



ISSN 0853 - 0963

# Jurnal Teknik Kimia UNIVERSITAS SRIWIJAYA

Nomor 2, Volume 18, April 2012

- PENGARUH WAKTU PEMASAKAN DAN VOLUME LARUTAN PEMASAK TERHADAP VISKOSITAS PULP DARI AMPAS TEBU**  
Adi Gunawan, Dessy Endiana Sihotang, M. Yusuf Thoha ..... 1
- PENGARUH KOMPOSISI PEMBUATAN BIOBRIKET DARI CAMPURAN KULIT KACANG DAN SERBUK GERGAJI TERHADAP NILAI PEMBAKARAN**  
Agung Setiawan, Okvi Andrio, Pamilia Coniwanti..... 9
- PENGARUH VOLUME ENZIM DAN WAKTU FERMENTASI TERHADAP KADAR ETANOL (BAHAN BAKU TANDAN KOSONG KELAPA SAWIT DENGAN PRETREATMENT ALKALI)**  
Akhmad Sofyan Usmana, Sapta Rianda, Novia..... 17
- PENGARUH RATIO  $H_2SO_4$  DAN WAKTU REAKSI TERHADAP KUANTITAS DAN KUALITAS BIODIESEL DARI MINYAK JARAK PAGAR**  
Dennis Hasahatan, Joko Sunaryo, Leily Nurul Komariah ..... 26
- PENGARUH WAKTU FERMENTASI DAN PERBANDINGAN VOLUME SANTAN DAN SARI NANAS PADA PEMBUATAN VIRGIN COCONUT OIL (VCO)**  
Firman Budiman, Obrin Ambari, Azhary H. Surest..... 37
- PENGARUH MASSA RAGI, JENIS RAGI DAN WAKTU FERMENTASI PADA BIOETANOL DARI BIJI DURIAN**  
Jhonprimen H.S, Andreas Turnip, M. Hatta Dahlan ..... 43
- PENGARUH KONSENTRASI ASAM DAN WAKTU PADA PROSES HIDROLISIS DAN FERMENTASI PEMBUATAN BIOETANOL DARI ALANG-ALANG**  
Osvaldo Z. S., Panca Putra S., M. Faizal ..... 52

---

DITERBITKAN OLEH JURUSAN TEKNIK KIMIA  
FAKULTAS TEKNIK UNIVERSITAS SRIWIJAYA

# PENGARUH VOLUME ENZIM DAN WAKTU FERMENTASI TERHADAP KADAR ETANOL (BAHAN BAKU TANDAN KOSONG KELAPA SAWIT DENGAN PRETREATMENT ALKALI)

Akhmad Sofyan Usmana\*, Sapta Rianda, Novia  
Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Sriwijaya  
Jln. Raya Palembang Prabumulih Km. 32 Inderalaya Ogan Ilir (OI) 30662

## Abstrak

Tandan kosong kelapa sawit (TKKS) merupakan limbah yang belum banyak dimanfaatkan. TKKS memiliki kandungan lignoselulosa yang cukup tinggi, jika diolah akan menghasilkan etanol. Untuk mendegradasi lignin digunakan larutan NaOH (8%). Setelah itu dihidrolisis secara enzimatik menggunakan enzim selulase lalu difermentasi dengan *saccharomyces cerevisiae*. Kadar etanol tertinggi yang dihasilkan sebesar 4,69 % pada volume enzim 5 ml dan waktu fermentasi 5 hari.

**Kata kunci:** etanol, fermentasi, hidrolisis enzimatik, TKKS

## Abstract

Palm fruit empty bunches (PFEB) was the waste which has not been utilized optimally. Meanwhile, PFEB has a fairly high content of lignocelluloses. NaOH (8%) solution was used to degrade PFEB's lignin. Furthermore the raw material was hydrolyzed enzymatically by using the enzyme cellulase then fermented by using yeast *saccharomyces cerevisiae*. The highest concentration of ethanol was 4.69 % in enzyme volume 5 ml and fermentation time 5 day.

**Keywords:** enzymatic hydrolysis, ethanol, fermentation, PFEB

## 1. PENDAHULUAN

Indonesia sangat potensial sebagai penghasil bahan baku untuk bahan bakar alternatif selain minyak bumi. Keterbatasan persediaan cadangan minyak bumi dan isu lingkungan menyebabkan negara-negara di dunia mulai beralih pada produksi atau pemanfaatan bahan bakar nabati.

