

**PEMBUATAN ETANOL DARI TEPUNG UMBI GANYONG (*Canna Edulis* Kerr.)
OLEH *Saccharomyces Cerevisiae* DENGAN PENAMBAHAN MIKROALGA *Spirulina* Sp.**

**ETHANOL PRODUCTION FROM TUBER GANYONG (*Canna Edulis* Kerr.)
BY *Saccharomyces cerevisiae* WITH THE ADDITION OF *Spirulina* Sp.**

I Putu Sukanadi, Rudi Kartika, Noor Hindryawati

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman

ABSTRACT

This study demonstrates the potential of starch tuber ganyong (*Canna edulis* Kerr.) as a substance for making ethanol by *Saccharomyces cerevisiae* with microalgae addition of *Spirulina* sp. as a source of nutrients in the fermentation process of ethanol has been carried out. The study also aims to determine the amount of nutrient concentration and fermentation time was used to generate the optimum ethanol content. Hydrolysis process by enzymatic is done through a liquification phase with α -amylase and saccharification phase with gluco-amylase. Furthermore the process of fermentation stage with the variation of the time (132 hours, 156 hours, 180 hours and 204 hours) using the yeast *Saccharomyces cerevisiae* with the addition of *Spirulina* sp. as a nutrient in the variation of *Spirulina* sp. concentrations (0,6 % (w/v), 1,2 % (w/v) and 1,8 % (w/v)). The result showed the sugar reducing after of hydrolysis was obtained with amount of 0,527 %, increased from the initial state with amount of 0,351 %. The highest ethanol content be found on the increase nutrient with amount of 1,2 % (w/v) by is time of fermentation to 180 hours.

Keywords: *Ethanol, Fermentation, Tuber Ganyong (Canna edulis Kerr.), Hydrolysis, Spirulina sp.*

PENDAHULUAN

Saat ini jumlah penduduk dunia terutama Indonesia dari tahun ketahun semakin meningkat. Hal ini menyebabkan peningkatan jumlah pembangunan dan kendaraan, yang dapat berdampak langsung terhadap ketersediaan bahan bakar. Sehingga dalam mengatasi masalah tersebut, diperlukan upaya untuk mencari sumber-sumber energi alternatif. Salah satunya dengan memanfaatkan biomassa yang dihasilkan dari aktivitas pertanian dalam jumlah besar. Saat ini pemanfaatan biomassa cenderung digunakan sebagai bioetanol.

Bioetanol dapat dibuat dari bahan yang mengandung gula sederhana, pati, maupun bahan berserat melalui proses fermentasi. Masing-masing bahan berbeda cara pengolahannya untuk bisa dijadikan bioetanol. Menurut Retno dan Nuri (2011), produksi bioetanol dengan menggunakan bahan berpati harus diawali dengan proses pemecahan pati menjadi gula sederhana atau glukosa melalui metode hidrolisis asam atau enzimatis.

Ganyong merupakan jenis tanaman umbi-umbian. Tanaman ini dimasukkan ke dalam jenis umbi-umbian karena orang bertanam ganyong biasanya untuk diambil umbinya yang kaya akan karbohidrat. Umbi pada ganyong berupa rhizoma,

dimana merupakan batang yang tinggal di dalam tanah [2]. Penelitian yang dilakukan terhadap umbi ganyong biasanya berhubungan dengan pemanfaatan pati dan tepung ganyong sebagai bahan pangan seperti penelitian yang dilakukan oleh Pangesthi (2009), sedangkan sebagai bahan pembuatan bioetanol belum banyak diteliti.

Menurut Kabinawa (2006), salah satu penghasil nitrogen terbesar adalah alga. *Spirulina* sp. adalah salah satu jenis alga yang memiliki beberapa kandungan nutrisi yang penting, seperti protein 60-70 %, karbohidrat 15-35 %, lemak 6-8 %, mineral 7-13 %, serat 8-10 % dan kadar air 3 %.

