



Pemanfaatan Ampas Tebu Menggunakan Enzim Selulase dari *Aspergillus niger* untuk Pembuatan Bioetanol-Mini Review

Nia Ramadhanti, Puspa Anggraeni Putri, Dilla Wirmaningsih
Irdawati

*Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang
Jl. Prof. Dr. Hamka, Air Tawar Barat., Kec. Padang Utara, Kota Padang, Sumatera Barat 25171
E-mail : niaramadhanti44@gmail.com*

ABSTRAK

Aktivitas industri banyak membutuhkan Bahan Bakar Minyak (BBM) yang berasal dari minyak bumi. Adanya kelangkaan minyak bumi menimbulkan banyak dilakukannya pencarian bahan bakar alternatif yang bersifat terbarukan dan ramah lingkungan salah satunya bioetanol yang mengandung selulosa. Kajian tentang pemanfaatan ampas tebu untuk pembuatan bioetanol masih jarang dilakukan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pemanfaatan ampas tebu menggunakan enzim selulase dari *Aspergillus niger* untuk pembuatan bioetanol. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah studi literatur dari berbagai berbagai sumber rujukan. Kesimpulan yang didapatkan yaitu pemanfaatan ampas tebu menggunakan enzim selulase dari *Aspergillus niger* dapat digunakan untuk pembuatan bioetanol karena ampas tebu mengandung selulosa yang dalam proses hidrolisis dibantu oleh enzim selulase. Penggunaan enzim selulase yang siap pakai pada proses hidrolisis enzimatik harganya sangat mahal, sehingga perlu mengurangi penggunaannya. Enzim tersebut dapat diproduksi menggunakan mikroorganisme penghasil enzim. Salah satunya adalah *Aspergillus niger* yang mampu menghasilkan enzim selulase.

Kata kunci: ampas tebu, selulase, *Aspergillus niger*, kapang, bioetanol

PENDAHULUAN

Jumlah penduduk Indonesia secara berkelanjutan akan meningkat, sehingga berdampak pada meningkatnya kebutuhan energi. Dimana kebutuhan energi yang dominan adalah pada sektor transportasi dan aktivitas industri yang banyak membutuhkan Bahan Bakar Minyak (BBM) yang berasal dari minyak bumi. Keberadaan minyak bumi berbasis bahan bakar fosil hingga saat ini menempati urutan pertama. Minyak bumi tersebut sifatnya tidak dapat diperbaharui, sehingga seiring perkembangan zaman maka dapat diperkirakan minyak bumi yang ada tidak dapat mencukupi kebutuhan energi (Kurniasari, 2008 dalam Hidayati, 2016). Adanya kelangkaan minyak bumi tersebut serta efek pemanasan global dan pencemaran lingkungan yang ditimbulkan mendorong banyak dilakukannya pencarian bahan bakar alternatif yang bersifat terbarukan dan ramah lingkungan (Samsuri, 2006 dalam Rosyida, 2018).

Salah satu bahan bakar alternatif tersebut adalah bioetanol. Bioetanol bersumber dari gula sederhana, pati dan selulosa. Bioetanol pada umumnya dibuat dari bahan-bahan yang mengandung karbohidrat tinggi misalnya: tebu, singkong, ubi, jagung yang memiliki nilai jual tinggi. Bioetanol juga dapat diproduksi dari biomassa lignoselulosa.



Indonesia merupakan negara penghasil gula. Hal ini dibuktikan dengan banyaknya pabrik-pabrik gula berdiri di Indonesia, banyaknya gula yang dihasilkan memerlukan bahan baku tebu yang banyak pula. Limbah hasil penggilingan tebu yang biasa disebut ampas tebu akan melimpah seiring banyaknya tebu yang diolah menjadi gula. Ampas tebu (*bagasse*) merupakan hasil samping dari ekstraksi tebu dan termasuk salah satu limbah padat dari pabrik gula. Ampas tebu (*bagasse*) memiliki kandungan selulosa yang tinggi tinggi mencapai 40,59%, 15,91% hemiselulosa, dan kandungan lignin 17,50%. Kandungan selulosa dalam *bagasse* yang tinggi inilah yang berpotensi menjadikannya bioetanol, sehingga ampas tebu dapat dimanfaatkan menjadi sumber energi alternatif sebagai bahan bakar (Gunam dkk., 2011).

