

PENGARUH KONSENTRASI ASAM DAN WAKTU HIDROLISIS PADA PEMBENTUKAN BIOETANOL DARI DAUN NANAS

Nina Haryani^{1*}, Novia¹, Viesta Listuyeri Syarif², Soraya Rizky Ananda²

Dosen Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Sriwijaya

Mahasiswa Program Sarjana Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Sriwijaya

Email : nina_teknoenergi@yahoo.co.id

ABSTRAK: Kebutuhan energi yang kian meningkat tidak diimbangi dengan cadangan bahan bakar fosil yang semakin menipis. Krisis energi ini menuntut adanya pengembangan energi alternatif pengganti bahan bakar fosil. Salah satunya ialah pemanfaatan biomassa menjadi bioenergi seperti bioetanol. Komponen utama dari biomassa yang digunakan untuk produksi bioetanol ialah lignoselulosa yang terdiri dari selulosa, hemiselulosa, dan lignin. Daun nanas merupakan limbah biomassa yang paling banyak dihasilkan dari pertanian nanas. Daun nanas mengandung selulosa yang cukup tinggi sehingga dapat dijadikan bahan baku alternatif pembuatan bioetanol. Penelitian ini bertujuan untuk memproduksi bioetanol dari daun nanas melalui *alkaline pretreatment*, kemudian dihidrolisis dengan H_2SO_4 , dan difermentasi oleh *Saccharomyces cerevisiae*. *Pretreatment* dilakukan dengan menggunakan NaOH 0,2 N dalam waktu 1 jam. Hidrolisis menggunakan H_2SO_4 dengan konsentrasi 1%, 2%, 3%, 4%, dan 5% serta waktu hidrolisis divariasikan selama 30, 60, 90, dan 120 menit. Glukosa yang dihasilkan dari proses hidrolisis difermentasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* selama 5 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar bioetanol tertinggi didapatkan dari proses hidrolisis pada konsentrasi asam sulfat 2% dengan waktu 120 menit sebesar 6,2444%.

Kata Kunci: *Alkaline pretreatment*, bioetanol, daun nanas, hidrolisis asam

ABSTRACT: The increasing of energy requirement has not been balanced with the reserves of fossil fuels. The energy crisis claims a development of alternative energy to replace the fossil fuels. One of the alternatives is the using of biomass to be converted to bioenergy like bioethanol. The main components of biomass used for produce bioethanol is lignocellulosic that composed of cellulose, hemicellulose, and lignin. The most waste of pineapple agriculture is the leaf which contain the high cellulose so it can be use as an alternative raw materials for bioethanol production. This research aimed to produce bioethanol from pineapple leaf through alkaline pretreatment, then hydrolyzed with H_2SO_4 , and fermented by *Saccharomyces cerevisiae*. Pretreatment is done by using NaOH 0,2 N in 1 hour. Then, hydrolysis was varied by 1%, 2%, 3%, 4%, and 5% of H_2SO_4 with 30, 60, 90, and 120 minutes of hydrolysis time. The glucose that produce from hydrolysis was fermented by *Saccharomyces cerevisiae* for 5 days. The result of research showed that the highest bioethanol content was about 6.2444% which is obtained from hydrolysis process at a concentration of 2% sulfuric acid with hydrolysis time of 120 minutes.

Keywords: *Alkaline pretreatment*, bioethanol, pineapple leaf, Acid hydrolysis

1. PENDAHULUAN

Pertumbuhan penduduk dan ekonomi Indonesia yang kian pesat mengakibatkan meningkatnya konsumsi energi secara signifikan. Kondisi ini menuntut penyediaan energi untuk keberlangsungan aktivitas. Namun, dalam beberapa tahun belakang produksi minyak Indonesia cenderung menurun sehingga untuk menanggulangi defisit energi yang berkelanjutan diperlukan pengembangan energi alternatif pengganti bahan bakar fosil, misalnya bahan bakar nabati (*biofuel*).

Salah satu contoh bahan bakar berbasis nabati adalah bioetanol. Selama ini, bioetanol dibuat dari bahan berpati dan bergula seperti gula, tebu, ubi kayu, dan jagung. Penggunaan bahan

pangan ini nantinya dapat membuat permasalahan baru berupa persaingan terhadap pemenuhan kebutuhan pangan masyarakat. Hal ini menuntut diperlukannya inovasi bahan baku yang bukan merupakan sumber pangan masyarakat yaitu biomassa lignoselulosa (Daud, 2012).

Daun nanas merupakan limbah yang paling banyak dihasilkan dari pertanian nanas, yaitu sekitar 90% setiap kali panen (Onggo, 2007). Daun nanas mengandung 69,5-71,5% selulosa dan 4,4-4,7% lignin (Onggo dan Jovita, 2003 dalam Jayanudin, 2009). Jumlah limbah yang banyak, namun belum dimanfaatkan secara optimal serta tingginya kadar selulosa daun nanas membuat biomassa lignoselulosa ini cukup potensial untuk dikonversi menjadi bioetanol.

Nanas (*Ananas Comocus*) merupakan tanaman yang termasuk dalam jenis semak berbunga yang tumbuh di daerah tropis, seperti Indonesia. Tanaman monokotil ini tumbuh melalui beberapa cabang vegetatif baru yang muncul dari batang dan bisa juga menghasilkan buah yang masih merupakan satu tanaman dengan induk. Tinggi tanaman ini mencapai 90-100 cm dengan daun yang rimbun dan melekat sehingga membentuk rumpun yang menutupi batang (Rukmana, 1996 dalam Zulfikar, 2008). Produksi nanas di Indonesia merupakan tiga terbesar setelah produksi pisang dan mangga. Menurut data BPS, pada tahun 2013 produksi nanas di Indonesia sebesar 1.882.806 ton.