Etanol merupakan bahan bakar yang telah dimanfaatkan sebagai bahan campuran bensin di negara-negara maju. Teknologi pembuatan etanol sudah sejak lama dikenal. Negara-negara penghasil bioethanol seperti Brazil dan Amerika Serikat mengembangkan industri pengolahan etanol mulai dari industri pengolahan skala kecil sampai dengan industri skala besar.

Etanol yang diproduksi saat ini umumnya berasal dari etanol generasi pertama, yaitu etanol yang dibuat dari gula (tebu, molases) atau pati (jagung, singkong, dll). Bahan-bahan tersebut berasal dari bahan pangan atau pakan. Konversi bahan pangan menjadi etanol merupakan salah

satu penyebab naiknya harga-harga pangan (UKM, 2009).

Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian etanol generasi kedua, yaitu etanol dari biomassa lignoselulosa. Biomassa yang berpotensi menghasilkan etanol antara lain adalah hasil limbah pertanian seperti jerami, gandum, tongkol jagung, dan tandan kosong kelapa sawit. Biomassa lignoselulosa di Indonesia sangat berlimpah dan tidak dimanfaatkan secara optimal seperti tandan kosong kelapa sawit. Pabrik kelapa sawit setiap harinya menghasilkan limbah tandan kosong kelapa sawit yang tidak termanfaatkan sehingga sangat memungkinkan untuk memproduksi etanol dari tandan kelapa sawit kosong.

Tujuan dari penelitian ini adalah meneliti pengaruh volume enzim pada proses hidrolisa enzimatik terhadap kadar etanol yang dihasilkan dan pengaruh waktu fermentasi terhadap kadar etanol.

### Tandan Kosong Kelapa Sawit

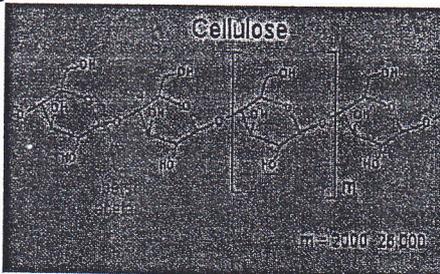
Kebun dan pabrik kelapa sawit menghasilkan limbah padat dan cair dalam jumlah besar yang belum dimanfaatkan secara optimal. Serat dan sebagian cangkang sawit biasanya terpakai untuk bahan bakar boiler di pabrik, sedangkan tandan kosong kelapa sawit (TKKS) yang jumlahnya sekitar 23% dari tandan buah segar yang diolah, biasanya hanya dimanfaatkan sebagai mulsa atau kompos untuk tanaman kelapa sawit (Goenadi et al., 1998). Pemanfaatan dengan cara tersebut hanya menghasilkan nilai tambah yang terendah di dalam rangkaian proses pemanfaatannya.

Pabrik kelapa sawit berkapasitas 60 ton tandan/jam dapat menghasilkan 100 ton limbah. Di Indonesia, terdapat 470 pabrik pengolahan kelapa sawit. Limbahnya mencapai 28,7 juta ton dalam bentuk cairan dan 15,2 juta ton limbah padat per tahun. Padahal limbah sawit kaya akan selulosa dan hemiselulosa yang dapat diolah menjadi etanol. Tandan kosong kelapa sawit masing-masing mengandung 45% selulosa dan 26% hemiselulosa. Tingginya kadar selulosa pada polisakarida tersebut dapat dihidrolisis menjadi gula sederhana dan selanjutnya difermentasi menjadi etanol.

### Selulosa

Selulosa adalah polymer glukosa yang tidak bercabang. Bentuk polymer ini memungkinkan selulosa saling terikat membentuk serat yang sangat kuat. Panjang molekul selulosa ditentukan oleh jumlah unit glucan di dalam polymer, disebut dengan derajat polymerisasi.

Derajat polymerase selulosa tergantung pada jenis tanaman dan umumnya dalam kisaran 2000 - 27000 unit glucan. Selulosa dapat dihidrolisis menjadi glukosa dengan menggunakan asam atau enzim. Selanjutnya glukosa yang dihasilkan dapat difermentasi menjadi etanol.



