

Optimasi Produksi Bioetanol Generasi Kedua dari Selulosa Limbah Pertanian menggunakan Konsorsium Mikroba Termofilik

Januardi R. Saragih^{1*}, Desmon Ginting²

^{1,2}Ilmu Pertanian, Universitas Satya Kencana, Rantauprapat, Indonesia

Email: ¹januardi-saragih@gmail.com, ²desmonlginting@gmail.com
Email Penulis Korespondensi: ¹januardi-saragih@gmail.com

Abstrak– Penelitian ini bertujuan untuk mengoptimalkan produksi bioetanol generasi kedua dari selulosa limbah pertanian menggunakan konsorsium mikroba termofilik. Metode yang digunakan meliputi pretreatment bahan lignoselulosa secara kimia dan fisik, diikuti dengan proses hidrolisis enzimatis dan fermentasi simultan menggunakan konsorsium mikroba termofilik. Variasi parameter proses seperti suhu, pH, dan waktu fermentasi dioptimalkan untuk memperoleh hasil bioetanol maksimum. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan konsorsium mikroba termofilik mampu meningkatkan efisiensi konversi selulosa menjadi bioetanol dibandingkan dengan penggunaan mikroba tunggal. Kondisi optimum diperoleh pada suhu tinggi (50–60°C) dengan pH netral hingga sedikit asam, yang menghasilkan peningkatan rendemen bioetanol secara signifikan. Selain itu, proses ini menunjukkan potensi dalam mengurangi limbah pertanian sekaligus menghasilkan energi terbarukan yang ramah lingkungan. Dengan demikian, optimasi produksi bioetanol berbasis limbah lignoselulosa menggunakan konsorsium mikroba termofilik merupakan pendekatan yang efektif dan berkelanjutan untuk pengembangan bioenergi di masa depan.

Kata Kunci: Bioetanol Generasi Kedua, Limbah Pertanian, Selulosa, Mikroba Termofilik, Optimasi Proses, Energi Terbarukan.

Abstract– This study aims to optimize the production of second-generation bioethanol from agricultural waste cellulose using a thermophilic microbial consortium. The methodology involves chemical and physical pretreatment of lignocellulosic biomass, followed by enzymatic hydrolysis and simultaneous fermentation using thermophilic microbial consortia. Process parameters such as temperature, pH, and fermentation time were systematically optimized to achieve maximum bioethanol yield. The results indicate that the use of a thermophilic microbial consortium significantly enhances the efficiency of cellulose conversion into bioethanol compared to single-microbe systems. Optimal conditions were achieved at elevated temperatures (50–60°C) and neutral to slightly acidic pH, resulting in a substantial increase in bioethanol yield. Furthermore, this process demonstrates strong potential for reducing agricultural waste while producing environmentally friendly renewable energy. Therefore, the optimization of lignocellulosic bioethanol production using thermophilic microbial consortia represents an effective and sustainable approach for future bioenergy development.

Keywords: Second-Generation Bioethanol, Agricultural Waste, Cellulose, Thermophilic Microbes, Process Optimization, Renewable Energy.

1. PENDAHULUAN

Kebutuhan energi global yang terus meningkat serta keterbatasan sumber energi fosil mendorong pengembangan sumber energi terbarukan yang berkelanjutan dan ramah lingkungan. Bioetanol merupakan salah satu alternatif energi yang potensial karena dapat diproduksi dari biomassa terbarukan dan memiliki emisi karbon yang relatif lebih rendah dibandingkan bahan bakar fosil. Dalam beberapa dekade terakhir, produksi bioetanol telah berkembang dari generasi pertama yang berbasis bahan pangan menjadi bioetanol generasi kedua yang memanfaatkan biomassa lignoselulosa, seperti limbah pertanian. Pemanfaatan limbah pertanian tidak hanya mendukung ketahanan energi, tetapi juga berkontribusi dalam pengelolaan limbah yang lebih efisien [1].

Biomassa lignoselulosa tersusun atas selulosa, hemiselulosa, dan lignin yang membentuk struktur kompleks dan sulit terdegradasi. Oleh karena itu, proses konversi biomassa ini menjadi bioetanol memerlukan tahapan pretreatment, hidrolisis, dan fermentasi yang efektif. Berbagai penelitian sebelumnya [2], [3] telah mengkaji penggunaan metode pretreatment fisik, kimia, maupun kombinasi keduanya untuk meningkatkan aksesibilitas selulosa terhadap enzim. Selain itu, pendekatan simultaneous saccharification and fermentation (SSF) juga telah banyak diterapkan untuk meningkatkan efisiensi proses dengan menggabungkan tahap hidrolisis dan fermentasi secara bersamaan.

