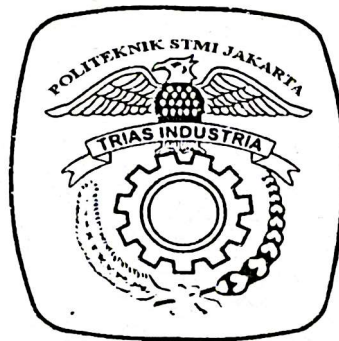


No. Dok: 4907

Copy: 1

1)  
661  
Lin  
P

**LAPORAN TUGAS AKHIR PENELITIAN**  
**STUDI PENDAHULUAN PEMBUATAN BIOETANOL DARI**  
**SERBUK KAYU MERANTI KUNING (*Shorea gibbosa*)**  
**MELALUI HIDROLISIS H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> DAN FERMENTASI**  
**(10 Juli – 4 Agustus)**



**OLEH:**

<b>EMA AGUSTIA NINGSIH</b>	<b>1513025</b>
<b>ADITIANISA AZKA AULIA</b>	<b>1513031</b>

**PROGRAM STUDI TEKNIK KIMIA POLIMER**  
**POLITEKNIK STMI JAKARTA**  
**KEMENTERIAN PERINDUSTRIAN RI**

**2017**

<b>DATA BUKU REFERENSI</b>	
Tgl. Terbit	19   12   2010
No. induk Buku	42   Tkp   81   18

**POLITEKNIK STMI JAKARTA**  
**KEMENTERIAN PERINDUSTRIAN R.I**

**LEMBAR PENGESAHAN TIM PENGUJI SIDANG**

JUDUL PENELITIAN

Pembuatan Bioetanol dari Serbuk Kayu Meranti Kuning (*Shorea gibbosa*)  
melalui Hidrolisis H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan Fermentasi

DISUSUN OLEH :

NAMA : 1. EMA AGUSTIA NINGSIH  
2. ADITIANISA AZKA AULIA

NIM : 1. 1513025  
2. 1513031

PROGRAM STUDI : TEKNIK KIMIA POLIMER

Telah diuji oleh Tim Penguji Sidang Tugas Akhir Program Studi Teknik Kimia  
Polimer pada Politeknik STMI Jakarta pada hari Selasa, 21 November 2017.

Jakarta, November 2017

Penguji I



Ir. Roosmariharso, MBA

NIP. 195405231980031004

Penguji II



Ir. Parulian Leonard M., MM.

NIP. 195702141985031002

Penguji III



Sakri Widhianto, S.Teks, MM.

NIP. 195303171978031001

Pembimbing



Dr. Erfina Oktariani, S.T., M.T.

NIP. 198210012014022001

**POLITEKNIK STMI JAKARTA**  
**KEMENTERIAN PERINDUSTRIAN R.I**

**LEMBAR PENGESAHAN TIM PENGUJI SEMINAR**

JUDUL PENELITIAN

STUDI PENDAHULUAN PEMBUATAN BIOETANOL DARI SERBUK  
KAYU MERANTI KUNING (*Shorea gibbosa*) MELALUI HIDROLISIS H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>  
DAN FERMENTASI

DISUSUN OLEH :

NAMA : 1. EMA AGUSTIA NINGSIH  
2. ADITIANISA AZKA AULIA

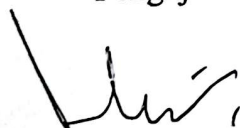
NIM : 1. 1513025  
2. 1513031

PROGRAM STUDI : TEKNIK KIMIA POLIMER

Telah diuji oleh Tim Penguji Seminar Tugas Akhir Penelitian Program Studi  
Teknik Kimia Polimer Politeknik STMI Jakarta pada hari Senin, 11 September  
2017

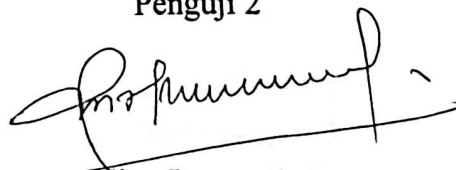
Jakarta, September 2017

Penguji 1



Sakri Widhianto, S.Teks, MM.  
NIP. 195303171978031001

Penguji 2



Ir. Parulian Leonard M., MM.  
NIP. 195702141985031002

Pembimbing 1



Dr. Erfina Oktariani, S.T., M.T.  
NIP. 198210012014022001

Pembimbing 2



Ir. Rochmi Widjajanti, M.Eng.  
NIP. 090015198

**POLITEKNIK STMI JAKARTA**  
**KEMENTERIAN PERINDUSTRIAN R.I**

**LEMBAR PENGESAHAN DOSEN PEMBIMBING**

JUDUL PENELITIAN

STUDI PENDAHULUAN PEMBUATAN BIOETANOL DARI SERBUK  
KAYU MERANTI KUNING (*Shorea gibbosa*) MELALUI HIDROLISIS  $H_2SO_4$   
DAN FERMENTASI

DISUSUN OLEH :

NAMA : 1. EMA AGUSTIA NINGSIH  
2. ADITIANISA AZKA AULIA

NIM : 1. 1513025  
2. 1513031

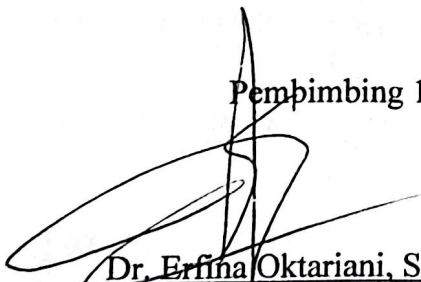
PROGRAM STUDI : TEKNIK KIMIA POLIMER

Telah diperiksa dan disetujui sebagai salah satu syarat penyelesaian akademik  
Program Studi Teknik Kimia Polimer pada Politeknik STMI Jakarta.

Jakarta, Agustus 2017


Menyetujui,

Pembimbing 1




Dr. Erfina Oktariani, S.T., M.T.  
NIP. 198210012014022001

Pembimbing 2



Ir. Rochmi Widjajanti, M.Eng.  
NIP. 090015198

Ketua Program Studi  
Teknik Kimia Polimer



Ir. Roosmariharso, M.B.A.  
NIP. 195405231980031004

## LEMBAR BIMBINGAN PENYUSUNAN TUGAS AKHIR











### PENELITIAN

Nama : Ema Agustia Ningsih (1513025)




Aditianisa Azka Aulia (1513031)

Judul TA Penelitian : Studi Pendahuluan Pembuatan Bioetanol dari Serbuk Kayu Meranti Kuning (*Shorea gibbosa*) melalui Hidrolisis  $H_2SO_4$  dan Fermentasi

Pembimbing : Dr. Erfina Oktariani, S.T., M.T. dan Ir. Rochmi Widjajanti, M.Eng.

Tanggal	BAB	Keterangan	Paraf
10-03-2017		• Bimbingan Pertama • Penentuan tema penelitian	
13-03-2017	Jurnal Penelitian	Bimbingan jurnal pertama	
15-03-2017	Jurnal Penelitian	Bimbingan jurnal kedua	
16-03-2017	Jurnal Penelitian	Presentasi jurnal penelitian	
29-03-2017	Jurnal Penelitian	Perbaikan presentasi jurnal penelitian	
31-03-2017	Jurnal Penelitian	Presentasi jurnal penelitian	
06-04-2017	Proposal Bab I dan Bab II	Menyerahkan proposal Bab I dan Bab II	
07-04-2017		Menyerahkan tugas faktor-faktor yang mempengaruhi proses hidrolisis enzim dan fermentasi	
17-04-2017		Perbaikan tugas faktor-faktor yang mempengaruhi proses hidrolisis enzim dan fermentasi	
25-04-2017		• Penentuan proses hidrolisis • Perbaikan proposal Bab I dan II	

01-05-2017		Diskusi penentuan tempat penelitian	RS
05-05-2017		<ul style="list-style-type: none"> <li>Diskusi membahas metode, variabel, dan prosedur penelitian</li> <li>Perbaikan proposal Bab I dan II</li> </ul>	f
10-05-2017		<ul style="list-style-type: none"> <li>Menyerahkan skema penelitian</li> <li>Menentukan variabel penelitian</li> </ul>	f
12-05-2017		Menyerahkan tugas kondisi terbaik pada proses hidrolisis dan fermentasi	f
15-05-2017		<ul style="list-style-type: none"> <li>Menyerahkan matriks penelitian</li> <li>Perbaikan kondisi terbaik pada proses hidrolisis dan fermentasi</li> </ul>	f
16-05-2017		Kunjungan mengenai tempat penelitian di BBKK	RS
11-07-2017		Konfirmasi tempat penelitian di UMJ	RS
19-07-2017		Menentukan pengujian glukosa hasil dari proses hidrolisis	f
26-07-2017		Pemberitahuan tentang progres penelitian	f
31-07-2017	Bab I, II dan Bab III	Menyerahkan laporan Bab I hingga Bab III	f
02-08-2017	Bab I hingga Bab IV	Menyerahkan perbaikan Bab I hingga Bab IV	f
09-08-2017	Bab I hingga Bab IV	Menyerahkan perbaikan Bab I hingga Bab IV	f

14-08-2017	Bab I hingga Bab V	Menyerahkan perbaikan Bab I hingga Bab V	
16-08-2017	Bab I hingga Bab V	•Menyerahkan perbaikan Bab I hingga Bab V •Menyerahkan PPT seminar	
18-08-2017		•Menyerahkan perbaikan PPT seminar	

Mengetahui,

Dosen Pembimbing 1,



Dr. Erfina Oktariani, S.T., M.T.  
NIP. 198210012014022001

Dosen Pembimbing 2,



Ir. Rochmi Widjajanti, M.Eng.  
NIP. 090015198

Ketua Program Studi Teknik  
Kimia Polimer



Ir. Roosmariharso, M.B.A.  
NIP. 195405231980031004

## LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN

Kami Mahasiswa Program Studi Teknik Kimia Polimer, Politeknik STMI Jakarta,  
Kementerian Perindustrian Indonesia:

Nama : Ema Agustia Ningsih

NIM : 1513025

Program Studi : Teknik Kimia Polimer

Dengan ini menyatakan bahwa karya Tugas Akhir Penelitian yang kami buat dengan judul Studi Pendahuluan Pembuatan Bioetanol dari Serbuk Kayu Meranti Kuning (*Shorea gibbosa*) melalui Hidrolisis  $H_2SO_4$  dan Fermentasi:

- Dibuat dan diselesaikan sendiri dengan menggunakan literatur hasil kuliah, survei lapangan, bimbingan dengan dosen pembimbing dan pembimbing penelitian, melalui tanya jawab maupun asistensi serta buku-buku jurnal acuan yang tertera dalam referensi pada karya tulis Tugas Akhir Penelitian ini.
- Bukan merupakan duplikasi yang sudah dipublikasikan atau yang pernah dipakai untuk mendapatkan gelar sarjana di Universitas/Perguruan Tinggi lain, kecuali pada bagian-bagian tertentu digunakan referensi pendukung untuk melengkapi informasi dan sumber informasi dengan dicantumkan melalui referensi yang semestinya.
- Bukan merupakan karya tulis terjemahan dari kumpulan buku atau jurnal acuan yang tertera dalam referensi pada karya Tulis Akhir Penelitian kami.

Jika terbukti kami tidak memenuhi apa yang telah kami nyatakan seperti apa yang tertulis di atas, maka karya Tugas Akhir Penelitian kami ini dibatalkan.

Jakarta, Agustus 2017

Yang Membuat Pernyataan

  
METERAI  
TEMPEL  
TUL  
1A00EAEFF14391713  
6000  
ENAM RIBURUPIAH

Ema Agustia Ningsih

## LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN

Kami Mahasiswa Program Studi Teknik Kimia Polimer, Politeknik STMI Jakarta,  
Kementerian Perindustrian Indonesia:

Nama : Aditianisa Azka Aulia

NIM : 1513031

Program Studi : Teknik Kimia Polimer

Dengan ini menyatakan bahwa karya Tugas Akhir Penelitian yang kami buat dengan judul Studi Pendahuluan Pembuatan Bioetanol dari Serbuk Kayu Meranti Kuning (*Shorea gibbosa*) melalui Hidrolisis  $H_2SO_4$  dan Fermentasi:

- Dibuat dan diselesaikan sendiri dengan menggunakan literatur hasil kuliah, survei lapangan, bimbingan dengan dosen pembimbing dan pembimbing penelitian, melalui tanya jawab maupun asistensi serta buku-buku jurnal acuan yang tertera dalam referensi pada karya tulis Tugas Akhir Penelitian ini.
- Bukan merupakan duplikasi yang sudah dipublikasikan atau yang pernah dipakai untuk mendapatkan gelar sarjana di Universitas/Perguruan Tinggi lain, kecuali pada bagian-bagian tertentu digunakan referensi pendukung untuk melengkapi informasi dan sumber informasi dengan dicantumkan melalui referensi yang semestinya.
- Bukan merupakan karya tulis terjemahan dari kumpulan buku atau jurnal acuan yang tertera dalam referensi pada karya Tulis Akhir Penelitian kami.

Jika terbukti kami tidak memenuhi apa yang telah kami nyatakan seperti apa yang tertulis di atas, maka karya Tugas Akhir Penelitian kami ini dibatalkan.

Jakarta, Agustus 2017

Yang Membuat Pernyataan

  
MITERAI  
JEMPEL  
466B4AEF614391716  
6000  
LAPAN RIBURUPIAH  
Aditianisa Azka Aulia



Nomor : 053 /SJ-IND.7.2/VI/2017  
Lampiran : 1 (satu)  
Perihal : **Penugasan Proses  
Bimbingan Tugas Akhir  
Tahun Akademik 2016/2017**

Jakarta, 06 Juni 2017

Kepada  
Yth. Ibu DR. Erfina Oktariani, S.T., M. T  
Di Jakarta

Berdasarkan Keputusan Direktur Politeknik STMI Jakarta Nomor 26/SJ-IND.7.2 /SK/1/2017 tanggal 10 Januari 2017 tentang pengangkatan Dosen Pembimbing dan Assisten Dosen Pembimbing Tugas Akhir Politeknik STMI Jakarta Tahun Akademik 2016/2017, maka dengan ini kami mengharap bantuan Ibu untuk dapat memberikan bimbingan dalam penulisan / penyusunan Tugas Akhir kepada mahasiswa yang namanya tersebut di bawah ini:

Nama : **Ema Agustia Ningsih**  
No. Induk : **1513025**

Adapun judul Tugas Akhir yang bersangkutan berdasarkan proposal yang terdaftar adalah:

" Pembuatan Bioetanol dari Serbuk Kayu dengan Proses Hidrolisis Menggunakan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. "

Demikian surat penugasan ini disampaikan. Atas perhatian dan bantuan Ibu kami ucapkan terima kasih.



Direktur

**Mustofa, ST, MT**

NIP. 19700924 200312 1 001

Tembusan:

1. Pudir 1;
2. Ka Prodi TKP;
3. Mahasiswa yang bersangkutan;
4. Peringgal



Nomor : 053 /SJ-IND.7.2/VI/2017 Jakarta, 06 Juni 2017  
Lampiran : 1 (satu)  
Perihal : Asistensi Bimbingan Tugas Akhir Kepada  
Tahun Akademik 2016/2017 Yth. Ibu Ir Rochmi Widjajanti, M.Eng  
Di Jakarta

Berdasarkan Surat Keputusan Direktur Politeknik STMI Jakarta No: 26/SJ-IND.7.2 /SK/1/2017 tanggal 10 Januari 2017 tentang pengangkatan Dosen Pembimbing dan Asisten Dosen Pembimbing Tugas Akhir Politeknik STMI Jakarta, Tahun Akademik 2016/2017, maka dengan ini kami mengharap bantuan Ibu untuk dapat memberikan bimbingan dalam penulisan / penyusunan Tugas Akhir kepada mahasiswa yang namanya tersebut di bawah ini:

Nama : Ema Agustia Ningsih  
No. Induk : 1513025

Adapun judul Tugas Akhir mahasiswa tersebut adalah:

" Pembuatan Bioetanol dari Serbuk Kayu dengan Proses Hidrolisis Menggunakan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. "

Demikian surat ini kami sampaikan. Atas perhatian dan bantuan Ibu kami ucapkan terima kasih.

Direktur



*[Signature]*  
Dr. Mustofa, ST, MT

NIP. 19700924 200312 1 001

Tembusan:

1. Pudir 1;
2. Ka Prodi TKP;
3. Dosen Pembimbing;
4. Mahasiswa yang bersangkutan;
5. Peringgal



Nomor : 054 /SJ-IND.7.2/VI/2017  
Lampiran : 1 (satu)  
Perihal : Penugasan Proses  
Bimbingan Tugas Akhir  
Tahun Akademik 2016/2017

Jakarta, 06 Juni 2017

Kepada  
Yth. Ibu DR. Erfina Oktariani, S.T., M. T  
Di Jakarta

Berdasarkan Keputusan Direktur Politeknik STMI Jakarta Nomor 26/SJ-IND.7.2 /SK/1/2017 tanggal 10 Januari 2017 tentang pengangkatan Dosen Pembimbing dan Assisten Dosen Pembimbing Tugas Akhir Politeknik STMI Jakarta Tahun Akademik 2016/2017, maka dengan ini kami mengharap bantuan Ibu untuk dapat memberikan bimbingan dalam penulisan / penyusunan Tugas Akhir kepada mahasiswa yang namanya tersebut di bawah ini:

Nama : Aditianisa Azka Aulia  
No. Induk : 1513031

Adapun judul Tugas Akhir yang bersangkutan berdasarkan proposal yang terdaftar adalah:

" Pembuatan Bioetanol dari Serbuk Kayu dengan Proses Hidrolisis Menggunakan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. "

Demikian surat penugasan ini disampaikan. Atas perhatian dan bantuan Ibu kami ucapkan terima kasih.



Direktur

Dr. Mustofa, ST, MT

NIP: 19700924 200312 1 001

Tembusan:

1. Pudir 1;
2. Ka Prodi TKP;
3. Mahasiswa yang bersangkutan;
4. Pertiagal



Nomor : 054 /SJ-IND.7.2/VI/2017 Jakarta, 06 Juni 2017  
Lampiran : 1 (satu)  
Perihal : Asistensi Bimbingan Tugas Akhir Kepada  
Tahun Akademik 2016/2017 Yth. Ibu Ir Rochmi Widjajanti, M.Eng  
Di Jakarta

Berdasarkan Surat Keputusan Direktur Politeknik STMI Jakarta No: 26/SJ-IND.7.2 /SK/1/2017 tanggal 10 Januari 2017 tentang pengangkatan Dosen Pembimbing dan Asisten Dosen Pembimbing Tugas Akhir Politeknik STMI Jakarta, Tahun Akademik 2016/2017, maka dengan ini kami mengharap bantuan Ibu untuk dapat memberikan bimbingan dalam penulisan / penyusunan Tugas Akhir kepada mahasiswa yang namanya tersebut di bawah ini:

Nama : Aditianisa Azka Aulia  
No. Induk : 1513031

Adapun judul Tugas Akhir mahasiswa tersebut adalah:

" Pembuatan Bioetanol dari Serbuk Kayu dengan Proses Hidrolisis Menggunakan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. "

Demikian surat ini kami sampaikan. Atas perhatian dan bantuan Ibu kami ucapkan terima kasih.

