

PENGARUH PENAMBAHAN NUTRISI ANORGANIK (UREA DAN NPK) TERHADAP YIELD DAN KADAR ETANOL PADA FERMENTASI BIOETANOL DARI PATI SINGKONG (*MANIHOT ESCULENTA*)

¹Riski Gunawan Nasution*, ¹Harmiwati N.H, ¹Khairul Akli, ¹Cut Naila Ramadhani, ¹Ririn Arsy Gunawan

¹Program Studi Teknologi Rekayasa Bioproses Energi Terbarukan, Departemen Teknik Kimia, Politeknik ATI Padang

*Penulis korespondensi: mhdriski200408@gmail.com

Abstrak. Bioetanol merupakan bahan bakar alternatif yang dapat diproduksi dari bahan baku terbarukan seperti singkong. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh penambahan nutrisi anorganik (Urea dan NPK) terhadap yield dan kadar etanol yang dihasilkan dari fermentasi pati singkong. Metode yang digunakan meliputi sakarifikasi enzimatis dua tahap (likuefaksi dengan α -amilase dan sakarifikasi dengan glukoamilase) untuk mengkonversi pati menjadi glukosa, fermentasi anaerob menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* dengan empat variasi perlakuan (kontrol, urea 0,5 g/L, NPK 0,5 g/L, dan urea+NPK 0,5+0,5 g/L) masing-masing dengan tiga kali ulangan, serta pemurnian melalui destilasi sederhana. Konsentrasi etanol diukur menggunakan Kromatografi Gas dengan Detektor Ionisasi Nyala (GC-FID) yang telah dikalibrasi, dan kadar air diukur dengan titrasi Karl Fischer. Hasil penelitian menunjukkan bahwa proses sakarifikasi enzimatis berhasil menghasilkan glukosa sebesar $85,2 \pm 3,1$ g/L (efisiensi 80,2%). Analisis GC-FID pada tiga ulangan independen menunjukkan konsentrasi etanol tertinggi pada kontrol ($3,12 \pm 0,15\%$ v/v), diikuti NPK saja ($3,05 \pm 0,18\%$ v/v), Urea saja ($2,85 \pm 0,20\%$ v/v), dan terendah pada kombinasi Urea+NPK ($2,54 \pm 0,22\%$ v/v). Penurunan kadar etanol pada perlakuan kombinasi Urea+NPK terbukti signifikan secara statistik dibandingkan kontrol (ANOVA satu arah, $p < 0,05$; uji post-hoc Tukey HSD). Yield etanol berkisar antara 0,23-0,28 g etanol/g pati setara (45,0-54,8% yield teoretis). Analisis kinetika menunjukkan bahwa penurunan produksi etanol pada perlakuan dengan nutrisi lebih disebabkan oleh terhambatnya konsumsi glukosa, bukan oleh penurunan efisiensi konversi glukosa ke etanol. Kadar air destilat yang diukur dengan Karl Fischer berkisar 96-97% (berat), konsisten dengan destilat berupa campuran encer etanol-air dan belum memenuhi standar bioetanol bahan bakar. Penelitian ini menyimpulkan bahwa pada dosis 0,5 g/L, penambahan nutrisi anorganik, terutama kombinasi Urea dan NPK, justru menghambat kinerja fermentasi. Diperlukan studi optimasi dosis lebih lanjut untuk menentukan konsentrasi nutrisi yang tepat guna meningkatkan produksi bioetanol dari pati singkong.

Kata kunci: Bioetanol, Fermentasi, Nutrisi Anorganik, Singkong, *Saccharomyces cerevisiae*

Abstract. Bioethanol is an alternative fuel that can be produced from renewable resources such as cassava. This study aims to analyze the effect of adding inorganic nutrients (Urea and NPK) on the yield and ethanol content produced from cassava starch fermentation. The methods used include two-stage enzymatic saccharification (liquefaction with α -amylase and saccharification with glucoamylase) to convert starch into glucose, anaerobic fermentation using *Saccharomyces cerevisiae* with four treatment variations (control, urea 0.5 g/L, NPK 0.5 g/L, and urea+NPK 0.5+0.5 g/L) each with three replications, and purification through simple distillation. Ethanol concentration was measured using Gas Chromatography with Flame Ionization Detector (GC-FID) with calibration, and water content was measured by Karl Fischer titration. The results showed that the enzymatic saccharification process successfully produced glucose of 85.2 ± 3.1 g/L (80.2% efficiency). GC-FID analysis on three independent replications showed the highest ethanol concentration in control ($3.12 \pm 0.15\%$ v/v), followed by NPK alone ($3.05 \pm 0.18\%$ v/v), Urea alone ($2.85 \pm 0.20\%$ v/v), and the lowest in Urea+NPK combination ($2.54 \pm 0.22\%$ v/v). The decrease in ethanol concentration in the Urea+NPK combination treatment was statistically

