

# PEMANFAATAN *SPIROGYRA* SEBAGAI BAHAN BAKU BIOETANOL DENGAN PENAMBAHAN ENZIM $\alpha$ -AMILASE

## APPLICATION OF *SPIROGYRA* AS RAW MATERIAL FOR BIOETHANOL PRODUCTION WITH $\alpha$ -AMYLASE ADDITION

Sulfahri<sup>1)</sup>, Siti Mushlihah<sup>2)</sup>, Renia Setyo Utami<sup>2)</sup>, dan Eko Sunarto<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Jurusan Biologi, FMIPA-ITS

<sup>2)</sup>Jurusan Teknik Lingkungan, FTSP-ITS

Jl. Arief Rahman Hakim, Sukolilo, Surabaya 60111

<sup>1)</sup>e-mail: sulfahri@bio.its.ac.id

### Abstrak

Salah satu solusi alternatif untuk memenuhi kebutuhan bahan bakar adalah dengan memproduksi bioetanol dari konsumsi tanaman seperti jagung dan singkong. Produksi bioetanol dari tanaman tidak efektif karena memerlukan lahan besar untuk memasok kebutuhan bioetanol negara. Penelitian ini membahas penggunaan *Spirogyra* untuk produksi bioetanol melalui proses fermentasi dengan penambahan enzim  $\alpha$ -amilase dalam konsentrasi yang berbeda dari 0, 0.03, 0.06, dan 0.09 g dalam 50 mL. Pengukuran kadar etanol dilakukan melalui proses destilasi. Data yang diperoleh dari proses destilasi dianalisis dengan *analysis of variance* (ANOVA) untuk mengetahui pengaruh perbedaan penambahan jumlah enzim  $\alpha$ -amilase terhadap kadar etanol yang dihasilkan. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penambahan enzim  $\alpha$ -amilase berpengaruh terhadap jumlah etanol yang dihasilkan dari fermentasi ekstrak *Spirogyra*. Perlakuan dengan penambahan enzim  $\alpha$ -amilase sebanyak nol menghasilkan etanol dalam jumlah yang tidak signifikan. Sedangkan, perlakuan penambahan enzim  $\alpha$ -amilase 0,06 g/50 mL dalam waktu fermentasi 10 hari menghasilkan konsentrasi etanol tertinggi sebesar 9,245%.

Kata kunci: ganggang *Spirogyra*, bioetanol, enzim  $\alpha$ -amilase.

### Abstract

One alternative solution to cope with the increased demand of fuels is the production of bioethanol from plants consumption such as maize and cassava. However, bioethanol production from plants is not effective because it require a large land area in order to supply the needs of bioethanol in a country. This study discusses the use of *Spirogyra* for bioethanol production with the addition of the  $\alpha$ -amylase enzyme in different concentrations of 0, 0.03, 0.06, and 0.09 g in 50 mL solution. Ethanol was measured by distillation. The influence of differences in amylase addition in different concentrations to ethanol production were analyzed using *analysis of variance* (ANOVA). The results showed that  $\alpha$ -amylase addition gave influence on ethanol production by *Spirogyra*. Ethanol formation in control reactor with zero addition of  $\alpha$ -amylase was insignificant. Addition of  $\alpha$ -amylase enzyme of 0.06 g/50 mL in 10 day fermentation time produced highest ethanol concentration of 9.245%.

Keywords: algae *Spirogyra*, bioethanol,  $\alpha$ -amylase enzyme .

## 1. PENDAHULUAN

Kebutuhan bahan bakar semakin meningkat seiring dengan peningkatan jumlah populasi dan aktivitas manusia. Tingkat kebutuhan bahan bakar minyak (BBM) di Indonesia mencapai 1,3 juta barrel per hari hingga Maret 2008, padahal produksi BBM nasional hanya sebesar 900 ribu barrel per hari. Oleh karena itu, dibutuhkan sumber energi pengganti. Bahan dasar energi pengganti tersebut banyak terdapat di Indonesia dan belum dimanfaatkan. Total produksi bioetanol Indonesia hingga 30 Juni 2008 hanya 160.000 kiloliter per tahun (Portal Nasional RI, 2008). Oleh karena itu, Indonesia masih memerlukan sumber bahan bakar bioetanol yang lebih efektif.

