***SCREENING* DAN ISOLASI MIKROB POTENSIAL UNTUK PRODUKSI BIOETANOL DARI TANAH GAMBUT CAGAR BIOSFER GIAM SIAK KECIL-BUKIT BATU RIAU**

Rosa Devitria1, Dini Fatmi2

1Analis Kesehatan, Akademi Analis Kesehatan Pekanbaru, Jl. Suka Karya Pekanbaru

Email: devitriarosa@gmail.com

2Stikes Fort De Kock,Jl. Alai Timur Kota Padang

email: dinidinifa@gmail.com

**Abstrak**

*Bioetanol merupakan salah satu bahan bakar alternatif yang diproduksi melalui proses fermentasi dengan bantuan mikroorganisme. Produksi bioetanol dunia meningkat seiring dengan gejolak harga minyak. Minat untuk memproduksi etanol melalui fermentasi bahan baku yang murah, seperti lignoselulosa dari limbah pertanian, kehutanan, dan tanaman yang mempunyai kandungan biomassa tinggi makin meningkat. Produksi bioetanol dilakukan melalui tiga tahapan proses yaitu hidrolisis, fermentasi dan destilasi. Pada proses fermentasi, dilakukan dengan bantuan mikrob. Penelitian ini bertujuan untuk memproduksi bioetanol dari limbah tandan kosong kelapa sawit dengan bantuan bakteri yang diisolasi dari tanah gambut Cagar Biosfer Giam Siak Kecil Bukit Batu Riau. Dari hasil penelitian diperoleh kadar bioetanol didapatkan sebesar 0,871% (v/v) pada fermentasi selama 4 hari, 1,26% (v/v) pada fermentasi selama 6 hari dan 0,00% (v/v) pada fermentasi 8 hari.*

Kata kunci: Bioetanol, Fermentasi, GSKBB, Tanah Gambut

Abstract

*Bioethanol is one of the alternative fuels produced through the fermentation process with the help of microorganisms. Global bioethanol production increases with oil price fluctuations. Interest in producing ethanol through the fermentation of cheap feedstocks, such as lignocellulose from agricultural waste, forestry, and plants with high biomass content is increasing. The production of bioethanol is carried out through three processes: hydrolysis, fermentation and distillation. In the fermentation process, carried out with the help of microb. This study aims to produce bioethanol from waste oil palm empty bunches with the help of bacteria isolated from peat soil Biosphere Reserves Giam Siak Kecil Bukit Batu Riau. The result showed that the bioethanol content was 0.871% (v / v) on fermentation for 4 days, 1.26% (v / v) on fermentation for 6 days and 0.00% (v / v) on 8 day fermentation.*

***Keywords:*** *Bioethanol, Fermentation, GSKBB, Peat Soil*

#  **Pendahuluan**

Bioetanol merupakan salah satu bahan bakar alternatif yang diproduksi melalui proses fermentasi dengan bantuan mikroorganisme. Produksi bioetanol dunia meningkat seiring dengan gejolak harga minyak. Minat untuk memproduksi etanol melalui fermentasi bahan baku yang murah, seperti lignoselulosa dari limbah pertanian, kehutanan, dan tanaman yang mempunyai kandungan biomassa tinggi makin meningkat. Namun, pengembangan bioetanol masih memiliki banyak kendala diantaranya harga yang tidak kompetitif, ketersediaan bahan baku,dan kualitas bioetanol (Anata, 2014).

Produksi bioetanol dilakukan melalui tiga tahapan proses yaitu hidrolisis, fermentasi dan destilasi. Pada proses fermentasi, dilakukan dengan bantuan mikrob. Mikrob yang telah berhasil menghasilkan bioetanol diantaranya *Saccharomyces cerevisiae* dan *Zymmo-monas mobilis* (Hermawati, *et.al* ,2010). Khaira (2015) telah berhasil memproduksi bioetanol dengan mikrob Aspergilus niger, ia mendapatkan bioetanol dengan kadar 8% dengan penambahan 11% enzim selulose.