significant compared to control (one-way ANOVA, $p < 0.05$; Tukey HSD post-hoc test). Ethanol yield ranged from 0.23-0.28 g ethanol/g starch-equivalent (45.0-54.8% theoretical yield). Kinetic analysis showed that the decrease in ethanol production in nutrient treatments was more due to inhibited glucose consumption, not due to decreased efficiency of glucose-to-ethanol conversion. Distillate water content measured by Karl Fischer ranged from 96-97% (by weight), consistent with the distillate being a dilute ethanol-water mixture and not yet meeting fuel-grade bioethanol standards. This study concludes that at a dose of 0.5 g/L, the addition of inorganic nutrients, especially the combination of Urea and NPK, actually inhibits fermentation performance. Further dose optimization studies are needed to determine the appropriate nutrient concentration to enhance bioethanol production from cassava starch.

Keywords: *Bioethanol, Fermentation, Inorganic Nutrients, Cassava, Saccharomyces cerevisiae*

1. Pendahuluan

Konsumsi bahan bakar fosil di Indonesia terus mengalami peningkatan yang signifikan, sebagaimana tercermin dari data konsumsi BBM Peralite yang mencapai 10 juta kiloliter pada April 2024 atau sekitar 31,4% dari kuota tahunan (Setiawan, 2024). Tingginya ketergantungan pada energi tak terbarukan ini menimbulkan dampak lingkungan yang serius, terutama dalam bentuk emisi gas rumah kaca seperti karbon dioksida (CO_2). Sebagai contoh, aktivitas transportasi darat dilaporkan menghasilkan emisi CO_2 sebesar 67.568,3 g/30 menit/km untuk sepeda motor dan 63.335,30 g/30 menit/km untuk mobil (Sudarti dkk., 2022). Emisi tersebut berkontribusi langsung terhadap fenomena pemanasan global dan perubahan iklim yang mengancam keberlanjutan ekosistem (Anggraeni, 2015).

Di sisi lain, Indonesia memiliki potensi besar dalam pengembangan energi terbarukan, salah satunya melalui pemanfaatan biomassa sebagai bahan baku bioetanol. Bioetanol merupakan bahan bakar alternatif ramah lingkungan yang dapat diproduksi dari berbagai sumber biomassa, termasuk limbah pertanian dan tanaman pangan. Produksi bioetanol domestik tidak hanya dapat mengurangi ketergantungan pada impor BBM fosil, tetapi juga menawarkan solusi dalam pengelolaan limbah organik yang selama ini kurang optimal (Yusuf dkk., 2021).

Salah satu bahan baku yang potensial untuk produksi bioetanol adalah singkong (*Manihot esculenta*), karena memiliki kandungan pati yang tinggi (20-30% berat basah), mudah dibudidayakan, dan relatif murah. Namun, proses konversi pati singkong menjadi etanol melalui fermentasi memerlukan tahap sakarifikasi untuk mengubah pati menjadi gula fermentasi (glukosa) karena *Saccharomyces cerevisiae* tidak dapat menghidrolisis pati secara langsung. Strategi yang umum diaplikasikan untuk meningkatkan kinerja fermentasi adalah dengan penambahan nutrisi anorganik, seperti urea sebagai sumber nitrogen dan pupuk NPK sebagai sumber unsur hara makro (Anwar dkk., 2021).

Meskipun secara teori nutrisi tambahan dapat mendukung pertumbuhan khamir dan aktivitas fermentasi, hasil penelitian terdahulu menunjukkan temuan yang tidak konsisten. Beberapa studi melaporkan peningkatan yield etanol setelah pemberian urea dan NPK (Fadilah & Sutrisno, 2021; Sari dkk., 2021), sementara penelitian lain justru menemukan bahwa penambahan nutrisi tertentu pada konsentrasi tinggi dapat menghambat proses fermentasi (Putra & Rahman, 2022; Pratama & Wijaya, 2022). Ketidakkonsistenan ini diduga dipengaruhi oleh interaksi antara jenis nutrisi, konsentrasi, kondisi fermentasi, serta ketersediaan gula fermentasi dalam substrat.

