

**OPTIMASI PROSES BIOETANOL DARI KULIT KOPI
DENGAN MENGGUNAKAN PROSES HIDROLISIS
*VIBROUS BED BIOREAKTOR***

Murni¹, Fahmi Arifan², Zainal Abidin³

Abstrak

Kopi adalah tanaman kopi yang telah di ambil buahnya, sehingga tinggal kulitnya yang merupakan limbah pertanian yang jarang sekali dimanfaatkan. Kulit kopi mengandung 71,2%, protein kasar 3,9%, lemak kasar 1,8%, serat kasar 28,8%, BETN 37,1%, dan TDN 40,2%. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengembangkan vibrous bed bioreactor dan proses fermentasi fed batch untuk produksi bioetanol dari limbah kulit kopi dengan menggunakan enzim immobilized *Zymomonas mobilis* sehingga diperoleh yield tinggi. Penelitian dilakukan dengan melakukan eksperimental dan perancangan serta pabrikasi *Vibrous Bed Bioreaktor* untuk menentukan kinetika reaksi hidrolisa enzimatis dan komputasi proses. Studi optimisasi dilakukan dengan menggunakan faktorial design 2ⁿ. Parameter-parameter yang diteliti adalah rasio enzim-substrat, rasio kulit kopi-air, pH reaksi dan waktu reaksi. Selama tempuhan, diukur kandungan glukosa yang dihasilkan pada saat fermentasi agar didapatkan kadar glukosa sebesar 14%. Sampel yang diambil hasil reaksi hidrolisa enzimatis, dianalisa kadar glukosanya setiap 6 jam sekali dengan GC dan HPLC. Kadar glukosa dihitung persentasenya terhadap total campuran. Setelahnya dapat dilakukan proses pengkonversian biomassa menjadi bioetanol dan dapat dilakukan pengujian performa motor berbahan bakar bensin.

Kata Kunci: Kulit Kopi, *Vibrous Bed Bioreaktor*, Glukosa, Fermentasi

PENDAHULUAN

Salah satu limbah pertanian di Indonesia yang belum dimanfaatkan adalah limbah tanaman kopi (kulit kopi). Kulit kopi adalah tanaman kopi yang telah diambil buahnya, sehingga tinggal kulitnya yang merupakan limbah pertanian terbesar serta belum sepenuhnya dimanfaatkan karena adanya faktor teknis dan ekonomis. Pada sebagian petani menggunakan kulit kopi sebagai pakan ternak alternatif di musim kemarau ketika kesulitan mendapatkan pakan ternak. Akan tetapi, ketersediaan kulit kopi yang melimpah sering kali menjadi permasalahan bagi petani dan untuk mengatasinya biasanya kulit kopi di bakar.

¹ Jurusan Teknik Mesin Program Diploma, Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro Semarang

² Jurusan Teknik Kimia Program Diploma, Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro Semarang

³ Jurusan Teknik Kimia Program Diploma, Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro Semarang

Produksi kulit kopi dapat mencapai 12 - 15 ton per hektar per panen, bervariasi tergantung pada lokasi dan jenis varietas tanaman kopi yang digunakan. Produksi kopi nasional mencapai 54,75 juta ton pertahun pada tahun 2010, meningkat sebesar 1,11% dibandingkan produksi padi tahun 2009. Peningkatan produksi padi juga diiringi peningkatan limbah jerami padi (**Berita Resmi Statistik., 2010**).

Biomassa berselulosa terbentuk dari tiga komponen utama yakni selulosa, hemiselulosa dan lignin. Selulosa merupakan komponen utama yang terkandung dalam dinding sel tumbuhan dan mendominasi hingga 50% berat kering tumbuhan. Kulit kopi diketahui memiliki kandungan selulosa yang tinggi, mencapai 34.2% berat kering, 24.5% hemiselulosa dan kandungan lignin hingga 23.4%. Komposisi kimia limbah pertanian maupun limbah kayu tergantung pada spesies tanaman, umur tanaman, kondisi lingkungan tempat tumbuh dan langkah pemrosesan. Perbandingan komposisi kimia beberapa biomassa disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi Kimia Berbagai Biomassa

Biomassa	Selulosa(% b/b)	Hemiselulosa (% b/b)	Lignin (% b/b)
Kayu poplar	49.9	20.4	18.1
Kulit kopi	34.2	24.5	23.4
Switchgrass	31.0	24.4	17.6

Sumber: Wyman dkk, 1996

Struktur biomassa berselulosa merupakan struktur yang kompleks. Oleh karenanya, biomassa berselulosa merupakan material yang lebih sulit didegradasi dan dikonversi dibandingkan material berbahan dasar dari starch. Konversi enzimatik biomassa berselulosa menjadi bioetanol melibatkan tiga langkah dasar yakni proses pretreatment, proses hidrolisa dan proses fermentasi. Proses pretreatment bertujuan mempermudah akses enzim selulase untuk menghidrolisa selulosa menjadi monomer-monomer gula.

