

**REPUBLIK INDONESIA
KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA**

SERTIFIKAT PATEN

Menteri Hukum dan Hak Asasi Manusia atas nama Negara Republik Indonesia berdasarkan Undang-Undang Nomor 13 Tahun 2016 tentang Paten, memberikan hak atas Paten kepada:

Nama dan Alamat Pemegang Paten : Sentra HKI UNSRI
Jl. Raya Palembang-Prabumulih Km. 32 Inderalaya,
Kab. Ogan Ilir, Palembang 30662
INDONESIA

Untuk Invensi dengan Judul : PROSES PEMBUATAN BIOETANOL DARI BIOMAS
LIGNOSELULOSA

Inventor : Dr. Novia, ST, MT
Hermansyah, S.Si., M.Si., Ph.D

Tanggal Penerimaan : 12 November 2015

Nomor Paten : IDP000053529

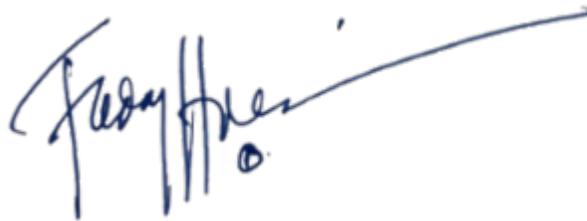
Tanggal Pemberian : 19 September 2018

Perlindungan Paten untuk invensi tersebut diberikan untuk selama 20 tahun terhitung sejak Tanggal Penerimaan (Pasal 22 Undang-Undang Nomor 13 Tahun 2016 tentang Paten).

Sertifikat Paten ini dilampiri dengan deskripsi, klaim, abstrak dan gambar (jika ada) dari invensi yang tidak terpisahkan dari sertifikat ini.



a.n. MENTERI HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA
DIREKTUR JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL



Dr. Freddy Harris, S.H., LL.M., ACCS.
NIP. 196611181994031001

(12) PATEN INDONESIA

(11) IDP000053529 B

(19) DIREKTORAT JENDERAL
KEKAYAAN INTELEKTUAL

(45) 19 September 2018

(51) Klasifikasi IPC⁸ : C 13K 1/02

(21) No. Permohonan Paten : P00201507328

(22) Tanggal Penerimaan: 12 November 2015

(30) Data Prioritas :
(31) Nomor (32) Tanggal (33) Negara

(43) Tanggal Pengumuman: 19 Mei 2017

(56) Dokumen Perbandingan:
US 2010/0313882 A1 (seluruh dokumen)
www.sciencedirect.com dengan judul Production of bio-fuel (bio-ethanol) from biomass (pteris) by fermentation process with yeast
Journal of Scientific & Industrial Research vol 64, November 2005 pp. 905-919
Jurnal American society of Agricultural and Biological Engineers Vol. 58 (2): 193-200
http://ec.europa.eu/research/energy/pdf/gp/gp_events/biofuels/askew_en.pdf [03.08.2006] dan
<http://websrv5.sdu.dk/bio/Cropgen/JBHN.pdf> [03.08.2006]
http://www.jgc.com/en/02_business/03_tech_innovation/02_coal_bio/biomass.html

(71) Nama dan Alamat yang Mengajukan Permohonan Paten :
Sentra HKI UNSRI
Jl. Raya Palembang-Prabumulih Km. 32 Inderalaya,
Kab. Ogan Ilir, Palembang 30662
INDONESIA

(72) Nama Inventor :
Dr. Novia, ST, MT, ID
Hermansyah, S.Si., M.Si., Ph.D, ID

(74) Nama dan Alamat Konsultan Paten :

Pemeriksa Paten : Drs. Said Nafik, M.Si.

