

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Bahan bakar minyak adalah bahan bakar yang banyak digunakan oleh masyarakat dan memiliki dampak yang besar terhadap lingkungan, salah satunya yaitu polusi dari penggunaan bahan bakar minyak yang menyebabkan meningkatnya gas efek rumah kaca seiring dengan pertumbuhan populasi manusia dan kebutuhan industrial (Abo-State *et al.*, 2014). Hal ini ditambah dengan permasalahan kenaikan harga minyak yang menimbulkan masalah di masyarakat. Oleh sebab itu, diperlukan sumber energi alternatif yang dapat menggantikan bahan bakar minyak, yang tentunya terbarukan, ramah lingkungan dan dapat digunakan untuk kendaraan bermotor atau industri.

Semua yang berbasis bahan bakar minyak dapat digantikan dengan bahan bakar biomassa terbarukan seperti bioetanol, bio-diesel, bio-hidrogen, dan lain lain (Sarkar *et al.*, 2012). Bioetanol adalah energi terbarukan dengan pembakaran bersih yang dapat kita produksi dari fermentasi selulosa. Hasil pembakaran relatif dengan emisi rendah seperti komponen organik, karbon monoksida, dan nitrogen oksida. Pentingnya biomassa berbasis produksi etanol telah mengalami peningkatan besar dalam beberapa tahun terakhir (Abo-State *et al.*, 2014).

Bioetanol memiliki nilai oktan yang lebih tinggi dibandingkan dengan premium. Pada saat ini telah ditemukan pemanfaatan bioetanol sebagai bahan campuran (aditif) dari bensin yang disebut dengan gasohol (Azizah, 2012). Campuran etanol dengan premium dapat meningkatkan nilai oktan, campuran premium dengan etanol 98% memiliki nilai oktan sebesar 115. Bioetanol mengandung 30% oksigen, sehingga campuran etanol dengan premium dapat dikategorikan ke dalam “*High octane gasoline (HOG)*”, dimana campuran sebanyak 15 % bioetanol setara dengan pertamax (RON 92) dan campuran 24% bioetanol setara dengan pertamax plus (RON 95) (La Ode, 2005).

Dalam perkembangannya, pembuatan bioetanol telah mencapai generasi keempat, hal ini bergantung pada bahan baku biomassa yang digunakannya.

Generasi pertama bioetanol menggunakan biomassa pati dan gula sebagai bahan material utama dalam proses pembuatannya, material yang digunakan adalah pati tebu dan jagung (Tahezadeh dan Karimi, 2007). Proses pembuatan bioetanol menggunakan gula dan pati sebagai bahan baku utama mengeluarkan biaya yang mahal dari biaya produksinya (Claasen *et al.*, 1999). Selain biaya yang mahal, bahan baku gula dan pati masih digunakan sebagai bahan pokok pangan yang mengakibatkan terjadinya persaingan dengan pembuatan etanol. Berbeda dengan bioetanol generasi pertama, bioetanol generasi kedua menggunakan bahan baku lignoselulosa yang melimpah misalnya seperti limbah pertanian (Binod *et al.*, 2010). Generasi ketiga dan keempat dalam pembuatan bioetanol menggunakan bahan baku alga dan “*photobiological solar fuels*” melalui proses biologi sintetik (Aro, 2016)

Lignoselulosa merupakan pilihan bahan baku yang menjanjikan untuk memproduksi etanol, hal ini dengan mempertimbangkan rasio energi input, output dan stok yang tersedia di lingkungan tropis maupun subtropis (Abo-State *et al.*, 2014). Lignoselulosa adalah polimer karbohidrat yang tersusun atas selulosa, hemiselulosa, lignin (Sarkar *et al.*, 2012) dan abu (Tahezadeh dan Karimi, 2007). Selulosa merupakan polisakarida yang menjadi komponen utama sel tumbuhan (Campbell *et al.*, 2010). Selulosa atau β -1-4-glukan adalah polimer polisakarida panjang dari glukosa yang terbuat dari selubiosa (Tahezadeh dan Karimi, 2007). Hemiselulosa merupakan polimer pendek dan sangat bercabang. Hemiselulosa merupakan heteropolimer dari D-glukosa, D-xilosa, D-arabinosa, D-galaktosa dan D-manosa (Sarkar *et al.*, 2012). Lignin merupakan molekul kompleks yang terbuat dari unit “*phenylpropane*” yang mengikat dua polimer karbohidrat. Hal ini berkaitan dengan pelindung polimer dari serangan mikroba (Palmqvist dan Hahn-Hagerdal, 2000). Semakin tinggi kadar lignin semakin sulit dipecah menggunakan bahan kimia dan enzimatik, hal ini dapat juga mengganggu proses fermentasi (Tahezadeh dan Karimi, 2008), oleh karena itu yang dibutuhkan dalam proses pembuatan bioetanol hanya gula dari pemecahan selulosa dan hemiselulosa dalam material lignoselulosa.