Gambar 1. Selulosa

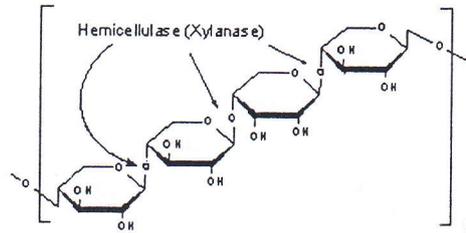
### Hemiselulosa

Hemiselulosa mirip dengan selulosa yang merupakan polymer gula. Namun, berbeda dengan selulosa yang hanya tersusun dari glukosa, hemiselulosa tersusun dari bermacam-

macam jenis gula. Monomer gula penyusun hemiselulosa terdiri dari monomer gula berkarbon 5 (C-5) dan 6 (C-6), misalnya xylosa, mannose, glukosa, galaktosa, arabinosa, dan sejumlah kecil rhamnosa, asam glukoroat, asam metal glukoronat, dan asam galaturonat.

Hemiselulosa lebih mudah dihidrolisis daripada selulosa, tetapi gula C-5 lebih sulit difermentasi menjadi etanol daripada gula C-6.

### Hemiselulose



Gambar 2. Hemiselulosa

### Lignin

Lignin adalah salah satu komponen penyusun tanaman. Secara umum tanaman terbentuk dari selulosa, hemiselulosa, dan lignin. Komposisi bahan penyusun ini berbeda-beda bergantung pada jenis tanaman. Pada batang tanaman, lignin berfungsi sebagai bahan pengikat komponen penyusun lainnya, sehingga suatu pohon bisa berdiri tegak.

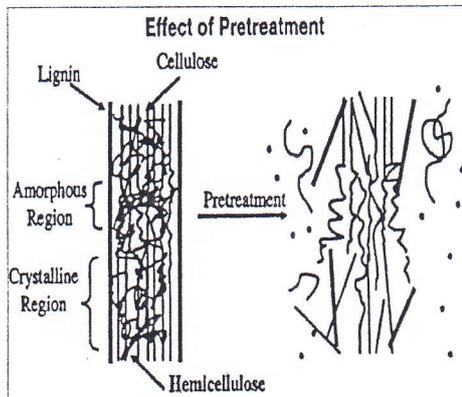
Berbeda dengan selulosa yang terbentuk dari gugus karbohidrat, lignin terbentuk dari gugus aromatik yang saling dihubungkan dengan rantai alifatik, yang terdiri dari 2-3 karbon. Pada proses pirolisa lignin, dihasilkan senyawa kimia aromatis yang berupa fenol.

Lignin adalah molekul kompleks yang tersusun dari unit phenylpropane yang terikat di dalam struktur tiga dimensi. Lignin adalah material yang paling kuat di dalam biomassa. Lignin sangat resisten terhadap degradasi, baik secara biologi, enzimatik, maupun kimia. Karena kandungan karbon yang relatif tinggi dibandingkan dengan selulosa dan hemiselulosa, lignin memiliki kandungan energi yang tinggi.

### Pretreatment Lignoselulosa

Untuk pengembangan teknologi biokonversi dalam skala komersial, pretreatment biomassa lignoselulosa harus dilakukan untuk mendapatkan hasil yang tinggi. Tujuan dari pretreatment adalah untuk membuka struktur lignoselulosa agar selulosa menjadi lebih mudah diakses oleh enzim yang memecah polymer polisakarida menjadi monomer gula. Kalau tidak dipretreatment terlebih dahulu, lignoselulosa sulit untuk dihidrolisis karena lignin sangat kuat melindungi selulosa sehingga sangat sulit

melakukan hidrolisis sebelum memecah pelindung lignin. Gula yang diperoleh tanpa pretreatment kurang dari 20%, sedangkan dengan pretreatment dapat meningkat menjadi 90% dari hasil teoritis (Isroi, 2008). Tujuan pretreatment secara skematis ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Skematis Tujuan Pretreatment

Menurut Sun dan Cheng (2002) metode - metode yang digunakan untuk pretreatment antara lain pretreatment fisika, kimia-fisika, dan kimia.

Pretreatment kimia untuk tandan kosong kelapa sawit menggunakan bahan kimia yang berbeda seperti asam, alkali dan pengoksidasian yaitu peroksida dan ozon. Diantara metode ini, *pretreatment* asam encer menggunakan  $H_2SO_4$  adalah metode yang paling banyak digunakan. Tergantung pada jenis bahan kimia yang digunakan, pretreatment bisa memiliki dampak yang berbeda pada komponen struktural lignoselulosa. *Alkaline pretreatment*, *ozonolysis*, peroksida dan oksidasi pretreatments lebih bisa efektif dalam penghapusan lignin sedangkan pretreatment asam encer lebih efisien dalam solubilisasi hemiselulosa (Sun dan Cheng, 2002). Contoh dari *Alkaline pretreatment* adalah  $Ca(OH)_2$ . Kondisi optimal untuk pre-treatment dengan menggunakan  $Ca(OH)_2$  adalah 0,075 gram  $Ca(OH)_2$ /gram massa kering biomassa, 5 gram air/ gram massa kering biomassa, dan pemanasan pada temperature  $120^\circ C$  selama 4 jam (Kumar dkk, 2009).

