

PENGARUH TINGKAT PENGGUNAAN EM4 (*Effective Microorganisms-4*) PADA FERMENTASI LIMBAH PADAT BIOETANOL TERHADAP KANDUNGAN PROTEIN DAN SERAT KASAR

Yani Suryani*, Iman Hernaman, dan Neng Hilma Hamidah

Abstrak

Upaya penggunaan bahan bakar nabati atau yang sering disebut bioetanol sebagai pengganti bahan bakar minyak fosil sedang ditingkatkan. Selain lebih ramah lingkungan, mampu diproduksi secara terus menerus, juga bahan yang digunakan untuk membuat bioetanol sangat banyak terdapat di alam termasuk bermacam-macam limbah. Salah satu bahan baku pembuatan bioetanol yang sudah banyak digunakan adalah singkong. Proses pembuatan bioetanol menghasilkan limbah baik padat ataupun cair. Keberadaan limbah padat bioetanol biasanya dimanfaatkan untuk pakan ternak. Penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan kandungan protein dan menurunkan serat kasar limbah padat bioetanol sehingga bisa dijadikan pakan yang lebih baik untuk pertumbuhan hewan ternak. Limbah bioetanol difermentasi dengan EM4 (*Effective Microorganisms 4*). Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap pada faktorial 5×2 dengan 5 kali pengulangan. Faktor pertama adalah perlakuan EM-4, yaitu A=0%, B=0.25%, C=0.5%, D=0.75%, dan E=1%. Masing-masing unit percobaan menggunakan 250 g sampel limbah. Faktor kedua adalah lamanya fermentasi yaitu selama 4 hari dan 8 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan terbaik yaitu penambahan EM-4 sebanyak 1% yang difermentasi selama 4 hari adalah yang terbaik, dengan kandungan protein 3.53% dan kandungan serat kasar 13.19%.

Kata-kata kunci: *Effective Microorganisms-4 (EM-4), fermentasi, limbah bioetanol, pakan ternak, protein, serat kasar*

Pendahuluan

Sampai sekarang krisis energi semakin terasa, sehingga banyak upaya yang dilakukan untuk mendapatkan energi alternatif yang terbarukan. Salah satunya yaitu bioetanol. Bioetanol adalah etanol yang diproduksi dengan cara fermentasi menggunakan bahan baku

nabati. Bioetanol merupakan salah satu jenis sumber energi yang sedang dipacu pengembangannya oleh Pemerintah Indonesia [1]. Saat ini Indonesia sedang menargetkan pembangunan dan konsumsi energi hingga tahun 2025 yaitu mengambil porsi biofuel atau bahan bakar nabati sebesar 5% dari total energi yang

dikonsumsi. Hal tersebut telah dituangkan dalam Peraturan Presiden No.5 tahun 2006 [2]. Dari sekian banyak bahan organik yang bisa digunakan untuk pembuatan bioetanol, yang sering digunakan adalah singkong. Singkong merupakan umbi-umbian yang mengandung karbohidrat cukup tinggi, kemudian karbohidrat akan diubah menjadi gula oleh enzim, dan gula akan diubah menjadi alkohol oleh mikroorganisme [3]. Namun, dalam pengolahan bioetanol menyisakan limbah, baik cair ataupun padat. Jumlah produksi bioetanol di Indonesia yang dihasilkan dari 1 ton biomassa singkong yang dijadikan bahan untuk produksi bioetanol akan menghasilkan bioetanol sekitar 166,6 liter (16,6%), sehingga limbah padat yang dihasilkan dari produksi bioetanol adalah 83,4% [4]. Biasanya limbah padat bioetanol dimanfaatkan untuk pakan ternak, tetapi kualitas nutrisi limbah padat bioetanol kurang baik. Proses fermentasi bisa dijadikan sebagai upaya biologis untuk memperbaiki kualitas gizi, mengurangi, atau menghilangkan zat antinutrisi dari bahan pakan tertentu dengan penggunaan mikroorganisme. Proses fermentasi juga dapat

meningkatkan nilai pencernaan, menambah rasa dan aroma, serta meningkatkan kandungan vitamin dan mineral [5]. Fermentasi bermanfaat sebagai upaya peningkatan kualitas nutrisi limbah. Hasil penelitian tersebut diantaranya fermentasi oleh konsorsium *Saccharomyces cerevisiae* dan *Trichoderma viride* sebanyak 4% telah terbukti meningkatkan kandungan protein pada limbah bioetanol dari 2,47% menjadi 2,91% - 4,88% dan menurunkan kandungan serat kasar dari 2,65% menjadi 2,50% - 2,07% setelah difermentasi selama 8 hari [6]. Fermentasi limbah padat bioetanol singkong oleh jamur *Trichoderma viride* mengalami peningkatan kadar protein menjadi 2,478% dan penurunan serat kasar menjadi 2,060% [4]. Namun sebelumnya belum dilakukan penelitian fermentasi menggunakan mikroorganisme selain kapang/jamur. EM4 merupakan suatu bahan tambahan yang terdiri dari mikroorganisme yang dapat mencerna selulosa, pati, gula, protein, lemak khususnya bakteri *Lactobacillus* sp. untuk mengoptimalkan pemanfaatan zat-zat makanan [7]. Berdasarkan informasi di atas, dalam penelitian ini dilakukan fermentasi limbah bioetanol