Hidrolisa selulosa secara enzimatik memiliki potensi untuk meningkatkan efisiensi, konversi dan produktifitas. Hidrolisa selulosa secara enzimatik melibatkan beberapa enzim yang berbeda. Enzim yang disekresi dari filamentous fungi *Zymomonas mobilis* dapat

mengkonversi biomassa menjadi gula (**Hayn.,1993**). Penelitian mengenai hidrolisa biomassa secara enzimatis telah dilakukan oleh beberapa peneliti, diantaranya hidrolisa berbahan baku limbah kayu softwood (**Wingren., 2003**), jerami gandum (**Shcmitd., 1998**), bonggol jagung (**Arifan, dkk., 2006; 2007**) dan pinus. Yield yang diperoleh dari hidrolisa biomassa terutama dipengaruhi oleh jenis bahan baku (**Palonen, 2004**).

Hidrolisa selulosa secara enzimatis memiliki beberapa keuntungan, yaitu konversi lebih tinggi, menghasilkan produk samping yang minimal, kebutuhan energi lebih rendah dan kondisi operasi yang relatif lebih rendah. Proses enzimatis merupakan proses bersih lingkungan. Dengan menggunakan bahan baku terbarukan (*renewable raw material*) yang ekonomis dari limbah pertanian untuk proses produksi bioetanol dapat memberikan nilai tambah bagi petani. Saat ini, hidrolisa enzimatis merupakan teknologi yang sangat menjanjikan guna mengkonversi biomassa menjadi gula untuk selanjutnya dikonversi menjadi bioetanol.

Selama ini produksi bioetanol di Indonesia yang bersumber dari biomassa berselulosa belum dikomersialkan. Meskipun telah banyak skema proses tentang produksi bioetanol dari biomassa yang dipatenkan, antara lain U.S. Paten No. 5.677.154; U.S. Paten No. 6.333.181; U.S. Paten No. 7.514.247; U.S. Paten No. 2008/0190013 A1; dan U.S. Paten No. 7.763.724, namun dalam prakteknya di industri seperti Kanada, Amerika dan Eropa masih dilakukan secara curah dengan konversi hidrolisa kurang dari 50%. Kelemahan mendasar dari skema proses produksi seperti ini adalah (i) beban pemurnian sangat tinggi, (ii) *start up* dan *shutdown* proses produksi berulang-ulang, (iii) produktivitas rendah, karena waktu tinggal relatif lama.

Hidrolisa sellulosa secara enzimatis merupakan suatu kasus khusus dalam bidang enzimologi karena substrat berada dalam fasa padat sehingga hidrolisa berlangsung pada fasa padat. Penelitian-penelitian yang berkaitan dengan produksi bioetanol dari berbagai biomassa terus dikembangkan, baik penelitian yang berkaitan dengan enzim yang digunakan maupun penelitian yang berkaitan dengan sumber bahan baku.

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengembangan proses produksi bioetanol dari kulit kopi dengan proses inaktivasi enzim immobilized *Zymomonas mobilis* melalui fermentasi fed batch dengan menggunakan alat *Vibrous Bed Bioreaktor*. Model yang dipostulasi, kemudian diturunkan untuk memperoleh persamaan yang nantinya akan diuji dan

divalidasi dengan menggunakan data yang diperoleh dari eksperimental. Parameter-parameter yang diteliti adalah rasio enzim-substrat, rasio kulit kopi-air, pH reaksi dan waktu reaksi.

METODE PENELITIAN

Penelitian tentang proses produksi bioetanol dari kulit kopi dalam *Vibrous Bed Bioreaktor* inaktivasi enzimatik telah diinvestigasi baik secara eksperimen maupun pemodelan. Rangkaian penelitian dilaksanakan secara bertahap meliputi: studi produktivitas glukosa, perancangan dan pabrikasi *Vibrous Bed Bioreaktor*, studi kinetika reaksi hidrolisa enzimatik dan komputasi proses.

