

Perbandingan umbi iles-iles dan singkong sebagai substrat fermentasi *Saccharomyces cerevisiae* dalam produksi bioetanol

KUSMIYATI

Kusmiyati. 2010. Comparasion of iles-iles and cassava tubers as a Saccharomyces cerevisiae substrate fermentation for bioethanol production.

The production of bioethanol increase rapidly because it is renewable energy that can be used to solve energy crisis caused by the depleting of fossil oil. The large scale production bioethanol in industry generally use feedstock such as sugarcane, corn, and cassava that are also required as food resouces. Therefore, many studies on the bioethanol process concerned with the use raw materials that were not competing with food supply. One of the alternative feedstock able to utilize for bioethanol production is the starchy material that available locally namely iles-iles (*Amorphophallus mueller Blum*). The contain of carbohydrate in the iles-iles tubers is around 71.12 % which is slightly lower as compared to cassava tuber (83,47%). The effect of various starting material, starch concentration, pH, fermentation time were studied. The conversion of starchy material to ethanol have three steps, liquefaction and saccharification were conducted using α -amylase and amyloglucosidase then fermentation by yeast *S.cerevisiaie*. The highest bioethanol was obtained at following variables starch:water ratio=1:4 ;liquefaction with 0.40 mL α -amylase (4h); saccharification with 0.40 mL amyloglucosidase (40h); fermentation with 10 mL *S.cerevisiae* (72h) producing bioethanol 69,81 g/L from cassava while 53,49 g/L from iles-iles tuber. At the optimum condition, total sugar produced was 33,431 g/L from cassava while 16,175 g/L from iles-iles tuber. The effect of pH revealed that the best ethanol produced was obtained at pH 5.5 during fermentation occurred for both cassava and iles-iles tubers. From the results studied shows that iles-iles tuber is promising feedstock because it is producing bioethanol almost similarly compared to cassava.

Key words: alternative energy, cassava, iles-iles, bioethanol

Kusmiyati. 2010. Perbandingan umbi iles-iles dan singkong sebagai substrat fermentasi Saccharomyces cerevisiae dalam produksi bioetanol.

Produksi bioetanol meningkat dengan cepat karena merupakan energi terbarukan untuk mengatasi krisis energi yang disebabkan oleh habisnya minyak fosil. Produksi bioetanol skala besar di industri umumnya menggunakan bahan baku seperti tebu, jagung, dan ubi kayu yang juga diperlukan sebagai sumber makanan. Oleh karena itu, banyak studi pada proses bioetanol terkait dengan penggunaan bahan baku yang tidak bersaing dengan pasokan makanan. Salah satu alternatif bahan baku dapat dimanfaatkan untuk produksi bioetanol adalah bahan berpati yang tersedia secara lokal yaitu iles-iles (*Amorphophallus mueller Blum*). Kandungan karbohidrat umbi iles-iles sekitar 71,12% yang sedikit lebih rendah dibandingkan dengan umbi singkong (83,47%). Pengaruh berbagai bahan awal, konsentrasi pati, pH, waktu fermentasi dipelajari. Konversi dari bahan berpati menjadi etanol memiliki tiga langkah, pencairan dan sakarifikasi dilakukan dengan α -amilase dan amyloglucosidase kemudian difermentasi dengan ragi *S.cerevisiaie*. Bioetanol tertinggi diperoleh pada variabel berikut rasio pati: air = 1:4; likuifaksi dengan 0,40 mL α -amilase (4h); sakarifikasi dengan amyloglucosidase 0,40 mL (40h); fermentasi dengan 10 mL *S.cerevisiae* (72h) memproduksi bioetanol 69,81 g/L dari singkong sementara 53,49 g/L dari umbi iles-iles. Pada kondisi optimum, gula total dihasilkan 33.431 g/L dari ubi kayu sementara 16.175 g/L dari umbi iles-iles. Pengaruh pH menunjukkan bahwa etanol yang dihasilkan terbaik diperoleh pada pH fermentasi 5,5 baik untuk ubi kayu maupun umbi iles-iles. Hasil studi menunjukkan bahwa umbi iles-iles menjanjikan sebagai bahan baku bioetanol karena menghasilkan bioetanol hampir sama dengan ubi kayu.

Key words: singkong, iles-iles, etanol, energi alternatif

♥ **Alamat korespondensi:**

¹ Pusat Studi Energi Alternatif,
Jurusan Teknik Kimia, Fakultas
Teknik, Universitas
Muhammadiyah Surakarta. Jl. A.
Yani Tromol Pos 1 Pabelan,
Sukoharjo 57102, Jawa Tengah,
Indonesia. Tel./Fa: 271-717417
ext 442/ 271-715448. ♥email
rahmadini2009@yahoo.com

Manuskrip diterima: 8 Februari 2010.
Revisi disetujui: 16 Maret 2010.

♥♥

Edisi bahasa Indonesia dari:
Nurmiyati, Sugiyarto, Sajidan. 2009.
Kimpul (*Xanthosoma spp.*)
characterization based on
morphological characteristic and
isozymic analysis. Nusantara
Bioscience 1: 138-145

PENDAHULUAN

Etanol merupakan salah satu bahan bakar alternatif yang berperan penting dalam mengurangi dampak negatif pemakaian bahan bakar fosil (Cardona dan Sa'nchez 2007). Pemakaian BBM dari bahan bakar fosil di dunia mencapai 80%, di Indonesia kebutuhan BBM meningkat cukup tinggi yakni mencapai 5,6% per tahun (Gozan *et al.* 2007). Hal ini menyebabkan Indonesia menjadi satu-satunya negara anggota OPEC yang telah mengimpor minyak mentah sebanyak 487 ribu barel/hari sejak akhir tahun 2004. Maka penggunaan Bahan Bakar Nabati seperti bioetanol merupakan salah satu alternatif untuk mengatasi krisis BBM. Bioetanol merupakan cairan tidak berwarna serta bersifat ramah lingkungan dimana hasil pembakaran berupa gas-gas pencemar udara seperti N_x dan CO sangat kecil. Para peneliti menyimpulkan bahwa bioetanol tidak menimbulkan efek rumah kaca seperti bahan bakar fosil karena gas berbahaya seperti CO_2 berkurang 22% (Milan 2005). Bioetanol dapat digunakan sebagai pengganti premium/bensin dan kerosin (minyak tanah). Menurut Kusmiyati dan Haryoto (2007), pemakaian bioetanol di Industri Batik memiliki efisiensi lebih tinggi daripada minyak tanah karena nyala api yang dihasilkan stabil, tidak terlalu besar dan tidak mudah mati. Penggunaan bioetanol berkadar 60% mempunyai karakteristik sifat dan efisiensi yang lebih baik dibandingkan kadar bioetanol lain (40-90%).