menggunakan EM-4 (*Effective Microorganisms 4*) yang diharapkan mampu meningkatkan kualitas nutrisi limbah bioetanol menjadi pakan yang lebih baik.

Metodologi Penelitian

Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Negeri Sunan Gunung Djati Bandung dan Laboratorium Nutrisi Ternak Ruminansia dan Kimia Makanan Ternak Universitas Padjadjaran. Waktu penelitian dilaksanakan pada November 2015 – Januari 2016.

Alat dan Bahan Penelitian

Alat-alat yang digunakan antara lain autoklaf, oven, toples, sendok, thermometer, pH meter, batang pengaduk, Erlenmeyer, gelas ukur, gelas kimia, timbangan analitik, mikropipet, pipet tetes, spatula, jarum, labu Kjeldhal, lemari asam, destilator, gelas piala, alat vakum, eksikator, tanur listrik. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain EM-4 peternakan, limbah padat bioetanol, akuadest, alkohol 70%, plastik anti panas, kertas label, aluminium foil, plastik wrap, gula merah, sarung tangan, tip, katalis

campuran CuSO_4 , K_2SO_4 , H_2SO_4 pekat, NaOH 40%, asam borax 5%, HCl, aseton, dan kertas saring bebas lemak.

Rancangan Penelitian

Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap pada faktorial 5×2 dengan 5 kali pengulangan. Faktor pertama adalah penambahan EM-4 yaitu A=0%, B=0.25%, C=0.5%, D=0.75%, dan E=1%. Masing-masing unit percobaan menggunakan 250 g sampel limbah bioetanol. Faktor kedua adalah lamanya fermentasi yaitu selama 4 hari dan 8 hari. Adapun parameter yang diamati adalah kandungan protein dan serat kasar pada limbah padat bioetanol yang telah difermentasi.

Prosedur dan Teknik Penelitian

Aktifasi EM4

EM-4 yang digunakan adalah EM-4 untuk peternakan. EM-4 untuk peternakan volume 1 liter mengandung *Lactobacillus casei* $1,5 \times 10^6$ cfu/mL, *Saccharomyces cerevisiae* $1,5 \times 10^6$ cfu/mL, dan *Rhodopseudomonas palustris* $1,0 \times 10^6$ cfu/mL. EM-4 terlebih dahulu diaktifkan yaitu dengan mencampurkan sebanyak 30 mL EM-

4 dengan 30 gram gula merah sebagai nutrisi bakteri, kemudian ditambah akuadest steril sampai 1000 mL dalam Erlenmeyer. Lalu disimpan pada suhu ruang dengan kondisi anaerob selama 24 jam [8].

Fermentasi Limbah

Limbah padat bioetanol pertama-tama disterilkan terlebih dahulu dengan cara diautoklaf selama 15 menit dengan suhu 121⁰C dan tekanan 1 atm. Kemudian dibiarkan di suhu ruangan sampai dingin. Limbah masing-masing di timbang seberat 250 g dan ditambahkan EM-4 sesuai perlakuan, yaitu EM-4 0%, EM-4 0,25%, EM-4 0,5%, EM-4 0,75%, dan EM-4 1% masing-masing perlakuan diaduk sampai rata di dalam toples steril menggunakan tangan. Setelah rata campuran dimasukkan kedalam plastik yang telah diberi lubang dengan cara menusukkan jarum di permukaan plastik. Fermentasi dibiarkan terjadi di suhu ruang selama 4 dan 8 hari [6]. Setelah proses fermentasi (4 hari dan 8 hari) produk fermentasi diambil 100 g dan selanjutnya di oven pada suhu 60⁰C selama 24 jam atau panas sinar matahari lebih kurang 4 hari [9]. Produk fermentasi digiling dan siap untuk di analisis kimia.