Pembuatan bioetanol diawali dengan *pretreatment*. Proses *pretreatment* dilakukan untuk mengkondisikan bahan-bahan lignoselulosa baik dari segi struktur maupun ukuran dengan memecah dan mengurangi kandungan lignin dan hemiselulosa, merusak struktur kristal dari selulosa serta meningkatkan porositas bahan (Sun dan Cheng, 2002 dalam Oktavia, 2014). Sebelum proses ini berlangsung, selulosa yang ada di ampas tebu harus diolah terlebih dahulu untuk menghilangkan lignin yang mengikat selulosa dan hemiselulosa pada ampas tebu, sehingga diperoleh serat selulosa dan hemiselulosa yang optimal. Kemudian dilanjutkan dengan proses hidrolisis yaitu proses pemecahan polisakarida pada biomassa lignoselulosa menjadi monomer gula penyusunnya. Hidrolisis sempurna selulosa akan menghasilkan glukosa. Proses hidrolisis dapat dilakukan secara asam dan secara enzimatik. Proses hidrolisis secara enzimatik memerlukan suatu enzim yang disebut enzim selulase (Sari, 2015).

Enzim selulase adalah enzim yang mempunyai kemampuan mendegradasi selulosa dengan produk utamanya yaitu glukosa, selobiosa dan selo oligosakarida. Ketiga enzim ini bekerja mendegradasi selulosa dan melepaskan gula pereduksi sebagai produk akhirnya. Endo-1,4- β -glukanase memotong ikatan rantai dalam selulosa menghasilkan molekul selulosa yang lebih pendek, ekso-1,4- β -glukanase memotong ujung rantai selulosa menghasilkan molekul selobiosa, sedangkan β -Dglukosidase memotong molekul selobiosa menjadi dua molekul glukosa (Kim, 2001 dalam Purkan, 2015).

Dalam pengaplikasian di bidang industri, enzim selulase memegang peranan penting (Bhat, 2000) diantaranya digunakan untuk proses bioremediasi, penanganan air limbah, pengolahan kopi, industri pulp dan kertas, suplemen dalam industri pakan ternak, produksi protein sel tunggal, produksi protoplas, teknik genetik dan lain-lain (Trek and Nagwa, 2007; Beguin and Anbert, 1994; Coughlan, 1985; Mandels, 1985 dalam Aryani, 2014). Selain itu, pada bidang farmasetikal, enzim ini juga penting dalam industri tekstil terutama dalam hal aplikasi deterjen untuk mengembalikan sifat-sifat tekstil yang berkaitan dengan selulosa, serta produksi biofuel dari biomassa berselulosa (Ali dan Saad, 2008 dalam Aryani, 2015).



Penggunaan enzim selulase yang siap pakai pada proses hidrolisis enzimatis harganya sangat mahal, sehingga perlu mengurangi penggunaannya (Wyman et al., 2005 dalam Sari, 2015). Berdasarkan hal tersebut perlu dicari solusi untuk memproduksi enzim langsung pada proses hidrolisis enzimatis. Enzim tersebut dapat diproduksi menggunakan mikroorganisme penghasil enzim. Salah satu mikroorganisme yang dapat menghasilkan enzim tersebut adalah *Aspergillus niger*. Kemampuan *Aspergillus niger* menghasilkan enzim selulase yang cukup tinggi juga dilaporkan oleh Adri et al.,(2013) dengan memanfaatkan jerami padi dan CMC (*Carboxyl Methyl Cellulose*) sebagai induser.

Adapun fungi penghasil selulase termasuk didalamnya yaitu genus *Aspergillus* (Ali dan Saad, 2008 dalam Aryani, 2014) seperti *A. niger* dan *A. Terreus*. Serta beberapa fungi lain penghasil selulase diantaranya *Rhizopus stolonifer* (Pothiraj, 2006 dalam Aryani, 2014) *Trichoderma*, *Penicillium* dan *Botrytis neurospora* (Pandey, et.al., 1999 dalam Aryani, 2014). Mekanisme fungi dalam mendekomposisi selulosa, hemiselulosa dan lignin pada tanaman dengan cara memproduksi beraneka kelompok enzim hidrolitik dan oksidatif (Abd-Elhazer dan Fadel, 2010 dalam Aryani, 2014).