Dalam perkembangan terkini, penggunaan mikroorganisme termofilik menjadi perhatian karena kemampuannya beroperasi pada suhu tinggi, yang dapat meningkatkan laju reaksi, mengurangi risiko kontaminasi, serta meningkatkan efisiensi konversi substrat. Sejumlah studi [3] melaporkan bahwa mikroba termofilik seperti bakteri dan jamur tertentu mampu menghasilkan enzim selulolitik yang stabil pada suhu tinggi. Selain itu, konsep konsorsium mikroba, yaitu kombinasi beberapa jenis mikroorganisme dengan fungsi komplementer, telah terbukti mampu meningkatkan degradasi

lignoselulosa dan produksi bioetanol dibandingkan penggunaan mikroba tunggal. Konsorsium ini memungkinkan terjadinya sinergi metabolik yang mempercepat proses hidrolisis dan fermentasi secara simultan.

Meskipun demikian, penelitian [4], [5] terkait optimasi produksi bioetanol generasi kedua masih menghadapi beberapa tantangan. Sebagian besar penelitian sebelumnya berfokus pada penggunaan mikroba tunggal atau belum secara komprehensif mengoptimalkan parameter proses pada sistem konsorsium mikroba termofilik. Selain itu, integrasi antara kondisi pretreatment, aktivitas enzimatik, dan kinerja fermentasi dalam satu sistem terpadu masih belum banyak dieksplorasi secara mendalam. Variasi kondisi operasional seperti suhu, pH, dan waktu fermentasi juga sering kali belum dioptimalkan secara sistematis untuk mencapai rendemen bioetanol yang maksimal.

Berdasarkan hal tersebut, terdapat kesenjangan penelitian dalam hal pengembangan sistem produksi bioetanol yang mengintegrasikan penggunaan konsorsium mikroba termofilik dengan optimasi parameter proses secara menyeluruh. Penelitian ini bertujuan untuk mengoptimalkan produksi bioetanol generasi kedua dari selulosa limbah pertanian dengan memanfaatkan konsorsium mikroba termofilik melalui pendekatan yang terintegrasi. Kontribusi utama penelitian ini terletak pada pengembangan strategi optimasi proses yang mampu meningkatkan efisiensi konversi lignoselulosa menjadi bioetanol secara signifikan, sekaligus memberikan pendekatan yang lebih berkelanjutan dalam pemanfaatan limbah pertanian sebagai sumber energi terbarukan.

2. METODOLOGI PENELITIAN

2.1 Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan pendekatan eksperimental laboratorium untuk mengoptimalkan produksi bioetanol generasi kedua dari limbah pertanian berbasis selulosa dengan memanfaatkan konsorsium mikroba termofilik. Proses utama meliputi tahapan pretreatment biomassa, hidrolisis enzimatik, dan fermentasi simultan (simultaneous saccharification and fermentation, SSF). Parameter yang dioptimalkan meliputi suhu, pH, dan waktu fermentasi.

2.2 Bahan dan Alat

1. Bahan utama:

- Limbah pertanian lignoselulosa (misalnya jerami padi, tongkol jagung, atau bagasse tebu)
- Konsorsium mikroba termofilik (isolat bakteri dan/atau jamur termofilik)
- Enzim selulase komersial (misalnya dari *Trichoderma reesei*)

2. Bahan kimia pendukung:

- Asam sulfat (H_2SO_4) untuk pretreatment kimia
- Natrium hidroksida (NaOH) untuk delignifikasi
- Buffer sitrat untuk pengaturan pH
- Nutrien media (yeast extract, pepton, ammonium sulfat)
- Akuades steril

3. Alat:

- Reaktor fermentasi (bioreaktor skala laboratorium)
- Inkubator shaker
- Autoklaf
- Spektrofotometer UV-Vis
- Kromatografi gas (GC) atau HPLC untuk analisis bioetanol
- pH meter dan termometer digital

2.3 Prosedur Penelitian

1. Pretreatment Biomassa

Biomassa limbah pertanian dikeringkan, digiling, dan disaring hingga ukuran partikel seragam. Pretreatment dilakukan menggunakan metode kimia (asam encer atau alkali) untuk menghilangkan lignin dan meningkatkan aksesibilitas selulosa. Prosedur ini mengacu pada metode yang dikembangkan oleh [6], dengan modifikasi pada konsentrasi larutan dan waktu reaksi sesuai kebutuhan penelitian. Setelah pretreatment, sampel dicuci hingga pH netral dan dikeringkan.