 Direktur  
**Dr. Mustofa, ST, MT**  
NIP : 19700924 200312 1 001

Tembusan:

1. Pudir 1;
2. Ka Prodi TKP;
3. Dosen Pembimbing;
4. Mahasiswa yang bersangkutan;
5. Pertinggal

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT Yang Maha Kuasa atas Rahmat-Nya penyusun dapat menyelesaikan penelitian yang berjudul “Studi Pendahuluan Pembuatan Bioetanol dari Serbuk Kayu Meranti Kuning (*Shorea gibbosa*) melalui Hidrolisis H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan Fermentasi” di Universitas Muhammadiyah Jakarta (UMJ) tepat pada waktunya. Penyusunan laporan ini bertujuan untuk memenuhi salah satu syarat kelulusan dari Program Studi Teknik Kimia Polimer Politeknik STMI Jakarta Kementerian Perindustrian RI. Pada kesempatan ini, penyusun ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang turut membantu dan mendukung dalam penyusunan laporan ini terutama kepada:

1. Allah SWT, atas berkat dan rahmat-Nya.
2. Orang tua kami yang telah memberikan dukungan secara moril maupun materil.
3. Dr. Mustofa, S.T., M.T selaku Direktur Politeknik STMI Jakarta.
4. Ir. Roosmariharso, M.B.A selaku Ketua Program Studi Teknik Kimia Polimer Politeknik STMI Jakarta.
5. Fitria Ika Aryanti, S.T., M.Eng selaku Sekretaris Program Studi Teknik Kimia Polimer Politeknik STMI Jakarta.
6. Dr. Erfina Oktariani, S.T., M.T selaku dosen pembimbing penelitian Politeknik STMI Jakarta.
7. Ir. Rochmi Widjajanti, M.Eng selaku asisten dosen pembimbing penelitian Politeknik STMI Jakarta.
8. Seluruh Dosen Program Studi Diploma IV Teknik Kimia Program Studi Teknik Kimia Polimer Politeknik STMI Jakarta.
9. Teman-teman Teknik Kimia Polimer KA01 2013 khususnya dan Teknik Kimia Polimer angkatan 2013 pada umumnya, selaku kawan-kawan seperjuangan.
10. Semua pihak dengan tidak mengurangi rasa terima kasih, yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penyusun juga menyadari bahwa di dalam pelaksanaan penelitian maupun penyusunan laporan ini terdapat banyak kekurangan dan kesalahan karena

keterbatasan kami sebagai manusia yang masih dalam tahap belajar. Oleh karena itu, penyusun mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun sehingga laporan penyusun selanjutnya dapat menjadi lebih baik. Akhir kata semoga laporan ini dapat memberi manfaat bagi pembaca pada umumnya dan bagi penyusun pada khususnya.

Jakarta, Agustus 2017

Penyusun

## ABSTRAK

Bioetanol ( $C_2H_5OH$ ) adalah biofuel cair, yang dapat dihasilkan dari berbagai biomassa menggunakan berbagai teknologi konversi. Limbah serbuk kayu meranti kuning (*Shorea gibbosa*) adalah biomassa yang dapat digunakan membuat bioetanol. Tujuan penelitian untuk membuat bioetanol dari serbuk kayu meranti kuning, mengetahui pengaruh konsentrasi asam dan waktu hidrolisis terhadap kandungan glukosa, serta untuk mengetahui jenis ragi dan waktu fermentasi yang berpengaruh terhadap volume bioetanol. Adapun metode pembuatan bioetanol dilakukan melalui tahapan delignifikasi, hidrolisis  $H_2SO_4$ , fermentasi, dan distilasi. Delignifikasi dilakukan dengan menambahkan larutan NaOH 6% ke dalam serbuk kayu meranti kuning. Lalu dilanjutkan proses hidrolisis serbuk kayu dengan menambahkan larutan  $H_2SO_4$  dengan variasi konsentrasi 3% dan 5%, serta dilakukan pada variasi temperatur  $120^\circ C$  dan  $150^\circ C$  selama 120 menit. Fermentasi dilakukan dengan memvariasikan jenis ragi, yaitu ragi roti dan ragi tape, selama variasi waktu 3 hari dan 5 hari. Produk yang sudah difermentasi dimurnikan dengan cara di distilasi pada temperatur  $78^\circ C$ . Hasil penelitian menunjukkan semakin besar konsentrasi  $H_2SO_4$  pada proses hidrolisis maka kandungan glukosa yang dihasilkan semakin besar. Sedangkan semakin tinggi temperatur hidrolisis, maka reaksi akan berlangsung lebih cepat. Adapun konsentrasi  $H_2SO_4$  dan temperatur terbaik pada proses hidrolisis adalah pada konsentrasi  $H_2SO_4$  5% dan temperatur  $150^\circ C$ . Proses fermentasi menggunakan ragi roti menghasilkan volume bioetanol lebih besar dari pada ragi tape. Semakin lama waktu fermentasi maka volume bioetanol yang dihasilkan semakin besar. Volume bioetanol pada fermentasi 5 hari menghasilkan bioetanol lebih besar dari pada fermentasi 3 hari dengan volume bioetanol 0,4 ml.

**Kata kunci:** Serbuk kayu meranti kuning (*Shorea gibbosa*), delignifikasi, hidrolisis, fermentasi, distilasi.

## DAFTAR ISI

<b>LEMBAR PENGESAHAN DOSEN PEMBIMBING</b>	
<b>LEMBAR BIMBINGAN PENYUSUNAN LAPORAN PENELITIAN</b>	
<b>LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN</b>	
<b>KATA PENGANTAR .....</b>	<b>i</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>iii</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>iv</b>
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	<b>vi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>vii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>viii</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	5
1.3 Batasan Masalah.....	5
1.4 Tujuan Penelitian .....	5
1.5 Manfaat Penelitian .....	5
1.6 Sistematika Penulisan .....	6
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>7</b>
2.1 Kayu Meranti Kuning .....	7
2.1.1 Komponen Utama Biomassa Lignoselulosa .....	8
2.2 Glukosa.....	11
2.3 Bioetanol .....	14
2.4 Proses Produksi Etanol .....	16
2.4.1 Proses Pretreatment .....	16
2.4.2 Proses Hidrolisis .....	20
2.4.3 Analisis Kualitatif Glukosa .....	24
2.4.4 Proses Fermentasi .....	27
2.5 Khamir .....	31
2.6 Sejarah Penelitian Bioetanol .....	32

<b>BAB III</b>	<b>METODE PENELITIAN .....</b>	<b>37</b>
	3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	37
	3.2 Peralatan dan Bahan .....	37
	3.2.1 Alat-Alat .....	37
	3.2.2 Bahan .....	37
	3.3 Variabel yang Diteliti .....	38
	3.4 Langkah-Langkah Eksperimen .....	39
	3.5 Prosedur Penelitian .....	40
	3.5.1 Delignifikasi Serbuk Kayu .....	40
	3.5.2 Proses Hidrolisis Asam .....	40
	3.5.3 Proses Fermentasi .....	40
	3.5.4 Proses Distilasi .....	41
	3.6 Analisa Kadar Glukosa .....	41
<b>BAB IV</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>43</b>
	4.1 Hasil Hidrolisis .....	43
	4.1.1 Pengaruh Temperatur dan Konsentrasi H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> terhadap Kadar Hidrolisis .....	43
	4.1.2 Uji Benedict .....	45
	4.2 Hasil Fermentasi .....	46
	4.2.1 Pengaruh Jenis Ragi dan Waktu terhadap <i>Yield</i> Etanol Hasil Fermentasi Glukosa dari Serbuk Kayu .....	46
<b>BAB V</b>	<b>PENUTUP .....</b>	<b>49</b>
	5.1 Kesimpulan .....	49
	5.2 Saran .....	50
	<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>51</b>
	<b>LAMPIRAN A GAMBAR ALAT DAN BAHAN</b>	
	<b>LAMPIRAN B GAMBAR SAMPEL PENELITIAN</b>	

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Komponen Kimia Kayu Meranti Kuning.....	8
Tabel 2.2	Sifat Fisik Glukosa .....	12
Tabel 2.3	Kelarutan Glukosa .....	13
Tabel 2.4	Sifat Fisik Etanol .....	16
Tabel 2.5	Sejarah Penelitian Bioetanol dari Bahan Lignoselulosa .....	34
Tabel 3.1	Variabel yang Diteliti .....	38
Tabel 3.2	Matriks Penelitian .....	38

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.1	Konsumsi Energi Berdasarkan Sektor pada Tahun 2000-2014 .....	1
Gambar 1.2	Cadangan Minyak di Indonesia pada Tahun 2012-2016 .....	2
Gambar 2.1	Kayu Meranti Kuning .....	7
Gambar 2.2	D-glukosa, Unit Dasar Selulosa, dan D-selobiosa, Unit Ulang dari Selulosa .....	8
Gambar 2.3	Rantai Polisakarida Linear pada Selulosa Mikrofibril .....	9
Gambar 2.4	Beberapa Motif Molekul yang Umum Ditemukan pada Hemiselulosa .....	10
Gambar 2.5	Bagian dari Struktur Lignin .....	11
Gambar 2.6	Struktur D-glukosa (struktur rantai terbuka) .....	12
Gambar 2.7	Produksi Etanol (miliar liter) pada Tahun 2012 .....	15
Gambar 2.8	Skema <i>Pretreatment</i> dari Material Lignoselulosa .....	17
Gambar 3.1	Tahapan Penelitian Pembuatan Bioetanol dari Serbuk Kayu .....	39
Gambar 4.1	Hasil Hidrolisis dari Serbuk Kayu .....	43
Gambar 4.2	Hasil Uji Benedict dari Hidrolisis Serbuk Kayu .....	45
Gambar 4.3	Volume Bioetanol pada Variasi Jenis Ragi dan Waktu Fermentasi .....	46

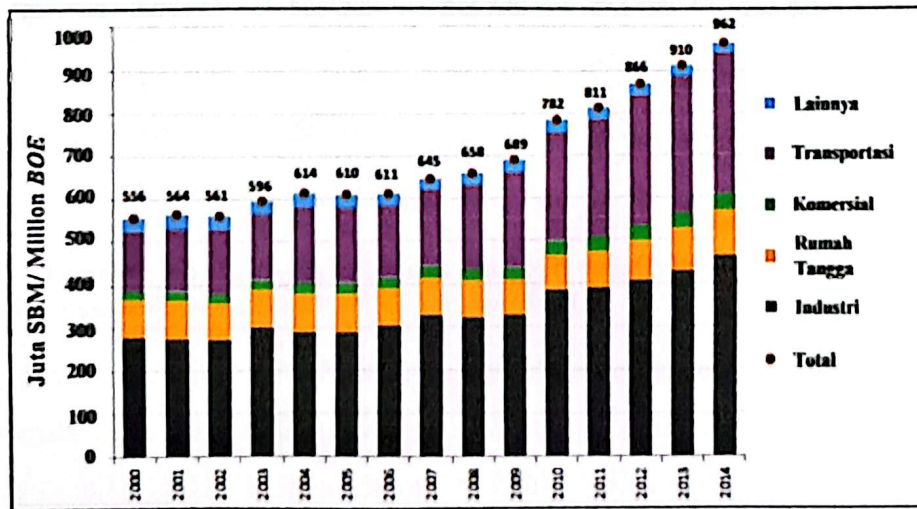
## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran A	.....	42
Lampiran B	.....	48

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penggunaan BBM terus meningkat untuk memenuhi kebutuhan energi dunia, seperti pada sektor transportasi, sektor industri, dan lain-lain. Kebutuhan energi yang terus meningkat ini dikarenakan BBM mempunyai peranan penting pada setiap sektornya. BBM yang terbuat dari bahan fosil sifatnya tidak dapat diperbaharui. Karena sifatnya yang tidak dapat diperbaharui, menyebabkan cadangan minyak bumi semakin menipis sehingga perkembangan produksi minyak bumi selama 10 tahun terakhir mengalami penurunan. Sedangkan laju konsumsi BBM untuk memenuhi kebutuhan energi terus mengalami peningkatan. Pertumbuhan ekonomi dan penambahan penduduklah yang menyebabkan konsumsi BBM semakin meningkat [2]. Pada Gambar 1.1 menyajikan konsumsi energi berdasarkan sektor pada tahun 2000-2014.

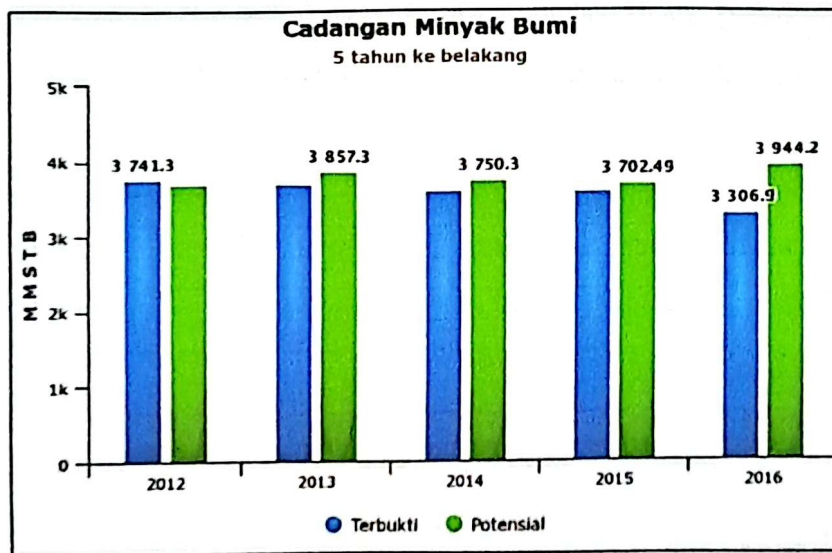


Gambar 1.1 Konsumsi Energi Berdasarkan Sektor pada Tahun 2000-2014  
Sumber : Outlook Energi Indonesia, 2016

Berdasarkan Gambar 1.1, konsumsi energi tertinggi berdasarkan sektor pada tahun 2000-2014 teradapat pada sektor industri sebesar 48% dan transportasi sebesar 35%. Untuk sektor rumah tangga konsumsi energi hanya sebesar 11%,

komersial 4%, dan lainnya 2%. Setiap tahunnya, konsumsi energi berdasarkan sektor mengalami peningkatan. Tetapi pada tahun 2005 dan 2006, konsumsi energi mengalami penurunan. Hal ini disebabkan harga BBM mengalami peningkatan yang membuat produktivitas industri menurun [2].

Di Indonesia, kebutuhan energi pada tahun 2025 diperkirakan mencapai 238,8 juta ton. Kebutuhan energi yang terus meningkat menyebabkan cadangan minyak bumi semakin menipis. Cadangan minyak bumi di Indonesia selama 5 tahun kebelakang mengalami penurunan setiap tahunnya. Cadangan minyak bumi di Indonesia dari tahun 2012-2016 disajikan pada Gambar 1.2.



**Gambar 1.2** Cadangan Minyak di Indonesia pada Tahun 2012-2016

Sumber : Statistik Minyak dan Gas Bumi, Kementerian ESDM.

Berdasarkan Gambar 1.2, cadangan terbukti minyak bumi tahun 2016 di Indonesia sebesar 3.306,90 miliar barel. Sedangkan, cadangan potensial minyak bumi tahun 2016 di Indonesia sebesar 3.944,20 miliar barel. Rata-rata cadangan terbukti dan cadangan potensial minyak bumi Indonesia 5 tahun kebelakang masing-masing sebesar 2.945,15 miliar barel dan 3.784,24 miliar barel. Kebutuhan yang terus meningkat diiringi dengan menipisnya cadangan minyak bumi menyebabkan harga minyak bumi semakin mahal. Pada setiap tahunnya, cadangan terbukti minyak bumi mengalami penurunan. Di tahun 2016, harga minyak bumi mencapai 40,16 USD/barel [1]. Dengan menipisnya cadangan minyak bumi dan harga minyak bumi yang semakin mahal, muncul pemikiran

untuk mencari sumber bahan bakar nabati (BBN). Bahan bakar nabati (BBN) seperti biodiesel dan bioetanol, merupakan bahan bakar yang ramah lingkungan sehingga dapat menurunkan efek Gas Rumah Kaca (GRK). Pemerintah menargetkan pemanfaatan BBN pada tahun 2025 untuk bioetanol sebesar 20% guna mengurangi pemanfaatan bahan bakar minyak bumi [2].

Bioetanol adalah bahan bakar alternatif terbarukan untuk menggantikan bahan bakar minyak bumi. Saat ini, produksi bioetanol di seluruh dunia berasal dari bahan baku terutama yang mengandung pati dan gula seperti bit, tebu dan jagung. Bioetanol yang berasal dari selulosa belum tersedia secara komersial, karena terkendala dari segi ekonomi maupun dari segi teknis. Dalam produksi bioetanol generasi pertama, bahan baku yang mengandung pati dan gula sebagai bahan baku pembuatan etanol relatif mahal [3].

Dalam proses produksi bioetanol generasi kedua, bahan baku yang mengandung selulosa mudah didapatkan. Bahan baku sumber selulosa didapatkan dengan harga yang relatif lebih murah yang berasal dari limbah seperti limbah kota dan industri, sisa kehutanan dan pertanian [3]. Bahan baku sumber selulosa merupakan substrat terbarukan yang cukup besar untuk produksi bioetanol karena tidak bersaing dengan produksi pangan dan pakan ternak [4]. Bahan baku sumber selulosa merupakan sumber yang banyak mengandung gula. Limbah pertanian dan kehutanan merupakan bahan baku sumber selulosa dengan jumlah limbahnya yang semakin meningkat dan tidak digunakan sebagai bahan pangan. Salah satunya ialah serbuk kayu. Serbuk kayu merupakan bahan bernilai rendah dan tersedia dalam jumlah besar yang dikeluarkan dari proses pengolahan kayu hasil limbah dari industri mebel [5].

Untuk produksi bioetanol dari bahan selulosa yang dihasilkan dari serbuk kayu, diperlukan tiga proses utama yaitu delignifikasi, hidrolisis dan fermentasi. Delignifikasi adalah proses yang paling penting untuk pemisahan lignin dan selulosa yang terdapat dalam limbah dari industri mebel. Proses delignifikasi pada penelitian ini, NaOH digunakan untuk menghilangkan kandungan lignin yang terdapat dalam serbuk kayu. Proses kedua yaitu hidrolisis serbuk kayu. Hidrolisis adalah proses pemecahan polisakarida di dalam biomassa selulosa, yaitu selulosa

dan hemiselulosa menjadi monomer gula penyusunnya. Oleh karena itu, proses *pretreatment* bahan selulosa diperlukan untuk meningkatkan laju hidrolisis pada serbuk kayu. Pada penelitian ini, proses hidrolisis menggunakan asam sulfat ( $H_2SO_4$ ) untuk mengubah selulosa menjadi monomer-monomer gula. Hidrolisis yang berjalan sempurna akan menghasilkan glukosa yang banyak dan selanjutnya hasil hidrolisis difermentasi untuk mendapatkan etanol. Proses ketiga yaitu proses fermentasi dimana glukosa diubah menjadi etanol oleh mikroba *Saccharomyces cerevisiae* [6].

Pada sebuah penelitian tentang bioetanol yang dilakukan oleh Novianti, dkk., 2013, bahan baku yang digunakan untuk pembuatan bioetanol adalah limbah serbuk gergaji. Pada proses *pretreatment* digunakan  $H_2SO_4$  5% untuk menghilangkan kandungan ligninnya. Asam yang digunakan untuk proses hidrolisis adalah  $H_2SO_4$  dengan konsentrasi 50%. Fermentasi dilakukan selama 3 hari. Di dapatkan perolehan etanol sebesar 7% [38].

Penelitian lain, yang dilakukan oleh Suri, dkk., 2013, bahan baku yang digunakan untuk pembuatan bioetanol adalah Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS). Pada proses *pretreatment*, kandungan ligninnya dihilangkan dengan menggunakan NaOH 2% dan  $Na_2SO_4$  2%. Asam yang digunakan pada proses hidrolisis adalah HCl dengan konsentrasi 30%. Pada penelitian ini, fermentasi dilakukan selama 6 hari dengan pH dijaga sekitar 4-4,5 dan jenis ragi yang digunakan adalah ragi roti sebanyak 6 gram. Sehingga perolehan etanol yang didapatkan sebesar 7,39% [36].

