

---

# PRODUKSI KULTUR RENDAM JAMUR *Aspergillus Niger* DAN *Aspergillus oryzae* ITBCCL SEBAGAI SUMBER ENZIM UNTUK PRODUKSI BIOETANOL DARI SINGKONG

Siti Maemunah, Achmad Ali S.  
Kelompok Keahlian Perancangan dan Pengembangan Produk Teknik Kimia  
Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, ITB  
Jl. Ganesha 10, Bandung 40132  
E-mail: maepsv81@yahoo.com

Naskah diterima 31 Januari 2006, dinilai 2 Februari 2006, dan disetujui 15 Maret 2006

## Abstrak

Bahan bakar hayati seperti bioetanol merupakan bahan bakar ramah lingkungan yang potensial dalam mengurangi impor BBM Indonesia. Rute utama pembuatan bioetanol adalah via fermentasi bahan berkarbohidrat. Bahan berkarbohidrat yang potensial dikembangkan di Indonesia dalam produksi bioetanol adalah singkong. Proses konversi pati dalam singkong menjadi etanol biasanya dilakukan melalui proses enzimatis yaitu proses likuefaksi oleh enzim  $\alpha$ -amilase, proses sakarifikasi oleh enzim maltase dan fermentasi. Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan kultur jamur *Aspergillus* sp. yang menghasilkan enzim  $\alpha$ -amilase dan maltase dalam kuantitas memadai yang akan digunakan sebagai sumber enzim penghidrolisis pati dalam singkong. Jenis jamur yang digunakan *Aspergillus niger* CCL74 ITB dan *Aspergillus oryzae* CCL ITB. Bahan baku utama medium divariasikan antara vinase dan bungkil kacang tanah. Kultur *Aspergillus niger* CCL74 ITB memberikan aktivitas  $\alpha$ -amilase dan maltase yang lebih tinggi dibandingkan dengan kultur *Aspergillus oryzae* CCL ITB. Penggunaan vinase memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan medium bungkil kacang tanah dalam produksi kedua enzim.

**Kata Kunci :** Enzim  $\alpha$ -amilase, Glukoamilase, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*

## Abstract

Bio ethanol is a very attractive fuel source for communities or even countries that wish to be self-sustainable and not reliant on foreign resources. A variety of feedstock materials may be used to produce ethanol, such as glucose or starchy material (cassava, corn, etc.), by preparing it with a hydrolysis pre-treatment to form glucose. The enzymatic hydrolysis of starch requires at least two different enzymes such as  $\alpha$ -amylase for liquefaction process and maltase for saccharification process. The main objective of this research is to produce sub-merged culture enzyme from *Aspergillus* sp that contained  $\alpha$ -amylase and maltase enzymes in sufficient quantity to convert starch which is contained in cassava powder to form glucose. *Aspergillus niger* CCL74 ITB and *Aspergillus oryzae* CCL ITB were cultivated in sub-merged culture. The main raw material of the medium had been varied between vinase from molasse and cake from peanut. Sub-merged culture from *Aspergillus niger* CCL74 ITB in the vinase medium gave higher  $\alpha$ -amylase and maltase activities, compare to sub-merged culture from *A. oryzae* CCL ITB. Using vinase from molasse gave higher enzymes yield than using medium from peanut cake.

**Keywords:**  $\alpha$ -amylase and Maltase, Sub-merged culture of *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*

## 1. Pendahuluan

Bioetanol merupakan produk industri kimia yang kebutuhannya diperkirakan akan semakin meningkat di masa mendatang. Perkembangan industri etanol dapat dilihat dari pemanfaatan etanol yang cukup besar. Etanol mempunyai kegunaan yang penting dalam industri minuman, bahan kimia, industri farmasi dan juga sebagai bahan bakar bebas polusi seperti Gasohol E-10.

Proses pembuatan bioetanol dari bahan berpati pada umumnya bisa dilakukan melalui reaksi enzimatik untuk menghidrolisis pati menjadi glukosa. Proses enzimatik dapat dilakukan dengan menggunakan enzim komersial ataupun menggunakan enzim yang diproduksi sendiri. Untuk menghentikan ketergantungan terhadap enzim komersial impor, maka pada penelitian produksi bioetanol ini digunakan enzim produksi sendiri melalui proses kultur rendam jamur *Aspergillus sp.*

Penggunaan kultur jamur sebagai penghasil enzim-enzim amilolitik merupakan salah satu usaha manusia untuk mengganti *malt* dengan enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme sebagai katalis dalam fermentasi alkohol dari pati. Dari hasil evaluasi skala *plant pilot*, kultur rendam dari jamur untuk fermentasi alkohol memberikan perolehan etanol yang sama tingginya dengan perolehan etanol dari hasil konversi oleh enzim dari malt (Hanson dkk., 1955). Dari beberapa survey, diketahui bahwa beberapa jenis jamur *Aspergillus sp.* mampu memproduksi enzim-enzim penghidrolisis pati ketika dibiakkan dalam kultur rendam (LeMense dkk., 1949). Kultur jamur dari *Aspergillus niger* NRRL 337 mengandung sedikitnya dua jenis enzim penghidrolisis karbohidrat yaitu  $\alpha$ -amilase dan maltase (Adams dkk., 1947).