### Hidrolisis

Hidrolisis merupakan proses pemecahan polisakarida di dalam biomassa lignoselulosa, yaitu selulosa dan hemiselulosa menjadi monomer gula penyusunnya. Pada hidrolisis sempurna selulosa akan menghasilkan glukosa, sedangkan hemiselulosa menghasilkan beberapa monomer gula pentose ( $C_5$ ) dan heksosa ( $C_6$ ).

Hidrolisis dapat dilakukan secara kimia (asam) atau enzimatik.

Pada metode hidrolisis asam, biomassa lignoselulosa dihidrolisa dengan asam pada suhu dan tekanan tertentu selama waktu tertentu, dan menghasilkan monomer gula dari polimer selulosa dan hemiselulosa. 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. Kendala yang dihadapi yaitu rendahnya laju hidrolisis karena adanya kandungan lignin dalam bahan lignoselulosa. Oleh karena itu dilakukan proses delignifikasi sebelum dihidrolisis.

Beberapa asam yang umum digunakan untuk hidrolisis asam antara lain adalah asam sulfat ( $H_2SO_4$ ), asam perklorat dan HCl. Asam sulfat merupakan asam yang paling banyak diteliti dan dimanfaatkan untuk hidrolisis asam. Hidrolisis asam dapat dikelompokkan menjadi hidrolisis asam pekat dan hidrolisis asam encer (Isroi, 2008).

Aplikasi hidrolisis menggunakan enzim secara sederhana dilakukan dengan mengganti tahap hidrolisis asam dengan tahap hidrolisis enzim selulosa. Hidrolisis enzimatik memiliki beberapa keuntungan dibandingkan hidrolisis asam, antara lain: tidak terjadi degradasi gula hasil hidrolisis, kondisi proses yang lebih rendah (suhu rendah), berpotensi memberikan hasil yang tinggi dan biaya pemeliharaan peralatan relatif rendah karena tidak ada bahan yang korosif. Beberapa kelemahan dari hidrolisis enzimatik antara lain adalah membutuhkan waktu yang lebih lama, dan kerja enzim dihambat oleh produk. Di sisi lain harga enzim saat ini lebih mahal daripada asam sulfat, namun demikian pengembangan terus dilakukan untuk menurunkan biaya dan meningkatkan efisiensi hidrolisis maupun fermentasi (Isroi, 2008).

Pemanfaatan limbah berlignoselulosa dengan menggunakan jasa mikroorganisme dapat menghasilkan enzim ekstraseluler yang mampu mendegradasi bahan berlignoselulosa menjadi fraksi penyusunnya. Enzim selulase adalah enzim yang bisa mengurai selulosa menjadi glukosa, setelah diurai bisa difermentasikan menjadi etanol. Enzim selulase yang dapat merombak bahan berlignoselulosa berupa jerami atau serat.

Produksi komersial selulase pada umumnya menggunakan fungi atau bakteri yang telah diisolasi. Meskipun banyak mikroorganisme yang dapat mendegradasi selulosa, hanya beberapa mikroorganisme yang memproduksi selulase dalam jumlah yang

signifikan yang mampu menghidrolisa kristal selulosa. Fungi adalah mikroorganisme utama yang dapat memproduksi selulase, meskipun beberapa bakteri dan *actinomycetes* telah dilaporkan juga menghasilkan aktivitas selulase. Fungi berfilamen seperti *Tricoderma reesei* dan *Aspergillus niger* adalah penghasil enzim selulase secara komersial. Fungi-fungi tersebut sangat efisien dalam memproduksi enzim selulase (Kumar dkk, 2009).