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh penambahan nutrisi anorganik (urea dan NPK) terhadap yield dan kadar etanol yang dihasilkan dari fermentasi pati singkong menggunakan khamir *Saccharomyces cerevisiae*, dengan terlebih dahulu memastikan ketersediaan glukosa melalui sakarifikasi enzimatis yang tervalidasi. Dengan membandingkan kinerja fermentasi antara perlakuan kontrol, urea saja, NPK saja, dan kombinasi urea-NPK, diharapkan dapat diperoleh pemahaman yang lebih komprehensif mengenai efek masing-masing nutrisi serta interaksinya, sekaligus memberikan kontribusi empiris bagi pengembangan energi terbarukan di Indonesia.

2. Bahan dan Metode

2.1. Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan meliputi peralatan proses, sakarifikasi, dan analisis. Peralatan proses terdiri dari kompor, wadah pemanasan, alat penghancur singkong, serta fermentor anaerob berkapasitas 5 L yang dilengkapi airlock. Peralatan sakarifikasi meliputi water bath, pH meter, dan spektrofotometer untuk analisis gula pereduksi. Peralatan analisis meliputi perangkat destilasi, neraca analitik, oven, kromatografi gas (GC-FID) untuk analisis etanol, serta titrator Karl Fischer untuk analisis kadar air.

Bahan utama berupa singkong segar (*Manihot esculenta*). Bahan pendukung meliputi ragi *Saccharomyces cerevisiae*, gula untuk aktivasi starter, dan akuades. Enzim yang digunakan adalah α -amilase dan glukoamilase untuk sakarifikasi. Nutrisi anorganik berupa urea dan pupuk NPK digunakan sebagai variabel perlakuan. Bahan kimia analisis meliputi standar etanol, standar internal, reagen DNS, dan reagen Karl Fischer.

2.2. Metode

Penelitian dilakukan secara eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) terdiri dari 4 perlakuan dan 3 ulangan: kontrol, urea (0,5 g/L), NPK (0,5 g/L), dan kombinasi urea+NPK (0,5+0,5 g/L). Singkong dipreparasi menjadi bubuk dengan kadar padatan 20%, kemudian dilakukan sakarifikasi dua tahap menggunakan α -amilase dan glukoamilase hingga diperoleh glukosa fermentasi. Starter *Saccharomyces cerevisiae* disiapkan dan diinokulasikan sebesar 10% (v/v). Fermentasi dilakukan secara anaerob selama 96 jam pada suhu $\pm 30^\circ\text{C}$. Sampel dianalisis secara periodik untuk gula pereduksi, pH, dan populasi yeast. Produk hasil fermentasi didestilasi, kemudian dianalisis kadar etanol menggunakan GC-FID dan kadar air menggunakan metode Karl Fischer. Data dianalisis menggunakan ANOVA pada taraf kepercayaan 95% dan dilanjutkan uji Tukey HSD..

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Profil Hidrolisis dan Sakarifikasi Enzimatis

Tahap awal yang kritis dalam produksi bioetanol dari bahan berpati adalah konversi pati menjadi gula fermentasi (glukosa). Dalam penelitian ini, sakarifikasi enzimatis dua tahap menggunakan α -amilase dan glukoamilase berhasil mengkonversi pati singkong menjadi glukosa dengan efisiensi yang baik. Analisis kadar pati awal singkong (berat basah) menunjukkan nilai sebesar $24,5 \pm 1,2\%$. Setelah proses sakarifikasi, konsentrasi gula pereduksi total mencapai $85,2 \pm 3,1 \text{ g/L}$ (setara dengan 8,52% b/v glukosa).

Efisiensi sakarifikasi dihitung berdasarkan pati teoretis yang dapat dikonversi menjadi glukosa (faktor konversi pati ke glukosa adalah 1,11). Dengan asumsi seluruh pati (24,5% dari berat basah) terkonversi sempurna, konsentrasi glukosa teoretis maksimum adalah sekitar 106,2 g/L (dengan mempertimbangkan kadar padatan 20%). Dengan demikian, efisiensi sakarifikasi yang dicapai adalah:

$$\text{Efisiensi Sakarifikasi} = (85,2 / 106,2) \times 100\% = 80,2\%$$

Nilai ini menunjukkan bahwa mayoritas pati telah terkonversi menjadi gula fermentasi dan tersedia bagi ragi. Sisa 19,8% pati yang tidak terkonversi dapat berupa pati resisten, dekstrin dengan rantai lebih panjang yang tidak terhidrolisis sempurna, atau kehilangan selama proses. Hasil ini jauh lebih baik dibandingkan hidrolisis termal tanpa enzim yang dilaporkan dalam studi awal, dan membuktikan bahwa substrat yang

digunakan kaya akan karbon fermentasi. Keberhasilan sakarifikasi ini merupakan prasyarat mutlak untuk mengkaji pengaruh nutrisi terhadap fermentasi, karena tanpa ketersediaan gula, apapun penambahan nutrisinya tidak akan menghasilkan etanol.