Persiapan kultur jamur *Aspergillus* dilakukan di Lab. Mikrobiologi dan Teknologi Bioproses ITB untuk memproduksi enzim  $\alpha$ -amilase dan maltase, yang akan digunakan dalam pembuatan bioetanol dari singkong. Diharapkan kultur jamur yang akan digunakan untuk produksi bioetanol nantinya, mempunyai nilai aktivitas yang memadai untuk menghidrolisis pati singkong. Hasil penelitian LeMense dkk. pada tahun 1949 menunjukkan bahwa kultur rendam jamur *Aspergillus sp.* dapat menghasilkan enzim  $\alpha$ -amilase melebihi 14,4 SKB/mL dan maltase 35,7 unit/mL. Kultur jamur tersebut efektif dalam memproduksi alkohol dari pati jagung dengan perolehan etanol mencapai 90% lebih pada konsentrasi sekitar 16% pati jagung. Untuk itu, proses penyiapan kultur jamur didasarkan pada penelitian LeMense dkk. (1949) tersebut. Variasi

yang digunakan adalah jenis jamur *Aspergillus* dan komposisi medium kultur.

Penelitian dilakukan pada skala laboratorium dengan memodifikasi medium yang digunakan pada proses kultur rendam jamur. Adapun kondisi operasi kultur rendam diusahakan mirip dengan kondisi pada penelitian rujukan. Kultur jamur yang memberikan nilai aktivitas enzim yang mendekati ataupun melebihi nilai aktivitas pada penelitian rujukan nantinya akan digunakan untuk memproduksi etanol dari singkong.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui jenis biakan jamur *Aspergillus*, jenis medium serta kondisi operasi tertentu, yang dapat menghasilkan kultur jamur dengan aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase dan maltase dalam jumlah mencukupi untuk proses hidrolisis tepung singkong pada produksi bioetanol.

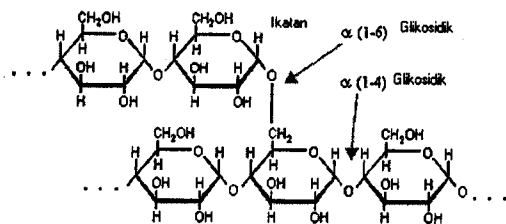
## 2. Fundamental

Penelitian produksi enzim  $\alpha$ -amilase dan maltase dari kultur rendam jamur *Aspergillus niger*, sebenarnya telah berkembang cukup lama. Kedua enzim penghidrolisis pati ini biasanya digunakan dalam proses produksi alkohol dari bahan baku berpati. Penelitian menunjukkan bahwa beberapa jenis jamur *Aspergillus sp.* mampu memproduksi enzim-enzim penghidrolisis pati ketika dibiakkan dalam kultur rendam jamur (LeMense dkk., 1949).

Pada proses produksi enzim  $\alpha$ -amilase dan maltase ini, bahan baku utama yang dipilih adalah pati pada tepung singkong sebagai sumber karbon dan *inducer* pembentukan enzim  $\alpha$ -amilase, dan vinase molase/bungkil kacang tanah sebagai sumber nitrogen.

Pati merupakan polisakarida dengan rumus molekul  $(C_6H_{10}O_5)_x$ . Pati tersusun dari dua jenis polimer, yaitu amilosa dan amilopektin. Struktur amilosa berupa struktur lurus dengan ikatan -1,4-glikosidik. Amilopektin mempunyai struktur bercabang, dengan ikatan -1,6-glikosidik dan juga ikatan -1,4-glikosidik. Reaksi hidrolisa amilopektin relatif lebih sulit dibandingkan reaksi hidrolisa amilosa, karena ikatan -1,6-glikosidik lebih stabil dibandingkan -1,4-glikosidik (Hizukuri, 1996). Struktur ikatan dalam molekul pati bisa dilihat pada Gambar 1.

Vinase merupakan fraksi berat (*non-volatile material*) yang tersisa setelah proses distilasi alkohol. Komposisi dari efluen ini bervariasi sebagai fungsi dari jenis bahan baku produksi alkohol. Karakteristik vinase yang berasal dari berbagai jenis bahan baku diperlihatkan pada Tabel 1.