Bahan dan alat penelitian

Bahan utama penelitian adalah limbah kulit kopi yang diperoleh dari area penghasil kopi di Kecamatan Gunungpati Semarang. Enzim *Zymomonas mobilis* murni (*immobilized Zymomonas mobilis*) dari Nuvo. Bahan-bahan kimia untuk keperluan analisa membeli di CV. Jurus Maju Semarang. Sedangkan bahan tambahan yang diperlukan adalah Buffer Acetate, *Zymomonas Mobilis*, Bovin Serum Albumin, Asam Sulfat, Demin Water, Glukosa Anhidrid, Fehling A dan B, NaOH, Metilen Blue, KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NaHCO_3 dan Metanol Teknis. Alat utama penelitian ini berupa *Vibrous Bed Bioreaktor*. Beberapa alat yang digunakan untuk percobaan dan sebagai pendukung terutama untuk keperluan analisa (GC dan HPLC) adalah: *Fluidised Sand Bath Reactor*, *Digester*, *Orbital Shaker Bath*, *Autoclave*, *Viskosimeter*, *Bomb Calorimeter* dan *Pipa Kapiler*.

Variabel Percobaan

Variabel-variabel percobaan dalam reaksi hidrolisa selulosa secara enzimatik adalah rasio enzim-substrat, rasio kulit kopi-air, pH reaksi dan waktu reaksi. Batas atas dan batas bawah untuk masing masing variabel disajikan pada Tabel 2.

Sedangkan ketentuan pada percobaan pertama adalah:

Konsentrasi larutan sulfat	= 1%
Volume buffer	= 50 ml
Suhu pretreatment	= 140°C
Waktu pretreatment	= 40 menit
Waktu preinkubasi	= 10 menit

Tabel 2. Data Batas Atas Dan Batas Bawah Experimental Design

Variable	Batas bawah (-)	Batas Atas (+)
Rasio enzim substrat	1:1.75	1:1
Rasio kulit kopi-air	2%	5%
Waktu reaksi	3 hari	7 hari
pH reaksi	4	5

Prosedur Percobaan

Proses pretreatment

Kulit kopi dihancurkan dan digiling kemudian direndam dalam larutan asam sulfat 1% selama satu malam dengan konsentrasi 5% berat. Slurry hasil perendaman kemudian dimasukkan kedalam fluidised sand bath reaktor dan dipanaskan hingga 140⁰C selama 40 menit.

Proses Hidrolisa

Slurry hasil pretreatment dihidrolisa dengan rasio enzim-substrat, dan konsentrasi padatan sesuai variabel dalam 50 ml larutan buffer acetate. Larutan di preinkubasi pada suhu 50⁰C didalam air menggunakan orbital shaker bath pada 150 rpm selama 10 menit. Enzim ditambahkan untuk memulai reaksi hidrolisis segera setelah proses aklimatisasi. Sampel diambil untuk dianalisa kadar glukosanya setiap 6 jam sekali.

Rancangan Riset

Riset yang akan dilakukan merupakan riset dengan rancangan eksperimen murni. Percobaan direncanakan dengan menggunakan faktorial design dengan ulangan 2 kali. Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis varian menggunakan normal probability plot atau menggunakan program *Matlab* ®.

