

---

## PEMBUATAN BIOETANOL DARI ROTI SISA DENGAN PROSES HIDROLISA ENZIMATIS DAN FERMENTASI

Endah Retno Dyartanti\*, Rosa Pertiwi Gunadi, dan Gundahvita Mulyaningtyas

Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Sebelas Maret

Jl. Ir. Sutami no. 36 A, Surakarta 57126 Telp/fax: 0271-632112

\*Email: endah\_rd@uns.ac.id

**Abstract:** Bread waste contains 57% carbohydrate, that can be used as the raw material of bioethanol production. This research aims was to study the producing bioethanol process from bread waste, and to determine the effect of catalyst concentration of enzyme glucoamylase (*Aspergillus Niger*). The bioethanol production with bread waste consisted of three stages: hydrolysis (liquification and saccharification), fermentation and distillation. Saccharification performed for 6 hours at 30°C and pH 4.5 using a variable catalyst enzyme glucoamylase (*Aspergillus Niger*), with 6, 8, 10, and 12 ml/200 ml of media. The glucose level value in saccharification process is obtained of 12.85 gr/ml, 137.236 gr/ml, 154.82 gr/ml, and 198.0327 gr/ml. The optimum value of glucose level occurs in the glucoamylase (*Aspergillus Niger*) enzyme addition of 12 ml. In separated hydrolysis and fermentation (SHF) process, there is a separation of glucose formation from starch (hydrolysis) and glucose reduction into bioethanol (fermentation). The enzyme catalyst (*Aspergillus Niger*) with 6, 8, 10, and 12 ml/200 ml media, it is obtained the bioethanol reduction value respective conditions of 14.1261%, 18.4909%, 24.7592%, and 28.6993%. The optimum condition is obtained in the glucoamylase (*Aspergillus Niger*) enzyme addition of 12 ml.

**Keywords:** bioethanol, bread residue, hydrolysis enzyme, fermentation

### PENDAHULUAN

Energi terbarukan masih diperlukan di masyarakat Indonesia, karena saat ini Indonesia masih sangat bergantung pada energi dari minyak dan gas bumi untuk pemenuhan kebutuhan energinya. Saat ini telah berkembang pemanfaatan bioetanol sebagai bahan bakar alternatif contohnya untuk pembuatan gasohol (campuran bensin dengan alkohol absolut (kadar >99%)). Bahan baku pembuatan bioetanol terdiri dari bahan berbasis gula (tebu), berbasis pati (ubi kayu, garut, jagung, sorgum, roti) dan bahan berbasis kayu (jerami, bonggol jagung, limbah kayu).

Limbah roti biasa digunakan sebagai bahan pangan dan pakan ternak alternatif, karena limbah roti masih memiliki kandungan nutrisi yang baik, bahkan kandungan proteinnya lebih tinggi daripada beras, sehingga limbah roti dipilih sebagai bahan baku pembuatan bioetanol. Penelitian ini menggunakan limbah roti (roti sisa) sebagai bahan baku pembuatan bioetanol, karena melihat roti sisa memiliki kandungan karbohidrat.

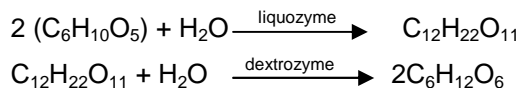
Pembuatan bioetanol ini bertujuan untuk mempelajari proses pembuatan bioetanol dari limbah roti dan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi katalis enzim glucoamilase

(*Aspergillus Niger*) terhadap kadar glukosa pada proses sakarifikasi dan fermentasi pada pembuatan etanol dari limbah roti.

Hidrolisa adalah suatu proses antara reaktan dengan air agar suatu senyawa pecah atau terurai. Reaksi hidrolisa pati sangat lambat, sehingga diperlukan katalisator untuk mempercepat reaksinya. Katalisator yang dapat digunakan dalam proses hidrolisa dapat berupa asam atau enzim. Asam dapat berpengaruh terhadap kelarutan protein dalam tepung, sehingga pada hidrolisis ini digunakan katalisator enzim. Keuntungan lain dalam penggunaan katalisator enzim adalah tidak dihasilkannya hasil samping karena sifat enzim yang spesifik, dan operasionalnya berlangsung pada temperatur rendah sehingga dapat menghemat energi dan tidak terjadi pengarangkan (karamelisasi) pada glukosa yang dihasilkan (Jacques, 2003).

