

**PEMBUATAN BIOETANOL DENGAN TEKNIK IMOBILISASI SEL  
*Saccharomyces cerevisiae* DARI LIMBAH KERTAS HVS****Dea Prisca Amanda<sup>1)</sup>, Marlinda<sup>2,\*)</sup>, Ramli<sup>3)</sup>, dan Andri Kurniawan<sup>4)</sup>**<sup>1), 2), 3), 4)</sup> Program Studi Petro dan Oleo Kimia, Jurusan Teknik Kimia, Politeknik Negeri Samarinda, Samarinda, Indonesia

\*) Email : marlinda@polnes.ac.id

(Received: 25-09-2021; Revised: 29-09-2021; Accepted: 29-09-2021)

**Abstrak**

Produksi kertas di Indonesia berdasarkan Balai Besar Pulp dan Kertas (BBPK) mencapai 12,98 juta ton/tahun. Kertas yang telah digunakan dan dibuang dapat menimbulkan masalah bagi lingkungan. Kandungan selulosa pada kertas sangat tinggi sehingga dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku bioetanol. Teknik fermentasi yang digunakan merupakan bioteknologi modern yaitu dengan metode imobilisasi sel. Metode ini menggunakan bahan *inert* yang tidak larut dalam substrat. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan pengaruh konsentrasi imobilisasi sel *Saccharomyces cerevisiae* terhadap kadar bioetanol untuk meningkatkan kadar bioetanol yang dihasilkan. Kertas dihidrolisis dengan HCl 2N untuk memecah selulosa menjadi glukosa yang akan digunakan sebagai substrat. Variabel penelitian yang digunakan adalah konsentrasi imobilisasi sel *Saccharomyces cerevisiae* yaitu 0, 5, 10, 15, 20, dan 25% (b/b) dalam substrat. Fermentasi dilakukan dengan sistem batch selama 4 hari. Imobilisasi sel *Saccharomyces cerevisiae* dibuat menggunakan Na-Alginat 10% dan CaCl<sub>2</sub> 7%. Konsentrasi etanol dianalisa menggunakan gas kromatografi dan analisa jumlah sel menggunakan gravimetri. Hasil penelitian menunjukkan konsentrasi bioetanol maksimum pada konsentrasi imobilisasi sel 15%. Dimana konsentrasi bioetanol 8,1876% dan jumlah sel sebanyak 1,84 g sel/L.

**Kata kunci:** bioetanol, fermentasi, imobilisasi, kertas, *saccharomyces cerevisiae***Abstract**

*Paper production in Indonesia based on the Center for Pulp and Paper (BBPK) reaches 12.98 million tons/year. Paper that has been used and thrown away can cause problems for the environment. The cellulose content in paper is very high so that it can be used as a raw material for bioethanol. The fermentation technique used is modern biotechnology, namely the cell immobilization method. This method uses an inert material that is not soluble in the substrate. The purpose of this study is to determine the effects of the concentration of immobilized saccharomyces cerevisiae cells on bioethanol levels to increase the levels of bioethanol produced. Paper was hydrolyzed with 2N HCl to break down cellulose into glucose which would be used as a substrate. The research variable used was the concentrations of immobilized saccharomyces cerevisiae cells, namely 0, 5, 10, 15, 20, and 25% (w/w) in substrate. Fermentation was carried out in a batch system for 4 days. Immobilization of saccharomyces cerevisiae cells was made using 10% Na-Alginate and 7% CaCl<sub>2</sub>. Ethanol concentration was analyzed using gas chromatography and cell number analysis using gravimetry. The results showed the maximum concentration of bioethanol at a concentration of 15% cell immobilization. Where the concentration of bioethanol was 8.1876% and the number of cells was 1.84 g cells/L*

