

**PENGARUH PENAMBAHAN *Bacillus amyloliquefaciens*,  
*Aspergillus niger*, DAN *Rhizopus oryzae* PADA HIDROLISIS  
PATI KULIT SINGKONG (*Manihot sp*)  
SEBAGAI BAHAN BAKU PRODUKSI ETANOL**

Skripsi

untuk memenuhi sebagian persyaratan

untuk mencapai gelar Sarjana Sains (S. Si)



disusun oleh

**Ayu Bayu Pertiwi**  
**31.08.1148**

Kepada

**FAKULTAS BIOLOGI**  
**UNIVERSITAS KRISTEN DUTA WACANA**  
**YOGYAKARTA**  
**2012**

HALAMAN PENGESAHAN

PENGARUH PENAMBAHAN *Bacillus amyloliquefaciens*,  
*Aspergillus niger*, DAN *Rhizopus oryzae* PADA HIDROLISIS  
PATI KULIT SINGKONG (*Manihot sp*)  
SEBAGAI BAHAN BAKU PRODUKSI ETANOL

yang disusun oleh :

Ayu Bayu Pertiwi  
NIM : 31.08.1148

Telah dipertahankan di depan sidang penguji pada tanggal 21 Desember 2012

Skripsi tersebut telah diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan  
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S. Si)

Yogyakarta, 3 Januari 2013

Universitas Kristen Duta Wacana

Fakultas Bioteknologi

Dosen Pembimbing



Dr. rer nat Guntoro

Dekan



Drs. Kisworo, M.Sc.





**UNIVERSITAS KRISTEN DUTA WACANA  
FAKULTAS BIOTEKNOLOGI**

PROGRAM STUDI : BIOLOGI

Kompetensi : • Bioteknologi Lingkungan • Bioteknologi Industri • Bioteknologi Kesehatan

Jl. Dr. Wahidin S. 5-25, Yogyakarta 55224 Indonesia

Phone : (0274) 563929 (Ext. 459) Fax : (0274) 513235

**BERITA ACARA  
UJIAN SKRIPSI & PENDADARAN**

Nomor : 798/C.06/Bio/UKDW/XII/2012

Pada hari ini : Jumat 21 Desember 2012

Bertempat di Universitas Kristen Duta Wacana Jl. Dr. Wahidin 5 – 25 Yogyakarta

**TELAH DISELENGGARAKAN UJIAN SKRIPSI**

Nama Mahasiswa : Ayu Bayu Pertiwi  
Nomor Mahasiswa : 31081148  
Program Studi/Jurusan : BIOLOGI  
Fakultas : BIOTEKNOLOGI  
Perguruan Tinggi : UNIVERSITAS KRISTEN DUTA WACANA

Judul Skripsi : Hidrolisis Pati Kulit Singkong (*Manihot esculenta* Crantz) dengan  
*Bacillus amyloliquefaciens*, *Aspergillus niger*, dan *Rhizopus oryzae*  
sebagai Bahan Baku Produksi Etanol

Saudara tersebut dinyatakan : LULUS / ~~BERGASAL~~

Dengan nilai :

Catatan : Revisi Naskah

**SUSUNAN TIM PENGUJI**

No.	NAMA	Jabatan dlm Tim	Jabatan Akademik	Tanda Tangan
1.	Dr. Charis Amarantini, M.Si	Ketua	Lektor	
2.	Dra. Aniek Prasetyaningsih, M.Si	Anggota	Asisten Ahli	
3.	Dr. Guntoro	Anggota	Tenaga Pengajar	
4.	Dr. Charis Amarantini, M.Si	Anggota	Lektor	

Berita Acara ini dibuat dengan sesungguhnya untuk dapat dipergunakan seperlunya

Mengetabui Dekan,



Drs. Kisworo, M.Sc  
Kw.ynt.pdr

Yogyakarta, 21 Desember 2012

Ketua Tim Penguji

Dr. Charis Amarantini, M.Si

QADW-1200-PP-09.06.004

**LEMBAR PERNYATAAN**

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ayu Bayu Pertiwi

NIM : 31081148

Menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya dan bukan merupakan duplikasi atau seluruhnya dari karya orang lain, yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diuraikan dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Pernyataan ini dibuat dengan sebenar-benarnya secara sadar dan bertanggung jawab dan saya bersedia menerima sanksi pembatalan skripsi apabila terbukti melakukan duplikasi terhadap skripsi atau karya ilmiah lain yang sudah ada.

Yogyakarta, 3 Januari 2013



Ayu Bayu Pertiwi

## HALAMAN PERSEMBAHAN

*Dengan segala kerendahan hati kupersembahkan kepada  
orang-orang yang kucintai dan sayangi :  
Mimi, Bapak, Mas,  
Saudara, dan Sahabat*

فَإِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا ﴿٥﴾ إِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا ﴿٦﴾

*"Karena sesudah kesulitan itu ada kemudahan.  
Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan"  
(Q.S. Al Insyirah : 5-6)*

*"Tidaklah seorang Muslim mendapatkan kelelahan, sakit,  
kecemasan, kesedihan, marabahaya, dan juga kesusahan  
hingga diri menemukannya, melainkan Allah akan  
menghapuskan dosa-dosanya dengan hal tersebut."  
(HR Bukhari dan Muslim)*

## KATA PENGANTAR

Puji syukur Alhamdulillah ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat, hidayah dan kemudahan yang selalu diberikan kepada hamba-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “PENGARUH PENAMBAHAN *Bacillus amyloliquefaciens*, *Aspergillus niger*, DAN *Rhizopus oryzae* PADA HIDROLISIS PATI KULIT SINGKONG (*Manihot* sp) SEBAGAI BAHAN BAKU PRODUKSI ETANOL”.