Bahan baku lignoselulosa dapat diperoleh dari limbah industri seperti limbah pembuatan kertas, serbuk gergaji (Palonen, 2004), dan dari limbah

pertanian seperti jerami padi, ampas gandum, ampas jagung, dan ampas tebu (Kim dan Dale, 2004). Selain banyak tersedia, bahan lignoselulosa tidak berhubungan secara langsung dengan produksi pangan, sehingga etanol dapat di produksi dengan pemanfaatan limbah yang sudah tidak terpakai dan dapat mengurangi biaya secara signifikan (Binod *et al.*, 2010).

Salah satu bahan baku lignoselulosa yang digunakan pada penelitian ini adalah jerami padi. Jerami padi memiliki komposisi kimia selulosa (32-47%), hemiselulosa (19-27%), lignin (5-24%) dan abu (11%) (Binod *et al.*, 2010). Jerami padi memiliki kandungan glukosa lebih tinggi (Karimi *et al.*, 2006) dibandingkan bahan baku lignoselulosa lainnya seperti ampas tebu, ampas jagung (Saha dan Cotta, 2006) dan ampas gandum (Erdei *et al.*, 2010).

Jerami padi merupakan salah satu limbah lignoselulosa yang melimpah di dunia. Menurut Balat *et al.*, (2008), setiap tahunnya jerami padi di produksi dalam jumlah besar dengan kuantitas mencapai 731 juta ton didistribusikan di Afrika (20,9 juta ton), Asia (667,6 juta ton), Eropa (3,9 juta ton) dan Amerika (37,2 juta ton). Dengan jumlah ini, jerami padi dapat berpotensi menghasilkan 205 miliar liter bioetanol per tahun yang merupakan jumlah terbesar dari bahan baku biomassa tunggal. Di Indonesia, sebagai negara agraris, tersedia banyak persawahan dengan potensi jerami padi sangat besar dengan kuantitas 77 juta ton per tahun dari hasil panen padi (Gultom, 2013). Oleh sebab itu, produksi etanol dengan jerami padi di Indonesia sangat potensial dengan bahan baku jerami padi yang melimpah.

Pra-perlakuan dilakukan untuk mendapatkan gula hidrolisat dari lignoselulosa jerami padi, diantaranya dengan proses pra-perlakuan fisik dan kimia. Pra-perlakuan fisik yang dilakukan yaitu penggilingan (*milling*) jerami padi menjadi serbuk 100 mesh (Peristiwa, 2011), *autoclaving* (Binod, 2010) dan proses delignifikasi yang bertujuan untuk menghilangkan lignin pada komponen lignoselulosa. Dengan hal ini, terbuka celah selulosa dan hemiselulosa sebelum dilakukan hidrolisis. Pra-perlakuan kimia yaitu proses hidrolisis yang dilakukan dengan menggunakan asam (H_2SO_4). Hidrolisis menggunakan asam akan menghasilkan *yield* 74 % dengan 0,75% H_2SO_4 pada $121^\circ C$ selama 1 jam (Saha *et al.*, 2005) Selanjutnya, dilakukan proses hidrolisis enzimatik yaitu

menggunakan enzim hemiselulosa dan enzim selulosa. Gula hidrolisat yang didapatkan dari proses hidrolisis ini akan di fermentasi menggunakan khamir untuk menghasilkan etanol.

Teknik fermentasi yang dilakukan adalah dengan teknik SHF (*Separated Hydrolysis and Fermentation*) dengan keuntungan dari setiap proses dapat dilakukan dengan kondisi optimal dan proses yang terpisah-pisah meminimalisir terjadinya interaksi mikroba. Namun, teknik ini memiliki kekurangan diantaranya banyaknya inhibitor dalam hasil akhir dan memunculkan kemungkinan kontaminasi apabila prosesnya tidak dilakukan secepatnya (Sanchez dan Kardona, 2008).

Terdapat beberapa strain bakteri dan jamur yang dapat digunakan untuk fermentasi etanol diantaranya *Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli*, *Zymomonas mobilis*, *Pachysolen tannophilus*, *Candida shehatae*, *Pichia stipitis*, *Candida brassicae*, *Mucor indicus*, *Kluyveromyces marxianus* dan lain lain (Sarkar *et al.*, 2012 ; Fonseca *et al.*, 2008). *Pichia stipitis* merupakan khamir uniseluler, berbentuk oval, eukariotik, berkembangbiak secara seksual dan secara aseksual (melalui mitosis dan pertunasan/*budding*). Pada kultur dengan kondisi karbon terbatas, *Pichia stipitis* dapat membentuk pseudomiselia. Apabila dibandingkan dengan khamir lain, *Pichia stipitis* adalah khamir yang menjanjikan terutama dalam produksi etanol dari bahan baku lignoselulosa dikarenakan dapat memfermentasi xilosa hasil hidrolisis lignoselulosa. *P.stipitis* juga dapat memfermentasi glukosa, manosa, galaktosa dan selobiosa menjadi etanol. Pada kondisi oksigen terbatas, produksi etanol dari xilosa lebih besar dibandingkan dari glukosa, sehingga sangat cocok digunakan dalam fermentasi dengan keadaan anaerob (Fieschko *et al.*, 2007).