**Keywords:** bioethanol, fermentation, immobilization, paper, *saccharomyces cerevisiae*

## PENDAHULUAN

Kertas merupakan bahan yang tipis dan rata yang dihasilkan dengan kompresi serat yang berasal dari pulp. Komposisi kertas memiliki kandungan selulosa 85-99% dan lignin 0-15% (Sutjiadi dkk., 2010). Proses pembuatan kertas pada industri modern mengalami perkembangan, baik dari segi teknologi maupun bahan baku yang digunakan. Produksi kertas di Indonesia berdasarkan Balai Besar Pulp dan Kertas (BBPK) mencapai 12,98 juta ton/tahun pada 2017. Berdasarkan data APKI (Asosiasi Pulp dan Kertas Indonesia), kebutuhan kertas dunia sekitar 394 juta ton, dan diperkirakan akan tumbuh rata-rata 2,1% per tahun dan diperkirakan akan meningkat menjadi 490 juta ton pada tahun 2020. Kertas mengandung selulosa yang sangat tinggi dan dapat diubah menjadi glukosa yang merupakan bahan baku pembuatan bioetanol. Sehingga pemanfaatan kertas bekas sebagai bahan baku bioetanol dapat mengatasi berbagai masalah baik masalah lingkungan dan akan meningkatkan nilai jual kertas bekas tersebut. Limbah kertas yang paling sering ditemui di lingkup persekolahan, perkuliahan maupun perkantoran adalah limbah kertas jenis HVS. Limbah kertas HVS di proses menjadi bioetanol sangat menguntungkan karena etanol yang dihasilkan dapat digunakan dalam berbagai keperluan antara lain sebagai pelarut, desinfektan, sebagai bahan baku industri kimia, bahan bakar dan sebagai bahan minuman.

Etanol merupakan salah satu sumber energi alternatif yang mempunyai prospek yang sangat bagus sebagai pengganti bahan bakar transportasi baik secara langsung maupun dicampur dengan bensin. Pencampuran dapat dilakukan dengan berbagai komposisi, misalnya etanol 10% dan bensin 90% yang dikenal sebagai E10 dan di sebut "gasohol". Bensin yang dicampur dengan etanol sampai maksimal 15% dapat dibakar pada mesin pembakaran tanpa modifikasi sama sekali (Susilo dkk., 2017).

Secara umum produksi bioetanol yang berasal dari kertas terdiri dari dua tahap utama, yaitu hidrolisis dan fermentasi. Hidrolisis bertujuan untuk memecah polisakarida menjadi monosakarida. Polisakarida berupa selulosa pada kertas HVS akan dihidrolisis menjadi glukosa sebelum dikonversi menjadi etanol (Arif dkk., 2009). Dalam penelitian ini dilakukan hidrolisis asam menggunakan HCl sebagai katalisator. Proses fermentasi dilakukan dengan bantuan mikroorganisme *Saccharomyces cerevisiae* yang dikenal mempunyai daya untuk konversi gula menjadi etanol. Dalam perkembangannya, produksi bioetanol mulai mengarah ke cara yang lebih modern yaitu dengan menggunakan teknik imobilisasi sel. Teknik imobilisasi sel merupakan teknik untuk melekatkan suatu sel pada suatu bahan inert dan tidak larut dalam bahan tersebut. Sel yang terimobilisasi ini dinilai memiliki nilai lebih jika dibandingkan dengan sel bebas lainnya karena imobilisasi menyediakan konsentrasi sel yang tinggi dan sel berpotensi digunakan kembali serta mengurangi biaya *recovery* sel dan *recycle* sel. (Lumbanraja, 2020).

Pembuatan bioetanol secara konvensional sudah banyak dilakukan oleh peneliti sebelumnya salah satunya adalah Apriyanti (2018) menggunakan bahan baku limbah kertas HVS dengan memvariasikan jenis asam sebagai zat hidrolisis yaitu HCl dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dengan masing-masing variasi konsentrasi yaitu 0,5 N dan 2 N, dan waktu fermentasi yaitu 5 hari lalu didestilasi, menghasilkan kondisi terbaik pada HCl konsentrasi 2 N dengan konsentrasi bioetanol tertinggi yaitu 0,1433% (v/v). Nabil (2020) menggunakan bahan baku limbah kertas HVS dengan memvariasikan massa *Saccharomyces cerevisiae* yaitu 3, 4, dan 5 gram, dan waktu fermentasi yaitu 48, 96, 144, dan 192 jam menghasilkan kondisi terbaik pada penggunaan *Saccharomyces cerevisiae* yaitu 5 gram dan waktu fermentasi 96 jam lalu didestilasi dengan konsentrasi bioetanol tertinggi yaitu 2,18% (v/v). Pada penelitian Apriyanti (2018) dan Nabil (2020) metode fermentasi yang digunakan masih menggunakan metode konvensional dimana ragi dikontakkan langsung dengan substrat.