Penelitian ini dilaksanakan ditempuh untuk mencapai gelar Sarjana Sains (S.Si.) di Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana, Yogyakarta. Dalam penyelesaian skripsi ini, penulis mendapat bantuan dari berbagai pihak. Untuk itu pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Drs. Kisworo, M. Sc., selaku Dekan Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana.
2. Dr. rer nat Guntoro, selaku Dosen Pembimbing yang telah memberi bimbingan, pengarahan, dan saran yang positif, sehingga penulis bisa menyelesaikan skripsi.
3. Dra. Aniek Prasetyaningsih, M.Si., selaku Dosen Penguji yang telah memberikan saran dan koreksi.
4. Dr. Charis Amarantini, M. Si., selaku Dosen Penguji yang telah memberikan saran dan koreksi.
5. Yayasan Arsari Djojohadikusumo yang telah membiayai studi dan memberi kesempatan mengembangkan *soft skill* selama studi di UKDW

6. Guruh Prihatmo, M. Si., selaku Dosen Wali Fakultas Bioteknologi angkatan 2008 serta seluruh dosen yang telah membimbing penulis selama studi di Fakultas Bioteknologi UKDW.
7. Mimi, Bapak dan Mas Bayu, terimakasih atas cinta, semangat, kasih sayang dan kekuatan doa yang sudah diberikan.
8. Para laboran laboratorium serta staf administrasi Fakultas Bioteknologi untuk bantuan, waktu, dan bimbingan selama penelitian di Laboratorium.
9. Para sahabat, teman-teman Fakultas Bioteknologi angkatan 2008 (Is Bintarti Dewi, Ana, Voni penghuni lab Mikro) yang telah memberi warna dalam hidup.
10. Para sahabat, teman-teman (Ganes, Abang Chaerul, Mas Foruq, dll ) Tim Outbond , yang memberi keceriaan dan semangat.
11. Semua pihak yang selalu mendukung dan mendoakan yang tidak dapat disebutkan satu-persatu.

Di dalam penulisan karya Ilmiah ini, penulis menyadari bahwa penyusunan ini masih jauh dari sempurna karena keterbatasan pengetahuan maupun kemampuan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang bersifat membangun sangat diharapkan oleh penulis. Akhir kata semoga naskah skripsi ini bermanfaat bagi pihak-pihak yang membutuhkan.

Yogyakarta, Desember 2012

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	ii
<b>BERITA ACARA</b> .....	iii
<b>LEMBAR PERNYATAAN</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	v
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	vi
<b>DAFTAR ISI</b> .....	viii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	x
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xii
<b>ABSTRAK</b> .....	xiii
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	1
A. Latar Belakang .....	1
B. Rumusan Masalah .....	5
C. Batasan Masalah .....	5
D. Tujuan Penelitian .....	6
E. Manfaat Penelitian .....	6
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	7
A. Singkong dan Kulit Umbi Singkong .....	7
B. Hidrolisis Pati .....	11
C. Karakteristik Mikrobia .....	17
1. <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> .....	17
2. <i>Aspergillus niger</i> .....	18
3. <i>Rhizopus oryzae</i> .....	19
4. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	20
D. Fermentasi Etanol oleh Khamir .....	21
E. Hipotesis .....	25
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b> .....	27
A. Waktu dan Tempat Penelitian .....	27
B. Alat .....	27
C. Bahan .....	27
D. Metode .....	28
1. Preparasi Sampel .....	28
2. Medium Hidrolisis .....	29
E. Analisa .....	30
1. Pengukuran pH .....	30
2. Pengukuran Kadar Gula Reduksi (Metode DNS) .....	30
3. Pengukuran Pati (Metode Iodometri) .....	31
4. Pengukuran Fase Cair .....	31
5. Pengukuran Kadar Etanol .....	31
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	32



A. Proses Gelatinisasi .....	32
B. Pengaruh Penambahan <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> pada Proses Likuifikasi .....	36
C. Proses Sakarifikasi dan Fermentasi Simultan .....	43
1. Pengaruh Penambahan <i>Aspergillus niger</i> pada Proses Sakarifikasi dan Fermentasi Secara Simultan .....	48
2. Pengaruh Penambahan <i>Rhizopus oryzae</i> pada Proses Sakarifikasi dan Fermentasi Secara Simultan .....	52
3. Perbandingan Pengaruh Penambahan <i>Aspergillus niger</i> dan <i>Rhizopus oryzae</i> pada Proses Sakarifikasi dan Fermentasi Secara Simultan .....	56
<b>BAB V PENUTUP</b> .....	61
A. Simpulan .....	61
B. Saran .....	61
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	62
<b>LAMPIRAN</b> .....	67



## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kandungan nutrisi pada singkong .....	7
Tabel 2.2 Komposisi kimia kulit umbi singkong .....	10
Tabel 5.1 Pengaruh Pemanasan Terhadap Tepung Kulit Singkong .....	32
Tabel 5.2 Dinamika Perubahan Kadar Pati, Kadar Gula Reduksi, pH, dan Fase Cair Tahap Likuifikasi Tepung Kulit Singkong oleh <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> .....	37
Tabel 5.3 Dinamika Perubahan Kadar Pati, Kadar Gula Reduksi, pH, dan Etanol Tahap Sakarifikasi dan Fermentasi Simultan Tepung Kulit Singkong dengan <i>Aspergillus niger</i> dan <i>Rhizopus oryzae</i> .....	45