Kluyveromyces marxianus mendapatkan hasil yang tinggi dalam fermentasi heksosa dan juga memiliki kapabilitas dalam fermentasi xilosa. Khamir ini memiliki toleransi terhadap etanol lebih tinggi daripada khamir yang lainnya (Rouhullah *et al.*, 2007). *K.marxianus* memiliki keuntungan yang lebih dari khamir lain diantaranya bersifat thermotolerance, pertumbuhan yang tinggi dan tidak adanya metabolisme fermentatif pada saat kelebihan gula dan memiliki

spektrum substrat yang luas. (Fonseca *et al.*, 2008) Hal ini akan menghasilkan etanol yang maksimal.

Produksi etanol menggunakan konsorsium khamir dapat meningkatkan hasil produksi etanol dibandingkan menggunakan kultur tunggal (Rouhullah *et al.*, 2007). *P.stipitis* yang efektif dalam memfermentasi xilosa dan *K.marxianus* yang dapat memfermentasi heksosa diyakini dapat menghasilkan etanol yang tinggi apabila keduanya dijadikan konsorsium pada perlakuan fermentasi berbahan lignoselulosa. Oleh sebab itu, pada penelitian ini akan dilakukan proses produksi etanol dari serbuk jerami padi menggunakan kultur tunggal *P.stipitis* dan *K.marxianus* lalu konsorsium keduanya, untuk mencari tahu khamir terbaik yang dapat menghasilkan etanol terbanyak.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan di atas, maka rumusan masalah yang didapat sebagai berikut: Bagaimana pengaruh *Kluyveromyces marxianus*, *Pichia stipitis* dan konsorsium keduanya terhadap produksi ethanol terbanyak dari fermentasi gula hidrolisat serbuk jerami padi (*Oryza sativa*, Linn)?

C. Pertanyaan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas beberapa pertanyaan penelitian yang diajukan ialah :

1. Bagaimana pengaruh pra-perlakuan jerami padi terhadap kadar konsentrasi gula hidrolisat serbuk jerami padi?
2. Berapakah kadar konsentrasi gula hidrolisat setelah dilakukan proses hidrolisis asam dan enzimatis?
3. Bagaimana perbandingan hasil produksi etanol dengan menggunakan kultur tunggal khamir dan kultur campuran (konsorsium) keduanya?
4. Strain manakah yang lebih efektif menghasilkan etanol terbanyak dari fermentasi gula hidrolisat serbuk jerami padi?
5. Bagaimana perubahan biomassa sel *P.stipitis* dan *K.marxianus* dalam proses fermentasi?

D. Batasan Masalah

Agar permasalahan dalam penelitian ini terfokus pada hal yang di-harapkan, maka ruang lingkup batasan masalah meliputi:

1. Jerami padi yang digunakan dalam penelitian ini adalah jerami padi yang berasal dari daerah persawahan Soreang, Kabupaten Bandung.
2. Substrat jerami padi yang digunakan dalam penelitian ini adalah serbuk jerami padi yang berukuran 100 mesh.
3. Proses hidrolisis yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan asam H_2SO_4 dan hidrolisis enzimatik. Proses hidrolisis enzimatik menggunakan Enzim Hemiselulase *H2125 Aspergillus niger Sygma-Aldrich* dan Enzim Selulase *Cellusoft L Novozyme*.
4. Khamir uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah kultur murni *Kluyveromyces marxianus* Y119 yang didapatkan dari InaCC (Indonesia Culture Collection) LIPI Bogor, dan kultur murni *Pichia stipitis* yang didapatkan dari Laboratorium Bioproses Teknik Kimia ITB Bandung.
5. Media fermentasi berasal dari gula hidrolisat serbuk jerami padi dan nutrisi tumbuh khamir.
6. Waktu pengambilan sample, pada jam ke 0, jam ke 12, jam ke 24, jam ke 36, jam ke 48, jam ke 60, jam ke 72, jam ke 84 dan jam ke 96.

E. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan kultur khamir terbaik yang dapat menghasilkan konsentrasi etanol optimal dari kultur tunggal dan konsorsium *Kluyveromyces marxianus* dan *Pichia stipitis*.

F. Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi penting bagi masyarakat umum, tentang pemanfaatan limbah jerami padi yang dapat dijadikan bahan baku pembuatan bioethanol.

