

REKAYASA PROSES HIDROLISIS PATI DAN SERAT UBI KAYU (*Manihot utilissima*) UNTUK PRODUKSI BIOETANOL

Hydrolysis Process Design of Starch and Cassava (*Manihot utilissima*) Fibers for Bioethanol Production

Yuana Susmiati¹, Dwi Setyaningsih², Titi Candra Sunarti²

¹Jurusan Teknologi Pertanian, Politeknik Negeri Jember, Jl. Mastrip PO.BOX. 164, Jember; ²Departemen Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Jl. Darmaga, PO BOX 220 Bogor 16002

Email: yu_ana_poltekjem@yahoo.com

ABSTRAK

Produksi etanol dari ubi kayu biasanya menggunakan enzim untuk menghidrolisis pati. Hidrolisis secara enzimatik menggunakan enzim α -amilase dan amiloglukosidase tidak mampu mengkonversi serat menjadi gula. Hidrolisis asam berkonsentrasi rendah dilakukan untuk mengkonversi pati dan serat, sehingga gula-gula sederhana yang dapat difermentasi meningkat dan menghasilkan produksi etanol tinggi. Pada penelitian ini ada dua tahap hidrolisis menggunakan asam berkonsentrasi rendah, yaitu tahap pertama untuk menghidrolisis pati dengan konsentrasi H_2SO_4 0,1-0,5 M selama 5-15 menit dan tahap kedua untuk menghidrolisis serat dengan konsentrasi H_2SO_4 0,5-1,0 M selama 10-20 menit pada suhu dan tekanan sama, yaitu 121-127 °C dan 1,0-1,5 atm. Kekurangan pada hidrolisis asam adalah terbentuknya senyawa toksik seperti hidroksimetil furfural (HMF) yang mengganggu fermentasi khamir. Oleh karena itu hidrolisat asam didetoksifikasi menggunakan NH_4OH sebelum digunakan sebagai substrat fermentasi. Kondisi terbaik hidrolisis pati diperoleh pada konsentrasi H_2SO_4 0,4 M selama 10 menit dengan nilai total gula 257,37 g/l, gula pereduksi 229,38 g/l, dextrose equivalent (DE) 89,59 dan HMF 0,57 g/l. Selain itu kondisi terbaik hidrolisis serat diperoleh pada konsentrasi H_2SO_4 1,0 M selama 20 menit dengan nilai total gula 79,74 g/l, gula pereduksi 70,88 g/l, DE 88,99 dan HMF 0,0142 g/l. Hidrolisat asam yang paling sesuai digunakan sebagai substrat fermentasi adalah dari hidrolisis satu tahap tanpa pemisahan serat yang menghasilkan etanol dengan konsentrasi 5,7 % (b/v) dan rendemen etanol 30,5 (b/b). Hasil tersebut tidak berbeda jauh dengan hidrolisis enzimatik yang menghasilkan rendemen etanol 30 % (b/b).

Kata kunci: Ubi kayu, hidrolisis asam, asam sulfat, bioetanol

ABSTRACT

Ethanol production from cassava (*Manihot utilissima*) usually uses enzymatic process for starch hydrolysis. Enzymatic hydrolysis by α -amylase and amyloglucosidase enzymes are not able to convert cassava fibers into sugars. Dilute acid hydrolysis is applied to convert both starch and fibers, which will increase the yield of simple sugars as fermentable sugars and resulting in high ethanol production. In this research there are two steps of dilute acid hydrolysis, first for starch hydrolysis at H_2SO_4 concentration of 0.1-0.5 M, 5-15 minutes and second for fiber hydrolysis at 0.5-1.0 M H_2SO_4 , 10-20 minutes, at the same temperature of 121-127 °C and pressure of 1.0-1.5 atm. The disadvantage of acid hydrolysis is the formation of toxic compounds such as hydroxymethyl furfural (HMF) which is inhibited yeast fermentation. Therefore, acid hydrolyzates were detoxified with NH_4OH before use as fermentation substrate. The best starch hydrolysis condition was obtained at 0.4 M H_2SO_4 for 10 minutes which gave 257.37 g/l of total sugars, 229.38 g/l of reducing sugars, 89.59 of dextrose equivalent (DE) and 0.57 g/l of HMF. While the best fiber hydrolysis performed at 1.0 M H_2SO_4 solution for 20 minutes which gave 79.74 g/l of total sugars, 70.88 g/l of reducing sugars, 88.99 of DE and 0.0142 g/l of HMF. Single direct acid hydrolysis was the most suitable substrate for yeast fermentation with the ethanol concentration of 5.7 % (w/v) and 30.5 % (w/w) of ethanol yield. This result is comparable with enzymatic hydrolysis which gave ethanol yield of 30 % (w/w).