Analisis Kandungan Protein

Analisis kandungan protein dilakukan dalam tiga tahap yaitu proses destruksi, destilasi, dan titrasi. Menimbang sampel kering yang sudah dioven dan dicatat sebagai A g. Sampel kemudian dimasukkan kedalam labu Kjeldhal lalu ditambahkan 2 g katalis campuran CuSO₄ : K₂SO₄ (1:5) dan 20 mL asam sulfat pekat. Setelah itu dipanaskan dalam nyala api kecil di lemari asam, bila sudah tidak berbuih destruksi dilanjutkan dengan nyala api besar. Destruksi sudah dianggap selesai bila larutan sudah berwarna hijau jernih. Kemudian dinginkan. Destilator disiapkan selengkapnya. Larutan hasil desktruksi dipindahkan kedalam labu didih kemudian bilas dengan aquades sebanyak 200 mL dan tambahkan batu didih. Larutan dibasakan dengan menambahkan NaOH 40% sebanyak 60 mL melalui corong samping. Kemudian Erlenmeyer dipasangkan yang telah diisi asam borax 5% sebanyak 10 mL untuk menangkap gas amoniak dan telah diberi indikator campuran sebanyak 3 tetes. Destilasi dilakukan sampai semua N dalam larutan dianggap telah tertangkap oleh asam borax yang ditandai dengan menyusutnya larutan dalam labu didih

sebanyak $\frac{2}{3}$ bagian (sekurang-kurangnya sudah tertampung dalam Erlenmeyer sebanyak 15 mL). Hasil destilasi dititrasi dengan asam klorida yang sudah diketahui normalitasnya yang dicatat sebagai B. Titik titrasi dicapai dengan ditandai dengan perubahan warna hijau ke abu-abu. Jumlah larutan HCl yang terpakai dicatat sebagai C ml. Selanjutnya kandungan protein dihitung dalam persen dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ protein} = \frac{0.014 \times 6.25 \times B \times C}{A}$$

Analisis Kandungan Serat Kasar

Sampel sisa ekstraksi lemak ditimbang dan dicatat sebagai B g. Kemudian dimasukkan ke dalam gelas piala khusus. Selanjutnya, ditambahkan H₂SO₄ 1,25% sebanyak 50 mL, kemudian sampel berisi asam sulfat ditempatkan di atas kompor listrik dan pasang kondensor reflux di atasnya, dididihkan selama 30 menit terhitung saat mulai mendidih. Setelah itu ditambahkan NaOH 1,24% sebanyak 100 mL kedalam gelas piala yang masih terdapat larutan sampel yang dimasak. Pemanasan dilakukan selama 30 menit

terhitung dari mulai mendidih. Setelah pemanasan selesai dilakukan, matikan keran kondensor dan sampel siap untuk disaring. Kertas saring diameter 4,5 cm bebas lemak yang telah dioven ditimbang dan dicatat beratnya sebagai A g. Seperangkat alat vakum yang terdiri dari pompa vakum, filtering flask, dan corong buncher disiapkan. Kemudian kertas saring diletakan pada corong buncher dan saring sampel hasil pemanasan dengan bantuan vakum, bilas berturut-turut dengan akuades panas sebanyak 100 mL, asam sulfat 1,25% sebanyak 50 mL, dan aseton sebanyak 50 mL. Kertas saring dan residunya dimasukkan kedalam cawan porselin, kemudian dikeringkan dalam oven bersuhu 100-105⁰C selama 1 jam, dinginkan dalam eksikator selama 15 menit, ditimbang dan dicatat sebagai C gram. Setelah dingin, panaskan dalam hot plate sampai tidak berasap, kemudian masukkan ke dalam tanur listrik 600-700⁰C selama 6 jam. Dinginkan dalam eksikator selama 30 menit, ditimbang dan dicatat sebagai D g. Kandungan serat kasar dihitung dalam persen dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ serat kasar} = \frac{(C-D-A)}{B \times \frac{100\%}{100\% - \%LK}} \times 100 \%$$

Analisis Data

Analisis data masing-masing parameter menggunakan analisis ragam atau ANOVA (*Analisis of Varians*) dengan taraf kepercayaan 95%. Jika nilai signifikansi (sig.) < 0.05 pada perlakuan dan lama fermentasi maka terdapat pengaruh yang berbeda nyata. Jika berbeda nyata maka dilanjutkan dengan uji DMRT (Duncan's Multiple Range Test) dengan taraf kepercayaan 95% ($\alpha=0.05$).

Hasil dan Diskusi

Kandungan Protein Limbah Bioetanol

Rata-rata kandungan protein limbah bioetanol setelah proses fermentasi dapat dilihat pada Tabel 1 di bawah ini.

Tabel 1. Rata-rata Kandungan Protein (%) Limbah Bioetanol setelah Difermentasi.

