

## **GRACIFUEL SEBAGAI INOVASI PROSES PRODUKSI BIOETANOL BERBAHAN LIMBAH AGAR *GRACILARIA SP.* DENGAN SAKARIFIKASI MENGUNAKAN $H_2SO_4$**

**Nela A. Khoiriyah, M. Jannah, A. Rosul Arif, dan A.A. Jaziri**  
Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Keautan, Universitas Brawijaya

Alamat email : nelaakh@gmail.com

### **Abstrak**

Konsumsi bahan bakar pada 2018 mencapai 75 juta kiloliter seiring dengan peningkatan kendaraan bermotor, yang sebesar 21,17%. Bioetanol adalah bahan bakar terbarukan. Biomassa adalah salah satu yang berpotensi menjadi energi terbarukan yang ramah lingkungan. Biomassa berupa rumput laut kelas Rhodophyceae (ganggang merah) yang diolah untuk menghasilkan produk samping berupa limbah agar. Limbah untuk *Gracilaria sp.* dapat menjadi substrat untuk menghasilkan bioetanol, karena biomassa memiliki banyak kandungan polisakarida jenis selulosa dan galaktan ketika difermentasi oleh ragi *S. cerevisiae* yang sebelumnya diproses dengan sakarifikasi. GRACIFUEL (*Gracilaria Biofuel*): inovasi dalam produksi bioetanol berbasis limbah sehingga *Gracilaria sp.* Metode yang digunakan adalah eksperimental dengan rancangan acak lengkap (RAL) yang dilakukan uji lanjutan Duncan. Penelitian ini dilakukan dengan perbedaan konsentrasi asam  $H_2SO_4$  (0%: 0,75%: 1,5% dan 2,25%). Hasil penelitian ini menunjukkan perbedaan ( $P > 0,05$ ) pada konsentrasi asam yang digunakan dalam sakarifikasi (gula total, gula reduksi, pH, dan total spora). Jadi limbah agar-agar memiliki potensi untuk menjadi energi terbarukan.

**Kata Kunci:** BBM, *Gracilaria*, Biofuel, Fermentasi

### **PENDAHULUAN**

Konsumsi bahan bakar dengan jumlah terbesar berdasarkan data Badan Penelitian Pengembangan Perhubungan (2014), adalah pada sektor transportasi yaitu jenis bahan bakar solar dan bensin yang menyentuh angka 88%. Kepala BPH Migas Fanshurulloh (2018), mengatakan jumlah konsumsi BBM 75 Juta kilolitre. Dibagi menjadi jenis BBM tertentu (JBT) sekitar 16,2 juta KL untuk solar dan minyak tanah, jenis BBM khusus penugasan (JBKP), dan jenis BBM umum (premium, pertalite, pertamax) sekitar 51,3 juta KL. Kenaikan bahan bakar fosil tersebut dikarenakan kenaikan kendaraan bermotor yang pesat yakni sekitar 21,17% pertahun. Konsumsi bahan bakar yang tinggi tidak sebanding dengan hasil produksi BBM. Tahun 2008, cadangan BBM fosil atau minyak bumi yang tidak terbarukan sudah sangat menipis yakni 3,7 miliar barel dengan produksi pertahun 0,36 miliar barel atau hanya cukup untuk 11 tahun. Kebutuhan energi yang terus meningkat dan ketersediaan bahan bakar yang semakin menipis mengharuskan manusia untuk mencari sumber energi alternatif yang terbarukan dan ramah lingkungan.

Di Indonesia pabrik yang memproduksi bioetanol berasal dari bahan baku singkong, ubi jalar, tebu dan jagung. Bahan baku tersebut merupakan tanaman pangan yang budidayanya membutuhkan lahan yang luas, lambat dan terbatas serta menimbulkan persaingan terhadap pangan dengan manusia. Bahan baku yang terbatas membuat produksi bioetanol belum optimal (Susilawati, 2012). Kondisi tersebut mendorong pencarian sumber bahan baku alternatif yang ketersediaannya melimpah dan kontinyu sepanjang tahun.