Indonesia telah dikenal luas sebagai negara yang memiliki wilayah dan lahan yang luas. Selain itu, banyak perairan air tawar terdapat di Indonesia misalnya sungai dan danau. Pada daerah perairan tersebut banyak organisme yang dapat hidup misalnya *algae*. Ditinjau secara biologi, *algae* merupakan kelompok tumbuhan yang berklorofil, terdiri dari satu atau banyak sel dan berbentuk koloni. *Algae* memiliki kandungan bahan-bahan organik seperti polisakarida, hormon, vitamin, mineral, dan juga senyawa bioaktif. Sejauh ini, pemanfaatan *algae* sebagai komoditi perdagangan atau bahan baku industri masih relatif kecil jika dibandingkan dengan keanekaragaman jenis *algae* yang ada di Indonesia. Padahal komponen kimiawi yang terdapat dalam *algae* sangat bermanfaat bagi bahan baku bioetanol.

Secara teoritis, produksi bioetanol dari *algae* dapat menjadi solusi yang realistis untuk mengganti gasolin. Hal ini dikarenakan kandungan karbohidrat dari *algae* yang cukup tinggi dan juga perkembangbiakannya yang sangat cepat dengan cara fragmentasi. *Algae* jenis *Ulva fasciata* dengan kandungan karbohidrat 30% dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku bioetanol (Banati, 2009). Oleh

karena itu, perlu diadakan penelitian terhadap *algae* jenis lain yang diduga lebih berpotensi untuk dikembangkan menjadi sumber bahan bioetanol, salah satunya adalah *algae Spirogyra* yang menurut Becker (2006) memiliki kandungan karbohidrat hingga 64%. Jika dibandingkan dengan singkong yang hanya 34%, kandungan karbohidrat *Spirogyra* jauh lebih tinggi, padahal karbohidrat merupakan bahan baku dalam pembuatan bioetanol.

Genus *Spirogyra* merupakan kelompok *algae* hijau dari ordo *Zygnematales*. *Spirogyra* biasa ditemukan di air tawar. *Spirogyra* mampu berfotosintesis dan memiliki sel eukariotik. Pigmen utama yang dikandung *algae* hijau adalah klorofil. Tubuhnya berbentuk filamen yang tidak bercabang. Panjang tubuhnya mencapai 1 kaki (30,48 cm). *Spirogyra* merupakan *algae* hijau berbentuk benang-benang. Tubuhnya tersusun atas sel-sel yang membentuk untaian panjang seperti benang. Setiap selnya memiliki kloroplas berbentuk pita spiral dengan sebuah inti sel. Perkembangbiakan secara vegetatif dengan cara fragmentasi. Perkembangbiakan secara generatif dengan konjugasi (Tjitrosoepomo, 2007).

Pembuatan bioetanol dilakukan melalui proses fermentasi. Fermentasi adalah peruraian senyawa organik menjadi senyawa sederhana dengan bantuan mikroorganisme sehingga menghasilkan energi. Kebanyakan fermentasi etanol skala komersial dilakukan oleh khamir, salah satunya *Sacharomyces cerevisiae* yang menghasilkan etanol (Judoamidjojo, 1992). *S. Cerevisiae* dikenal juga sebagai ragi baker atau ragi brewer yang mampu merubah hampir 90% glukosa menjadi etanol (Pudjiastuti, Suwarsono, dan Nurhatika, 1999). *S. cerevisiae* dapat menggunakan glukosa, fruktosa, maltosa, dan maltotriosa (Sardjoko, 1991) sebagai bahan baku pembuatan bioetanol. Sedangkan untuk mengubah senyawa organik menjadi bahan yang lebih sederhana agar bisa digunakan dalam proses fermentasi dibutuhkan enzim. Enzim adalah molekul biopolimer yang tersusun dari serangkaian asam amino dalam

komposisi dan susunan rantai yang teratur dan tetap. Enzim yang berperan dalam merubah karbohidrat kompleks adalah karbohidrase, amilase, dan selulase. Amilum merupakan substansi yang terlebih dahulu harus diubah menjadi molekul lebih sederhana supaya dapat diserap oleh sel. Amilase mempunyai kemampuan untuk memecah molekul-molekul pati dan glikogen. Molekul amilum yang merupakan polimer dari ikatan 1,4- $\alpha$ -glikosida akan dipecah oleh enzim  $\alpha$ -amilase pada ikatan  $\alpha$ -1,4 menghasilkan glukosa, maltose, dan dekstrin (Manoj *et al.*, 2005). Fermentasi etanol dapat dipercepat dengan penambahan enzim  $\alpha$ -amilase dalam jumlah yang tepat. Oleh sebab itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jumlah enzim  $\alpha$ -amilase yang efektif pada fermentasi karbohidrat ekstrak *Spirogyra* menjadi etanol.