Hari ke-	ulang an	Perlakuan				
		A	B	C	D	E
4	1	2.61	2.74	2.84	2.98	3.77
	2	2.69	2.63	2.67	2.96	3.79
	3	2.64	2.62	2.97	3.05	3.29
	4	2.67	2.91	2.94	3.07	3.14

5	2.65	2.65	2.73	3.06	3.66	
Rata-rata	2.65	2.71	2.83	3.02	3.53	
1	2.69	2.49	2.74	2.93	2.79	
2	2.27	2.41	2.74	2.82	3.14	
8	3	2.65	2.54	2.59	2.83	2.73
4	2.29	2.54	2.84	2.77	2.65	
5	2.28	2.63	2.85	3.01	2.84	
Rata-rata	2.44	2.52	2.75	2.87	2.83	

Berdasarkan tabel di atas, kandungan protein produk fermentasi yang paling rendah adalah perlakuan A (kontrol) dengan lama fermentasi 8 hari yaitu kandungan protein sebesar 2.44%. Sedangkan kandungan protein produk fermentasi yang paling tinggi adalah perlakuan E (penambahan EM-4 sebanyak 1%) dengan lama fermentasi 4 hari yaitu kandungan protein sebesar 3.53%. Untuk mengetahui pengaruh lama fermentasi dengan perlakuan, maka dilakukan analisis sidik ragam. Hasil menunjukkan protein dipengaruhi secara nyata ($P<0,05$) baik oleh perlakuan dan lama waktu fermentasi, serta ada interaksi diantara kedua faktor terhadap kandungan protein produk fermentasi.

Interaksi antara lama fermentasi dengan perlakuan dikarenakan keduanya merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi

fermentasi. Adanya perbedaan masing-masing dosis EM-4 berarti terdapat perbedaan jumlah mikroorganisme yang bekerja merombak limbah, semakin banyak mikroorganisme yang berperan dalam proses perombakan maka semakin banyak substrat yang terurai. Sedangkan lama fermentasi akan berpengaruh terhadap produk fermentasi yang dihasilkan. Semakin lama fermentasi jumlah produk fermentasi akan semakin banyak, namun lama fermentasi mempunyai waktu maksimum tertentu untuk mendapatkan produk fermentasi yang optimum.

Karena adanya perbedaan yang nyata dari perlakuan, maka untuk mengetahui perbedaan masing-masing perlakuan dilanjutkan dengan analisis uji berganda Duncan.

Tabel 2. Pengaruh Perlakuan terhadap Kandungan Protein

Perlakuan	Rata-rata	
	kandungan protein (%)	Signifikansi
A	2.54	a
B	2.61	a
C	2.79	b
D	2.94	c
E	3.18	d

Keterangan : huruf yang sama pada kolom signifikansi menunjukkan tidak berbeda nyata ($P>0,05$).

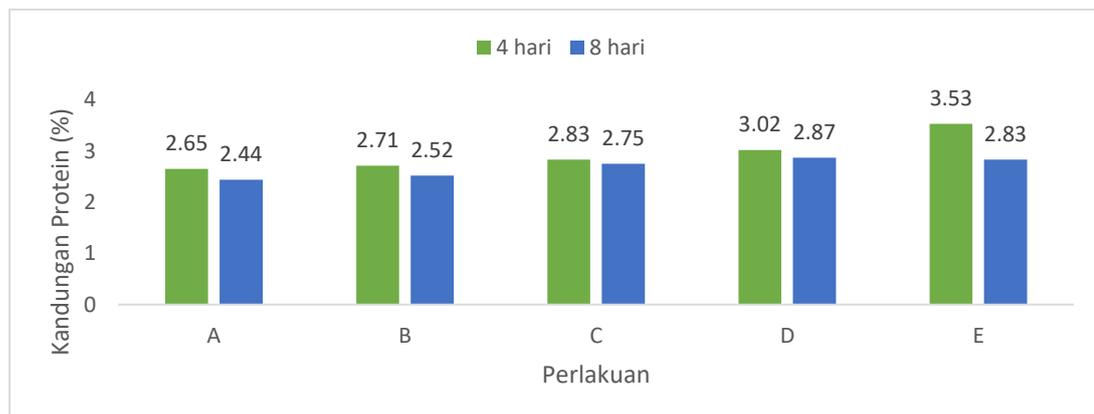
Peningkatan kandungan protein diduga substrat kompleks yang ada pada limbah bioetanol sudah banyak diurai menjadi molekul-molekul lain yang lebih sederhana oleh mikroorganisme melalui jalur katabolisme. Kemudian energi yang dihasilkan akan digunakan untuk mensintesis molekul-molekul sederhana sehingga mampu disintesis kembali menjadi molekul-molekul kompleks lain yang salah satunya yaitu protein [10].

Peningkatan kandungan protein pada limbah bioetanol diduga karena aktivitas metabolisme kapang *Saccharomyces cerevisiae* yang menghasilkan enzim amilase untuk mengurai komponen-komponen kompleks seperti karbohidrat yang ada dalam limbah bioetanol. Dari berbagai jenis mikroorganisme dalam EM-4, *Saccharomyces cerevisiae* diduga lebih banyak menghasilkan enzim amilase daripada *Lactobacillus* dan *Rhodopseudomonas*. Enzim amilase ini digunakan dalam menghidrolisis berbagai jenis sumber amilum menjadi senyawa-senyawa sederhana seperti maltose, glukosa [11].