*Aspergillus niger* merupakan fungi dari filum *ascmycetes* yang berfilamen, mempunyai bulu dasar berwarna putih atau kuning pada media Agar Dextrosa kentang (PDA) dengan lapisan konidiospora tebal berwarna coklat gelap sampai hitam. Kepala konidia berwarna hitam, bulat, cenderung memisah menjadi bagian-bagian yang lebih longgar dengan bertambahnya umur. *Aspergillus niger* tumbuh pada suhu 35 – 37°C (optimum), 6 – 8°C (minimum), 45 – 47°C (maksimum) dan memerlukan oksigen yang cukup (*aerobic*). *Aspergillus niger* digunakan secara komersial dalam produksi asam sitrat, asam glukonat dan pembuatan beberapa enzim seperti selulase, amilase, pektinase, dan amiloglukosidase. *Aspergillus niger* memerlukan mineral (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, MgSO<sub>4</sub>, urea, CaCl<sub>2</sub>·7H<sub>2</sub>O, FeSO<sub>4</sub>, MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O untuk menghasilkan enzim selulase.

## Fermentasi

Fermentasi adalah suatu proses perubahan kimia pada substrat organik, baik karbohidrat, protein, lemak atau lainnya melalui kegiatan enzim atau mikroba spesifik. Ada berbagai macam fermentasi tergantung dari hasil akhir fermentasi tersebut. Salah satu fermentasi yang telah berumur ribuan tahun adalah fermentasi alkohol (etanol).

Fermentasi etanol telah dilakukan sejak ribuan tahun lalu untuk menghasilkan minuman arak, bir dan tuak. Bahan baku yang digunakan adalah anggur dan juga gandum. Pada intinya semua bahan berkarbohidrat dapat difermentasi menjadi etanol, seperti anggur, singkong, ubi jalar, limbah selulosa dan lain sebagainya. Fermentasi ini dilakukan oleh mikroorganisme berupa khamir. Khamir yang sering digunakan pada fermentasi etanol adalah *Saccharomyces cerevisiae*, *S. uvarium*, *Schizosaccharomyces sp.*, *Kluyveromyces sp.* Khamir yang sangat potensial untuk fermentasi etanol adalah *Saccharomyces cerevisiae* karena memiliki daya konversi menjadi etanol sangat tinggi, metabolismenya sudah diketahui, metabolit utama berupa etanol, karbondioksida, dan air dan sedikit menghasilkan metabolit lainnya.

Beberapa organisme seperti *Saccharomyces* dapat hidup, baik dalam kondisi lingkungan cukup oksigen maupun kurang oksigen. Organisme yang demikian disebut aerob fakultatif. Dalam keadaan cukup oksigen, *Saccharomyces* akan melakukan respirasi biasa. Akan tetapi, jika dalam keadaan lingkungan kurang oksigen *Saccharomyces* akan melakukan fermentasi.

Dalam keadaan anaerob, asam piruvat yang dihasilkan oleh proses glikolisis akan diubah menjadi asam asetat dan CO<sub>2</sub>. Selanjutnya, asam asetat diubah menjadi alkohol. Proses perubahan asam asetat menjadi alkohol tersebut diikuti pula dengan perubahan NADH menjadi NAD<sup>+</sup>. Dengan terbentuknya NAD<sup>+</sup>, peristiwa glikolisis dapat terjadi lagi. Dalam fermentasi alkohol ini, dari satu mol glukosa hanya dapat dihasilkan 2 molekul ATP. Sebagian besar dari energi yang terkandung di dalam glukosa masih terdapat di dalam etanol, karena itu etanol sering dipakai sebagai bahan bakar mesin. Ragi dapat meracuni dirinya sendiri jika konsentrasi etanol mencapai 13% (Hal ini menjelaskan kadar maksimum alkohol pada minuman hasil fermentasi seperti anggur).

Meskipun hidrolisa enzimatik dan fermentasi dapat dilakukan secara bersamaan gula hasil dari treatment hidrolisa enzimatik difermentasikan oleh bakteri, ragi, atau jamur. Hal ini sering efektif bila dikombinasikan dengan asam encer atau air panas. Pertumbuhan mikroorganisme selama proses fermentasi dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu (Muljono, 2002)

### 1. Jenis Mikroorganisme

Bila dilihat dari jenisnya, maka terdapat beberapa jenis mikroorganisme yang banyak digunakan dalam proses fermentasi diantaranya adalah khamir, kapang dan bakteri, tetapi tidak semua mikroorganisme tersebut dapat digunakan secara langsung masih diperlukan seleksi untuk menjamin berlangsungnya proses fermentasi. Pemilihan mikroorganisme biasanya didasarkan pada jenis substrat (bahan) yang digunakan sebagai medium, misalnya untuk menghasilkan etanol digunakan khamir *Saccharomyces Cerevisae*. Untuk mengoksidasi alkohol menjadi asam asetat digunakan bakteri *acetobacter acetii*. Seleksi ini bertujuan untuk mendapatkan mikroorganisme yang mampu tumbuh dengan cepat dan mempunyai toleransi tinggi terhadap konsentrasi gula yang tinggi, sehingga dapat menghasilkan kadar etanol yang dikehendaki.