Pada penelitian yang dilakukan oleh Novianti dkk., 2013, limbah serbuk gergaji digunakan sebagai bahan baku pembuatan bioetanol. Pada proses hidrolisisnya menggunakan asam sulfat ( $H_2SO_4$ ) sebanyak 50% dan dilanjutkan fermentasi menggunakan sel ragi imobil berulang selama 3 hari. Dan perolehan etanol yang didapatkan sebanyak 7% [38].

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, penelitian kali ini dilakukan untuk menghasilkan bioetanol dari serbuk kayu meranti kuning. Pada proses delignifikasi, digunakan NaOH 6% untuk menghilangkan kandungan lignin pada temperatur 121 °C selama 30 menit. Variasi yang digunakan pada

hidrolisis adalah temperatur dan konsentrasi  $H_2SO_4$ . Hidrolisis dilakukan selama 120 menit. Dan variasi yang digunakan pada fermentasi adalah jenis ragi dan waktu. Fermentasi dilakukan pada pH 4,5 dan temperatur ruangan.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dibahas sebelumnya, maka dapat dirumuskan permasalahan penelitian ini sebagai berikut:

1. bagaimana cara menghasilkan bioetanol dari serbuk kayu meranti kuning?
2. bagaimana pengaruh konsentrasi  $H_2SO_4$  dan temperatur terhadap kandungan glukosa pada hidrolisis serbuk kayu meranti kuning?
3. bagaimana pengaruh jenis ragi dan waktu terhadap volume bioetanol hasil fermentasi glukosa dari serbuk kayu meranti kuning?

## 1.3 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. bahan baku yang digunakan adalah serbuk kayu meranti kuning yang didapat dari limbah industri mebel.
2. variasi temperatur hidrolisis :  $120^\circ C$  dan  $150^\circ C$
3. variasi konsentrasi asam  $H_2SO_4$  : 3% dan 5%
4. variasi waktu fermentasi : 72 jam dan 120 jam
5. jenis massa ragi : ragi tape dan ragi roti

## 1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian merupakan jawaban dari perumusan masalah dalam sebuah penelitian. Oleh sebab itu, tujuan penelitian ini adalah:

1. mengetahui cara menghasilkan bioetanol dari serbuk kayu meranti kuning.
2. mengetahui pengaruh konsentrasi  $H_2SO_4$  dan temperatur terhadap kandungan glukosa pada hidrolisis serbuk kayu meranti kuning.
3. mengetahui pengaruh jenis ragi dan waktu terhadap volume bioetanol hasil fermentasi glukosa dari serbuk kayu meranti kuning.

## 1.5 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dari penelitian yang dilakukan adalah:

1. memberikan informasi cara menghasilkan bioetanol dari serbuk kayu meranti kuning.
2. memberikan informasi pengaruh konsentrasi  $H_2SO_4$  dan temperatur terhadap kandungan glukosa pada hidrolisis serbuk kayu meranti kuning.
3. memberikan informasi pengaruh jenis ragi dan waktu terhadap volume bioetanol hasil fermentasi glukosa dari serbuk kayu meranti kuning.

## **1.6 Sistematika Penulisan**

### **BAB I : PENDAHULUAN**

Bab ini berisi penjelasan mengenai latar belakang dilakukannya penelitian, rumusan masalah yang akan dibahas, batasan masalah dari penelitian yang akan dilakukan, tujuan dan manfaat dari dilakukannya penelitian ini, serta penjelasan mengenai sistematika penulisan laporan penelitian.

### **BAB II : TINJAUAN PUSTAKA**

Bab ini berisi tinjauan umum mengenai meranti kuning, bioetanol, sejarah bioetanol, sumber-sumber biomasa lignoselulosa yang dapat menghasilkan bioetanol, proses produksi bioetanol, faktor yang mempengaruhi produksi bioetanol, macam-macam mikroorganisme yang mampu menghasilkan etanol dari proses fermentasi.

### **BAB III : METODE PENELITIAN**

Bab ini berisi penjelasan tentang waktu dan tempat penelitian, alat dan bahan yang digunakan, variabel penelitian, serta prosedur penelitian (persiapan penelitian, metode atau cara penelitian, dan analisa).

### **BAB IV : HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN**

Bab ini berisi data hasil pengujian, analisis data yang sudah diolah menjadi grafik, dan pembahasan terhadap hasil pengujian dan analisis data.

### **BAB V : PENUTUP**

Bab ini berisi dua bagian, kesimpulan dan saran yang telah dilakukan berdasarkan hasil yang telah didapat pada bab sebelumnya.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Kayu Meranti Kuning

Indonesia merupakan negara yang kaya akan sumber kekayaan alamnya. Salah satunya yaitu Indonesia mempunyai hutan yang sangat luas. Indonesia mempunyai luas daratan sebesar  $\pm 187.918,3$  juta ha, dengan luas hutan yang ada di Indonesia sebesar 96.490,8 juta ha [8]. Dengan luas hutan yang cukup besar, Indonesia mampu menanam berbagai macam jenis pohon-pohonan. Kayu merupakan batang yang berasal dari pohon yang mempunyai panjang dan diameter tertentu yang berasal dari hasil olahan hutan. Kayu yang berasal dari hasil olahan hutan digunakan sesuai dengan sifat-sifat kayu tersebut. Kayu memiliki komponen kimia seperti selulosa, hemiselulosa, lignin, zat ekstraktif dan abu. Selulosa yang terdapat didalam kayu biasanya berkisar antara 39-55%, lignin 18-33%, pentosan 21-24%, zat ekstraktif 2-6% dan abu 0,2-2% [9].



**Gambar 2.1** Kayu Meranti Kuning

Sumber : *Handbook of Selected Indonesian Wood Species*

Meranti kuning dengan nama ilmiahnya *Shorea spp.*, merupakan jenis tumbuhan yang tumbuh di pulau Sumatra dan Kalimantan. Meranti kuning merupakan kayu yang berwarna kuning muda atau coklat kuning muda dan memiliki tekstur kayu agak kasar. Kayu meranti kuning sangat baik untuk lantai dan mebel murah, tetapi pemakaian utama adalah untuk kayu lapis, baik untuk venir luar maupun venir dalam. Dapat juga dipakai untuk kano, bangunan

perumahan, panil dan bahan pembungkus. Serbuk kayunya bisa dijadikan bahan baku pembuatan bioetanol [9]. Kandungan yang dimiliki kayu meranti kuning dapat dilihat pada Tabel 2.1.

**Tabel 2.1** Komponen Kimia Kayu Meranti Kuning

Komponen Kimia	Jumlah (%)
Selulosa	51,9
Lignin	28,8
Pentosan	16,1
Abu	1,0
Silika	n.a.
Kelarutan dalam:	
Alkohol-benzena	6,3
Air dingin	0,8
Air panas	3,2
NaOH 1%	14,1

Sumber : *Handbook of Selected Indonesian Wood Species* [9]

### 2.1.1 Komponen Utama Biomassa Lignoselulosa

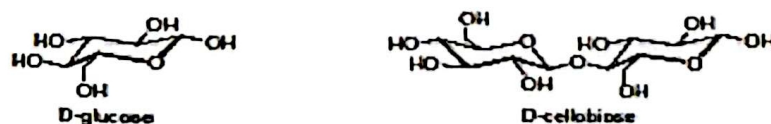
Biomassa lignoselulosa biasa terdapat pada tanaman kering, yang merupakan zat organik paling melimpah di bumi. Tiga komponen utama dalam biomassa lignoselulosa dan komposisinya adalah:

1. selulosa 35-50%
2. hemiselulosa 20-35%
3. lignin 15-30%

Komposisi secara tepat dapat bervariasi tergantung pada lingkungan tanaman, jenis dan bagian tanaman. Selain itu, komponen kecil seperti mineral, protein, lemak dan minyak disemua bahan tanaman [10].

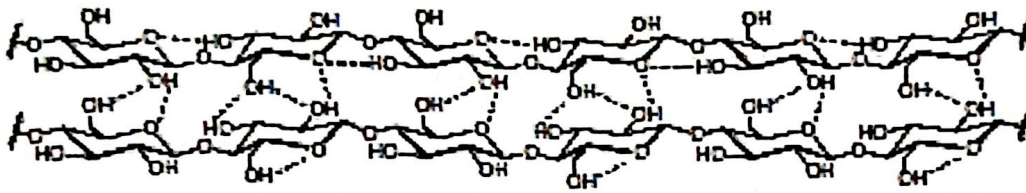
#### 1. Selulosa

Selulosa ((C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>)<sub>n</sub>) adalah polimer linear dari molekul D-glukosa terikat dengan rantai β (1 → 4)-glycosidik.



**Gambar 2.2** D-glukosa, unit dasar selulosa, dan D-selobiosa, unit ulang dari selulosa

Sumber : *Handbook of Cellulosic Ethanol*, 2014 [10]



**Gambar 2.3** Rantai polisakarida linear pada selulosa mikrofibril. Ikatan hidrogen inter dan intramolekul ditunjukkan pada garis putus-putus

Sumber : *Handbook of Cellulosic Ethanol*, 2014 [10]

Dari Gambar 2.2 terlihat bahwa unit D-selobiosa terdiri dari dua molekul D-glukosa. Struktur selulosa terdiri dari tumpukan rantai linear dengan unit D-selobiosa berulang. Rantai ini sangat erat membentuk struktur kristal kuat dengan ikatan hidrogen inter dan intramolekul, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.3 [10].

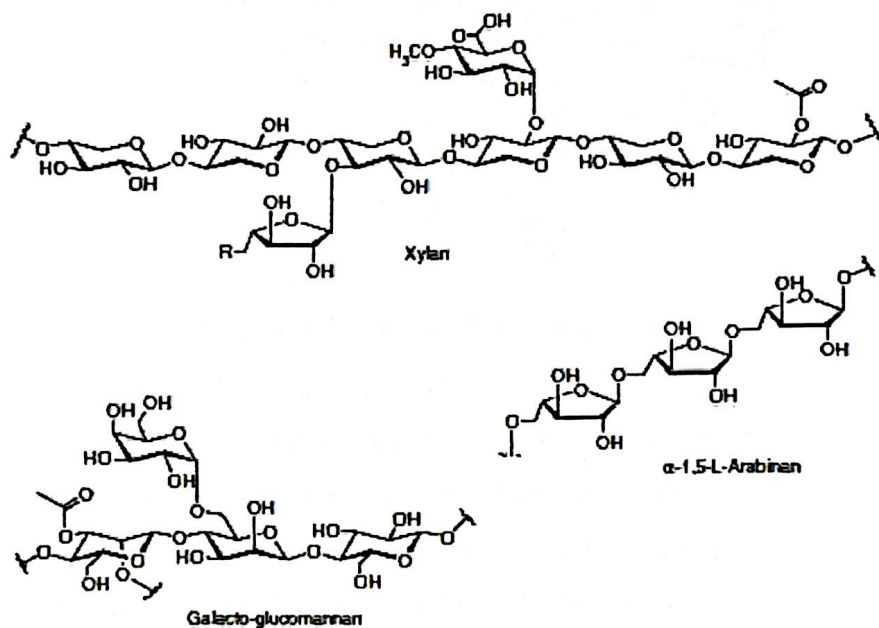
Bentuk pada selulosa ini kontras dengan rantai  $\alpha(1\rightarrow4)$ -glycosidik yang hadir dalam pati, glikogen, dan karbohidrat lainnya. Tidak seperti pati, tidak melingkar atau bercabang pada selulosa, dan molekul mengadopsi konformasi batang seperti diperpanjang dan agak kaku yang dibantu oleh konformasi ekuator dari semua unit D-glukosa dalam rantai linear. Rantai panjang molekul selulosa polimer bervariasi tergantung pada sumber tanaman. Namun, nilai khas dari sejumlah unit glukosa dalam polimer berkisar 100 sampai 14.000. Setiap molekul selulosa terdiri dari rantai linear dari residu glukosa yang secara kovalen dihubungkan satu sama lain untuk membentuk struktur seperti pita, yang distabilkan oleh ikatan hidrogen dalam rantai. Selain itu, ikatan hidrogen antar molekul selulosa yang berdekatan menyebabkan mereka untuk melekat dengan kuat, memberikan sebuah kekuatan tarik tinggi pada bahan [10].

Selulosa, yang merupakan prinsip komponen perancah dari semua dinding sel tanaman, terdapat dalam bentuk struktur kristal yang kuat dalam keadaan larutan atau padat. Bentuk molekul ikatan hidrogen yang sangat kompleks ini dari molekul selulosa yang menyediakan kekuatan tarik untuk dinding sel primer. Seperti polimer dinding sel yang tidak larut dalam air atau mudah dicerna pada saluran pencernaan manusia. Selulosa mikrofibril dengan jaringan kompleks dari

ikatan hidrogen dan interaksi van der Waals tidak dapat dibentuk ulang oleh pelarut atau dengan perlakuan fisik [10].

## 2. Hemiselulosa

Hemiselulosa ((C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>)<sub>n</sub>) adalah komponen yang paling melimpah kedua pada biomassa dan terdiri dari kombinasi beberapa heteropolimer.



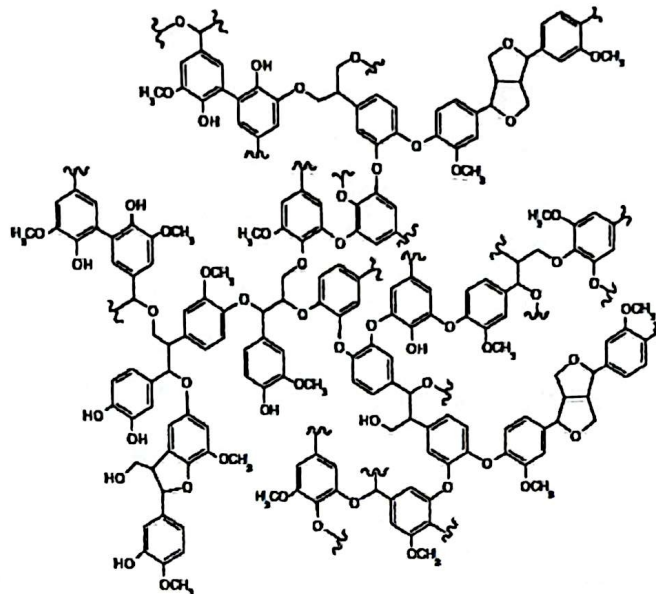
**Gambar 2.4** Beberapa motif molekul yang umum ditemukan di hemiselulosa

Sumber : Handbook of Cellulosic Ethanol, 2014 [10]

Seperti yang terlihat pada Gambar 2.4, hemiselulosa umumnya terdiri dari xylan, glucuronoxylan, arabinoxylan, glukomanan, dan xyloglucan. Ini adalah polisakarida bercabang. Berbeda dengan selulosa, yang hanya berisi D-glukosa, hemiselulosa mengandung banyak monomer gula yang berbeda. Sebagian besar gula pada hemiselulosa adalah 5-karbon D-pentosa gula dan kadang-kadang sejumlah kecil L-glukosa juga [10].

## 3. Lignin

Lignin ((C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>O<sub>3</sub>(OCH<sub>3</sub>)<sub>0.9-1.7</sub>)<sub>n</sub>) merupakan komponen utama ketiga dalam biomassa.



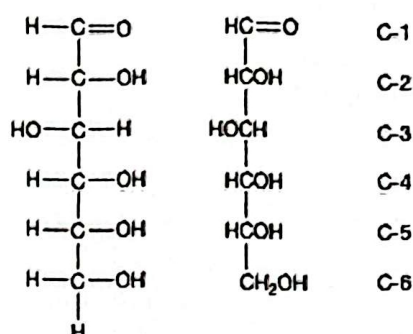
**Gambar 2.5** Bagian dari struktur lignin

Sumber : Handbook of Cellulosic Ethanol, 2014 [10]

Seperti Gambar 2.5, lignin merupakan ikatan silang yang rumit dari bahan makromolekul berdasarkan unit monomer fenil propanoid alkohol p-coumaryl, alkohol coniferyl (*guaiacyl*), dan alkohol sinapyl (*Syringyl*). Massa molekul khusus dari lignin yang terisolasi berkisar 1000-20.000 g/mol, tetapi derajat polimerisasi di alam sulit untuk diukur karena lignin merupakan fragmen selama ekstraksi dan terdiri dari beberapa jenis substruktur yang terulang secara acak [10].

## 2.2 Glukosa

Glukosa memiliki rumus molekul C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>. Glukosa atau disebut dekstrosa, merupakan karbohidrat dan senyawa organik yang paling melimpah dan termasuk kelas karbohidrat yang disebut monosakarida. Monosakarida adalah molekul karbohidrat yang tidak dapat dipecah lagi menjadi molekul karbohidrat sederhana dengan hidrolisis, sehingga disebut gula sederhana. Glukosa dapat bergabung membentuk struktur yang lebih besar, yaitu, oligosakarida dan polisakarida, yang dapat dikonversi menjadi monosakarida melalui hidrolisis. Glukosa dalam bentuk bubuk mudah larut dalam air [11].



**Gambar 2.6** Struktur D-glukosa (struktur rantai terbuka)

Sumber: Encyclopedia of Food and Health [11]

Dua struktur D-glukosa dalam bentuk rantai terbuka dan asikliknya (disebut proyeksi Fischer) dengan atom karbon yang diberi nomor dengan cara konvensional ditunjukkan pada Gambar 2.6. Dalam konvensi ini, masing-masing ikatan horizontal memproyeksikan ke luar dari bidang halaman dan setiap ikatan vertikal memproyeksikan ke dalam atau ke bawah bidang halaman. Biasanya garis horisontal untuk ikatan kimia kovalen dengan atom hidrogen dan gugus hidroksil dihilangkan seperti pada struktur di sebelah kanan. Karena atom karbon paling rendah bersifat non kiral, sehingga bebas untuk menentukan posisi relatif atom dan kelompok yang menyertainya. Jadi, biasanya ditulis sebagai -CH<sub>2</sub>OH. D-Glukosa dan semua gula lainnya yang mengandung enam atom karbon disebut heksosa, kelompok aldosa yang paling umum. Nama kategori sering digabungkan dengan gula aldehida beratom karbon enam yang disebut aldohexosa [11].

**Tabel 2.2** Sifat Fisik Glukosa

Sifat fisik	Karakteristik
Bentuk fisik	Putih, kristal
Berat molekul	180,16 g/mol
Titik leleh	150 C
Densitas	1,5620 g/cm <sup>3</sup> (pada 18°C)
Kelarutan pada:	
Air	Sangat larut
Etanol	Sedikit larut
Etil eter	Tidak larut
Pirimidina	Larut

Sumber: Encyclopedia of Food and Health [11]

**Tabel 2.3** Kelarutan glukosa

Temperatur (°C)	Kelarutan dalam gram glukosa per 100 ml air
25	91
30	125
50	244
70	357
90	556

Sumber: Encyclopedia of Food and Health [11]

Glukosa mengandung alkohol, ester (dalam bentuk cincin), dan aldehida (dalam bentuk linear) sebagai kelompok fungsional. Beberapa sifat fisik glukosa, seperti titik leleh, kelarutan, dan densitas terdapat pada Tabel 2.2.