Keywords: Cassava, acid hydrolysis, sulfuric acid, bioethanol

PENDAHULUAN

Produksi etanol yang dihasilkan oleh suatu proses ditentukan oleh beberapa faktor antara lain: (1) bahan baku yang tersedia, (2) banyaknya gula hasil konversi bahan baku yang siap difermentasi, dan (3) efisiensi dari proses fermentasi gula untuk menghasilkan alkohol (Smith dkk., 2006). Ubi kayu merupakan salah satu jenis bahan yang cukup potensial dan prospektif untuk dikembangkan sebagai bahan baku bioetanol karena kandungan patinya cukup tinggi dan adaptif untuk ditanam di lahan-lahan marginal. Produksi bioetanol dari ubi kayu pada umumnya dilakukan dengan hidrolisis enzimatis karena enzim bersifat spesifik dan tidak menghasilkan produk samping yang mengganggu pertumbuhan mikroorganisme. Namun, hidrolisis enzimatis mempunyai kelemahan, yaitu proses hidrolisis berlangsung lama dan membutuhkan 2 macam enzim (α -amilase untuk proses likuifikasi dan amiloglukosidase untuk proses sakarifikasi). Selain itu harga enzim cukup mahal dan ketersediaannya juga terbatas.

Pada proses produksi bioetanol secara enzimatis tidak semua komponen ubi kayu dapat terhidrolisis terutama serat. Hal tersebut disebabkan oleh kandungan ubi kayu yang tidak hanya pati (amilosa dan amilopektin) tetapi juga serat (selulosa dan hemiselulosa), sedangkan enzim α -amilase dan amiloglukosidase hanya mampu mengurai rantai α -1,4 dan α -1,6 glikosida pada amilosa dan amilopektin saja. Dengan demikian glukosa pada selulosa yang terikat pada rantai β -1,4 glikosida tidak dapat terurai dan tersisa dalam bentuk ampas atau onggok (Akinola dan Ayanleye, 2004; Ku-Ismail dkk., 2008). Menurut Pandey dkk. (2000) onggok ubi kayu yang tersisa masih mengandung pati 30-50 % (b/k) dan dapat diproses atau dikonversi lagi menjadi produk bernilai tambah salah satunya bioetanol (Ubalua, 2007). Seperti yang dinyatakan oleh Fungsin dkk., (2009) bahwa onggok ubi kayu potensial digunakan sebagai bahan baku produksi bioetanol karena mengandung selulosa 24,99 %, hemiselulosa 6,67 % dan pati 61 % (b/b).

Konversi onggok ubi kayu menjadi bioetanol dapat dilakukan melalui hidrolisis asam, seperti yang telah dilakukan oleh Agu dkk. (1997) yang menggunakan H_2SO_4 berkonsentrasi rendah (0,3–0,5M) untuk menghidrolisis onggok dan Kongkiattikajorn dan Yoonan (2006) menggunakan H_2SO_4 0,1 M pada suhu 135 °C selama 1 jam untuk menghidrolisis kulit ubi kayu. Penelitian ini dilakukan dengan hidrolisis secara asam karena diharapkan dapat menguraikan pati sekaligus serat sehingga tidak ada onggok yang tersisa.

Pada penelitian ini digunakan hidrolisis asam berkonsentrasi rendah karena efektif menghasilkan gula

tinggi dan sekaligus mampu menghidrolisis serat (selulosa dan hemiselulosa). Hidrolisis asam konsentrasi rendah pada bahan yang mengandung pati dan serat dilakukan secara bertahap yaitu tahap pertama untuk menghidrolisis pati, dan tahap kedua untuk menghidrolisis serat.

Hidrolisis asam dapat memecah hemiselulosa dengan efektif menjadi monomer-monomer gula (arabinosa, galaktosa, glukosa, manosa dan xilosa) dan larutan oligomer yang dapat meningkatkan konversi selulosa (Sun dan Cheng, 2005). Suhu, waktu dan konsentrasi asam yang digunakan selama proses hidrolisis sangat mempengaruhi proses terbentuknya komponen-komponen produk samping dan inhibitor fermentasi, berupa senyawa-senyawa turunan furan (furfural dan HMF), asam-asam lemah dan senyawa-senyawa fenol. Proses detoksifikasi dilakukan untuk meningkatkan kemampuan fermentasi dengan mengkonversi derivatif furan menjadi senyawa lain, dan mengurangi senyawa-senyawa yang bersifat toksik (Purwadi, 2006; Sun dan Cheng, 2005; Mussatto dan Roberto, 2004; Palmqvist dan Hahn-Hagerdal, 2000; Taherzadeh dkk., 1999).