Biosintesis protein melalui katabolisme yaitu pada jalur siklus asam sitrat. Siklus asam sitrat ini digunakan untuk mengoksidasi piruvat yang terbentuk selama glikolisis pada glukosa menjadi CO₂ dan H₂O. Siklus ini merupakan sumber energi utama dalam bentuk ATP dan juga memproduksi prekursor untuk banyak jalur biosintesis. Salah satu prekursor dalam siklus asam sitrat yang akan membentuk asam

amino adalah setelah proses transaminasi α -ketoglutarat [12].

Faktor lama waktu fermentasi hasil analisis sidik ragam menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,005$). Dapat dilihat pada Gambar 1 di bawah ini rata-rata kandungan protein setiap perlakuan lama fermentasi selama 4 hari lebih tinggi dari pada lama fermentasi selama 8 hari.



Gambar 1. Grafik Rata-rata Kandungan Protein pada Masing-masing Perlakuan yang Difermentasi Selama 4 hari dan 8 hari

Semakin lama waktu fermentasi terjadi penurunan kandungan protein disebabkan protein yang telah diubah oleh mikroorganisme proteolitik digunakan oleh mikroorganisme lain. Sumber nitrogen dalam media fermentasi digunakan untuk sintesis protein didalam sel. Adanya penyerapan sel terhadap sumber nitrogen ini menyebabkan kandungan protein di

dalam media semakin berkurang dengan lamanya waktu fermentasi [13].

Penelitian lain menyatakan bahwa *S. cerevisiae* mulai membentuk zona bening pada uji kemampuan produksi amilase pada hari ke 4 sampai hari ke-7, setelah itu diameter zona bening terhenti. Total mikroba konsorsium *S.cerevisiae* dan *A.niger* pada limbah padat pengolahan

bioetanol singkong hasil fermentasi menurun pada hari ke-5 [14]. Penelitian selanjutnya mengatakan bahwa fase eksponensial *S.cerevisiae* terjadi pada hari ke-2 hingga hari ke-3 dan seterusnya mengalami fase stasioner sampai menuju kematian di hari ke-8. Selanjutnya ia mengatakan populasi *S.cerevisiae* yang memfermentasi limbah padat bioetanol menurun pada hari ke-5 karena nutrient yang dibutuhkan untuk tumbuh habis dimanfaatkan selama proses fermentasi [15].

Maka, lama fermentasi selama 4 hari lebih dianjurkan, selain kandungan protein yang lebih tinggi juga untuk mempersingkat waktu fermentasi sehingga pakan bisa lebih cepat digunakan.

Kandungan Serat Kasar Limbah Bioetanol

Kandungan serat kasar tertinggi limbah bioetanol setelah difermentasi adalah perlakuan A yang difermentasi selama 8 hari yaitu sebesar 16.40%. Sedangkan kandungan serat kasar terendah adalah perlakuan E (penambahan EM-4 sebanyak 1%) yang difermentasi selama 4 hari yaitu sebesar 13.19%. Rata-rata kandungan serat kasar limbah bioetanol setelah

proses fermentasi dapat dilihat pada Tabel 3 di bawah ini.

Tabel 3. Rata-rata Kandungan Serat Kasar (%) Limbah Bioetanol setelah Difermentasi.

Hari ke-	Ulangan	Perlakuan				
		A	B	C	D	E
4	1	16.3	16.2	14.7	14.1	13.1
		1	7	2	9	1
	2	16.4	16.1	15.1	13.4	12.9
		9	7	3		4
	3	16.5	16.0	15.2	14.1	13.4
	3	0	1		8	
	4	16.2	16.5	14.2	14.0	13.3
		8	1	7	7	6
	5	16.3	15.9	14.2	14.5	13.0
		5	7	2	1	4
Rata-rata		16.3	16.1	14.7	14.0	13.1
		9	8	1	5	9
8	1	16.7	16.0	15.4	15.2	14.6
		7	1	7	1	6
	2	16.1	16.0	15.0	15.1	14.9
		7	7	4	5	3
	3	16.1	16.1	15.3	14.3	14.3
	1	7	7	6	4	
	4	16.8	16.8	15.0	14.4	13.5
		1	1	7	6	3
	5	16.1	15.9	15.3	14.6	14.2
		6	2	7	6	1
Rata-rata		16.4	16.2	15.2	14.7	14.3
		0	0	6	7	3

Pengolahan limbah bioetanol sebagai pakan ternak dengan cara fermentasi bertujuan untuk merombak serat berupa polisakarida yang tersedia sehingga bisa dikonversi menjadi bentuk lain yang sederhana dan mudah dicerna oleh ternak, salah satunya yaitu protein. Sedangkan sumber serat yang didapat oleh ternak biasanya didapatkan dari rerumputan.