Pada umumnya, bagian tanaman nanas (*Ananas comosus*) yang dimanfaatkan hanya buahnya saja, sedangkan bagian lain belum begitu banyak digunakan. Fokus budidaya tanaman nanas adalah untuk diambil buahnya. Selain bisa dimakan secara langsung, buah nanas juga bisa diawetkan melalui pengolahan menjadi beragam produk, seperti jus, selai, dan kripik. Selain itu buah nanas dapat digunakan untuk pelunak daging (Onggo, 2007). Limbah nanas berupa kulitnya juga sudah dimanfaatkan untuk makanan ternak dan pembuatan *nata de phina* (Lathifah, 2013). Padahal, setiap kali panen buah nanas menghasilkan limbah yang terdiri dari 1% batang, 9% tunas batang, dan 90% daun (Onggo, 2007). Daun nanas yang muda digunakan untuk pakan kambing, selebihnya hanya dibuang di lahan nanas (Onggo dan Jovita, 2003) Daun nanas mengandung selulosa yang tinggi dengan lignin yang sangat kecil, yaitu 69,5-71,5% selulosa dan 4,4-4,7% lignin. Hal ini menjadikan daun nanas cukup potensial untuk dijadikan bioetanol.

Tabel 1. Komposisi kering daun nanas

	Komposisi Kimia	Serat Nanas (%)
1.	Selulosa	69,5 – 71,5
2.	Pentosan	17,0 – 17,8
3.	Lignin	4,4 – 4,7
4.	Pektin	1,0 – 1,2
5.	Lemak dan Wax	3,0 – 3,3
6.	Abu	0,71 – 0,87
7.	Zat-at lain (protein, asam organik,dll)	4,5 – 5,3

Sumber : Onggo dan Jovita, 2003 dalam Jayanudin 2009

Kandungan selulosa dalam daun nanas memiliki jumlah yang tinggi dengan lignin yang sangat kecil jika dibandingkan dengan biomassa lignoselulosa lainnya. Hal ini membuat daun nanas cukup potensial untuk dijadikan bioetanol.

Biomassa lignoselulosa mengandung campuran polimer karbohidrat, yaitu selulosa dan hemiselulosa, lignin juga ekstraktif dan abu. Lignoselulosa adalah biomassa yang bersumber dari tanaman yang terdiri dari komponen utama berupa selulosa, hemiselulosa dan lignin. Ketiga komponen ini berikatan satu sama lain dan menjadi bahan dasar penyusun dinding sel tumbuhan. Selulosa merupakan biopolimer tanaman yang paling banyak terdapat di bumi, diperkirakan jumlahnya mencapai 7.5×10^{10} ton per tahun hasil fotosintesis tanaman setiap tahunnya (Ljungdahl & eriksson, 1985 dalam Monserrate et al, 2001). Dalam tanaman, selulosa berasosiasi dengan biopolimer lainnya, seperti hemiselulosa, pektin, lignin, dan protein.

Serat selulosa adalah biopolimer yang terdiri dari unit D-glukosa berulang dengan ikatan β -1,4 glikosida disebut fibril dasar. Panjang rantai lurus ini dapat mencapai hingga 25.000 residu glukosa (Desvaux, 2005). Selulosa tidak larut dalam air pada temperatur tinggi maupun rendah serta asam panas dan alkali panas. Selulosa memiliki struktur kimia yang tersusun atas unsur C, H, O dan membentuk rumus molekul $(C_6H_{10}O_5)_n$ (Yuanisa dkk , 2015). Selulosa dapat dikonversi menjadi glukosa melalui pemutusan ikatan β -1,4 glikosida oleh asam ataupun enzim. Dalam biomassa, selulosa berada dalam dua bentuk, yaitu selulosa kristalin dan selulosa amorf. Sebagian besar selulosa berupa kristalin dan hanya sebagian kecil yang merupakan amorf. Amorf diartikan sebagai bahan yang tidak memiliki bentuk yang pasti, namun masih mungkin memiliki tingkat keteraturan. Dari kedua jenis struktur selulosa ini, bagian yang lebih mudah untuk dihidrolisis adalah selulosa amorf (Kumar et al., 2009).

Sedangkan hemiselulosa yang jumlahnya sekitar 15-30% dari berat kering lignoselulosa termasuk dalam kelompok polisakarida heterogen dengan berat molekul kecil (Lynd *et al.*, 2002). Lebih lanjut, Lynd et al. (2002) menyatakan bahwa hemiselulosa dapat dihidrolisis menggunakan asam dan akan menghasilkan monomer yang mengandung glukosa, galaktosa, xilosa arbinosa, dan mannose. Hemiselulosa akan mengikat serat selulosa dan segera membentuk mikrofibril yang bertujuan untuk menjaga stabilitas dinding sel. Untuk memberikan struktur yang kuat, lignin akan berikatan silang dengan hemiselulosa untuk membentuk jaringan kompleks. Hemiselulosa terdiri dari lima gula netral, yaitu glukosa, galaktosa, mannose, arabinose (pentosan) dan xilosa. Hemiselulosa merupakan polisakarida yang larut dalam alkali. Struktur dari hemiselulosa