Berdasarkan uraian di atas, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang pembuatan etanol dengan mengkombinasikan tepung umbi ganyong yang telah dihidrolisis dengan *Spirulina* sp. sebagai sumber nutrisi, dengan tujuan untuk mengetahui kadar glukosa yang dihasilkan dari proses hidrolisis menggunakan alfa-amilase dan gluco-amilase, mengetahui konsentrasi *Spirulina* sp. yang ditambahkan dan lama fermentasi yang diperlukan untuk menghasilkan kadar etanol optimum.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain neraca analitik, *hot plate*, spatula, tiang statif, alat kaca, rangkaian alat destilasi, *auto clave*, termometer, klem, oven, lemari pendingin, blender, parutan kelapa listrik, inkubator, panci, pisau, rotary evaporator dan piknometer. Sedangkan alat instrument yang digunakan adalah *Gas chromatography* (GC) Tipe 17A 2010 Merek Shimadzu dan Spektrofotometer-Vis 7220 G Merek Rayleigh.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain, umbi ganyong (*Canna edulis* Kerr.), mikroalga *Spirulina* sp., alfa-amilase, glukosa-amilase, kalium hidrogen pospat (K_2HPO_4), natrium nitrat ($NaNO_3$), magnesium sulfat ($MgSO_4$), kalium sulfat (K_2SO_4), natrium klorida ($NaCl$), kalsium klorida ($CaCl_2$), besi (II) sulfat ($FeSO_4$), asam etilen diamin tetra asetat (EDTA), asam sulfat (H_2SO_4) pekat, larutan HCl 0,1 N, larutan NaOH 0,1 N, natrium karbonat anhidrat (Na_2CO_3), natrium kalium tartrat ($KNaC_4H_4O_6$), natrium bikarbonat ($NaHCO_3$), Natrium sulfat anhidrat (Na_2SO_4), tembaga (II) sulfat ($CuSO_4$), pereaksi arsenomolibdat, glukosa anhidrat, akuades, *Saccharomyces cerevisiae*, *Potato Dextrose Agar* (PDA), aluminium foil, pH universal, kertas saring, tisu dan etanol 95%.

Prosedur Penelitian

Pembiakan Khamir *Saccharomyces cerevisiae*

Pembuatan Media Agar

Sebanyak 9,75 g *Potato dextrose agar* (PDA) dilarutkan ke dalam 250 mL aquades. Campuran dihomogenkan dengan pemanasan dan diaduk hingga larut. Kemudian disterilkan dengan menggunakan *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121 °C. Kemudian didinginkan dalam tabung reaksi sebanyak 15 mL pada suhu kamar dan disimpan di lemari pendingin sampai diperlukan [1].

Regenerasi Khamir

Saccharomyces cereviceae induk dibiakkan pada media agar dalam tabung reaksi yang telah disterilkan, selama kurang lebih 24 jam pada suhu 30 °C [7].

Persiapan Sampel

Sampel umbi ganyong dicuci, dibersihkan kulitnya dan diparut menggunakan parutan kelapa listrik. Kemudian dijemur pada panas matahari selama ± 1 hari dan dioven pada suhu 105 °C sampai

kering. Selanjutnya sampel umbi ganyong yang telah kering dihaluskan menggunakan blender.

Proses Hidrolisis

Proses Liquifikasi

Umbi ganyong yang telah dihaluskan, sebanyak 1600 g dilarutkan ke dalam 5600 mL akuades dan diatur pH campuran antara 6-6,5. Kemudian ditambahkan alfa-amilase (1478,12 unit/mL) dengan takaran 1,0 mL/kg pati kering dan diaduk pada suhu 80-90 °C selama 1 jam. Selanjutnya hasil liquifikasi didinginkan hingga suhu ± 55 °C [3].

Proses Sakarifikasi

Sampel hasil proses liquifikasi kembali diatur pH campuran antara 4-5 dan ditambahkan glukosa-amilase (986 unit/mL) dengan takaran 1,2 ml/kg pati kering. Kemudian diaduk pada suhu 50-60 °C selama 1 jam sampai tidak menghasilkan warna biru pada uji iodine. Selanjutnya didinginkan hingga mencapai suhu ± 34 °C [3].

Fermentasi Hasil Sakarifikasi oleh *Saccharomyces cerevisiae*

Sampel hasil proses sakarifikasi dimasukan ke dalam 16 wadah fermentasi yang sudah disterilkan. Kemudian ditambahkan mikroalga *Spirulina* sp. yang telah dikultivasi menggunakan media Zarrouk [8] dan dikeringkan, pada wadah sebanyak 0.6 % (b/v), 1,2 % (b/v) dan 1,8 % (b/v) sambil diaduk. Selanjutnya ditambahkan *Saccharomyces cereviceae* sebanyak 2 ose pada setiap wadah fermentasi dan menutup rapat wadah fermentasi menggunakan kapas serta aluminium foil. Fermentasi dilakukan selama 132 jam, 156 jam, 180 jam dan 204 jam. Dijaga suhu maksimum 35 °C dengan pH optimum 4-6.