## 2. METODA

### Pembuatan Ekstrak *Spirogyra*

Sampel *Spirogyra* dicuci dengan air untuk membersihkan dari kotoran, kemudian dieringkan selama 3 hari di bawah sinar matahari. *Spirogyra* yang telah kering ditimbang sebanyak 50 g, diberi akuades 100 mL, dihaluskan dengan diblender, dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 mL (Munadjim, 1984). Ekstrak *Spirogyra* kemudian disterilisasi. Selanjutnya ekstrak *Spirogyra* akan digunakan untuk proses pembuatan kurva pertumbuhan *S. cerevisiae*, hidrolisis, pembuatan starter, dan proses fermentasi.

### Pembuatan Kultur Stok dan Kultur Kerja

Isolat *Sacharomycess cerevisiae* disubkultur dalam tabung reaksi yang berisi medium Sabouraud Dextrosa agar miring dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam (Riyani, 1996).

### Pengukuran Kurva Pertumbuhan *S. cerevisiae*

*S. cerevisiae* diambil 1 ose dan diinokulasi ke dalam erlenmeyer 50 mL yang berisi 5 mL ekstrak *Spirogyra* steril yang telah diatur pH

menjadi 4,5 dengan penambahan larutan HCl 30% (Munadjim, 1984). Kemudian diinkubasi dalam *rotary shaker* dengan kecepatan agitasi 15 rpm pada suhu 30°C selama 24 jam (Aktivasi I). Sebanyak 1 mL dari aktivasi I dipipet dan diinokulasi kembali ke dalam erlenmeyer 50 mL yang berisi 9 mL ekstrak *Spirogyra*, diinkubasi dalam *rotary shaker* dengan kecepatan agitasi 15 rpm pada suhu 30°C selama 24 jam (Aktivasi II). Sebanyak 5 mL dari aktivasi II dipipet dan diinokulasi kembali ke dalam erlenmeyer 100 mL yang berisi 50 mL ekstrak *Spirogyra*, diinkubasi dalam *rotary shaker* dengan kecepatan agitasi 15 rpm pada suhu 30°C selama 24 jam yang disebut sebagai kultur fermentasi (Wignyanto dan Novita, 2001).

Dilakukan pengenceran dari  $10^{-1}$  sampai dengan  $10^{-9}$  kali. Medium kultur diambil 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 mL akuades steril. Tabung reaksi yang berisi campuran tersebut di-*vortex* dengan *vortex mixer*, dipipet sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi berikutnya. Perlakuan diulangi sampai pengenceran ke  $10^{-9}$ . Kurva pertumbuhan dibuat dengan mengukur absorbansi kultur *S. cerevisiae* pada ekstrak *Spirogyra*. Pengukuran absorbansi *S. cerevisiae* diukur pada panjang gelombang 600 nm dengan interval tiap 1 jam sekali selama 24 jam. Dibuat grafik kurva pertumbuhan dari nilai absorbansi dan waktu fermentasi (Pudjiastuti, Suwarsono, dan Nurhatika, 1999).

### Pembuatan Starter *S. cerevisiae*

Sebanyak 1 ose *S. cerevisiae* diinokulasi ke dalam erlenmeyer 50 mL yang berisi 5 mL ekstrak *Spirogyra* steril yang telah diatur pH menjadi 4,5 dengan penambahan larutan HCl 30% (Munadjim, 1984), diinkubasi dalam *rotary shaker* dengan kecepatan agitasi 15 rpm pada suhu 30°C selama 24 jam (aktivasi I). Sebanyak 1 mL dari aktivasi I dan diinokulasi kembali ke dalam erlenmeyer 50 mL yang berisi 9 mL ekstrak *Spirogyra*, diinkubasi dalam *rotary shaker* dengan kecepatan agitasi 15 rpm pada suhu 30°C selama 24 jam (akti-

vasi II). Sebanyak 5 mL dari aktivasi II dan diinokulasi kembali ke dalam erlenmeyer 100 mL yang berisi 50 mL ekstrak *Spirogyra*, diinkubasi dalam *rotary shaker* dengan kecepatan agitasi 15 rpm pada suhu 30°C dan diinkubasi. Inkubasi dilakukan sampai jam, di mana fase log *S. cerevisiae* terjadi (aktivasi III) (Wignyanto dan Novita, 2001).