Penelitian untuk menurunkan biaya produksi bioetanol terus dilakukan agar dapat bersaing dengan energi dari fosil (Riyanti, 2016). Penelitian yang telah dilakukan diantaranya Sukowati (2014) melakukan penelitian produksi bioetanol dari kulit pisang melalui hidrolisis asam, ia mendapatkan hasil kadar etanol sebesar 0,006% dengan variasi ragi 10%. Pada tahun 2011, dilakukan penelitian oleh Rudi, S.S dengan bahan dasar TKKS(tandan kosong kelapa sawit) yang difokuskan pada hidrolisis enzimatik dengan perlakuan awal steaming hingga di dapat yield etanol sebesar 23,56%. Selanjutnya Merina dan Trihadiningrum (2014) telah berhasil memperoleh etanol dari enceng gondok sebesar 0,26% dengan bakteri *Zymomonas Mobilis* dan *Saccharomyces Cerevisiae*.

Pencarian mikrob yang mampu menghasilkan enzim-enzim komersial khususnya enzim selulosa untuk produksi bioetanol perlu diupayakan. Pendekatan yang dapat diupayakan untuk mengeksplorasi mikroba penghasil enzim komersial adalah dengan cara mengisolasi dan menskrining mikroba dari alam (Fitriani, 2013). Mikrob yang diperlukan dalam proses fermentasi bioetanol dengan bahan lignoselulosa harus tahan terhadap suasana asam, karena proses hidrolisis lignoselulosa menggunakan asam (Rudi, 2011). Mikrob yang tahan terhadap suasana asam salah satunya adalah mikrob yang di skrining dari tanah gambut.

Tanah gambut merupakan [jenis tanah](http://ilmugeografi.com/ilmu-bumi/tanah/jenis-jenis-tanah) yang merupakan  penumpukan sisa tumbuhan yang setengah busuk /dekomposisi yang tak sempurna dan mempunyai kandungan bahan organik yang tinggi serta memiliki pH yang rendah (asam). Cagar **Biosfer Giam Siak Kecil - Bukit Batu Riau** (CG-GSK-BB) merupakan salah satu dari 7 Cagar Biosfer yang ada di Indonesia. Cagar Biosfer Giam Siak Kecil-Bukit Batu (GSK-BB) merupakan kawasan gambut di Riau, yang sebagian besar terdiri dari ekosistem hutan rawa gambut dataran rendah. Ekosistem ini sangat unik karena keseimbangannya dipengaruhi oleh tiga komponen utama yaitu gambut, air dan vegetasi(Kaburuan, 2014). GSK-BB menjadi khas karena **hutan rawa gambut** yang tiada duanya di dunia (Bappeda, 2014).

Penelitian ini bertujuan untuk memproduksi bioetanol dari limbah tandan kosong kelapa sawit yang difermentasi dengan bantuan bakteri yang diisolasi dari tanah gambut Cagar Biosfer Giam Siak Kecil Bukit Batu Riau.

#  **Metode Penelitian**

## Penelitian ini terbagi dalam beberapa tahap yaitu isolasi dan karakterisasi bakteri dari tanah gambut cagar biosfer Giam Siak Kecil Bukit Batu Riau. Kemudian produksi bioetanol dari tandan kosong kelapa sawit menggunakan isolat bakteri yang didapatkan. Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat-alat gelas, Autoklaf 1925x (Winconsin Aluminium Foundry Co. Inc., Monitowoc). Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Tandan Kosong Kelapa Sawit; isolat bakteri dari tanah gambut Cagar Biosfer Giam Siak Kecil Bukit Batu Riau.

**Pengambilan dan Persiapan sampel tanah gambut cagar biosfer Giam Siak Kecil Bukit Batu Riau**

 Sampel tanah gambut diambil di Cagar Biosfer Giam Siak Kecil-Bukit Batu Provinsi Riau. Sampel tanah diambil dari lapisan atas di mana sebagian besar aktivitas mikroba berlangsung, dengan demikian sebagian besar populasi bakteri terkonsentrasi. Sampel tanah dikumpulkan menggunakan beberapa tas plastik bersih kering dan steril diambil dengan spatula steril. Sampel tanah lalu dibawa ke laboratorium. Sebanyak 1g sampel tanah dilarutkan dalam 10 ml air untuk membuat suspensi tanah. Kemudian dibuat seri pengenceran 10-1 sampai dengan 10-8 ke dalam tabung reaksi yang terpisah.