Bioetanol dapat diproduksi dari bahan baku yang mengandung gula, pati ataupun selulosa. Salah satu jenis sumber alam berpotensi untuk dikembangkan sebagai umbi-umbian. Umbi merupakan hasil pertanian yang mengandung karbohidrat atau pati, dimana diketahui bahwa proses produksi bioetanol dapat dilakukan dari bahan baku yang mengandung karbohidrat. Salah satu umbi yang sering digunakan untuk produksi bioetanol adalah singkong. Singkong merupakan komoditas hasil pertanian yang banyak ditanam di Indonesia dan merupakan sumber karbohidrat yang tinggi setelah beras, dimana kandungan karbohidrat mencapai 98,4% (Osunsami *et al.* 1988). Tanaman singkong dapat tumbuh ketinggian 2.000 m dpl atau di daerah subtropika bersuhu 16°C. Tanaman ini akan berbunga dan menghasilkan umbi dengan baik bila hidup pada ketinggian 800 m dpl, sedangkan pada ketinggian 300 m dpl tanaman singkong

tidak dapat berbunga, namun hanya dapat menghasilkan umbi. Pada tahun 2005 produk tanaman singkong mencapai 19,5 ton dengan luas lahan 1,24 juta hektar (Prihandana *et al.* 2007). Singkong dapat dipanen pada umur tanaman 9-12 bulan pada saat pertumbuhan daun bawah mulai berkurang. Warna daun mulai menguning dan banyak yang rontok (www.warintek.ristek.go.id 2000). Dalam budidaya singkong yang dimanfaatkan adalah umbinya untuk diolah menjadi tepung gaplek, tapai, tiwul dan lain-lain, sedangkan pati singkong digunakan sebagai bahan baku kerupuk, bakso dan pempek sehingga singkong bernilai ekonomi. Penggunaan singkong untuk produksi bioetanol dapat mempengaruhi ketersediaan bahan pangan, maka untuk mengatasi diperlukan diversifikasi bahan baku menggunakan bahan pangan seperti umbi *iles-iles* (*Amorphophallus muelleri*).

Iles-iles tumbuh liar di Sumatera, Jawa, Flores dan Timor (Jansen *et al.* 1996), serta Bali dan Lombok (Kurniawan *et al.* 2010, in press). *Iles-iles* adalah tumbuhan monokotil yang masuk dalam famili Araceae dengan ciri khusus bunga majemuk bertipe "tongkol" yang tertutup oleh daun (*spatha*) (Jansen *et al.* 1996), umbi berwarna coklat tua gelap dengan bintil-bintil kasar yang mengandung karbohidrat cukup tinggi yaitu 70-85% (Litbang Dinas Pertanian 2009; Kusmiyati 2009). *Iles-iles* mengandung glukomanan tertinggi di antara berbagai jenis *Amorphophallus* di Indonesia yaitu berkisar antara 44-46% (Sumarwoto 2004). Glukomanan adalah polisakarida yang terdiri dari monomer β -1,4 α -mannose dan α -glukose (Widyotomo *et al.* 2000).

Ketersediaan *iles-iles* di Jawa Tengah cukup melimpah dimana luas lahan kehutanan yang dipakai mencapai 640.000 hektar dengan produktivitas sebesar 30-40 ton/hektar (Dinas Pertanian 2009). Namun kelimpahan produktivitas ini belum dimanfaatkan secara maksimal sehingga *iles-iles* tidak mempunyai nilai ekonomi tinggi. Sifat getahnya menyebabkan gatal-gatal sehingga umbi *iles-iles* tidak dimanfaatkan sebagai bahan makanan. Menurut Imelda *et al.* (2008) tanaman *iles-iles* mudah dikembangkan baik secara generatif menggunakan biji, ataupun vegetatif menggunakan umbi, bulbil dan setek daun. Secara alami *iles-iles* tumbuh sebagai vegetasi sekunder, di pinggir hutan jati pada ketinggian 700-900m dpl., curah hujan 1000-1500 mm (Sumarwoto dan Widodo 2008).



Gambar 1. a. Tanaman singkong berumur 4 bulan, b. Tanaman iles-iles berumur 5 bulan, c. Umbi singkong setelah dipanen, d. Umbi iles-iles yang telah dipanen

Umbi iles-iles kurang dimanfaatkan secara maksimal oleh masyarakat, kan sangat menguntungkan apabila digunakan sebagai bahan baku pembuatan bioetanol. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan umbi singkong dan umbi iles-iles (Gambar 1) sebagai bahan baku pembuatan bioetanol dan mempelajari pengaruh variabel konsentrasi substrat dan pH terhadap kadar etanol yang dihasilkan.

pada pembuatan tepung umbi singkong. Proses penepungan umbi iles-iles pada Gambar 2.

Stock biakan S.