### **Proses Hidrolisis**

Ekstrak *Spirogyra* sebanyak 50 mL dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Erlenmeyer dipanaskan di atas *hot plate*, sesekali corong dibuka sambil diaduk-aduk. Proses pemanasan berlangsung  $\pm 2$  jam dengan suhu pemanasan  $\pm 100^\circ\text{C}$ . Didinginkan selama 3 jam sampai suhu mencapai  $\pm 40^\circ\text{C}$ . Ditambah enzim  $\alpha$ -amilase dengan masing-masing konsentrasi 0; 0,03; 0,06; dan 0,09 g (Prihandana, 2007) dan diinkubasi pada suhu kamar selama 60 menit (Tamuri, 1981).

### **Proses Fermentasi**

Starter ditambahkan ke dalam erlenmeyer sebanyak 250 mL yang berisi ekstrak *Spirogyra*, diinkubasi selama 10 hari pada suhu kamar. Jika kadar etanol masih mengalami peningkatan, maka fermentasi dilanjutkan. Proses fermentasi dihentikan jika kadar etanol telah mengalami penurunan. Tutup botol dilepas, ditutup dengan kapas lemak dan dipasteurisasi pada suhu  $\pm 80^\circ\text{C}$  selama 10 menit (Munadjim, 1984).

### **Pengukuran Kadar Etanol**

Tabung distilasi dan labu 250 mL disiapkan. Selanjutnya 50 mL sampel cairan hasil fermentasi diambil menggunakan labu ukur 50 mL, dan dimasukkan ke dalam tabung destilasi. Sampel cairan tersebut dididihkan dengan hati-hati untuk menghindari buih yang berlebihan. Destilasi campuran alkohol dan air sampai dapat dikumpulkan tepat 50 mL distilat (Purwanto, 2004).

Sementara dilakukan destilasi, piknometer dikalibrasi. Piknometer diisi akuades destilasi dan ditutup. Piknometer dan akuades ditim-

bang, berat yang didapat adalah W2. Kemudian piknometer dikosongkan, akuades yang tersisa diabsorpsi dengan aseton. Tabung piknometer dikeringkan dengan oven. Piknometer yang telah kering ditimbang, berat yang didapatkan adalah W1. Berat akuades (W) dihitung dengan cara  $W2-W1$  (Purwanto, 2004).

Distilat dipindahkan ke dalam gelas beaker kering. Distilat diaduk supaya homogen sebelum diisikan ke piknometer. Piknometer kering diisi dengan distilat, permukaan luar piknometer dikeringkan dan ditimbang. Hasil yang didapat adalah W3. Berat distilat adalah  $W3-W1 = L$ . Berat air (L) dihitung dengan *specific gravity* ( $\text{spg} = L/W$ ). Nilai  $\text{spg}$  ditentukan dengan menggunakan Tabel *Analysis of the Association of Official Analytical Chemists* (AOAC) dan selanjutnya diukur kadar etanol yang terbentuk dihitung (Purwanto, 2004).

### **Rancangan Penelitian**

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan pola faktorial dengan perlakuan konsentrasi enzim amilase dengan ulangan sebanyak 2 kali. Selain itu juga diamati kadar etanol setiap 2 hari sekali selama 10 hari. Parameter yang diamati adalah kadar etanol (%).

### **Analisis Data**

Data yang diperoleh dianalisis dengan *Analysis of Variance* (ANOVA) untuk mengetahui pengaruh perbedaan penambahan jumlah enzim  $\alpha$ -amilase terhadap kadar etanol yang dihasilkan dengan hipotesa.  $H_0$  menyatakan tidak ada pengaruh antara perbedaan penambahan jumlah enzim  $\alpha$ -amilase terhadap persentase (%) etanol yang dihasilkan. Sedangkan  $H_1$  menyatakan ada pengaruh antara perbedaan penambahan jumlah enzim  $\alpha$ -amilase terhadap prosentase (%) etanol yang dihasilkan.