Pati adalah salah satu jenis polisakarida yang sangat luas tersebar di alam. Bahan disimpan sebagai cadangan makanan bagi tumbuhan-tumbuhan di dalam biji, buah, umbi, dan batang. Tumbuh-tumbuhan yang mempunyai kadar pati yang tinggi antara lain padi, sagu, ketela pohon, ketela rambat, dan jagung (Kirk dan Othmer, 1998).

Pembuatan bioetanol dari pati terdiri dari tiga tahap yaitu, hidrolisa pati (tahap likuifikasi dan sakarifikasi), fermentasi, dan pemurnian hasil dengan distilasi. Reaksi hidrolisa pati berlangsung dalam dua tahap sebagai berikut (Winarno, 1984):



## METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan adalah roti sisa yang diperoleh dari pasar yang sudah dikeringkan dan dibuat bubuk, larutan aliquot pH 6,9, enzim alpha-amilase (*Bacillus licheniformis*, *liquozyme by NOVO*), dan enzim glukoamilase (*Aspergillus niger*, *dextrozyme by NOVO*), reagen Shaffer Somogy, larutan iodide oksalat, larutan standar thiosulfat, indikator amilum, *dry yeast Saccharomyces cerevisiae* (SAF), dan nutrient (MgSO<sub>4</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, dan ZnSO<sub>4</sub>).

Alat utama yang digunakan adalah labu leher tiga 1000 ml, motor pengaduk, pengaduk *overhead*, pemanas mantel, pendingin balik, erlenmeyer, rangkaian alat reactor hidrolisa, fermentor untuk proses fermentasi, dan *packed column* untuk rangkaian alat distilasi.

Pembuatan bioetanol dari pati terdiri dari tiga tahap yaitu, hidrolisa pati (tahap likuifikasi) yaitu melarutkan 160 gram tepung roti dalam 800 ml larutan aliquot pH 6,9, mengaduk dan memanaskan sampai suhu 85°C, menambahkan 2 ml enzim alpha-amilase. Pemanasan dan pengadukan pada suhu konstan 85°C selama 1,5 jam, mengambil sampel dan menganalisa kadar glukosa dengan metode *Shaffer Somogy*.

Proses hidrolisa pati (tahap sakarifikasi) yaitu mengkondisikan larutan hasil likuifikasi sehingga suhu 55°C dan pH 4,8, menambahkan enzim glukoamilase dengan variabel 6 ml, 8 ml, 10 ml, dan 12 ml. Mengambil larutan setiap 2 jam sekali selama 4 jam dan menganalisa kadar glukosa dengan metode *Shaffer Somogy*.

Tahap selanjutnya adalah fermentasi yaitu dengan penambahan nutrient (MgSO<sub>4</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, dan ZnSO<sub>4</sub>) dan yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Fermentasi dilakukanselama 72 jam dan mengambil sampel setiap 24 jam sekali sebanyak 100 ml, 5 ml untuk menganalisa kadar glukosa menggunakan metode *Shaffer Somogy*, dan 95 ml untuk tahapan selanjutnya yaitu proses distilasi untuk memperoleh etanol murni.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisa bahan baku dan pengaruh konsentrasi enzim -amilase (*liquozyme*) terhadap kadar glukosa pada proses likuifikasi berturut-turut disajikan pada Tabel 1 dan Tabel 2.

**Tabel 1. Hasil analisa kadar air dan kadar Pati bahan baku**

Komposisi	Kadar (%)
Air	2,66
Pati	83,16

**Tabel 2. Data kadar glukosa pada proses likuifikasi**

Liquozyme (2 ml)	Kadar Glukosa (gr/ml)			
	I	II	III	IV
Sampel	112,3	122,6	118,2	110,9

Kadar glukosa yang dihasilkan setelah penambahan enzim -amilase (*liquozyme*) sebanyak 2 ml cenderung tidak stabil, dikarenakan proses likuifikasi hanya bertujuan untuk menurunkan viskositas pati yang tergelatinasi.

Pengaruh konsentrasi enzim Glukoamilase (*Aspergillus niger*; *dextrozyme*) terhadap kadar glukosa pada proses Sakarifikasi dan fermentasi berturut-turut disajikan pada Tabel 3 dan Tabel 4.