Gambar 1. Struktur Ikatan dalam Pati

Tabel 1. Komposisi Vinase Rata-rata Hasil Produksi Pabrik Etanol di Brazil (Costa-Riberio dan Costello- Branco, 1981)

| Parameter                                   | Jenis Vinase |              |             |                 |
|---------------------------------------------|--------------|--------------|-------------|-----------------|
|                                             | Molase [g/L] | Jus tebu g/L | Mixed [g/L] | Man dioca [g/L] |
| Padatan total                               | 81,5         | 23,7         | 52,7        | 22,5            |
| Karbon (sbg C) <sup>a</sup>                 | 18,2         | 6,1          | 12,1        | 6,1             |
| Protein kasar <sub>b</sub>                  | 7,5          | 1,9          | 4,4         | 2,5             |
| Potasium (sbg K <sub>2</sub> O)             | 7,8          | 1,2          | 4,6         | 1,1             |
| Belerang (sbg SO <sub>4</sub> )             | 6,4          | 0,6          | 3,7         | 0,1             |
| Kalsium (sbg CaO)                           | 3,6          | 0,7          | 1,7         | 0,1             |
| Klorin (sbg NaCl)                           | 3,0          | 1,0          | 2,0         | 0,1             |
| Nitrogen (sbg N)                            | 1,2          | 0,3          | 0,7         | 0,4             |
| Fosfor (sbg P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ) | 0,2          | 0,01         | 0,1         | 0,2             |
| BOD                                         | 25,0         | 16,4         | 19,8        | 18,9            |
| COD                                         | 65,0         | 33,0         | 45,0        | 23,4            |
| (pH)                                        | 4,5          | 4,5          | 4,5         | 4,5             |

<sup>a</sup> Kandungan Karbon = Kandungan padatan organik : 3,3

<sup>b</sup> Kandungan protein kasar = Kandungan Nitrogen x 6,25

Pada umumnya, vinase mengandung padatan kurang dari 10% dengan 90% padatannya merupakan protein dari bahan baku serta sisa-sisa sel mikroorganisme. Bagian lainnya adalah gula residual, etanol residual, lemak, serat, dan garam mineral.

Proses enzimatik pati menjadi alkohol melalui proses pemasakan dilaksanakan dalam beberapa tahap. Tahap pertama dalam proses pemasakan adalah gelatinasi yaitu proses pemanasan pada temperatur tinggi (50°C kemudian dibawa ke 80°C) hingga butir pati mengembang membentuk gel. Enzim  $\alpha$ -amilase dan maltase yang terdapat pada kultur rendam jamur *Aspergillus* ditambahkan sehingga terjadi pra-liquefaksi. Proses penambahan kultur enzim ini pada awal gelatinasi adalah untuk membantu proses pencairan larutan bubur singkong sehingga

viskositas bubur ketika proses liquefaksi sakarifikasi nantinya tidak terlalu tinggi.

Proses liquefaksi dan sakarifikasi berlangsung secara simultan karena kultur jamur yang ditambahkan mengandung kedua jenis enzim yang dibutuhkan pada proses tersebut. Proses liquefaksi yaitu proses pemutusan ikatan  $\alpha$ ,1-4 glikosidik ditengah-tengah molekul pati hingga terbentuk produk seperti dekstrin, maltotriosa, maltosa dan lain sebagainya. Proses enzimatik dilanjutkan dengan sakarifikasi yaitu pemutusan ikatan  $\alpha$ ,1-6 dan sisa ikatan  $\alpha$ ,1-4 glikosidik yang terdapat pada dekstrin oleh glukamilase menjadi glukosa dan sisa ikatan  $\alpha$ ,1-4 glikosidik yang terdapat pada maltosa menjadi glukosa oleh enzim maltase. Proses dilaksanakan pada suhu mencapai 63-65°C, yaitu temperatur optimum proses sakarifikasi menggunakan enzim dari jamur. Glukosa hasil sakarifikasi kemudian diubah menjadi etanol melalui proses fermentasi oleh ragi. Pada penelitian ini enzim yang akan diproduksi sebagai sumber enzim penghidrolisis pati adalah enzim  $\alpha$ -amilase dan enzim maltase, secara simultan/sekaligus pada medium pertumbuhan yang sama.

### 3. Metodologi

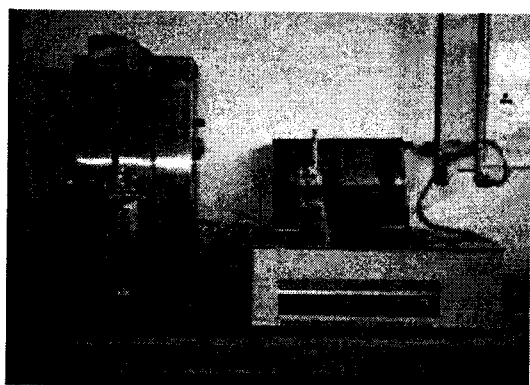
Untuk pembuatan kultur rendam sebagai sumber enzim  $\alpha$ -amilase dan maltase digunakan jenis jamur *Aspergillus niger* L74 dan *Aspergillus oryzae*. Ragi yang digunakan untuk fermentasi adalah *Saccharomyces cerevisiae* A3. Ketiga macam biakan ini diperoleh dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi dan Teknologi Bioproses, Departemen Teknik Kimia ITB.