Biakan murni S. dikembangkan pada agar miring (media PGY) yang telah disterilisasi pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit. Media PGY (Peptone Glukose Yeast) dibuat dengan mencampurkan 0,3 g yeast

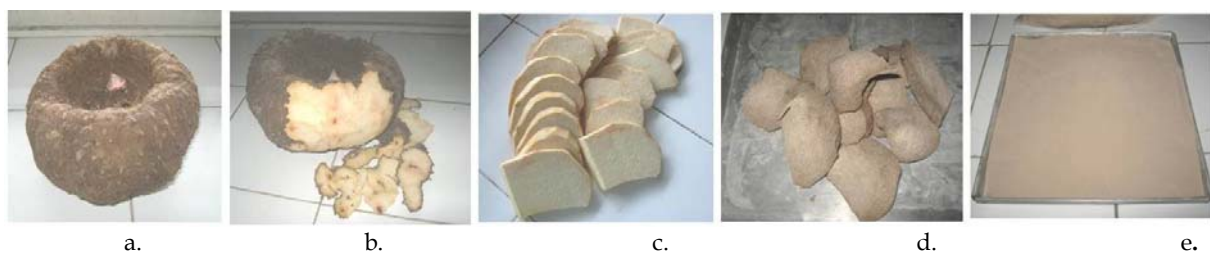
BAHAN DAN METODE

Bahan dan alat

Bahan penelitian ini adalah umbi singkong diperoleh dari pasar tradisional sedangkan umbi iles-iles didapatkan dari kebun sebagai tanaman penyela di Wonogiri. Enzim *α-amylase*, *β-glukoamilase* berasal dari Daniso US (Genericor, USA). *Saccharomyces* diperoleh dari lab. Biologi

Persiapan sampel

Umbi iles-iles dikupas, dicuci, dipotong kecil-kecil dan dikeringkan dibawah sinar matahari sampai 3 hari sehingga kadar air maksimal 10 Setelah itu umbi dihaluskan dan diayak (kurang lebih 40 mesh) sehingga ukuran partikel yang didapatkan lebih seragam. epung iles-iles disimpan di tempat kering dan digunakan dalam waktu lama. Proses yang sama juga dilakukan



Gambar 2. Proses penepungan umbi iles-iles, a. Umbi hasil panen, b. Umbi dikupas, c. Umbi dipotong, d. Umbi yang telah diterikan dibawah sinah matahari, e. Tepung umbi iles-iles.

ekstrak, 0,3 g pentone, 0,4 g malt dan 20 g agar-agar yang dilarutkan dalam 300 auades. Stock biakan diinkubasi selama 2-3 hari pada suhu 28°C.

Proses produksi enzim

Stok biakan *S.* diinokulasikan kedalam 200 media cair yang berisi 5 g (NH)₂HPO₄, 5 g KH₂PO₄, 1 g MgSO₄.7H₂O, 1 g yeast ekstrak. Setelah itu diinkubasi dengan *rotary shaker* berkecepatan 150 rpm pada suhu 30°C selama 24 jam. Proses yang sama dengan pembiakan prekultuur dilakukan untuk membiakkan *main culture* dengan volume media cair yang lebih yaitu 500 ml. Enzim yang terbentuk digunakan dalam proses fermentasi.

Proses produksi pembuatan bioetanol

Tahap awal adalah liquifikasi, pertama melarutkan tepung umbi singkong sebanyak 1 kg ke dalam air dengan perbandingan (1:3,5; 1:4; 1:4,5; 1:5) kemudian ditambahkan enzim *α-amilase* sebanyak 0.48 ml/kg. Proses ini dilakukan dengan mengaduk umbi dengan kecepatan 250 rpm selama 4 jam sampai menjadi bubur pada suhu 100°C. Dilanjutkan proses hidrolisis menggunakan enzim *β-glukoamilase* dengan konsentrasi 0.48 /kg, pH 4 selama 40 jam. Glukosa yang dihasilkan dalam proses hidrolisis di dengan metode *Nelson-Somogy* (Sudarmaji *et al.* 1984). Hal yang sama juga diberlakukan untuk pembuatan bioetanol dari umbi iles-iles.

Glukosa yang telah dihasilkan dari sakarifikasi kemudian difermentasi menggunakan yeast *S.* dengan konsentrasi 10% (v/v) dengan ditambahkan DAP dan urea serta NaOH agar pH menjadi 6. Proses ini berlangsung selama 72 jam, kadar etanol yang dihasilkan dapat diketahui dari dengan GC dimana pengambilan sampel dilakukan pada jam ke 2, 8, 12, 24 dan 72.

Penentuan kadar air

Cawan Petri dikeringkan dalam oven (105°C) selama ± 1 jam, lalu didinginkan dalam desikator dan ditimbang (A). Sampel umbi (iles-iles dan singkong) ditimbang sebanyak 3 g (B). Setelah itu cawan berisi sampel dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 2 jam, kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang hingga diperoleh bobot tetap (C). Kadar air dapat dihitung dengan rumus (AOAC 1984).

$$\text{kadar air} = \frac{(A + B)}{C} - C \times 100\%$$

Penentuan kadar pati

Umbi iles-iles sebanyak 5 g dilarutkan dalam 50 dan ditambahkan HCl dan menutup dengan pendingin balik dan memanaskan di atas pemanas air sampai mendidih selama 2,5 jam. Setelah dingin, kemudian dinetralkan dengan larutan NaOH dan diencerkan sampai volume 500 ml. Sampel dititrisi dengan larutan Fehling (Sudarmaji *et al.* 1984). Kadar pati umbi singkong diukur dengan metode yang sama.

Analisa Kadar Serat Kasar

Umbi (iles-iles dan singkong) kering dihaluskan dan kemudian diayak. Ditimbang sebanyak 2 g dan diekstraksi lemaknya dengan soklet. Bahan kemudian dipindahkan kedalam Erlenmeyer 600 ml serta ditambahkan 3 tetes zat anti buih (antifoam agent). Setelah itu ditambahkan 200 ml larutan H₂SO₄ mendidih (1,25 g H₂SO₄ pekat) dan ditutup dengan pendingin balik. Dididihkan selama 30 menit dan digoyang-goyangkan beberapa saat.

Suspensi disaring dengan kertas saring dan kemudian hasil kertas saring dicuci dengan aquadest mendidih hingga tidak lagi bersifat asam (keasaman ini dapat diuji dengan kertas lakmus). Residu didalam kertas saring dipindahkan kedalam erlenmeyer dengan menggunakan spatula dan sisanya dicuci dengan NaOH mendidih (1,25 g NaOH/100 ml = 0,313 N NaOH), sebanyak 200 ml sampai semua residu masuk kedalam erlenmeyer. Kemudian dididihkan dengan pendingin balik sambil digoyang-goyangkan selama 30 menit. Selanjutnya disaring menggunakan kertas saring yang diketahui beratnya, sambil dicuci dengan larutan K₂SO₄ 10%. Residu dicuci kembali dengan aquadest mendidih dan kemudian dengan 15 ml alkohol 95% (Sudarmaji 1984).