Berdasarkan hal-hal tersebut penelitian ini dilakukan untuk menghasilkan gula sederhana dari ubi kayu menggunakan hidrolisis asam berkonsentrasi rendah. Hidrolisis asam dua tahap dilakukan dengan harapan menghasilkan konsentrasi gula lebih tinggi. Konsentrasi asam, suhu dan waktu yang tinggi dalam proses hidrolisis akan menghasilkan konsentrasi gula sederhana yang tinggi. Tetapi hal tersebut akan memicu terbentuknya senyawa inhibitor pada proses fermentasi seperti furfural. Dengan demikian perlu ditentukan kondisi proses yang terbaik. Semakin banyak gula yang terbentuk akan dapat digunakan sebagai substrat fermentasi bioetanol, sehingga dapat meningkatkan produksi etanol. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk menentukan kondisi terbaik proses hidrolisis pati dan serat ubi kayu, serta menentukan jenis substrat asam yang terbaik untuk fermentasi bioetanol sehingga didapatkan design proses hidrolisis asam pada produksi bioetanol dari ubi kayu.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian meliputi ubi kayu varietas Darul Hidayah yang diperoleh dari Sukabumi dengan umur panen \pm 1 tahun, *Saccharomyces cerevisiae* komersial dalam bentuk *dry yeast* (ragi roti). Alat analisis yang digunakan adalah spektrofotometer HACH DR 2700 dan gas kromatografi Agilent 6890N, kolom HP-5 30 m x 0,32 mm (ID) x 0,25 μ m (Film).

Prosedur Penelitian

Penelitian diawali dengan karakterisasi fisik dan kimia bahan baku, dilanjutkan dengan penyiapan bahan baku yaitu pembersihan ubi kayu segar dari kotoran dan kulit ari (pengupasan dan pencucian), pembuatan cip, pengeringan dan penepungan (40 mesh). Karakterisasi kimia bahan baku yang dilakukan meliputi analisis kadar air, kadar abu, kadar pati, dan kadar serat sesuai prosedur AOAC 1984. Tahapan penelitian berikutnya adalah proses hidrolisis asam menggunakan H_2SO_4 berkonsentrasi rendah (asam encer) yang dilakukan dengan otoklaf bersuhu 121-127 °C dan tekanan 1-1.5 bar, secara dua tahap. Hidrolisis tahap pertama bertujuan mengkonversi pati dan dilakukan dengan H_2SO_4 berkonsentrasi 0,1-0,5 M selama 5-15 menit, sedangkan hidrolisis tahap kedua bertujuan mengkonversi serat dan dilakukan dengan H_2SO_4 berkonsentrasi 0,5-1 M selama 10-20 menit. Parameter hidrolisis meliputi total gula yang dianalisis menggunakan metode fenol asam sulfat (Dubois, 1956), gula pereduksi dianalisis menggunakan metode DNS (Miller, 1959), *dextrose equivalent* (DE) yang merupakan perbandingan antara gula pereduksi dan total gula, dan *hydroxymethyl furfural* (HMF) yang dianalisis berdasarkan SNI 01-3545-2004. Kondisi terbaik proses hidrolisis diperoleh dari hasil analisis statistik metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial.

Hidrolisat asam didetoksifikasi menggunakan NH_4OH teknis 21 % sampai diperoleh pH 5,5 sebelum digunakan sebagai substrat fermentasi yang bertujuan mengurangi senyawa inhibitor (furfural dan HMF). Proses fermentasi dilakukan dengan 4 substrat yaitu hasil hidrolisis satu tahap dengan pemisahan serat, hasil hidrolisis satu tahap tanpa pemisahan serat, campuran hasil hidrolisis satu tahap yang dipisahkan seratnya dengan hidrolisat tahap kedua tanpa pemisahan serat dan hasil hidrolisis enzimatis sebagai kontrol. Setelah proses netralisasi substrat fermentasi diencerkan sehingga total gulanya 15-18 % (sesuai dengan konsentrasi gula yang biasa dilakukan oleh masyarakat) sebelum digunakan dalam proses fermentasi etanol. Selanjutnya substrat fermentasi dipasteurisasi pada suhu 105 °C selama 5 menit dan didinginkan hingga suhu ruang (30 °C) sebelum ditambahkan ragi roti, urea dan NPK. Substrat fermentasi dari hidrolisat asam tidak ditambahkan urea karena sudah banyak mengandung nitrogen dari proses netralisasi. Fermentasi dilakukan pada erlenmeyer 1000 ml dengan volume substrat 500 ml secara *batch*. Proses fermentasi dilakukan pada suhu ruang selama 96 jam pengamatan dengan 24 jam pertama diberi perlakuan agitasi menggunakan orbital shaker (125 rpm) dalam kondisi anaerobik. Pengamatan proses fermentasi dilakukan secara berkala tiap 12 jam dengan parameter pengamatan total gula dan pH. Setelah proses fermentasi