© UKDW

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Struktur molekul pati .....	12
Gambar 2.2	Cara kerja enzim pendegradasi amilum .....	14
Gambar 2.3	Fermentasi glukosa menjadi etanol dan CO <sub>2</sub> oleh khamir	25
Gambar 5.1	Kadar Pati Likuiifikasi .....	38
Gambar 5.2	Kadar gula Likuiifikasi .....	40
Gambar 5.3	Fase Cair Likuiifikasi .....	41
Gambar 5.4	Dinamika Kadar Pati dan Kadar Gula Reduksi <i>Aspergillus niger</i> pada Sakarifikasi dan Fermentasi Simultan .....	48
Gambar 5.5	Dinamika Kadar Gula dan Etanol <i>Aspergillus niger</i> pada Sakarifikasi dan Fermentasi Simultan .....	49
Gambar 5.6	Dinamika Kadar Pati dan Kadar Gula Reduksi <i>Rhizopus oryzae</i> pada Sakarifikasi dan Fermentasi Simultan	52
Gambar 5.7	Dinamika Kadar Gula Reduksi dan Etanol <i>Rhizopus oryzae</i> pada Sakarifikasi dan Fermentasi Simultan .....	53
Gambar 5.8	Dinamika Kadar Pati dan Kadar Gula Reduksi <i>Aspergillus niger</i> dan <i>Rhizopus oryzae</i> pada Sakarifikasi dan Fermentasi Simultan .....	56
Gambar 5.9	Dinamika Kadar Gula Reduksi dan Etanol <i>Aspergillus niger</i> dan <i>Rhizopus oryzae</i> pada Sakarifikasi dan Fermentasi Simultan .....	57



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Komposisi Medium .....	67
Lampiran 2	Metode Analisa .....	70
Lampiran 3	Dokumentasi .....	77

© UKDW

**PENGARUH PENAMBAHAN *Bacillus amyloliquefaciens*,  
*Aspergillus niger*, DAN *Rhizopus oryzae* PADA HIDROLISIS  
PATI KULIT SINGKONG (*Manihot sp*)  
SEBAGAI BAHAN BAKU PRODUKSI ETANOL**

**ABSTRAK**

**Oleh :**

**Ayu Bayu Pertiwi**

Bioetanol merupakan salah satu energi alternatif pengganti minyak bumi. Bahan limbah pertanian dan industri dapat digunakan untuk produksi bioetanol, salah satunya adalah kulit singkong. Produksi etanol dari pati kulit singkong melewati tahapan hidrolisis pati yaitu gelatinisasi, likuifikasi menggunakan *Bacillus amyloliquefaciens* dan sakarifikasi dan fermentasi simultan menggunakan *Rhizopus oryzae* dan *Saccharomyces cerevisiae* serta *Aspergillus niger* dan *Saccharomyces cerevisiae*. *Bacillus amyloliquefaciens* diketahui memiliki kemampuan menghasilkan  $\alpha$ -amilase sedangkan *Rhizopus oryzae* dan *Aspergillus niger* memiliki kemampuan menghasilkan glukoamilase yang berperan dalam hidrolisis pati kulit singkong.

Pada tahap gelatinisasi dilakukan dengan pemanasan yang dan terjadi suspensi tepung kulit singkong menjadi coklat jernih dan kenaikan viskositas. Pada tahap likuifikasi yang dilakukan dengan perlakuan *Bacillus amyloliquefaciens* terjadi peningkatan fase cair yang lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol, ditunjukkan dengan hasil berturut-turut 5,7 ml dan 6,6 ml dari 10 ml tiap pengambilan sampel selama 88 jam. Hasil ini menunjukkan hidrolisis pati pada perlakuan *Bacillus amyloliquefaciens* proses likuifikasi berjalan lebih cepat.

Dari perbandingan tahap sakarifikasi dan fermentasi simultan, dapat terlihat pada perlakuan *Rhizopus oryzae* memiliki kemampuan hidrolisis pati yang lebih besar dilihat dari penurunan kadar pati yang tinggi yaitu sebesar 1,07 % sedangkan pada *Aspergillus niger* mampu menghidrolisis pati sebesar 0,145 % . Dari perbandingan tahap sakarifikasi dan fermentasi simultan, kadar gula reduksi akhir pada *Rhizopus oryzae* menunjukkan hasil yang sedikit lebih tinggi yaitu 0,1535 % dibandingkan dengan *Aspergillus niger* yang memiliki kadar gula reduksi akhir 0,1426 % dan kadar etanol pada *Rhizopus oryzae* dapat terdeteksi hingga akhir fermentasi sebesar 0,25 % b/v , meskipun perbedaan antara perlakuan *Rhizopus oryzae* dan perlakuan *Aspergillus niger* ini tidak terlalu jauh berbeda.