Jumlah Klaim : 2

(54) Judul
Invensi : PROSES PEMBUATAN BIOETANOL DARI BIOMAS LIGNOSELULOSA

(57) Abstrak :

Invensi ini berhubungan dengan metode pembuatan bioetanol dari biomassa lignoselulosa dengan pra-perlakuan ozonolisis berbasis bass dan proses Simultan Sakarifikasi Fermentasi (SSF). Lebih khusus lagi invensi ini menggunakan kombinasi perlakuan awal alkali dan ozonolisis untuk menghilangkan kandungan lignin yang ada pada biomassa dan dilanjutkan dengan proses Simultan Sakarifikasi Fermentasi (SSF). Metode pembuatan bioetanol dari biomassa lignoselulosa meliputi langkah-langkah: melakukan pre-treatment biomassa lignoselulosa dengan larutan alkali (NaOH 5%) untuk mendegradasi lignin yang terkandung dalam biomassa lignoselulosa. Variasi ukuran biomassa yang digunakan antara 0,180 mm-0,850 mm. Rasio perbandingan NaOH dan biomassa 1:10 (berat/volume), suhu reaksi 85^oC dan waktu reaksi 1 jam. Kemudian melakukan pretreatment lanjutan menggunakan ozon dengan laju alir oksigen yang digunakan untuk memproduksi ozon adalah 5 liter per menit. Tegangan listrik yang dipakai 9350 volt. Setelah itu melakukan proses *Simultaneous Saccharification and Fermentation* -(SSF) . Waktu Sakarifikasi berlangsung selama 1 hari dan dilanjutkan dengan Fermentasi selama waktu tertentu (3 hari, 5 hari, 6 hari dan 7 hari). Selanjutnya produk bioetanol dipisahkan dari kandungan air dengan proses distilasi pada suhu 80^oC. Bioetanol yang dihasilkan berkisar antara 3,79 - 14,06 % (v/v).

Deskripsi

PROSES PEMBUATAN BIOETANOL DARI BIOMAS LIGNOSELULOSA

5 Bidang Teknik Invensi

Invensi ini berhubungan dengan proses pembuatan bioetanol dari biomas lignoselulosa dengan pra-perlakuan ozonolisis berbasis basa dan proses Simultan Sakarifikasi Fermentasi (SSF).
10 Lebih khusus lagi invensi ini menggunakan kombinasi perlakuan awal alkalin dan ozonolisis untuk menghilangkan kandungan lignin yang ada pada biomas dan dilanjutkan dengan proses Simultan Sakarifikasi Fermentasi (SSF).

15 Latar Belakang Invensi

Indonesia sangat kaya akan biomas lignoselulosa baik berasal dari limbah industri kayu, limbah industri kelapa sawit, limbah industri *pulp*/kertas, sampah organik kota, dan limbah-
20 limbah pertanian seperti jerami padi, ampas tebu dan tongkol jagung. Biomas lignoselulosa mengandung selulosa yang dapat dikonversi menjadi glukosa dan difermentasi lanjut menjadi bioetanol. Biomas lignoselulosa ini sangat melimpah sehingga memiliki potensi besar sebagai bahan baku bioetanol.

Pra-perlakuan (*Pretreatment*) merupakan tahapan yang penting pada proses konversi biomas lignoselulosa menjadi bioetanol. Pra-perlakuan biomas lignoselulosa harus dilakukan sebelum hidrolisis dan fermentasi, sehingga yield bioetanol yang diperoleh lebih tinggi. Tujuan utama proses pra-perlakuan adalah
30 memecah struktur lignin dan merusak struktur kristalin selulosa sehingga meningkatkan kemampuan enzim untuk mengakses selulosa selama tahap hidrolisis (Mosier, et al., 2005, *Bioresource Technology* 96, 673-686). Tanpa proses pra-perlakuan terlebih dahulu, lignoselulosa akan sulit untuk dihidrolisis, karena
35 lignin sangat kuat melindungi selulosa. Oleh karena itu pemutusan pelindung lignin merupakan suatu keharusan sebelum

dilakukan hidrolisis. Teknologi pra-perlakuan dapat membuang zat-zat yang secara struktur dan komposisinya dapat menghalangi proses hidrolisa sehingga memperbaiki laju hidrolisa enzim dan meningkatkan yield (rendemen) gula-gula yang bisa difermentasi dari selulosa atau hemiselulosa (Mosier, et al., 2005, *Bioresource Technology* 96,673-686).