berbeda dengan selulosa yang merupakan homopolisakarida dengan derajat polimerisasi yang tinggi (10.000-14.000 unit). Rantai utama dari selulosa bisa terdiri dari satu jenis monomer (homopolimer), yaitu xilan atau jika terdiri dari dua jenis atau lebih monomer (heteropolimer) seperti glukomanan. Selain itu rantai molekul hemiselulosa pun lebih pendek dibandingkan dengan selulosa (Octavia dkk, 2011 dalam Yuanisa dkk, 2015). Berbeda dengan selulosa, polimer glukosa berupa hemiselulosa lebih mudah untuk dihidrolisis (Kumar, 2009). Terdapat beberapa unit gula yang membentuk hemiselulosa, yaitu : pentosa, heksosa, deoksiheksosa, dan asam heksuronat. Hemiselulosa adalah suatu kesatuan pembangun komposisi serat dan memiliki peranan yang penting karena berfungsi sebagai perekat antar selulosa yang merupakan penunjang kekuatan fisik serat. Tidak adanya hemiselulosa akan mengakibatkan terjadinya jarak yang cukup besar diantara fibril dan lemahnya ikatan antar serat (Anindyawati, 2010). Hemiselulosa memiliki kestabilan yang rendah terhadap bahan kimia dan pemanasan jika dibandingkan dengan selulosa. Hal tersebut terkait dengan kristalinitas dan derajat polimerisasi dari hemiselulosa yang rendah. Di lain sisi hemiselulosa juga dapat disebut sebagai gabungan antara β dan γ selulosa yang memiliki sifat mudah larut pada kondisi netral hingga asam (Anindyawati, 2010).

Hemiselulosa adalah senyawa matriks yang berada diantara mikrofibril–mikrofibril selulosa. Berbeda dengan selulosa dan hemiselulosa, lignin merupakan senyawa berstruktur kuat yang menyelimuti dan mengeraskan dinding sel (Yuanisa dkk, 2015). Lignin merupakan salah satu dari beberapa komponen penyusun tumbuhan. Setiap jenis tumbuhan memiliki komposisi bahan penyusun yang berbeda-beda. Lignin adalah polimer organik yang paling banyak dan paling berpengaruh dalam dunia tumbuhan. Jaringan polimer fenolik yang mampu merekatkan selulosa dan hemiselulosa sehingga menjadi ikatan yang sangat kuat merupakan penyusun utama dari lignin (Sun dan Cheng, 2002). Kandungan lignin yang terdapat dalam tanaman sejenis rumput dan daun-daunan jauh lebih sedikit daripada kandungan lignin dalam kayu. Struktur lignin dalam kayu dan daun-daunan juga jauh berbeda. Unit-unit fenil propana yang menyusun sistem aromatik dari struktur molekul lignin menyebabkan lignin memiliki struktur molekul yang berbeda dengan polisakarida. Pada suhu yang tinggi lignin akan mengalami perubahan struktur (Fengel dan Wegener 1984 dalam Hermiati dkk, 2010). Kehadiran lignin akan membuat akses enzim selulase ke selulosa menjadi sulit dan menurunkan efisiensi hidrolisis. *Pretreatment* bertujuan untuk menghilangkan lignin dan hemiselulosa, mengurangi kekristalan selulosa, dan menaikkan tingkat porositas sehingga hidrolisis

dapat lebih mudah dilakukan (McMillan, 1994 dalam Sun dan Cheng, 2002).

Menurut Baker (1983), lignin juga terdapat pada dinding sel. Lignin dan hemiselulosa pada dinding sel akan bersama-sama mengikat selulosa. Jumlah lignin pada setiap jenis kayu memiliki persentase yang berbeda-beda. Seperti: kayu jenis *hardwood* mengandung 16-24 % lignin, *Softwood* mengandung 27-33% lignin, dan *Non-wood fibers* seperti *bagasse*, bambu, rumput, atau jerami mengandung 11 - 20% lignin.

Pretreatment biomassa lignoselulosa dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu secara kimiawi, fisis, dan mikrobiologis. Masing-masing metode memiliki kelebihan dan kekurangan. Efisiensi dan efektivitas penggunaannya bisa berbeda-beda, bergantung pada sumber bahan dan tujuan prosesnya (Sun dan Cheng, 2002).

1) Pretreatment Kimiawi

Pretreatment secara kimiawi adalah metode yang paling umum digunakan karena lebih mudah, lebih efektif, lebih cepat dan tidak memakan energi terlalu tinggi. *Pretreatment* secara kimiawi dapat dilakukan dengan dua cara yaitu pelarutan dalam larutan basa atau pelarutan dalam larutan asam.

2) Pretreatment Fisika

Pretreatment secara fisis diantaranya adalah penggilingan, irradiasi, pemberian suhu tinggi, dan *steam explosion*. *Pretreatment* jenis ini cukup efektif dalam memecah lignin, hanya saja aplikasinya membutuhkan energi yang sangat tinggi sehingga bisa meningkatkan biaya produksi.

3) Pretreatment Biologis

Pretreatment secara biologis menggunakan mikroorganisme seperti jamur pelapuk putih, jamur pelapuk coklat, atau jamur pelapuk lunak untuk mendegradasi lignin dan hemiselulosa pada biomassa.

Alkaline pretreatment dapat meningkatkan efektifitas enzim pada proses enzimatik hidrolisis. Kandungan lignin pada biomassa akan mengalami proses penguraian dengan proses NaOH *pretreatment*, tetapi tidak terjadi pada kandungan selulosanya. *Alkaline pretreatment* dapat meningkatkan kandungan selulosa dan efektif untuk menghilangkan lignin (Kristina, dkk., 2012). Larutan basa yang digunakan dapat berupa natrium, kalium, kalsium, maupun amonium hidroksida (Kumar, 2009). *Pretreatment* ini dapat dilakukan pada temperatur yang rendah, namun proses berjalan dalam waktu yang relatif lama dan konsentrasi basa yang tinggi. Jika dibandingkan dengan larutan asam dan agen oksidatif, larutan basa bersifat lebih efektif dalam menyebabkan peningkatan luas permukaan, penurunan derajat

polimerisasi, penurunan kristalinitas, pemisahan struktur lignin dan selulosa, serta perusakan struktur lignin (Gaspar, 2007 dalam Binod et al., 2010).

Hidrolisis merupakan tahapan proses untuk mengubah polimer karbohidrat (polisakarida) seperti selulosa dan hemiselulosa menjadi gula monomer. Selulosa dapat dihidrolisis menjadi monomer gula baik secara kimia dengan senyawa asam maupun enzimatik dengan selulase (Mosier, 2005).