Penggunaan *Aspergillus niger* pada penelitian ini, karena *A. niger* termasuk fungi berfilamen yang sangat efisien dalam memproduksi selulase serta penanganannya mudah dan murah. Dalam industri, *A. niger* banyak dipakai dalam proses produksi asam sitrat, sedangkan dalam laboratorium, digunakan untuk mempelajari tentang metabolisme dan kegiatan enzimatisnya. Produksi enzim selulase memerlukan substrat yang biasanya berasal dari bahan berselulosa. Dalam penelitian ini, ampas tebu berperan sebagai substratnya dalam produksi enzim selulase dengan bantuan kapang, karena memiliki kandungan selulosa yang tinggi. Dasar penggunaan substrat ampas tebu yakni karena ampas tebu banyak dihasilkan di Padang, Sumatera Barat. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pemanfaatan ampas tebu menggunakan enzim selulase dari mikrofungi *Aspergillus niger* pada tahapan hidrolisis untuk pembuatan bioetanol dan perlakuan yang menghasilkan kadar glukosa tertinggi.

METODE PENELITIAN

Metode penelitian ini berupa studi literatur review jurnal dengan mencari artikel dengan berbagai sumber, seperti google scholar, reecharge dll. Review jurnal ini digunakan sebagai rujukan untuk mengetahui pemanfaatan ampas tebu menggunakan enzim selulase dari *Aspergillus niger* untuk pembuatan bioetanol.

Adapun langkah-langkah dalam pembuatan bioetanol dari berbagai literatur sebagai berikut:

***Pretreatment* (Perlakuan Pendahuluan)**

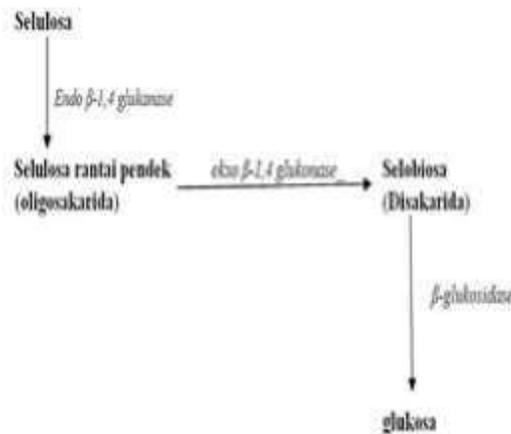
Pretreatment untuk delignifikasi yaitu membebaskan selulosa dan hemiselulosa sebelum dilakukan hidrolisis. Perlakuan awal pada ampas tebu yaitu ampas tebu dibersihkan dari kotoran, dengan cara ditepuk-tepuk dan sebaiknya tidak dicuci agar serat



yang terkandung tidak ikut larut bersama air cucian. Selanjutnya, untuk mengeringkan ampas tebu dilakukan penjemuran di bawah sinar matahari. Kemudian, ampas tebu dicacah kecil-kecil dan dihaluskan menggunakan blender. Kemudian, dilakukan pemanasan pada suhu tinggi.

Hidrolisis Enzimatik

Pada hidrolisis ini menghasilkan gula termasuk glukosa, xilosa, arabinose, laktosa, mannose, adapun proses hidrolisis oleh enzim selulosa seperti pada gambar di bawah ini



Sumber : Purwoko, T., 2009

Degradasi selulosa menjadi glukosa memerlukan 3 enzim, yaitu endo β -1,4-glukanase yang memecah selulosa menjadi lebih pendek (oligosakarida), ekso β -1,4-glukanase memotong oligosakarida menjadi selobiosa (disakarida) dari ujung non reduksi, dan β -glukosidase memecah selobiosa menjadi glukosa selanjutnya glukosa diglikolisis. Oleh karena itu, penggunaan enzim selulosa dapat diproduksi menggunakan mikroorganisme penghasil enzim selulosa. Salah satu mikroorganisme yang dapat menghasilkan enzim tersebut adalah *Aspergillus niger*.

Pengukuran Kadar Glukosa

Kadar glukosa dianalisa dengan menggunakan alat glukometer dengan cara menganalisa kadar glukosa sebelum perlakuan hidrolisis selulosa dan setelah proses hidrolisis.