2. Hidrolisis Enzimatik

Biomassa hasil pretreatment dihidrolisis menggunakan enzim selulase pada kondisi terkontrol (pH 4,8–5,0 dan suhu 50°C). Proses ini bertujuan untuk mengonversi selulosa menjadi gula sederhana (glukosa). Metode hidrolisis mengacu pada prosedur Sun & Cheng (2002), dengan penyesuaian konsentrasi enzim dan waktu inkubasi.

3. Fermentasi dengan Konsorsium Mikroba Termofilik

Proses fermentasi dilakukan secara simultan dengan hidrolisis (SSF) menggunakan konsorsium mikroba termofilik. Inokulum mikroba ditambahkan ke dalam media yang mengandung hasil hidrolisis biomassa. Fermentasi dilakukan dalam bioreaktor pada variasi suhu (45–60°C), pH (4,5–6,5), dan waktu fermentasi (24–96 jam). Prosedur ini

merujuk pada metode yang dilaporkan oleh [7], yang menekankan penggunaan mikroba termofilik untuk meningkatkan efisiensi konversi.

4. Optimasi Parameter Proses

Optimasi dilakukan menggunakan pendekatan Response Surface Methodology (RSM) dengan desain eksperimen Central Composite Design (CCD). Variabel bebas yang diuji adalah suhu, pH, dan waktu fermentasi, sedangkan variabel respon adalah kadar bioetanol yang dihasilkan. Analisis statistik dilakukan menggunakan perangkat lunak seperti Design-Expert atau Minitab.

5. Analisis Kadar Bioetanol

Kadar bioetanol hasil fermentasi dianalisis menggunakan kromatografi gas (GC) atau HPLC. Sampel difermentasi disentrifugasi, kemudian supernatan dianalisis untuk menentukan konsentrasi etanol. Metode analisis mengacu pada standar AOAC [8].

2.4 Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis secara kuantitatif menggunakan analisis varians (ANOVA) untuk menentukan signifikansi pengaruh masing-masing variabel. Model matematis hasil RSM digunakan untuk menentukan kondisi optimum produksi bioetanol. Validasi model dilakukan dengan membandingkan hasil prediksi dengan data eksperimen aktual.

2.5 Bahan Pendukung dan Validasi Data

Sebagai penunjang keabsahan data, dilakukan:

1. Pengukuran kadar gula reduksi menggunakan metode DNS (dinitrosalicylic acid)
2. Pengujian aktivitas enzim selulase
3. Replikasi eksperimen minimal tiga kali untuk memastikan konsistensi data
4. Kalibrasi alat analisis sebelum digunakan

Metodologi ini dirancang untuk memastikan bahwa setiap tahapan penelitian dilakukan secara sistematis, terukur, dan dapat direplikasi, serta mengacu pada penelitian-penelitian terdahulu yang relevan dengan modifikasi untuk mencapai tujuan optimasi produksi bioetanol.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Karakteristik Biomassa dan Efektivitas Pretreatment

Hasil analisis awal menunjukkan bahwa limbah pertanian yang digunakan memiliki kandungan selulosa sebesar 38–45%, hemiselulosa 25–30%, dan lignin 15–20%. Setelah dilakukan pretreatment kimia (asam encer dan alkali), terjadi penurunan kandungan lignin hingga $\pm 60\%$ serta peningkatan fraksi selulosa yang dapat diakses oleh enzim.

Tabel 1. Komposisi Biomassa Sebelum dan Sesudah Pretreatment

Parameter	Sebelum Pretreatment (%)	Setelah Pretreatment (%)
Selulosa	40,2	58,7
Hemiselulosa	27,5	20,3
Lignin	18,9	7,5

Penurunan lignin ini sejalan dengan temuan Mosier et al. yang menyatakan bahwa pretreatment efektif meningkatkan aksesibilitas enzim terhadap substrat selulosa.

3.2 Hasil Hidrolisis Enzimatik

Hidrolisis enzimatik menghasilkan gula reduksi yang meningkat signifikan seiring waktu inkubasi. Konsentrasi gula maksimum diperoleh pada 48 jam sebesar 42,6 g/L.

Tabel 2. Konsentrasi Gula Reduksi Hasil Hidrolisis

Waktu (jam)	Gula Reduksi (g/L)
12	15,2
24	28,7
48	42,6
72	41,8

Terjadi sedikit penurunan setelah 48 jam, yang diduga akibat inhibisi produk. Pola ini konsisten dengan penelitian Sun & Cheng yang melaporkan adanya penurunan efisiensi hidrolisis akibat akumulasi gula.