Pra-perlakuan dapat meningkatkan hasil gula yang diperoleh. Gula yang diperoleh tanpa pra-perlakuan kurang dari 20%, sedangkan dengan pra-perlakuan dapat meningkat menjadi 90% dari hasil teoritis (Hamelinck, et al., 2005, *Biomass Bioenergy* 28, 384-41). Pra-perlakuan bisa memiliki dampak yang berbeda pada komponen struktural lignoselulosa, tergantung pada jenis bahan kimia yang digunakan. Metode pra-perlakuan biomas lignoselulosa untuk meningkatkan hasil hidrolisa telah dipelajari oleh beberapa peneliti diantaranya: metode *steam explosion* dan *alkaline peroxide* (Cara, et al., 2006, *Process Biochem.* 41, no. 2, pp. 423-429; hydrothermal pretreatment (Thomsen, et al., 2008, *Bioresource Technology*, 99, no. 10, pp. 4221-4228). Teknologi ini menggunakan kondisi operasi tinggi. Beberapa pra-perlakuan menggunakan asma kuat, bahan beracun yang dapat menghambat proses sakarifikasi dan fermentasi menjadi bioetanol. Pra-perlakuan alkali lebih cocok diterapkan untuk residu pertanian (Taherzadeh dan Karimi, 2008, *International Journal of Molecular Sciences* 9, 1621-1651).

Pra-perlakuan yang dipakai untuk mendegradasi lignin pada invensi ini adalah metode Ozonolisis berbasis basa. *Ozonolysis Pretreatments* lebih efektif dalam pemutusan lignin (Sun & Cheng, 2002, *Bioresource Technology* 83, 1-11). Inventor sebelumnya berkaitan dengan delignifikasi seperti dalam paten US20100159522 A1 yang melakukan *pretreatment* biomas dengan menggunakan *Organosolv* and *ozone pretreatment* untuk menghilangkan kandungan lignin yang ada pada biomas, dengan perlakuan awal alkali. Namun kondisi operasi untuk pra-perlakuan alkali yang digunakannya sangat tinggi (100-220°C) sehingga membutuhkan energi yang cukup besar. Waktu reaksi yang digunakan juga sangat lama yaitu 0,25 -

48 jam. Pada invensi yang diajukan ini, pra-perlakuan alkali dilakukan pada kondisi yang lebih ringan (suhu 85°C selama 1 jam). Pra-perlakuan lanjut (Ozonolisis), dilakukan pada temperatur kamar.

5 Hidrolisis merupakan proses pemecahan polisakarida di dalam biomas lignoselulosa, yaitu selulosa dan hemiselulosa menjadi monomer gula penyusunnya. Pada Hidrolisis yang sempurna, selulosa akan menghasilkan glukosa, sedangkan hemiselulosa menghasilkan beberapa monomer gula pentose (C₅) dan heksosa (C₆).
10 Hidrolisis selulosa menjadi glukosa dapat dilakukan menggunakan cara kimiawi dan hayati. Hidrolisis dengan cara kimiawi menggunakan asam kuat, sedangkan dengan cara hayati menggunakan enzim murni atau mikroorganisme penghasil enzim selulase. Hidrolisis enzimatik memiliki beberapa keuntungan dibandingkan
15 hidrolisis asam, antara lain: tidak terjadi degradasi gula hasil hidrolisis, kondisi proses yang lebih rendah (temperatur rendah, pH netral), berpotensi memberikan hasil yang tinggi, dan biaya pemeliharaan peralatan relatif rendah karena tidak ada bahan yang korosif (Taherzadeh dan Karimi, 2008, *International Journal of Molecular Sciences* 9, 1621-1651).
20

Fermentasi merupakan proses yang melibatkan mikroorganisme untuk menghasilkan suatu produk yang disebut metabolit primer dan sekunder dalam suatu lingkungan yang dikendalikan. Fermentasi melibatkan mikrobia khamir seperti *Saccharomyces*
25 *Cerevisiae*.