Pada penelitian Chairul dan Yenti (2013) pembuatan bioetanol dari nira nipah dengan metode konvensional diperoleh konsentrasi bioetanol terbaik yaitu 14%. Berbeda pada penelitian Awaltanova, dkk (2015) yang meneliti pembuatan bioetanol dari substrat nira nipah menggunakan teknik modern yaitu imobilisasi dengan variasi konsentrasi sel imobilisasi yaitu sel *Saccharomyces cerevisiae* dijerat dalam suatu matriks atau membran yang bertujuan untuk membuat sel menjadi tidak bergerak atau berkurang ruang geraknya sehingga sel menjadi terhambat pertumbuhannya dan substrat yang diberikan hanya digunakan untuk menghasilkan produk. Dari segi proses penelitian Awaltanova, dkk (2015) metode yang digunakan yaitu teknik imobilisasi menghasilkan hasil terbaik konsentrasi bioetanol 17,574%. Pada metode imobilisasi membuat sel tidak bergerak sehingga produk yang dihasilkan lebih tinggi jika dibandingkan dengan metode konvensional.

Guna memperbaharui dari segi proses pada kedua penelitian tersebut sehingga dapat menghasilkan produk yang lebih tinggi maka penelitian yang akan dilakukan menggunakan limbah kertas HVS dengan metode yang digunakan pada penelitian ini yaitu teknik imobilisasi menggunakan natrium alginat dan dilakukan variasi sel imobilisasi untuk mengetahui pengaruh konsentrasi sel immobil terhadap kadar bioetanol. Karena semakin besar konsentrasi sel imobilisasi yang ditambahkan kedalam fermentor akan memberikan aktivitas sel untuk menghasilkan enzim yang tinggi. Semakin tingginya enzim yang dihasilkan maka konversi gula oleh enzim menjadi alkohol semakin cepat berlangsung (Marlinda dkk., 2019).

## METODOLOGI

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini adalah fermentor, set destilasi, oven, *hotplate*, instrumen *gas chromatography*, incubator, *refractometer brix* dan seluruh alat gelas yang digunakan di laboratorium. Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah kertas HVS bekas, NaOH, HCl 2N, *dry yeast* (haan), Na-alginat, CaCl<sub>2</sub>, glukosa, Mg<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.

Tahapan pelaksanaan yang pertama dilakukan adalah *pre-treatment* kertas HVS bekas. Sampel kertas dihancurkan dengan menggunakan blender dan ditambahkan 1,5 L air dan NaOH 1,5% (v). Selanjutnya dilakukan pencucian hingga pH netral kemudian dikeringkan. Kertas sebanyak 100 g yang telah di *pre-treatment* dihidrolisis dengan 1 L HCl 2 N. Setelah dihidrolisis larutan dinetralkan dengan NaOH 50%. Lalu dianalisa kadar gula dengan *refractometer brix*.

Pembuatan sel imobil menggunakan Na-alginat 10% yang dicampurkan dengan *dry yeast* yang terlebih dahulu sudah diaktifkan. Campuran tersebut kemudian diteteskan ke dalam larutan CaCl<sub>2</sub> 7% hingga terbentuk *beads*. *Beads* kemudian dicuci dan direndam dengan larutan glukosa 5% dan diinkubasi suhu 36°C selama 24 jam. Sebanyak 100 mL substrat hasil hidrolisis difermentasi dalam fermentor dan ditambahkan 250 mL larutan nutrisi (0,1 g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 0,025 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 0,025 g MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O) dalam 1 L aquadest). Imobilisasi di masukkan ke dalam fermentor dengan variasi konsentrasi yaitu 5, 10, 15, 20, 25% (b/v). fermentasi dilakukan selama 4 hari. Mengukur pH sebelum dan sesudah fermentasi.