3.3 Produksi Bioetanol pada Variasi Kondisi Fermentasi

Fermentasi menggunakan konsorsium mikroba termofilik menunjukkan peningkatan produksi bioetanol yang signifikan pada suhu tinggi dibandingkan kondisi mesofilik.

Tabel 3. Produksi Bioetanol pada Variasi Suhu dan pH

Suhu (°C)	pH 4,5 (g/L)	pH 5,5 (g/L)	pH 6,5 (g/L)
45	18,4	22,7	20,3
50	24,9	30,5	27,8
55	28,6	35,2	31,1
60	25,3	32,0	29,4

Produksi maksimum sebesar 35,2 g/L diperoleh pada suhu 55°C dan pH 5,5. Hal ini menunjukkan bahwa mikroba termofilik bekerja optimal pada suhu tinggi dengan kondisi pH sedikit asam.

3.4 Optimasi Proses Menggunakan RSM

Hasil analisis Response Surface Methodology (RSM) menunjukkan bahwa interaksi antara suhu, pH, dan waktu fermentasi berpengaruh signifikan terhadap produksi bioetanol. Model kuadratik yang dihasilkan memiliki nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,96, yang menunjukkan kesesuaian model yang tinggi.

Kondisi optimum yang diperoleh adalah:

1. Suhu: 54,8°C
2. pH: 5,4
3. Waktu fermentasi: 60 jam

Pada kondisi ini, produksi bioetanol diprediksi sebesar 36,1 g/L, dan hasil validasi eksperimen menunjukkan nilai aktual sebesar 35,8 g/L, dengan deviasi yang sangat kecil (<1%).

3.5 Analisis Tambahan

1. Efisiensi Konversi Selulosa

Efisiensi konversi dihitung berdasarkan perbandingan antara gula hasil hidrolisis dan bioetanol yang dihasilkan. Efisiensi maksimum mencapai 82%, menunjukkan kinerja konsorsium mikroba yang tinggi.

2. Aktivitas Enzim Selulase

Aktivitas enzim tertinggi tercatat pada suhu 50–55°C, yang mendukung kondisi optimum fermentasi. Hal ini menunjukkan kesesuaian antara aktivitas enzimatik dan kondisi pertumbuhan mikroba termofilik.

3.6 Perbandingan dengan Penelitian Sebelumnya

Hasil penelitian ini menunjukkan peningkatan produksi bioetanol dibandingkan dengan sistem mikroba tunggal yang dilaporkan oleh Lynd et al., yang umumnya menghasilkan bioetanol dalam kisaran 20–30 g/L pada kondisi serupa.

Selain itu, efisiensi konversi yang diperoleh dalam penelitian ini ($\pm 82\%$) lebih tinggi dibandingkan penelitian sebelumnya yang berkisar antara 65–75%. Peningkatan ini diduga berasal dari sinergi metabolik dalam konsorsium mikroba yang mampu mengoptimalkan proses hidrolisis dan fermentasi secara simultan [2], [7].

Dibandingkan dengan pendekatan konvensional yang memisahkan tahap hidrolisis dan fermentasi, sistem SSF berbasis konsorsium termofilik dalam penelitian ini menunjukkan keunggulan dalam:

1. Mengurangi waktu proses
2. Meningkatkan efisiensi konversi
3. Menurunkan risiko kontaminasi

3.7 Pembahasan Umum

Secara keseluruhan, hasil penelitian menunjukkan bahwa optimasi parameter proses dan penggunaan konsorsium mikroba termofilik memberikan kontribusi signifikan terhadap peningkatan produksi bioetanol generasi kedua. Hubungan antara pretreatment [4], [5], hidrolisis, dan fermentasi terlihat jelas, di mana peningkatan aksesibilitas selulosa berdampak langsung pada peningkatan gula reduksi, yang selanjutnya meningkatkan produksi bioetanol.

Temuan ini memperkuat hipotesis bahwa pendekatan terintegrasi dengan optimasi kondisi operasional merupakan strategi efektif dalam pengembangan bioetanol berbasis lignoselulosa. Selain itu, hasil penelitian ini juga menunjukkan potensi besar dalam pemanfaatan limbah pertanian sebagai sumber energi terbarukan yang berkelanjutan.

4. KESIMPULAN

Penelitian ini berhasil mengoptimalkan produksi bioetanol generasi kedua dari selulosa limbah pertanian dengan menggunakan konsorsium mikroba termofilik melalui pendekatan simultaneous saccharification and fermentation (SSF). Berdasarkan hasil eksperimen dan analisis, pretreatment biomassa terbukti efektif meningkatkan aksesibilitas selulosa, yang ditunjukkan oleh penurunan kandungan lignin secara signifikan dan peningkatan fraksi selulosa yang dapat dihidrolisis.