Proses Pemurnian

Proses Evaporasi

Sampel hasil fermentasi yang diperoleh, disaring dan dimasukkan ke dalam labu. Kemudian dipasang labu tersebut pada alat evaporasi yang telah disediakan. Diatur suhunya selama 2 jam sebesar 60 °C dengan tekanan 175 mbar. Hasil yang diperoleh dilanjutkan ke tahap destilasi.

Proses Destilasi

Sampel hasil evaporasi yang diperoleh dimasukkan ke dalam labu alas bulat pada alat destilasi yang telah dirancang dan ditambahkan 10 % (b/v) silika gel. Selanjutnya dipanaskan dan diatur suhunya sebesar 78 °C selama 2 jam. Hasil destilasi yang diperoleh dianalisis kadar etanolnya.

Analisis Kadar Etanol

Metode Berat Jenis

Piknometer dibersihkan secara hati-hati dengan menggunakan aseton, kemudian dikeringkan dan ditimbang. Akuades didinginkan sampai di bawah suhu percobaan ($\pm 15\text{ }^{\circ}\text{C}$). Piknometer diisi dengan akuades secara hati-hati hingga penuh dibiarkan hingga mencapai suhu percobaan ($20\text{ }^{\circ}\text{C}$). Piknometer yang berisi akuades segera ditimbang dan dicatat beratnya [4].

Metode Kromatografi Gas

Sampel sebanyak $2\text{ }\mu\text{L}$ diinjek oleh alat kromatografi gas pada kondisi kolom: RTX-wax; detektor: FID 1; suhu: kolom $45\text{ }^{\circ}\text{C}$, detektor $200\text{ }^{\circ}\text{C}$ dan injektor $145\text{ }^{\circ}\text{C}$ dengan tekanan 70 kPa ; fase gerak: gas helium; fase diam kolom RTX-wax (fused silica). Pengukuran dilakukan di Laboratorium Biokimia FMIPA Universitas Mulawarman.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengukuran Kadar Gula Pereduksi dengan

Metode Nelson-Somogyi

Pengukuran kadar gula pereduksi pada tepung umbi ganyong dengan menggunakan metode Nelson-Somogyi pada sampel sebelum hidrolisis, setelah proses likuifikasi dan setelah sakarifikasi didapatkan hasil seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil pengukuran gula pereduksi dengan metode Nelson-Somogyi

Tahapan Sampel	Volume sampel (ml)	Faktor pengenceran	Hasil pengukuran (ppm)	Hasil gula pereduksi (ppm)	Konversi ke satuan %
Sebelum hidrolisis	1	2000	175,45	350.900	35,090
Setelah likuifikasi	1	2000	238,33	476.660	47,666
Setelah sakarifikasi	1	2000	263,71	527.420	52,742

Berdasarkan Tabel 1, pada sampel umbi ganyong sebelum hidrolisis dihasilkan gula pereduksi sebesar $35,090\%$, disaat proses likuifikasi meningkat menjadi $47,666\%$ dan pada proses sakarifikasi meningkat menjadi $52,742\%$. Peningkatan gula pereduksi pada akhir hidrolisis dihasilkan sekitar $17,652\%$, yang diperoleh dari proses hidrolisis amilosa dan amilopektin. Pada umumnya kandungan umbi ganyong lebih didominasi oleh sukrosa dan mannosa seperti pada penelitian yang dilakukan oleh Kusbandari (2015) yang meneliti tentang kandungan pati umbi ganyong.