Analisis gula reduksi

Kadar gula reduksi di dengan metode *Nelson-Somogy*. Pertama membuat larutan standart natrium thiosulfat 0,1 M yaitu dengan melarutkan Na₂S₂O₃ ke dalam dan dididihkan selama 5 menit. Membuat larutan reagen cooper dengan cara mencampur beberapa larutan yaitu Na₂SO₄ dan KI, larutan Na₂CO₃, larutan KNaC₄H₄O₆.4H₂O, larutan NaOH, larutan CuSO₄.5H₂O dan larutan KIO₃, kemudian reagen cooper ini ini disimpan dalam botol gelap.

Reagen cooper distandarisasi dengan larutan induk natrium tiosulfat 0,005 M yang diambil dari larutan induk tiosulfat. Untuk menganalisis kadar glukosa dalam sampel, larutan reagen cooper ditambah dengan 1 sampel kemudian dididihkan pada suhu 95°C selama 30 menit. Kemudian ditambahkan H₂SO₄. Selanjutnya sampel dititrasi menggunakan larutan Na₂S₂O₃ dengan indikator amilum, titik TAT tercapai pada saat terjadi perubahan warna biru menjadi jernih. Setiap kadar glukosa sampel dilakukan secara duplo (Sudarmaji 1984).

Penentuan kadar etanol menggunakan GC

Untuk menganalisis kadar etanol, sampel cairan fermentasi disentrifuse dengan kecepatan 6000 rpm selama 30 menit untuk memisahkan supernatan dan pelet. Supernatan sampel diambil sebanyak 1µL dan diinjeksikan ke kolom kromatografi gas (6890 N, Agilent Technologies Inc, USA) dilengkapi kolom dengan spesifikasi HP- Innowax 19091 N - 213 ; 30m X 320µm X 0.5µm). Pengaturan temperatur kolom pada suhu 200°C dan gas pembawa menggunakan N₂ (40 /menit). Kecepatan laju alir gas antara lain H₂ 40 /menit dan O₂ 500 /menit. Tiap sampel dianalisis secara duplo.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan bahan baku

Persentase kandungan bahan yang terdapat pada umbi iles-iles berbeda dari singkong, dari hasil analisis didapatkan bahwa kandungan gula total umbi iles-iles cukup besar yaitu 73,43% sedangkan singkong 86,42%. Perbandingan kandungan bahan lain yang terdapat pada umbi iles-iles dan singkong pada Tabel 1.

Tabel 1. Perbandingan kandungan bahan yang terdapat pada umbi iles-iles dan singkong.

Kandungan	Persentase (%)		
	Iles-iles		Singkong
	Basah	Kering	
Selulosa	1,67*	8,54*	-
Hemiselulosa	10,5*	43,3*	-
Lignin	0,597*	5,85*	-
Sukrosa	1,35*	-	-
Air	82,82*	-	62,50
Gula total	-	73,43	86,42
Pati	-	71,25	83,47

*Hasil laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada.

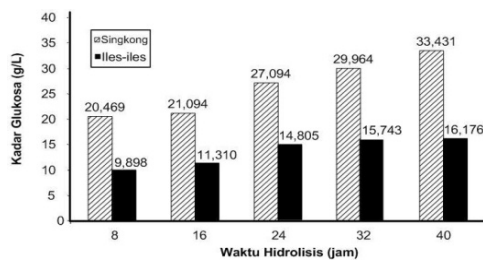
Dari Tabel 1 terlihat bahwa umbi iles-iles kering memiliki kandungan selulosa, hemiselulosa, lignin cukup tinggi, berturut-turut yaitu 8,54%, 43,3% dan 5,85%. Namun pada kondisi basah kadar selulosa, hemiselulosa dan lignin pada umbi iles-iles lebih rendah yaitu 1,67%, 10,5% dan 0,597%. Pati yang terkandung pada umbi iles-iles sebesar 71,25%, sedangkan pada singkong lebih besar yaitu mencapai 83,47%. Pati merupakan senyawa polisakarida yang terdiri atas amilosa dan amilopektin (Campbell *et al.* 2000). Kandungan pati pada umbi iles-iles cukup tinggi, maka umbi dapat dikonversi menjadi etanol dengan menggunakan enzim amilase yang akan memecah monomer-monomer monosakarida pada pati menjadi glukosa. Setelah itu digunakan yeast *S.* untuk memecah glukosa menjadi etanol.

Kadar Glukosa pada saat proses hidrolisis

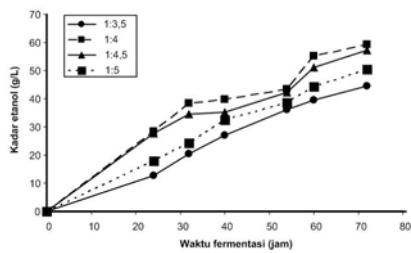
Secara umum produksi bioetanol yang berasal dari biomassa terdiri dari dua proses utama, yaitu hidrolisis dan fermentasi. Hidrolisis adalah suatu proses kimia yang menggunakan H₂O sebagai pemecah suatu persenyawaan (Kuswuri 2008). Reaksi antara air dan pati ini berlangsung sangat lambat sehingga diperlukan bantuan katalisator untuk memperbesar kereaktifan air. Dalam proses sering digunakan larutan asam, untuk mempercepat proses namun dalam percobaan ini proses dilakukan secara biologis dengan menggunakan enzim. Menurut Kolusheva dan Marinova (2007) hidrolisis enzim memiliki keunggulan dibandingkan hidrolisis menggunakan zat kimia. Hidrolisis menggunakan zat kimia memerlukan suhu tinggi (150-230°C), pH asam (1-2) dan tekanan tinggi (1-4). Hal ini berbeda pada hidrolisis secara enzimatik karena tidak memerlukan suhu yang tinggi, pH medium 6-8 dan tekanan normal. Enzim merupakan protein yang bersifat katalis, sehingga sering disebut biokatalis. Enzim memiliki kemampuan mengaktifkan senyawa lain secara spesifik dan dapat meningkatkan kecepatan reaksi kimia yang akan berlangsung lama apabila tidak menggunakan enzim (Sun dan Cheng 2002). Enzim yang digunakan dalam penelitian ini adalah enzim *α*-amilase dan *β*-glukoamilase. Enzim *α*-amilase berperan menghidrolisis ikatan *α*-1,4-glukosida 19 secara spesifik, enzim ini berkerja pada pH 5,7 dan suhu 95°C. Enzim amilase tidak dapat memecah ikatan pati secara sempurna sehingga selama proses liquifikasi akan dihasilkan dekstrin dengan rantai sepanjang 6-10 unit (Schoonees 2004).