Hidrolisis enzimatik dan fermentasi bisa dilakukan bersamaan yang dikenal dengan Simultan Sakarifikasi Fermentasi (SSF). Pada SSF, enzim selulase mengkonversikan polimer karbohidrat menjadi gula yang bisa difermentasi. SSF memberikan
30 yield bioetanol yang lebih tinggi dan memerlukan jumlah enzim yang lebih sedikit, karena penghalang terbentuknya produk akhir selobiosa dan glukosa selama hidrolisis enzimatik digantikan oleh fermentasi yeast (ragi).

35 **Uraian Singkat Invensi**

Invensi ini berhubungan dengan proses pembuatan bioetanol dari biomas lignoselulosa dengan pra-perlakuan ozonolysis berbasis basa dan proses Simultan Sakarifikasi Fermentasi(SSF) yang meliputi langkah-langkah:

- 5 a. Menyiapkan biomas lignoselulosa dengan tahapan sebagai berikut:
 - a.1. Memperkecil ukuran biomas lignoselulosa menggunakan alat pencacah *crusher*,
 - 10 a.2. Mengeringkan biomas dari tahap a.1. dengan menggunakan panas matahari selama 10 hari,
 - a.3. Memanaskan biomas dari tahap a.2. dengan menggunakan pemanas oven pada temperatur 45°C,
 - 15 a.4. Memperkecil ukuran biomas dari tahap a.3. dengan menggunakan *grinder* yang dilanjutkan dengan pengayakan hingga diperoleh ukuran biomas 0,250 mm; 0,425 mm dan 0,850 mm,
 - 20 a.5. Melakukan pra-perlakuan biomas dari tahap a.4. dengan larutan alkali NaOH 5% (berat/volume) pada perbandingan biomas dan larutan NaOH 1:10 (berat/volume) dan temperatur 85°C selama 1 jam,
 - a.6. Menetralkan larutan biomas yang dihasilkan dari tahap a.5. dengan asam sulfat 2 %,
 - 25 a.7. Mengeringkan larutan biomas yang telah netral dengan menggunakan oven pada temperature 105°C hingga kadar air maksimum $\pm 10\%$;
- b. Memproduksi gas ozon melalui tahapan sebagai berikut:
 - b.1. Mengalirkan gas oksigen murni ke dalam filter silica gel,
 - 30 b.2. Membangkitkan ozon melalui ozon generator untuk memperoleh gas ozon, dengan variasi laju alir oksigen 3 liter sampai 5 liter per menit dan variasi tegangan listrik 8500 volt - 9350 volt;
- c. Melakukan ozonolisis biomas yang telah netral dengan gas ozon yang dihasilkan dalam tahap b pada kondisi kamar
35 selama 15 menit;

- d. Melakukan proses *Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF)* dalam reaktor SSF;
- e. Melakukan distilasi untuk memperoleh bioetanol murni.

5 Produk yang dihasilkan dari proses sebagaimana yang diuraikan di atas.

Uraian Singkat Gambar

10 Gambar 1 merupakan diagram alir untuk memproduksi bioetanol dari biomas lignoselulosa.

Uraian Lengkap Invensi

15 Biomas lignoselulosa merupakan salah satu bahan baku bioetanol yang berasal dari limbah industri kayu, limbah industri kelapa sawit, limbah industri *pulp/kertas*, sampah organik kota, dan limbah-limbah pertanian seperti jerami padi, ampas tebu dan tongkol jagung. Untuk menghasilkan bioetanol,
20 pertama-tama biomas lignoselulosa harus dihancurkan menggunakan alat pencacah (*crusher*). Kemudian dikeringkan di panas matahari selama 10 hari. Hal ini dilakukan untuk mempermudah proses size reduction selanjutnya yaitu menggunakan *grinder*. Lalu dipanaskan di oven pada temperatur 45°C untuk menghilangkan kandungan air
25 dalam biomas tersebut. Keseluruhan perlakuan di atas pada prinsipnya dimaksudkan untuk memudahkan penurunan dan/atau penghilangan kandungan air sehingga lebih cepat biomas tersebut menjadi kering. Biomas yang telah kering ini masih memerlukan perlakuan untuk memperkecil lagi dengan menggunakan peralatan
30 *grinder* dan dilanjutkan dengan pengayakan sampai mencapai ukuran yang diinginkan yakni 0,250 mm, 0,425 mm dan/atau 0,850 mm. Pengecilan ukuran biomas dilakukan selain untuk mendapatkan ukuran yang lebih seragam juga untuk memperluas permukaan dari biomas dimaksud sehingga memudahkan dan memaksimalkan
35 pelarutannya.