berlangsung selama 96 jam dilakukan proses distilasi, kemudian pengujian kadar etanol. Hasil terbaik proses fermentasi diperoleh dari hasil analisis statistik metode RAL.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Bahan Baku

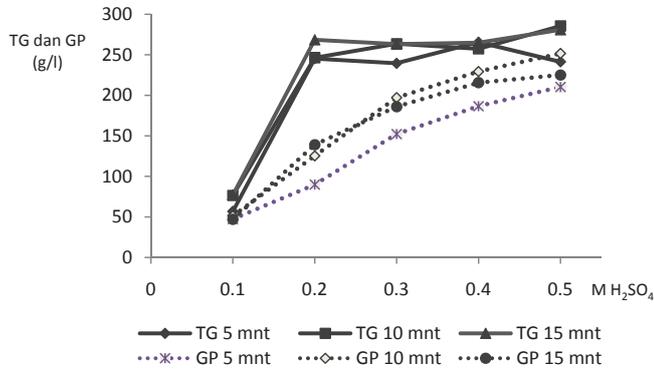
Ubi kayu Darul Hidayah yang dipergunakan pada penelitian mempunyai ciri-ciri fisik seperti pada ubi kayu jenis lain yaitu umbinya berbentuk silinder memanjang, berwarna coklat tua dengan daging umbi berwarna putih. Umbi berukuran panjang 20-56 cm (rata-rata $38 \pm 11,4$ cm), diameter 4,9-7,4 cm (rata-rata $6 \pm 0,8$ cm) dan bobot umbi 0,45-2,95 kg (rata-rata $1 \pm 0,7$ kg). Komponen utama ubi kayu adalah karbohidrat, yang merupakan komponen utama dalam proses produksi etanol. Ubi kayu digunakan sebagai bahan bioetanol berbentuk tepung yang mempunyai kadar air 9,69 %, kadar abu 2,55 %. Kadar karbohidrat ubi kayu terdiri atas komponen pati 69,25 % dan komponen serat kasar 2,98%.

Proses Hidrolisis Tahap I

Proses hidrolisis tahap I memberikan nilai total gula cukup tinggi yaitu 239,47-285,53 g/l pada kondisi proses dengan konsentrasi asam sulfat 0,2-0,5 M, sedangkan pada konsentrasi asam sulfat 0,1 M total gula hanya 56,84-77,11 g/l (Gambar 1). Nilai gula pereduksi tertinggi 251,63 g/l pada kondisi proses hidrolisis dengan konsentrasi asam sulfat 0,5 M dalam waktu selama 10 menit. Nilai gula pereduksi yang tidak berbeda nyata dengan nilai tersebut terjadi pada konsentrasi asam sulfat 0,4 M selama 10 menit 229,38 g/l dan 0,5 M selama 15 menit 225,13 g/l. Pada proses hidrolisis dengan asam sulfat berkonsentrasi 0,1 M menghasilkan total gula dan gula pereduksi yang jauh lebih kecil dibandingkan pada konsentrasi lainnya. Hal tersebut karena hanya terjadi pemutusan rantai polisakarida di bagian ujung-ujungnya, sedangkan pada rantai polisakarida panjang hanya mengembangkan molekul-molekulnya saja. Pada proses hidrolisis dengan kondisi tersebut sebagian besar yang terkonversi menjadi gula hanya fraksi pati saja, sedangkan hemiselulosa sangat sedikit terjadi dan selulosa tidak mungkin terjadi.