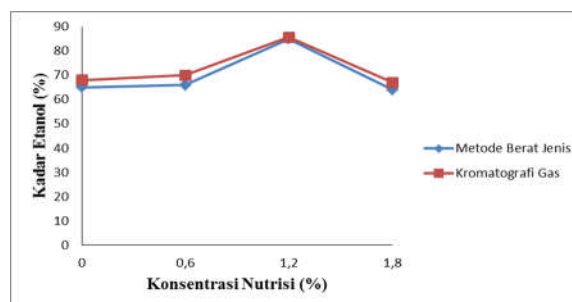
Pengukuran Kadar Etanol

Penentuan kadar etanol yang dihasilkan dari proses fermentasi tepung umbi ganyong (*Canna edulis* Kerr.) dilakukan dengan menggunakan metode analisis berat jenis dan analisis kromatografi gas di Laboratorium Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Mulawarman, sehingga diperoleh hasil seperti pada Tabel 2.

Tabel 2. Kadar etanol yang diperoleh dari analisis menggunakan metode berat jenis dan kromatografi gas

Waktu fermentasi (jam)	Konsentrasi <i>Spirulina</i> sp. (%)	Kadar etanol hasil pengukuran metode berat jenis (%)	Kadar etanol hasil pengukuran kromatografi gas (%)
132	Blanko	31	30,746
	0,6	42	49,135
	1,2	51	52,954
	1,8	41	41,266
156	Blanko	46	43,902
	0,6	64	66,495
	1,2	72	70,311
	1,8	57	60,446
180	Blanko	65	67,958
	0,6	66	69,926
	1,2	85	85,668
	1,8	64	67,012
204	Blanko	58	59,702
	0,6	56	61,559
	1,2	81	85,043
	1,8	54	53,722

Berdasarkan Tabel 2, rentang kadar etanol yang dihasilkan tidak signifikan, hal ini dipengaruhi oleh lama waktu fermentasi dan jumlah nutrisi yang terkandung dalam media fermentasi. Pada hasil pengukuran kadar etanol dari dua metode tersebut didapatkan titik optimum penambahan *Spirulina* sp. setiap waktu fermentasi sebanyak $1,2\%$ dan waktu optimum yang dibutuhkan untuk membentuk kadar etanol optimum pada waktu fermentasi ke 180 jam. Dari titik optimum tersebut didapat grafik hubungan kadar etanol dengan konsentrasi nutrisi pada Gambar 1.

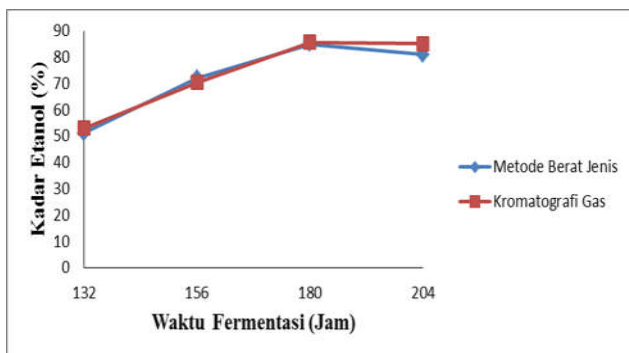


Gambar 1. Grafik hubungan kadar etanol dengan konsentrasi nutrisi pada waktu fermentasi ke 180 jam.

Berdasarkan Gambar 1, kadar etanol yang diperoleh pada blanko lebih kecil dari penambahan *Spirulina* sp. 0,6 % dan 1,2 %, dikarenakan nutrisi dari sampel tersebut belum terurai. Pada penambahan *Spirulina* sp. 0,6 % kadar etanol yang diperoleh lebih tinggi dari blanko, dikarenakan *Saccharomyces cerevisiae* menggunakan nutrisi yang ditambahkan. Namun pada penambahan *Spirulina* sp. 0,6 % kadar etanol yang diperoleh hampir sama dengan blanko, dikarenakan pada waktu fermentasi ke 180 jam pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* sangat baik pada blanko, sedangkan pada penambahan *Spirulina* sp. 0,6 % sudah mulai kehabisan nutrisi.