Merujuk pada Gambar 1, dimana biomasa ditambahkan larutan NaOH (1). Penambahan NaOH ini dimaksudkan untuk mengurangi kandungan lignin yang ada pada biomas. Karena lignin dapat menghambat proses sakarifikasi selanjutnya. Larutan NaOH yang
5 digunakan adalah 5 % (berat/volume). Rasio perbandingan biomas dan larutan NaOH yang digunakan adalah 1:10 (berat/volume). Pra-perlakuan alkali ini dilakukan di dalam reaktor tertutup pada temperatur 85°C selama 1 jam.

Selanjutnya biomas disaring dan dinetralkan dengan larutan
10 asam sulfat 2%. Penyaringan biomas dilakukan agar lignin yang telah diberi pra-perlakuan NaOH terpisah dari padatan biomas. Lalu padatan tersebut dinetralkan, untuk memastikan lignin tersebut benar-benar telah terpisah dari biomas.

Setelah itu, biomas dikeringkan dalam oven pada temperatur
15 105°C hingga berat konstan dengan kadar *moisture* (kelembaban) ± 10 %. Proses pengeringan bertujuan untuk menghilangkan kandungan air yang ada dalam biomas.

Ozon diproduksi dari gas oksigen murni (2) yang dialirkan ke filter yang berisi silika gel (4). Pertimbangan tidak
20 menggunakan udara sebagai bahan baku ozon, karena udara mengandung gas nitrogen yang dapat mengganggu kinerja ozon generator. Laju alir gas oksigen diatur dengan gas *flowmeter* (3). Proses pemisahan oksigen menggunakan filter, agar oksigen yang digunakan untuk proses produk ozon lebih murni. Oksigen
25 yang lebih murni tidak mengganggu kinerja ozon generator.

Filter yang berisi silika gel (4) harus diganti secara berkala. Penggantian tersebut dilakukan pada saat silika gel telah berubah warna. Oleh karena itu filter dibuat transparan. Selanjutnya gas oksigen yang telah melewati filter, dimasukkan
30 ke ozon generator (5). Ozon generator berfungsi untuk memproduksi ozon dari bahan baku oksigen.

Untuk mengoptimalkan pengurangan kadar lignin, maka biomas yang telah diberi pra-perlakuan alkali (NaOH), diberi pra-perlakuan lanjut ozonolisis. Proses Ozonolisis berlangsung
35 melalui reaksi antara ozon dan biomas dengan kelembaban tertentu. Ozon sebagai oksidator kuat mampu mendegradasi lignin

sehingga melepaskan selulosa yang kemudian dapat dihidrolisis menjadi glukosa. *Ozonolysis pretreatment* dilakukan dalam reaktor tabung pada kondisi temperatur kamar selama 15 menit (6). Setelah itu gas ozon dengan variasi laju alir oksigen 3 liter sampai 5 liter per menit dialirkan ke dalam reaktor ozonolisis (6) tersebut. Produksi ozon dikontrol pada tegangan listrik dengan variasi tegangan listrik 8500 volt - 9350 volt. Aliran gas yang keluar reaktor dilewatkan melalui 2% larutan kalium Iodida (KI) untuk membuang ozon yang tidak bereaksi dalam aliran gas (7). Hasil substrat yang sudah diozonolisis dikeringkan pada temperatur 45°C. Proses ozonolisis ini juga dilakukan pada berbagai ukuran diameter partikel biomas yakni 0,250 mm, 0,425 mm, dan/atau 0,850 mm.