2. Memberikan informasi kepada peneliti tentang strain khamir diantara *K.marxianus*, *P.stipitis* atau konsorsiumnya yang menghasilkan etanol terbanyak dari gula hidrolisat serbuk jerami padi.
3. Sebagai dasar untuk penelitian selanjutnya mengenai bioetanol dari biomassa yang berbeda atau penggunaan khamir lainnya yang lebih efektif.

G. Asumsi

1. Jerami padi memiliki kandungan selulosa dan hemiselulosa yang tinggi, dengan komposisi kimia selulosa (32-47%), hemiselulosa (19-27%), lignin (5-24%) dan abu (11%) (Binod *et al.*, 2010).
2. Karbohidrat pada jerami padi mencakup glukosa (41-43%), xilosa (14.8-20.2%), arabinosa (2,7-4,5%), manosa (1,8%) dan galaktosa (0,4%) (Karimi *et al.*, 2006).
3. *P.stipitis* adalah salah satu dari beberapa khamir alami yang dapat memfermentasi xilosa sehingga menjadikan khamir yang menjanjikan dalam memproduksi etanol dari bahan baku lignoselulosa (Weber *et al.*, 2010)
4. *K.marxianus* mendapatkan hasil tertinggi dalam memfermentasi heksosa dan juga mempunyai kapabilitas memfermentasi heksosa walaupun hasilnya tidak sebaik *P.stipitis*.
5. Produksi etanol menggunakan konsorsium khamir dapat meningkatkan hasil produksi etanol dibandingkan menggunakan kultur tunggal (Rouhullah *et al.*, 2007).

H. Hipotesis

Terdapat perbedaan hasil konsentrasi etanol yang dihasilkan oleh kultur tunggal *Pichia stiptis* dan *Kluyveromyces marxianus* dengan konsorsium keduanya.

I. Struktur Organisasi Skripsi

Bab I merupakan bab perkenalan dalam skripsi, bagian ini berisi tentang latar belakang penelitian, pada penelitian ini dipaparkan mengenai latar belakang bioetanol sebagai sumber energi alternative, lalu mengenai alasan penggunaan

lignoselulosa serbuk jerami padi sebagai biomassa yang digunakan pada penelitian ini, khamir uji *Kluyveromyces marxianus* dan *Pichia stipitis*, metode metode yang digunakan dalam pra-perlakuan, metode hidrolisis dan fermentasi. Pada bab ini juga dipaparkan mengenai rumusan masalah penelitian, pertanyaan penelitian, batasan penelitian dan tujuan penelitian agar penelitian terfokus. Terakhir pada bab ini dipaparkan mengenai manfaat penelitian dari segi teori dan praktik mengenai produksi etanol dengan pemanfaatan limbah jerami padi menggunakan *P.stipitis* dan *K.marxianus*, hipotesis dan struktur organisasi skripsi.

Bab II merupakan bagian tentang kajian pustaka atau landasan teoritis mengenai topik atau permasalahan yang diangkat dalam penelitian produksi etanol dari serbuk jerami padi oleh *K.marxianus* dan *P.stipitis*. Bagian ini memaparkan topik mengenai bioetanol, khamir *K.marxianus* dan *P.stipitis*, jerami padi, lignoselulosa, metode-metode pra-perlakuan, hidrolisis dan fermentasi. Bab II ini diharapkan dapat di integrasikan pada hasil penelitian.

Bab III merupakan bagian prosedural yang menjelaskan secara detail mengenai langkah-langkah penelitian yang telah dilakukan dari desain penelitian, populasi dan sample, waktu dan tempat penelitian dan prosedur penelitian dari tahap persiapan, tahap penelitian hingga analisis data.

Bab IV merupakan bagian tentang temuan dan pembahasan yang didapatkan pada saat penelitian. Berikut ini adalah temuan yang didapatkan pada saat penelitian ini yaitu identifikasi khamir *K.marxianus* dan *P.stipitis*, kura tumbuh dan kurva baku *K.marxianus*, kurva tumbuh dan kurva baku *P.stipitis*, kurva standar glukosa dengan metode DNS, Pra-perlakuan jerami padi, Hasil hidrolisis asam dan enzimatik serbuk jerami padi, pengujian gula pereduksi dan hasil etanol dari proses fermentasi dengan menggunakan uji HPLC. Temuan yang didapatkan dibandingkan kebenarannya dengan kajian pustaka pada BAB II.

Bab V merupakan bagian yang berisi simpulan, implikasi dan rekomendasi dari penelitian yang menyajikan penafsiran dan pemaknaan peneliti terhadap produksi etanol dari gula hidrolisat serbuk jerami padi (*Oryza sativa, linn*) oleh *Kluyveromyces marxianus* dan *Pichia stipitis*.