1) Hidrolisis Kimia

Larutan asam dikontakkan dengan selulosa pada suhu dan tekanan tertentu untuk mengubah polimer gula menjadi komponen gulanya. Penggunaan asam untuk proses ini terbagi menjadi dua, yaitu asam pekat dan asam encer.

2) Hidrolisis Enzim

Bakteri dan jamur dapat menghasilkan selulase untuk menghidrolisis biomassa lignoselulosa. Mikroorganisme ini bisa berupa aerob, anaerob, mesofilik, ataupun termofilik.

Hidrolisis asam terbagi menjadi dua, yaitu menggunakan asam pekat dan asam encer (Taherzadeh & Karimi, 2008). Hidrolisis ini dilakukan pada suhu rendah dalam waktu yang lebih lambat daripada hidrolisis asam encer. Metode ini umumnya menggunakan asam sulfat pekat yang diikuti pengenceran dengan air untuk mengkonversi selulosa menjadi glukosa (Demirbas, 2005). Lain halnya dengan hidrolisis menggunakan asam encer yang dilakukan pada suhu dan tekanan tinggi, namun dalam waktu yang relatif singkat. Hal ini membuat proses hidrolisis dapat dilakukan secara kontinu. Penggunaan asam encer dalam hidrolisis ini dapat meningkatkan laju reaksi dari hidrolisa selulosa secara signifikan (Sun dan Cheng, 2002). Dalam mencapai konversi tinggi dari selulosa, hidrolisis asam dapat menyebabkan degradasi hemiselulosa, menghasilkan yield rendah dan produk samping yang tidak diinginkan yang dapat menjadi inhibitor pada proses fermentasi. Inhibitor yang dapat terbentuk seperti *5-hydroxymethylfurfural* (HMF), *levulinic acid*, asam asetat, asam format, asam uronic, *4-hydroxybenzoic acid*, *vanilic acid*, vanillin, fenol, *cinnamaldehyde*, dan formadehid. Untuk mencegah degradasi monosakarida pada temperatur yang tinggi dan pembentukan inhibitor, maka metode hidrolisis asam encer ini dilakukan dalam dua (atau lebih) tahap. Dimana pada tahap pertama dilakukan pada kondisi yang relatif rendah. Pada tahap ini hemiselulosa akan dikonversikan menjadi gula monomer. Selanjutnya tahap kedua dilakukan pada kondisi yang lebih ekstrim. Pada tahap ini, sisa padatan dan selulosa akan dihidrolisis (Brethauer dan Wyman, 2010).

Proses pretreatment dan hidrolisis dilakukan untuk mengoptimalkan proses fermentasi. Proses ini bergantung pada kondisi dan bahan baku serta kehadiran mikroorganisme untuk memfermentasikan gula menjadi alkohol, asam laktat, dan lainnya. *S.cerevisiae* telah digunakan untuk bahan bakar industri berbasis jagung dan gula sebagai strain fermentasi utama (Limayem and Ricke, 2011).

Fermentasi gula menjadi alkohol terjadi karena adanya aktifitas suatu mikroba. Aktifitas hidup mikroba yang dipengaruhi oleh persediaan dan pemakaian nutrisi ini menentukan jumlah alkohol yang terbentuk. Adapun faktor-faktor yang mempengaruhi fermentasi etanol, yaitu (Said dkk, 1992 dalam Osvaldo dkk, 2012) :

1) Jenis Mikroorganisme

Setiap jenis mikroorganisme memiliki fungsi yang berbeda dalam proses fermentasi. Pemilihan jenis mikroorganisme dilakukan berdasarkan substrat yang akan difermentasi, misalnya untuk menghasilkan etanol khamir yang digunakan ialah *Saccharomyces Cerevisae*. Hal ini didasarkan atas pertimbangan kemampuan pertumbuhan dan toleransi tinggi terhadap konsentrasi gula yang tinggi dari mikroorganisme, sehingga dapat menghasilkan kadar etanol yang dikehendaki.

2) Lama fermentasi

Fermentasi berhenti ditandai dengan tidak terproduksinya lagi CO₂. Kadar etanol yang dihasilkan akan semakin tinggi sampai waktu optimal dan setelah itu kadar etanol yang dihasilkan menurun.

3) Derajat Keasaman

Pada umumnya pH untuk fermentasi buah-buahan dibutuhkan keasaman optimum antara 4-5,5, jika pH diatas 5,5 atau dibawah 4, maka pertumbuhan mikroba akan terganggu.

4) Kadar Gula

Gula yang ditambahkan berguna sebagai nutrisi untuk mikroba agar fermentasi dapat terjadi secara maksimal. Kadar gula yang optimum adalah 10 – 18 %.

5) Suhu

Suhu untuk tiap-tiap golongan memiliki suhu pertumbuhan yang optimum yang berbeda-beda, untuk mikroba suhu optimumnya 19–32 °C.

Destilasi adalah salah satu metode dari pemurnian dengan cara memisahkan dua atau lebih komponen- komponen dalam suatu cairan berdasarkan perbedaan tekanan uap masing-masing komponen (Hidayat, 2007). Proses destilasi dimulai dengan cara memanaskan senyawa cair hingga menguap, dan uap yang terbentuk akan diembunkan lalu ditampung secara terpisah untuk

memperoleh distilat. Etanol memiliki titik didih murni sebesar 78 °C dan pada keadaan standar air memiliki titik didih 100 °C. Sehingga untuk memisahkan etanol dari air dapat dilakukan dengan memanaskan campuran pada temperatur 78-90 °C (Kristina dkk., 2012).