Biomass yang telah diberi perlakuan alkali-ozonolisis dimasukkan ke dalam reaktor (8), lalu ditambahkan larutan media yang terdiri atas: ekstrak yeast 5 g/L, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 7,5g/L, K_2HPO_4 3,5 g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,75 g/L, dan $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1 g/L. Perbandingan campuran larutan media dengan biomassa adalah 1 : 10 (berat/volume) dan mengatur pH \pm 5 dengan larutan buffer natrium asetat 50 mM, dan kemudian disterilkan dalam reaktor pada temperatur 121 °C selama 60 menit (Li et al, 2009, *Bioresource Technology* 100, pp.3245-3251). Setelah itu, bubur biomas dibiarkan dingin dan selanjutnya ditambahkan enzim selulase dari *Aspergillus Niger* dengan volume 20 ml. Biomass selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada temperatur 30°C. Setelah itu biomas difermentasi di dalam reaktor tertutup berpengaduk selama variasi waktu 3 - 7 hari, dengan konsentrasi ragi/yeast *Saccharomyces cereviseae* yang digunakan 10% - 40% (volume/berat). Konsentrasi ragi 10% yaitu penambahan ragi dengan 10% total fraksi ragi (5 ml ragi per 50 gram biomas kering).

Selanjutnya larutan dipisahkan dari residu dengan alat *centrifuge* sehingga diperoleh cairan alkohol dan air. Cairan hasil fermentasi lalu dimasukkan ke dalam alat destilasi (9). Temperatur pemanas dijaga pada temperatur 80°C. Proses destilasi dilakukan selama 1,5 - 2 jam sampai etanol tidak menetes lagi.

Destilat etanol (10) yang dihasilkan ditimbang dan dianalisa kadar etanolnya. Etanol yang dihasilkan berkisar antara 3,79 - 14,06 % (volume/volume).

5 Contoh percobaan

Dari percobaan yang dilakukan dengan variasi ukuran biomas yang telah diperlakukan dengan perlakuan pengecilan ukurannya diperoleh kadar lignin sebelum diberi pra-perlakuan adalah sebesar 11,46%. Kadar lignin setelah diberi perlakuan NaOH dan Ozonolisis dapat dilihat pada Table 1.

Tabel 1. Kadar lignin setelah diberi perlakuan NaOH dan Ozonolisis

Ukuran biomas	Kadar Lignin	
	Setelah pra-perlakuan NaOH	Setelah pra-perlakuan Ozonolisis
0,250 mm	4,998	3,087
0,425 mm	6,615	3,528
0,850 mm	8,526	4,263

Pada Tabel 1 di atas dapat dijelaskann bahwa setelah diberi pra-perlakuan NaOH, kadar lignin turun berkisar antara 4,998 % - 8,526 %. Sementara itu, setelah diberi pra-perlakuan Ozonolisis, kadar lignin berkisar antara 3,087 - 4,263. Dari Tabel dapat disimpulkan bahwa bahwa semakin kecil ukuran biomas, maka kadar lignin yang telah diberi perlakuan semakin besar. Hal ini disebabkan karena semakin kecil ukuran biomas, maka luas permukaannya semakin besar sehingga proses pelarutan lignin semakin maksimal.

Melalui sakarifikasi dan fermentasi secara simultan dari biomas setelah perlakuan ozonolisis dapat dihasilkan etanol. Kadar Etanol setelah proses Simultan Sakarifikasi-Fermentasi (SSF) dapat dilihat pada Tabel 2 di bawah.

Tabel 2. Kadar Etanol setelah proses Simultan Sakarifikasi-Fermentasi (SSF)

waktu SSF	Konsentrasi ragi (%)	Kadar etanol (ppm)
3	10	0,101
	20	0,327

	30	0,420
	40	0,686
4	10	0,122
	20	0,230
	30	0,327
	40	0,418
5	10	0,131
	20	0,275
	30	0,696
	40	0,788
6	10	0,179
	20	0,292
	30	0,413
	40	1,200
7	10	1,411
	20	1,419
	30	3,429
	40	3,829

Dari Tabel 2 dapat disimpulkan bahwa semakin besar konsentrasi ragi yang ditambahkan, maka semakin tinggi kadar bioetanol yang dihasilkan. Hal ini disebabkan semakin banyak ragi yang ditambahkan, maka mikroorganismenya yang mengurai glukosa menjadi etanol pun semakin banyak sehingga etanol yang dihasilkan kadarnya semakin besar.