Larutan hasil fermentasi kemudian disaring dan hasil saringan dianalisa jumlah selnya dengan metode gravimetri sedangkan larutan hasil fermentasi didestilasi dengan suhu 90°C dan diukur volume hasil destilatnya. Hasil destilasi dianalisa konsentrasi bioetanolnya dengan *gas chromatography*

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian kali ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi imobilisasi sel *Saccharomyces cerevisiae* (SC) terhadap kadar etanol pada produksi bioetanol dari kertas HVS bekas.

**Tabel 1.** Data Jumlah Sel dan Konsentrasi Bioetanol

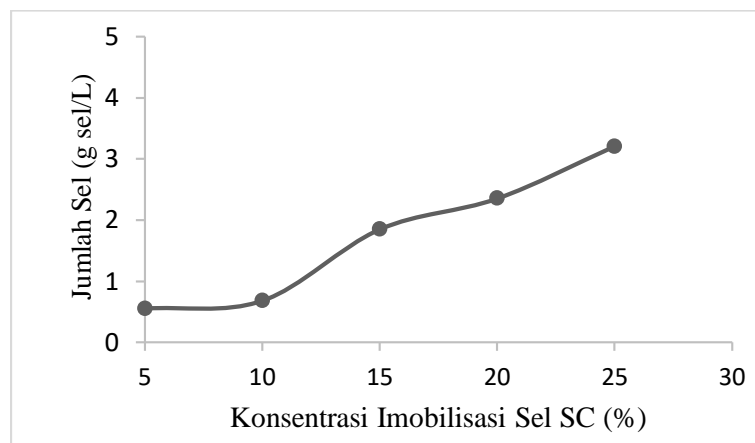
Sampel (%)	Jumlah Sel (g sel/L)	Konsentrasi Bioetanol (%)
0	9,67	1,7445
5	0,56	1,8574
10	0,68	3,7273
15	1,85	8,1876
20	2,35	2,1118
25	3,21	2,1094

Adapun kertas HVS bekas yang digunakan berfungsi sebagai media substrat karena mengandung kadar selulosa sebesar 85% yang dapat dikonversi menjadi glukosa sebagai bahan baku pembuatan bioetanol. Prinsip produksi bioetanol ini yaitu dengan metode fermentasi dengan teknik imobilisasi sel. Teknik ini dinilai dapat meningkatkan produktivitas etanol dari suatu biomassa. Karena dengan teknik ini,

sel *Saccharomyces cerevisiae* akan terjebak di dalam zat pengimobil. Dimana dengan adanya penjebakan ini, menyebabkan etanol yang dihasilkan tidak akan kontak langsung dengan sel. Sehingga proses inhibisi dari etanol terhadap sel akan terhindar dan produktivitas etanol akan meningkat.

### Pengaruh Konsentrasi Imobilisasi Sel SC Terhadap Jumlah Sel

Adapun teknik imobilisasi sel SC yang dilakukan merupakan teknik dengan metode penjebakan sel. Imobilisasi sel SC dilakukan dengan zat pengimobil Na-Alginat 10% dan  $\text{CaCl}_2$  7%. Na-Alginat berperan sebagai zat pengimobil atau matriks terhadap starter SC sehingga *Saccharomyces cerevisiae* terjebak di dalam larutan Na-Alginat dalam bentuk *beads*. Analisa jumlah sel yang dimaksudkan untuk mengetahui pertumbuhan jumlah sel dalam substrat hasil hidrolisis kertas HVS bekas. Hubungan pertumbuhan jumlah sel dengan konsentrasi imobilisasi sel dapat dilihat pada Gambar 1.