Penambahan *Spirulina* sp. 1,2 % kadar etanol yang diperoleh lebih tinggi dari sampel lain, dikarenakan keadaan media fermentasi telah baik untuk pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae*. Sedangkan pada penambahan *Spirulina* sp. 1,8 % kadar etanol yang dihasilkan lebih kecil dari blanko, penambahan *Spirulina* sp. 0,6 % dan 1,2 %, dikarenakan pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* menjadi terhambat akibat jumlah nutrisi yang ditambahkan berlebih. Umumnya protein dalam nutrisi tersebut digunakan sebagai sumber nitrogen untuk pembentukan asam nukleat dan asam-asam amino pada pertumbuhan sel *Saccharomyces cerevisiae*, karena tingginya protein yang ditambahkan dalam proses fermentasi tersebut, asam amino yang terbentuk akan semakin banyak. Asam-asam amino yang telah dibebaskan, sekitar 75 % digunakan kembali dan nitrogen yang berlebihan akan membentuk urea dan amonia. Amonia yang dihasilkan dari penguraian asam-asam amino tersebut dapat menghambat sintesis metabolit sekunder [6].

Umumnya fermentasi etanol juga dipengaruhi oleh lamanya waktu fermentasi, sehingga pada penelitian ini didapat grafik seperti pada Gambar 2.



Gambar 2. Grafik hubungan kadar etanol dengan waktu fermentasi pada penambahan nutrisi 1,2 %.

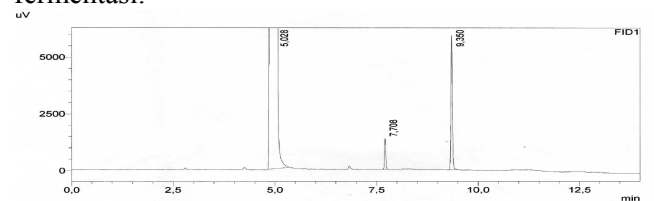
Berdasarkan Gambar 2, peningkatan kadar etanol terjadi dari waktu fermentasi ke 132 jam

sampai waktu fermentasi ke 180 jam dan menurun pada waktu fermentasi ke 204 jam. Penurunan kadar etanol pada waktu fermentasi ke 204 jam dapat terjadi karena etanol yang terbentuk telah menjadi racun bagi pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* dan jumlah karbohidrat pada sampel telah habis terurai menjadi etanol serta sebagian etanol yang dihasilkan telah teroksidasi menjadi asam karboksilat yang dapat menyebabkan kematian pada *Saccharomyces cerevisiae*. Sehingga dapat dinyatakan bahwa semakin lama waktu fermentasi etanol berlangsung, semakin berkurang jumlah etanol yang terbentuk akibat berkurangnya nutrisi, substrat serta adanya akumulasi produk etanol yang dapat mengganggu pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* [2].

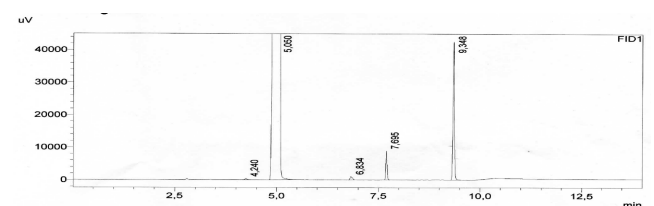
Dibandingkan dengan baku mutu bioetanol terdenaturasi untuk gasohol pada SNI 7390:2012, kadar etanol yang dihasilkan pada penelitian ini belum dapat memenuhi baku mutu. Sehingga perlu dilakukan proses pemurnian lebih lanjut dengan menggunakan metode destilasi bertingkat untuk menghasilkan kadar etanol yang lebih tinggi. Namun kadar etanol yang diperoleh pada penelitian ini lebih besar dari hasil penelitian yang dilakukan oleh (Putri, 2008) tentang konversi pati ganyong (*Canna edulis* Kerr.) menjadi bioetanol melalui proses hidrolisis asam dan fermentasi.

Kromatogram hasil Pengukuran Kromatografi Gas

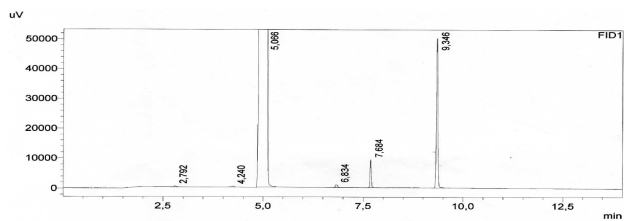
Kromatogram hasil pengukuran kromatografi gas pada Gambar 3 sampai 6 untuk setiap titik optimum penambahan *Spirulina* sp. dengan konsentrasi 1,2 % pada masing-masing waktu fermentasi.