Salah satu sifat fisik glukosa yang penting adalah kemampuannya untuk larut dalam larutan berbasis air. Tabel 2.3 menunjukkan perubahan kelarutan dengan perubahan temperatur pada glukosa dalam air. Senyawa yang hanya terdiri dari karbon dan hidrogen menunjukkan kelarutan air yang sangat buruk. Elemen seperti oksigen dan nitrogen, yang umum terjadi pada molekul organik dan bioorganik, membantu meningkatkan kelarutan dalam air. Enam atom oksigen pada glukosa meningkatkan kemampuannya untuk larut dalam air. Secara khusus, karena lima atom oksigen tersebut ditemukan dalam bentuk kelompok alkohol, memungkinkannya membentuk ikatan hidrogen dengan molekul air dan membuatnya mudah larut dalam air. Semua bentuk glukosa tidak berwarna dan mudah larut dalam air, asam asetat, dan beberapa pelarut lainnya. Mereka hanya sedikit larut dalam metanol dan etanol [11].

Glukosa pertama kali dipisahkan dari kismis pada tahun 1747 oleh Andreas Marggraf. Nama glukosa diciptakan pada tahun 1838 oleh Jean Dumas, dari kata Yunani *gleucos*, yang berarti 'manis' atau 'gula', dan struktur molekulnya ditemukan oleh Emil Fischer. Glukosa memiliki empat atom karbon kiral: C-2, C-3, C-4, dan C-5. Semua gula yang memiliki gugus hidroksil pada nomor atom karbon kiral tertinggi (C-5 pada glukosa) yang diposisikan di sisi kanan disebut D-glukkosa. Dan semua kelompok hidroksil pada atom karbon kiral bernomor tertinggi yang diposisikan di kiri disebut L-glukosa [11].

D-Glukosa dan semua gula lain yang mengandung enam atom karbon disebut heksosa, merupakan kelompok yang paling umum dari aldosa. Kategori nama sering dikombinasikan dengan enam atom karbon gula aldehida yang disebut aldohexose. L-Glukosa kurang berlimpah di alam daripada bentuk-bentuk D-glukosa tetapi tetap memiliki peran biokimia yang penting. Dua L-glukosa yang ditemukan dalam makanan adalah L-arabinosa dan L-galaktosa, yang keduanya terbentuk sebagai unit pada polimer karbohidrat (polisakarida) [11].

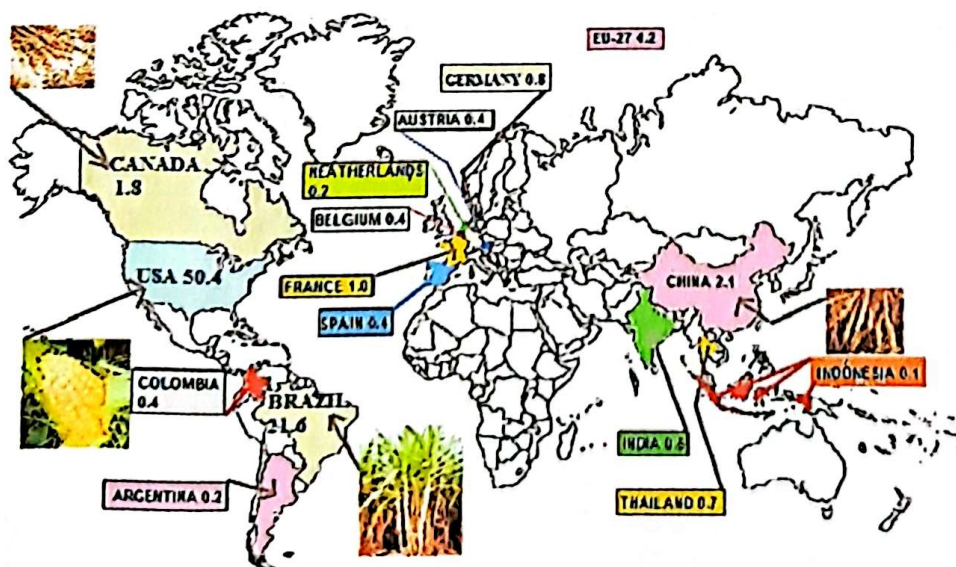
Glukosa mengandung enam atom karbon dan gugus aldehida dan yang disebut sebagai aldohexosa. Molekul glukosa dapat dalam bentuk rantai terbuka (asiklik) dan bentuk cincin (siklik), yang merupakan hasil dari reaksi intramolekuler antara atom C aldehida dan kelompok C-5 hidroksil untuk membentuk intramolekul hemiasetal. Glukosa bentuk cincin mengandung lima atom karbon dan satu atom oksigen, yang menyerupai struktur piran. Dalam cincin ini, tiap karbon terikat dengan kelompok sisi hidroksil kecuali atom karbon kelima, yang terhubung pada atom karbon keenam di luar cincin, dan membentuk kelompok  $\text{CH}_2\text{OH}$  [11].

### 2.3 Bioetanol

Bioetanol ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ) adalah biofuel cair, yang dihasilkan dari beberapa bahan baku biomassa yang berbeda, menggunakan berbagai teknologi konversi. Bioetanol merupakan bahan bakar alternatif yang menarik karena dapat diperbarui, dan mengandung oksigen (35% oksigen), sehingga berpotensi untuk mengurangi partikulat dan emisi  $\text{NO}_x$  pada mesin pembakaran. Bioetanol dapat bercampur dengan bensin pada mesin normal karena jumlah oktan yang tinggi (108) dan nomor cetane rendah; sedangkan di mesin diesel, pembakaran terhambat oleh panas penguapan yang tinggi. Salah satu campuran seperti bioetanol untuk kendaraan ringan dikenal sebagai E85 dan mengandung 85% bioetanol dan 15% bensin. Di Brazil, bioethanol untuk bahan bakar berasal dari tebu dan digunakan murni atau dicampur dengan bensin dalam campuran disebut gasohol (24% bioetanol, 76% bensin). Di beberapa negara bagian di Amerika Serikat, jumlah bioethanol yang lebih rendah (10% volume) ditambahkan ke bensin, dikenal sebagai E10. Contoh lebih lanjut dari negara yang menggunakan

campuran etanol adalah Brazil (E20, E25), India (E5), Australia (E10), Thailand (E10), Cina (E10), Columbia (E10), Peru (E10), dan Paraguay (E7). Campuran yang mengandung konsentrasi bioetanol yang lebih tinggi dalam bensin juga banyak digunakan, misalnya, dalam kendaraan bahan bakar fleksibel, dapat beroperasi pada campuran yang mengandung sampai 85% bioethanol (E85) dan ditemukan misalnya di Amerika Serikat, Kanada, Swedia, dan Brasil. Meskipun kepadatan energinya lebih rendah daripada bensin (34% lebih rendah), sifat korosif, dan tekanan uap yang rendah (membuat sulit untuk dingin) bioetanol secara luas digunakan dalam campuran bensin karena banyak keuntungan [12].

Perkembangan industri biofuel dari tanaman pertanian telah menawarkan solusi untuk keamanan energi, perubahan iklim, dan pembangunan pedesaan untuk pertumbuhan populasi dunia. Namun, manfaat biofuel sering dikaitkan dengan dampak penggunaan lahan, efek negatif dalam hal emisi gas rumah kaca, fungsi ekosistem, dan keamanan makanan dan air. Biofuel konvensional yang sengit diperdebatkan saat ini, juga dihubungkan pada isu-isu ekologi dan sosial ekonomi yang lebih luas. Untuk mengatasi masalah yang timbul dari proses produksi bioetanol konvensional, metode produksi alternatif, menggunakan sumber yang tersedia banyak dan terbarukan, sumber non-pangan (seperti limbah biomassa) harus dieksplorasi [12].



**Gambar 2.7** Produksi etanol (miliar liter) pada tahun 2012

Sumber : Gupta dkk., 2015 [13]

Gambar 2.7 menunjukkan produksi bioetanol di dunia dalam miliar liter selama tahun 2012. Produksi terbesar terdapat pada negara Amerika dengan total produksi etanol sebesar 50,4 miliar liter dengan jagung sebagai bahan bakunya. Sebaliknya produksi terkecil terdapat pada negara Indonesia dengan total produksi etanol sebesar 0,1 miliar liter dengan ketela pohon sebagai bahan bakunya. Bioetanol merupakan senyawa etanol yang dihasilkan dari bahan baku terbarukan, sehingga sifat bioetanol hampir sama dengan sifat etanol [13].

**Tabel 2.4 Sifat Fisika Etanol**

Sifat Fisik	Nilai
Berat molekul	40,069 g/mol
Densitas	0,7893 g/ml
Titik didih	78°C (173°F)
Titik nyala	13°C (55°F)
Titik api	363°C (685°F)
Titik leleh	-114,14°C
Kapasitas panas	112,3 J/mol.K
Panas pembakaran pada 25°C	1336,8 kJ/kg.mol

Sumber : CRC Handbook of Chemistry and Physical [14]

#### Sifat Kimia Etanol

- Oksidasi Etanol



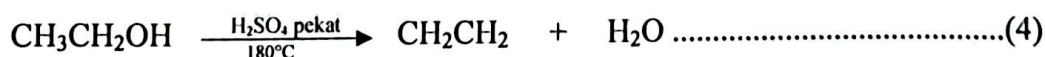
- Pembentukan Ester



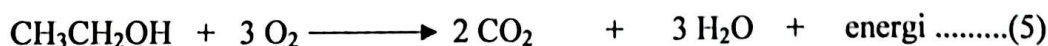
- Halogenasi



- Eliminasi Etanol



- Pembakaran Etanol



Sumber : Kimia Organik Fessenden dan Fessenden [15]

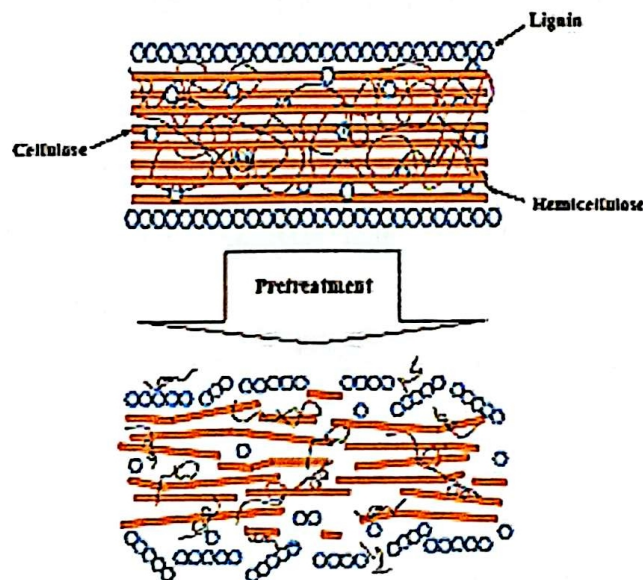
## 2.4 Proses Produksi Etanol

### 2.4.1 Proses *Pretreatment*

Ketika menggunakan limbah yang mengandung lignoselulosa, salah satu langkah utamanya yaitu *pretreatment* biomassa [12]. *Pretreatment* adalah proses

yang diperlukan untuk melepaskan selulosa dari hemiselulosa dan lignin dan membuat selulosa lebih rentan untuk hidrolisis [13]. *Pretreatment* harus memenuhi syarat sebagai berikut :

- (1) meningkatkan pembentukan gula atau kemampuan untuk selanjutnya membentuk gula oleh hidrolisis
- (2) menghindari degradasi atau hilangnya karbohidrat,
- (3) menghindari pembentukan produk samping yang menghambat proses hidrolisis dan fermentasi selanjutnya dan
- (4) biaya efektif [16].



**Gambar 2.8** Skema *pretreatment* dari material lignoselulosa

Sumber : Mood dkk., 2013 [17]

Seperti Gambar 2.8, *pretreatment* adalah proses yang digunakan untuk membebaskan selulosa dan hemiselulosa dari lignin dan struktur kristalnya sehingga membuat polisakarida dapat diakses untuk tahap hidrolisis berikutnya. Faktor utama yang membuat biomassa lignoselulosa sulit untuk dihidrolisis antara lain luas permukaan yang sulit diakses, proteksi selulosa oleh lignin, sifat heterogen dari partikel biomassa, dan selulosa yang selubung seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.8. Seperti yang diilustrasikan pada gambar ini, *pretreatment* meningkatkan aksesibilitas terhadap selulosa dan hemiselulosa dengan membebaskannya dari cangkang lignin [10].

#### a. *Pretreatment* Fisika

Pada dasarnya *pretreatment* fisika digunakan untuk mengurangi ukuran partikel dan meningkatkan luas permukaan untuk memudahkan hidrolisis. Metode ini bertujuan meningkatkan luas permukaan dan mengurangi ukuran partikel bahan lignoselulosa dan meningkatkan efisiensi pada pengolahan hilir [13]. Bahan limbah dapat dihaluskan dengan kombinasi chipping, grinding dan penggilingan untuk mengurangi kristalinitas selulosa. Ukuran dari bahan biasanya 10-30 mm setelah chipping dan 0,2-2 mm setelah penggilingan atau grinding [16]. Beberapa teknologi telah dikembangkan untuk memecah komponen lignin menjadi selulosa dan hemiselulosa sehingga lebih mudah untuk dilakukan hidrolisis. Proses fisika memerlukan energi yang besar pada tahap fermentasi tertentu, proses ini melepaskan beberapa senyawa penghambat yang lebih mahal pada proses penghilangannya. Oleh karena itu untuk produksi komersial, proses fisika cukup mahal dan mungkin tidak dapat digunakan pada proses berskala besar [13].

#### b. *Pretreatment* Asam

*Pretreatment* asam, khususnya dengan menggunakan asam sulfat adalah *pretreatment* kimia yang paling umum digunakan untuk biomassa lignoselulosa dimana polisakarida (terutama hemiselulosa) yang dihidrolisis menjadi monosakarida. *Pretreatment* asam dapat dilakukan baik di bawah konsentrasi asam rendah dan temperatur tinggi atau di bawah konsentrasi asam yang lebih tinggi dan temperatur yang lebih rendah. Proses *pretreatment* dengan asam pekat lebih ekonomis dilakukan pada temperatur rendah. Namun proses ini mengakibatkan terbentuknya racun, inhibitor pada fermentasi, korosif pada alat, dan diperlukan pemulihan asam. Terbentuknya inhibitor seperti furfural dapat menghasilkan produk yang tidak diinginkan seperti asam formiat dan levulinik [17]. *Pretreatment* asam sulfat encer dapat mencapai laju reaksi yang tinggi dan secara signifikan meningkatkan hidrolisis selulosa [16]. Di industri, asam encer lebih banyak digunakan karena menghasilkan jumlah inhibitor fermentasi yang lebih rendah dan banyak penelitian yang telah menggunakan teknik ini [17].

### c. *Pretreatment* Alkali

Beberapa basa dapat digunakan untuk *pretreatment* bahan lignoselulosa dan pengaruh *pretreatment* alkali tergantung pada kadar lignin dari bahan [16]. Menghilangkan lignin, kelompok asetil dan pengganti asam uronic lain yang menghambat aksesibilitas selulosa pada hidrolisis adalah keuntungan utama dari *pretreatment* ini [17]. *Pretreatment* alkali menghancurkan dinding sel dengan cara melarutkan hemiselulosa, lignin, dan silica dengan hidrolisis asam uronic dan ester asetat dengan pembengkakan selulosa. Kelarutan dari hemiselulosa dan selulosa dalam metode ini kurang jika dibandingkan dengan proses *pretreatment* asam. Metode ini juga menyebabkan pembengkakan kimia pada serat selulosa. Ikatan silang antara lignin dan xilan yang terganggu menyebabkan delignifikasi. *Pretreatment* alkali dilakukan pada temperatur yang relatif rendah dan tidak memerlukan reaktor yang kompleks, sehingga menarik untuk dikerjakan di ladang. Namun, kelemahan utamanya yaitu waktu tinggal yang lama (dari jam hingga hari) dan perlu dilakukan netralisasi bubur. Natrium hidroksida (NaOH), kalium hidroksida (KOH), kalsium hidroksida (CaOH<sub>2</sub>), dan amonia dapat digunakan dalam metode *pretreatment* ini [17].

### d. *Pretreatment* Biologi

*Pretreatment* biologi atau mikroba tidak memiliki persyaratan kimia. Hal ini karena *pretreatment* biologi merupakan proses ramah lingkungan yang mengkonversi biomassa lignoselulosa oleh mikroorganisme khususnya jamur menjadi senyawa yang lebih mudah diakses untuk hidrolisis dan produksi bioetanol. Berbeda dengan kebanyakan metode *pretreatment* yang membutuhkan modal dan biaya operasional yang tinggi, metode ini hanya memanfaatkan jamur pelapuk putih, coklat, dan jamur pelapuk lunak untuk delignifikasi dan meningkatkan hidrolisis enzim pada biomassa lignoselulosa. Efisiensi tertinggi dari metode *pretreatment* biologi dicapai oleh jamur pelapuk putih yang memecah lignin sedangkan untuk jamur pelapuk lunak dan coklat hanya menyerang selulosa. Di antara spesies dari jamur pelapuk putih yang digunakan saat ini, efisiensi tertinggi adalah *Phanerochaete chrysosporium* karena tingkat pertumbuhan dan kemampuannya dalam biodegradasi lignin yang tinggi.

Berbagai mikroba juga memengaruhi efisiensi *pretreatment* biomassa tertentu. *Aspergillus niger* dan *Aspergillus awamori* menghasilkan produksi etanol tertinggi dari gandum dan jerami padi. Di sisi lain, hasil terbaik untuk sekam padi dan ampas tebu dicapai oleh *Aspergillus awamori* dan *Pleurotus sajorcaju*. Meskipun membutuhkan energi yang rendah, kondisi lingkungan yang sederhana, dan tidak ada persyaratan kimia, *pretreatment* biologi masih memiliki beberapa kekurangan sebagai metode *pretreatment* komersial. Kekurangan itu meliputi waktu proses yang panjang, kebutuhan ruang yang besar dan kebutuhan untuk pemantauan terus menerus dari pertumbuhan mikroorganisme [17].

#### 2.4.2 Proses Hidrolisis

Hidrolisis adalah proses pemecahan polisakarida di dalam biomassa lignoselulosa, yaitu selulosa dan hemiselulosa menjadi monomer gula penyusunnya. Hidrolisis selulosa dan hemiselulosa dalam proses hidrolisis dapat dilakukan secara kimia dengan menggunakan asam atau enzim [6].

##### a. Hidrolisis Asam

Hidrolisis asam adalah hidrolisis yang menggunakan asam yang dapat mengubah selulosa menjadi glukosa [6]. Hidrolisis asam dikelompokkan menjadi dua kelompok, yaitu hidrolisis asam pekat dan hidrolisis asam encer. Asam yang umum digunakan untuk hidrolisis asam yaitu asam sulfat ( $H_2SO_4$ ) dan asam klorida (HCl). Pada hidrolisis asam encer, konsentrasi asam yang digunakan berkisar 2-5%. Sedangkan untuk hidrolisis asam pekat, konsentrasi asam yang digunakan berkisar 10-30% [6]. Hidrolisis asam dapat dilakukan melalui dua pendekatan, seperti asam encer pada temperatur dan tekanan tinggi dengan waktu reaksi yang singkat berkisar antara detik dan menit, dan menggunakan asam terkonsentrasi pada temperatur rendah. Keuntungan utama hidrolisis dengan asam encer adalah tidak diperlukannya pemulihan asam [7]. Asam sulfat sering digunakan pada hidrolisis asam, meskipun asam-asam anorganik lainnya seperti asam klorida (HCl), asam nitrat ( $HNO_3$ ), asam trifluoroasetat (Trifluoroacetic Acid, TFA), asam fosfat ( $H_3PO_4$ ) juga dapat digunakan untuk tujuan ini. Hidrolisis asam encer umumnya diterapkan untuk tujuan hidrolisis hemiselulosa

dan sebagai *pretreatment* selulosa untuk membuatnya lebih mudah diakses enzim. Namun, polimer karbohidrat yang dihidrolisis dengan asam encer membutuhkan dua tahap proses hidrolisis. Tahap pertama dilakukan pada temperatur rendah untuk memaksimalkan konversi hemiselulosa dari biomassa yang didepolimerisasi pada temperatur rendah. Tahap kedua melibatkan temperatur tinggi berkisar antara 230°C dan 240°C untuk mengkonversi selulosa menjadi glukosa. Kelemahan utama dari hidrolisis selulosa menggunakan asam adalah persyaratan temperatur tinggi dan beresiko tinggi menghasilkan inhibitor melalui degradasi gula. Hidrolisis asam pekat dapat diterapkan untuk depolimerisasi baik hemiselulosa dan selulosa. Seperti hidrolisis asam encer, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, HCl atau TFA dapat digunakan dalam hidrolisis asam pekat dalam berbagai konsentrasi antara 41% untuk HCl dan 100% untuk TFA. Konsentrasi H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> untuk hidrolisis biomassa lignoselulosa umumnya 70-90%. Waktu reaksi dalam hidrolisis asam berkonsentrasi umumnya jauh lebih lama dari waktu yang diperlukan untuk hidrolisis asam encer. Hidrolisis asam berkonsentrasi lebih diminati karena temperatur proses moderat dan tanpa memerlukan enzim mahal. Namun, korosi peralatan akibat konsentrasi asam yang tinggi merupakan kelemahan utama dari teknik hidrolisis ini [18].