Jika  $H_1$  diterima maka dilanjutkan dengan uji Tukey pada taraf kepercayaan 95% ( $\alpha = 0,05$ ) untuk mengetahui perbedaan nyata antara kombinasi perlakuan konsentrasi enzim

$\alpha$ -amilase dan lama fermentasi (Walpole, 1992).

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

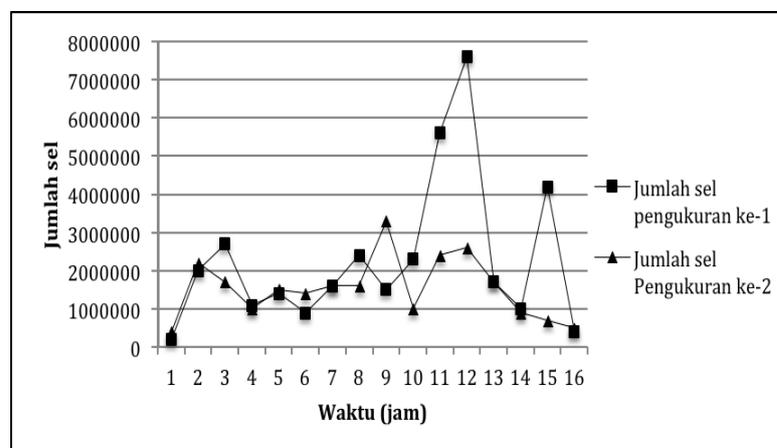
#### Penentuan Umur Starter *S. cerevisiae* pada Medium Fermentasi

Setiap mikroorganisme memiliki bentuk kurva pertumbuhan yang spesifik. Pada Gambar 1 dapat dilihat kurva pertumbuhan *S. cerevisiae* memiliki beberapa fase diantaranya fase log (eksponensial). yaitu pada jam 0 sampai jam 11. Fase eksponensial merupakan fase perbanyak jumlah sel, aktivitas sel meningkat, dan merupakan fase yang penting dalam pertumbuhan *S. cerevisiae*. Kemudian terdapat fase kematian, di mana pada fase ini jumlah sel yang mati lebih banyak dari pada sel yang hidup yaitu pada jam ke 11 sampai jam ke 15. Namun, pada kurva pertumbuhan *S. cerevisiae* tidak dijumpai fase log yaitu fase di mana terjadi penyesuaian sel dengan lingkungan. Hal ini disebabkan karena pada saat pembuatan kurva pertumbuhan ada masa aktivasi dari starter yaitu sampai tiga kali aktivasi. Starter merupakan kumpulan mikroorganisme yang siap diinokulasikan ke dalam medium fermentasi.

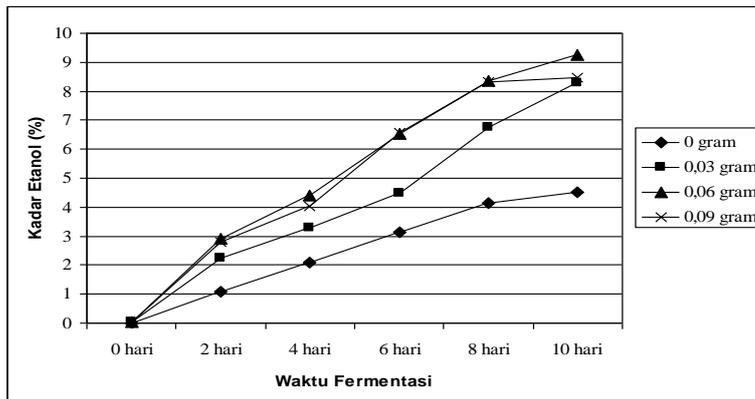
Pada dasarnya pertumbuhan sel mikroba berlangsung tanpa batas. Tetapi, setelah waktu tertentu laju pertumbuhan akan menurun dan akhirnya berhenti sama sekali karena pe-

tumbuhan berlangsung dengan mengkonsumsi nutrisi sekaligus mengeluarkan (ekskresi) produk-produk metabolisme yang terbentuk. Berhentinya pertumbuhan dapat disebabkan karena beberapa nutrisi esensial dalam medium atau karena terjadinya akumulasi autotoksin dalam medium atau kombinasi keduanya (Rachman, 1989). Suatu kurva pertumbuhan memberikan gambaran mengenai faktor-faktor lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan suatu mikroorganisme, misalnya: substrat, suhu lingkungan, pH, dan menentukan umur starter (Gandjar, 2006). Umur starter yang baik untuk digunakan sebagai inokulum medium fermentasi adalah di sepanjang fase logaritma karena pada fase ini sel mikroorganisme memiliki kemampuan membelah yang maksimum, laju pertumbuhan dan aktivitas metabolisme konstan.

