

**PEROLEHAN GLUKOSA DENGAN HIDROLISIS ENZIMATIS DARI AMPAS TEBU
MENGUNAKAN *TRICHODERMA VIRIDE* DAN *ASPERGILLUS NIGER*
SEBAGAI BAHAN BAKU BIOETANOL**

Ellyta Sari^{*}, Elly Desni Rahman, Munas Martynis, Shafira Fiona, dan Junialdi

Teknik Kimia Fakultas Teknologi Industri Universitas Bung Hatta Padang

Jl. Gajah Mada 19 Gunung Pangilun Padang

Email: sariellyta@yahoo.com

ABSTRACT

Lignocellulosic biomass is a rich agricultural waste containing cellulose and hemicellulose. Bagasse (bagasse) is one of the waste biomass containing cellulose and hemicellulose approximately 47.7% which can be used to produce bioethanol. Enzymatic process is able to hydrolysis the polysaccharide compound into its constituent, sugars monomer compound. An enzymatic hydrolysis process converts cellulose to glucose by using cellulase enzymes. Some microorganisms producing the enzyme cellulase are *Trichoderma viride* and *Aspergillus niger*. The purpose of this research is to find out comparison of both these microorganism as a catalyst in the enzymatic hydrolysis process that produces the highest glucose levels and hydrolysis time. Hydrolysis process is done by varying the ratio between *Trichoderma viride* and *Aspergillus niger* of 1: 0; 0: 1; 0.5: 1 and 1: 0.5 and time sampling 24, 48, 72, 96, 120. The results showed glucose acquisition as much as 360 mg/L with hidrolisis process by hotplate stirer and 660 mg/L with process by waterbath shaker at composition ratio of *Trichoderma viride*: *Aspergillus niger* 1: 0.5 and the hydrolysis time is 96 hours.

Keywords: *agasse, enzymatic hydrolysis, glucose*

PENDAHULUAN

Energi alternatif atau energi masa depan menggantikan sumber energi fosil seperti batu bara. Bahan Bakar Minyak (BBM), dan gas. Sumber energi fosil secara perlahan lahan akan habis, tapi pasti harus mulai diubah porsi dominannya. Penggunaan energi fosil, lambat laun porsinya akan berkurang. Pada tahun 2035 diproyeksikan alokasi energi masa depan dan ramah lingkungan akan mengambil porsi sebanyak 25% dari total konsumsi energi di dunia. Energi alternatif ini akan menjadi tumpuan di dalam menghasilkan listrik dan BBM dunia. Kebijakan pemerintah Indonesia akan menghapuskan program BBM bersubsidi membuat masyarakat Indonesia semakin resah, karena mahalnya harga BBM di

Indonesia. Maka dari pada itu alangkah baiknya pemerintah Indonesia mendukung dan membantu kegiatan produksi BBM berbasis etanol dalam negeri sekaligus untuk mengurangi masuknya minyak impor ke dalam negeri dengan harga yang mahal.

Minuman segar sari tebu sudah menjadi minuman *trendy* di Sumatera Barat sebagai pelepas dahaga. Hal ini didukung dengan adanya perkebunan tebu di Puncak Lawang Kabupaten Agam Sumatera Barat seluas 3000 hektar. Semaraknya minuman sari tebu tersebut, maka semakin banyak pula limbah yang dihasilkan yaitu ampas tebu. Ampas tebu (bagas) merupakan limbah biomassa yang mengandung selulosa dan hemiselulosa sekitar 47,7% yang dapat dimanfaatkan untuk produksi bioetanol.

