sebesar 4,0123% belum sesuai dengan apa yang diharapkan, karena hasilnya jauh di bawah kadar etanol yang diproduksi dari umbi talas jenis lainnya yang mencapai 53%^[6]. Hal tersebut terjadi karena metode yang digunakan dan pemisahannya kurang maksimal. Metode fermentasi yang digunakan adalah metode *batch*, dimana proses fermentasi terjadi di dalam suatu tempat dan produk yang terbentuk tetap bercampur dengan substratnya. Produk yang terbentuk adalah gas CO₂ dan etanol, jika produk ini tidak dikeluarkan akan meracuni *S.cerevisiae*. Produk yang terbentuk seharusnya dialirkan ke tempat penampungan produk, seperti pada fermentasi dengan metode kontinu. Pemisahan etanol yang terbentuk hanya dilakukan dengan cara destilasi saja, seharusnya juga dilakukan absorpsi dengan absorben CaO, untuk menyerap H₂O untuk meningkatkan konsentrasi etanol yang dihasilkan.

KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan umbi Talas (*Colocasia-gigantea Hook F*) dapat dijadikan sebagai bahan pembuat bioetanol. Setelah dilakukan hidrolisis, hidrolisat mengandung glukosa 64,222 g/L. Proses hidrolisis yang memberikan hasil glukosa maksimum adalah dengan menggunakan amilase 6 mL, glukoamilase 7 mL dan lama hidrolisis dengan glukoamilase 4 jam. Produksi etanol maksimum terjadi pada

lama fermentasi 5 hari, konsentrasi etanol yang diperoleh sebesar 4,0123%. Produksi etanol selama fermentasi berbanding terbalik dengan konsentrasi glukosa sisa fermentasi.

DAFTAR PUSTAKA

1. www.kompas.com, Senin 12 Maret 2012, Transportasi massal perlu mendapat prioritas (Konsumsi BBM Indonesia), 11, 2012.
2. Indyah Nurdyastuti, Teknologi proses produksi bioetanol. BPPT prospek pengembangan bio-fuel sebagai substitusi bahan bakar minyak (BBM) http://www.oocities.org/markal_bppt/publication/biofbm/biindy.pdf, 75-83. 14 Juni 2011.
3. S. Yunoki and M. Saito. A Simple method to determine bioethanol content in gasoline using two-step extraction and liquid scintillation counting. *bioresource technology*, 100, 6125–6128, (2009).
4. S. N. Dodic', S. D. Popov, J. M. Dodic', J. A. Rankovic', and Z. Z. Zavargo. Potential contribution of bioethanol fuel to the transport sector of vojvodina. *renewable and sustainable energy reviews*, 13, 2197–2200, (2009).
5. Lecture Material Food and Farm Management, Pengaruh substitusi tepung talas semir (*colocasia esculenta* (L) schott) dan penambahan lemak terhadap karakteristik organoleptik dan karakteristik lain cookies. <http://bakulpangan.blogspot.com/2011/10/pengaruh-substitusi-tepung-talas-semir.html>. 20 November 2011.
6. A. Setiasih, Pemafaatan talas (*colocasia esculenta*) sebagai bahan baku pembuatan bioetanol, Universitas Diponegoro, Semarang, 1-12, 2011.
7. E. D. Retno, E. A. Kriswiyanti, dan Adrian Nur, Bioetanol fuel grade dari talas (*colocasia esculenta*), *Ekulilibrium.*, 8(1), 1-6, (2009).
8. G. N. Huda, Bioetanol dari talas. *lomba artikel*, Institut Pertanian Bogor, 1-3, 2009.
9. D. Subashini, dkk., Ethanol production from sago waste using *saccharomyces cerevisiae* Vits-M1, *School of biosciences and Technology, VIT University, India*, 3(1) 42-51, (2011).