Umumnya umur kultur yang digunakan diambil pada pertengahan fase eksponensial. Yudoamijoyo *et al.*, (1992) menjelaskan bahwa pada fase eksponensial sel mikroorganisme dalam keadaan stabil, sel-sel baru terbentuk dengan laju konstan dan sel mikroorganisme membelah secara optimum tercapai pada saat *doubling time* (waktu lipat dua), yang biasanya tercapai di tengah-tengah fase logaritma. Pada penelitian ini, kurva dibuat dengan menggunakan absorbansi cahaya dari alat spektrofotometer yang dilakukan setiap jam sekali.



Gambar 1. Kurva Pertumbuhan *S. cerevisiae*



**Gambar 2.** Grafik Pengaruh Enzim  $\alpha$ -amilase dan Lama Waktu Fermentasi terhadap Kadar Etanol (%)

**Kadar Etanol**

Grafik pertambahan bioetanol yang dihasilkan terhadap lama waktu fermentasi dapat dilihat pada Gambar 2 dan Tabel 1. Berdasarkan hasil penelitian, kadar etanol mengalami peningkatan sesuai dengan penambahan konsentrasi enzim  $\alpha$ -amilase dan lama waktu fermentasi. Secara umum hasil fermentasi cenderung meningkat. Semakin banyak penambahan konsentrasi enzim  $\alpha$ -amilase, cenderung menambah jumlah kadar etanol yang dihasilkan. Namun, terjadi penurunan jumlah bioetanol pada jumlah enzim  $\alpha$ -amilase sebanyak 0,09 g. Sehingga hasil tertinggi diperoleh pada hari ke-10 dan jumlah enzim  $\alpha$ -amilase sebanyak 0,06 g.

**Fermentasi Etanol**

Karbohidrat merupakan substrat utama yang dipecah dalam proses fermentasi. Substrat yang dapat dikonsumsi langsung oleh *S. cerevisiae* adalah dalam bentuk disakarida atau monosakarida (gula reduksi) (Gandjar, 2006). Kandungan gula reduksi yang dimiliki *Spirogyra* adalah 10,05%. Syarat gula reduksi dapat digunakan untuk proses fermentasi adalah  $\pm 10\%$  sehingga gula reduksi tersebut dapat digunakan sebagai substrat pada proses fermentasi. *S. cerevisiae* dapat memanfaatkan glukosa melalui jalur glikolisis yang mengubah atom berkarbon enam menjadi atom berkarbon tiga yaitu molekul piruvat (Fardiaz, 1992). Kemudian molekul piruvat

diubah menjadi etanol dalam keadaan anaerob.

Produk etanol dari hasil fermentasi, dapat dipengaruhi oleh penambahan enzim  $\alpha$ -amilase. Enzim  $\alpha$ -amilase akan memotong ikatan  $\alpha$ -1,4 glikosida dengan produk akhir dekstrin, maltosa, dan glukosa (Fogarty, 1983). Kecepatan reaksi enzim berbanding lurus dengan konsentrasi enzim, semakin besar jumlah enzim akan semakin cepat reaksinya dan semakin banyak produk yang dihasilkan (Soemitro, 2005).

Enzim  $\alpha$ -amilase banyak digunakan untuk proses hidrolisis amilum yang memutus ikatan  $\alpha$ -glikosidik menjadi monomer-monomer glukosa. Kelebihan enzim  $\alpha$ -amilase yaitu memutus ikatan yang spesifik pada ikatan  $\alpha$ -1,4-glukosidik sehingga menghasilkan glukosa. Sedangkan hidrolisis secara kimiawi, menggunakan asam sulfat ( $H_2SO_4$ ) atau asam chlorida (HCl) akan memutus rantai polimer pati secara acak, dan belum tentu menghasilkan glukosa (Manoj *et al.*, 2005).