Hasil liquifikasi kemudian diteruskan oleh β -glukoamilase yang dapat menghidrolisis ikatan α -1,4-glukosida dan α -1,6-glukosida dengan suhu 60°C dan pH 4,2. Penambahan β -glukoamilase dalam percobaan ini bertujuan untuk menghasilkan glukosa lebih banyak karena β -glukoamilase dapat memutus ikatan pada pati yang belum terputus oleh penambahan α -amilase dengan menghasilkan β -glukosa yang mempunyai konfigurasi berlawanan dengan hasil hidrolisis oleh α -amilase, sehingga glukosa yang dihasilkan akan bertambah banyak atau melimpah (Nurdianti 2007). Menurut Setiawan (2006) hidrolisis menggunakan enzim menghasilkan kandungan gula pereduksi yang lebih tinggi dibandingkan dengan hidrolisis asam.

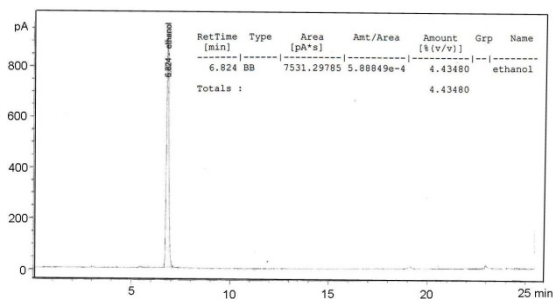
Konsentrasi gula reduksi selama proses hidrolisis dihitung menggunakan metode *Nelson-Somogy*. Proses dilakukan selama 40 jam dengan



Gambar 3. Kadar gula reduksi pada umbi iles-iles dan umbi singkong



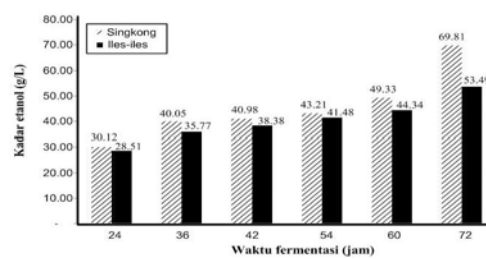
Gambar 5. Pengaruh konsentrasi substrat umbi iles-iles dan konsentrasi air terhadap kadar etanol, dengan konsentrasi yeast 10% (v/v) pH 5,5.



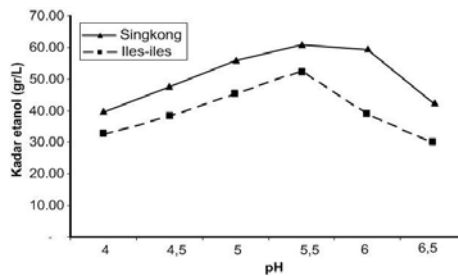
Gambar 6. Kromatogram GC hasil fermentasi umbi iles-iles selama 60 jam dengan pH 4,5.

suhu 60°C . Perbandingan kadar gula reduksi umbi singkong dan iles-iles pada Gambar 3.

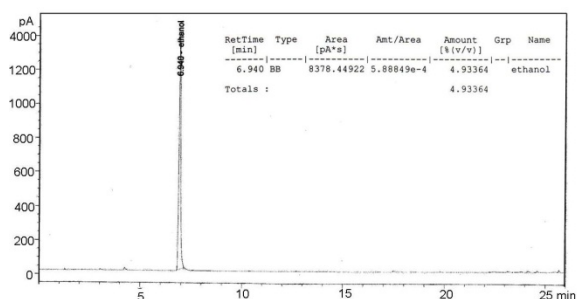
Hasil proses hidrolisis didapatkan bahwa singkong memiliki kandungan glukosa lebih tinggi dibandingkan umbi iles-iles. Pengukuran kadar glukosa dilakukan dengan metode *Nelson-Somogy*. Hidrolisis umbi iles-iles dan singkong dengan perbandingan bahan bak: air 1:4 menunjukkan bahwa kadar glukosa dipengaruhi oleh lamanya waktu, dimana kadar glukosa terbesar yang terbentuk pada waktu hidrolisis selama 40 jam yaitu sebesar 33,431 g/L untuk singkong dan 16,175 g/L untuk iles-iles. Hal ini terjadi karena kandungan pati pada singkong lebih tinggi dibanding umbi iles-iles yaitu sebesar 83,47%, sehingga glukosa yang terkonversi lebih banyak. Diharapkan semakin besar hasil hidrolisis pati menjadi glukosa, maka semakin besar pula etanol yang dihasilkan pada proses fermentasi.



Gambar 4. Kadar etanol pada umbi iles-iles dan umbi singkong.



Gambar 8. Pengaruh pH dalam produksi etanol



Gambar 7. Kromatogram GC hasil fermentasi umbi singkong selama 60 jam pH 4,5.