**Isolasi bakteri tanah gambut Cagar Biosfer Giam Siak Kecil Bukit Batu Riau**

 Setiap konsentrasi suspensi sampel, diambil masing-masing satu ml lalu dituangkan ke dalam cawan petri berisi sembilan ml media 1/5 NA (Nutrient Agar) dan cyclohexamide untuk menumbuhkan bakteri. Sampel yang ditumbuhkan dalam 1/5 NA diinkubasi selama 24-48 jam. Setiap satu koloni yang tumbuh pada cawan isolasi tersebut, segera disubkultur ke media yang baru untuk mendapatkan kultur murni. Satu cawan hanya berisi satu koloni mikroba. Kultur mikroba yang telah dimurnikan ditumbuhkan dalam media cair sebagai persiapan untuk screening enzimatis. Kultur bakteri disubkultur pada 1/5 NB (Nutrient Broth) media.

**Persiapan tandan kosong kelapa sawit**

## TKKS dipotong kecil-kecil dan dikeringkan dengan oven pada suhu 1050C sampai berat konstan (3-5 jam). Kemudian, TKKS digrinder dan disaring dengan 31 Pengeringan (T: 1050C) sampai berat konstan ukuran 40 mesh. Sampel dengan ukuran 40 mesh lebih baik digunakan agar selulosa yang dikonversi menjadi etanol lebih optimal.

## **Hidrolisis Selulosa Tnadan Kosong Kelapa Sawit**

Dimasukkan 0,5002 g selulosa TKKS kedalam gelas erlenmeyer 250 mL. Ditambahkan 5 mL akuades. Ditambahkan dengan 8 mL HCl 30%. Ditutup dengan kapas dan aluminium foil. Dipanaskan dalam termostat pada suhu 80oC selama 1 jam. Didinginkan hingga suhu kamar. Ditambahkan NaOH 10% hingga pH = 4–4,5. Disaring. Dipipet 1 mL filtrat ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan 5 mL larutan Benedict. Dipanaskan dalam termostat hingga terbentuk endapan merah bata.

**Fermentasi Glukosa Hasil Hidrolisis TKKS Menjadi Bioetanol**

Dimasukkan 100 mL Larutan glukosa hasil hidrolisis TKKS kedalam gelas Erlenmeyer 250 mL. Ditambahkan 0,1502 g MgSO4.7H2O ; 0,1306 g KH2PO4 dan 1,2021 g (NH4)2SO4. Disterilisasi dengan menggunakan alat autoklaf pada suhu 121oC selama 1 jam lalu didinginkan. Ditambahkan isolat bakteri. Difermentasi selama 4 hari, 6 hari dan 8 hari.

**Destilasi Larutan Fermentasi**

 Proses destilasi dilakukan untuk memisahkan etanol dari larutan hasil fermentasi dengan cara memanaskan larutan tersebut dengan menjaga suhu pemanasan pada titik didih etanol yaitu 78ºC, sehingga etanol lebih dahulu menguap dan penguapan tersebut dialirkan pada pipa, terkondensasi dan kembali lagi menjadi etanol cair. Etanol cair yang telah dihasilkan dari proses destilasi selanjutnya dilanjutkan untuk pengukuran parameter kadar etanol dan pH (derajat keasaman).

# **Hasil dan Pembahasan**

**Isolasi dan karakterisasi bakteri**

Hasil isolasi diperoleh ±50 isolat bakteri. Isolat tunggal kemudian di subkultur ke media yang baru sehingga didapatkan isolat murni. Hasil sub kultur bakteri dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1. Koloni bakteri yang telah dimurnikan**

Bakteri yang sudah dimurnikan kemudian dilakukan skrining untuk mengetahui karakter morfologi koloni dan morfologi sel dengan metode pewarnaan gram. Hasil pewarnaan gram dapat dilihat pada Gambar 2.