Pada proses fermentasi, gula reduksi diubah menjadi asam piruvat dan asam piruvat diubah lebih lanjut menjadi etanol. Asetaldehida bertindak sebagai penerima hidrogen dalam fermentasi, dimana hasil reduksinya oleh  $NADH_2$  menghasilkan etanol, dan NAD yang teroksidasi kemudian dapat

**Tabel 1.** Jumlah Bioetanol yang Dihasilkan

Kadar enzim $\alpha$ -Amilase (g/50 mL)	Kadar Bioetanol yang Dihasilkan (%) dalam Waktu					
	0 hari	2 hari	4 hari	6 hari	8 hari	10 hari
0	0,000	1,095	2,105	3,120	4,155	4,505
0,03	0,035	2,235	3,265	5,485	6,750	8,265
0,06	0,035	2,925	4,415	6,525	8,370	9,245
0,09	0,035	2,790	4,095	6,415	8,310	8,465

digunakan lagi untuk menangkap hidrogen (Fardiaz, 1987).

#### Kadar Etanol dari Perlakuan oleh Jumlah Enzim $\alpha$ -Amilase dan Lama Fermentasi

Berdasarkan hasil *analysis of variance* (Two-way ANOVA) dengan menggunakan software Minitab release 14, data output menunjukkan bahwa P-value = 0. Hal ini telah membuktikan bahwa penambahan enzim  $\alpha$ -amilase berpengaruh terhadap persentase etanol yang dihasilkan. Kemudian berdasarkan uji perbandingan ganda pada perlakuan tanpa pemberian enzim  $\alpha$ -amilase (0 g) menunjukkan perbedaan nyata dengan perlakuan dengan pemberian enzim  $\alpha$ -amilase 0,03; 0,06; dan 0,09 g. Pada pemberian enzim 0,03 g dibandingkan dengan pemberian enzim 0,06 dan 0,09 g tidak menunjukkan perbedaan nyata. Hal ini berarti etanol yang dihasilkan dari pemberian enzim  $\alpha$ -amilase 0,03; 0,06; dan 0,09 g rata-rata hampir sama. Dengan demikian dapat diinformasikan bahwa pemberian enzim  $\alpha$ -amilase yang semakin banyak tidak berpengaruh nyata terhadap kadar etanol yang dihasilkan.

Tanpa adanya penambahan enzim  $\alpha$ -amilase proses fermentasi etanol yang terjadi kurang efektif. Enzim  $\alpha$ -amilase berfungsi menghidrolisis amilum secara spesifik pada ikatan 1,4-glikosida menjadi monosakarida dan disakarida (Fogarty, 1983). *Saccharo-myces cerevisiae* sebenarnya memproduksi enzim sendiri untuk merubah glukosa menjadi etanol. Enzim tersebut adalah enzim zimase yang mengubah glukosa menjadi etanol (Judoamidjojo dan Sa'id, 1992). Maka pemberian 0,06 g enzim  $\alpha$ -amilase merupakan perlakuan yang paling optimum dan efisien. Selain itu, penambahan enzim  $\alpha$ -amilase 0,06 g lebih bersifat ekonomis dan tepat guna

apabila dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Pada hasil pengujian ganda berdasarkan waktu fermentasi menunjukkan bahwa fermentasi pada hari ke-0 menunjukkan nilai paling rendah yang berarti jumlah etanol yang dihasilkan paling rendah. Kemudian pada hari ke-2 dan seterusnya menunjukkan nilai yang terus naik hingga pada hari ke-10 menunjukkan nilai tertinggi. Hal ini menunjukkan bahwa pada hari ke-10 merupakan jumlah etanol terbanyak yang dihasilkan.