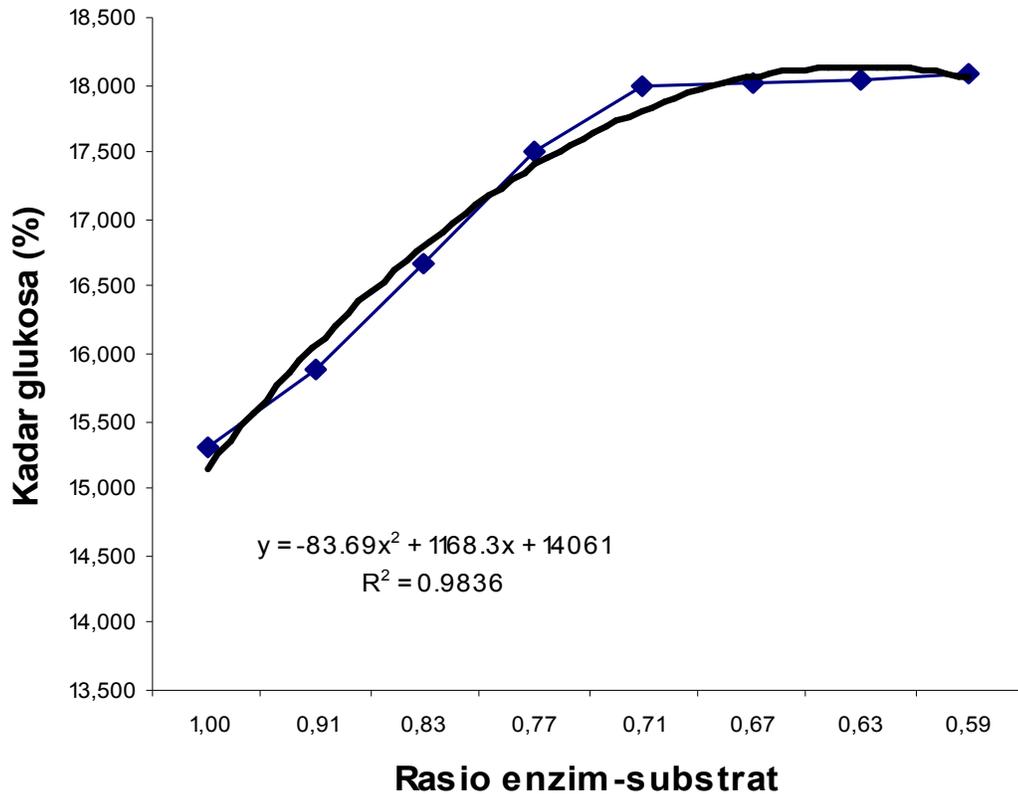
Experimental Design

Analisa data pada penelitian ini menggunakan sistem eksperimental design yang berarti sekumpulan percobaan (tempuhan) yang dirancang untuk memperoleh data-data konkret untuk membuktikan suatu hipotesa. Pada eksperimental design setiap variabel yang diuji ditentukan pada beberapa harga, biasanya dua harga untuk variabel bebas. Penentuan variabel yang berpengaruh dapat menggunakan normal probability plot, setelah dilakukan perhitungan main efek dan perhitungan interaksi atau menggunakan program statistik *Matlab*®.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Optimasi Variabel Proses Rasio Enzim-Substrat

Optimasi kondisi proses dilakukan pada berbagai variabel proses rasio enzim-substrat dengan mengkondisikan pada pH 4. Kadar glukosa yang diperoleh dalam delapan perlakuan dapat dilihat pada Gambar 1. Hasil percobaan menunjukkan bahwa semakin besar rasio enzim-substrat, semakin meningkat kadar glukosanya. Hal ini terjadi karena semakin besar rasio enzim-substrat menyebabkan tumbukan antar molekul-molekul reaktan dengan enzim meningkat, sehingga penyusupan molekul enzim ke dalam substrat lebih sering terjadi. Akan tetapi, peningkatan rasio enzim-substrat di atas 1:1,4, glukosa yang diperoleh relatif mendekati konstan. Hal ini terjadi, karena penurunan energi aktivasi reaksi hidrolisa relatif kecil. Kondisi optimum dicapai pada rasio enzim-substrat 1:1,4 dengan perolehan glukosa sebesar 18,001% dan model regresinya adalah: $y = -0,0837x^2 + 1,1683x + 14,061$.



Gambar 1. Grafik Hubungan antara Rasio Enzim-Substrat terhadap Kadar Glukosa

KESIMPULAN

Telah dikembangkan alat *Vibrous Bed Bioreaktor* yang digunakan untuk proses integrasi sakarifikasi selulosa dan fermentasi gula reduksi. Percobaan pendahuluan dilakukan dengan proses pretreatment yang bertujuan memecah ikatan lignin. Penambahan protein berupa bovin serum albumin dapat meningkatkan perolehan gula reduksi. Variabel proses yang berpengaruh terhadap reaksi hidrolisa kulit kopi secara enzimatik adalah pH dan rasio enzim-substrat. Kondisi optimum dicapai pada rasio enzim-substrat 1:1,4 dengan perolehan glukosa sebesar 18,001% dan model regresinya adalah: $y = -0,0837x^2 + 1,1683x + 14,061$.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan syukur Alhamdulillah kepada Allah SWT serta terima kasih yang sebesar-besarnya kepada UNDIP atas dukungan dana Pelaksanaan Penelitian Hibah Bersaing BOPTN Tahun 2014.