Medium kultur rendam jamur mengandung bahan dengan komposisi diperlihatkan pada Tabel 2 sebagai berikut:

Tabel 2. Komposisi Medium Kultur Rendam

| Komponen                                    | Jumlah/Banyaknya    |
|---------------------------------------------|---------------------|
| Bungkil kacang /Vinase                      | 5%                  |
| Tepung gaplek                               | 1%                  |
| CaCO <sub>3</sub> atau NaOH (sbg ko-faktor) | Hingga pH 5,4 – 5,6 |
| Air destilasi                               | Hingga 1 Liter      |

Inokulum (2-10%-volum) ditransfer ke medium fermentasi secara aseptik. Kondisi pH dipertahankan pada 5,4-5,6 dengan menggunakan buffer CaCO<sub>3</sub> atau NaOH. Kultur rendam difermentasi selama 48 jam dengan suhu 30°C dan tingkat aerasi 5-6 VVM (*Volum air/volum medium/minute*). Peralatan produksi kultur dapat dilihat pada Gambar 2.



**Gambar 2. Skema Peralatan Produksi Kultur Rendam Jamur**

Larutan kultur jamur yang berusia 48 jam selanjutnya diambil dan disentrifugasi selama 20 menit pada 4500 rpm. Supernatan kemudian dianalisa aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase dan maltase. Pengujian dilakukan dengan prosedur SKB (Standstedt dkk., 1939). Dasar metode ini adalah mengukur pengurangan intensitas warna biru pada reagen iodine-pati.

Menurut metode SKB, aktifitas enzim  $\alpha$ -amilase dinyatakan dalam unit SKB. Suatu kuantitas enzim disebut memiliki keaktifan 1 SKB jika dalam 30°C dan tempo tepat 1 jam, mendekstrinasi sempurna 1 gram pati larut. Untuk mengeliminasi efek hidrolisis oleh enzim  $\beta$ -amilase yang mungkin terdapat dalam kultur rendam enzim, maka sebelumnya larutan pati untuk uji SKB diolah tuntas dulu dengan enzim  $\beta$ -amilase yang berasal dari gandum (Standstedt dkk., 1939).

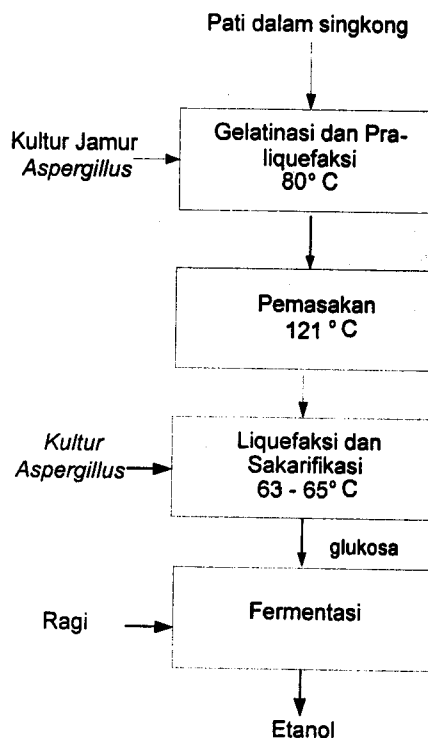
Aktifitas enzim maltase dinyatakan dalam satuan unit aktivitas (UA). Suatu kuantitas enzim disebut memiliki keaktifan 1 unit jika dalam 30°C, pH 4,4 dan tempo tepat 1 jam, menghidrolisis sempurna 1 mg maltosa monohidrat (Corman dkk., 1954).

Proses fermentasi kultur rendam dilakukan dengan memvariasikan jenis jamur & komposisi medium (Tabel 3).

**Tabel 3. Proses Kultur Rendam**

| Tempuhan | Medium Kultur                                     | Jenis Jamur              |
|----------|---------------------------------------------------|--------------------------|
| 1        | Sumber N : Bungkil                                | <i>A. oryzae</i>         |
| 2        | kacang 5%<br>Pengendali pH :<br>CaCO <sub>3</sub> | <i>A. niger</i><br>CCL74 |
| 3        | Sumber N : Vinase                                 | <i>A. oryzae</i>         |
| 4        | molase 5%<br>Pengendali pH :<br>CaCO <sub>3</sub> | <i>A. niger</i><br>CCL74 |
| 5        | Sumber N : Vinase                                 | <i>A. oryzae</i>         |
| 6        | molase 5%<br>Pengendali pH :<br>NaOH              | <i>A. niger</i><br>CCL74 |

Proses produksi bioetanol dari bubur singkong skala laboratorium dipersiapkan berdasarkan prosedur yang dikembangkan oleh Teixeira, C. dkk., (1950) dan skemanya dapat dilihat pada Gambar 3.