#### 4. KESIMPULAN

Penambahan enzim  $\alpha$ -amilase berpengaruh terhadap jumlah etanol yang dihasilkan dari fermentasi ekstrak algae *Spirogyra*. Perlakuan dengan penambahan enzim  $\alpha$ -amilase sebanyak 0 g dan lama waktu fermentasi 0 hari menghasilkan etanol terendah yaitu 0,00%. Perlakuan penambahan enzim  $\alpha$ -amilase 0,06 g dan lama waktu fermentasi 10 hari menghasilkan etanol yang tertinggi sebesar 9,245%. Perlakuan yang paling optimum dan efisien yaitu dengan penambahan enzim  $\alpha$ -amilase 0,06 g dan lama waktu fermentasi 10 hari.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Banati, F.S. (2009). Pengaruh Penambahan Enzim  $\alpha$ -amilase pada Fermentasi Karbohidrat Ekstrak *Ulfa fasciata* dari Balekambang Malang Menggunakan Ragi Roti Fermipan. Tugas Akhir. Jurusan Biologi, FMIPA-ITS, Surabaya.
- Becker, E.W. (2006). Microalgae as a Source of Protein. Medical Clinic, Department II, University of Tubingen, Germany.
- Fardiaz (1987). Fisiologi Fermentasi. Pusat Antar Universitas Institut Pertanian

- Bogor dengan Lembaga Sumberdaya Informasi Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Fogarty, W.M.(1983). *Microbial Enzymes and Technology*. Applied Science Publishers. London
- Gandjar, I, dan Wellyzar, S. (2006). *Mikologi Dasar dan Terapan*. Yayasan Obor Indonesia:Jakarta.
- Judoamidjojo, M.D., Sa'id, E.G. (1992). *Teknologi Fermentasi*. Pusat Antar Universitas Institut Pertanian Bogor dengan Lembaga Sumberdaya Informasi Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Manoj, S. Pradeep, K. Chandraraj, and N. G. Sathyanarayana. (2005). Hydrolysis of Starch by Amylase From *Bacillus* sp. KCA102: a Statistical Approach. *Journal Process Biochemistry*. Vol. 40, No.2499-2507.
- Munadjim (1984). *Teknologi Pengolahan Pisang*. Gramedia, Jakarta.
- Portal Nasional Republik Indonesia (2008). Minyak dan Gas. [http://www.indonesia.go.id/id/index.php?option=com\\_content&task=view&id=7702&Itemid=718](http://www.indonesia.go.id/id/index.php?option=com_content&task=view&id=7702&Itemid=718). 30 Juni 2008. Diakses tanggal 2 Desember 2008.
- Prihandana. (2007). Bioetanol Ubi Kayu Bahan Bakar Masa Depan. <http://www.empatyheart.wordpress.com/2007/12/10/html>.
- Pudjiastuti, L., Suwarsono, N., dan Nurhatika, S. (1999). Pemanfaatan Limbah Padat Industri Tepung Tapioka Menjadi Etanol dalam Usaha Minimasi Penemuan Lingkungan. Pusat Penelitian KLH, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya.
- Purwanto. (2004). Aktivitas Fermentasi Alkoolik Cairan Buah. *Jurnal Universitas Widya Mandala Madiun*. Wadya War-ta No. 1 th. XXXII/ISSN 0854-1981.
- Rachman, A. (1989). *Pengantar Teknologi Fermentasi*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Pangan Dan Gizi Institut Pertanian Bogor; Bogor.
- Riyani, K. (1996). Produksi Etanol dari Sari Buah Nenas (*Ananas comosus L. Merr*) dengan Glukosa Murni Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*. Tugas Akhir. Jurusan Kimia, FMIPA-ITS, Surabaya.
- Sardjoko (1991). *Bioteknologi, Latar Belakang, dan Beberapa Penerapannya*. Gramedia, Jakarta.
- Soemitro,S. (2005). Pengaruh modifikasi kimiawi selektif terhadap Kestabilan  $\alpha$ -amilase dari *saccharomycopsis fibuligera*. *Jurnal Bionatura*, Vol. 7, No. 3, November 2005 : 259 – 273.
- Tamuri, M. (1981). Heat and Acid-stable Alpha-amylase Enzymes and Processes for Producing The Same. *United States Patent, August, Eenglewood, Cliffs*. 93(407).
- Tjitrosoepomo, G. (2007). *Taksonomi Tumbuhan*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Walpole, R.E. (1992). *Ilmu Peluang dan Statistika untuk Insinyur dan Ilmuwan*. Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Wignyanto, S. dan Novita (2001). Pengaruh Konsentrasi Gula Reduksi Sari Kulit Nana dan Inokulum *Saccharomyces cerevisiae* pada Fermentasi Etanol. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 2(1). 68-77.
- Yudoamijoyo, M., A. A. Darwis dan E. G. Sa'id. (1992). *Teknologi Fermentasi*. Penerbit Rajawali Press dengan Pusat Antar Universitas Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor. Jakarta.