Bioetanol dapat diperoleh dari biomassa berbahan baku selulosa dan glukosa. Pembuatan bioetanol dari biomassa yang berbahan selulosa harus diawali dengan *pretreatment*. Sebelum selulosa dirombak menjadi glukosa, selulosa yang ada di ampas tebu harus diolah terlebih dahulu guna menghilangkan lignin yang mengikat selulosa dan hemiselulosa pada ampas tebu. Sehingga diperoleh serat selulosa dan hemiselulosa yang optimal. Kemudian dilanjutkan dengan proses hidrolisis yaitu mengubah selulosa menjadi glukosa. Hidrolisis merupakan proses pemecahan polisakarida pada biomassa lignoselulosa menjadi monomer gula penyusunnya. Hidrolisis sempurna selulosa menghasilkan glukosa. Proses hidrolisis dapat dilakukan secara asam dan secara enzimatik. Proses hidrolisis enzimatik memerlukan enzim sellulase. Hidrolisis enzimatik merupakan proses yang ramah lingkungan.

Penggunaan enzim sellulase yang siap pakai pada proses hidrolisis enzimatik harganya sangat mahal, sehingga menurut Wyman *et. al.* (2005) ^[1] menyarankan sebaiknya mengurangi penggunaan enzim. Dan hal ini, menurut Cardona dan Sanchez (2007) ^[2] menyatakan bahwa tahap tersebut merupakan tantangan utama pada konversi biomassa lignoselulosa menjadi bioetanol. Berdasarkan hal tersebut perlu dicari solusi untuk memproduksi enzim langsung pada proses hidrolisis enzimatik. Enzim sellulase biasanya merupakan campuran dari beberapa enzim. Ada tiga kelompok enzim yang terlibat pada hidrolisis selulosa yaitu endoglukonase yang bekerja pada serat selulosa untuk memecah selulosa secara acak, eksoglukonase atau selobiohidrolase yang mendegradasi lebih lanjut molekul tersebut dan β -glukosidase yang menghidrolisis selobiosa menjadi glukosa. Enzim-enzim tersebut dapat diproduksi menggunakan mikroorganisme penghasil enzim. Beberapa mikroorganisme atau fungi dan bakteri yang dapat menghasilkan enzim tersebut dapat diperoleh pada jamur *Trichoderma* sp (*Trichoderma reesei*, *Trichoderma viride*, dll) dan *Aspergillus niger*, bakteri *Bacillus* sp dan *Streptomyces* sp. ^[3] Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah yang dapat disusun dalam penelitian ini yaitu, apakah dengan menggunakan jamur *T. viride* dan *A. niger* penghasil enzim sellulase dengan

produksi sendiri dapat menyaingi hasil hidrolisis dari enzim sellulase siap pakai yang telah spesifik ^[4]. Tujuan khusus dari penelitian ini adalah mendapatkan jumlah perolehan glukosa pada ampas tebu sebagai bahan baku bioetanol dengan menggunakan alat proses hidrolisis *hotplate* dilengkapi *stirrer* dan *waterbath shaker*.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah ampas tebu dari pedagang minuman di sekitar pasar raya di Padang Sumatera Barat dan bahan media organik agar (PDA), NaOH, isolat *Trichoderma viride*, Isolat *Aspergillus niger* dan Suspensi (makanan jamur), buffer asetat pH 5, amonia, alkohol, dan urea.

Peralatan

Alat yang digunakan mesin penghancur (blender), timbangan, oven, kertas saring, glukometer, glukosa strip, kantong plastik, erlenmeyer, hotplate, stirrer, termometer, waterbath shaker, jarum ose, butner, petridish, aluminium foil, plastik pembungkus, gelas ukur, labu ukur, spatula, timbangan dan saringan.

Prosedur Penelitian

Hidrolisis enzimatik pada ampas tebu yang dilakukan dalam penelitian melalui beberapa tahapan. Tahapannya yaitu penyiapan bahan baku ampas tebu, pretreatment ampas tebu untuk penghilangan lignin dan tahap selanjutnya mulai dilakukan hidrolisis enzimatik. Disamping itu juga dilakukan penyiapan media agar tempat penstarter isolat *T. viride* dan *A. Niger*. Parameter yang dicari untuk penelitian ini adalah kandungan glukosa yang diperoleh dari setiap perlakuan hidrolisis dengan variasi banyaknya jamur yang diberikan dan penggunaan peralatan hidrolisis. Proses hidrolisis dilakukan dengan menggunakan *hotplate* dilengkapi *stirrer* dan *waterbath shaker*.