**Gambar 3. Diagram Proses Produksi Bioetanol dari Singkong**

Prosedur produksi bioetanol dari singkong diawali dengan pemanasan air (demin atau akuades) sampai 50°C dan dibubuhi 2,6%-volum kultur jamur *Aspergillus sp* yang disiapkan. Kaldu ini kemudian dipanaskan sampai 55°C dan ditambahi 16-17% gaplek yang telah digiling halus. Sesudah penambahan selesai, pH adonan/kaldu dibuat menjadi 5,4 sampai 5,6. Adonan selanjutnya dipanaskan pada bak air mendidih dan dipertahankan pada temperatur tertinggi yang tercapai, selama 1 jam terhitung dari saatnya mencapai temperatur 80°C. Adonan kemudian diotoklaf selama 1 jam pada tekanan meteran 1,4 bar dan sesudahnya didinginkan cepat sampai 65°C lalu ditambahi lagi 10%-volum kultur jamur *Aspergillus niger/oryzae*. Adonan dipertahankan pada 63°C selama 5 sampai 10 menit kemudian didinginkan sampai temperatur fermentasi (30°C) dan pH adonan diatur sehingga menjadi 4,5 – 4,8. Adonan kemudian diinokulasi dengan 8%-volum kultur ragi *Saccharomyces* dan difermentasikan selama 65 jam pada 30°C. Proses fermentasi dilaksanakan pada kondisi anaerobik menggunakan fermentor 5 L.

Analisa konsentrasi alkohol dilakukan dengan metode Guymont. Prinsip pengukuran alkohol dengan metode Guymont adalah pengoksidasian alkohol dalam sampel dengan larutan kalium dikromat. Kelebihan kalium dikromat ditritasi dengan larutan ferro ammonium sulfat (FAS) (Guymont dan Crowell, 1959).

#### 4. Hasil dan Pembahasan

Hasil penelitian ditunjukkan pada Tabel 4. Sebagai data pembandingan, maka digunakan data penelitian data LeMense dkk. (1949) (Tabel 5). Hasil penelitian menunjukkan bahwa produksi enzim  $\alpha$ -amilase dan maltase tertinggi diperoleh pada kultur rendam *A. niger* CCL74 yang dikembangkan di medium vinase berbuffer pH NaOH yaitu pada tempuhan ke-6. Enzim  $\alpha$ -amilase tertinggi yang dihasilkan pada kondisi tersebut dapat mencapai 18,08 SKB/mL dan maltase 66,93 unit/mL.

**Tabel 4. Hasil Penelitian Produksi Kultur Rendam *Aspergillus* sp.**

| No | Kondisi Awal       |                                | pH Akhir | Nilai aktivitas Enzim      |                   |
|----|--------------------|--------------------------------|----------|----------------------------|-------------------|
|    | Medium (sbr: N)    | Jenis Kultur                   |          | $\alpha$ -amilase (skb/mL) | Maltase (unit/mL) |
| 1  | Bungkil kacang 5%, | <i>Aspergillus oryzae</i>      | -        | 0,343                      | 14,41             |
| 2  | Bungkil kacang 5%, | <i>Aspergillus niger</i> CCL74 | -        | 0,8                        | 15,87             |
| 3  | Vinase 5%,         | <i>Aspergillus oryzae</i>      | 6,5      | 1,93                       | 23,53             |
| 4  | Vinase 5%,         | <i>Aspergillus niger</i> CCL74 | 6,05     | 2,50                       | 29,27             |
| 5  | Vinase 5%,         | <i>Aspergillus oryzae</i>      | 6,1      | 0,91                       | 26,38             |
| 6  | Vinase 5%,         | <i>Aspergillus niger</i> CCL74 | 5,2      | 18,08                      | 66,93             |