Biomassa merupakan salah satu yang berpotensi menjadi energi terbarukan yang ramah lingkungan. Menurut Papilo et al. (2015), Indonesia memiliki potensi terhadap biomassa yang tinggi. Semua bahan organik yang berasal dari tanaman (termasuk alga, pohon dan tanaman)

dikenal dengan biomassa. Biomassa berupa rumput laut kelas Rhodophyceae (alga merah) yang diolah menjadi agar menghasilkan hasil samping berupa limbah agar. Limbah agar *Gracilaria* sp. dapat menjadi substrat untuk menghasilkan bioetanol, karena biomassa tersebut memiliki banyak kandungan polisakarida jenis selulosa dan galaktan bila difermentasi oleh khamir *S. cerevisiae* yang sebelumnya di proses sakarifikasi terlebih dahulu.

Berdasarkan penelitian pendahuluan yang telah dilakukan, didapatkan hasil kadar glukosa terbanyak dari proses sakarifikasi yaitu menggunakan hidrolisis asam  $H_2SO_4$  yaitu sebesar 4,93% (b/v). Hal ini dapat diketahui bahwa sakarifikasi dengan asam menghasilkan rendemen yang cukup tinggi.

Pada studi ini bertujuan untuk mendapatkan rendemen yang lebih tinggi dari penelitian sebelumnya dengan menggunakan proses sakarifikasi menggunakan asam  $H_2SO_4$  dengan konsentrasi yang berbeda yang mana merupakan asam kuat sehingga mampu menghidrolisis selulosa yang ada pada limbah agar *Gracilaria* sp.

## **BAHAN DAN METODE**

Bahan yang digunakan untuk pembuatan bioetanol meliputi limbah agar *Gracilaria* sp. yang diperoleh dari CV Agar Sari Jaya Karanglo Malang,  $H_2SO_4$ , aluminium foil, kapas, plastik wrap, kertas label, biakan *Saccharomyces cerevisiae*, media PDA dan PDB, NPK 0,04%, ZA 0,15%, dan aquades.

Alat yang digunakan dalam proses pembuatan bioetanol yaitu, blender, erlenmeyer 500 ml, autoklaf, oven, beaker glass 250 ml dan 1000 ml, nampan, spatula, gelas ukur 100 ml, timbangan digital, waterbath, pipet volum dan pH meter.

Metode yang digunakan adalah metode eksperimen. Metode ini bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh penggunaan asam  $H_2SO_4$  dengan konsentrasi yang berbeda.

Desain penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 3` ulangan. Perlakuan yang dirancang terdiri dari :

Perlakuan 1: 0% (v/v)  $H_2SO_4$

Perlakuan 2: 0,75% (v/v)  $H_2SO_4$

Perlakuan 3: 1,5% (v/v)  $H_2SO_4$

Perlakuan 4: 2,25% (v/v)  $H_2SO_4$

Adapun parameter yang digunakan dalam penelitian ini antara lain parameter fisik meliputi: persentase rendemen, flash point, dan emisi gas buang. Sedangkan parameter kimia terdiri dari nilai derajat keasaman (pH), komposisi proksimat (kadar protein, kadar air, kadar lemak, dan kadar abu), total gula, gula pereduksi, dan kadar etanol.

## **Prosedur Penelitian**

Prosedur penelitian pembuatan bioetanol diawali dengan menyiapkan kultur *Saccharomyces cerevisiae* yang diremajakan pada diremajakan pada media PDA dan diinkubasi selama 48 jam. Setelah itu biakan diremajakan kembali dalam 500 ml media PDB. Inkubasi dilakukan dalam inkubator pada suhu kamar (28 – 30 °C) selama 3 hari.