Melalui proses SSF di atas, etanol yang dihasilkan masih perlu dimurnikan lebih lanjut dengan proses pemurnian yang tersedia. Pada invensi ini, pemurnian dilakukan dengan cara distilasi. Setelah dilakukan distilasi diperoleh hasil sebagaimana yang dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Kadar etanol hasil distilasi

waktu SSF	Konsentrasi yeast			
	10%	20%	30%	40%
3	4,488	5,191	7,057	7,355
4	7,192	8,003	9,707	10,761
5	8,301	9,653	12,005	14,060
6	7,246	9,004	10,707	13,330
7	3,785	5,462	6,219	7,246

Dari tabel 3 dapat dilihat bahwa kadar etanol terbesar diperoleh pada penambahan ragi dengan konsentrasi 20 ml sebesar 14,06%. Dari tabel juga terlihat bahwa waktu fermentasi (3 - 7

hari) berpengaruh secara signifikan terhadap kadar bioetanol yang dihasilkan. Semakin lama waktu fermentasi kadar bioetanol akan mengalami kenaikan, namun setelah hari kelima kadar bioetanol pada masing-masing sampel mengalami penurunan. Dapat
5 disimpulkan bahwa proses fermentasi telah mencapai optimum pada waktu 5 hari dengan konsentrasi etanol sebesar 14,06 %. Hal ini disebabkan pada waktu fermentasi 5 hari, *Saccharomyces Cerevisiae* memiliki aktivitas paling besar yang biasanya berada pada fase eksponensial. Fase eksponensial merupakan fase untuk
10 pembentukan produk etanol yang terbesar. Pertumbuhan mikroba terjadi 6 fase, yaitu fase adaptasi, fase permulaan pembiakan, fase pembiakan cepat, fase eksponensial, fase stationer dan fase terakhir adalah fase kematian.

Klaim

1. Proses pembuatan bioetanol dari biomas lignoselulosa meliputi langkah-langkah:

- 5 a. Menyiapkan biomas lignoselulosa dengan tahapan sebagai berikut:
- a.8. Memperkecil ukuran biomas lignoselulosa menggunakan alat pencacah *crusher*,
- 10 a.9. Mengeringkan biomas dari tahap a.1. dengan menggunakan panas matahari selama 10 hari,
- a.10. Memanaskan biomas dari tahap a.2. dengan menggunakan pemanas oven pada temperatur 45°C,
- 15 a.11. Memperkecil ukuran biomas dari tahap a.3. dengan menggunakan *grinder* yang dilanjutkan dengan pengayakan hingga diperoleh ukuran biomas 0,250 mm; 0,425 mm dan 0,850 mm,
- a.12. Melakukan pra-perlakuan biomas dari tahap a.4. dengan larutan alkali NaOH 5% (berat/volume) pada perbandingan biomas dan larutan NaOH 1:10
- 20 (berat/volume) dan temperatur 85°C selama 1 jam,
- a.13. Menetralkan larutan biomas yang dihasilkan dari tahap a.5. dengan asam sulfat 2 %,
- a.14. Mengeringkan larutan biomas yang telah netral dengan menggunakan oven pada temperature 105°C hingga
- 25 kadar air maksimum ±10%;
- c. Memproduksi gas ozon melalui tahapan sebagai berikut:
- b.3. Mengalirkan gas oksigen murni ke dalam filter silica gel,
- b.4. Membangkitkan ozon melalui ozon generator untuk
- 30 memperoleh gas ozon, dengan variasi laju alir oksigen 3 liter sampai 5 liter per menit dan variasi tegangan listrik 8500 volt - 9350 volt;
- f. Melakukan ozonolisis biomas yang telah netral dengan gas ozon yang dihasilkan dalam tahap b pada kondisi kamar
- 35 selama 15 menit;