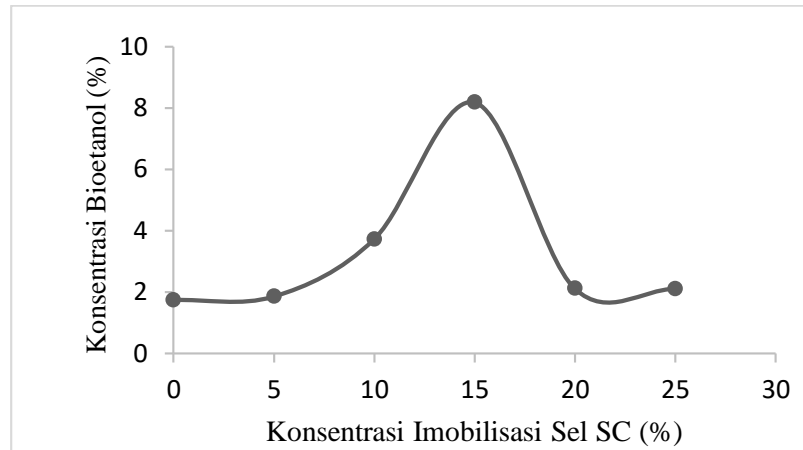
**Gambar 1.** Grafik hubungan konsentrasi imobilisasi sel SC dengan jumlah sel

Berdasarkan Gambar 1 menunjukkan bahwa pengaruh konsentrasi imobilisasi SC terhadap jumlah sel terlihat semakin tinggi konsentrasi sel imobilisasi SC maka jumlah sel yang terdapat dalam medium fermentasi semakin banyak. Hal ini terjadi karena semakin tinggi konsentrasi imobilisasi sel SC maka akan semakin tinggi pertumbuhan sel yang terjebak di dalam *beads* serta pengaruh lingkungan yang dihadapi di dalam sel yang terjebak semakin kecil sehingga interaksi sel dengan lingkungan pun semakin berkurang. Hubungan jumlah sel terhadap produk bioetanol yang dihasilkan yaitu semakin besar jumlah sel maka semakin besar produk yang dihasilkan. Hal ini terjadi karena pada waktu fermentasi yang tetap, digunakan sel terimobil yang semakin bertambah maka enzim yang mengubah glukosa menjadi bioetanol semakin banyak sehingga bioetanol yang dihasilkan akan mempunyai kadar yang tinggi. Tetapi jika penggunaan sel terimobil berlebihan maka kadar bioetanol yang diperoleh akan menurun (Asngad dkk., 2009). Hal ini dikarenakan semakin banyak jumlah sel maka kebutuhan akan makanan sel (glukosa) akan semakin besar untuk sel dapat mempertahankan hidupnya dan bereproduksi (Kurniawan dkk., 2012).

### Pengaruh Konsentrasi Imobilisasi Sel SC dengan Konsentrasi Bioetanol

Proses fermentasi menggunakan metode konvensional yaitu pada konsentrasi imobilisasi sel SC 0% dan metode modern (imobilisasi sel) pada konsentrasi 5%-25%. Pengaruh konsentrasi imobilisasi sel SC dengan konsentrasi bioetanol dapat dilihat pada Gambar 2.

Pada Gambar 2 variasi konsentrasi sel imobilisasi 5% sampai 15% mengalami peningkatan konsentrasi bioetanol, hal ini menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi *beads* (sel imobil) yang ditambahkan maka konsentrasi sel imobilisasi SC juga semakin banyak di dalam fermentor. Dengan begitu semakin besar konsentrasi *beads* yang ditambahkan akan memberikan aktivitas sel *saccharomyces cerevisiae* untuk menghasilkan enzim akan semakin tinggi. Semakin tingginya enzim yang dihasilkan maka konversi gula oleh enzim menjadi alkohol akan semakin cepat berlangsung.