**PENGARUH PENAMBAHAN *Bacillus amyloliquefaciens*,  
*Aspergillus niger*, DAN *Rhizopus oryzae* PADA HIDROLISIS  
PATI KULIT SINGKONG (*Manihot sp*)  
SEBAGAI BAHAN BAKU PRODUKSI ETANOL**

**ABSTRAK**

**Oleh :**

**Ayu Bayu Pertiwi**

Bioetanol merupakan salah satu energi alternatif pengganti minyak bumi. Bahan limbah pertanian dan industri dapat digunakan untuk produksi bioetanol, salah satunya adalah kulit singkong. Produksi etanol dari pati kulit singkong melewati tahapan hidrolisis pati yaitu gelatinisasi, likuifikasi menggunakan *Bacillus amyloliquefaciens* dan sakarifikasi dan fermentasi simultan menggunakan *Rhizopus oryzae* dan *Saccharomyces cerevisiae* serta *Aspergillus niger* dan *Saccharomyces cerevisiae*. *Bacillus amyloliquefaciens* diketahui memiliki kemampuan menghasilkan  $\alpha$ -amilase sedangkan *Rhizopus oryzae* dan *Aspergillus niger* memiliki kemampuan menghasilkan glukoamilase yang berperan dalam hidrolisis pati kulit singkong.

Pada tahap gelatinisasi dilakukan dengan pemanasan yang dan terjadi suspensi tepung kulit singkong menjadi coklat jernih dan kenaikan viskositas. Pada tahap likuifikasi yang dilakukan dengan perlakuan *Bacillus amyloliquefaciens* terjadi peningkatan fase cair yang lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol, ditunjukkan dengan hasil berturut-turut 5,7 ml dan 6,6 ml dari 10 ml tiap pengambilan sampel selama 88 jam. Hasil ini menunjukkan hidrolisis pati pada perlakuan *Bacillus amyloliquefaciens* proses likuifikasi berjalan lebih cepat.

Dari perbandingan tahap sakarifikasi dan fermentasi simultan, dapat terlihat pada perlakuan *Rhizopus oryzae* memiliki kemampuan hidrolisis pati yang lebih besar dilihat dari penurunan kadar pati yang tinggi yaitu sebesar 1,07 % sedangkan pada *Aspergillus niger* mampu menghidrolisis pati sebesar 0,145 % . Dari perbandingan tahap sakarifikasi dan fermentasi simultan, kadar gula reduksi akhir pada *Rhizopus oryzae* menunjukkan hasil yang sedikit lebih tinggi yaitu 0,1535 % dibandingkan dengan *Aspergillus niger* yang memiliki kadar gula reduksi akhir 0,1426 % dan kadar etanol pada *Rhizopus oryzae* dapat terdeteksi hingga akhir fermentasi sebesar 0,25 % b/v , meskipun perbedaan antara perlakuan *Rhizopus oryzae* dan perlakuan *Aspergillus niger* ini tidak terlalu jauh berbeda.

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang**

Krisis energi pada beberapa tahun terakhir ini semakin memprihatinkan. Hal ini disebabkan karena semakin tingginya kebutuhan masyarakat akan bahan bakar minyak yang merupakan bahan bakar fosil, sedangkan persediaan bahan bakar fosil yang semakin menipis, yang memicu harga minyak dunia tidak stabil, serta berbagai permasalahan yang terkait lingkungan dan politik yang ikut mempengaruhi produksi dan distribusi minyak dunia. Berdasarkan OPEC World Energy Model (OWEM) pada periode dari tahun 2010 hingga tahun 2020 permintaan akan meningkat hingga 106 juta bph (Departemen ESDM, 2004). Dari data tersebut perlu adanya pengembangan sumber energi alternatif yang dapat diperbaharui dan mengurangi ketergantungan terhadap bahan bakar fosil. Khususnya di Indonesia, pemerintah berharap ketergantungan terhadap bahan bakar fosil akan berkurang dari 52 % menjadi 20 % , seperti diterbitkan Peraturan Presiden No: 5 Tahun 2006 tentang kebijakan Energi Nasional untuk mengembangkan sumber energi alternatif sebagai bahan bakar pengganti minyak. Selain itu, pemerintah serius untuk mengembangkan bahan bakar nabati dengan menerbitkan INPRES No. 1 Tahun 2006 tanggal 25 Juni 2006 tentang penyediaan bahan bakar nabati (*biofuel*) sebagai sumber bahan bakar (Martono dan Sasongko, 2007).

Etanol merupakan salah satu bahan bakar alternatif yang sangat potensial untuk dikembangkan karena bersifat *renewable* dan ramah lingkungan. Indonesia sebagai negara yang sebagian besar rakyatnya petani dan memiliki lahan yang relatif luas, sebenarnya mudah untuk menyediakan bahan baku pembuat etanol. Terutama bahan bio-etanol, seperti singkong, jagung, gandum, sagu, kentang, molases (tetes), nira, jerami padi, dan ampas tebu. Etanol merupakan salah satu bahan bakar alternatif yang berperan penting dalam mengurangi dampak negatif pemakaian bahan bakar fosil (Cardona dan Sa´nchez,2007).

Pemakaian BBM dari bahan bakar fosil di dunia mencapai 80 %, di Indonesia kebutuhan BBM meningkat cukup tinggi yakni mencapai 5,6 % per tahun (Gozan *et al.* 2007). Hal ini menyebabkan Indonesia menjadi satu-satunya negara anggota OPEC yang telah mengimport minyak mentah sebanyak 487 ribu barel/hari sejak akhir tahun 2004. Maka penggunaan Bahan Bakar Nabati seperti bioetanol merupakan salah satu alternatif untuk mengatasi krisis BBM.