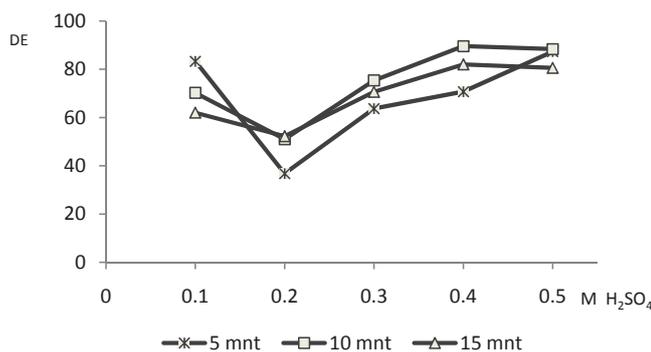
Nilai total gula dan gula pereduksi yang dihasilkan selama proses hidrolisis tahap pertama sangat dipengaruhi oleh konsentrasi asam dan waktu proses yang digunakan. Semakin tinggi konsentrasi asam dan waktu yang digunakan akan semakin tinggi gula pereduksi yang diperoleh. Kecenderungan tersebut sama dengan hasil penelitian oleh Sun dan Cheng (2005) berbahan jerami melalui hidrolisis

asam sulfat 0,6-1,5 % selama 30-90 menit menghasilkan gula pereduksi 125-197,1 mg/g.



Gambar 1. Total gula (TG) dan gula pereduksi (GP) hasil hidrolisis tahap pertama

Besarnya nilai total gula dan gula pereduksi merupakan parameter yang digunakan untuk menghitung besarnya nilai *dextrose equivalent* (DE), dimana DE merupakan perbandingan/rasio antara gula pereduksi dengan total gula dikalikan 100. Menurut Moore dan Amante (2005) DE dinyatakan sebagai persentase dari hidrolisis ikatan glukosida yang menunjukkan kekuatan reduksi. Dektrosa yang biasanya digunakan sebagai standar dalam penelitian adalah pati (DE = 0) dan glukosa (DE = 100). Semakin tinggi DE semakin sempurna proses hidrolisis yang terjadi. Nilai DE tertinggi adalah 100, yang berarti 100 % hasil hidrolisis berupa gula pereduksi atau glukosa.



Gambar 2. Nilai DE (*dextrose equivalent*) pada hidrolisis tahap I

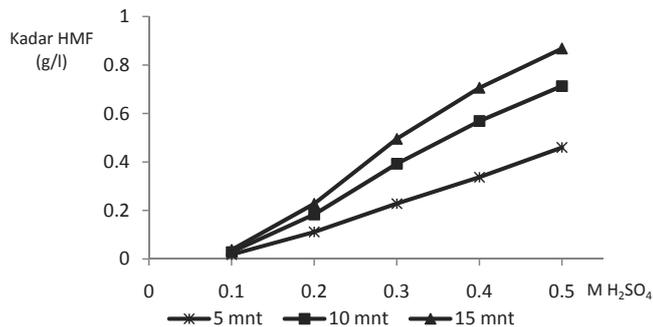
Gambar 2 menunjukkan bahwa nilai DE pada konsentrasi asam sulfat 0,1 M cukup besar, bahkan lebih besar dari konsentrasi 0,2 M. Hal tersebut bertentangan dengan uraian sebelumnya yang menjelaskan total gula dan gula pereduksi. Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya bahwa

DE merupakan perbandingan atau rasio dari gula pereduksi dan total gula. Jika total gula nilainya tidak begitu jauh dari gula pereduksi maka akan diperoleh nilai DE yang cukup besar, meskipun nilai total gula dan gula pereduksi tersebut cukup kecil. Dari kenyataan tersebut dapat dijelaskan bahwa proses hidrolisis bisa saja terjadi lebih sempurna untuk tingkat konversi yang rendah yaitu hanya di ujung-ujung rantai polisakarida dimana hidrolisis yang terjadi sebagian besar menghasilkan gula pereduksi atau glukosa. Berdasarkan analisis statistik konsentrasi asam sangat berpengaruh nyata terhadap nilai DE. Nilai DE tertinggi (89,59) diperoleh pada kondisi proses hidrolisis dengan konsentrasi asam sulfat 0,4 M selama 10 menit.

Hidrolisis asam berkonsentrasi rendah merupakan suatu proses yang cepat dan murah untuk menghasilkan gula-gula sederhana dari karbohidrat, akan tetapi dihasilkan pula beberapa produk samping yang mengganggu dan bersifat toksik terhadap mikroorganisme pada fermentasi alkohol. Hidrolisis asam pada ubi kayu dapat mengkonversi pati dan selulosa menjadi glukosa, serta hemiselulosa menjadi xilosa, manosa, galaktosa, glukosa dan asam asetat. Degradasi gula-gula sederhana menjadi senyawa-senyawa inhibitor sangat dipengaruhi oleh suhu, waktu dan konsentrasi asam (Adrados dkk., 2005; Palmqvist dan Hahn-Hagerdal 2000). Kadar HMF pada hidrolisis tahap pertama ternyata semakin meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi asam dan waktu hidrolisis (Gambar 3). Analisis statistik RAL juga menunjukkan bahwa konsentrasi asam dan waktu hidrolisis serta interaksi keduanya berpengaruh sangat nyata ($\alpha = 0,01$) terhadap kadar HMF.