**Gambar 2.** Grafik hubungan konsentrasi imobilisasi sel SC dengan konsentrasi bioetanol

Selanjutnya pada variasi konsentrasi imobilisasi sel 20% - 25% mengalami penurunan produktivitas secara perlahan. Kecenderungan penurunan konsentrasi bioetanol yang terjadi diduga akibat terjadinya lisis pada sel SC. Lisis adalah peristiwa pecahnya integritas membran sel dan menyebabkan keluarnya organel sel. Autolisis pada sel akan menyebabkan mitokondria mengeluarkan enzim yang dapat menghancurkan membran sel sehingga sel mengalami kerusakan dan komponen sel akan hilang serta terdispersi ke dalam media (Choirin dkk., 2013). Selain itu, penurunan konsentrasi bioetanol juga dapat disebabkan karena terjadinya oksidasi bioetanol menjadi asam asetat sehingga konsentrasi bioetanol yang dihasilkan menurun di akhir fermentasi (Bagus dkk., 2011). Hal ini akan membuat kondisi medium (media fermentasi) semakin asam dan akan mengalami perubahan pH di akhir fermentasi. Hal tersebut dapat terjadi karena nutrisi untuk pertumbuhan sel SC mulai berkurang pada waktu 4 hari tersebut sehingga sel SC tidak mampu lagi menghasilkan enzim zimase, dimana enzim zimase ini yang mengubah glukosa menjadi alkohol

## SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan konsentrasi imobilisasi sel *Saccharomyces cerevisiae* dapat meningkatkan konsentrasi bioetanol yang dihasilkan. Konsentrasi imobilisasi sel *saccharomyces cerevisiae* yang terbaik pada konsentrasi 15% (b/v) dengan jumlah sel 1,84 g sel/L dan konsentrasi bioetanol 8,19%. Produksi bioetanol dari kertas HVS bekas dengan bioteknologi modern dengan metode imobilisasi sel akan memberikan hasil konsentrasi bioetanol yang lebih tinggi yaitu 8,19% dibandingkan dengan bioteknologi konvensional sel bebas yaitu 1,74 %.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Politeknik Negeri Samarinda dan kepada seluruh pihak yang telah mendukung kelancaran penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Apriyanti, Shella Nenek. (2018). *Pengaruh Jenis Asam, Konsentrasi Asam Dan Waktu Hidrolisis Asam Kertas HVS Bekas Pada Proses Fermentasi*. Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Asngad, A., dan Suparti. 2009. Lama Fermentasi dan Dosis Ragi yang Berbeda pada Fermentasi Gaplek Ketela Pohon Varietas Mukibat terhadap Kadar Glukosa dan Bioetanol. *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi, Vol. 10, No. 1, 2009: 1 – 9*. Universitas Muhammadiyah. Surakarta.
- Awaltanova, E., Bahri, S., & Chairul. (2015). *Fermentasi Nira Nipah Menjadi Bioetanol Menggunakan Teknik Imobilisasi Sel Saccharomyces cerevisiae*. JOM FTEKNIK, 2, 1–7
- Bagus, W, G., Buda, Ketut., & Yoga, I Made. (2011). *Pengaruh perlakuan delignifikasi dengan Larutan*

- NaOH dan Konsentrasi Substrat Jerami Padi terhadap Produksi Enzim Selulase dari Aspergillus niger Nrrl A-li*, 264. Bali: Universitas Udayana
- Chairul., & Yenti, Silvia Reni. (2013). *Pembuatan Bioetanol dari Nira Nipah Menggunakan Saccharomyces cerevisiae*. Jurnal Teknobiologi, IV (2), 105-108
- Choirin, M., Jayus., & Sony, S. (2013). *Pengaruh ketersediaan oksigen pada produksi epiglukan oleh Epicoccum nigrum menggunakan media molase*. Jurnal Agrotek, 7.
- Kurniawan, R., Juhanda, S., Septiyanti, M., & Resgiaty, Y. (2012). *Produksi Etanol Secara Continue dengan Sel Tertambat Menggunakan Bioreactor Tower Fluidized Bed*. Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia Kejuangan 2012. ISSN: 1693-4393.
- Marlinda., Ramli., & Ardis. (2019). *Pengaruh Konsentrasi Imobilisasi Sel Saccharomyces Cerevisiae Pada Pembuatan Bioetanol Dari Nira Nipah*. Prosiding Seminar Nasional, 135–139.
- Nabil, Muhammad. (2020). *Pengaruh Jumlah Ragi Roti (Saccharomyces cerevisiae) dan Lama Fermentasi Kertas HVS Bekas Pakai Terhadap Kadar Etanol*. Malang: Universitas Islam Maulana Malik Ibrahim.