### 2. Lama Fermentasi

Waktu yang dibutuhkan untuk fermentasi biasanya ditentukan pada jenis bahan, jenis ragi, dan jenis gula. Pada umumnya diperlukan waktu 4 – 20 hari untuk memperoleh hasil fermentasi yang sempurna.

### 3. Derajat Keasaman

Pada umumnya pH untuk fermentasi buah-buahan dibutuhkan keasaman optimum antara 5 – 3,0, jika pH diatas 5 atau dibawah 3 maka pertumbuhan mikroba akan terganggu.

### 4. Kadar Gula

Gula yang ditambahkan pada sari buah bertujuan untuk memperoleh kadar etanol yang lebih tinggi, tetapi bila kadar gula terlalu tinggi maka aktifitas khamir dapat terhambat. Kadar gula yang optimum untuk aktifitas pertumbuhan khamir adalah 10 – 18 %.

### 5. Suhu

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

### Etanol

Etanol ini dibuat melalui proses hidrolisis dan fermentasi. Reaksi fermentasi gula menghasilkan etanol adalah



Etanol direkayasa dari biomassa (tanaman) melalui proses biologi (enzimatik dan fermentasi). Bahan baku etanol yaitu

- Bahan berpati, berupa singkong, ubi jalar, tepung sagu, biji jagung, biji sorgum, gandum, kentang, ganyong, garut, ubi dahlia, dan lain-lain.
- Bahan bergula, berupa molases (tetes tebu), nira tebu, nira kelapa, nira batang sorgum manis, nira aren (enau), nira nipah, gewang, nira lontar, dan lain-lain.
- Bahan berselulosa, berupa limbah logging, limbah pertanian, seperti jerami padi, ampas tebu, janggal (tongkol) jagung, onggok (limbah tapioka), batang pisang, serbuk gergaji (gerajen) dan lain-lain

## 2. METODOLOGI

Parameter-parameter yang dipilih pada penelitian ini yaitu

Massa bahan baku: 20 gram

pH : 4,5

Waktu hidrolisis : 24 jam

Volume Enzim : 2 ml, 4 ml, 6 ml, 8 ml, 10 ml

Waktu fermentasi: 1 hari, 2 hari, 3 hari, 4 hari, 5 hari

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- Enzim Selulase berasal dari fungi *Aspergillus niger*
- PDA (*Potato Dextrose Agar*)
- sukrosa 12,5 %
- (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,25 %
- KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,2 %
- C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH 96 %
- Urea
- MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O
- KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>
- Yeast *Saccromyces Cerevisiae*
- NaOH 8 %
- Aquadest
- Acetone
- BSA (Bovine Serum Albumin)
- Luff School
- Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 0,1 N
- Kalium Iodida 1%

### Prosedur Penelitian

- Pembuatan Enzim Selulase
- Pretreatment Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS)
- Proses Hidrolisis Enzimatik
- Proses Fermentasi
- Destilasi (Pemurnian etanol)

### Pembuatan Enzim Selulase

#### 1. Pembenuhan Inokulasi

Mikroba yang digunakan adalah *Aspergillus niger*. Pembenuhan dilakukan pada media PDA (*Potato Dextrose Agar*) secara zig-zag dengan menggunakan kawat inokulasi di dalam cawan petri secara aseptik. Mikroba diinkubasi pada suhu ± 30°C selama 120 jam.

#### 2. Penyiapan Inokulum

- 100 ml media cair (media cair ini terdiri dari sukrosa 12,5%, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,25 %, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,2 %).
- pH media cair diatur dengan HCl hingga pH 3.
- Ujung kawat ose dicelupkan ke dalam etanol 96 % lalu dipanaskan pada api bunsen sampai berwarna merah.
- Biakan *Aspergillus niger* dari media PDA diambil dengan menggunakan kawat ose lalu dicelupkan beberapa saat pada media cair hingga tampak keruh. Pekerjaan ini dilakukan di ruang aseptik.