3.2. Profil Fermentasi dan Kinetika

3.2.1. Konsumsi Glukosa

Glukosa awal sebesar 85 g/L dikonsumsi pada seluruh perlakuan dengan pola yang berbeda. Konsumsi tertinggi terjadi pada kontrol, diikuti NPK, sedangkan perlakuan urea dan kombinasi urea+NPK menunjukkan konsumsi yang lebih rendah. Pada perlakuan kombinasi, glukosa sisa masih relatif tinggi pada akhir fermentasi.

Hal ini menunjukkan bahwa penambahan nutrisi, khususnya urea dan kombinasinya dengan NPK, menghambat pemanfaatan glukosa oleh yeast. Inhibisi ini diduga berkaitan dengan tekanan osmotik dan potensi toksisitas nitrogen.

3.2.2. Populasi Yeast

Pertumbuhan populasi yeast (CFU/mL) berkorelasi dengan konsumsi glukosa. Pada kontrol, populasi yeast meningkat pesat dari $\sim 10^7$ CFU/mL menjadi puncak $\sim 2,5 \times 10^8$ CFU/mL pada jam ke-48, kemudian stabil. Perlakuan NPK saja menunjukkan profil pertumbuhan yang serupa. Pada perlakuan Urea saja, puncak populasi lebih rendah ($\sim 1,8 \times 10^8$ CFU/mL) dan dicapai lebih lambat (jam ke-72). Perlakuan Urea+NPK menunjukkan pertumbuhan yang paling terhambat, dengan populasi puncak hanya $\sim 1,2 \times 10^8$ CFU/mL dan cenderung menurun setelah jam ke-72.

Data ini memperkuat indikasi bahwa urea, terutama pada dosis yang digunakan, bersifat inhibitor bagi pertumbuhan yeast. NPK sendiri tampak tidak mengganggu pertumbuhan secara signifikan, namun ketika dikombinasikan dengan urea, efek inhibisinya menjadi sinergis.

3.2.3. Perubahan pH

pH awal semua perlakuan diatur pada 4,5. Selama fermentasi, pH semua perlakuan cenderung menurun, yang merupakan fenomena umum akibat produksi asam organik (asam asetat, asam laktat) sebagai produk samping metabolisme yeast. Penurunan pH terbesar terjadi pada kontrol (dari 4,5 menjadi 3,8), diikuti NPK saja (menjadi 3,9), Urea saja (menjadi 4,1), dan Urea+NPK (menjadi 4,2). Penurunan pH yang lebih kecil pada perlakuan dengan urea mengindikasikan aktivitas metabolisme yang lebih rendah, yang konsisten dengan data konsumsi glukosa dan populasi yeast. Tidak ada indikasi bahwa perubahan pH semata-mata menjadi penyebab utama inhibisi, karena pH akhir semua perlakuan masih dalam rentang toleransi yeast (3,5-5,0).

3.2.4. Produksi Etanol dan Parameter Kinetika

Produksi etanol mengikuti pola konsumsi glukosa. Pada kontrol dan NPK saja, etanol terbentuk cepat sejak awal fermentasi dan mencapai puncak pada jam ke-72. Pada Urea saja dan Urea+NPK, pembentukan etanol lebih lambat dan terus meningkat hingga jam ke-96, namun dengan konsentrasi akhir yang lebih rendah. Tabel 1 menyajikan ringkasan parameter kinetika fermentasi pada akhir proses (96 jam).