2. METODOLOGI

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi asam sulfat dan waktu hidrolisis terhadap kadar glukosa dan etanol dari daun nanas. Penelitian dilakukan di Laboratorium Bioproses Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Sriwijaya.

Peralatan dan Bahan

a) Alat

- 1) Gelas Ukur
- 2) Erlenmeyer
- 3) Batang Pengaduk
- 4) Corong Buchner
- 5) Kertas Saring
- 6) Autoklaf
- 7) Termometer
- 8) Beaker Gelas
- 9) Buret
- 10) Pipet
- 11) Mesh Screening
- 12) Labu Didih
- 13) Magnetic Stirer
- 14) Kondenser
- 15) Labu Ukur

b) Bahan

- 1) Daun Nanas
- 2) Ragi
- 3) NaOH 0.5 N
- 4) H₂SO₄ 1,2,3,4,5 %
- 5) KMNO₄ 0.1 N
- 6) Na₂S₂O₃ 0.2 N
- 7) KI 1 N
- 8) H₂SO₄ 4 N
- 9) KI 20%
- 10) Na₂CO₃
- 11) C₆H₈O₇
- 12) CuSO₄.5H₂O
- 13) Aquadest
- 14) Indikator Amilum
- 15) Nutrisi Urea

Prosedur Penelitian

Persiapan Bahan Baku

- 1) Biomassa daun nanas didapatkan dari lahan perkebunan nanas di Desa Sukajadi, Kecamatan Sungai Rotan
- 2) Daun nanas dicuci sampai bersih kemudian dijemur dibawah sinar matahari hingga didapatkan daun nanas kering berwarna kecoklatan.
- 3) Daun nanas yang telah kering dihaluskan dengan cara dicacah dan diblender

Alkali Pretreatment

- 1) Delignifikasi dilakukan dengan mengambil sebanyak 50 gram serbuk daun nanas ditambah dengan 500 ml NaOH 0,2 N ke dalam erlenmeyer bertutup dengan perbandingan ratio (w/v) daun nanas : NaOH = 1 : 10.
- 2) Selanjutnya sampel dalam wadah diinkubasi dalam *water bath* pada suhu 100⁰C selama 1 jam. Setelah 1 jam, sampel dipisahkan dengan cara disaring menggunakan kertas saring. Serbuk daun nanas yang telah terpisah dibilas dengan aquadest hingga pH 7 (netral).

Hidrolisis

- 1) Serbuk daun nanas yang telah melalui tahap *pretreatment* dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dicampurkan dengan larutan H₂SO₄ sesuai dengan variabel yang dijalankan, yaitu 1, 2, 3, 4, dan 5 %
- 2) Selanjutnya dipanaskan dengan suhu konstan 121⁰C selama 30, 60, 90, dan 120 menit
- 3) Setelah itu masing-masing larutan hasil hidrolisis disaring kembali dan diambil filtratnya untuk fermentasi dan analisis pengujian kadar glukosa menggunakan metode Luff Schoorl.

Fermentasi

- 1) Alat – alat yang digunakan pada proses fermentasi disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit agar tidak ada mikroba lain karena kesterilan akan mempengaruhi fermentasi.
- 2) Ragi roti (*Saccharomyces Cerevisiae*) nanas) sebanyak 12,5 gram ditambahkan ke dalam masing-masing sampel hidrolisat.
- 3) Tutup rapat masing - masing erlenmeyer dengan aluminium foil supaya tidak ada kontaminan yang mengganggu fermentasi.
- 4) Fermentasi dilakukan selama 5 hari.

Destilasi

- 1) Menyiapkan 1 set peralatan destilasi. Lalu merangkai dan menghidupkan peralatan destilasi dengan baik.
- 2) Memasukkan hasil fermentasi yang telah disaring ke dalam labu, kemudian memasang labu tersebut pada alat destilasi.
- 3) Mengatur temperaturnya 79-80⁰C.
- 4) Proses destilasi dilakukan selama 0,5-1 jam sampai bioetanol tidak menetes lagi.
- 5) Destilat (bioetanol) yang dihasilkan disimpan di dalam botol yang tertutup rapat.
- 6) Bioetanol diukur densitasnya dengan menggunakan piknometer.

Analisa Hasil

Penentuan Kadar Selulosa dan Hemiselulosa

- 1) Satu g (a) sampel kering ditambahkan 150 ml H₂O kemudian direfluks pada suhu 100 °C dengan water bath selama 1 jam
- 2) Hasil refluks disaring dan dicuci dengan air panas. Residu kemudian ditimbang (b)
- 3) Residu ditambahkan 150 ml H₂SO₄ 1 N dan direfluks dengan water bath selama 1 jam pada suhu 100 °C
- 4) Hasil refluks disaring, dicuci dengan air sampai netral, dan dikeringkan (c)
- 5) Residu kering ditambahkan 10 ml H₂SO₄ 72% dan direndam pada suhu kamar selama 4 jam. Kemudian ditambahkan 150 ml H₂SO₄ 1 N dan direfluks dengan water bath selama 1 jam
- 6) Residu disaring dan dicuci dengan H₂O sampai netral lalu dipanaskan dengan oven pada suhu 105 °C dan hasilnya ditimbang (d)
- 7) Residu diabukan dan ditimbang (e)
- 8) Kadar selulosa didapatkan dari rumus = $\frac{c-d}{a} \times 100\%$
- 9) Kadar Hemiselulosa didapatkan dari rumus = $\frac{b-c}{a} \times 100\%$