Pengolahan Data

Data hasil yang diperoleh tiap variabel, dibuat tabel dan grafik sehingga kondisi optimum yang didapatkan dari masing-masing variabel yang berpengaruh dapat diketahui. Perlakuan terbaik dipilih berdasarkan pada pengaruh lama hidrolisis terhadap kadar bioetanol, serta perlakuan yang menghasilkan kadar glukosa tertinggi.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Ampas Tebu



Penelitian ini menggunakan ampas tebu yang digunakan sebagai substrat proses hidrolisis enzimatis. Menurut Husin (2007) *bagasse* memiliki kandungan air 48-52%, gula rata-rata 3,3% dan serat rata-rata 47,7%. Pada penelitian Niken (2014), kandungan pada ampas tebu sebelum pretreatment dengan komponen hemiselulosa sebesar 20,97%, selulosa sebesar 53,75%, dan lignin sebesar 17,55%, sedangkan kandungan ampas tebu yang sudah *pretreatment* menghasilkan hemiselulosa sebesar 2,58%, selulosa sebesar 86,85%, dan lignin sebesar 5,47%. Dari proses pretreatment diperoleh bubuk ampas tebu yang dijadikan sebagai substrat pada proses selanjutnya yaitu proses hidrolisis enzimatis. Berdasarkan penelitian Rokhmah (2011) kandungan lignin dapat menghambat proses hidrolisis enzimatis berkurang, karena adanya perlakuan awal atau proses *pretreatment*.

Karakteristik *Aspergillus niger*

Salah satu jenis kapang yang mampu menghasilkan enzim selulase dengan baik yaitu *Aspergillus niger*. Pemilihan kapang tersebut pada penelitian ini karena sifatnya yang relatif mudah tumbuh pada berbagai jenis media. Apabila ditumbuhkan dalam waktu dan kondisi yang optimal, akan menghasilkan kinerja *Aspergillus niger* yang maksimal. Karena jika semakin baik kualitas sel maka jumlah enzim yang akan dihasilkan dalam metabolisme sel akan semakin banyak.

Pengaruh Lama Hidrolisis terhadap Kadar Bioetanol Bagasse

Berdasarkan hasil uji hipotesis pada penelitian (Hidayati, 2016), menggunakan anava dua jalur menunjukkan lama hidrolisis berpengaruh terhadap kadar bioetanol *bagasse* dan rerata kadar bioetanol menunjukkan pada perlakuan K₁ (lama hidrolisis 24 jam) memiliki rata-rata kadar bioetanol 51,25 %, hal ini menunjukkan pada saat 24 jam kapang *Aspergillus niger* berada pada fase lag dimana pada fase ini kapang masih menyesuaikan diri dengan substrat dan kondisi lingkungan, sehingga belum terjadi pembelahan sel karena beberapa enzim mungkin belum disintesis (Lud Waluyo, 2007: 103), kemudian pada waktu hidrolisis 48 jam (K₂), dan 72 jam (K₃) rata-rata kadar bioetanol meningkat secara berturut-turut yaitu 54,5% dan 59,75%. Pada waktu hidrolisis 96 jam (K₄) menunjukkan kadar bioetanol menurun yaitu 47,25%, namun pada waktu hidrolisis 120 jam (K₅) rata-rata bioetanol meningkat mencapai kadar tertinggi yaitu 63,5%.

Pada waktu hidrolisis 120 jam kadar bioetanol mengalami kenaikan dan menghasilkan bioetanol dengan kadar tertinggi, hal ini dapat dikarenakan spora pada *Aspergillus niger* setelah mengalami masa dorman yang disebabkan oleh kadar air yang tinggi, kemudian spora tumbuh kembali hingga waktu optimum pertumbuhannya menghasilkan enzim selulase, dimana menurut penelitian Devi, M. C and Kumar, M.S (2012) menyatakan semakin lama waktu inkubasi kapang maka enzim selulase yang dihasilkan semakin tinggi hingga mencapai waktu optimum 7 hari dan setelah itu produksi enzim selulase akan mengalami penurunan. Enzim selulase yang dihasilkan oleh metabolisme kapang akan digunakan untuk mendegradasi selulosa yang terdapat dalam



substrat bagasse menjadi glukosa. Hal ini juga disebabkan, semakin lamanya waktu hidrolisis, maka kadar glukosa yang dihasilkan semakin tinggi karena peningkatan aktivitas produksi enzim selulase oleh *Aspergillus niger* semakin meningkat dengan semakin lama waktu hidrolisis.