Selanjutnya dilakukan proses sakarifikasi limbah agar *Gracilaria* sp. dengan hidrolisis asam. Sebanyak 5 % (17,5 gram) bahan dilarutkan dalam larutan  $H_2SO_4$  dengan total volume 300 ml. Untuk penentuan perlakuan hidrolisis asam, digunakan perlakuan perbedaan konsentrasi asam yang digunakan yaitu 0%, 0,75%, 1,5%, dan 2,25% (v/v). Proses sakarifikasi dilakukan dalam autoclave dengan suhu 121 °C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Percobaan dilakukan dengan dua kali ulangan. Hasil dari sakarifikasi kemudian dianalisis total gula dan kadar gula pereduksinya.

### Proses Fermentasi

Larutan substrat hasil sakarifikasi kemudian ditambahkan pupuk NPK dan ZA masing-masing sebanyak 0,04% dan 0,15% dari volume larutan substrat. Kemudian larutan diatur pH-nya hingga mencapai  $\text{pH} \pm 5$  menggunakan NaOH konsentrasi 5% (b/v), selanjutnya dilakukan pasteurisasi pada suhu  $\pm 80^\circ\text{C}$  selama 5 menit. Berikutnya inokulum *Saccharomyces cerevisiae* ditambahkan sebesar 10% dari volume substrat. Proses fermentasi berlangsung pada sistem anaerob selama 7 hari dalam suhu ruang. Setelah 7 hari, hasil fermentasi didestilasi untuk mendapatkan fraksi etanol.

### Analisa Statistik

Semua percobaan dilakukan dalam 3 kali ulangan dengan 4 perlakuan yang berbeda. Data dianalisis keragaman (ANOVA) dan perbandingan rata-rata dilakukan menggunakan uji Duncan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Karakteristik Limbah Agar *Gracilaria* sp.

Bahan baku yang diperoleh awalnya dalam keadaan basah. Bahan baku tersebut kemudian dikeringkan dengan sinar matahari selama 1 hingga 3 hari dan dilanjutkan dengan pengeringan menggunakan oven. Bahan selanjutnya dibuat tepung dengan cara digiling lalu diayak menggunakan ayakan 30 mesh.

**Tabel 1.** Proksimat limbah agar *Gracilaria* sp.

Parameter	%
Water content	9,74
Carbohydrate	74,82
Lipid	0,04
Protein	0,18
Ash content	15,22

Berdasarkan hasil analisa proksimat yang sudah dilakukan oleh Adini *et.al.* (2015), kandungan karbohidrat total untuk limbah agar 72,17% sedangkan rumput laut *Gracilaria* sp. 52,87%. Sedangkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Prahasta (2010) mendapatkan hasil proksimat dari limbah agar *Gracilaria* sp. yaitu kadar air sebesar 5,67%, kadar abu 20,94%, protein sebesar 0,57%, lemak sebesar 0,83%, serat kasar sebesar 58,59%, dan karbohidrat sebesar 19,07%.

### Total Gula dan Kadar Gula Reduksi

Total gula dan mengurangi kadar gula dapat mempengaruhi hasil fermentasi bioetanol. Ini karena semakin tinggi kandungan gula, semakin banyak substrat yang difermentasi untuk *Saccharomyces cerevisiae* akan meningkatkan hasil fermentasi. Total gula tertinggi dan hasil gula pereduksi diperoleh pada konsentrasi  $\text{H}_2\text{SO}_4$  2,25%. Hasil pengamatan pada hasil berupa kadar glukosa untuk hidrolisis menggunakan asam sulfat dipengaruhi oleh konsentrasi asam sulfat dan lamanya waktu hidrolisis. Gula mengurangi peran penting dalam pertumbuhan *S. Cereviceae* sebagai sumber karbon dalam proses fermentasi untuk menghasilkan energi (Adini *et al.*, 2015).