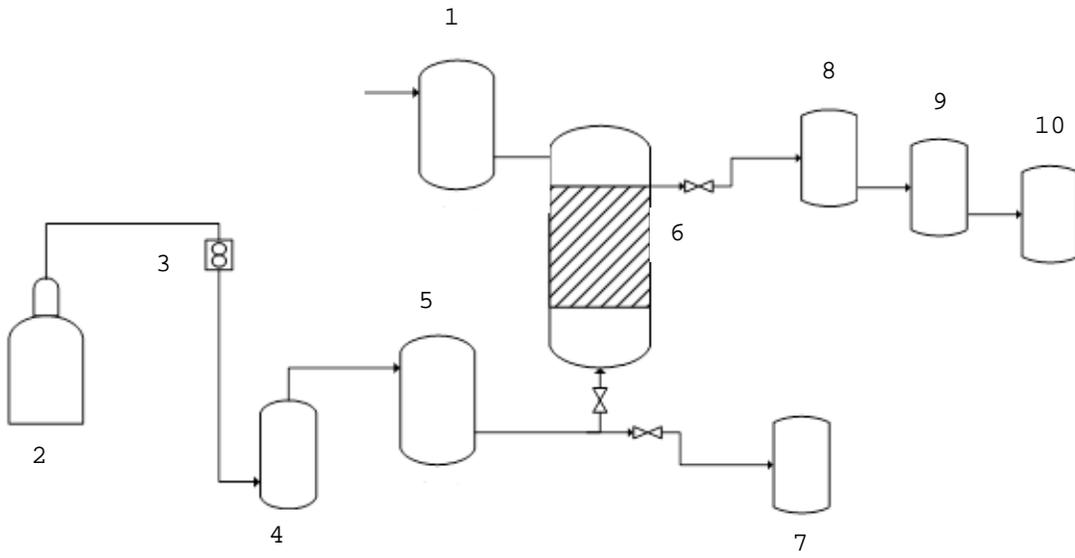
- g. Melakukan proses *Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF)* dalam reaktor SSF;
- h. Melakukan distilasi untuk memperoleh bioetanol murni.

5 2. Bioetanol yang diproduksi melalui proses sebagaimana yang diuraikan dalam klaim 1.

Abstrak**PROSES PEMBUATAN BIOETANOL DARI BIOMAS LIGNOSELULOSA**

5 Invensi ini berhubungan dengan proses pembuatan bioetanol dari biomas lignoselulosa dengan pra-perlakuan ozonolisis berbasis basa dan proses Simultan Sakarifikasi Fermentasi (SSF). Lebih khusus lagi invensi ini menggunakan kombinasi perlakuan awal alkali dan ozonolisis untuk menghilangkan kandungan lignin
10 yang ada pada biomas dan dilanjutkan dengan proses Simultan Sakarifikasi Fermentasi (SSF).

 Metode pembuatan bioetanol dari biomas lignoselulosa meliputi langkah-langkah: Melakukan pretreatment biomas lignoselulosa dengan larutan alkali (NaOH 5%) untuk mendegradasi
15 lignin yang terkandung dalam biomas lignoselulosa. Variasi ukuran biomas yang digunakan antara 0,180 mm-0,850 mm. Rasio perbandingan NaOH dan biomas 1:10 (berat/volume), temperatur reaksi 85°C dan waktu reaksi 1 jam. Kemudian melakukan pretreatment lanjutan menggunakan ozon dengan laju alir oksigen
20 yang digunakan untuk memproduksi ozon adalah 1 liter permenit - 5 liter per menit. Tegangan listrik yang dipakai 8500 volt - 9350 volt. Setelah itu melakukan proses *Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF)*. Waktu Sakarifikasi berlangsung selama 1 hari dan dilanjutkan dengan Fermentasi
25 selama waktu tertentu (3 hari, 5 hari, 6 hari dan 7 hari). Selanjutnya produk bioetanol dipisahkan dari kandungan air dengan proses distilasi pada temperatur 80°C. Bioetanol yang dihasilkan berkisar antara 3,79 - 14,06 % (volume/volume).



Gambar 1