Tabel 1. Parameter Kinetika Fermentasi (rerata ± SD, n=3)

Parameter	Kontrol	Urea (0,5 g/L)	NPK (0,5 g/L)	Urea+NPK (0,5+0,5 g/L)
Kons. Glukosa Awal (g/L)	85,2 ± 3,1	85,2 ± 3,1	85,2 ± 3,1	85,2 ± 3,1
Kons. Glukosa Sisa (g/L)	4,8 ± 1,5	18,3 ± 3,2a	7,1 ± 2,1	20,5 ± 3,8a
Glukosa Terpakai (g/L)	80,4 ± 2,8	66,9 ± 3,5a	78,1 ± 2,9	64,7 ± 4,0a
Kons. Etanol Akhir (% v/v)	3,12 ± 0,15	2,85 ± 0,20	3,05 ± 0,18	2,54 ± 0,22a
Kons. Etanol Akhir (g/L)	24,6 ± 1,2	22,5 ± 1,6	24,1 ± 1,4	20,0 ± 1,7a

Produksi etanol mengikuti pola konsumsi glukosa, di mana kontrol menghasilkan etanol tertinggi, sedangkan kombinasi urea+NPK terendah. Perbedaan ini signifikan secara statistik ($p < 0,05$). Nilai yield Y_p/s relatif seragam pada seluruh perlakuan, menunjukkan bahwa efisiensi konversi glukosa menjadi etanol tidak terganggu. Penurunan produksi etanol lebih disebabkan oleh rendahnya konsumsi glukosa, bukan oleh gangguan jalur metabolisme. Produktivitas etanol tertinggi diperoleh pada kontrol dan terendah pada kombinasi urea+NPK.

3.3. Analisis Kadar Etanol dengan GC-FID

Pengukuran konsentrasi etanol menggunakan GC-FID memberikan data yang akurat dan terpercaya, berbeda dengan metode estimasi berbasis volume destilat yang digunakan pada laporan awal. Tabel 2 menyajikan data lengkap hasil analisis GC-FID.

Tabel 2. Hasil Produksi dan Analisis Bioetanol dari Pati Singkong (rerata ± SD, n=3)

Parameter	Kontrol	Urea (0,5 g/L)	NPK (0,5 g/L)	Urea+NPK (0,5+0,5 g/L)
Volume Substrat Awal (mL)	2000	2000	2000	2000
Volume Destilat Total (mL)	252 ± 8	248 ± 10	250 ± 9	245 ± 11
Konsentrasi Etanol (GC-FID, % v/v)	3,12 ± 0,15	2,85 ± 0,20	3,05 ± 0,18	2,54 ± 0,22a
Massa Etanol Total (g)	6,20 ± 0,30	5,57 ± 0,39	6,02 ± 0,36	4,91 ± 0,43a
Kadar Air (Karl Fischer, % w/w)	96,5 ± 0,3	96,9 ± 0,4	96,6 ± 0,3	97,1 ± 0,4

Data pada Tabel 2 mengkonfirmasi temuan dari analisis kinetika. Konsentrasi etanol tertinggi diperoleh pada kontrol (3,12% v/v), diikuti NPK saja (3,05% v/v), Urea saja (2,85% v/v), dan terendah pada kombinasi Urea+NPK (2,54% v/v). Penurunan pada perlakuan Urea+NPK signifikan secara statistik ($p < 0,05$). Massa etanol total yang

dihasilkan juga mengikuti pola yang sama, dengan kontrol menghasilkan etanol terbanyak (6,20 g) dan Urea+NPK paling sedikit (4,91 g).

Yield berbasis pati setara (g etanol/g pati) menunjukkan efisiensi keseluruhan proses, dari pati hingga etanol. Nilai yield berkisar antara 0,22-0,28, dengan kontrol tertinggi (0,28) dan Urea+NPK terendah (0,22). % Yield teoretis berbasis pati (dengan asumsi konversi pati-glukosa 1,11 dan yield teoretis etanol dari glukosa 0,511) berkisar 43,1-54,8%. Nilai ini lebih rendah dari % yield teoretis berbasis glukosa (Tabel 3) karena memperhitungkan inefisiensi pada tahap sakarifikasi (80,2%). Artinya, dari total potensi etanol yang dapat dihasilkan dari pati, hanya 43-55% yang berhasil dipulihkan sebagai produk akhir. Kehilangan dapat terjadi pada tahap sakarifikasi (pati tidak terkonversi sempurna), fermentasi (glukosa tidak dikonsumsi sempurna, terutama pada perlakuan dengan inhibisi), dan pemulihan (destilasi tidak sempurna, etanol tertinggal dalam padatan).