Tahapan dalam penelitian ini yaitu persiapan bahan baku yang berupa ampas tebu yang diperoleh dari pedagang minuman tebu di sekitar Pasar Raya Padang di Sumatera Barat. Perlakuan awal pada ampas tebu yaitu ampas tebu ditepuk-tepuk apabila terdapat kotoran.

Dan sebaiknya tidak dicuci agar serat yang terkandung tidak ikut larut dengan air cucian. Ampas tebu selanjutnya dikeringkan dengan cara dijemur dipanas terik matahari. Kemudian ampas tebu dicacah kecil-kecil dan diblender dalam kondisi kering.

Ampas tebu yang telah dihancurkan dan kondisi kering, dilakukan proses *delignifikasi* dengan menambahkan amoniak : NaOH 0,5 M dengan perbandingan volume 1 : 1 ke dalam serbuk ampas tebu secukupnya cairan tersebut dan kemudian direndam hingga 2 minggu. Setelah itu disaring dan dibuang air rendamannya dan diperoleh selulosa dan hemiselulosanya, lignin terlarut dan campuran larutan Amoniak : NaOH tersebut. Lignin berupa cairan pengotornya seperti bintik-bintik hitam.

Selulosa dan hemiselulosa pada ampas tebu yang telah didegradasi ligninnya, dicuci hingga pH 7 selanjutnya dikeringkan dengan oven hingga kering. Ampas tebu tersebut dihaluskan sampai 40 mesh. Setelah itu ditimbang 5 gram ampas tebu yang halus dan dimasukkan dalam erlenmeyer, kemudian dihidrolisis enzimatis dengan memasukan jamur *Trichoderma viride* dan *Aspergillus niger* dengan perbandingan yang telah ditentukan sebagai penghasil enzim sellulase dan dimasukkan 150 ml cairan buffer asetat pH 5 serta diberi urea sebanyak 12 gram. Selanjutnya diamati apa yang terjadi pada waktu tertentu dengan perlakuan pada temperatur tetap 50 °C dan pH 5. Terakhir ukur kadar glukosa yang diperoleh

Kadar glukosa dianalisa dengan menggunakan alat glukometer dengan cara menganalisa kadar glukosa sebelum perlakuan hidrolisis selulosa dan setelah proses hidrolisis. Variabel tetap pada penelitian ini yaitu proses *delignifikasi*, perbandingan NaOH dan Amoniak ; 1 : 1, dengan perendaman 2 minggu, Proses

Hidrolisis , berat ampas tebu yang sudah didelignifikasi 5 g, temperatur 50 °C, Variabel peubah : ratio Enzim dengan perbandingan dari *fungi Trichoderma viride*: *Aspergillus niger* yaitu 1:0; 0:1; 0,5:1; 1:0,5. Perlakuan hidrolisis selama 24 jam, 48 jam, 72 jam, 96 jam dan 120 jam. Proses hidrolisis dilakukan dengan menggunakan 2 peralatan yaitu dengan peralatan *hot plate* yang dilengkapi dengan *stirer* dan *waterbath shaker*.

HASIL DAN DISKUSI

Pada hasil dan pembahasan ini diawali dari penjelasan proses *pretreatment* yang dilakukan sebelum proses hidrolisis enzimatis terhadap ampas tebu untuk mendapatkan glukosa. Ampas tebu yang mengandung senyawa lignoselulosa, dimana struktur lignin yang terkandung di ampas tebu ini berfungsi sebagai pelindung selulosa. Dan proses *pretreatment* yang dilakukan yaitu proses *delignifikasi*. *Delignifikasi* dilakukan dengan perendaman ampas tebu dengan amoniak dan NaOH dengan perbandingan 1:1 selama 2 minggu. Dan hasil pengurangan lignin pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 1.