Pertumbuhan mikroba untuk menghasilkan enzim selulase yang akan menghidrolisis selulosa menjadi gula sederhana (glukosa) selain dipengaruhi oleh lama hidrolisis juga dipengaruhi oleh beberapa faktor lain diantaranya: kondisi media, pH, serta suhu pada saat inkubasi (Rofik, S, dkk, 2013), sehingga jika pH dalam larutan, kondisi media maupun suhu pada saat inkubasi mikroba tidak sesuai, maka pertumbuhan mikroba untuk menghasilkan enzim selulase kurang maksimal dan kadar glukosa yang dihasilkan cenderung rendah, disamping itu proses pretreatment yang tidak sempurna dapat menyebabkan lignin belum hilang sepenuhnya.

Suhu memiliki peranan yang penting dalam aktivitas metabolik mikroba, termasuk jamur (Mrudula & Murugammal 2011). Penelitian Mrudula dan Murugammal (2011) menunjukkan bahwa pada aktivitas selulase *A. niger* terjadi penurunan dengan perlakuan suhu inkubasi di atas 35°C dan mencapai optimum pada suhu 27°C. Pada penelitian Ali et al. (1991) menyatakan hasil maksimum dari selulase *A. niger* Z10 dan *A. terreus* dicapai pada suhu 40°C. Terdapat juga perbedaan pada hasil penelitian terdahulu oleh Asquiere dan Park (1992) menunjukkan aktivitas enzim *A. niger* optimum pada suhu inkubasi 37°C.

Kadar Glukosa

Hasil kadar glukosa dari proses hidrolisis enzimatik dengan menggunakan menggunakan alat waterbath shaker dapat dilihat bahwa kadar glukosa dengan perbandingan ratio *T. viride* : *A. niger* 1:0,5, dengan waktu hidrolisis 96 jam diperoleh kadar glukosa 660 mg/L. Hal ini dikarenakan dengan menggunakan *waterbath shaker* hidup atau berjalan secara kontinu, sehingga enzim selulase yang didapatkan oleh kedua jamur penghasil enzim selulase semakin banyak dan mempercepat merombak selulosa menjadi glukosa.

PENUTUP

Kesimpulan yang didapatkan dari hasil literatur adalah pemanfaatan ampas tebu menggunakan enzim selulase dari *Aspergillus niger* untuk pembuatan bioetanol dapat dijadikan sebagai alternatif untuk penggunaan bahan bakar. Bioetanol mengandung selulosa yang dapat ditemukan pada ampas tebu yang akan melewati proses hidrolisis. Berdasarkan hasil uji hipotesis pada penelitian (Hidayati, 2016), lama hidrolisis berpengaruh terhadap kadar bioetanol ampas tebu. Proses hidrolisis ini dilakukan secara enzimatik dengan bantuan enzim selulase. Penggunaan enzim selulase yang siap pakai pada proses hidrolisis enzimatik harganya sangat mahal, sehingga perlu mengurangi penggunaannya. Enzim tersebut dapat diproduksi menggunakan mikroorganisme penghasil enzim. Salah satunya adalah *Aspergillus niger* yang apabila ditumbuhkan dalam waktu dan kondisi yang optimal, akan menghasilkan kinerja *Aspergillus niger* yang maksimal.