**Tabel 5. Hasil Penelitian Pembandingan**

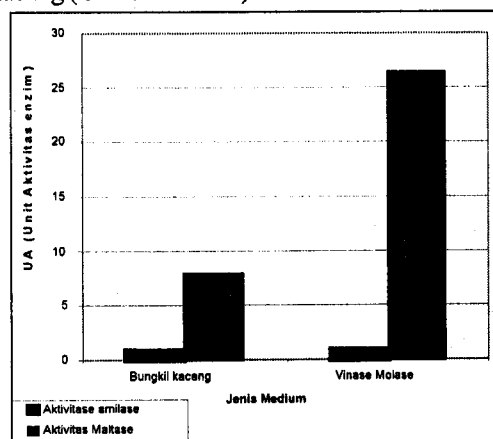
| No | Sumber Enzim Pembandingan                                                                                                                                  | Aerasi (VVM) | pH akhir | $\alpha$ -amilase (SKB/mL) | Maltase (unit/mL) |
|----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|----------|----------------------------|-------------------|
| 1  | Kultur rendam <i>Aspergillus niger</i> NRLL377 LeMense, dkk (1949)<br>Medium: <i>Thin stillage</i> konsentrat 5%, Pati jagung 1%, CaCO <sub>3</sub> pH 5,4 | 0,125        | 5,4      | 0,6                        | 29,4              |
|    |                                                                                                                                                            | 0,25         | 5,6      | 10,8                       | 16,5              |
|    |                                                                                                                                                            | 0,5          | 5,2      | 7,5                        | 30,8              |
|    |                                                                                                                                                            | 0,75         | 5,4      | 14,4                       | 19,4              |
|    |                                                                                                                                                            | 1            | 4,3      | 11,5                       | 35,7              |
| 2  | Fungal Amylase Powder (Wangs, 2005)                                                                                                                        | --           | --       | 3000                       | --                |
| 3  | Enzim komersial : Termamyl dari NOVO(enzim $\alpha$ -amilase, enzim dianalisa keaktifannya di Lab Mikro ITB)                                               | --           | --       | 942,5                      | --                |

Nilai aktivitas tertinggi yang dicapai pada penelitian ini dapat melebihi nilai aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase dan maltase yang dihasilkan pada penelitian yang dilakukan oleh LeMense dkk. (1949). Tetapi nilai aktivitas  $\alpha$ -amilase kultur rendam enzim *Aspergillus* hasil penelitian ini cukup rendah jika dibandingkan dengan nilai aktivitas  $\alpha$ -amilase dari sumber enzim komersial (Tabel 5).

Walupun demikian, pada produksi bioetanol dengan menghidrolisis pati, konsentrasi enzim  $\alpha$ -amilase yang diperlukan cukup rendah. Hal tersebut memberikan keuntungan yaitu kultur rendam *Aspergillus* bisa langsung dipergunakan pada proses produksi bioetanol, tanpa harus dimurnikan terlebih dulu. Hasil produksi enzim pada tempuhan 6 dirasakan sudah cukup memadai untuk digunakan sebagai sumber enzim penghidrolisis pati dalam singkong.

Medium kultur divariasikan antara bungkil kacang dengan vinase molase. Vinase molase merupakan limbah dari proses distilasi medium fermentasi alkohol berbahan mentah molase. Vinase molase yang digunakan pada penelitian ini mempunyai kandungan padatan 15,22%-b/v dan kandungan glukosa 1,63%.

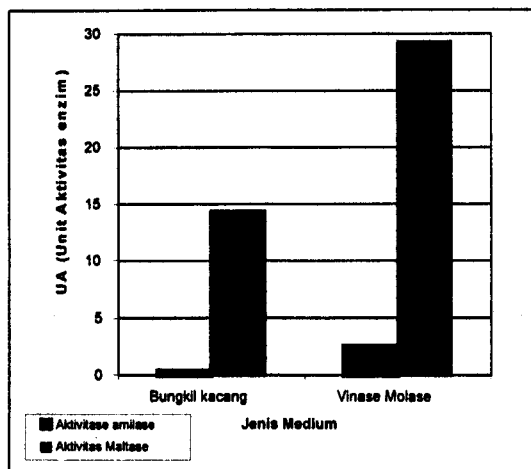
Hasil rata-rata produksi enzim  $\alpha$ -amilase dan maltase pada kedua jenis medium menunjukkan bahwa kultur rendam dengan medium vinase molase memproduksi enzim-enzim dengan aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan kultur bermedium bungkil kacang (Gambar 4 dan 5).



**Gambar 4. Perbandingan Produksi Enzim dari Kultur *A. oryzae* ITBCCL pada Medium Berbeda**

Untuk produksi enzim dari kultur *A. niger*, jika digunakan medium vinase molase akan menghasilkan aktivitas amilase 7,3 kali lipat dan enzim maltase 2,03 kali lipat, lebih tinggi dibandingkan dengan pada medium bungkil kacang (Gambar 5). Hal ini mungkin disebabkan

karena kandungan minyak yang tinggi pada bungkil menyebabkan bungkil tidak dapat melarut dengan baik dalam medium sehingga menghambat penyerapan nutrisi dan difusi oksigen dalam medium.