Suhu merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi proses hidrolisis *a-amilase*, maka dalam penelitian ini dilakukan variasi suhu dalam proses hidrolisis *a-amilase*. Pengaruh variasi suhu terhadap kadar glukosa yang dihasilkan pada Tabel 2. Dari Tabel dapat disimpulkan bahwa suhu optimum untuk proses kedua umbi yaitu 95°C, dimana didapatkan gula reduksi pada umbi iles-iles dan singkong berturut-turut sebesar 16.176 g/L dan 33.431 g/L. Hal ini sama seperti yang diungkapkan Kolusheva dan Marinova (2007) dimana penelitian yang dilakukan adalah dengan variasi suhu (30, 60, 90 dan 100 °C) dan didapatkan bahwa suhu optimum adalah 90 dan 100°C, dimana pada suhu tersebut proses hidrolisis berjalan lebih cepat sehingga kadar gula reduksi yang dihasilkan besar.

Tabel 2. Pengaruh variasi suhu pada proses hidrolisis terhadap kadar glukosa yang dihasilkan, dengan konsentrasi *a-amilase* 0.48 /kg, waktu 40 jam, perbandingan konsentrasi umbi dan air (1:4).

Bahan baku	Kadar Glukosa (g/L)				
	Suhu (°C)				
	90	95	100	105	110
Umbi iles-iles	14.57	16.176	16.041	15.221	13.245
Umbi singkong	29.145	33.431	30.451	28.451	27.219

Kadar etanol pada saat proses fermentasi

Setelah proses hidrolisis selanjutnya glukosa yang telah diperoleh dikonversi menjadi etanol melalui proses fermentasi. Prinsip dasar fermentasi adalah mengaktifkan kegiatan mikroba dengan tujuan mengubah sifat bahan baku agar dihasilkan suatu produk. Dalam penelitian ini proses fermentasi menggunakan *S. cerevisiae* karena organisme ini dapat menfermentasi glukosa, manosa, fruktosa dan galaktosa dalam kondisi anerob dan pH rendah. Selain itu *S. cerevisiae* tahan terhadap kadar alkohol yang tinggi kadar gula yang tinggi (Shen *et al.* 2008; Kartika *et al.* 1992). Proses fermentasi oleh *S. cerevisiae* dilakukan dalam kondisi anaerob, bila pada saat proses fermentasi ada udara yang masuk maka proses pembentukan etanol akan terhambat. Untuk itu pada tabung fermentor dibuat rapat dan diberikan selang kecil yang berfungsi mengeluarkan gas CO₂ yang terbentuk. Hal ini dimaksudkan agar di dalam tabung tidak terjadi peningkatan suhu karena *S. cerevisiae* aktif pada suhu 4-32°C (Chin *et al.* 2010). Etanol merupakan hasil fermentasi substrat umbi karena aktivitas *S.*

cerevisiae. Perbandingan kadar etanol dari hasil fermentasi umbi iles-iles dan singkong diperlihatkan pada Gambar 4.

Hasil analisis menunjukkan bahwa umbi singkong menghasilkan etanol lebih tinggi daripada umbi iles-iles. Fermentasi selama 72 jam menggunakan *S. cerevisiae* menghasilkan etanol tertinggi, untuk umbi iles-iles dan umbi singkong berturut-turut yaitu sebesar 53,49 g/L dan 69,81 g/L. Pembentukan etanol dipengaruhi oleh waktu, dimana semakin lama waktu fermentasi kadar etanol yang dihasilkan akan semakin besar. Pada jam ke-24 kadar etanol masing-masing umbi cenderung kecil yaitu 30,12 g/L untuk umbi singkong dan umbi iles-iles 28,51 g/L. Namun semakin panjang waktu fermentasi maka produksi etanol meningkat karena waktu yang digunakan untuk konversi glukosa oleh *S. cerevisiae* lebih panjang, sehingga menghasilkan kadar etanol yang semakin meningkat. Hal ini terlihat pada waktu fermentasi 54 jam, dimana etanol yang dihasilkan untuk umbi singkong dan umbi iles-iles berturut-turut 43,21 g/L dan 41,48 g/L.

Pengaruh konsentrasi substrat dan pH terhadap produksi etanol

Konsentrasi substrat sangat berpengaruh terhadap produksi etanol yang dihasilkan, maka untuk mengetahui pengaruh konsentrasi substrat umbi iles-iles terhadap produksi etanol yang dihasilkan maka dilakukan variasi penambahan air (1:3,5; 1:4; 1:4,5; 1:5). Kadar etanol yang dihasilkan dianalisis dengan metode kromatografi gas. Pengaruh variasi air dan bahan baku umbi iles-iles terhadap etanol pada Gambar 5. Dari hasil didapatkan bahwa kadar etanol terbesar diperoleh dari perbandingan bahan baku: air 1:4 yaitu dengan kadar etanol 59,36 g/L. Perbandingan bahan baku dan air yang tepat akan membuat reaksi hidrolisis berjalan cepat, karena bila air terlalu sedikit maka jalannya reaksi. Menurut Nowak (2000) pada konsentrasi substrat yang terlalu tinggi (air sedikit) maka jumlah oksigen terlarut sedikit padahal oksigen dibutuhkan oleh *S. cerevisiae* untuk menjaga kehidupan selama proses fermentasi.

Kadar etanol hasil fermentasi dianalisis menggunakan Kromatografi Gas (GC). Gambar 6 memperlihatkan profil kromatogram etanol hasil fermentasi umbi iles-iles selama 60 jam. Hasil analisis umbi iles-iles dengan GC memperlihatkan bahwa senyawa etanol muncul pada waktu retensi 6,929 menit, sedangkan pada

umbi singkong pada waktu retensi 6,940 menit. Kromatogram hasil analisis GC pada umbi singkong pada Gambar 7.

Dari hasil analisis menggunakan GC didapatkan bahwa kadar etanol umbi iles-iles dengan konsentrasi glukosa awal fermentasi 10%, terbentuk etanol sebesar 44,4 g/L sedangkan singkong 49,3 g/L. Tinggi rendahnya etanol ditentukan oleh aktifitas yeast dengan substrat gula yang terfermentasi, menurut Fessenden dan Fessenden (1997), dari satu molekul glukosa akan terbentuk dua molekul etanol dan karbondioksida. Konsentrasi glukosa yang terlalu tinggi akan menghambat pertumbuhan yeast terhambat sehingga hasil kadar etanol sedikit. Etanol terbentuk karena adanya aktivitas mikroorganisme dalam perombakan substrat kompleks. Pertumbuhan yeast tersebut sangat dipengaruhi oleh pH, karena bila pH tidak sesuai yeast tidak dapat tumbuh dengan maksimum, menyebabkan kematian menurunkan hasil etanol. Pengaruh pH terhadap kadar etanol pada Gambar 8.