Penentuan Kadar Lignin

- 1) Timbang 3 gr sampel dan masukkan ke dalam beaker gelas. Tambahkan 500 ml *aquadest*.
- 2) Pindahkan sampel ke dalam beker gelas 2000 ml dan bilas beker gelas dengan *aquadest* secukupnya sampai mencapai jumlah 795 ml. Suhu *aquadest* harus (25,0 ± 0,2) °C.
- 3) Letakkan beker gelas dalam penangas air bersuhu (25,0 ± 0,2) °C dan aduk perlahan menggunakan *magnetic stirrer* selama berlangsungnya reaksi.
- 4) Pipet (100,0 ± 0,1) ml larutan kalium permanganat (0,1000 ± 0,0005) N dan 100 ml larutan asam sulfat 4,0 N masukkan ke dalam beker gelas 250 ml. Letakkan beker gelas dalam penangas air 25 °C.
- 5) Tambahkan campuran larutan kalium permanganat dan asam sulfat pada poin 4 ke dalam beker gelas yang berisi sampel. Bilas beker gelas dengan *aquadest* jangan lebih dari 5 ml, masukkan air pembilas ke dalam beker gelas. Jumlah volume harus (1000 ± 5) mL. Biarkan reaksi berlangsung selama 10 menit.
- 6) Setelah 10 menit, tambahkan larutan kalium iodida 1,0 N sebanyak 20 ml.
- 7) Lakukan titrasi dengan larutan natrium thiosulfat 0,2 N setelah terbentuk iodium bebas (timbul warna kuning). Sebagai indikator tambahkan beberapa tetes

larutan amilum, sampai timbul warna biru, lanjutkan titrasi sampai warna biru hilang. Catat pemakaian larutan natrium thiosulfat sebagai **a** mL.

- 8) Kerjakan blanko seperti pada poin 1-7 tanpa menggunakan sampel. Catat pemakaian larutan natrium thiosulfat dalam titrasi blanko sebagai **b** ml.
- 9) Kadar lignin dihitung dari bilangan $\kappa \times 0,147$

Penentuan Kadar Glukosa

- 1) Sampel diambil 10 ml dari tiap perlakuan dan tambahkan 15 ml aquadest serta 25 ml larutan Luff-Schoorl. Didihkan selama 10 menit dalam erlenmeyer
- 2) Hasil pendidihan didinginkan dengan cepat dan ditambahkan dengan hati-hati 25 ml larutan H₂SO₄ 26,5% dan 15 ml larutan KI 20%
- 3) Larutan dititrasi dengan larutan Na₂S₂O₃ 0.1 N secara hati-hati sampai larutan berwarna kuning muda
- 4) Menambahkan indikator amilum hingga larutan berubah menjadi warna biru
- 5) Titrasi dilanjutkan sampai warna biru tepat hilang
- 6) Melakukan titrasi terhadap blanko (25 ml aquadest), volume masing-masing dicatat
- 7) Kadar gula dihitung berdasarkan selisih titrasi blanko dan titran sampel dengan menggunakan tabel gula menurut Luff-Schoorl

Penentuan Kadar Etanol

Untuk menganalisa kadar alkohol (etanol) yang didapat digunakan analisa density. Analisa density ini dilakukan dengan menggunakan alat piknometer, piknometer yang digunakan adalah piknometer 5 ml pada suhu kamar. Prosedur perhitungan density dengan menggunakan piknometer yaitu :

- 1) Menimbang berat piknometer kosong pada suhu kamar diperoleh a gram
- 2) Menimbang berat piknometer yang telah berisi aquadest penuh pada suhu kamar diperoleh b gram.
- 3) Menghitung volume piknometer dengan menggunakan rumus

$$\text{Volume Piknometer} = \frac{b-a}{0.995797} = C \text{ mL}$$

- 4) Menimbang berat piknometer yang telah diisi penuh dengan zat (etanol) yang akan ditentukan densitynya pada suhu kamar diperoleh d gr.

$$\text{Density} = \frac{\text{berat piknometer isi zat} - \text{berat piknometer kosong}}{\text{volume piknometer}}$$

$$\text{Density} = \frac{d-a}{c}$$

Dari density yang diperoleh, dapat ditentukan kadar alkohol (etanol) yang terkandung,

dengan melihat tabel density standar etanol pada suhu kamar.

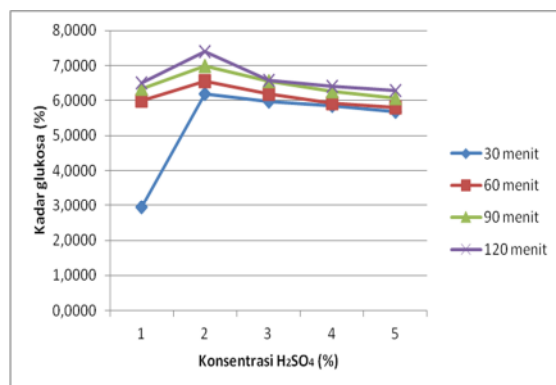
Selain itu, kadar etanol juga dapat dianalisa dengan menggunakan gas kromatografi. Untuk melihat kadar bioetanol yang dihasilkan dengan lebih akurat maka dilakukan analisa dengan menggunakan Gas Kromatografi dengan tahapan analisa sebagai berikut :

- 1) Sampel disiapkan dengan komposisi belum diketahui dan larutan baku dengan komposisi diketahui.
- 2) *Running* alat, dengan kondisi suhu maksimum 200°C dan jenis detektor FID (*Flame Ionisation Detector*).
- 3) Mengatur tekanan manometer pada tabung sebesar 3,5 kg/cm.
- 4) Mengatur kecepatan gas pembawa (Helium) ke kanan atau ke kiri sebesar 300ml/min.
- 5) Menyuntikan larutan baku minimal 1µL etanol.
- 6) Puncak etanol tampak pada kromatogram (alat perekam).
- 7) Hasil analisa akan tertulis oleh integrator dalam bentuk laporan RT (waktu retensi), AREA (luas puncak), TYPE (tipe puncak), AREA% (persen senyawa dalam larutan).
- 8) Menyuntikan larutan cuplikan minimal 1µL etanol dan membuat kromatogramnya.
- 9) Membandingkan antara kromatogram larutan baku dan larutan cuplikan.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Konsentrasi H₂SO₄ Terhadap Kadar Glukosa Pada Berbagai Waktu Hidrolisis

Pada penelitian ini daun nenas yang telah dipretreatment menggunakan NaOH 0,2 N dihidrolisis pada beberapa variasi konsentrasi H₂SO₄ (1%, 2%, 3%, 4%, dan 5%) dan variasi waktu hidrolisis (30 menit, 60 menit, 90 menit, dan 120 menit) dengan temperatur konstan 121°C.