- Media cair ditutup dengan kapas dan diinkubasi pada suhu  $\pm 30^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam.
3. *Produksi Enzim selulase dalam media cair padat*
- TKKS dicacah dan dikeringkan kemudian dihaluskan.
  - Menimbang 20 gram TKKS dimasukkan ke dalam beaker glass 250 ml dan menambahkan nutrisi urea 0,03 gr,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,005 gr,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,0023 gr.
  - 80 ml aquadest ditambahkan dalam media tersebut
  - pH diatur hingga pH 5 lalu media disterilkan di dalam autoclave pada suhu  $120^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit.
  - Media yang telah disterilkan kemudian didinginkan.
  - Suspensi spora aspergillus niger ditambahkan sebanyak 10 ml pada media tersebut.
  - Media diinkubasi pada suhu  $\pm 30^{\circ}\text{C}$  dengan waktu fermentasi 96 jam.
4. *Pengambilan Enzim*
- Hasil fermentasi diekstrak dengan aquadest sebanyak 100 ml lalu di letakkan pada rotari shaker 150 rpm selama 1 jam
  - Cairan hasil fermentasi dipisahkan dengan menggunakan kertas saring.
  - Enzim yang diperoleh kemudian disimpan di lemari pendingin dan siap digunakan.

### Analisa Produk

#### 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.

#### Penentuan Kadar Glukosa

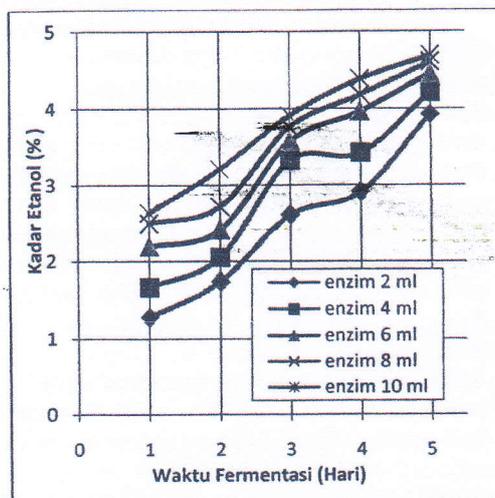
Analisa kadar glukosa digunakan Dengan Metode Luff Schoorl.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 3.1. Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Etanol Pada Berbagai Variasi Volume Enzim

Jumlah enzim yang ditambahkan pada hidrolisis enzimatis bervariasi, yaitu 2 ml, 4ml, 6 ml, 8 ml, dan 10 ml. Gambar 4 menunjukkan pengaruh waktu fermentasi terhadap kadar etanol pada berbagai variasi volume enzim. Dari gambar 4 terlihat bahwa semakin lama waktu fermentasi kadar etanol akan mengalami kenaikan. Kenaikan kadar etanol ini terjadi

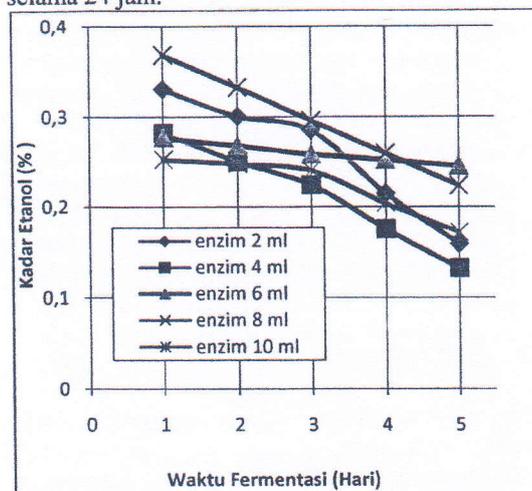
karena lama waktu fermentasi berhubungan erat dengan kurva pertumbuhan mikroba. Pertumbuhan mikroba terjadi dari enam fase, yaitu fase adaptasi, fase permulaan pembiakan, fase pembiakan cepat, fase konstan atau stasioner dan fase terakhir adalah fase kematian.