Produksi bioetanol dipengaruhi oleh kondisi asam-basa. Menurut Liu dan Shen (2008) kondisi asam-basa yang optimal mampu meningkatkan produksi bioetanol dalam proses fermentasi karena kondisi asam-basa berkaitan dengan interaksi enzim dan bahan baku. Derajat keasaman akan mempengaruhi kecepatan fermentasi. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian dimana proses fermentasi dengan bahan baku singkong pada pH 5,5 menghasilkan bioetanol tertinggi yaitu 60.85 g/L. sedangkan pH 4 menghasilkan konsentrasi etanol paling rendah yaitu 39.57g/L. Untuk umbi iles-iles kadar maksimal etanol dihasilkan pada pH 5,5 dimana diperoleh kadar etanol sebesar 52.61 g/L Hasil yang diperoleh membuktikan pada kondisi asam kerja enzim *S.* meningkatkan. Hal ini sesuai dengan penelian yang dilakukan oleh Wilkins *et al.* (2007) dimana hasil etanol akan meningkat pada pH 5 dan 5,5 dan akan menurun pada pH 4, 4,5. Kondisi optimum adalah dari pH 5 sampai 5,2. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Liu dan Shen (2008), bahwa pH asam merupakan salah satu parameter penting yang dapat meningkatkan produksi etanol dalam proses fermentasi dengan enzim *S.*

Uji efisiensi bahan bakar bioetanol

Bioetanol yang diperoleh, digunakan sebagai bahan bakar kompor batik. Kompor batik dibuat oleh peneliti dari bahan *stainlesssteel* dengan tangki berkapasitas 500 mL. Uji coba ini

bertujuan untuk mengetahui efisiensi penggunaan bioetanol dalam proses melelehkan lilin/malam. Dalam uji coba ini digunakan beberapa variasi kadar bioetanol sebanyak 100 mL bioetanol untuk melelehkan 20 g lilin.

Tabel 3. Variasi adar ioetanol terhadap penggunaanya pada proses penglelehan malam/lilin.

Parameter	Kadar bahan bakar bioetanol (%)					
	40	50	60	70	80	90
Waktu untuk mendidih (menit)	22	22	19	18	17	11
Waktu yang diperlukan hingga habis menguap (jam)	2,7	2,5	2,4	1,65	1,6	1,4
Kondisi api saat penguapan	merah	merah	biru	biru	biru	biru
Kondisi wadah lilin	jelaga	jelaga	-	-	-	-

Dari tabel dapat disimpulkan bahwa bahan bakar bioetanol berkadar 90% memerlukan waktu paling cepat dalam mendidihkan lilin dengan waktu penguapannya sebesar 1,4 jam untuk tiap 100mL. Hal ini disebabkan kadar bahan bioetanol yang tinggi (bahan bakar:air = 90:10) lebih mudah menguap. Namun hal ini berbeda pada bioetanol berkadar 40% dan 50%, kondisi api merah dan berjelaga meskipun waktu yang diperlukan bahan bakar bioetanol hingga habis menguap lebih lama dibandingkan kadar lainnya. Hal ini disebabkan kadar air cukup tinggi sehingga memberikan keuntungan pada proses penguapan lama dan pemakaian yang lebih lama. Namun kadar air yang tinggi juga menghasilkan karbon dan jelaga selama pembakaran. Semakin besar kadar air pada bahan bakar bioetanol akan menghasilkan laju pembakaran yang semakin kecil. Dari efisiensi kadar bioetanol 90% memiliki sifat volatil yang sangat tinggi sehingga kurang tepat digunakan dalam pembakaran, karena cenderung boros dan cepat habis. Sedangkan bahan bakar bioetanol berkadar 40-50% memiliki waktu pembakaran yang lebih lama namun menghasilkan api merah dan berjelaga. Hal ini menghasilkan energi yang lebih kecil dibandingkan api biru. Kondisi api biru memiliki energi yang lebih besar karena pembakaran terfokus pada pelelehan lilin bukan untuk mengubah bahan bakar bioetanol menjadi karbon/jelaga. Berdasarkan efisiensi bahan bakar bioetanol berkadar 60% lebih unggul dari bahan bakar bioetanol berkadar lain. Kadar air yang tidak terlalu tinggi menyebabkan pembakaran menghasilkan api biru dan bersih

dari jelaga, selain itu pembakaran juga lebih lama dibandingkan kadar lainnya.

KESIMPULAN

Dengan waktu hidrolisis selama 40 jam umbi iles-iles (*Amorphophallus muelleri*) memiliki kandungan glukosa sebesar 16,175 g/L dan singkong 33,431 g/L. adar etanol dengan waktu fermentasi 60 jam pada umbi iles-iles sebesar 44,4 g/L, singkong 49,3 g/L. Tinggi rendahnya suhu akan mempengaruhi kecepatan hidrolisis α -amilase dalam mengkonversi glukosa, dari hasil penelitian didapatkan bahwa suhu optimum untuk hidrolisis adalah 95°C dimana kadar glukosa yang didapatkan pada umbi iles-iles dan singkong masing-masing 16.176 g/L dan 33.431 g/L. Konsentrasi substrat dan derajat keasaman akan mempengaruhi kecepatan fermentasi, dalam penelitian ini kadar etanol optimum didapatkan pada perbandingan 1:4 dan pH 5,5. Dari hasil maka umbi iles-iles berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan baku untuk produksi bioetanol.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada DP2M DIKTI atas bantuan Dana Hibah Penelitian tahun anggaran 2010 (Nomor Kontrak 089/SP2H/PP/DP2M/III/2010, tertanggal 1 Maret 2010). Penulis mengucapkan terimakasih kepada Agnes H, Agus Nur Arifin, Hesthi Chandra P, Diani Mentari, Ina Istiqomah dalam pelaksanaan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

Association of Official Analysis Chemis [AOAC]. 1984. Official methods of analysis of the AOAC. AOAC International. Gaithersburg, United States.