Bioetanol merupakan cairan tidak berwarna serta bersifat ramah lingkungan dimana hasil pembakaran berupa gas-gas pencemar udara seperti  $\text{NO}_x$  dan  $\text{CO}$  sangat kecil. Para peneliti menyimpulkan bahwa bioetanol tidak menimbulkan efek rumah kaca seperti bahan bakar fosil karena gas berbahaya seperti  $\text{CO}_2$  berkurang 22 % (Milan,2005). Bioetanol dapat digunakan sebagai pengganti premium/bensin dan kerosin (minyak tanah). Menurut Kusmiyati dan Haryoto (2007), pemakaian bioetanol di Industri Batik memiliki efisiensi lebih tinggi daripada minyak tanah karena nyala api yang dihasilkan stabil, tidak terlalu besar dan tidak mudah mati. Penggunaan bioetanol berkadar 60 % mempunyai



karakteristik sifat dan efisiensi yang lebih baik dibandingkan kadar bioetanol lain (40-90 %).

Bioetanol dapat diproduksi dari bahan baku yang mengandung gula, pati ataupun selulosa. Salah satu jenis sumber pati yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan baku produksi etanol adalah umbi-umbian. Umbi merupakan hasil pertanian yang mengandung karbohidrat atau pati. Jenis yang potensial digunakan untuk produksi bioetanol adalah singkong. Singkong merupakan komoditas hasil pertanian yang banyak ditanam di Indonesia dan merupakan sumber karbohidrat yang tinggi setelah beras, kandungan karbohidrat mencapai 98,4 % (Osunsami *et al.* 1988). Selain umbi singkong kulit singkong juga mempunyai kandungan pati yang dapat digunakan sebagai substrat pembuatan bioetanol. Kandungan pati yang terdapat pada kulit singkong sebesar 68-85 % dari berat keseluruhan kulit umbi singkong (Cuzin *et al.*, 1991).. Salah satu limbah yang dihasilkan dari proses produksi yang menggunakan umbi singkong sebagai bahan bakunya adalah limbah padat berupa kulit umbi singkong. Dari 10 miliar ton umbi singkong yang digunakan dapat menghasilkan kulit umbi singkong sebanyak 0,3 miliar ton. Dari total 0,3 miliar ton kulit umbi singkong yang dihasilkan, hanya 0,1 miliar ton yang digunakan untuk pakan ternak, pupuk, dan media pertumbuhan jamur (Sriroth, 2008). Data ini menunjukkan penggunaan kulit umbi singkong yang masih rendah. Dilihat dari segi lingkungan juga dapat mengurangi limbah dari singkong.

Penggunaan kulit umbi singkong yang terbatas disebabkan kemampuan manusia untuk mencerna kulit umbi singkong yang rendah serta sifat toksisitasnya

yang disebabkan karena kadar asam hidrosianik yang tinggi (Ubalua, 2007). Fakta ini menunjukkan bahwa kulit umbi singkong masih memiliki potensi untuk digunakan dalam menghasilkan suatu produk yang bermanfaat seperti etanol.

Hidrolisis pati merupakan salah satu reaksi yang terjadi sebelum pembuatan bioetanol terjadi dan merupakan langkah yang tidak kalah penting dalam pembuatan bioetanol dari bahan pati. Pati merupakan polisakarida sehingga perlu dihidrolisis untuk diperoleh senyawa yang lebih sederhana. Proses produksi etanol dari substrat berpati melibatkan dua tahapan. Tahap pertama adalah konversi pati menjadi gula sederhana (hidrolisis) dan tahap kedua adalah konversi gula sederhana menjadi etanol oleh khamir melalui proses fermentasi (Srinorakutara *et al.*, 2004). Hidrolisis pati dapat dilakukan melalui dua metode yakni secara enzimatik dan secara asam (Kolusheva & Marinova, 2006). Namun penggunaan asam pekat ini justru berdampak negatif pada lingkungan karena dapat merusak ekologi dan menjadi sumber polusi (Jung *et al.*, 2004). Hidrolisis pati dapat dilakukan dengan menggunakan agen bio yang menghasilkan enzim amilase. Adapun mikrobia yang mempunyai kemampuan dalam mengekskresi enzim amilase dari bakteri *Bacillus amyloliquefaciens* dan jamur *Aspergillus niger* serta *Rhizopus oryzae*. Penggunaan mikroorganisme sebagai mesin hayati penghasil enzim, memiliki banyak keuntungan, selain mudah diproduksi, juga mempunyai kecepatan tumbuh yang tinggi serta mudah dikontrol pertumbuhannya (Hardjo, 1989).

Pada tahap fermentasi etanol, gula sederhana yang terbentuk dari proses hidrolisis oleh khamir akan digunakan untuk metabolisme. Metabolisme khamir

akan dihasilkan produk akhir berupa etanol. Banyaknya etanol yang terbentuk sangat dipengaruhi oleh gula sederhana yang dapat dihasilkan dari proses hidrolisis.

### **B. Rumusan Masalah**

Apakah hidrolisis pati kulit singkong sebagai substrat pembuatan bioetanol menggunakan *Bacillus amyloliquefaciens* dan *Rhizopus oryzae* lebih baik daripada menggunakan *Bacillus amyloliquefaciens* dan *Aspergillus niger*.