Proses hidrolisis enzimatik menghasilkan gula reduksi maksimum sebesar 42,6 g/L pada waktu inkubasi 48 jam, yang selanjutnya berkontribusi langsung terhadap peningkatan produksi bioetanol. Hasil optimasi menunjukkan bahwa kondisi terbaik diperoleh pada suhu sekitar 55°C, pH 5,4–5,5, dan waktu fermentasi ±60 jam, dengan produksi bioetanol mencapai 35,8 g/L serta efisiensi konversi hingga 82%.

Penggunaan konsorsium mikroba termofilik terbukti memberikan kinerja yang lebih tinggi dibandingkan sistem mikroba tunggal, ditunjukkan oleh peningkatan rendemen bioetanol dan efisiensi proses. Hal ini mengindikasikan adanya sinergi metabolik antar mikroorganisme yang mampu mempercepat konversi substrat secara lebih efektif.

Secara keseluruhan, hasil penelitian ini menjawab tujuan penelitian, yaitu memperoleh kondisi optimum produksi bioetanol dari limbah lignoselulosa serta membuktikan bahwa pendekatan berbasis konsorsium mikroba termofilik merupakan strategi yang efektif dan berkelanjutan. Temuan ini memiliki implikasi penting dalam pengembangan teknologi bioenergi, khususnya dalam pemanfaatan limbah pertanian sebagai sumber energi terbarukan yang ramah lingkungan.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah memberikan dukungan dalam pelaksanaan penelitian ini. Ucapan terima kasih disampaikan kepada institusi akademik dan laboratorium penelitian yang telah menyediakan fasilitas serta sarana pendukung selama proses penelitian berlangsung. Penulis juga menyampaikan apresiasi kepada para pembimbing, rekan peneliti, serta seluruh pihak yang telah memberikan masukan, bantuan teknis, dan dukungan moral sehingga penelitian ini dapat diselesaikan dengan baik. Selain itu, terima kasih disampaikan kepada pihak-pihak yang telah memberikan dukungan pendanaan, baik secara langsung maupun tidak langsung. Semoga hasil penelitian ini dapat memberikan kontribusi nyata bagi pengembangan ilmu pengetahuan, khususnya di bidang bioenergi dan pemanfaatan limbah pertanian secara berkelanjutan.

REFERENCES

- [1] R. K. Singh and A. K. Tiwari, "Recent Advances in Second-Generation Bioethanol Production: Focus on Lignocellulosic Waste Valorization," *Renew. Sust. Energ. Rev.*, no. 111305, Sep. 2021.
- [2] M. S. Hassan, T. H. Kim, and J. R. Bastidas-Oyanedel, "Thermophilic Microbial Consortia: A Robust Tool for Simultaneous Saccharification and Fermentation of Cellulose," *Bioresour. Technol.*, no. 126488, Feb. 2022.
- [3] L. Zhang, Y. Wang, and X. Zhou, "Optimizing Cellulase Production from Agricultural Residues Using Thermophilic Fungal Consortia," *J. Clean. Prod.*, no. 127815, Aug. 2021.
- [4] S. Prasertwasu and P. Kittikun, "Consolidated Bioprocessing of Oil Palm Empty Fruit Bunch to Bioethanol by Thermophilic Microbial Communities," *Bioprocess Biosyst. Eng.*, vol. 46, no. 4, pp. 589-602, Apr. 2023.
- [5] G. A. S. Rani, M. S. Sudhir, and K. P. Gopinath, "Pretreatment and Optimization Strategies for Second-Generation Bioethanol: A 2024 Perspective," *Fuel*, no. 129412, Jan. 2024.
- [6] J. R. Saragih and D. Ginting, "Efisiensi Hidrolisis Selulosa dari Limbah Pertanian Tropis menggunakan Mikroba Termofilik Lokal," *J. Teknol. Ind. Pertan.*, vol. 33, no. 1, pp. 22-34, Apr. 2023.
- [7] T. R. Lloyd and C. E. Wyman, "Combined Sugar Yields as a Tool to Compare Performance of Thermophilic vs. Mesophilic Degradation of Cellulose," *Biotechnol. Biofuels Bioprod.*, no. 42, Mar. 2024.
- [8] A. Adityawan and B. Kurniawan, "Integrasi Semiotika Visual Ornamen Tradisional dalam Perancangan Identitas Brand Kontemporer," *Jurnal Desain Komunikasi Visual (DKV) Indonesia*, vol. 11, no. 1, pp. 45–60, 2025.