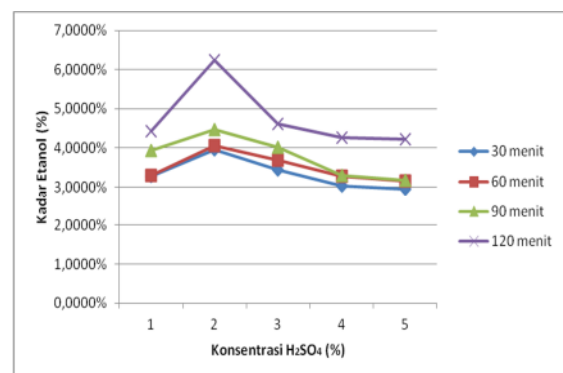


Gambar 1. Kadar Glukosa Setelah Proses Hidrolisis dengan H₂SO₄ pada Berbagai Variasi Konsentrasi dan Waktu Hidrolisis

Gambar 1. memperlihatkan bahwa kenaikan kadar glukosa paling optimal terjadi pada konsentrasi asam sulfat 2% dan mengalami penurunan kembali pada konsentrasi 3% sampai 5%. Hal ini disebabkan penambahan konsentrasi larutan asam akan melepaskan lebih banyak proton H⁺ yang akan berinteraksi dengan ikatan 1,4 glikosida dan membentuk lebih banyak gugus radikal bebas. Namun, konsentrasi asam yang semakin pekat menyebabkan semakin sedikitnya jumlah air dalam larutan hidrolisis. Hal ini mengakibatkan jumlah OH⁻ sebagai pengikat radikal bebas berkurang dan tidak dapat mengimbangi jumlah gugus radikal bebas sehingga 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 (Tahezadeh dan Karimi, 2007).

Gambar 4.1. juga menunjukkan bahwa semakin lama waktu hidrolisis, kadar glukosa yang dihasilkan juga semakin tinggi. Hal ini disebabkan karena semakin lama terjadinya proses hidrolisis maka kesempatan selulosa melakukan dekomposisi lebih lama, sehingga lebih banyak glukosa yang terbentuk dan kadar glukosa menjadi naik. Dengan menggunakan suhu yang mencapai 121°C dan penambahan waktu proses hidrolisis maka dapat meningkatkan konstanta laju reaksi. Meningkatnya konstanta laju reaksi dengan penambahan waktu reaksi memperbesar konversi yang dicapai sampai titik optimumnya terjadi.

Pengaruh Konsentrasi H₂SO₄ Terhadap Kadar Etanol Pada Berbagai Waktu Hidrolisis

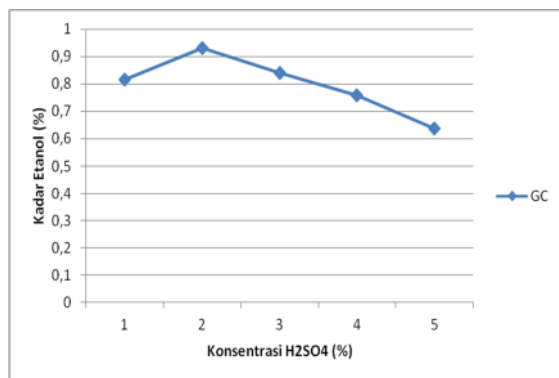


Gambar 2. Kadar Etanol Setelah Proses Hidrolisis Menggunakan H₂SO₄ pada Beberapa Variasi Konsentrasi dan Waktu Hidrolisis

Dari gambar 2. diatas, terlihat bahwa kadar etanol yang paling tinggi diperoleh pada saat sampel hidrolisis menggunakan konsentrasi asam sulfat 2% selama 120 menit yaitu sebesar

6,2445%. Semakin besar konsentrasi asam sulfat yang digunakan, maka semakin besar juga kadar etanol yang dihasilkan. Hal ini dikarenakan peningkatan konsentrasi asam sulfat akan memperbesar kecepatan reaksi. Jadi semakin banyak asam sulfat yang digunakan maka semakin cepat reaksi hidrolisis dan dalam waktu tertentu selulosa yang terdekomposisi menjadi glukosa juga meningkat. Meningkatnya kadar glukosa ini akan meningkatkan kadar etanol yang dihasilkan. Peningkatan terjadi pada konsentrasi asam sulfat 1%-2%. Namun setelah mencapai titik optimumnya, untuk konsentrasi 3%-5% kadar etanol mengalami penurunan

Dari gambar 4.2. juga terlihat bahwa kadar etanol dipengaruhi oleh waktu hidrolisis. Semakin lama waktu proses, maka kadar etanol yang terbentuk akan semakin besar. Hal ini disebabkan waktu kontak antara selulosa dan air bertambah sehingga semakin banyak jumlah glukosa yang terbentuk dan dikonversi menjadi etanol. Untuk hasil analisa etanol menggunakan GC dapat dilihat pada gambar 4.3.