### **C. Batasan Masalah**

Singkong yang digunakan adalah *Manihot* sp. Kulit umbi singkong yang digunakan adalah lapisan kulit umbi singkong yang berwarna putih (parenkim). Sedangkan lapisan kulit umbi singkong terluar yang berwarna coklat (periderm) tidak digunakan. Liquefikasi menggunakan *Bacillus amyloliquefaciens*. Sakarifikasi menggunakan jamur *Aspergillus niger* dan *Rhizopus oryzae* dan dilanjutkan sakarifikasi dan fermentasi simultan dengan penambahan khamir.

#### **D. Tujuan Penelitian**

Untuk mengetahui perlakuan mana yang lebih baik untuk menghidrolisis kulit umbi singkong sebagai substrat pembuatan bioetanol : dengan *Bacillus amyloliquefaciens* dan *Rhizopus oryzae* lebih baik daripada perlakuan *Bacillus amyloliquefaciens* dan *Aspergillus niger* .

#### **E. Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberi masukan pengetahuan maupun referensi untuk penelitian dan pengembangan berikutnya terkait dengan pembuatan etanol dari kulit singkong.



## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **A. Simpulan**

Penambahan *B. amyloxyquefaciens* pada likuifikasi berpengaruh positif terhadap jumlah air. Hidrolisis pati kulit singkong secara enzimatis menggunakan enzim amilolitik yang dihasilkan oleh *B. amyloxyquefaciens* dan *R. oryzae* merupakan perlakuan enzimatis yang sedikit lebih baik bila dibandingkan dengan *B. amyloxyquefaciens* dan *A. niger*. Kadar gula reduksi yang dihasilkan dari hidrolisis secara enzimatis *B. amyloxyquefaciens* dan *R. oryzae* lebih tinggi bila dibandingkan dengan kadar gula reduksi yang dihasilkan dari hidrolisis *B. amyloxyquefaciens* dan *A. niger*, dan hasil kadar etanol ditunjukkan sebesar 0,25% hingga akhir fermentasi.

#### **B. Saran**

1. Perlu dilakukan pengoptimalan enzim  $\alpha$ -amilase yang dihasilkan dari *B. amyloxyquefaciens* pada tahap hidrolisis, dapat dilakukan dengan amobilisasi enzim.
2. Perlu dilakukan modifikasi hidrolisis pati dengan pre gelatinisasi untuk mengurangi dampak dari terjadinya retrogradasi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aiyer, Prasanna V. 2005. *Amylases and Their Applications*. African Journal of Biotechnology Vol. 4 (13), pp. 1525-1529.
- Amerine, M. A., H. W. Breg, R.E. Kunkee, C.S. Ough, V.L. Leton, & A.D. Webb. 1982. *The Technology of Winemaking*. 4ed. AVI Publishing Co. Inc. Westport Conn.
- Apun K., BC. Jong & MA. Salleh. 2000. Screening and isolation of a cellulolytic and amylolytic *Bacillus* from sago pith waste. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 46: 263 -267.
- Aurangzeb, M. 1993. *Thesis: Studies on The Production of Raw Starch Hydrolyzing Amylolytic Enzymes By Various Microbes and Their Use In Ethanol Fermentation*. University of the Punjab. Lahore.
- B. Ghosh and R.R. Ray, 2010. Saccharification of Raw Native Starches by Extracellular Isoamylase of *Rhizopus oryzae*. *Biotechnology*, 9: 224-228.
- Bennett, J.W. 1985a. Molds, manufacturing and molecular genetics. In W.E. Timberlake, (ed.), *Molecular genetics of filamentous fungi*. Alan R. Liss, Inc., NY.
- Boyles D. 1984. *Bio Energy-technology, Thermodynamics, and Cost*. West Sussex: Ellis Horwood Limited.
- Campbell NA, Reece JB, and Mitchell. 2000. *Biology: edisi kelima jilid 1*. Jakarta: Erlangga.
- Cereda, M. P. & M. Takahashi. *Cassava Wastes: Their Characterization and Uses and Treatment in Brazil*. 4(25):221-232.
- Chaplin, M. 2004. *The Use of Enzymes in Detergents*. London South Bank University
- Crueger W. dan A. Crueger, 1984, "Biotechnology : A Textbook of Industrial Microbiology", Sinauer Ass. Inc., Sunderland-Sci. and Tech. Inc.
- Cuzin, N., J. L. Farinet, C. Segretain, M. Labat. 1991. *Methanogenic Fermentation of Cassava Peel Using a Pilot Plug Flow Digester*. *Bioresource Technology*. 41(1992):259-264.
- D'Appolonia, B. L. 1977. Effect of bread ingredient on starch gelatinization properties as measured by the amylograph. *J. Cereal Chem.* 9:532-543.
- Departemen ESDM RI, publikasi bulan Februari 2008.
- Devendra, C. 1977. Utilization of Feedingstuffs from the oil palm. Feedingstuffs for Livestock in South East Asia. P.116-131. Malaysian Agricultural research and Development Institute, Serdang, Selangor, Malaysia.
- Dhanya Gangadharan, Swetha S., Kesavan M. N. and A. Pandey,. 2006. *Solid Culturing of Bacillus amyloliquefacien for. Alpha Amylase Production*. *Food Technology and Biotechnology*. 44 (2). 269-274.
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Fardiaz, S., 1989. *Mikrobiologi Pangan*. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas IPB, Bogor.