Dari Tabel 1 dapat dilihat bahwa pada proses *pretreatment* ampas tebu dapat menghilangkan berat daripada massa ampas tebu awal. Dan ini dapat dikatakan pada proses *delignifikasi* ini dapat menghilangkan lignin sekitar 36 %. Hal ini dikarenakan lignin ikut terlarut dalam larutan amonia dan NaOH dan. Lignin terikat dengan larutan amonia-NaOH yang akan membentuk garam dan selanjutnya akan terlarut dalam air saat proses pencucian sampai pH netral yaitu 7. Cairan yang dihasilkan berwarna coklat kehitaman yang dapat dilihat pada Gambar 1.

Tabel 1. Hasil *pretreatment* proses *delignifikasi* pada ampas tebu

Sample	Berat sebelum <i>delignifikasi</i>	Berat setelah <i>delignifikasi</i>	% berat yang hilang
1	2,22	1,41	36,48 %
2	2,22	1,43	35,56 %
3	2,22	1,42	36,04 %



Gambar 1. Proses delignifikasi dan hasil cairan yang mengandung lignin.

Proses selanjutnya yaitu menghidrolisis secara enzimatis ampas tebu yang telah dihilangkan ligninnya. Ampas tebu tersebut dihaluskan sampai 40 mesh dan selulosa pada ampas tebu dihidrolisis dengan bantuan enzim selulase yang dihasilkan dari *T. viride* dan *A. niger* dengan berbagai konsentrasi yang telah ditentukan. Proses hidrolisis dilakukan dengan menggunakan 2 model

peralatan yaitu dengan menggunakan pemanasan pada labu yang diletakkan pada *hotplate* dengan dilengkapi *stirrer* dan yang satunya menggunakan *waterbath shaker*. Peralatan ini dapat dilihat pada Gambar 2.

Hasil kadar glukosa dari proses hidrolisis enzimatis dengan menggunakan alat *hotplate* dilengkapi *magnetic stirrer* dapat dilihat pada Tabel 2. Sedangkan hasil kadar glukosa dari proses hidrolisis enzimatis dengan menggunakan alat *waterbath shaker* dapat dilihat pada Tabel 3. Data pada Tabel 2 dan Tabel 3 merupakan perolehan kadar glukosa untuk berbagai perlakuan konsentrasi enzim yang dihasilkan dari jamur *Trichoderma viride* dan *Aspergillus niger* dapat diilustrasikan dalam bentuk Gambar 3 dan Gambar 4.



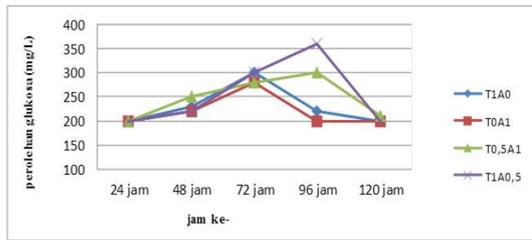
Gambar 2. Proses Hidrolisis dengan *magnetic stirrer* dan *waterbath shaker*.

Tabel 2. Hasil kadar glukosa pada proses hidrolisis dengan alat *hotplate* dilengkapi *magnetic*

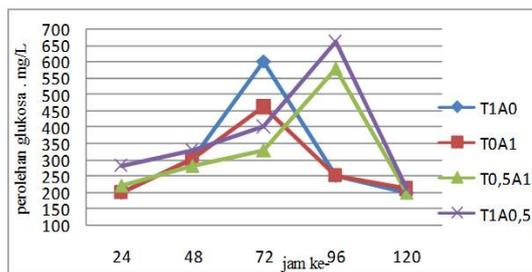
Perlakuan Ratio enzim / Waktu hidrolisis	Kode	Ratio Kuantitas/ gr : gr	Kadar Glukosa (mg/l)				
			24 jam	48 jam	72 jam	96 jam	120 jam
1 <i>Trichoderma viride</i> : 0 <i>Aspergillus niger</i>	T1A0	1: 0	200	230	300	220	200
0 <i>Trichoderma viride</i> : 1 <i>Aspergillus niger</i>	T0A1	0 : 1	200	220	280	200	200
0,5 <i>Trichoderma viride</i> : 1 <i>Aspergillus niger</i>	T0,5A1	0,33: 0,67	200	250	280	300	210
1 <i>Trichoderma viride</i> : 0,5 <i>Aspergillus niger</i>	T1A0,5	0,67: 0,33	200	220	300	360	200