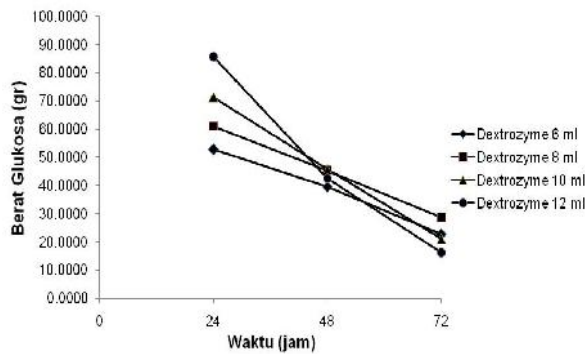
**Tabel 3. Data kadar glukosa proses sakarifikasi pada variasi konsentrasi Dextrozyme**

Proses Sakarifikasi	Kadar Glukosa (gr/ml) <i>Dextrozyme</i>			
	6 ml	8 ml	10 ml	12 ml
Sampel I	132,8	140,9	159,6	190,7
Sampel II	121,9	137,2	154,8	198,0

Kadar glukosa akan semakin meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi enzim glukoamilase (*Aspergillus niger*; *dextrozyme*). Dan kadar glukosa terbaik dihasilkan pada saat penambahan enzim glukoamilase (*Aspergillus niger*; *dextrozyme*) sebanyak 12 ml.

**Tabel 4. Data kadar glukosa proses fermentasi pada konsentrasi Dextrozyme yang berbeda selama 72 jam**

Proses Fermentasi	Kadar Glukosa (gr/ml) <i>Dextrozyme</i>			
	6 ml	8 ml	10 ml	12 ml
Sampel I	52,83	61,11	71,46	85,72
Sampel II	39,67	45,38	43,75	42,49
Sampel III	22,85	28,72	21,04	16,13



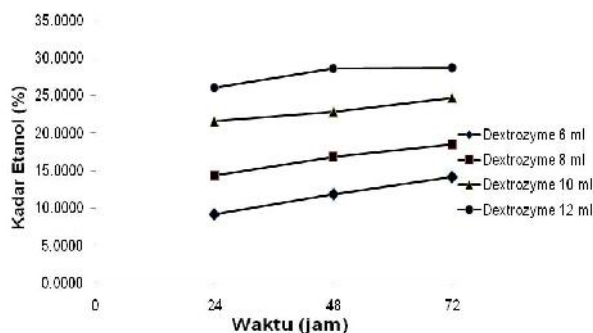
Gambar 1. Grafik hubungan antara berat glukosa total terhadap waktu fermentasi

Dari gambar dapat dilihat bahwa semakin lama waktu reaksi, menyebabkan berat glukosa yang dihasilkan akan semakin sedikit, sehingga terjadi penurunan kuantitas pada massa glukosa yang dihasilkan dan semakin besar konsentrasi enzim glukamilase (*Aspergillus niger*; *dextrozyme*) yang digunakan, maka akan menyebabkan semakin banyak pula berat glukosa yang dihasilkan.

Pengaruh konsentrasi enzim Glukoamilase (*Aspergillus niger*; *dextrozyme*) terhadap kadar etanol pada proses fermentasi disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Data kadar etanol proses fermentasi pada konsentrasi Dextrozyme yang berbeda selama 72 jam

Proses Fermentasi	Kadar Etanol (%) <i>Dextrozyme</i>			
	6 ml	8 ml	10 ml	12 ml
Sampel I	9,17	14,33	21,55	26,04
Sampel II	11,86	16,83	22,78	28,62
Sampel III	14,13	18,49	24,73	28,70



Gambar 2. Grafik hubungan antara kadar etanol terhadap waktu fermentasi

Pada gambar diatas dapat dilihat bahwa semakin lama waktu reaksi menyebabkan kadar etanol yang dihasilkan akan semakin meningkat

meski tidak signifikan. Dan semakin banyak jumlah enzim glukamilase (*Aspergillus niger*; *dextrozyme*) yang digunakan akan menyebabkan kadar etanol yang dihasilkan juga akan semakin meningkat.

Pada penelitian ini kisaran konsentrasi tepung yang diteliti adalah 12%. Konsentrasi enzim alpha-amilase 2 ml/800 ml, konsentrasi enzim glukamilase 6, 8, 10, 12 ml/200 ml, yeast *Saccharomyces cerevisiae* 7 gram, dan nutrient ( $MgSO_4$ ,  $KH_2PO_4$ ,  $(NH_4)_2SO_4$ , dan  $ZnSO_4$ ).