 

**Gambar2. Hasil Pewarnaan Gram dari bakteri**

Isolat yang telah di sub kultur dilakukan identifikasi morfologi koloni dan identifikasi morfologi sel melalui pewarnaan gram. Hasilnya dapat dilihat pada gambar 2. Dapat diketahui bahwa bakteri yang didapatkan berbentuk basil dengan warna ungu berspora. Bakteri ini merupakan bakteri *Bacillus SP* dan termasuk kedalam bakteri Gram Positif.

Tabel 1. Karakter morfologi koloni dan morfologi bakteri dari tanah gambut Cagar Biosfer Giam Siak Kecil Bukit Batu Riau

|  |  |
| --- | --- |
| **Karakter** | **Isolat Bakteri** |
| **morfologi koloni** |  |
| ukuran | 2 mm |
| warna | putih  |
| bentuk | bulat |
| permukaan | datar |
| sifat | jernih |
|  |  |
| **morfologi sel** |  |
| bentuk | basil |
| warna | ungu mempunyai spora |

**Produksi bioetanol dari tandan kosong kelapa sawit**

Tabel 1. Kadar bioetanol yang dihasilkan dari proses fermentasi

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Waktu fermentasi****(Hari)** | **pH** | **Berat Jenis****(g/L)** | **Kadar etanol (% v/v)** | **pH akhir** |
| 4 | 4 | 0,988 | 8,71 | 2 |
| 6 | 4 | 0,998 | 1,26 | 5 |
| 8 | 4 | 1,002 | 0,00 | 5 |

Pada penelitian ini telah berhasil mendapatkan bioetanol yang difermentasi menggunakan isolat lokal dari tanah gambut Cagar Biosfer Giam Siak Kecil Bukit Batu Riau. Kadar bioetanol yang diperoleh berdasarkan Farmakope Indonesia. Kadar etanol tertinggi yaitu pada fermentasi 4 hari sebesar 8,71%(v/v) dan terendah adalah pada fermentasi 6 hari yaitu sebanyak 1,26% (v/v). Sedangkan pada fermentasi 8 hari tidak diperoleh bioetanol. Penelitian mengenai bioetanol telah banyak dilakukan sebelumnya dan memiliki hasil yang berbeda-beda. Sebagai contoh penelitian yang dilakukan oleh kumalasari(2011) dengan menggunakan substrat kulit nanas kemudian difermentasi dengan ragi roti (Saccharomyces cereviseae) selama 4 hari pada suhu 24-33OC menghasilkan kadar alkohol yang berkisar antara 4,18-5,49%. Hal ini menunjukkan bahwa, lama fermentasi belum menunjukkan waktu yang optimal.

Pengaruh waktu fermentasi dalam penelitian ini menunjukkan bahwa semakin lama waktu fermentasi maka kadar bioetanol semakin berkurang. Hal ini dapat dilihat dari grafik pada gambar 5, bahwa waktu fermentasi 4 hari memperoleh kadar bioetanol yang tinggi yaitu 8,71 %9v/v) sedangkan waktu fermentasi 6 hari memperoleh kadar menurun yaitu sebesar 1,26% (v/v). Bahkan pada fermentasi selama 8 hari tidak mendapatkan bioetanol. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Sari, *et.al* (2008) menyatakan bahwa lama fermentasi yang optimal untuk pembuatan bioetanol adalah 3 hari. Jika fermentasi dilakukan lebih dari 3 hari, justru kadar alkoholnya dapat berkurang. Berkurangnya kadar alkohol disebabkan karena alkohol telah dikonversi menjadi senyawa lain, misalnya ester.

Lama fermentasi dipengaruhi oleh faktor-faktor yang secara langsung maupun tidak langsung berpengaruh terhadap proses fermentasi. Menurut Kunaepah (2008) ada banyak faktor yang mempengaruhi fermentasi antara lain substrat, suhu, pH, Oksigen, dan Mikroba yang digunakan.