**Tabel 2.** Gula Total dan Gula Reduksi

Sampel (% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	Gula Total (%)		Gula Reduksi(%)	
	A	B	A	B
0%	6,24	6,3	0,158	0,211
0,75%	7,06	7,14	1,895	1,947
1,5%	7,67	7,75	3,632	3,737
2,25%	8,03	7,99	4,579	4,474

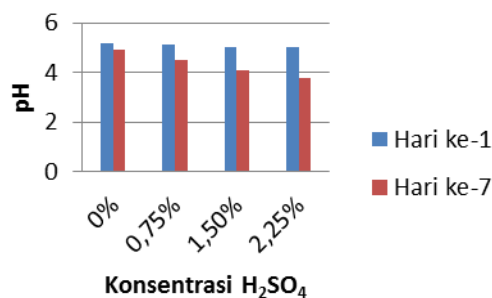
**Ph Medium**

Dalam proses fermentasi, pH sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan *Saccaromyces cereviceae*. Pertumbuhan *Saccaromyces cereviceae* menurut Azizah *et al.* (2012), yaitu sekitar 3,5 sampai 6,5. Hasil samping dari fermentasi yaitu berupa asam piruvat, asam suksinat, dan asam laktat. Kecepatan fermentasi akan menurun seiring dengan nilai pH yang rendah. Sedangkan pH yang lebih tinggi akan terbentuk asam-asam organik dan gliserol lebih banyak.

Hasil penelitian ini didapatkan analisa pH pada awal dan akhir hasil fermentasi didapatkan hasil bahwa pH mengalami penurunan.

**Tabel 1.** pH sebelum dan sesudah fermentasi

Konsentrasi H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	pH	
	Sebelum fermentasi	Setelah fermentasi
0%	5,2	4,9
0,75%	5,1	4,5
1,50%	5,0	4,1
2,25%	5,0	3,8

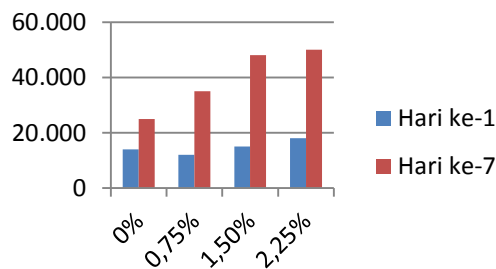
**Gambar 1.** pH sebelum dan sesudah fermentasi

Dari grafik diatas dapat dianalisa bahwa setelah proses fermentasi terjadi penurunan pH. Pada perlakuan konsentrasi 0% terdapat penurunan pH sebesar 0,3, konsentrasi 0,75% mengalami penurunan pH sebesar 0,6, pada konsentrasi 1,5% mengalami penurunan sebesar 0,9 dan pada

konsentrasi 2,25% mengalami penurunan sebesar 1,2. Kisaran pH optimal bagi pertumbuhan *S. cerevisiae* menurut Adini *et al.* (2015), yaitu dalam kisaran variasi pH 4-6. Dalam produksi bioetanol dengan proses fermentasi mengakibatkan penurunan pH.

### Jumlah Spora

Jumlah spora yang dihitung yaitu jumlah dari sel kering yang terdapat pada cairan media fermentasi di awal dan diakhir. Semakin tinggi jumlah spora maka semakin banyak selulase yang dipecah untuk menghasilkan etanol. Hasil perhitungan jumlah spora pada hari ke-1 (sebelum fermentasi) dan hari ke-7 (sesudah fermentasi)



**Gambar 2.** Jumlah spora antara hari pertama (sebelum fermentasi) dan hari ke tujuh (setelah fermentasi). Dengan perlakuan konsentrasi H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0% (14.000 sel / ml dan 25.000 sel / ml); 0,75% (12.000 sel / ml dan 35.000 sel / ml); 1,5% (15.000 sel / ml dan 48.000 sel / ml); 2,25% (18.000 sel / ml dan 50.000 sel / ml).