Pada proses fermentasi, sampel diambil setiap 24 jam untuk menganalisa perubahan berat glukosa yang dihasilkan terhadap waktu pada setiap konsentrasi enzim glukamilase (*Aspergillus niger*; *dextrozyme*) yang berbeda. Dari gambar dapat dilihat bahwa semakin lama waktu reaksi, menyebabkan berat glukosa yang dihasilkan akan semakin sedikit, sehingga terjadi penurunan kuantitas pada massa glukosa yang dihasilkan. Dan pada gambar dapat dilihat pula bahwa semakin besar konsentrasi enzim glukamilase (*Aspergillus niger*; *dextrozyme*) yang digunakan, maka akan menyebabkan semakin banyak pula berat glukosa yang dihasilkan.

## KESIMPULAN

Proses pembuatan bioetanol dari limbah roti meliputi tiga tahapan, yaitu tahap hidrolisa, tahap fermentasi, dan tahap distilasi. Tahap proses hidrolisis, yang terbagi atas tahap likuifikasi dan tahap sakarifikasi.

Variabel katalis enzim glukamilase (*Aspergillus Niger*) yaitu 6, 8, 10, dan 12 ml/200 ml media dan *dry yeast* (*Saccharomyces cerevisiae*) sebanyak 7 gram/800 ml media. Masing-masing variabel diatas diperoleh nilai kadar glukosa pada proses sakarifikasi, yaitu 121,85 gr/ml, 137,236 gr/ml, 154,82 gr/ml dan 198,0327 gr/ml. Nilai optimum kadar glukosa terjadi pada penambahan enzim glukamilase (*Aspergillus Niger*) sebanyak 12 ml. Pada proses hidrolisa dan fermentasi yang terpisah (SHF) terjadi proses pemisahan pembentukan glukosa dari pati (hidrolisa) dan pengurangan glukosa menjadi etanol (fermentasi). Dan dengan variabel katalis enzim glukamilase (*Aspergillus Niger*) yaitu 6, 8, 10 dan 12 ml/200 ml media, diperoleh nilai kadar etanol pada masing-masing kondisi sebesar, 14,1261 %, 18,4909 %, 24,7292 % dan 28,6993 %. Kondisi optimum didapat pada penambahan enzim glukamilase (*Aspergillus Niger*) sebanyak 12 ml.

---

## SARAN

Penelitian ini masih merupakan data awal untuk mencari kondisi yang sesuai untuk pembuatan etanol melalui metode reaksi simultan sehingga perlu dilakukan untuk range variable yang lebih besar dan dilakukan optimasi sehingga dicapai kondisi proses yang ekonomis. Diperlukan penelitian lanjutan untuk melihat karakteristik bahan bakar campuran etanol dan premium. Hasil yang didapatkan diaplikasikan pada mesin dan diamati karakteristik bahan bakar ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Brown, G.G., 1987, *Unit Operations*, John Wiley and Sons Inc, New York
- Decrosier, N.W., 1988, *Teknologi Pengawetan Pangan*, UI Press, Jakarta
- Geankoplis, C.J., 1983, *Transport Processes and Unit Operation*, Prentice Hall Inc, New York
- Jacques, K.A., PhD, Lyons, T.P., PhD, and Kelsall, D.R., 2003, *The Alcohol Textbook*, 4<sup>th</sup> ed., Nottingham University Press, Nottingham
- Kirk, R.E., and Othmer, V.R., 1998, *Encyclopedia of Chemical Technology*, 4<sup>th</sup> ed, John Wiley & Sons Inc., New York
- Montesinos, T., and Navarro, J.M., 2000, *Production of Alcohol from Raw Wheat Flour by Amiloglucosidase and Saccharomyces cerevisiae*, *Enzyme and Microbiol* 27: 362-370
- Perry, R.H., and Green, D.W., 2008, *Perry's Chemical Engineers' Handbook*, 8<sup>th</sup> ed., McGraw-Hill Companies, Inc., New York
- Senn, T., Pieper, H.J., et al., 2000, *The Biotechnology of Ethanol Classical and Future Applications*, Wiley-VCH, Weinheim
- Thomas, K. C., Hynes, S. H., Jones, A. M. And Ingledew, W. M. 1993. *Appl. Biochemical Biotechnology*, 43: 211-226
- Van Boekel, Martinus A. J. S., 2009, *Kinetic modeling of reactions in foods*, CRC Press, Boca Raton
- Vogel, 1985, *Teks Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimikro*, Edisi kelima, Kalman Media Pustaka, Jakarta
- Winarno, F.G., 1984, *Kimia Pangan dan Gizi*, PT Gramedia, Jakarta