Tabel 3. Hasil kadar glukosa pada proses hidrolisis dengan alat *waterbath shaker*

Perlakuan Ratio enzim / Waktu hidrolisa	Kode	Ratio Kuantitas/ gr : gr	Kadar Glukosa (mg/l)				
			24 jam	48 jam	72 jam	96 jam	120 jam
1 <i>Trichoderma viride</i> : 0 <i>Aspergillus niger</i>	T1A0	1: 0	200	300	600	250	200
0 <i>Trichoderma viride</i> : 1 <i>Aspergillus niger</i>	T0A1	0 : 1	200	300	460	250	210
0,5 <i>Trichoderma viride</i> : 1 <i>Aspergillus niger</i>	T0,5A1	0,67:0,33	220	280	330	580	200
1 <i>Trichoderma viride</i> : 0,5 <i>Aspergillus niger</i>	T1A0,5	0,33:0,67	280	330	400	660	210



Gambar 3. Perolehan kadar glukosa terhadap waktu pada berbagai konsentrasi enzim dengan alat *hotplate* dilengkapi *magnetic stirrer*.



Gambar 4. Perolehan kadar glukosa terhadap waktu pada berbagai konsentrasi enzim dengan alat *waterbath shaker*.

Pada Gambar 3 dapat dilihat bahwa kadar glukosa pada perbandingan ratio *T. viride* : *A. niger* yaitu 1:0,5 (T1A0,5) dengan waktu hidrolisis 96 jam diperoleh kadar glukosa sebesar 360 mg/L untuk proses yang menggunakan alat *hotplate* yang dilengkapi dengan *stirrer*. Dan pada Gambar 4 juga dapat dilihat bahwa kadar glukosa pada perbandingan ratio *T. viride* : *A. niger* (T1A0,5) dengan waktu hidrolisis 96 jam diperoleh kadar glukosa 660 mg/L untuk proses yang dilakukan dengan alat *waterbath shaker*. Dari hasil tersebut ternyata dengan penggunaan alat *waterbath shaker* didapatkan perolehan kadar glukosa yang tinggi, sedangkan dengan alat *hot plate* yang dilengkapi *stirrer* hanya dapat diperoleh kadar glukosa sebesar 360 mg/L. Hal ini dapat dikarenakan oleh perlakuan proses yang tidak kontinu pada pengadukan dengan *stirrer* dan penggunaan *hotplate* yang tidak kontinu hidup, sehingga hal ini membuat proses penghasil enzim selulase oleh kedua jamur tersebut menjadi terhambat dan berakibat sedikitnya perolehan glukosa. Sedangkan yang menggunakan *waterbath shaker* hidup atau berjalan secara kontinu,

sehingga enzim selulase yang dihasilkan oleh kedua jamur penghasil enzim selulase tersebut semakin banyak dan mempercepat merombak selulosa menjadi glukosa.

Dilihat dari segi waktu hidrolisis yang dilakukan dari awal jam ke 24 sampai jam ke 72 rata-rata kadar glukosa semakin lama semakin meningkat tetapi saat jam ke 96 pada enzim yang dihasilkan dari kedua jamur dengan perbandingan *T. viride* : *A. niger* yaitu 1:0 dan 0:1 mengalami penurunan kadar glukosa. Sedangkan untuk perbandingan *T. viride* : *A. niger* 0,5:1 dan 1:0,5 kadar glukosa masih naik pada jam ke 96, dan pada jam selanjutnya mengalami penurunan. Hal ini dapat disebabkan karena jumlah dari substrat ampas tebu yang semakin lama semakin berkurang dengan bertambahnya waktu hidrolisis, sehingga kadar glukosa yang terbentuk semakin menurun.