Pertumbuhan biomassa dapat dilihat dari peningkatan jumlah biomassa dimulai saat sebelum fermentasi dan setelah dilakukannya fermentasi. Pertumbuhan terjadi apabila keadaan fisik dan kimiawi optimum tercapai seperti kebutuhan nutrisi, pH, suhu. Mikroba akan tumbuh dan dapat bekerja sesuai dengan kondisinya. Setelah 7 hari proses fermentasi, terjadi peningkatan jumlah spora *S. Cerevisiae*. Ini terjadi karena *S. Cerevisiae* selama proses fermentasi bereplikasi. Semakin tinggi kandungan karbohidrat, semakin tinggi jumlah spora karena karbohidrat sebagai substrat fermentasi kapang *S. Cerevisiae*. Ini karena kondisi keasaman mempengaruhi perkembangan spora. Kapang dapat menghasilkan enzim hidrofilik, yaitu amilase, proteinase, pektinase, serta lipase. Spora dapat tumbuh pada bahan yang mengandung pati, protein, pektin, maupun lipid (Dewi *et al.*, 2014).

### KESIMPULAN

Penelitian tentang pengaruh perbedaan konsentrasi H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pada proses sakarifikasi memberikan hasil yang berbeda ( $P < 0,05$ ) pada nilai keasaman (pH), total gula, gula pereduksi, dan total spora dalam proses fermentasi bioetanol dari limbah agar.

### DAFTAR PUSTAKA

- [BPS] Badan Pusat Statistika. 2015. Produksi Bahan Bakar Minyak (BBM) 1996-2015. BPS. Jakarta.
- Adini, S, E. Kusdiyantini dan A. Budiharjo. 2015. Produksi Bioetanol dari Rumput Laut dan Limbah Agar *Gracilaria* sp. dengan Metode Sakarifikasi yang Berbeda. *BIOMA* 16(2): 65–75

#### **Seminar Nasional Kelautan XIV**

"Implementasi Hasil Riset Sumber Daya Laut dan Pesisir Dalam Peningkatan Daya Saing Indonesia"

Fakultas Teknik dan Ilmu Kelautan Universitas Hang Tuah, Surabaya 11 Juli 2019

- Dewi, A.K, C.S. Utama and S. Mukodiningsih. 2014. Kandungan total fungi serta jenis kapang and khamir pada limbah pabrik pakan yang difermentasi dengan berbagai aras starter 'Starfung'. *Agripet*. 14(2):104-106
- Fanshurulloh. 2008. BPH MIGAS konsumsi BBM tahun 2018 75 juta kiloliter. [www.cnbcindonesia.com/news/20180108145938-4-894/bph-migas-konsumsi-bbm-tahun-2018-75-juta-kiloliter](http://www.cnbcindonesia.com/news/20180108145938-4-894/bph-migas-konsumsi-bbm-tahun-2018-75-juta-kiloliter). Diakses pada tanggal 20 September 2018
- Mukti, R.A, D.H. Sutjahjo. 2013. Bahan Bakar Alternatif Bioethanol Dari Limbah Kulit Kelapa Muda Segar Sebagai Extender Premium. *JTM*. 2(1):57-64
- Papilo, P., Kunaifi, E. Hambali, Nurmiati, dan R. F. Pari. 2015. Penilaian Potensi Biomassa sebagai Alternatif Energi Kelistrikan. *Jurnal PASTI* 9(2): 164-176.
- Prasetya, I. 2018. Analisa performa mesin dan kadar emisi gas buang kendaraan bermotor dengan memanfaatkan bioetanol dari bahan baku singkong sebagai bahan bakar alternatif campuran pertalite. *Skripsi*. Program Studi Magister Teknik Mesin Sekolah Pascasarjana Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Susilawati, R. 2012. Bisnis Etanol Medco Tersandung Mahalnya Singkong. [http://www.beritajatim.com/detailnews.php/1/Ekonomi/2012-04-2/133684Bisnis\\_Bio\\_EtanolMedco\\_Tersandung\\_Mahalnya\\_Singkong](http://www.beritajatim.com/detailnews.php/1/Ekonomi/2012-04-2/133684Bisnis_Bio_EtanolMedco_Tersandung_Mahalnya_Singkong). Diakses pada tanggal 20 September 2018
- Wiratmaja, I.G., 2010. Pengujian karakteristik fisika biogasoline sebagai bahan bakar alternatif pengganti bensin murni. 4(2): 145-154