- Fessenden & Fessenden. 1986. *Kimia Organik*. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Fleche, G. 1985. Chemical modification and degradation of starch. Di dalam : G.M.A.V. Beynum dan J.A Roels (eds.). *Starch Conversion Technology*. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Fogarty WM and Kelly CT. 1979. Starch Degrading Enzymes of a Microbial Origin, *Progres Industrial Microbiologi* 15, 88-150
- Frazier, W. C. dan D. C. Westhoff. 1978. *Food Microbiology* 4<sup>th</sup> edition. New York: McGraw-Hill Book. Publishing. Co. Ltd.
- Gottschalk, G. 1978. *Bacterial Metabolism*. Springer-Verlag. New York.
- Gozan M, Samsuri M, Fani SH, Bambang P, Nasikin M. 2007. Sakarifikasi dan fermentasi bagas menjadi ethanol menggunakan enzim selulase dan enzim sellobiase. *Jurnal Teknologi* 3: 1-6.
- Greenwood, C. T. 1979. Observation on The Structure of The Starch Granule. Di dalam J. M. V. Blanshard dan J. R. Mitchel (eds). *Polisaccharides in food*. Butter Worth London. , 2
- Hardjo, S., N.S., Indrasti dan T. Bantacut, 1989. *Biokonversi : Pemanfaatan Limbah Industry Pertanian*. PAU IPB Bogor.
- Ir.H. Rahmat Rukmana Ubi Kayu Budi Daya dan Pascapanen. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 1997.
- Jariyah, 2002. Analisis Komponen Gula Pada Sirup Maltosa Hasil Hidrolisis Pati Garut Secara Enzimatis. *Tesis*. Program Pascasarjana. Malang : Unibraw Malang.
- Jung, W. J., J. H. Kuk, K. Y. Kim, R. D. Park. 2004. *Demineralization of Red Crab Shell Waste by Lactic Acid Fermentation*. *Applied Microbiology Biotechnology*. **67**(2005):851-854.
- Kenneth J. Valentas, Leon Levine, J. Peter Clark, *Food processing operations and scale-up*. New York : Marcel Dekker, c1991.
- Khan FA bin Anwarali & AH. Salehin Salehin. 2006. Enhancing  $\alpha$  - Amylase and Cellulase *in vivo* enzyme expressions on sago pith residue using *Bacillus amyloliquefaciens* UMAS 1002. *Biotechnology* 5 (3): 391-403.
- Kolusheva, T. & A. Marinova. 2006. *A Study of The Optimal Conditions for Starch Hydrolysis Through Thermostable  $\alpha$ -Amylase*. *Journal of The University of Chemical Technology and Metallurgy*. **42**(1):93-96.
- Kusmiyati, Haryoto 2007. Pemanfaatan kompor bioetanol sebagai solusi mengatasi kelangkaan bahan bakar minyak pada pengrajin batik tradisional di Kampung Batik Laweyan Surakarta. [Laporan Penelitian]. Direktorat Penelitian dan Pengabdian Masyarakat, DIKTI, Departemen Pendidikan Nasional. Jakarta.
- Leticia López Zamora, José Amir González Calderón, Evangelina Trujillo Vázquez and Eusebio Bolaños Reynoso. 2010. *Optimization of Ethanol Production Process from Cassava Starch by Surface Response*. Departamento de Posgrado e Investigación.
- Liu, Cheng-Yi., Shao, Yi-Yuan and Tseng Kuo Hsuen, 1995. *Gelation Mechanism and Rheological Properties of Rice Starch*, *Cereal Chemistry* 72 (4).

- Lonsane, B. K. & Ghildyal, N. P.. Exoenzymes. In : Doelle, H. W., Mitchell, D.A. & Rolz, C. E. (eds). 1992. Solid Substrate Cultivation. London ElsevierApplied Science. p. 201
- Martono, B. dan Sasongko. 2007. *Prospek Pengembangan Ubi Kayu sebagai Bahan Baku Bioethanol*.
- Milan JM. 2005. Bioethanol production status and prospects. J Sci Food Agric 10: 42-56.
- Misset, O. 2003. *Xylose (Glucose) Isomerase*. In J.R. Whitaker., A.G.J. Voragen., and D.W.S. Wong (ed). Handbook of food enzymology. Meracell Dekker, Inc. New York. Hal 1057-1077.
- Motta, L. C. 1985. *Utilização de Resíduos de Industrias de Farinha de Mandioca em Digestão anaerobia. Thesis for Master of Agriculture*. Universidade Estadual Paulista. Botucatu. 130.
- Norman, B.B. 1981. *New Development In Starch Syrup Technology*. Di dalam G.G. Birch dan K.J. Parker (eds). Enzyme and food processing applied science publisher, Ltd. London.
- Oboh, G. 2006. *Nutrient Enrichment of Cassava Peels Using a Mixed Culture of Saccharomyces cerevisiae and Lactobacillus spp Solid Media Fermentation*. Electronic Journal of Biotechnology. 9(1):46-49.
- Ofuya, C. O. & Obilor S. N. 1993. *The Suitability of Fermented Cassava Peel as A Poultry Feedstuff*. Bioresource of Technology. (44):101-104.
- Osunsami AT, Akingbala JO, Oguntimein GB. 1988. Effect of storage on starch content and modification of cassava starch. Faculty of Technology, University of Ibadan, Department of Food Technology. Ibadan, Nigeria.
- Pelezar, M. dan Chan. 1988. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: UI Press
- Sanchez, O. J., dan Cardona, C. A.. 2007. *Review: Trends of Biotechnological Production of Fuel Ethanol from Different Feedstocks*. Bioresource Technology, Artikel in Press, 1-26.
- Prescott SC dan Dunns, 1959. Industrial Microbiology 3rd Edition. Avi Publishing Company, New York. *Production: a review*”, Bioresource Technology, vol 83 hal 1-11.
- Prihandana R, Noerwijari K, Adinurani G. P, Setiadi S dan Hendroko R. 2007. Bioetanol ubi kayu bahan bakar masa depan. AgroMedia Pustaka. Jakarta.
- Purba, Elida. 2009. Laporan Penelitian: Hidrolisis Pati Ubi Kayu (Manihot Esculenta) Dan Pati Ubi Jalar (Ipomea Batatas) Menjadi Glucosa Secara Cold Process Dengan Enzim Acid Fungal Amilase DAN Glukoamilase. Fakultas Teknik Unila. Lampung.
- Rahayu, E. S. & K. Rahayu. 1988. *Teknologi Pengolahan Minuman Beralkohol*. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Rao, D. M., A. V. N. Swamy, G. SivaRamaKrishna. 2007. *An Overview: Bioprocess Technology Strategies, Production, and Purification of Amylases*. The Internet Journal of Genomics and Proteomics. 2(2).
- Rindit, Pambaylun, dkk. 1998. Laporan Penelitian : Mempelajari Hidrolisis Pati Gadung (Dioscorea hispida Dernt) dengan Enzim  $\alpha$ -amilase dan