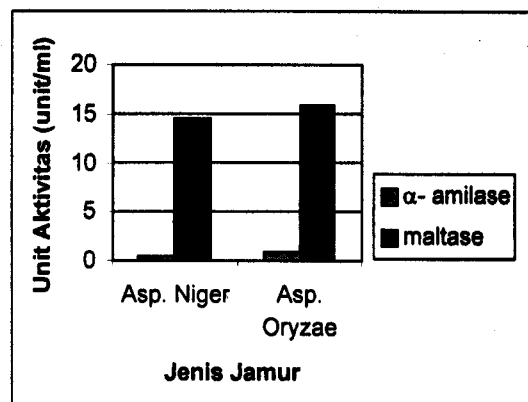


Gambar 5. Perbandingan Produksi Enzim dari Kultur *A. niger* pada Medium Berbeda

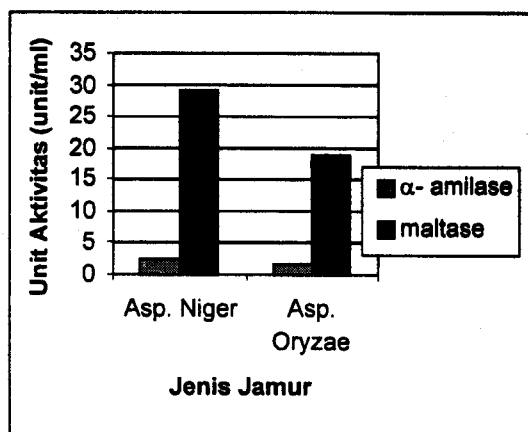
Berdasarkan literatur, vinase molase dibandingkan dengan bungkil kacang, dapat membantu menstabilkan pH pada akhir fermentasi. Semakin besar konsentrasi vinase molase yang ditambahkan pada medium kultur rendam maka semakin tinggi pH akhir medium dan semakin tinggi kandungan  $\alpha$ -amilasena (Tsuchiya dkk., 1950).

Vinase molase merupakan limbah dari produksi bioetanol berbahan baku molase yang pemanfaatannya masih terbatas tetapi tersedia dalam jumlah yang sangat banyak sehingga berpotensi menimbulkan pencemaran lingkungan. Sedangkan bungkil kacang tanah selain ketersediaannya relatif terbatas, berdasarkan penelitian ini, produksi enzimnya pun lebih rendah dibandingkan vinase molase. Oleh karena itu, untuk memproduksi kultur rendam jamur sebagai sumber enzim penghidrolisis akan lebih baik jika digunakan medium dari vinase molase dibanding dengan dari bungkil kacang tanah, karena dapat mengurangi potensi pencemaran lingkungan oleh industri bioetanol dan ongkos produksinya akan lebih murah karena berasal dari limbah.

Hasil rata-rata produksi enzim pada kultur rendam jamur menunjukkan bahwa kultur rendam dari *A. oryzae* memberikan nilai aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase dan maltase yang lebih tinggi dibandingkan dengan kultur rendam dari *A. niger* pada medium bungkil kacang tanah (Gambar 6). Sedangkan pada medium vinase molase *A. niger* memberikan nilai aktivitas kedua enzim yang lebih tinggi dibandingkan dengan kultur rendam dari *A. oryzae* (Gambar 7).



Gambar 6. Perbandingan Produksi Enzim pada Medium Bungkil



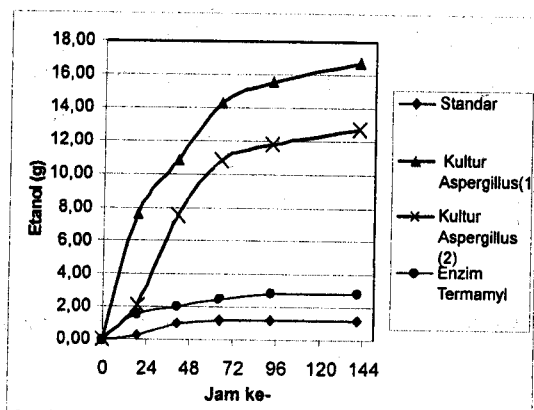
Gambar 7. Perbandingan Produksi Enzim pada Medium Vinase

Kelebihan *A. oryzae* sebagai jamur penghasil enzim berdasarkan Fogarty dan Kelly (1979),  $\alpha$ -amilase dari kultur jamur *A. oryzae* hanya mengandung sedikit residu asam amino sehingga relatif lebih stabil terhadap pH yaitu di kisaran pH 5,5-8,5. Lebih jauh lagi, menurut Roehr (2001),  $\alpha$ -amilase dari kultur jamur *A. oryzae* lebih efektif dalam menurunkan viskositas pati pada saat hidrolisis. Kelemahan *A. oryzae* dibandingkan dengan *A. niger* adalah jika diaplikasikan pada medium vinase molase untuk memproduksi enzim dengan metode kultur rendam maka jumlah aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase dan maltase lebih rendah.

Ketika produksi enzim -amilase dan maltase pada kultur rendam sudah menunjukkan hasil yang cukup bagus, maka tahap produksi etanol dilakukan. Kultur jamur tersebut digunakan langsung (tanpa pemisahan) sebagai sumber enzim -amilase dan maltase untuk proses liquefaksi dan sakarifikasi tepung singkong.