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan serat kasar dipengaruhi secara nyata ($P < 0,05$) baik oleh perlakuan dan lama waktu fermentasi, serta ada interaksi diantara kedua faktor terhadap kandungan serat kasar produk fermentasi. Karena adanya perbedaan yang nyata dari perlakuan, maka untuk mengetahui perbedaan masing-masing perlakuan dilanjutkan dengan analisis uji berganda Duncan.

Berdasarkan Tabel 4, kandungan serat kasar yang paling tinggi adalah pada perlakuan A yaitu sebesar 16.19%. Sedangkan kandungan serat kasar yang paling rendah adalah pada perlakuan E (penambahan EM-4 sebanyak 1%) yaitu sebesar 13.76%. Sementara itu, perlakuan A dan B tidak menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap perubahan kandungan serat kasar dilihat dari angka signifikansi yang sama. Kandungan serat kasar yang menurun diduga karena mikroorganisme EM-4 yang menghasilkan enzim pencerna serat. EM4 menghasilkan sejumlah besar enzim pencerna serat kasar seperti selulase dan mannase. Selain itu bakteri dalam EM-4 menguntungkan karena tidak menghasilkan serat kasar dalam aktivitasnya, sehingga mereka

lebih efektif dalam menurunkan serat kasar dari pada ragi dan jamur [16]. Enzim pencerna serat yang dihasilkan dalam jumlah besar terutama kelompok bakteri yaitu *Lactobacillus casei* dan *Rhodopseudomonas palutris*. Dalam penelitian lain aktifitas bakteri *Lactobacillus* yang memfermentasi bahan pakan ternak dari ampas tahu mampu menurunkan kandungan serat kasar [17].

Tabel 4. Pengaruh Perlakuan terhadap Kandungan Serat Kasar.

Perlakuan	Rata-rata kandungan serat kasar (%)	Signifikansi
E	13.76	a
D	14.41	b
C	14.98	c
B	16.19	d
A	16.39	d

Keterangan : huruf yang sama pada kolom signifikansi menunjukkan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$).

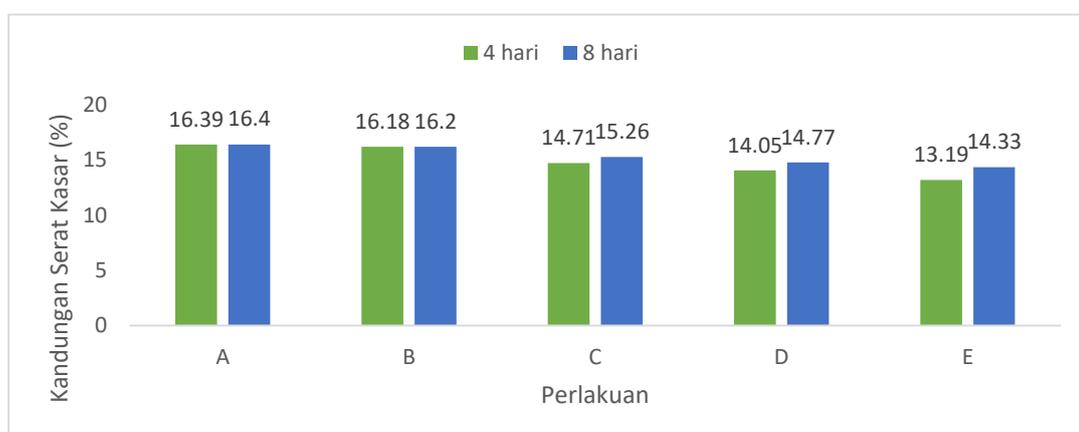
Meskipun bakteri *Lactobacillus* merupakan bakteri asam laktat yang bekerja secara anaerob, namun *Lactobacillus* juga mampu hidup pada kondisi aerob. Hal ini karena *Lactobacillus* merupakan bakteri yang bersifat anaerob fakultatif [18]. Pertumbuhan *Lactobacillus* terus meningkat dari hari pertama sampai ketiga. Penurunan kadar serat kasar selama

proses fermentasi diduga karena adanya pemanfaatan serat kasar oleh aktivitas *L.casei* untuk metabolisme sel. Serat pangan tidak larut dapat difermentasi oleh bakteri asam laktat meskipun laju pemecahannya lebih lambat dari pada pemecahan serat pangan larut. Hal ini disebabkan keterbatasan enzim hidrolitik pemecah serat pangan tidak larut. Bakteri asam laktat memiliki kemampuan memfermentasi selulosa menjadi senyawa SCFA (*Short Chain Fatty Acids*) tetapi SCFA yang dihasilkan lebih rendah dibanding fermentasi pada fruktooligosakarida, xylooligosakarida serta arabinoxyla [19].