Faktor – faktor yang memengaruhi proses hidrolisis asam antara lain:

1. Temperatur

Pengaruh temperatur terhadap kecepatan hidrolisis selulosa mengikuti persamaan Arrhenius yaitu semakin tinggi temperaturnya akan diperoleh konversi yang cukup berarti, karena semakin tinggi temperatur maka gerakan molekul akan semakin cepat sehingga reaksi hidrolisis berjalan semakin cepat. Tetapi jika temperatur terlalu tinggi konversi yang diperoleh akan menurun. Hal ini dikarenakan kadar gula yang dihidrolisis telah mencapai titik optimumnya dan kadar gula akan cenderung menurun apabila telah mencapai kadar gula optimum yang dihasilkan pada proses hidrolisis asam, dan glukosa akan terdegradasi menjadi senyawa lain yakni furfural dan hidroksimetilfurfural dan bereaksi lebih lanjut membentuk asam formiat [19].

Menurut Ni'mah dkk. [19], temperatur optimal untuk hidrolisis asam dari bahan baku 90 gram limbah serat kelapa sawit yaitu 120°C dengan nilai kadar gula 7,03% (v/v). Selain itu, Osvaldo dkk. [20] melaporkan bahwa temperatur optimum untuk hidrolisis asam yaitu 140°C dengan kadar etanol yang dihasilkan sebesar 5,0675% dari bahan baku 20 gram alang - alang. Temperatur optimal pada hidrolisis asam yaitu sekitar 120-160°C [19].

## 2. Waktu Hidrolisis

Waktu hidrolisis berpengaruh pada proses hidrolisis selulosa menggunakan asam karena semakin lama waktu reaksi hidrolisis, maka kesempatan konversi selulosa menjadi glukosa oleh asam lebih besar. Sehingga reaksi berjalan lebih sempurna. Jika waktu reaksi hidrolisis diperpanjang, maka konversi yang dicapai semakin rendah karena selulosa yang telah diubah menjadi glukosa akan terdegradasi membentuk senyawa inhibitor, seperti senyawa furfural. Waktu yang diperlukan untuk proses hidrolisa asam sekitar 1 hingga 3 jam [19].

Haryani dkk. [21] melaporkan bahwa waktu optimum untuk hidrolisis asam dari bahan baku 50 gram serbuk daun nanas yaitu 120 menit yang menghasilkan 7,3896% glukosa dan 6,2444% etanol. Sedangkan menurut Osvaldo dkk. [20], waktu optimum pada hidrolisis asam dari bahan baku 20 gram alang - alang yaitu 150 menit dengan kadar etanol yang dihasilkan sebesar 5,0675%. Semakin lama waktu hidrolisis, maka kesempatan selulosa melakukan dekomposisi lebih panjang, sehingga kadar etanol naik. Tetapi kenaikan itu sudah tidak begitu mencolok setelah waktu hidrolisis mencapai 120 menit karena kadar etanol yang didapatkan tidak begitu bertambah secara signifikan [20].

## 3. Konsentrasi asam

Konsentrasi asam berpengaruh pada proses hidrolisis selulosa menggunakan asam karena dengan meningkatnya konsentrasi asam akan meningkatkan kandungan glukosa yang didapat. Semakin besar konsentrasi asam yang digunakan maka proses pelarutan substrat semakin cepat sehingga fasa menjadi lebih homogen dan reaksi pun berlangsung lebih cepat. Konsentrasi asam yang biasa digunakan untuk hidrolisis yaitu pada range konsentrasi 2-5% [6].

Menurut Haryani dkk. [21], konsentrasi asam optimum yang digunakan untuk hidrolisis asam yaitu 2% (v/v) yang menghasilkan 7,3896% glukosa dan 6,2444% etanol dari 50 gram serbuk daun nanas. Hal yang sama dilaporkan oleh Osvaldo dkk. [20], yang menghasilkan 5,0675 % etanol pada konsentrasi asam optimum 2% (v/v) dari bahan baku 20 gram alang - alang. Sedangkan menurut Ramdja dkk. [22], konsentrasi asam optimum untuk hidrolisis asam yaitu 0,75% (v/v) dengan kandungan glukosa 16, 15% dari bahan baku 40 gram alang - alang. Kadar glukosa mengalami peningkatan pada konsentrasi asam optimal tertentu dan setelah itu menurun. Hal ini disebabkan penambahan konsentrasi larutan asam membentuk lebih banyak gugus radikal bebas, tetapi menyebabkan semakin sedikitnya jumlah air dalam larutan hidrolisis. Hal ini menyebabkan jumlah OH<sup>-</sup> sebagai pengikat radikal bebas berkurang dan glukosa yang dihasilkan semakin sedikit. Selain itu, peningkatan konsentrasi asam ini juga dapat mengakibatkan terdegradasinya glukosa yang sudah terbentuk menjadi produk samping yang dapat menjadi inhibitor dalam pembentukan etanol selama proses fermentasi, seperti furfural, 5-hydroxymethylfurfural (HMF), asam levulinat, asam asetat, asam formiat, formaldehid, dan lain-lain [21].

#### **b. Hidrolisis Enzim**

Hidrolisis enzim merupakan langkah penting untuk produksi bioetanol di mana karbohidrat kompleks dikonversi menjadi monomer sederhana. Hal ini membutuhkan lebih sedikit energi dan kondisi lingkungan yang ringan dibandingkan dengan hidrolisis asam. Dalam proses ini, enzim selulase adalah enzim yang paling penting, yang terjadi secara alami pada mikroba selulolitik misalnya *Clostridium*, *Cellulomonas*, *Thermonospora*, *Basil*, *Bacteriodes*, *Ruminococcus*, *Erwinia*, *Acetovibrio*, *Microbispora*, *Streptomyces* dan jamur lain seperti *Trichoderma*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Phanerochaete*, *Humicola*, *Schizophillum sp.* Enzim ini memiliki kemampuan untuk mengubah selulosa menjadi glukosa atau monomer galaktosa. Kondisi optimum untuk enzim selulase adalah pada temperatur 40 – 50°C dan pH 4-5. Demikian pula kondisi optimum untuk xilanase juga telah dilaporkan sekitar 50°C dan pH 4-5. Hidrolisis enzim bermanfaat karena toksisitas rendah, biaya utilitas rendah dan korosi yang lebih

Menurut Haryani dkk. [21], konsentrasi asam optimum yang digunakan untuk hidrolisis asam yaitu 2% (v/v) yang menghasilkan 7,3896% glukosa dan 6,2444% etanol dari 50 gram serbuk daun nanas. Hal yang sama dilaporkan oleh Osvaldo dkk. [20], yang menghasilkan 5,0675 % etanol pada konsentrasi asam optimum 2% (v/v) dari bahan baku 20 gram alang - alang. Sedangkan menurut Ramdja dkk. [22], konsentrasi asam optimum untuk hidrolisis asam yaitu 0,75% (v/v) dengan kandungan glukosa 16, 15% dari bahan baku 40 gram alang - alang. Kadar glukosa mengalami peningkatan pada konsentrasi asam optimal tertentu dan setelah itu menurun. Hal ini disebabkan penambahan konsentrasi larutan asam membentuk lebih banyak gugus radikal bebas, tetapi menyebabkan semakin sedikitnya jumlah air dalam larutan hidrolisis. Hal ini menyebabkan jumlah OH<sup>-</sup> sebagai pengikat radikal bebas berkurang dan glukosa yang dihasilkan semakin sedikit. Selain itu, peningkatan konsentrasi asam ini juga dapat mengakibatkan terdegradasinya glukosa yang sudah terbentuk menjadi produk samping yang dapat menjadi inhibitor dalam pembentukan etanol selama proses fermentasi, seperti furfural, 5-hydroxymethylfurfural (HMF), asam levulinat, asam asetat, asam formiat, formaldehid, dan lain-lain [21].

#### **b. Hidrolisis Enzim**

Hidrolisis enzim merupakan langkah penting untuk produksi bioetanol di mana karbohidrat kompleks dikonversi menjadi monomer sederhana. Hal ini membutuhkan lebih sedikit energi dan kondisi lingkungan yang ringan dibandingkan dengan hidrolisis asam. Dalam proses ini, enzim selulase adalah enzim yang paling penting, yang terjadi secara alami pada mikroba selulolitik misalnya *Clostridium*, *Cellulomonas*, *Thermonospora*, *Basil*, *Bacteriodes*, *Ruminococcus*, *Erwinia*, *Acetovibrio*, *Microbispora*, *Streptomyces* dan jamur lain seperti *Trichoderma*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Phanerochaete*, *Humicola*, *Schizophillum sp.* Enzim ini memiliki kemampuan untuk mengubah selulosa menjadi glukosa atau monomer galaktosa. Kondisi optimum untuk enzim selulase adalah pada temperatur 40 – 50°C dan pH 4-5. Demikian pula kondisi optimum untuk xilanase juga telah dilaporkan sekitar 50°C dan pH 4-5. Hidrolisis enzim bermanfaat karena toksisitas rendah, biaya utilitas rendah dan korosi yang lebih

rendah dibandingkan dengan hidrolisis asam. Selain itu, tidak ada produk samping yang terbentuk oleh hidrolisis enzim. Enzim selulase adalah substrat yang sangat spesifik. Enzim selulase dan hemiselulase membelah ikatan selulosa dan hemiselulosa. Selulosa mengandung glukosa dan hemiselulosa mengandung unit gula yang berbeda seperti mannan, xylan, glukosa, galactan dan arabinan. Tiga jenis enzim selulase yang terlibat, yaitu endo dan eksoglukanase dan  $\beta$ -glukosidases. Endoglukanase (endo 1,4 D-glukan hidrolase atau EC 3.2.1.4) menyerang daerah kristalinitas rendah dari serat selulosa, eksoglukanase ( $\beta$ -1,4 D-glukan selobiohidrolase atau EC 3.2.1.91) menghapus unit selobiose dari rantai ujung bebas dan unit selobiosa akhir dihidrolisis menjadi glukosa oleh  $\beta$ -glukosidase (EC 3.2.1.21). Enzim hemiselulolitik lebih kompleks dan merupakan campuran setidaknya delapan enzim seperti endo-1,4- $\beta$ -D-xilanase, exo-1,4- $\beta$ -D-xylokuronidases,  $\alpha$ -L-arabinofuranosidases, endo-1,4- $\beta$ -D-mannanase,  $\beta$ -mannosidases, asetilxilan esterase,  $\alpha$ -glukoronidases dan  $\alpha$ -galaktosidase. Selulosa dihidrolisis menjadi glukosa sedangkan hemiselulosa menghasilkan beberapa pentosa dan heksosa [23].

### 2.4.3 Analisis Kualitatif Glukosa

Di dalam ilmu biokimia terdapat beberapa jenis karbohidrat yang memiliki peranan penting, antara lain monosakarida (glukosa, fruktosa, galaktosa, ribosa), disakarida (laktosa, sukrosa, maltosa), dan polisakarida (glikogen pada hewan dan selulosa pada tanaman). Analisa kualitatif dapat dilakukan untuk mengetahui kandungan karbohidrat dalam suatu bahan. Beberapa uji kualitatif akan dijelaskan berikut ini.

#### a. Uji Molisch

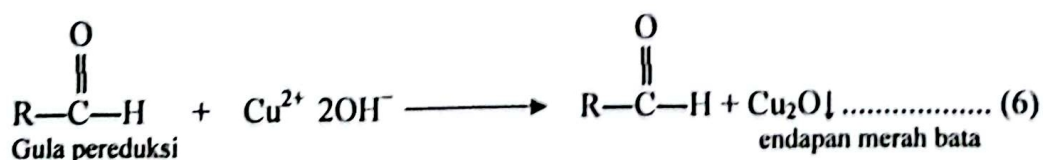
Pereaksi molisch terdiri dari larutan  $\alpha$ -naftol dalam alkohol 95%. Reaksi tergantung pada pembentukan furfural dan derivat – derivat dari karbohidrat yang di dehidrasi oleh asam pekat, dan kombinasi dengan  $\alpha$ -naftol untuk membentuk senyawa berwarna. Walaupun uji ini bukan uji spesifik untuk karbohidrat, namun hasil negatif terhadap pereaksi molisch menunjukkan tidak adanya karbohidrat dalam suatu senyawa. Uji molisch merupakan uji umum untuk

karbohidrat dan digunakan untuk mengetahui ada tidaknya karbohidrat dalam sampel. Uji molish bertujuan untuk membedakan karbohidrat dengan senyawa bukan karbohidrat. Uji ini sangat efektif untuk senyawa – senyawa yang dapat di dehidrasi oleh asam pekat menjadi senyawa furfural atau senyawa furfural yang tersubstitusi seperti hidroksimetil furfural. Dalam larutan asam encer, walaupun dipanaskan, monosakarida umumnya stabil. Namun, pada asam kuat yang pekat, monosakarida menghasilkan furfural atau derivatnya. Reaksi pembentukan furfural ini adalah reaksi dehidrasi atau pelepasan molekul air oleh asam sulfat pekat. Dehidrasi heksosa menghasilkan senyawa hidroksimetil furfural, sedangkan dehidrasi pentosa menghasilkan senyawa furfural. Furfural yang terbentuk akan bereaksi dengan  $\alpha$ -naftol dan membentuk cincin berwarna ungu yang merupakan kondensasi antara furfural atau hidroksometil furfural dengan  $\alpha$ -naftol. Karena furfural dan derivatnya ini membentuk senyawa berwarna, maka reaksi ini bisa dipakai untuk uji karbohidrat [31].

#### b. Uji Benedict

Uji benedict digunakan untuk mengidentifikasi karbohidrat melalui reaksi gula pereduksi. Larutan alkali dari tembaga direduksi oleh gula yang mengandung gugus aldehida atau keton bebas, dengan membentuk kupro oksida berwarna. Larutan benedict mengandung kupri sulfat, natrium karbonat, dan natrium sitrat. Uji benedict dilakukan pada suasana basa yang menyebabkan terjadinya transformasi isomerik. Pada suasana basa, reduksi ion  $\text{Cu}^{2+}$  dari  $\text{CuSO}_4$  oleh gula pereduksi akan berlangsung dengan cepat dan membentuk  $\text{Cu}_2\text{O}$  yang merupakan endapan merah bata. Pereaksi benedict terdiri dari logam Cu dan larutan basa kuat [24].

Reaksi reduksi pada uji benedict :



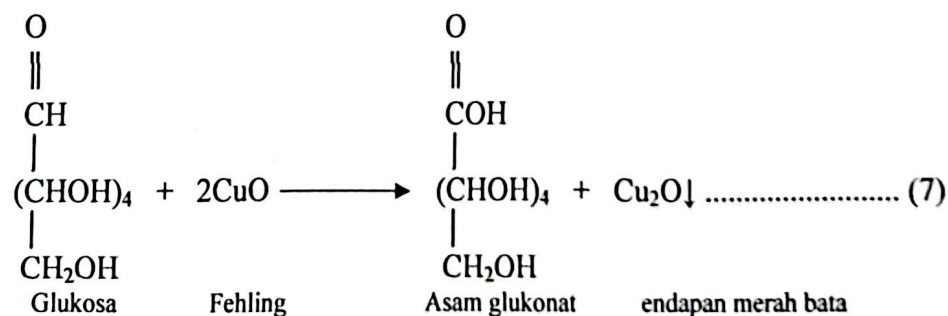
Sumber : Biokimia Teknik Penelitian [24]

### c. Uji Barfoed

Uji ini digunakan untuk mendeteksi monosakarida yang terdapat dalam disakarida. Uji ini menggunakan larutan asam, berbeda dengan reaksi benedict. Pereaksi berfoed terdiri dari kupri asetat yang dilarutkan aquadest dan ditambahkan dengan asam laktat. Disakarida juga akan memberi hasil positif dengan uji ini jika larutan gula dididihkan dalam waktu yang cukup lama sehingga terjadi hidrolisis. Pereaksi barfoed dapat bereaksi positif dengan karbohidrat yang memiliki gula pereduksi. Uji barfoed dilakukan dalam suasana asam. Pada suasana asam, reaksi oksidasi akan lama terjadi, sehingga hanya monosakarida yang dapat teroksidasi dengan cepat. Pemanasan pada uji ini harus dilakukan dengan baik agar monosakarida bereaksi positif, sedangkan disakarida tidak. Pereaksi barfoed terdiri dari logam Cu dan larutan asam pekat. Ketosa tidak akan mengalami isomerisasi terhadap pereaksi ini. Pereaksi barfoed dalam suasana asam akan direduksi lebih cepat oleh gula pereduksi monosakarida daripada disakarida, dan menghasilkan  $\text{Cu}_2\text{O}$  (kupro oksida) berwarna merah bata [24].

### d. Uji Fehling

Reaksi pada uji fehling :



Sumber : Biokimia Teknik Penelitian [24]

Prinsip uji fehling hampir sama dengan uji barfoed dan uji benedict yaitu dengan menggunakan gugus aldehida pada gula untuk mereduksi  $\text{Cu}_4\text{SO}_4$  menjadi  $\text{Cu}_2\text{O}$  (endapan merah bata) setelah dipanaskan pada suasana basa [24].

### e. Uji Tetrazolium Merah

Uji terazolium merah tidak jauh berbeda dengan uji fehling. Prinsip uji ini adalah reaksi gugus aldehida pada gula untuk mereduksi senyawa tetrazolium

menjadi senyawa larut air yaitu diformazan yang berwarna merah bata. Uji ini lebih sensitif dibandingkan uji fehling [24].

#### f. Uji Seliwanoff

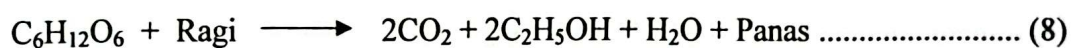
Reaksi pada uji ini tergantung pada pembentukan 4-hidroksi-metil-furfural dan reaksi dengan resorsinol (1,3-dihidroksi benzena) untuk membentuk kompleks berwarna merah. Umumnya uji ini spesifik untuk karbohidrat yang mengandung gugus ketosa. Pada uji seliwanoff ini, jika karbohidrat direaksikan dengan pereaksi seliwanoff, maka akan menunjukkan warna merah jika hasilnya positif. Warna merah merupakan hasil kondensasi dari resorsinol yang sebelumnya didahului dengan pembentukan hidroksi metil furfural yang berasal dari konversi fruktosa oleh HCl panas, kemudian menghasilkan asam lufulinat dan hidroksi metil furfural [24].