Substrat merupakan bahan baku fermentasi yang mengandung nutrient-nutrient yang dibutuhkan oleh mikroba untuk tumbuh maupun menghasilkan produk fermentasi. Nutrient yang paling dibutuhkan oleh mikroba baik untuk tumbuh maupun untuk menghasilkan produk fermentasi adalah karbohidrat. Karbohidrat merupakan sumber karbon yang berfungsi sebagai penghasil energi bagi mikroba, sedangkan nutrient lain seperti protein dibutuhkan dalam jumlah lebih sedikit daripada karbohidrat (Azizah, *et al*.,. 2012).

#  **Kesimpulan**

 Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, berhasil mendapatkan Isolat murni yang merupakan bakteri berbentuk basil yang berwarna ungu berspora. Dari pewarnaan gram diketahui bahwa isolat murni yang didapatkan merupakan bakteri gram positif. Bioetanol yang diperoleh mengandung kadar 8,71% (v/v) untuk fermentasi selama 4 hari, 1,26% (v/v) untuk fermentasi selama 6 hari, dan 0,00 % (v/v) untuk fermentasi selama 8 hari.

##### **Ucapan Terima Kasih**

Ucapanterimakasih, kepada kemenristek dikti dalam pendanaan pada penelitian ini melalui program hibah penelitian dosen pemula.

##### **Referensi**

 Anata, W. 2014. *Dinamika Pengembangan Industri Bioetanol di Indonesia*. Teknologi Bioproses. Teknik Kimia. Universitas Indonesia. Depok.

Azizah, N., Al-Barri, A.N., dan Mulyani, S. 2012. Pengaruh lama fermentasi terhadap kadar alkohol, pH, dan produksi gas pada proses fermentasi bioetanol dari Whey dengan substitusi kulit nanas. J. Aplikasi Teknologi Pangan. Vol.1 N0. 2

Bappeda. 2014. Cagar Biosfer Giam Siak Kecil Bukit Batu riau Indonesia. <http://www.bappeda.pekanbaru.go.id>. Diakses tanggal 23 April 2016.

Fitriani. 2013. Eksplorasi Mikroba Penghasil Enzim Protease dari Sumber Air Panas Lejja Kabupaten Soppeng Sulawesi Selatan. *Skripsi.* Jurusan Kimia FMIPA Universitas Hasanuddin. Makassar.

 Hermiati, E., *et.al*. 2010. Pemanfaatan biomassa Lignoselulosa Ampas Tebu untuk Produksi Bioetanol. *Jurnal litbang Pertanian 29(4).*

 Kaburuan, H., Hapsoh., Gusmawartati. 2014. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Penambat Nitrogen Non-Simbiotik Tanah gambut Cagar biosfer Giam Siak Bukit batu. *Jurnal Agroteknologi, Vol.5 No. 1: 35-39*.

 Kumalasari, I. J. 2011. Pengaruh Variasi Suhu Inkubasi terhadap Kadar Etanol Hasil Fermentasi Kulit dan Bonggol Nanas (Ananas sativus) Skripsi. Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang.

Kunaepah. U. 2008. Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Glukosa terhadap Aktivitas Antibakteri Polifenol Total dan Mutu Kimia Kefir Susu Kacang Merah.Tesis.Universitas Diponegoro, Semarang.

Riyanti, E.I. 2016. *Biomassa Sebagai Bahan Baku Bioetanol*. Article. University of new South Wales. <https://www.reasearchgate.net>. Diakses tanggal 24 April 2016.

Rudi, S.S. 2011. Pretreatment dan Hidrolisis Tandan Kosong kelapa sawit (TKKS) dengan Metode Steaming dan Enzimatik. *Skripsi.* Universitas Indonesia. Depok.

Sari, L M., Noverita dan Yulneriwarni. 2008. Pemanfaatan jerami padi dan alang Dalang dalam fermentasi etanol menggunakan kapang (Trichoderma viride dan khamir) Saccharomycess cerevisiae.)Vis Vitalis.5 (2):)55D62.