Selulase adalah enzim yang dapat menghidrolisis ikatan $\beta(1-4)$ pada selulosa. Hidrolisis enzimatik yang sempurna memerlukan aksi sinergis dari tiga enzim, yaitu pertama Endo-1,4- β -D-glucanase (endosolula-

se, carboxymethylcellulase atau CMCase) yang mengurai polimer secara random pada ikatan intenal α -1,4-glikosida untuk menghasilkan oligodekstrin dengan panjang rantai yang bervariasi. Kedua Exo-1,4- β -D-glucanase (cellobiohidrolase) yang mengurai selulosa dari ujung pereduksi dan non pereduksi untuk menghasilkan selobiosa dan/atau glukosa. Ketiga β -glucosidase (cellociase) yang mengurai selobiosa untuk menghasilkan glukosa [20].

Sementara itu, pada faktor lama waktu fermentasi hasil analisis sidik ragam juga menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,005$). Dapat dilihat pada Gambar 2 di bawah ini rata-rata kandungan serat kasar setiap perlakuan lama fermentasi selama 4 hari lebih rendah dari pada lama fermentasi selama 8 hari.



Gambar 2. Grafik Rata-rata Kandungan Serat Kasar pada Masing-masing Perlakuan yang Difermentasi selama 4 hari dan 8 hari.

Gambar 2 di atas menunjukkan bahwa serat kasar mengalami peningkatan sejalan dengan semakin lama waktu fermentasi. Peningkatan rata-rata serat kasar mencapai 1.3% dari hari ke-4 sampai hari ke-8. Peningkatan kandungan serat kasar ini diduga karena pertumbuhan *Saccharomyces* yang meningkat, dimana *Saccharomyces* termasuk kedalam kapang seperti halnya *Aspergillus* yang mampu meningkatkan kandungan serat kasar [17]. Perkembangan kapang yang secara konsisten meningkat akan menyumbangkan serat kasar melalui dinding sel nya [21]. Dimana komponen struktural dinding sel dari kapang terdiri dari selulosa, kitin, atau glikan [22]. *S.cerevisiae* juga diduga menghasilkan sedikit enzim selulase sampai hari ke-8 karena *S.cerevisiae* menunjukkan zona bening pada hari ke-10 dalam uji aktivitas selulase [15].

Kesimpulan

Terdapat perubahan kandungan protein dan serat kasar pada limbah bioetanol setelah dilakukan fermentasi dengan masing-masing konsentrasi EM-4 yaitu perlakuan A (2.54% dan 16.39%), perlakuan B (2.61% dan

16.19%), perlakuan C (2.79% dan 14.98%), perlakuan D (2.94% dan 14.41%), dan perlakuan E (3.18% dan 13.76%). Waktu fermentasi yang terbaik terhadap peningkatan kandungan protein dan penurunan serat kasar pada limbah bioetanol adalah 4 hari. Sedangkan perlakuan terbaik untuk meningkatkan kandungan protein dan menurunkan serat kasar pada limbah bioetanol adalah perlakuan E yaitu penambahan konsentrasi EM-4 sebanyak 1%.

Referensi

- [1] Putra, Hijrah Purnama, Gusti Nurlaila F., Awaludin N. 2013. Optimalisasi Waktu Fermentasi dan Penggunaan Ragi dalam Pembuatan Bioetanol dari Kulit Singkong. *Prosiding Seminar Nasional Menuju Masyarakat Madani dan Lestari*. Jurusan Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan, Universitas Islam Indonesia.
- [2] Siman, Maxima. 2015. *Bahan Bakar Nabati di Indonesia : Bioetanol*.
[<http://m.kompasiana.com/maxi-mahs/bahan-bakar-nabati-di-indonesia->