REFERENSI

- Alam, Moch Syaiful, Purbowatiningrum R. Sarjono, Agustina L N Aminin. 2013. Isolasi dan Karakteristirisasi Selulase dari Bakteri Selulolitik Termofilik Kompos Pertanian Desa Rakyat, Klaten, Jawa Tengah. *Jurnal Sains dan Matematika*. Vol. 21 (2): 48-53.
- Ariyani, Sukma Budi, Asmawit, dan Pramono Putro Utomo. 2014. Optimasi Waktu Inkubasi Produksi Enzim Selulase oleh *Aspergillus niger* menggunakan Fermentasi Substrat Padat. *Jurnal Biopropal Industri*. Vol. 5 (2): 61-67.
- Chamcoi, Nutchanat. 2019. Utilization of Fruit Waste for Bioethanol Production by Co-cultures of *Aspergillus niger* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied Environmental Research*. Vol. 41 (2): 63-72.
- Gunam, Ida Bagus Wayan, Wayan Redi Aryanta dan Ida Bagus N. Surya Darma. 2011. Produksi Selulase Kasar dari Kapang *Trichoderma viride* dengan Perlakuan Konsentrasi Substrat Ampas Tebu dan Lama Fermentasi. *Jurnal Biologi*. Vol. VX (2): 29-33.
- Gunam, I., Wartini, N., Anggraeni, A., Suparyana, P. 2011. Delignifikasi Ampas Tebu Dengan Larutan Natrium Hidroksida Sebelum Proses Sakarifikasi Secara Enzimatis Menggunakan Enzim Selulase Kasar dari *Aspergillus niger* FNU 6018. *Jurnal Teknologi Indonesia*. 34 (3): 24-32.
- Hidayati, Nasrul Rofiah, Pujiati, Devi Triana Rahayu. 2016. Pengaruh Konsentrasi Inokulum dan Lama Hidrolisis *Bagasse* oleh *Aspergillus niger* pada Proses Produksi Bioetanol. *Proceeding Biology Education Conference*. Vol. 13(1): 827-831. ISSN: 2528-5742.
- Oktavia, Ferys Ika, Bambang Dwi Argo, Musthofa Lufi. 2014. Hidrolisis Enzimatik Ampas Tebu (*Bagasse*) Memanfaatkan Enzim Selulase dari Mikrofungi *Trichoderma reseei* dan *Aspergillus niger* sebagai Katalisator dengan *Pretreatment Microwave*. *Jurnal Keteknikan Pertanian Tropis dan Biosistem*. Vol. 2 (3): 256-262.
- Purkan, Purnama HD, dan Sumarsih S. 2015. Produksi Enzim Selulase dari *Aspergillus niger* Menggunakan Sekam Padi dan Ampas Tebu sebagai Induser. *Jurnal Ilmu Dasar*. Vol. 16 (2): 95-102.
- Rofik, S dan Riwayati, I. (2013). Pengaruh Waktu Terhadap Kandungan Glukosa Pada Reaksi Hidrolisa Enzimatis Daun Api-api (*Avecennia alba*) dengan Menggunakan Selulase. *Prosiding SNST ke-4 Fakultas Teknik Universitas Wahid Hasyim*. Vol. 1 (1): 1-5.



- Rosyida VT, et al. 2018. Enzim Selulase Kasar *Aspergillus niger* FNCC 6018 untuk Produksi Bioetanol melalui Proses Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak. *Jurnal Mikologi Indonesia*. Vol. 2 (2): 77-90.
- Sari, Ellyta, et al. 2015. Perolehan Glukosa dengan Hidrolisis Enzimatis dari Ampas Tebu menggunakan *Trichoderma viridae* dan *Aspergillus niger* sebagai Bahan Baku Bioetanol. *Jurnal Riset Kimia*. Vol. 9 (1): 9-14. ISSN: 1978-628X/eISSN: 2476-8960.
- Widjaja, Arief, et al. 2015. Application of Ionic Liquid (DMIM) DMP Pretreatment in the Hydrolysis of Sugarcane Bagasse for Biofuel Production. *Bulletin of Chemical Reaction Engineering and Catalysis*. Vol. 10 (1): 70-77.
- Windyarini, Eritrina, Budi Leksono, dan Tri Maria Hasna. 2018. Kualitas Kompos Limbah Padat Industri Minyak Nyamplung (*Callopyllum inophyllum* L.) dengan Empat Jenis Starter. *Jurnal WASIAN*. Vol. 5 (2): 127-134.
- Witasari, Wianthi Septia, Khalimantus Sa'diyah, dan Mohammad Hidayatulloh. 2021. Pengaruh Jenis Komposter dan Waktu Pengomposan terhadap Pembuatan Pupuk Kompos dari Activated Sludge Limbah Industri Bioetanol. *Jurnal Teknik Kimia Lingkungan*. Vol. 5 (1): 31-40.
- Wuryanti. 2008. Pengaruh Penambahan Biotin pada Media Pertumbuhan terhadap Produksi Sel *Aspergillus niger*. *Jurnal BIOMA*. Vol. 10 (2): 46-50.