- Glukoamilase untuk Pembuatan Sirup Glukosa. Fakultas Pertanian UNSRI. Palembang.
- Rose, A.H. 1980. Economic Microbiology Volume 5. Microbial Enzymes and Bioconversions. Academic Press. London.
- Samsuri, M., M. Gozan, R. Mardias, M. Baiquni, H. Hermansyah, A. Wijanarko, B. Prasetya, dan M. Nasikin. 2007. *Pemanfaatan selulosa bagas untuk produksi etanol melalui sakarifikasi dan fermentasi serentak dengan enzim xylanase*. Makara, Teknologi Vol. 11 No. 1, 17-24.
- Schenck, F. W. And Hebeda, Ronald E. 1992. *Starch Hydrolysis Products*. New York: New York Publisher, Inc.
- Sivaramakrishnan, S.; Gangadaran, D.; Nampoothiri, K.M.; Soccol, C.R.; Pandey, A.,  *$\alpha$ -Amylase from microbial sources – An overview on recent developments*, Food Technology and Biotechnology, 2006, Vol. 44 (2), 173–184.
- Sobowale, Olurin T. O., Oyewole O. B. 2007. *Effect of Lactic Acid Bacteria Starter Culture Fermentation of Cassava on Chemical and Sensory Characteristics of Fufu Flour*. African Journal of Biotechnology. 6(16):1954-1958.
- Soetrisno, N. S., 1996. Bunga Rampai Tempe Indonesia. Jakarta: Yayasan Tempe Indonesia.
- Srinorakutara, T., Cholada S., Bongotrat P., Wichien K., Sirintip C. 2004. *Utilization of Waste from Cassava Starch Plant for Ethanol Production; The Join International Conference*. Hua Hin.
- Sriroth & Klanarong. 2008. *Outlook of Biomass Utilization as Biofuel in Thailand*. [www.cassava.org](http://www.cassava.org)
- Sudarmadji S, Kasmidjo R, Sardjono, Wibowo D, Margino S, dan Rahayu ES, 1989. Mikrobiologi Pangan. UG M, Yogyakarta.
- Sun, Y., Cheng, J. (2002). *Hidrolisis of Lignocellulose Material for Ethanol*
- Swinkels, J.J.M. 1985. Source of starch, its chemistry and physics. Di dalam G.M.A.V. Beynum dan J.A Roels (eds.). Starch Conversion Technology. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Tjokroadikoesoemo. 1986. *HFS dan Industri Ubi Kayu Lainnya*. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Ubalua, A. O. 2007. *Review; Cassava Wastes: Treatment Options and Value Addition Alternatives*. African Journal of Biotechnology. 6(18):2065-2073.
- Van der Maarel, M.J.E.C.; van der Veen, B.; Uitdehaag, J.C.M.; Leemhuis, H.; Dijkhuizen, L., *Properties and applications of starchconverting enzymes of the  $\alpha$ -amylase family*, Journal of Biotechnology, 2002, Vol. 94(2), 137-155.
- Whitt, B., 2002, Genetic Diversity and Selection in The Maize Starch Pathway. PNAS Vol 99 No. 20 12959-12962
- Winarno FG. 1995. Enzim pangan. Jakarta: Gramedia pustaka utama.
- Winarno, F. G. 1992. *Kimia Pangan dan Gizi*. Penerbit PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Winarno, F. G. 1997. *Kimia Pangan dan Gizi*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

- Wizna, Abbas H., Y. Rizal, A. Dharma, & PI. Kompiang., 2008. Improving the quality of sago pith and rumen content as poultry feed through fermentation by *Bacillus amyloliquefaciens*. *Pakistan J. Nut.* 7(2): 249 – 254.
- Zaldivar, J, Nielsen, J and Olsson.2001. *Fuel ethanol production from lignocellulose: a challenge for metabolic engineering and process integration*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 56 : 17-34.
- Zobel HF (1984) *Gelatinization of Starch and Mecanical Properties of Starch Pastes in Starch : Chemistry and Technology*, Academic Press Inc, New York.

© UKDW