Jamur jenis *T. viride* termasuk dalam genus *Trichoderma sp*, kapang ini penampakkannya berserabut kapas dan berwarna hijau tua. *T. viride* mampu memproduksi kompleks enzim selulase yaitu menghasilkan endoselulase (endoglukonase) dan eksoselulase yang dapat menghidrolisis selulosa kristalin dan non kristalin. *T. viride* juga menghasilkan enzim endo 1,4- β xilase yang dapat mendegradasi xilan. *A. niger* salah satunya dapat menghasilkan β -glukosidase yang tinggi. Dengan ratio jamur *T. viride* : *A. niger* 1:0,5 ini dimungkinkan dengan *Trichoderma viride* menghasilkan kompleks enzim selulase yaitu menghasilkan endoselulase dan eksoselulase yang banyak sehingga menghasilkan sellobiosa yang banyak dan dengan adanya *A.s niger*, maka β -glukosidase yang dihasilkan akan bereaksi memotong rantai sellobiosa menjadi glukosa. Hal ini dapat didukung oleh pernyataan Eva Palmqvist dalam Arias dkk (2008) ^[5] yang menyatakan bahwa perbandingan *A. niger* : *T. reesei* mampu menghasilkan endoglukonase dan eksoglukonase yang merubah jerami padi menjadi sellobiosa dengan sedikit penambahan β -glukosidase dari *Aspergillus*, yang kemudian sellobiosa beraksi dengan β -glukosidase untuk menghasilkan glukosa. Adanya *A. niger* yang banyak akan menurunkan kadar glukosa, hal ini dikarenakan sellobiosa yang dihasilkan sedikit sehingga perolehan glukosa akan

kecil. Dengan pernyataan ini, maka hasil penelitian dengan kode T1A0,5 diperoleh kadar glukosa yang tinggi baik diproses dengan hidrolisis menggunakan alat *hotplate* dengan *stirrer* dan *waterbath shaker* yaitu 360 mg/L dan 660 mg/L. Hidrolisis selulosa menjadi glukosa secara enzimatis yaitu pemecahan ikatan glukosidik pada selulosa menjadi sellobiosa oleh β -1,4, glukonase dan pemecahan ikatan β -1,4-glukosidik pada sellobiosa menjadi glukosa oleh β -glukosidase [6]. Oleh sebab itu enzim selulase dari gabungan kedua mikrofungi ini memiliki kemampuan merombak selulosa pada ampas tebu menjadi glukosa.

KESIMPULAN

Hasil glukosa yang diperoleh dari proses hidrolisis yang menggunakan alat *hotplate* dengan *stirrer* yaitu sebesar 360 mg/L. Sedangkan perolehan glukosa dari proses hidrolisis yang menggunakan alat *hotplate* dengan *stirrer* yaitu sebesar 360 mg/L. Dan kondisinya pada waktu hidrolisis 96 jam yang menggunakan enzim selulase yang diproduksi dari perbandingan jamur *T. viride* : *A. niger* = 1: 0,5. Perbedaan perolehan ini dikarenakan dengan *waterbath shaker*, proses lebih konstan dan stabil kondisi operasinya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada pihak LPPM Universitas Bung Hatta Padang yang telah mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Wyman C.E., Dale B.E., Elander R.T., Holtzapple M., Ladisch M.R., and Lee Y.Y., Coordinated development of leading biomass pretreatment technologies, *Bioresour. Technol.*, **96**(18): 1956-1 (2005).
2. Cardona C.A, Sanchez O.J., Fuel ethanol production: Process design trends and integration opportunities, *Bioresour. Technol.*, **98**(12):2415-57 (2007).
3. Hermiati Euis, dkk, Pemanfaatan biomassa lignoselulosa ampas tebu untuk produksi bioetanol, *Jurnal Litbang Pertanian*, 29 (4) (2010).
4. Ashadi, R.W. dan Kahar, P., Kompleks enzim selulosa: Kunci pemanfaatan limbah organik menjadi biofuel, (2011)
5. Arias Gema, Elsa, Variasi kondisi operasi steam pretreatment sawdust (serbuk kayu) sebagai bahan baku produksi glukosa, Surabaya (2008)
6. Fox, P.F., Food enzymology, vol 1, Elsevier Applied Science Ltd, New York (1991)