DAFTAR PUSTAKA

- Antongiovanni, M., 1983, "Variability in Chemical Composition of Straw" CIHEAM, Options Mediterraneennes.
- Arifan, F., Yulianto, M.E., dan Murni, 2006, "Studi Awal Pembuatan Biodisel dalam *Vibrous Bed Bioreaktor* dari Minyak Jarak Pagar", Laporan Penelitian UNDIP.
- Arifan, F., Yulianto, M.E., dan Murni, 2006, "Studi Awal Pembuatan Biodisel dalam *Vibrous Bed Bioreaktor* dari Minyak Jarak Pagar", Laporan Penelitian UNDIP.
- Arifan, F., Yulianto, M.E., dan Murni, 2006, "Studi Awal Pembuatan Bioetanol dalam *Vibrous Bed Bioreaktor* dari Bonggol Jagung", Laporan Penelitian UNDIP.
- Arifan, F., Yulianto, M.E., dan Murni, 2007, "Studi Awal Pembuatan Biodisel dalam *Vibrous Bed Bioreaktor* dari Biomassa Jerami Padi", Laporan Penelitian UNDIP.
- Berita Resmi Statistik, 2006, "Produksi Jagung, Padi dan Kedelai", Berita Resmi Statistik Volume 35/IX.
- Bin yang, Wyman. E, 2005, "BSA Treatment to Enhance Enzymatic Hydrolysis of Cellulose in Lignin Containing Substrat" *Biotechnology and Bioengineering Journal* Vol 94 No 4 jully Willey Interscience.
- DOE, 2006, "A Reswearch Roadmap to Resulting from Biomass To Biofuels Workshop" Office of Science, Marryland.
- Glasneer David, 1999, "Corn Stover Potential" ASHS Press, Alexandria ,VA.
- Hayn, M., Steiner W., 1993, "Basic Research and Pilot Studies on the Enzymatic Conversion of Lignocellulosic", *Bioconversion of Forest and Agricultural Plant Residues*, Wallington, UK.
- IEA Energy Technology Essential, 2007, "Biofuel Production", www.iea.org.
- Kelly, C., 2007, "Enzymes in Hydrolysis and Pretreatment" OSU College of Engineering.
- Ladish, M.R, Zeng M, 2005, "Microscopic Examination of Changes of Plant Cell Structure in Lignocellulosic Material Due to Hot Water Treatment and Enzymatic Hydrolysis".

- Media Pertanian; 2003, “ Pengembangan Padi Hibrida Terbuka Lebar”, Situs Hijau Media Pertanian Online.
- Okunowo, Oluwanisula, 2007,” Quantitation of Alcohol in Wine”African Journal of Biochemistry.
- Palonen,H.,Tjerneld,F., 2004, *Adsorbition Of Purified Trichordema Reesei Cellulases And Their Catalytic Domain To Steam Pretreatment Softwood And Isolated Lignin*, J Biotechnology 107.
- Prasetyaningsih, E., 2007, “Industri Alkohol” E-Kuliah, Knowledge Collaborative Sharing.
- Ramakrisna, 2007,” Technological Challenges in Bioethanol Production” Praj Industries Limited.
- Watanabe, Y, Y. Shimada, A. Sugihara, H. Noda, H. Fukuda dan Y Tominaga, 2000. Continoues Production of Biodiesel Fuel from Vegetable Oil Using Immobilized *Candida antartica* Lipase. JAOCS 77 (3): 355 – 360.
- Watanabe, Y, Y. Shimada, A. Sugihara dan Y Tominaga, 2001, *Enzymatic Conversion of Waste Edible Oil to Biodiesel Fuel in a Fixed-Bed Bioreactor*, JAOCS 78 (7): 701–707.
- Wingren A, Galbe M., 2003, Techno Evaluation of Producing Etanol From Softwood, Biotechnol Journal.
- Wyman CE, 2002, “Potential Synergies and Challenges in Refining Cellulosic Biomass to Fuels” Biotechnol Progress.
- Yulianto, M.E., Arifan, F., Paramita, V., 2005, *Produksi Biodisel Dari Minyak Kelapa Secara Enzimatis*, Laporan Penelitian P&K Jateng.
- Zanin,G.M., 2005, “Determination of Inhibition in the Enzymatic Hydrolysis of Cellobiose Using Hybrid Neural Modelling” Brazillian Journal of Chemical Engineering V

PENULIS:

- 1) MURNI
Jurusan Teknik Mesin Program Diploma, Fakultas Teknik, UNDIP
Jl. Prof Sudarto SH, Pedalangan Tembalang, Semarang 50239
- 2) FAHMI ARIFAN
Jurusan Teknik Kimia Program Diploma, Fakultas Teknik, UNDIP
Jl. Prof Sudarto SH, Pedalangan Tembalang, Semarang 50239
Email: fahmiarifan@gmail.com
- 3) ZAINAL ABIDIN
Jurusan Teknik Kimia Program Diploma, Fakultas Teknik, UNDIP
Jl. Prof Sudarto SH, Pedalangan Tembalang, Semarang 50239