Nilai HMF tertinggi pada penelitian ini terdapat pada kondisi proses hidrolisis dengan konsentrasi asam sulfat 0,5 M dan waktu hidrolisis selama 15 menit yaitu sebesar 0,87 g/l dan nilai terendah (0,02 g/l) terdapat pada proses hidrolisis dengan konsentrasi asam sulfat sebesar 0,1 M dan waktu hidrolisis selama 5 menit. Berdasarkan uji lanjut Duncan diperoleh bahwa konsentrasi asam 0,4 M dan waktu hidrolisis 10 menit menghasilkan HMF sebesar 0,57 g/l berbeda sangat nyata terhadap nilai tertinggi HMF. Kondisi proses tersebut juga merupakan kondisi proses dengan DE tertinggi (Gambar 2).

Kondisi terbaik proses hidrolisis didasarkan pada derajat hidrolisis tertinggi untuk menghasilkan gula sederhana, tetapi terbentuk senyawa-senyawa inhibitor seminimal mungkin. Dari hasil analisis kadar total gula, gula pereduksi, DE dan HMF yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa kondisi terbaik proses hidrolisis tahap pertama pada konsentrasi asam sulfat 0,4 M dan waktu hidrolisis 10 menit.



Gambar 3. Kadar HMF pada hidrolisat hasil proses hidrolisis tahap I

Proses Hidrolisis Tahap II

Hidrolisis tahap kedua dilakukan pada serat atau padatan sisa hasil hidrolisis tahap pertama pada kondisi terbaik yaitu konsentrasi asam sulfat 0,4 M dan waktu hidrolisis 10 menit. Tujuan utama dari proses hidrolisis tahap kedua adalah untuk menguraikan komponen-komponen karbohidrat yang masih tersisa dari proses hidrolisis tahap pertama baik pati, selulosa maupun hemiselulosa. Total gula yang terukur pada hidrolisat hasil hidrolisis tahap kedua adalah 75-88,68 g/l. Total gula tertinggi diperoleh pada proses hidrolisis dengan konsentrasi asam sulfat 0,75 M selama 20 menit. Nilai tertinggi tersebut tidak berbeda nyata dengan nilai total gula pada konsentrasi asam dan waktu hidrolisis lainnya.

Hidrolisat hasil hidrolisis tahap kedua mengandung gula pereduksi sebesar 61,63-70,88 g/l. Sama dengan total gula, gula pereduksi hidrolisat kedua berbeda dengan hidrolisat pertama. Secara umum waktu hidrolisis yang lebih pendek, menghasilkan gula pereduksi yang lebih rendah. Gula pereduksi tertinggi diperoleh pada kondisi proses dengan konsentrasi asam sulfat 1 M dan waktu hidrolisis 20 menit yaitu sebesar 70,88 g/l.

Proses konversi selulosa memerlukan konsentrasi asam sulfat yang cukup tinggi. Menurut Choi dan Mathews (1996) pada proses hidrolisis selulosa dengan asam sulfat pada suhu dan tekanan tinggi, konsentrasi asam yang tinggi memberikan hasil yang lebih tinggi dengan waktu hidrolisis lebih pendek dibandingkan dengan konsentrasi asam yang lebih rendah. Konsentrasi asam sulfat yang rendah menghasilkan konversi gula lebih rendah meskipun waktu hidrolisisnya lebih lama dari waktu hidrolisis dengan konsentrasi asam sulfat tinggi.

Nilai DE pada hidrolisis tahap kedua sebesar 79,75-88,99 dan tidak berbeda nyata pada masing-masing kondisi proses hidrolisis. Nilai DE terbesar terdapat pada proses dengan konsentrasi asam sulfat 1 M selama 20 menit yaitu 88,99, sedangkan yang terkecil sebesar 79,75 g/l terdapat pada proses hidrolisis dengan konsentrasi asam sulfat 0,5

M selama 10 menit. Konsentrasi asam sulfat antara 0,5-1 M dengan waktu hidrolisis 10 dan 20 menit menyebabkan DE yang tidak berbeda nyata.

Kadar HMF dalam hidrolisat tahap kedua sangat kecil jika dibandingkan dengan HMF yang terdapat pada hidrolisat tahap pertama, yaitu sebesar 0,0089-0,0150 g/l. Kecilnya HMF tersebut disebabkan oleh sedikitnya glukosa yang terbentuk pada proses hidrolisis tahap kedua. Perlakuan konsentrasi asam sulfat dan waktu hidrolisis tidak berpengaruh nyata terhadap kadar HMF yang terbentuk.