Uji seliwanoff ini bertujuan untuk membedakan gula aldosa dan ketosa. Ketosa dibedakan dari aldosa karena adanya gugus fungsi keton atau aldehida pada gula tersebut. Jika gula mempunyai gugus keton, maka gula tersebut tergolong ketosa; jika gula mempunyai gugus aldehida, maka gula tersebut tergolong aldosa. Uji ini didasarkan pada fakta ketika dipanaskan, ketosa lebih cepat terdehidrasi dari pada aldosa [24].

#### 2.4.4 Proses Fermentasi

Fermentasi merupakan proses metabolisme mikroorganisme yang mengubah gula larut menjadi alkohol [23]. *Saccharomyces cerevisiae* dianggap sebagai mikroorganisme yang berhasil untuk berbagai proses bioteknologi dan industri, misalnya pembuatan bir. Namun, keterbatasannya dalam memanfaatkan produk hidrolisat lignoselulosa, terutama pentosa, menjadi rintangan utama dalam memperoleh hasil etanol yang lebih tinggi dari berbagai biomassa limbah. Modifikasi genetik dengan teknologi DNA rekombinan telah menghasilkan pengembangan fermentasi *Saccharomyces cerevisiae* pentosa, yang memiliki aktivitas selulolitik yang meningkat. Strain *Saccharomyces cerevisiae* genetika yang telah dimodifikasi secara genetik sekarang tersedia untuk digunakan dalam penelitian tentang fermentasi limbah makanan, limbah kayu, dan biomassa

lignoselulosa lainnya [12]. Beberapa bakteri dan ragi dapat memetabolisme monosakarida (misalnya, glukosa dan fruktosa) dan disakarida (misalnya, maltosa dan sukrosa) dalam ketiadaan oksigen, yang menghasilkan etanol dan karbon dioksida. Bahan baku utama pada fermentasi etanol generasi pertama dan kedua adalah jus gula dan hidrolisat pati dan lignoselulosa. Jus gula sebagian besar mengandung sukrosa dengan jumlah kecil glukosa, fruktosa dan maltosa. Hidrolisat dari bahan baku pati terutama yang mengandung glukosa atau disakarida (maltosa), sedangkan hidrolisat dari bahan baku lignoselulosa mengandung gula pentosa dan heksosa. Sesuai persamaan (1), 100 kg glukosa akan menghasilkan 51,1 kg etanol dan 48,8 kg karbondioksida.



Selama fermentasi etanol, sekitar 95% gula larut dikonversi menjadi etanol dan karbondioksida, 1% menjadi kandungan seluler dari sel ragi, dan 4% diubah menjadi produk samping seperti gliserol [23].

Faktor – faktor yang memengaruhi proses fermentasi antara lain:

a) Temperatur

Laju pertumbuhan mikroorganisme secara langsung dipengaruhi oleh temperatur [25]. Menurut Torija dkk., 2002 [28], temperatur untuk mencapai perolehan optimal yaitu sekitar 25 dan 30°C dari bahan baku *must* putih terkonsentrasi dengan perolehan masing – masing 45,68 g/l dan 45,48 gl. Perolehan etanol pada temperatur yang lebih rendah (15 dan 20°C) menghasilkan etanol yang lebih tinggi, namun laju fermentasi berjalan lambat sehingga membutuhkan waktu lama untuk menghasilkan etanol maksimal. Menurut Lin dkk., 2012 [27], temperatur optimum untuk fermentasi yaitu 30°C dari bahan baku glukosa dengan perolehan etanol 65,54% (pada konsentrasi substrat awal 40 kg/m<sup>3</sup>). Temperatur yang lebih tinggi mengakibatkan pertumbuhan sel terganggu sehingga laju fermentasi menurun dan meningkatkan racun dalam etanol terhadap sel. Azhar dkk., 2017 [25] melaporkan bahwa temperatur ideal untuk fermentasi sekitar 20-30°C.

b) pH

Dalam produksi etanol, pH kaldu memengaruhi pertumbuhan ragi, bakteri kontaminan, laju fermentasi, dan pembentukan produk samping. Permeabilitas dari beberapa nutrisi penting di dalam sel dipengaruhi oleh konsentrasi  $H^+$  dalam kaldu fermentasi. Selain itu, kelangsungan hidup dan pertumbuhan ragi dipengaruhi oleh pH pada kisaran 2,75 - 4,25 [25]. Menurut Lin dkk., 2012 [27], pH optimal pada proses fermentasi yaitu 4-5 dengan perolehan etanol 65,54% dan laju produksi etanol spesifik masing – masing 310 dan 410 g/kg jam. Ketika pH kurang dari 4, membutuhkan waktu fermentasi yang lama untuk memperoleh konsentrasi etanol yang tinggi. Sedangkan ketika pH lebih dari 5, menyebabkan perolehan etanol menurun. Azhar dkk., 2017 [25] juga melaporkan bahwa pada fermentasi etanol, pH optimum untuk *Saccharomyces cerevisiae* sekitar 4-5.

c) Waktu fermentasi

Waktu fermentasi memengaruhi pertumbuhan mikroorganisme [25]. Dari hasil penelitian Retno dkk., 2011 [28], diperoleh waktu optimum fermentasi yaitu selama 144 jam dengan kadar etanol 13, 5406%. Menurut Novia dkk., 2011 [29], kadar etanol tertinggi yang dihasilkan dari bahan baku TKKS sebesar 13,89 %, pada hari fermentasi ke-5. Sedangkan menurut Nasrun dkk., 2015 [30], volume dan densitas bioetanol dari bahan baku kulit pepaya tertinggi diperoleh masing – masing 31,17 ml dan 0,883 gr/ml pada waktu fermentasi selama 4 hari. Semakin lama waktu fermentasi, maka kadar bioetanol akan mengalami kenaikan, namun setelah hari kelima kadar bioetanol mengalami penurunan. Hal ini disebabkan karena proses fermentasi telah mencapai optimum pada waktu 5 hari, kadar bioetanol mengalami penurunan setelah melewati waktu optimalnya. Kenaikan kadar bioetanol ini terjadi karena lama waktu fermentasi berhubungan erat dengan kurva pertumbuhan mikroba. Pertumbuhan mikroba terjadi dari enam fase, yaitu fase adaptasi, fase permulaan pembiakan, fase pembiakan cepat, fase konstan atau stasioner dan fase terakhir adalah fase kematian [33]. Namun, Azhar dkk., 2017 [25] melaporkan bahwa fermentasi biasanya berlangsung selama 24-72 jam.

#### d) Konsentrasi dan Jenis Ragi

Konsentrasi ragi tidak memberikan pengaruh yang signifikan pada konsentrasi etanol akhir tetapi berpengaruh pada laju konsumsi gula dan produktivitas etanol [25]. Menurut Osvaldo dkk., 2012 [20], kadar etanol tertinggi diperoleh dengan menggunakan ragi tape 25% (dari berat *feed*) dari 20 gram alang – alang dengan kadar etanol 5,0675%. Dari hasil penelitian Jhonprimen dkk., 2012 [32], diketahui kadar etanol tertinggi yang dihasilkan adalah pada variabel berat ragi 10 gram dan pada jenis ragi tape dengan kadar etanol 24,01%. Sedangkan menurut Retno dkk., 2011 [28], kadar etanol tertinggi terdapat pada penambahan ragi sebanyak 0,0624 gram dari bahan baku kulit pisang kepok yaitu 13,5353%. Nasrun dkk., 2015 [30] juga melaporkan bahwa volume etanol tertinggi pada penambahan ragi roti sebanyak 15 gram pada bahan baku kulit pepaya dengan volume 31,17 ml. Pada jenis ragi, starter ragi tape merupakan populasi campuran dari genus *Aspergillus*, *Saccharomyces*, *Candida*, dan *Hansemula*, serta *Acetobacter*. Genus – genus ini saling berkesinambungan, dimana *Aspergillus* dapat menyederhanakan gula, *Saccharomyces*, *Candida*, dan *Hansemula* dapat menguraikan gula menjadi alkohol. Sedangkan *Acetobacter* menguraikan alkohol menjadi asam asetat, sehingga hasilnya kurang maksimal. Sedangkan untuk konsentrasi ragi, semakin banyak ragi yang ditambahkan maka kadar etanol yang dihasilkan juga semakin besar karena dengan semakin banyak ragi yang ditambahkan, maka bakteri yang mengurai glukosa menjadi etanol pun semakin banyak. Tetapi pada penambahan ragi yang lebih lanjut cenderung turun, karena disebabkan adanya ragi yang mati pada saat proses fermentasi berlangsung. Pada ragi tape hal ini ditandai dengan ditemukannya serbuk putih kekuningan pada hasil akhir fermentasi sehingga mikroba yang berperan dalam fermentasi ini pun menjadi kurang maksimal [20]. Konsentrasi ragi yang biasa digunakan pada produksi bioetanol adalah 5-10% (w/v) [25].

#### e) Konsentrasi glukosa

Konsentrasi gula awal telah dianggap sebagai faktor penting dalam produksi etanol. Konsentrasi gula awal berpengaruh pada tinggi rendahnya perolehan dan produktivitas etanol [25]. Menurut Singh dkk., 2013 [33], konsentrasi glukosa

awal optimum yaitu 50 g/l dari bahan baku sekam padi dengan perolehan etanol dan efisiensi konversi gula masing – masing 0,40 g/g dan 78,4%. Sedangkan menurut Lin dkk., 2012 [27], konversi glukosa tertinggi terdapat pada konsentrasi 40 kg/m<sup>3</sup> yaitu 59,9% jika pH tidak dikontrol. Namun, pada saat pH dijaga pada 4, konsentrasi glukosa awal optimum terdapat pada 160 kg/m<sup>3</sup> dengan perolehan fermentasi etanol 99,8%. Konsentrasi glukosa yang terlalu rendah mengakibatkan ragi kekurangan makanan dan produktivitas menurun. Sedangkan konsentrasi glukosa yang tinggi akan menghasilkan perolehan etanol yang lebih besar, tetapi membutuhkan waktu yang lama [31]. Konsentrasi glukosa yang digunakan untuk mencapai laju maksimum produksi etanol biasanya sekitar 150 g/l [24].

f) Oksigen

*Saccharomyces cerevisiae* tumbuh dengan baik pada kondisi anaerob. Pada kondisi aerob, *Saccharomyces cerevisiae* menghidrolisis gula menjadi air dan karbondioksida, tetapi dalam keadaan anaerob gula akan diubah oleh *Saccharomyces cerevisiae* menjadi alkohol dan karbondioksida [34].

## 2.5 Khamir

Khamir atau yang sering disebut juga ragi atau yeast adalah mikroorganisme bersel tunggal, berbentuk bulat atau bulat telur atau bulat panjang membentuk pseudomisellium. Selain itu khamir atau ragi dapat diartikan sebagai jasad renik sejenis jamur yang berkembang biak dengan sangat cepat dan yang mampu mengubah pati dan gula menjadi karbondioksida dan alkohol[42].

a. Ragi Roti

Ragi roti merupakan kelompok khamir paling utama, dengan nama ilmiah *Saccharomyces cerevisiae* yang secara komersial banyak dimanfaatkan oleh manusia. Ragi roti bermanfaat dan mempunyai nilai ekonomis karena dapat mengubah atau mengkonversi gula dalam proses fermentasi alkohol dan karbondioksida. Ragi roti selain murah juga mudah diperoleh dan tahan lama sehingga cukup ekonomis bila digunakan dalam fermentasi alkohol. Beberapa faktor yang mempengaruhi pertumbuhan khamir, diantaranya adalah alkohol, gula, karbon dioksida dan tekanan udara, oksigen, asam asetat, asam organik dan pH, komponen bernitrogen, faktor pertumbuhan, tanin, partikel tak terlarut, logam

serta suhu. Kadar alkohol yang dapat dihasilkan selama fermentasi berkisar antara 0 - 19%. Pada kadar yang tinggi alkohol dapat menghambat fermentasi karena mempercepat kerusakan sel khamir, sehingga mempengaruhi jumlah maksimum alkohol yang terbentuk. Umumnya fermentasi alkohol sudah terhambat pada kadar alkohol 18%. Pada umumnya hampir semua galur *Saccharomyces* dapat memfermentasi glukosa, maltosa, fruktosa, sukrosa dan galaktosa sedangkan rafinosa hanya sebagian saja yang dapat difermentasi [42].

#### b. Ragi Tape

Ragi tape adalah starter tradisional yang terdapat di Indonesia, digunakan untuk fermentasi substrat yang kaya akan pati, seperti singkong dan beras ketan menjadi tape, brem cair dan brem padat. Ragi tape adalah inokulum padat yang mengandung mikroba seperti kapang, khamir, bakteri yang berfungsi sebagai starter fermentasi [43]. Jenis mikroorganisme yang terdapat ragi tape terdiri dari jenis kapang antara lain adalah genus *Acetobacter*, *Rhizofus orizae*, *R stolonifer*, *Aspergillus orizae*, *A niger*, *Mucor cornoloides*, *M javanicus*, *M rouxii*, *M dubois*, *Fusarium sp* dan *Amylomyces rouxii*, dan dari jenis khamir antara lain *Sacharomyces cereviceae*, *candida parapsilosis*, *C mycoderma*, *Hansenula suppeliculosa*, *H amonola*, *Endomycopsis chodato* dan *E fibuinger* (Saono 1974). Di dalam ragi tape yang banyak berperan merubah karbohidrat yang terkandung dalam bahan pakan menjadi gula adalah *A niger*, sedangkan yang banyak berperan mengubah gula menjadi alkohol adalah *S cereviceae* [44].

## 2.6 Sejarah Penelitian Bioetanol dari Bahan Lignoselulosa

Penelitian bioetanol dari bahan lignoselulosa sudah dilakukan oleh berbagai kalangan. Beberapa penelitian mengenai bioetanol yang sudah dilakukan dirangkum dalam Tabel 2.4

Penelitian yang dilakukan oleh Suri dkk., (2013) memperoleh hasil kadar etanol tertinggi yaitu 7,3922% menggunakan metode oksidasi kalium dikromat. Penelitian ini menggunakan Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS) sebagai bahan baku dengan kandungan selulosanya sebesar 45%. Langkah-langkah yang dilakukan meliputi *pretreatment* dengan NaOH, hidrolisis asam dengan HCl 30%, kemudian dilanjutkan dengan fermentasi. Pada proses hidrolisis peneliti

menggunakan asam pekat sehingga temperatur yang yang dibutuhkan tidak terlalu tinggi. Namun, hidrolisis ini membutuhkan bahan pemulihan asam yang besar dan menyebabkan alat-alat mudah terkena korosi. Proses fermentasi menggunakan variasi waktu 2,4, dan 6 hari dengan penambahan ragi roti sebanyak 6 gram. Dari hasil penelitian didapatkan kadar etanol paling tinggi diperoleh pada fermentasi 6 hari dengan kadar 7,3922% [36].

Dalam penelitian yang dilakukan Novia dkk., (2012) memperoleh bioetanol tertinggi sebesar 2,75% (v/v) dari bahan baku TKKS yang dianalisa menggunakan gas kromatografi. Peneliti menggunakan variasi konsentrasi basa dan waktu pada *pretreatment*. Variasi konsentrasi asam yang digunakan yaitu 1%, 1,5%, 2%, dan 2,5%, sedangkan variasi lama delignifikasi yaitu 60, 90, 120, dan 150 menit. Hidrolisis yang digunakan pada penelitian ini yaitu hidrolisis enzim selama 6 hari pada temperatur 30°C. Hidrolisis enzim memiliki keuntungan dibandingkan hidrolisis asam, antara lain gula tidak terdegradasi, temperatur yang dibutuhkan lebih rendah, dan biaya peneliharaan alat yang relatif rendah. Namun hidrolisis ini membutuhkan waktu yang lama dan juga harga enzim yang yang lebih mahal daripada harga asam. Setelah proses hidrolisis, kemudian dilanjutkan fermentasi selama 5 hari pada temperatur 30°C. Kadar bioetanol tertinggi diperoleh pada proses delignifikasi dengan konsentrasi NaOH 2,5% selama 150 menit [37].

Dalam penelitian yang dilakukan Novianti dkk., (2013) diperoleh bioetanol tertinggi dengan kadar 7% dari bahan baku limbah serbuk gergaji. Pada proses hidrolisis, peneliti menggunakan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dengan konsentrasi 50% dengan variasi volume dan waktu hidrolisis. Hidrolisis ini hanya memerlukan temperatur ruangan atau moderat, namun akan memerlukan bahan untuk pemulihan asam yang banyak karena konsentrasi asam yang tinggi dan alat-alat akan mudah korosi. Rasio asam sulfat terhadap serbuk gergaji pada proses hidrolisis bervariasi, yaitu 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1, 9:1, dan 10:1 (v/b). Adapun variasi waktu hidrolisis yaitu 0,5 jam, 1 jam, 1,5 jam, 2 jam, dan 2,5 jam.

Tabel 2.5 Sejarah Penelitian Bioetanol dari Bahan Berkayu dengan Proses Fermentasi

No	Peneliti	Bahan Baku	Proses	Perolehan etanol	Kelebihan	Kekurangan
1.	Suri dkk., 2013	Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS)	Hidrolisis HCl 30% dilanjutkan fermentasi menggunakan ragi roti selama 6 hari	7,39%	Hidrolisis dengan asam pekat membutuhkan temperatur moderat	<ul style="list-style-type: none"> <li>Membutuhkan bahan untuk pemulihan asam yang besar</li> <li>Alat lebih mudah terkena korosi</li> </ul>
2.	Novia dkk., 2012	Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS)	Hidrolisis enzim dilanjutkan fermentasi menggunakan <i>S. cerevisiae</i> 10% (v/v) selama 5 hari	2,75%	<ul style="list-style-type: none"> <li>Hidrolisis enzim membutuhkan kondisi temperatur yang rendah</li> <li>Perolehan glukosa tinggi</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Harga enzim mahal</li> <li>Membutuhkan waktu hidrolisis yang cukup lama.</li> </ul>
3.	Novianti dkk., 2013	Limbah serbuk gergaji	Hidrolisis H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 50% dilanjutkan fermentasi menggunakan sel ragi imobil berulang selama 3 hari	7%	<ul style="list-style-type: none"> <li>Hidrolisis asam pekat menyebabkan pembentukan gula berjalan cepat dan membutuhkan temperatur yang rendah</li> <li>Sel ragi imobil mudah dipisahkan dari produk dan dapat digunakan pada proses fermentasi secara berulang</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Membutuhkan bahan untuk pemulihan asam yang besar</li> <li>Alat lebih mudah terkena korosi</li> </ul>
4.	Kristina dkk., 2012	Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS)	Simultan Sakarifikasi dan Fermentasi (SSF) selama 5 hari	4,37%	Waktu dalam produksi bioetanol lebih singkat	Temperatur optimum pada proses hidrolisis dan fermentasi berbeda, menyebabkan kinerja ragi dan hasil etanol kurang maksimal

Pada proses fermentasi, peneliti menggunakan ragi roti sebagai sel imobilisasi dan bahan pengimobilisasinya yaitu larutan alginat 2%. Larutan alginat dicampur dengan suspensi ragi roti lalu dimasukkan dalam injektor. Kemudian dimasukkan kalsium klorida 1M sambil diaduk, setelah itu digunakan pada proses fermentasi selama 72 jam. Keuntungan menggunakan sel ragi imobil yaitu sel imobil mudah dipisahkan dari produk dan dapat digunakan pada proses fermentasi secara berulang. Pada penelitian ini sel imobil digunakan untuk empat kali fermentasi. Pada penggunaan pertama menghasilkan alkohol dengan kadar 7%, kemudian menurun menjadi 5%, 1% dan 0% pada penggunaan berulang berturut-turut 2 kali, 3 kali dan 4 kali. Berdasarkan hal itu, maka peneliti menyimpulkan bahwa ragi imobil hanya dapat digunakan dua kali saja. Kadar gula tertinggi diperoleh pada hidrolisis asam dengan rasio 8:1 (v/b) selama 2 jam dengan kadar 43,52% dan kadar bioetanol tertinggi setelah fermentasi sebesar 7% [38].