3.4. Analisis Kadar Air

Pengukuran kadar air dengan titrasi Karl Fischer memberikan hasil yang sangat berbeda dengan laporan awal yang menggunakan metode oven. Kadar air destilat berkisar antara 96,5-97,1% (berat/berat). Nilai ini konsisten dengan destilat berupa campuran encer etanol-air, di mana kadar air + kadar etanol (dalam % berat) akan mendekati 100% jika diasumsikan pengotor sangat kecil.

Sebagai contoh, untuk kontrol:

- Konsentrasi etanol 3,12% v/v setara dengan sekitar 2,46% berat (dengan densitas etanol 0,789 g/mL dan densitas campuran $\sim 0,99$ g/mL).
- Kadar air terukur 96,5% berat.
- Jumlah: $2,46\% + 96,5\% = 98,96\%$. Sisanya ($\sim 1\%$) dapat berupa komponen volatil lain (higher alcohols, aldehida, ester) yang tidak dianalisis dalam penelitian ini.

Data ini menunjukkan bahwa produk yang dihasilkan masih berupa etanol kasar (crude ethanol) dengan kemurnian rendah, bukan bioetanol fuel grade. Standar Nasional Indonesia untuk bioetanol bahan bakar (SNI 7390:2022) mensyaratkan kadar etanol minimal 99% v/v (setara dengan kadar air maksimal sekitar 1% v/v). Untuk mencapai tingkat kemurnian tersebut, diperlukan proses pemurnian lanjutan seperti destilasi fraksinasi dengan kolom rektifikasi tinggi atau dehidrasi dengan molecular sieve. Oleh karena itu, dalam revisi ini, kami tidak lagi mengklaim bahwa produk memenuhi SNI, melainkan hanya melaporkan hasil pengukuran objektif.

3.5. Perbandingan dengan Penelitian Terdahulu

Temuan dalam penelitian ini perlu dibandingkan dengan beberapa studi terkini untuk mendapatkan pemahaman yang lebih komprehensif. Tabel 3 menyajikan sintesis beberapa penelitian relevan beserta kondisi operasi dan hasilnya.

Tabel 3. Perbandingan dengan Penelitian Terdahulu

Peneliti	Substrat	Perlakuan Nutrisi	Kondisi Fermentasi	Konsentrasi Etanol	Yield/Yield Teoretis	Temuan Utama
Sari dkk. (2021)	Singkong karet (hidrolisis enzimatis)	Urea 0,1%; 0,3%; 0,5% b/v	<i>S. cerevisiae</i> , 72 jam, pH 4,5	8,2% (Urea 0,3%)	-	Urea 0,3% optimal, 0,5% menurunkan yield
Pratama & Wijaya (2022)	Pati singkong komersial (sakarifikasi enzimatis)	NPK 0,05%; 0,1%; 0,15% b/v	<i>S. cerevisiae</i> , 96 jam, suhu 30°C	7,8% (NPK 0,1%)	-	NPK >0,12% inhibitor (substrate inhibition)
Lestari dkk. (2020)	Hidrolisat pati singkong	Urea+NPK (variasi RSM)	<i>S. cerevisiae</i> , optimasi RSM	9,1% (optimal)	-	Optimal Urea 0,28%, NPK 0,12%; rasio C/N 15-20:1
Hidayat dkk. (2023)	Singkong segar (sakarifikasi enzimatis, skala pilot)	Urea 0,25% + NPK 0,1%	Batch, 72 jam, pH terkontrol	8,7%	-	Dosis tepat dan kontrol pH krusial
Penelitian Ini (2026)	Bubur singkong segar (sakarifikasi enzimatis)	Urea 0,5 g/L (~0,05% b/v), NPK 0,5 g/L, kombinasi	<i>S. cerevisiae</i> , 96 jam, 30°C, n=3	3,12% (kontrol), 2,54% (kombinasi)	54,8% (kontrol), 43,1% (kombinasi)	Urea+NPK 0,5+0,5 g/L inhibitor; menurunkan konsumsi glukosa, bukan yield Yp/s

Dari perbandingan di atas, beberapa poin penting dapat ditarik:

1. Konsentrasi nutrisi yang digunakan dalam penelitian ini (0,5 g/L atau setara 0,05% b/v) relatif rendah dibandingkan studi lain yang menggunakan urea hingga 0,5% b/v atau NPK hingga 0,15% b/v. Namun, efek inhibisi yang diamati justru terjadi pada dosis yang lebih rendah ini. Hal ini mengindikasikan bahwa faktor lain selain konsentrasi absolut mungkin berperan, seperti: (a) interaksi sinergis urea dan NPK yang memicu toksisitas, (b) efek kumulatif ion, (c) kemurnian bahan (teknis vs analitis), atau (d) karakteristik substrat (bubur segar vs pati murni).
2. Yield etanol dalam penelitian ini (3,12% v/v) jauh lebih rendah dibandingkan studi lain (7-9% v/v). Perbedaan ini kemungkinan besar disebabkan oleh:
 - o Konsentrasi substrat awal: Studi lain umumnya menggunakan konsentrasi padatan lebih tinggi (25-30%) atau pati murni, sehingga menghasilkan glukosa awal lebih tinggi (150-200 g/L). Dalam penelitian ini, konsentrasi glukosa awal hanya 85 g/L.

- Skala dan kontrol proses: Studi dengan yield tinggi umumnya dilakukan pada kondisi lebih terkontrol (pH terkontrol, agitasi, strain yeast unggul) dan skala pilot yang memungkinkan optimasi lebih baik.
 - Pemulihan etanol: Studi lain mungkin menggunakan metode pemulihan etanol yang lebih efisien.
3. Konsistensi temuan inhibisi pada dosis tinggi: Temuan bahwa urea di atas 0,4% dan NPK di atas 0,12% bersifat inhibitor (Sari dkk., 2021; Pratama & Wijaya, 2022) konsisten dengan prinsip umum toksisitas nutrisi. Namun, dalam penelitian kami, inhibisi sudah terlihat pada dosis yang lebih rendah (0,05% untuk urea+NPK). Hal ini menunjukkan bahwa ambang batas inhibisi dapat bervariasi tergantung pada kondisi sistem dan interaksi antar nutrisi.
 4. Kebaruan penelitian ini: Berbeda dengan studi sebelumnya yang lebih fokus pada optimasi dosis untuk mencapai yield maksimum, penelitian ini memberikan kontribusi pada pemahaman mekanisme inhibisi. Data kinetika yang lengkap (konsumsi glukosa, populasi yeast, yield Y_p/s) menunjukkan bahwa inhibisi terjadi pada tingkat uptake glukosa, bukan pada jalur metabolisme intraseluler. Temuan ini, meskipun diperoleh pada yield absolut yang rendah, memberikan wawasan baru tentang bagaimana nutrisi anorganik dapat mempengaruhi fermentasi pada tahap awal interaksi sel-substrat.

3.6. Interpretasi Hasil dan Implikasinya

Sakarifikasi menghasilkan glukosa dalam jumlah cukup untuk fermentasi, sehingga substrat bukan faktor pembatas utama. Penurunan produksi etanol pada perlakuan dengan nutrisi disebabkan oleh rendahnya konsumsi glukosa oleh yeast. Nilai yield yang relatif konstan menunjukkan bahwa proses konversi glukosa menjadi etanol tetap berlangsung efisien. Dengan demikian, hambatan utama terjadi pada tahap pemanfaatan glukosa, yang diduga dipengaruhi oleh tekanan osmotik dan efek toksisitas nitrogen..

4. Kesimpulan

Penelitian ini berhasil mengkonversi pati singkong menjadi glukosa melalui sakarifikasi enzimatis dua tahap dengan konsentrasi $85,2 \pm 3,1$ g/L dan efisiensi 80,2%, yang kemudian difermentasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* untuk memproduksi bioetanol. Analisis GC-FID menunjukkan konsentrasi etanol tertinggi pada kontrol ($3,12 \pm 0,15\%$ v/v), diikuti NPK saja ($3,05 \pm 0,18\%$ v/v), Urea saja ($2,85 \pm 0,20\%$ v/v), dan terendah pada kombinasi Urea+NPK ($2,54 \pm 0,22\%$ v/v). Kadar air destilat yang diukur dengan titrasi Karl Fischer berkisar 96,5-97,1% (berat), mengkonfirmasi bahwa produk yang dihasilkan masih berupa etanol kasar dan belum memenuhi standar bioetanol bahan bakar (SNI 7390:2022).

Penambahan nutrisi anorganik, terutama kombinasi Urea dan NPK (0,5+0,5 g/L), secara signifikan menurunkan konsumsi glukosa (hanya 76% glukosa terpakai) dan produktivitas etanol (0,208 g/L/jam) dibandingkan kontrol ($p < 0,05$). Namun, nilai yield Y_p/s (g etanol/g glukosa) relatif konstan antar perlakuan (0,306-0,336), menunjukkan bahwa jalur konversi glukosa ke etanol tidak terganggu. Hambatan utama terletak pada fase uptake glukosa oleh sel yeast, diduga akibat tekanan osmotik atau toksisitas amonia dari urea, bukan pada inefisiensi metabolisme intraseluler.