Berdasarkan parameter-parameter yang terukur pada hidrolisat kedua, kondisi terbaik hidrolisis tahap kedua ditentukan berdasarkan nilai DE, karena dari semua parameter yang ada hasil analisis statistik menyatakan bahwa perlakuan konsentrasi asam sulfat dan waktu hidrolisis tidak berpengaruh nyata terhadap parameter. DE tertinggi mengindikasikan tingginya derajat hidrolisis, oleh karena itu dengan DE tertinggi dianggap proses hidrolisis yang terjadi cukup baik. Berdasarkan hal tersebut pada hidrolisis tahap kedua kondisi optimal proses hidrolisis pada konsentrasi asam sulfat 1 M dengan waktu hidrolisis selama 20 menit.

Proses Fermentasi

Hasil hidrolisis asam mempunyai pH yang sangat rendah yaitu pH 1,9-2,0. Kondisi pH yang terlalu rendah tersebut menyebabkan hidrolisat asam tidak dapat digunakan sebagai substrat fermentasi tanpa adanya proses peningkatan pH atau netralisasi terlebih dahulu. Selain itu hidrolisat asam juga mengandung inhibitor, yaitu HMF, furfural dan senyawa-senyawa fenol. Oleh karena itu perlu adanya proses detoksifikasi sebelum digunakan sebagai substrat fermentasi.

Penambahan NH₄OH selain berfungsi untuk detoksifikasi dan penetralan juga dihitung sebagai faktor pengenceran hidrolisat. Penambahan NH₄OH pada masing-masing hidrolisat tidak sama tergantung pada tingkat keasaman hidrolisatnya. Pada substrat hasil hidrolisis satu tahap dengan pemisahan serat ditambahkan ammonium dengan kadar 10,9 g/l, pada substrat hasil hidrolisis satu tahap tanpa pemisahan serat ditambahkan amonium 12,07 g/l, sedangkan pada substrat campuran hasil hidrolisis satu tahap yang dipisahkan seratnya dengan hidrolisis tahap kedua tanpa pemisahan serat ditambahkan ammonium 20,15 g/l.

Agitasi pada proses fermentasi yang dilakukan pada 24 jam pertama bertujuan untuk mempermudah proses pencampuran antara mikroba dan nutrisi yang ditambahkan ke dalam substrat sehingga tersuspensi secara homogen, serta mempermudah difusi oksigen ke dalam substrat yang berguna dalam pertumbuhan mikroorganisme.

Pada akhir fermentasi dilakukan proses distilasi untuk mengetahui kadar etanol yang dihasilkan. Kadar etanol yang

diperoleh digunakan untuk menentukan rendemen etanol dari proses fermentasi yang telah dilakukan berdasarkan bobot kering tepung ubi kayu yang digunakan sebagai bahan baku. Rendemen etanol merupakan perbandingan antara konsentrasi etanol yang dihasilkan dengan bobot kering tepung ubi kayu yang diproses.

Setelah 96 jam proses fermentasi dihentikan, substrat hasil hidrolisis satu tahap dengan pemisahan serat menghasilkan etanol dengan kadar 5,42 % (b/v) dan rendemen etanol 25,67 %. Proses fermentasi pada substrat hasil hidrolisis satu tahap tanpa pemisahan serat menghasilkan etanol berkadar 5,66 % (b/v) dan rendemen etanol 30,54 %. Kadar etanol yang dihasilkan pada akhir proses fermentasi substrat campuran hasil hidrolisis satu tahap yang dipisahkan seratnya adalah 4,94 %, sehingga rendemen etanol 22,69 %. Pada akhir proses fermentasi pada substrat hasil hidrolisis enzimatis (kontrol) menghasilkan etanol berkadar 7,56 % (b/v) dan rendemen 29,97 %.

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa perlakuan terbaik proses hidrolisis pertama pada konsentrasi asam sulfat 0,4 M dan waktu hidrolisis 10 menit, sedangkan perlakuan terbaik proses hidrolisis kedua pada konsentrasi asam sulfat 1 M dan waktu hidrolisis 20 menit. Proses fermentasi hidrolisat asam yang memberikan hasil terbaik adalah fermentasi pada substrat hasil hidrolisis satu tahap tanpa pemisahan serat.

Pada proses produksi etanol dari ubi kayu melalui hidrolisis asam, sebaiknya proses hidrolisis dilakukan satu tahap saja, karena sudah memberikan nilai terbaik dan mengurangi biaya proses. Proses netralisasi atau detoksifikasi hidrolisat asam dari ubi kayu perlu dikaji lebih lanjut untuk meningkatkan efisiensi fermentasi, kadar dan rendemen etanol.