Penelitian yang dilakukan oleh Kristina dkk., (2012) diperoleh hasil bioetanol sebesar 4,37% dari bahan baku TKKS. Langkah-langkah penelitian yang dilakukan yaitu *pretreatment* dengan NaOH dilanjutkan dengan simultan sakarifikasi dan fermentasi (SSF). Pada proses *pretreatment* peneliti menggunakan variasi konsentrasi NaOH dan lama *pretreatment*. Konsentrasi NaOH yang digunakan yaitu 1%, 1,5%, 2%, 2,5%, dan 3%, sedangkan variasi lama waktu *pretreatment* yaitu 30, 45, 60, 75, dan 90 menit pada temperatur 121°C. Kemudian dilanjutkan proses simultan sakarifikasi dan fermentasi. Pada proses SSF ditambahkan enzim sebanyak 10 ml untuk proses hidrolisis dan ditutup rapat. Selanjutnya erlenmeyer diletakkan pada *rotary shaker* dengan kecepatan 170 rpm selama 24 jam. Setelah itu ditambahkan *Saccaromyces cerevisiae* sebanyak 4 gram diaduk pada 150 rpm sampai homogen. Fermentasi dimulai dengan adanya penambahan ragi ini. Erlenmeyer ditutup dengan penutup yang dilengkapi dengan selang karet yang ujung selang dimasukkan ke dalam air agar tidak terjadi kontak dengan udara. Sakarifikasi dan fermentasi dilanjutkan selama 5 hari. Proses SSF menggabungkan proses hidrolisis dan fermentasi menjadi satu, sehingga memerlukan waktu yang lebih singkat. Namun,

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di laboratorium Universitas Muhammadiyah Jakarta (UMJ) Fakultas Teknik, Cempaka Putih, Jakarta Pusat. Penelitian dilaksanakan pada bulan Juli-Agustus 2017.

#### 3.2 Peralatan dan Bahan

##### 3.2.1 Alat-alat

Alat-alat yang digunakan untuk melakukan penelitian ini, antara lain:

- |                     |                             |
|---------------------|-----------------------------|
| 1. gelas ukur       | 13. neraca digital          |
| 2. erlenmeyer       | 14. tutup karet             |
| 3. batang pengaduk  | 15. alumunium foil          |
| 4. kertas saring    | 16. oven                    |
| 5. <i>autoclave</i> | 17. corong                  |
| 6. termometer       | 18. selang                  |
| 7. <i>heater</i>    | 19. statif dan klem         |
| 8. beaker gelas     | 20. tabung reaksi           |
| 9. pipet            | 21. penjepit tabung reaksi  |
| 10. labu distilasi  | 22. <i>waterbath</i>        |
| 11. kondensor       | 23. lem dlukol (lem kertas) |
| 12. pH meter        | 24. piknometer              |

##### 3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang akan digunakan untuk melakukan penelitian ini, yaitu:

- |   |                     |
|---|---------------------|
| 1. serbuk kayu                            | 5. larutan Benedict |
| 2. larutan H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | 6. ragi tape        |
| 3. NaOH 48%                               | 7. ragi roti        |
| 4. aquadest                               |                     |

### 3.3 Variabel yang Diteliti

Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi dalam proses hidrolisis yaitu temperatur, konsentrasi  $H_2SO_4$ , dan waktu. Sedangkan faktor yang mempengaruhi dalam proses fermentasi yaitu temperatur, pH, agitasi, massa ragi, jenis ragi, konsentrasi glukosa, oksigen, dan waktu. Tetapi karena terbatasnya waktu dan biaya, hanya beberapa variabel saja yang diteliti berdasarkan faktor-faktor tersebut. Variabel tersebut disajikan pada Tabel 3.1.

**Tabel 3.1 Variabel yang Diteliti**

Variabel Proses Hidrolisis	Variabel Proses Fermentasi
Konsentrasi $H_2SO_4$	Jenis ragi
Temperatur	Waktu

Setelah menentukan variabel, maka dapat dibuat matriks penelitian yang akan digunakan untuk pembuatan bioetanol dari serbuk kayu melalui hidrolisis  $H_2SO_4$  dan fermentasi pada penelitian ini. Adapun matriks penelitian tersebut dapat dilihat pada Tabel 3.2.

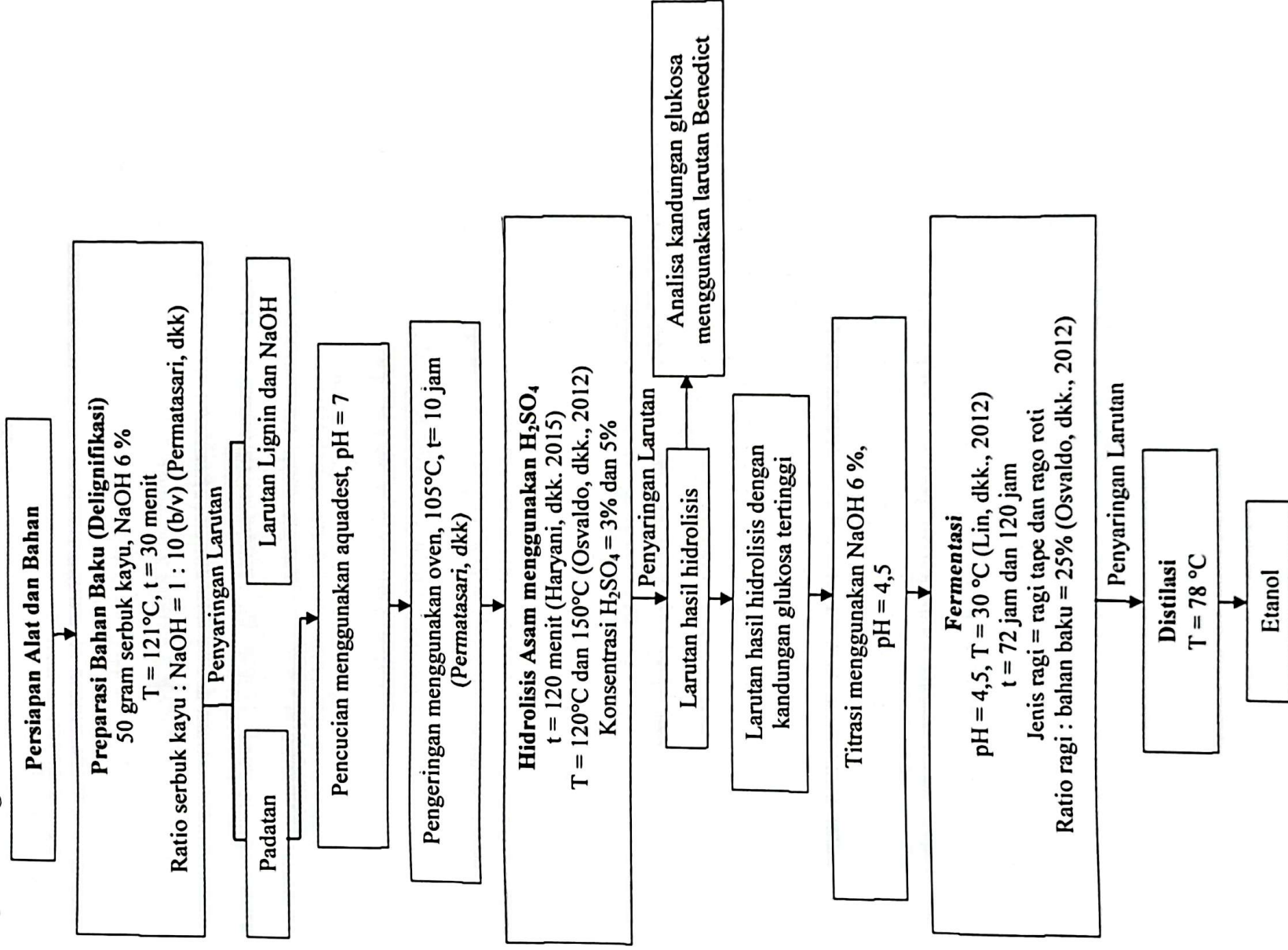
**Tabel 3.2 Matriks Penelitian**

Hidrolisis		Sampel
Temperatur	Konsentrasi asam	
120°C	3%	1
	5%	2
150°C	3%	3
	5%	4

Fermentasi		Sampel
Jenis ragi	Waktu	
Ragi tape	3 hari	1
	5 hari	2
Ragi roti	3 hari	3
	5 hari	4

### 3.4 Langkah-Langkah Eksperimen



Gambar 3.1 Tahapan Penelitian Pembuatan Bioetanol dari Serbuk Kayu

### 3.5 Prosedur Penelitian

#### 3.5.1 Delignifikasi Serbuk Kayu

Timbang 50 gram serbuk kayu dan masukan ke dalam erlenmeyer yang berukuran 1000 ml. Lalu tambahkan NaOH 6% sebanyak 500 mL ke dalam erlenmeyer yang sudah berisi serbuk kayu dengan perbandingan ratio (w/v) serbuk kayu: NaOH = 1 : 10. Campuran tersebut kemudian diaduk sampai merata. Selanjutnya, sampel yang berada di erlenmeyer dipanaskan dalam oven pada temperatur 121°C selama 30 menit. Setelah 30 menit, sampel didinginkan hingga mencapai temperatur ruangan. Sampel yang sudah dingin kemudian disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan serbuk kayu dengan larutan NaOH. Serbuk kayu yang telah terpisah dibilas dengan aquadest hingga pH 7 (netral). Setelah dinetralkan, serbuk kayu kemudian dikeringkan di dalam oven pada temperatur 105°C selama 10 jam.

#### 3.5.2 Proses Hidrolisis Asam

50 gram serbuk kayu yang sudah di delignifikasi, dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang berukuran 1000 ml. Lalu tambahkan larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dengan variasi konsentrasi asam H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> sebesar 3% dan 5%. Setiap campuran kemudian diaduk sampai rata. Campuran tersebut kemudian dihidrolisis di dalam oven dengan variasi temperatur 120°C dan 150°C. Proses hidrolisis dilakukan selama 120 menit. Setelah 120 menit, sampel didinginkan hingga mencapai temperatur ruangan. Sampel yang sudah dingin kemudian disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan serbuk kayu dengan larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Setelah disaring, larutan hasil hidrolisis di uji kandungan glukosanya dengan menggunakan larutan Benedict. Larutan hasil hidrolisis yang bersifat asam diatur pH-nya menjadi 4,5 yang diukur dengan pH-meter. Pengaturan pH dilakukan dengan menambahkan NaOH 6% hingga pH larutan hasil hidrolisis menjadi 4,5. Hidrolisat tersebut kemudian didinginkan hingga mencapai temperatur ruangan.

#### 3.5.3 Proses Fermentasi

Sebelum dilakukan proses fermentasi, erlenmeyer berukuran 1000 ml yang digunakan dalam proses fermentasi terlebih dahulu disterilisasi dalam *autoclave*

pada temperatur 121°C selama 15 menit. Sterilisasi dilakukan agar tidak ada mikroba lain karena kesterilan akan mempengaruhi proses fermentasi. Setelah 15 menit, dinginkan erlenmeyer tersebut hingga mencapai temperatur ruangan. Setelah itu, larutan hasil hidrolisis yang sudah diatur pH-nya menjadi 4,5 dimasukkan kedalam erlenmeyer yang sudah di sterilisasi. Timbang ragi tape dan ragi roti sebanyak 12,5 gram (ratio ragi : bahan baku = 25%). Masukkan ragi tersebut pada tiap-tiap sampel hasil hidrolisis. Aduk campuran tersebut hingga rata. Kemudian tutup erlenmeyer dengan menggunakan alumunium foil supaya tidak ada kontaminan yang mengganggu fermentasi. Fermentasi dilakukan pada temperatur 30°C dengan variasi waktu (72 jam dan 120 jam).

#### 3.5.4 Proses Distilasi

Merangkai peralatan distilasi dengan benar. Hasil fermentasi disaring terlebih dahulu agar larutan hasil fermentasi terpisah dari kotoran. Kemudian hasil fermentasi yang telah disaring menggunakan kertas saring dimasukkan kedalam labu distilasi. Tutup labu distilasi dengan menggunakan tutup karet yang sudah diolesi dengan lem dlukol agar tidak ada celah antara tutup karet dan labu distilasi. Kemudian hubungkan labu distilasi tersebut dengan kondensor. Nyalakan *heater* dan panaskan labu distilasi yang berisi cairan hasil fermentasi hingga mencapai temperatur 78°C. Temperatur dijaga 78°C sehingga etanol akan menguap. Etanol yang menguap dikondensasikan sehingga menjadi cair, sedangkan air tertinggal dalam labu distilasi. Proses distilasi dilakukan sampai etanol tidak menetes lagi.

#### 3.6 Analisa Kandungan Glukosa

Analisa kandungan glukosa dilakukan dengan menggunakan larutan Benedict. Siapkan alat-alat yang digunakan untuk melakukan analisa kandungan glukosa. Panaskan *waterbath* hingga air didalam *waterbath* mendidih. Ambilah 8 tetes larutan hasil hidrolisis yang sudah disaring dan masukkan ke dalam tabung reaksi yang sudah diberi label sesuai dengan variabel yang sudah ditetapkan. Kemudian tambahkan 5 ml larutan Benedict ke dalam masing-masing tabung reaksi yang telah berisi larutan hasil hidrolisis. Panaskan tabung reaksi yang berisi

campuran tersebut ke dalam *waterbath* setelah air yang berada didalam *waterbath* mendidih. Tunggu selama 3 menit dan campuran larutan tersebut akan berubah warna menjadi warna merah bata. Larutan yang mengandung banyak glukosanya akan berubah menjadi warna seperti warna merah bata. Analisa kandungan glukosa hanya dilakukan secara kualitatif. Analisa kualitatif dilakukan karena lebih praktis, waktu untuk menganalisa lebih singkat, dan harga larutan Benedict lebih murah dibandingkan dengan harga larutan yang lainnya.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Hasil Hidrolisis

Penelitian ini dilakukan dengan memvariasikan konsentrasi  $H_2SO_4$  dan temperatur yang digunakan pada proses hidrolisis. Variasi konsentrasi  $H_2SO_4$  dan temperatur dilakukan untuk mengetahui konsentrasi  $H_2SO_4$  dan temperatur yang optimum dalam menghasilkan kandungan glukosa paling besar secara kualitatif.

##### 4.1.1 Pengaruh Konsentrasi $H_2SO_4$ dan Temperatur terhadap Kandungan Glukosa pada Hidrolisis Serbuk Kayu

Produk hasil hidrolisis serbuk kayu berupa larutan yang mengandung glukosa. Larutan hasil hidrolisis yang didapatkan pada sampel 1 hingga sampel 4 berturut-turut yaitu 365 ml, 370 ml, 360 ml, dan 365 ml. Larutan yang mempunyai warna lebih pekat merupakan larutan yang mengandung lebih banyak glukosa. Produk hasil hidrolisis serbuk kayu ditampilkan pada Gambar 4.1.



**Gambar 4.1** Hasil Hidrolisis Serbuk Kayu

Variasi konsentrasi  $H_2SO_4$  yang digunakan yaitu 3% dan 5%. Dari Gambar 4.1, terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi  $H_2SO_4$  akan semakin pekat warna larutan hasil hidrolisis dan larutan yang memiliki warna paling pekat didapatkan pada konsentrasi 5%. Hal ini sesuai teori bahwa semakin tinggi konsentrasi asam, maka kandungan glukosa yang dihasilkan akan mengalami

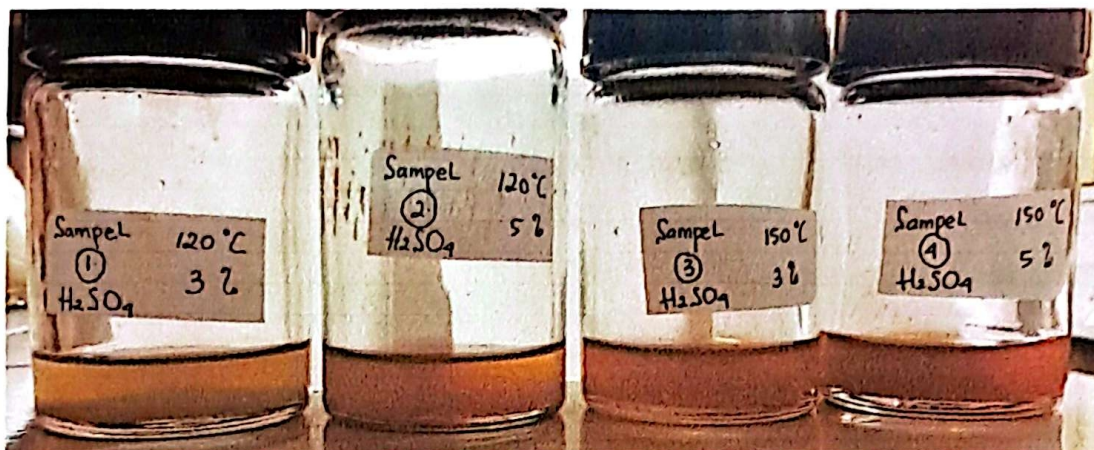
kenaikan. Namun kandungan glukosa akan mengalami penurunan setelah mencapai titik optimumnya. Setelah mencapai titik optimum akan terjadi penurunan kandungan gula yang diperoleh hal ini dikarenakan konsentrasi katalis yang digunakan telah mencapai titik optimum terjadinya proses hidrolisis [41]. Pada konsentrasi asam yang terlalu tinggi akan menyebabkan kandungan selulosa dan hemiselulosa lebih mudah terdegradasi menjadi senyawa lainnya seperti furfural, 5-hidroksimetilfurfural (HMF), asam levulinat, asam asetat, asam formiat, formaldehid, dan lain-lain [21].

Pada proses hidrolisis, asam digunakan sebagai katalisator untuk mempercepat reaksi. Pada penelitian ini digunakan  $H_2SO_4$  sebagai katalisator pada proses hidrolisis.  $H_2SO_4$  akan bereaksi membentuk gugus  $H^+$  dan  $SO_4^-$ . Gugus  $H^+$  memecah ikatan glikosidik pada selulosa maupun hemiselulosa, sehingga akan terbentuk monomer-monomer gula sederhana. Monomer yang dihasilkan masih dalam gugus radikal bebas, tapi dengan adanya  $OH^-$  dari air akan berikatan dengan gugus radikal membentuk gugus glukosa. Pada proses ini air berfungsi sebagai penstabil gugus radikal bebas [35]. Pada penelitian ini konsentrasi asam optimum dalam menghasilkan kandungan glukosa terbesar yaitu pada konsentrasi  $H_2SO_4$  5%.

Variasi temperatur yang digunakan pada penelitian ini yaitu  $120^\circ C$  dan  $150^\circ C$ . Larutan yang memiliki warna lebih pekat didapatkan pada temperatur  $150^\circ C$ . Ini menunjukkan bahwa kandungan glukosa meningkat seiring bertambahnya waktu hidrolisis, sehingga waktu kontak yang terjadi juga bertambah dan jumlah selulosa yang akan dikonversi menjadi glukosa juga bertambah. Temperatur sangat berpengaruh pada proses hidrolisis karena temperatur berhubungan dengan laju reaksi. Pengaruh temperatur terhadap kecepatan hidrolisis selulosa mengikuti persamaan Arrhenius yaitu semakin tinggi temperaturnya akan diperoleh konversi yang cukup berarti, karena semakin tinggi temperatur maka gerakan molekul akan semakin cepat sehingga reaksi hidrolisis berjalan semakin cepat. Tetapi jika temperatur terlalu tinggi konversi yang diperoleh akan menurun. Hal ini dikarenakan kandungan gula pada larutan hidrolisis telah mencapai titik optimumnya [19].