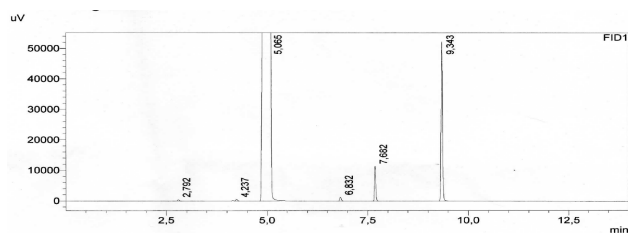
Gambar 3. Kromatogram pada waktu fermentasi ke 132 jam dengan penambahan nutrisi 1,2 %.



Gambar 4. Kromatogram pada waktu fermentasi ke 156 jam dengan penambahan nutrisi 1,2 %.



Gambar 5. Kromatogram pada waktu fermentasi ke 180 jam dengan penambahan nutrisi 1,2 %.



Gambar 6. Kromatogram pada waktu fermentasi ke 204 jam dengan penambahan nutrisi 1,2 %.

Gambar 3 sampai 6 di atas, dapat dinyatakan semakin lama proses fermentasi yang dilakukan semakin banyak hasil samping yang dihasilkan. Puncak-puncak kromatogram yang terbaca selain etanol juga terdapat air, asam karboksilat dan turunan alkohol (seperti metanol, etanol, 1-propanol, etil asetat dan isobutanol) yang merupakan hasil samping dari fermentasi etanol. Senyawa-senyawa tersebut pada umumnya terbentuk karena semakin lama waktu fermentasi.[5].

KESIMPULAN

1. Gula pereduksi yang dihasilkan pada tepung umbi ganyong dari hasil akhir proses hidrolis sebesar 52,742 %.
2. Untuk mendapatkan kadar optimum etanol sebesar 85,668 %, dilakukan penambahan *Spirulina sp.* sebanyak 1,2 %.
3. Untuk mendapatkan kadar optimum etanol sebesar 85,668 %, dilakukan proses fermentasi selama 180 jam.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada seluruh staf dan dosen jurusan kimia FMIPA Universitas Mulawarman, Laboratorium Lingkungan, Laboratorium Biokimia dan Beasiswa Bidikmisi.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Aslamiah, S., Kartika, R. dan Yusuf, B. 2016. *Pembuatan Etanol Dari Kulit Pisang Mahuli (Musa Paradisiaca. Var Sapientum)*. Jurusan Kimia Fakultas MIPA. Universitas Mulawarman.
- [2] Endah, R. D., Sperisa, D., Adrian, N. dan Pariyanto. 2007. *Pengaruh Kondisi Fermentasi Terhadap Yield Etanol Pada Pembuatan Bioetanol Dari Pati Garut*. Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- [3] Lakthifah, N. H. 2009. *Pembuatan Bioetanol dari Sirup Glukosa Umbi Ganyong (Canna endulis Kerr.) Menggunakan Khamir Schizosaccharomyces pombe*. Skripsi. Departemen Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- [4] Pardosi, J. L. 2009. *Perbandingan Metode Kromatografi Gas Dan Berat Jenis Pada Penetapan Kadar Etanol*. Skripsi. Departemen Kimia. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatra Utara. Medan.
- [5] Putri, L. S. E. Dan Sukandar, D. 2008. *Konversi Pati Ganyong (Canna edulis Ker.) Menjadi Bioetanol melalui Hidrolisis Asam dan Fermentasi*. Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Ciputat-Tangerang.
- [6] Prabawa, A. A., Utomo, E. H. Dan Abdullah. 2012. *Produksi Enzim Invertase Oleh Saccharomyces cerevisiae Menggunakan Subtrat Gula Dengan Sistem Fermentasi Cair*. Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik UNDIP. Semarang.
- [7] Putra, I. W. A. 2016. *Pembuatan Bioetanol Dari Biji Jewawut (Setaria italica) dengan Proses Hidrolisis Enzimatis dan Fermentasi Oleh Saccharomyces cerevisiae*. Skripsi. Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Mulawarman. Samarinda.
- [8] Rosa, A. P. C. D., Santos, T. D., Radmann, E. M., Santana, F. B. and Costa, J. A. V. 2015. *Production of Spirulina in Semicontinuous Cultivation Using Medium Recycle*. Collage of Chemistry and food Engineering, Federal University of Rio. Brazil.