Campbell NA, Reece LG, Mitchell G. 2000. Biologi. Edisi kelima. Erlangga. Jakarta.

Cardona A, Sanchez OJ. 2007. Fuel ethanol production: process design trends and integration opportunities. *Biores Technol* 98 (12): 2415-57

Chin KL, H'ng PS, Wong LJ, Tey BT, Paridah MT. 2010. Optimization study of ethanolic fermentation from oil palm trunk, rubberwood and mixed hardwood hydrolysates using *Saccharomyces cerevisiae*. *Biores Technol* 101: 3287-3291.

Department of Agriculture. 2009. <http://www.deptan.go.id>

Dombek KM, Ingram LO. 1987. Ethanol production during batch fermentation with *Saccharomyces cerevisiae*: changes in lycolytic enzyme and internal pH. *Appl Environ Microbiol* 53 (6):1286-1291.

Fessenden RJ, Fessenden JS. 1997. Dasar-dasar kimia organik. Binarupa Aksara. Jakarta.

Gozan M, Samsuri M, Fani SH, Bambang P, Nasikin M. 2007. Sakarifikasi dan fermentasi bagas menjadi ethanol menggunakan enzim selulase dan enzim sellobiase. *Jurnal Teknologi* 3: 1-6.

Imelda M, Wulansari A, Poerba YS. 2008. Regenerasi tunas dari kultur tangkai daun iles-iles (*Amorphophallus muelleri* Blume). *Biodiversitas* 9 (3): 173-176.

Jansen PCM, van der Wilk C, Hettterscheid WLA. 1996. *Amorphophallus* Blume ex Decaisne. In: Flach M, Rumawas F (eds) Plant Resources of South-East Asia No. 9. Plants yielding non-seed carbohydrate. Prosea. Bogor.

Kartika B, Guritno AD, Purwadi D, Ismoyowati D. 1992. Petunjuk evaluasi produk industri hasil pertanian. PAU Pangan dan Gizi UGM. Yogyakarta.

Kolusheva T, Marinova A. 2007. A study of the optimal conditions for starch hydrolysis through thermostable α -amilase. *J Univ Chem Technol Metallurgy* 42 (1): 93-96.

Kurniawan A, Wibawa IPA, Adjie B. 2010. Species diversity of *Amorphophallus* (Araceae) in Bali and Lombok with attention to genetic study in *A. paeoniifolius* (Dennst.) Nicolson. *Biodiversitas* 12 (1): 7-11 [in press].

Kusmiyati. 2009. Pemanfaatan umbi iles-iles sebagai bahan baku bioetanol untuk bahan bakar alternatif di pedesaan. [Laporan Penelitian]. LPPM UMS. Surakarta.

Kusmiyati, Haryoto 2007. Pemanfaatan kompor bioetanol sebagai solusi mengatasi kelangkaan bahan bakar minyak pada pengrajin batik tradisional di Kampung Batik Laweyan Surakarta. [Laporan Penelitian]. Direktorat Penelitian dan Pengabdian Masyarakat, DIKTI, Departemen Pendidikan Nasional. Jakarta.

Kuswuri R. 2008. Sugar technology and research; proses hidrolisis dan aplikasinya di industri. <http://www.risvank.com/?tag=hidrolisis> [April, 2010]

Liu R, Shen F. 2007. Impacts of main factors on bioethanol fermentation from stalk juice of sweet sorghum by immobilizes *Saccharomyces cerevisiae* (CICC 1308). *Biores Technol* 99: 847-854.

Milan JM. 2005. Bioethanol production status and prospects. *J Sci Food Agric* 10: 42-56.

Osunsami AT, Akingbala JO, Oguntimein GB. 1988. Effect of storage on starch content and modification of cassava starch. Faculty of Technology, University of Ibadan, Department of Food Technology. Ibadan, Nigeria.

Prihandana R, Noerwijari K, Adinurani G. P, Setiadi S dan Hendroko R. 2007. Bioetanol ubi kayu bahan bakar masa depan. AgroMedia Pustaka. Jakarta.

Schoonees BM. 2004. Starch hydrolysis using (α -amylase): a laboratory evaluation using response surface methodology. Proceeding of 79th Annual Congress of the South African Sugar Technologists' Association. Sugar Milling Research Institute, University of KwaZulu-Natal, Durban, 4041, South Africa.

Shen Y, Zhang Y, Ma T, Bao X, Du F, Zhuang G, Qu Y. 2008. Simultaneous saccharification and fermentation of acid-pretreatment corn cob with recombinant *Saccharomyces cerevisiae* expressing b-glucosidase. *Biores Technol* 99: 5099-5103.

Sudarmaji S, Haryono B, Suhardi. 1984. Prosedur untuk bahan makanan pertanian. Edisi ke 3. Liberty. Yogyakarta.

Sumarwoto, Widodo W. 2008. Pertumbuhan dan hasil elephant food yam (*Amorphophallus muelleri* Blume) periode tumbuh pertama pada berbagai dosis pupuk N dan K. *Agrivita* Vol. 30

Sumarwoto. 2005. Iles-iles (*Amorphophallus muelleri* Blume); deskripsi dan sifat-sifat lainnya. *Biodiversitas* 6 (3): 185-190.

Sun Y, Cheng J. 2002. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production a review. *Biores Technol* 83 (1): 1-11.

Widyotomo S, Purwadaria HK, Syarief AM, Mulato S. 2000. Perubahan distribusi ukuran partikel tepung iles-iles

hasil pengolahan dengan metode penggilingan bertingkat. *Agritech* 24 (2): 82-91.

Wilkins MR, Widmer W, Grohmann K. 2007. Simultaneous saccharification and fermentation of citrus peel waste by *Saccharomyces cerevisiae* to produce ethanol. *Process Biochem* 42: 1614-1619