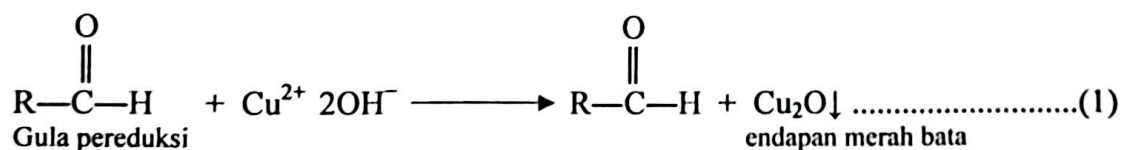
### 4.1.2 Uji Benedict

Berdasarkan percobaan uji Benedict yang telah dilakukan, didapatkan hasil pengamatan yang ditampilkan pada gambar 4.2.



**Gambar 4.2** Hasil Uji Benedict dari Hidrolisis Serbuk Kayu

Dari gambar 4.2, terlihat bahwa sampel yang memiliki gula pereduksi yang paling banyak terdapat pada sampel 4 dengan temperatur 150°C dan konsentrasi  $\text{H}_2\text{SO}_4$  5%. Pada prinsipnya, uji Benedict digunakan untuk mengidentifikasi karbohidrat melalui reaksi gula pereduksi. Larutan alkali dari tembaga direduksi oleh gula yang mengandung gugus aldehida atau keton bebas, dengan membentuk kupro oksida berwarna. Larutan Benedict mengandung kupri sulfat, natrium karbonat, dan natrium sitrat. Reaksi reduksi uji benedict dapat dilihat pada persamaan berikut:



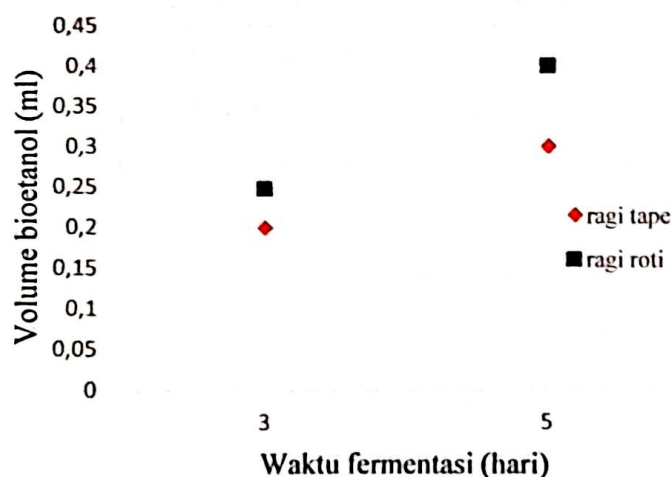
Uji Benedict dilakukan pada suasana basa yang menyebabkan terjadinya transformasi isomerik. Pada suasana basa, reduksi ion  $\text{Cu}^{2+}$  dari  $\text{CuSO}_4$  oleh gula pereduksi akan berlangsung dengan cepat dan membentuk  $\text{Cu}_2\text{O}$  yang merupakan endapan merah bata. Pereaksi Benedict terdiri dari logam Cu dan larutan basa kuat [24].

## 4.2 Hasil Fermentasi

Penelitian ini dilakukan dengan memvariasikan antara jenis ragi dan lama waktu pada proses fermentasi. Variasi jenis ragi dan lama waktu fermentasi dilakukan untuk mengetahui jenis ragi dan lama waktu fermentasi optimum dalam menghasilkan volume bioetanol tertinggi.

### 4.2.1 Pengaruh Jenis Ragi dan Waktu terhadap Volume Etanol Hasil Fermentasi Glukosa dari Serbuk Kayu

Proses fermentasi dilakukan dengan menggunakan hasil dari proses hidrolisis yang menghasilkan kandungan glukosa terbesar, yaitu pada konsentrasi asam 5% dan temperatur 150°C. Pada proses fermentasi, glukosa akan diuraikan menjadi etanol oleh mikroorganisme yang terdapat pada ragi. Pertumbuhan mikroorganisme pada proses fermentasi dipengaruhi oleh waktu fermentasi. Penelitian ini dilakukan dengan memvariasikan jenis ragi dan lama waktu pada proses fermentasi. Variasi jenis ragi yang digunakan yaitu ragi roti dan ragi tape sedangkan variasi lama waktu fermentasi pada penelitian ini yaitu 3 hari dan 5 hari. Adapun volume bioetanol yang didapatkan ditampilkan pada Gambar 4.3



**Gambar 4.3** Volume Bioetanol pada Variasi Jenis Ragi dan Waktu Fermentasi

Dari Gambar 4.3 terlihat bahwa ragi roti lebih unggul dari pada ragi tape. Dari rentang 3 hingga 5 hari, ragi roti menghasilkan volume etanol yang lebih tinggi daripada ragi tape. Ini disebabkan karena ragi roti merupakan khamir jenis *Saccharomyces cerevisiae* yang telah diseleksi sebelumnya untuk tujuan komersil.

*Saccharomyces cerevisiae* yang dipilih adalah *Saccharomyces cerevisiae* yang memiliki kemampuan memfermentasi gula dengan baik di dalam adonan dan dapat tumbuh dengan cepat. Sehingga bioetanol hasil fermentasi menggunakan ragi roti lebih optimal. Sedangkan ragi tape kurang optimal, hal tersebut disebabkan ragi tape merupakan populasi campuran dari genus *Aspergillus*, *Saccharomyces*, *Candida*, dan *Hansemula*, serta *Acetobacter*. Genus-genus ini saling berkesinambungan, dimana *Aspergillus* dapat menyederhanakan gula, *Saccharomyces*, *Candida*, dan *Hansemula* dapat menguraikan gula menjadi alkohol. Sedangkan *Acetobacter* menguraikan alkohol menjadi asam asetat [40]. Jadi ketika gula telah menjadi etanol, *Acetobacter* dalam ragi tape akan mengubahnya menjadi asam asetat. Volume bioetanol tertinggi diperoleh pada penambahan ragi roti dengan volume bioetanol 0,4 ml.

Pada proses fermentasi, jumlah mikroorganisme dipengaruhi oleh lama waktu fermentasi. Pada Gambar 4.4 terlihat bahwa volume bioetanol meningkat seiring dengan bertambahnya lama fermentasi. Volume bioetanol pada hari ke-5 lebih besar daripada hari ke-3 pada semua jenis ragi. Pada waktu fermentasi 3 hari, volume bioetanol yang didapatkan pada jenis ragi roti yaitu sebesar 0,25 ml sedangkan pada ragi tape sebesar 0,2 ml. Sedangkan pada waktu fermentasi 5 hari, volume bioetanol yang diperoleh pada jenis ragi roti sebesar 0,4 ml dan pada jenis ragi tape yaitu 0,3 ml. Dapat disimpulkan bahwa semakin lama waktu fermentasi, maka volume bioetanol akan mengalami kenaikan. Kenaikan volume bioetanol ini terjadi karena lama waktu fermentasi berhubungan erat dengan kurva pertumbuhan mikroorganisme. Pertumbuhan mikroorganisme terjadi dari enam fase, yaitu fase adaptasi, fase permulaan pembiakan, fase pembiakan cepat, fase konstan atau stasioner dan fase terakhir adalah fase kematian [33]. Pada fermentasi 3 hari kemungkinan pertumbuhan mikroorganisme masih pada fase permulaan pembiakan, sehingga volume bioetanol yang didapatkan belum maksimal. Sedangkan pada fermentasi 5 hari kemungkinan pertumbuhan mikroorganisme pada fase pembiakan cepat sehingga aktivitas mikroorganisme telah optimal dalam mengubah glukosa menjadi bioetanol. Namun volume bioetanol akan mengalami penurunan setelah melewati waktu optimumnya. Hal

ini disebabkan karena pertumbuhan mikroorganisme telah memasuki fase kematian.

Volume bioetanol yang dihasilkan pada penelitian ini sangat sedikit. Hal ini dikarenakan pada proses hidrolisis seharusnya larutan hasil hidrolisis dengan bubur serbuk kayu tidak disaring. Hal ini menyebabkan glukosa pada hasil hidrolisis berkurang sehingga etanol yang dihasilkan juga berkurang. Selain itu, *heater* yang digunakan pada tahap distilasi juga terlalu kecil sehingga kurang menutup seluruh larutan pada labu distilasi. Hal ini menyebabkan pemanasan larutan pada labu distilasi tidak merata yang berpengaruh pada volume etanol sedikit. Pada penelitian ini, jenis ragi dan waktu fermentasi optimum untuk memperoleh bioetanol tertinggi yaitu pada jenis ragi roti dan pada waktu fermentasi 5 hari dengan volume bioetanol yang dihasilkan 0,4 ml.

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Serbuk kayu meranti kuning dari industri mebel dapat menghasilkan bioetanol melalui beberapa tahapan, yaitu delignifikasi, hidrolisis asam sulfat, fermentasi, dan distilasi.
2. Pengaruh konsentrasi  $H_2SO_4$  dan temperatur pada proses hidrolisis terhadap kandungan glukosa yaitu:
  - Semakin besar konsentrasi  $H_2SO_4$  pada proses hidrolisis maka kandungan glukosa yang dihasilkan semakin besar.
  - Temperatur berpengaruh pada kecepatan hidrolisis, semakin tinggi temperatur hidrolisis, maka reaksi akan berlangsung lebih cepat. Hal ini disebabkan konstanta laju reaksi meningkat dengan meningkatnya temperatur hidrolisis.
  - Didapatkan konsentrasi  $H_2SO_4$  dan temperatur terbaik pada proses hidrolisis dalam pembuatan bioetanol dari serbuk kayu meranti kuning adalah pada konsentras  $H_2SO_4$  5% dan temperatur 150°C.
3. Pengaruh jenis ragi dan lama waktu pada proses fermentasi terhadap volume bioetanol yaitu:
  - Jenis ragi berpengaruh terhadap volume bioetanol hasil fermentasi. Proses fermentasi menggunakan ragi roti menghasilkan volume bioetanol lebih besar dari pada ragi tape.
  - Semakin lama waktu fermentasi maka volume bioetanol yang dihasilkan dari proses fermentasi semakin besar. Volume bioetanol pada fermentasi 5 hari menghasilkan bioetanol lebih besar dari pada fermentasi 3 hari dengan volume bioetanol 0,4 ml.

## 2.1.1.1.1.1

Die folgenden Punkte sind die wichtigsten Punkte der Arbeit.

- 1. Die ersten beiden Punkte sind die wichtigsten Punkte der Arbeit.
- 2. Die ersten beiden Punkte sind die wichtigsten Punkte der Arbeit.
- 3. Die ersten beiden Punkte sind die wichtigsten Punkte der Arbeit.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Ditjen MIGAS, “*Statistik Minyak dan Gas 2015*,” 2016.
2. BPPT, “*Outlook Energi Indonesia 2016*,” Pengembangan Energi untuk Mendukung Industri Hijau. Jakarta. Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi.
3. Zabed, H., Sahu, Z.N., Suely, A., Boyce, A.N., dan Faruq, G., “Bioethanol Production from Renewable Sources: Current Perspectives and Technological Progress,” *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2017.
4. Galbe M, Wallberg O, and Zacchi G., “Techno-Economic Aspects of Ethanol Production from Lignocellulosic Agricultural Crops and Residues,” 2011.
5. Quintero, J.A., Moncada, J., dan Cardona, C.A., “Techno-Economic Analysis of Bioethanol Production from Lignocellulosic Residues in Colombia: A Process Simulation Approach,” *Bioresource Technology*, 2013.
6. Iranmahboob, Jamshid., Nadim, Farhad., dan Monemi, Sharareh., “Optimizing Acid-Hydrolysis: A Critical Step for Production of Ethanol from Mixed Wood Chips,” *Biomass and Bioenergy*, 2002.
7. Taherzadeh, Mohammad J., dan Karimi, Keikhosro., “Acid-Based Hydrolysis Processes for Ethanol from Lignocellulosic Materials : A Review,” *Bio Resources*, 2007.
8. Pusat Data dan Informasi Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan, “*Statistik Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan 2015*,” 2016.
9. Pusat Penelitian dan Pengembangan Hasil Hutan (P3HH), “*A Handbook of Selected Indonesian Wood Species*,” 2008.
10. Amarasekara, Ananda S., “*Handbook of Cellulosic Ethanol*,” 2014.
11. Caballero, Benjamin., Finglas, Paul M., dan Toldra, Fidel., “*Encyclopedia of Food and Health*,” 2016.
12. Wong, Jonathan W.C., Tyagi, Rajeshwar D., dan Pandey, Ashok., “Current Developments in Biotechnology and Bioengineering,” 2017.

13. Gupta, Anubhuti., dan Verma, Jay Prakash., "Sustainable Bio-ethanol Production from Agro-residues: A review," *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2015.
14. Lide, David R., "CRC Handbook of Chemistry and Physics" 2008.
15. Fessenden dan Fessenden, "Kimia Organik Edisi," Edisi 3, Jilid 1.
16. Sun, Ye., dan Cheng, Jiayang., *Hydrolysis of Lignocellulosic Materials for Ethanol Production: A Review*, *Bioresource Technology*, 2002.
17. Mood, Sohrab Haghghi., Golfeshan, Amir Hossein., Tabatabaei, Meisam., Salehi Jouzani, Gholamreza., Najafi, Gholam Hassan., Gholami, Mehdi., Ardjmand, Mehdi., "Lignocellulosic Biomass to Bioethanol, a Comprehensive Review with A Focus on Pretreatment ," *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2013.
18. Zabed, H., Sahu, Z.N., Boyce, A.N., dan Faruq, G., "Fuel Ethanol Production from Lignocellulosic Biomass: An Overview on Feedstocks and Technological Approaches," *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2017.
19. Ni'mah, Lailan., Ardiyanto, Angga., dan Zainuddin, Muhammad., "Pembuatan Bioetanol dari Limbah Serat Kelapa Sawit melalui Proses Pretreatment, Hidrolisis Asam dan Fermentasi Menggunakan Ragi Tape," 2015.
20. Z. S, Osvaldo., Putra S, Panca., dan Faizal, M., "Pengaruh Konsentrasi Asam dan Waktu pada Proses Hidrolisis dan Fermentasi Pembuatan Bioetanol dari Alang-Alang," 2012.
21. Haryani, Nina., Novia., Syarif, Viesta Listuyeri., dan Ananda, Soraya Rizky., "Pengaruh Konsentrasi Asam dan Waktu Hidrolisis pada Pembentukan Bioetanol dari Daun Nanas," 2015.
22. Ramdja, Fuadi., Silalahi, Rimma Apriana., dan Sihombing, Novaria., "Pengaruh Waktu, Temperatur dan Dosis H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pada Hidrolisa Asam Terhadap Kadar Etanol Berbahan Baku Alang-Alang," 2010.

23. Sarkar, Nibedita., Ghosh, Sumanta Kumar., Bannerjee, Satarupa., dan Aikat, Kaustav., "Bioethanol Production from Agricultural Wastes: An Overview," *Renewable Energy*, 2012.
24. Bintang, Maria., "Biokimia Teknik Penelitian," Erlangga. Jakarta
25. Azhar, Siti Hajar Mohd., Abdulla, Rahmath., Jambo, Siti Azmah., Marbawi, Hartinie., Gansau, Jualang Azlan., Faik, Ainol Azifa Mohd., Rodrigues, Kenneth Francis., "Yeasts in Sustainable Bioethanol Production: A Review," *Biochemistry and Biophysics Reports*, 2017.
26. Nair, R.B., Lennartsson, P.R., Taherzadeh, M.J., "Bioethanol Production From Agricultural and Municipal Wastes," 2017.
27. Lin, Yan., Zhang, Wei., Li, Chunjie., Sakakibara, Kei., Tanaka, Shuzo., dan Kong, Hainan., "Factors Affecting Ethanol Fermentation Using *Saccharomyces cerevisiae* BY4742," *Biomass and Bioenergy*, 2012.
28. Retno, Dyah Tri., dan Nuri, Wasir., "Pembuatan Bioetanol dari Kulit Pisang," *Pengembangan Teknologi Kimia untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia*, 2011.
29. Novial., Faizal, Muhammad., Ariko, Meilinda Fitriani., Yogamina, Daru Hw., "Hidrolisis Enzimatis dan Fermentasi TKKS yang Didelignifikasi dengan Asam Sulfat dan NAOH untuk Memproduksi Etanol," 2011.
30. Nasrun., Jalaluddin., dan Mahfudhdah., "Pengaruh Jumlah Ragi dan Waktu Fermentasi terhadap Kadar Bioetanol yang Dihasilkan dari Fermentasi Kulit Pepaya," *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*, 2015.
31. Liu, Ronghou., dan Shen, Fei., "Impacts of Main Factors on Bioethanol Fermentation from Stalk Juice of Sweet Sorghum by Immobilized *Saccharomyces cerevisiae* (CICC 1308)," *Bioresource Technology*, 2008.
32. Jhonprimen., Turnip, Andreas., dan Dahlan, M. Hatta., "Pengaruh Masa Ragi, Jenis Ragi dan Waktu Fermentasi pada Bioetanol dari Biji Durian," 2012.
33. Singh, Anita., Bishnoi, Narsi R., dan Bajar, Somvir., "Enzymatic Hydrolysis of Microwave Alkali Pretreated Rice Husk for Ethanol Production by *Saccharomyces cerevisiae*, *Scheffersomyces stipitis* and Their Co-culture," *Fuel*, 2013.

34. Kunaepah, Uun., "Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Glukosa Terhadap Aktivitas Antibakteri, Polifenol Total dan Mutu Kimia Kefir Susu Kacang Merah," Skripsi. Universitas Diponegoro. Semarang
35. Brown, Ross D., dan Jurasek, Lubo., "Hydrolysis of Cellulose: Mechanism of Enzymatic and Acid Catalysis," 1979.
36. Suri, Annisa., Yusak, Yuniarti., Bulan, Rumondang., "Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kadar Bioetanol dari Fermentasi Glukosa Hasil Hidrolisis Selulosa Tandan Kosong Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis Jack*) dengan HCl 30% menggunakan Ragi Roti," 2013.
37. Novia, Faizal, Muhammad., Wulandari, Enasty Pratiwi., "Produksi Bioetanol Generasi Ke-2 dari TTKS dengan Metode Alkaline Pretreatment-Hidrolisis Enzimatis-Fermentasi," 2012.
38. Novianti., Mappiratu., Musafira., "Pemanfaatan Limbah Serbuk Gergaji untuk Produksi Bioetanol menggunakan Sel Ragi Imobil secara Berulang," 2013.
39. Kristina., Sari, Evi Retno., Novia., "Alkaline Pretreatment dan Proses Simultan Sakarifikasi-Fermentasi untuk Produksi Etanol dari Tandan Kosong Kelapa Sawit," 2012.
40. Irvan., Prawati, Popphy., Trisakti, Bambang., "Pembuatan Bioetanol dari Tepung Ampas Tebu melalui Proses Hidrolisis Termal dan Fermentasi: Pengaruh pH, Jenis Ragi, dan Waktu Fermentasi," 2015.
41. Harianja, John Wesly., Idiawati, Nora., Rudiyanasyah., "Optimasi Jenis dan Konsentrasi Asam pada Hidrolisis Selulosa dalam Tongkol Jagung," 2015.