Gambar 3. Hasil Analisa Etanol dengan Metode Kromatografi Gas

Oswaldo dkk (2012) melakukan penelitian terhadap pembuatan bioetanol dari alang-alang dan menemukan hal yang sama seperti dalam penelitian ini. Konsentrasi asam sulfat yang optimum dan peningkatan waktu hidrolisis mempengaruhi konversi selulosa menjadi glukosa. Dalam penelitian yang telah dilakukannya, peningkatan waktu reaksi hidrolisis dari 20-150 menit pada konsentrasi asam sulfat 2% dan temperatur 120°C menghasilkan kadar etanol tertinggi pada waktu 150 menit sebesar 4,5%.

4. KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan, dapat diambil beberapa kesimpulan, yaitu:

- 1) Untuk konsentrasi H₂SO₄ 1-2%, semakin tinggi konsentrasi asam sulfat pada proses hidrolisis maka kadar glukosa dan etanol yang terbentuk juga semakin tinggi. Sedangkan untuk

konsentrasi H₂SO₄ 3-5%, kadar glukosa dan etanol menurun.

- 2) Semakin lama waktu hidrolisis maka kadar glukosa dan etanol yang terbentuk semakin besar. Kondisi terbaik pada penelitian ini didapatkan pada konsentrasi asam sulfat 2% dan waktu hidrolisis 120 menit yang menghasilkan 7,3896% glukosa dan 6,2444% etanol.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Universitas Sriwijaya melalui program penelitian SATEKS (No: 042.04.2.400089/2015) tahun 2015.

DAFTAR PUSTAKA

- Anindyawati, T. 2010. Potensi Selulase dalam Mendegradasi Lignoselulosa Limbah Pertanian untuk Pupuk Organik. *Berita Selulosa*. 45(2) : 70-77.
- Baker, A. J. 1983. Wood Fuel Properties and Fuel Products From Woods. In: *Fuelwood management and utilization seminar: Proceedings*. East Lansing. East Lansing. MI: Michigan State University.
- Binod, P., R. Sindhu, R.R. Singhanian, S. Vikram, L. Devi, S. Naglakshmi, N. Kurien, R.K. Sukumaran, A. Pandey. 2010. Bioethanol Production from Rice Straw: An Overview. *Bioresource Technology* 101: 4764-4774.
- Brethauer, S. and Wyman, C.E. 2010. Review: Continous Hydrolysis and Fermentation For Cellulosic Ethanol Production. *Bioresource Technology*: 4862-4874.
- Daud, M., W. Safii, K. Syamsu. 2012. Biokonversi Bahan Berlignoselulosa Menjadi Bioetanol Menggunakan *Aspergillus niger* dan *Saccharomyces cerevisiae*. *Jurnal Perennial*. 8(2): 43-51.
- Demirbas, A. 2005. Bioethanol from cellulosic materials: A renewable motor fuel from biomass. *Energy Sour*. 27: 327-337.
- Hermiati, E., Mangunwidjaja, D., Sunarti, T.C., Suparno, O., dan Prasetya, B. 2010. Pemanfaatan Biomassa Lignoselulosa Ampas Tebu Untuk Produksi Bioetanol. *Journal IPB*
- Hidayat, P. 2008. Pemanfaatan Serat Daun Nanas Sebagai Alternative Bahan Baku Tekstil. *Teknoin*. 13(2) :31-35.
- Jayanudin. 2009. Pemutihan Daun Nanas Menggunakan Hidrogen Peroksida. *Jurnal Rekayasa Proses*. 1(3): 10-14
- Kristina, E.R. Sari, Novia. 2012. Alkaline Pretreatment dan Proses Simultan

- Sakarifikasi-Fermentasi untuk Produksi Etanol dari Tandan Kosong Kelapa Sawit. *Jurnal Teknik Kimia*. 18 (3) : 34-43.
- Kumar, P., Barrett, D.M., Delwiche, M.J., and Stroeve, P. 2009. Methods for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Efficient Hydrolysis and Biofuel Production. *Industrial & Engineering Chemistry research*.
- Limayem, A. and Ricke, S.C. 2012. Lignocellulosic Biomass For Bioethanol Production: Current Perspectives, Potential Issues, and Future Prospects. *Progress in Energy and Combustion Sciences*. 38: 449-467.
- Lynd, L. R., P. J. Weimer, W.H.V. Zyl, I. Pretorius. 2002. Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 66(3): 506-577.
- Monserrate, E., S.B. Leschine, E.C. Parola. 2001. *Clostridium hungatei* sp.nov., a mesophilic, N₂-fixing cellulolytic bacterium isolated from soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 51: 123-132.
- Mosier, N., C. Wyman, B. Dale, R. Elander, Y. Lee, M. Holtzapple, and M. Ladish. 2005. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*. 96: 673-686.
- Onggo, H. 2007. Produk Serat Daun Nenas Berbasis Teknologi Tepat Guna. Workshop Sosialisasi dan Implementasi Produk Agroindustri Nenas Berbasis Teknologi Tepat Guna, 6-7 Juni 2007.
- Osvaldo, Z.S., Panca, P.S., Faizal, M. 2012. Pengaruh Konsentrasi Asam dan Waktu Pada Proses Hidrolisis dan Fermentasi Pembuatan Bioetanol dari Alang-alang. *Jurnal Teknik Kimia*. 2(18):52-62
- Sun, Y. and J. Cheng. 2002. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: A review. *Bioresource Technology*. 83:1-11.
- Taherzadeh, M.J., and K. Karimi. 2007. Acid-Based Hydrolysis Processes for Ethanol from Lignocellulosic Materials: A Review. *Bio Resources* 2 (3): 472-499.
- Yuanisa, A., Kafidul, U., Agustin, W. 2015. Pretreatment Lignoselulosa Batang Kelapa Sawit Sebagai Langkah Awal Pembuatan Bioetanol Generasi Kedua. 3(4): 1620-1626 . Malang
- Zulfikar, T . 2008. Teknologi Produksi Pulp Dari Serat Daun Nenas (Kajian Variasi Pelarut CAO, Suhu, dan Waktu Pemasakan). Jawa Timur