DAFTAR PUSTAKA

Adrados, B.P., Choteborska, P., Galbe, M. dan Zacchi, G. (2005). Ethanol production from non-starch carbohydrates of wheat bran. *Journal of Bioresource Technology* **96**: 843-850.

Agu, R.C., Amadife, A.E., Ude, C.M., Onyia, A., Ogu, E.O., Okafor, M. dan Ezejiofor, E. (1997). Combined heat treatment and acid hydrolysis of cassava grate waste (CGW) biomass for ethanol production. *Journal of Waste Management* **17**: 91-96.

Akinola, S.O. dan Ayanleye, T.A. (2004). The use of fungal glucoamylase enzyme for production of glucose syrup from cassava starch. *Journal of Life and Physical Science* **1**: 138-141.

Choi, C.H. dan Mathews, A.P. (1996). Two-step acid hydrolysis process kinetics in the saccharification of low-grade biomass : 1. experimental studies on the formation and degradation of sugars. *Journal of Bioresource Technology* **58**: 101-106.

Dubois M, KA Gilles, JK Hamilton, PA Rebers dan F Smith. (1956). Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Journal of Analytical Chemistry* **28**: 350-356.

Fungsin, B.S., Akaracharany, A. dan Srinorakutara, T. (2009). Conversion of cassava waste into sugar using *Aspergillus niger* and *Trichoderma reesei* for ethanol production. Poster of Thailand Institut of Scientific and Technology Research (TISTR). http://www.biomass-asia-workshop.jp/biomassws/04workshop/poster_pdf/Poster09.pdf. [30 September 2009].

Kongkiattikajorn, J. dan Yoonan, K. (2006). Conversion of cassava industry waste to fermentable sugar. *The 2nd Joint International Conference on "Sustainable Energy and Environment (SEE 2006)"*, 21-23 November 2006, Bangkok, Thailand.

Ku-Ismail, K.S., Ahmad, T.L.A.A., Kasim, K.F. dan Daud, M.Z.M. (2008). Thermo-enzymatic hydrolysis of cassava starch by α -amylase and amyloglucosidase. Proceeding of MUCET 2008. Malaysian Technical Universities Conference on Engineering and Technology March 15-16, 2008, Putra Palace, Perlis, Malaysia.

Miller GL. (1959). Use of Dinitrosalicylic Acid reagent for determination of reducing sugar. *Journal of Analytical Chemistry* **31**: 426-428.

Moore, G.R.P, dan Amante, L.R.C.E.R. (2005). Cassava and corn starch in maltodextrin production. *Journal of Quimica Nova* **28**: 596-600.

Mussatto, S.I. dan Roberto, I.C. (2004). Alternatives for detoxification of diluted-acid lignocellulosic hydrolyzates for use in fermentative processes: a review. *Journal of Bioresource Technology* **93**: 1-10.

Palmqvist, E. dan Han-Hagerdal, B. (2000). Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. I: inhibition and detoxification. *Journal of Bioresource Technology* **74**: 17-24.

- Pandey, A., Carlos, R.S., Nigam, P., Vanete, T.S., Luciana, P.S.V. dan Radjiskumar, M. (2000). Biotechnological potential of agro-industrial residues II: cassava bagasse. *Journal of Bioresource Technology* **74**: 81-87
- Purwadi, R. (2006). *Continuous Ethanol Production from Dilute-Acid Hydrolyzates: Detoxification and Fermentation Strategi*. Thesis for The Degree of Doctor of Philosophy. Departement of Chemical and Biological Engineering, Chalmers University of Technology, Goteborg, Sweden.
- Smith, T.C., Kindred, D.R., Brosnan, J.M., Weightman, R.M., Shepherd, M. dan Sylvester-Bradley, R. (2006). Wheat as a feedstock for alcohol production. *HGCA Research Review* No. 61.
- Sun, Y. dan Cheng, J.J. (2005). Dilute acid pretreatment of rye straw and bermudagrass for ethanol production. *Journal of Bioresource Technology* **96**: 1599-1606.
- Taherzadeh, M.J., Niklasson, C. dan Liden, G. (1999). Conversion of dilute-acid hydrolyzates of spruce and birch to ethanol by fed-batch fermentation. *Journal of Bioresource Technology* **69**: 59-66.
- Ubalua, O.A., (2007). Cassava wastes : treatment options and value addition alternatives. *African Journal of Biotechnology* **6**: 2065-2073.