- bioetanol_54f9370ca33311ae068b49]. Diakses pada 09 April 2016.
- [3] Rukmana dan Yuniarsih. 2011. *Aneka Olahan ubi Kayu*. Yogyakarta: Kanisius.
- [4] Fitriyani, Ai. 2013. Pengaruh Penggunaan Jamur *Trichoderma viride* terhadap Perubahan Kandungan Nutrisi pada Proses Fermentasi Limbah Padat Pengolahan Bioetanol Singkong (*Manihot esculenta*). [Skripsi]. UIN Bandung.
- [5] Winarno, F.G. 1980. *Bahan Pangan Terfermentasi*. Bogor: Pusat Penelitian dan Pengembangan Teknologi Pangan Institut Pertanian Bogor.
- [6] Akbar, Rahmat Taufiq Mustahiq. 2013. Peningkatan Nutrisi Limbah Produksi Bioethanol dari Singkong Melalui Fermentasi oleh Konsorsium *Saccharomyces cerevisiae* dan *Trichoderma viride*. [Skripsi]. Bandung : Universitas Islam Negeri Sunan Gunung Djati Bandung. h 58
- [7] Akmal J., Andayani dan S. Novianti. 2004. Evaluasi kandungan NDF, ADF dan hemiselulosa pada jerami padi amoniasi yang difermentasi dengan menggunakan EM-4. *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan*. Vol.7 No.3: 168-173.
- [8] Islamiyati, R. 2014. Nilai Nutrisi Campuran Feses Sapi Dan Beberapa Level Ampas Kelapa yang Difermentasi dengan EM4. *Buletin Nutrisi dan Makanan Ternak*. Vol 10(1) h 43
- [9] Paramarta. Gilang Dayinta. 2013. Pengaruh Penambahan Nitrogen dan Sulfur pada Fermentasi Limbah Padat Pengolahan Bioethanol oleh Konsorsium *Trichoderma viride* dan *Saccharomyces cerevisiae* terhadap Protein Kasar dan Non Protein Nitrogen. [Skripsi]. Sumedang : Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran. h 28
- [10] Lehninger, Albert L. 1982. *Dasar-dasar Biokimia Jilid 2*. Jakarta: Erlangga.

- [11] Poedjiadi, Ana dan F.M. Tintin Supriyanti. 2009. *Dasar-dasar Biokimia*. Jakarta: UI-Press.
- [12] Ngili, Yohanis. 2009. *Biokimia: Metabolisme & Bioenergetika*. Yogyakarta : Graha Ilmu.
- [13] Thantowi, A dan Nuswantara, S. 2012. Efek sumber karbon berbeda terhadap produksi α -glukan oleh *Saccharomyces cerevisiae* pada fermentor air lift. *Junal Nature Indonesia*. Vol. 13. No. 2
- [14] Sari, Duwi Maida. 2013. Pengaruh Fermentasi oleh Konsorsium *Aspergillus niger* dan *Sacharomyces cerevisiae* Terhadap Kandungn Nutrisi Limbah Padat Pengolahan Bioethanol yang Berasal dari Singkong (*Manihot esculenta*). [skripsi]. Bandung : UIN SGD Bandung.
- [15] Sutisna, Andri. 2013. Pengaruh Fermentasi Limbah Padat Pengolahan Bioetanol dari Singkong (*Manihot esculenta*) Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* Terhadap Kandungan Gizi Limbah. [Skripsi]. Bandung: UIN Sunan Gunung Djati Bandung.
- [16] Santoso, Urip dan I.Aryani. 2007. Change in Chemical Compsosition of Cassava Leaves Fermented by EM4. *Jurnal Sains Perernakan Indonesia*. Vol. 2 No. 2.
- [17] Tifani, Muhammad Anjang, Sri Kumalaningsih, dan Arie F.Mulyadi. 2015. Produksi bahan pakan ternak dari ampas tahu dengan fermentasi menggunakan EM4 (Kajian pH awal dan lama waktu femrnetasi). *Jurnal Fakultas Teknologi Pertanian*. Universitas Brawijaya. Malang.
- [18] Sunaryanto, Roqif, Efrida Martius, dan Bambang Marwoto. 2014. Uji Kemampuan *Lactobacillus casei* sebagai Agensia Probiotik. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia*. Vol.01, No. 1 . ISSN: 2442-2606
- [19] Zubaidah, Elok. 2006. Pengembangan Pangan Probiotik Berbasis Bekatul.

- Jurnal Teknologi Pertanian*,
Vol. 7 No. 2. hal 89-95
- [20] Ikram, Muhammad Mohsin Javed, Tehmina Saleem Khan dan Zafar Siddiq. 2005. Cotton Saccharifying Activity of Cellulases Produced by Co-culture of *Aspergillus niger* and *Trichoderma viride*. *Res. J. Agriculture and Biology Science*. Vol 1, No.3 : hal 241-245.
- [21] Ginting, S.P., dan Krisnan R. 2006. Produksi etanol menggunakan *Saccharomyces cereviceae* yang dimobilisasi dengan agar batang. *Akta Kimindo*. 1 (2).
- [22] Pelczar dan Chan, 2006. Dasar-dasar Mikrobiologi Jilid 1. Jakarta: UI-Press.

Yani Suryani *

Department of Biology, Faculty of
Science and Technology UIN Sunan
Gunung Djati Bandung
yan_dikha@yahoo.com

Iman Hernaman

Faculty of Animal Husbandry,
Padjadjaran University
iman_hernaman@yahoo.com

Neng Hilma Hamidah

Department of Biology, Faculty of
Science and Technology UIN Sunan
Gunung Djati Bandung
bio.hilma@gmail.com

*Corresponding author