Penggunaan kultur jamur sebagai sumber enzim terbukti memberikan hasil yang cukup baik, karena dapat memproduksi alkohol lebih tinggi dibandingkan dengan produksi alkohol dengan

menggunakan enzim Termamyl dari NOVO pada nilai aktivitas yang sama atau tanpa menggunakan enzim sama sekali (standar) (Gambar 8).



Gambar 8. Produksi Etanol

Hasil perolehan etanol yang lebih tinggi dengan menggunakan enzim penghidrolisis dari kultur rendam enzim jamur *Aspergillus* dibandingkan dengan menggunakan enzim komersial Termamyl mungkin disebabkan kondisi hidrolisis pati singkong pada penelitian ini dilaksanakan pada kondisi optimum kerja enzim dari kultur rendam enzim jamur *Aspergillus* dan bukan pada kondisi optimum enzim Termamyl. Temperatur proses liquefaksi optimum untuk enzim Termamyl adalah pada suhu 105°C sedangkan pada penelitian ini, temperatur liquefaksi semua tempuhan dilaksanakan pada suhu 80°C. Penggunaan suhu liquefaksi yang lebih rendah sebenarnya akan lebih menguntungkan karena dapat menghemat penggunaan energi selama proses hidrolisis pati.

### 5. Kesimpulan

Dari hasil penelitian selama ini, dapat disimpulkan bahwa kultur rendam jamur *Aspergillus sp.* hasil penelitian kelompok penelitian ini, dapat digunakan sebagai sumber enzim  $\alpha$ -amilase dan maltase untuk memproduksi alkohol dari pati singkong.

Penggunaan vinase molase sebagai medium kultur rendam jamur *Aspergillus sp.* memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan medium bungkil kacang tanah dalam produksi enzim  $\alpha$ -amilase dan maltase.

Kultur *A. niger* CCL74 ITB memberikan aktivitas  $\alpha$ -amilase dan maltase yang lebih tinggi pada medium vinase molase dibandingkan dengan

kultur *A. oryzae* CCL ITB pada kondisi fermentasi selama 48 jam dengan suhu 30°C dan tingkat aerasi 5-6 VVM.

### Daftar Pustaka

- [1] Adams, S. L., Balankura, B., Andreasen, A.A dan Stark, W.H., (1947), *Ind Eng. Chem.*, Vol. 39, p. 1615-17
- [2] Corman, J., Tsuchiya, H.M., dan Koepsell, H.J., (1954), "Starch Saccharifying Enzyme High in Maltase Activity", *U.S. Patent no. 2,676,905*, 27 April
- [3] Costa-Riberio, C., Castello-Branco, J.R. (1981), *Process Biochem.* 16(4)
- [4] Fogarty, W.M., Kelly, C.T., (1979), "Starch Degrading Enzymes of Microbial Origin", *Progress in Industrial Microbiology* Vol. 15 (Bull, M.J., Ed.). Amsterdam: Elsevier
- [5] Guymont, J.F. dan E.A. Crowell, (1959), "The Chemical Determination of Alcohol in Wines and Stillage by Dichromate", *J. Assoc. Offc. Agr. Chem.* 42(2) 393
- [6] Hanson, A.M., Bailey, T.A., Malzahn, R.C., dan Corman, J., (1955), "Plant Scale Evaluation of A Fungal Amylase Process for Grain Alcohol", *Agricultural Food Chem.*, Vol 3 No.10, October
- [7] Hizukuri, S., (1996), "Starch: Analytical Aspects", In *Carbohydrates in Food* (A.C. Eliasson, ed.), pp.347-429. Marcel Dekker, inc., New York
- [8] LeMense, E.H., Sohns, V.E., Corman, J., Blom, R.H., Lanen, J.M., dan Langlykke, A.F., (1949), "Submerged Mold Amylase and Saccharifying Agent" *Ind. Eng. Chem.* Vol. 41 No. 1 Januari
- [9] Roehr, M., (2001), "The Biotechnology of Ethanol: Clasical and Future Applications", Wiley-vch, Weinheim
- [10] Sandstedt, R.M., E. Kneen, dan Blish, M.J., (1939), "A Standardized Wolgemuth Procedur for Alpha-amylase Activity", *Cereal Chem.* 16. 712-723
- [11] Teixeira, C., Andreasen, A.A., dan Kolacov, P., (1950), "Ethyl Alcohol from Cassava", *Ind. Eng. Chem.*, Vol.42 No.9 September
- [12] Tsuchiya, HM., Corman, J., Kopsell, H.J., (1950) "Production of Mold Amylases in Submerged Culture", *Cereal Chem.*
- [13] Wang's, Nam Sun, (2005), "Starch Hydrolysis by Amylase", *Biochem. Eng. Lab, Dept Chem Eng. Univ. Maryland*