Penelitian ini menegaskan bahwa penambahan nutrisi anorganik tidak selalu meningkatkan kinerja fermentasi; dosis yang tidak tepat justru dapat bersifat inhibitor. Diperlukan studi lanjutan dengan rentang dosis yang lebih luas (dose-response), pengukuran parameter fisiologis yeast, dan kontrol pH yang lebih ketat untuk menentukan kondisi optimal penambahan nutrisi. Temuan ini memberikan kontribusi empiris penting bahwa efek inhibisi nutrisi lebih berdampak pada ketersediaan glukosa bagi sel daripada pada efisiensi konversi metabolik..

5. Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Program Studi Teknologi Rekayasa Bioproses Energi Terbarukan Politeknik ATI Padang atas fasilitas laboratorium yang disediakan untuk pelaksanaan penelitian ini.

References

- Anggraeni, A. (2015). Dampak perubahan iklim terhadap sektor pertanian di Indonesia. *Jurnal Lingkungan Hidup*, 8(1), 45-58.
- Anwar, M., Sari, D.A. and Prasetyo, J. (2021). Utilization of urea and NPK as nutrient supplements in bioethanol fermentation from cassava starch. *Indonesian Journal of Biotechnology*, 26(2), 89-97.
- Badan Standardisasi Nasional (BSN). (2022). *SNI 7390:2022 - Bioetanol sebagai Bahan Bakar Nabati*. Jakarta: BSN.
- Fadilah, N. and Sutrisno, A. (2021). Enhancement of bioethanol yield from cassava through nutrient optimization. *Journal of Sustainable Energy*, 12(3), 145-152.
- Hidayat, R., Nurhayati, S., & Firmansyah, A. (2023). Optimasi produksi bioetanol dari singkong (*Manihot esculenta*) dengan variasi konsentrasi nutrisi anorganik pada sistem fermentasi batch. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*, 33(1), 45-54.
- Lestari, D. P., Wahyuni, S., & Kurniawan, A. (2020). Optimasi konsentrasi Urea dan NPK pada fermentasi bioetanol dari hidrolisat pati singkong menggunakan Response Surface Methodology. *Jurnal Rekayasa Kimia dan Lingkungan*, 15(2), 112-121.
- Nurfajriah, S., Mulyani, S. and Sari, P. (2021). Pemisahan etanol dari hasil fermentasi singkong dengan metode destilasi sederhana. *Jurnal Teknologi Kimia*, 15(2), 78-85.
- Pratama, A. B., & Wijaya, H. (2022). Pengaruh konsentrasi pupuk NPK terhadap yield bioetanol dari pati singkong (*Manihot esculenta* Crantz) menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*. *Jurnal Teknik Kimia Indonesia*, 21(1), 33-41.
- Putra, A.E. and Rahman, F. (2022). Inhibitory effects of high nutrient concentration on yeast growth in cassava starch fermentation. *Fermentation*, 8(5), 224.
- Sari, N. K., Rahmawati, L., & Nugroho, A. (2021). Efektivitas penambahan urea terhadap produksi bioetanol dari singkong karet (*Manihot glaziovii*) melalui proses fermentasi. *Jurnal Agroteknologi*, 15(1), 78-86.
- Setiawan, A. (2024). Konsumsi BBM nasional April 2024 capai 10 juta kiloliter. *Kompas*. [Online] Available at: <https://www.kompas.id> [Accessed 15 Desember 2023].

- Sudarti, K., Sari, I.P. and Handoyo, B. (2022). Analisis emisi gas buang kendaraan bermotor di kota metropolitan. *Jurnal Teknik Lingkungan*, 10(2), 112-120.
- Supriyadi, A. and Novianti, S. (2023). Hydrolysis methods for cassava starch in bioethanol production: Thermal vs. enzymatic. *Journal of Food Science and Technology*, 60(3), 789-798.
- Widodo, T. and Susanto, H. (2022). Metabolic pathways of ethanol fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*: A mini-review. *Journal of Microbial Biochemistry*, 14(1), 45-53.
- Yusuf, A., Putri, D.K. and Hermawan, W. (2021). Bioethanol as a sustainable alternative to fossil fuels: Environmental and economic perspectives. *Sustainable Energy Technologies*, 9, 100-112.