Gambar 4. Pengaruh waktu fermentasi terhadap kadar etanol pada berbagai variasi volume enzim

### 3.2. Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Glukosa Pada berbagai Variasi Volume Enzim

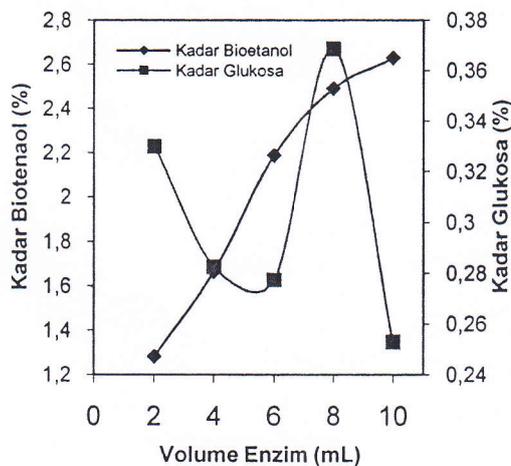
Pengaruh waktu fermentasi terhadap kadar glukosa pada berbagai variasi volume enzim dapat dilihat pada gambar 5. Massa TKKS yang digunakan 20 gram dan waktu hidrolisis selama 24 jam.



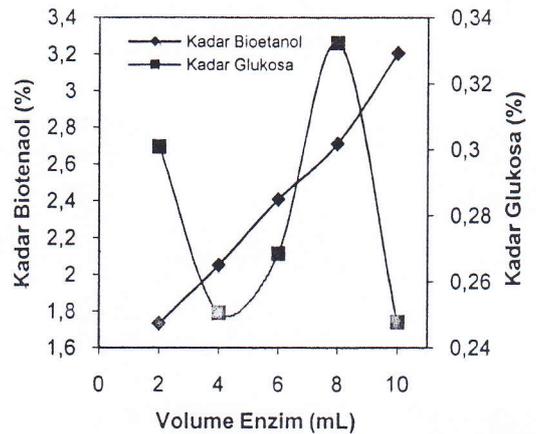
Gambar 5. Pengaruh waktu fermentasi terhadap kadar glukosa pada berbagai variasi volume enzim

Gambar 5 menunjukkan bahwa selama 5 hari fermentasi, kadar glukosa semakin menurun seiring dengan bertambahnya waktu fermentasi. Hal ini menunjukkan bahwa glukosa hasil hidrolisis telah difermentasi secara sempurna menjadi etanol. Kadar gula cenderung menurun disebabkan gula yang terdapat dalam media digunakan sebagai sumber karbon bagi sel khamir untuk mensintesis energi melalui proses fermentasi etanol. Dari gambar 5 juga terlihat bahwa untuk waktu fermentasi yang sama, penambahan jumlah enzim tidak selalu mengakibatkan kadar glukosa bertambah atau berkurang. Hal ini mungkin disebabkan oleh penentuan nilai PH sebelum penambahan enzim yang tidak teliti, metode penentuan kadar glukosa yang kurang tepat, dan variasi volume enzim yang terlalu kecil. Sebaiknya jumlah volume enzim yang ditambahkan lebih dari 7 ml.

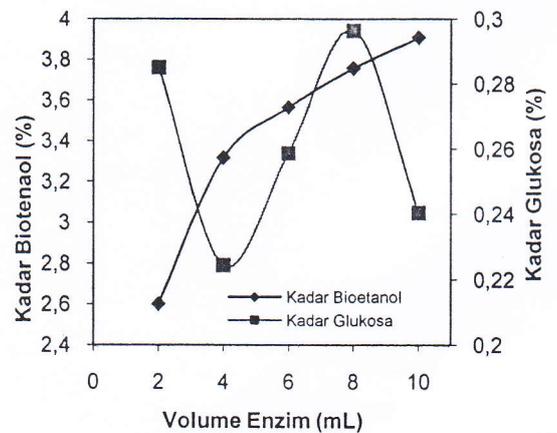
### 3.3. Hubungan Antara Kadar Glukosa Dan Kadar Etanol Dengan Volume Enzim



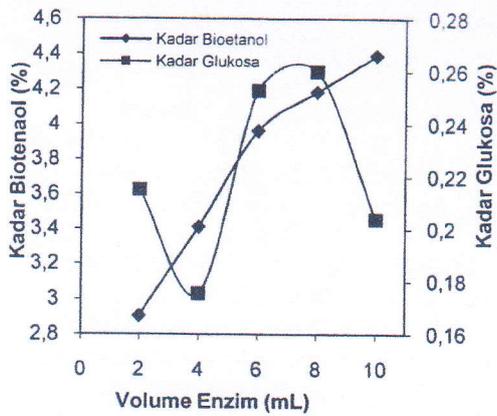
Gambar 6. Hubungan antara kadar glukosa, kadar etanol dengan volume enzim yang ditambahkan pada waktu fermentasi 1 hari.



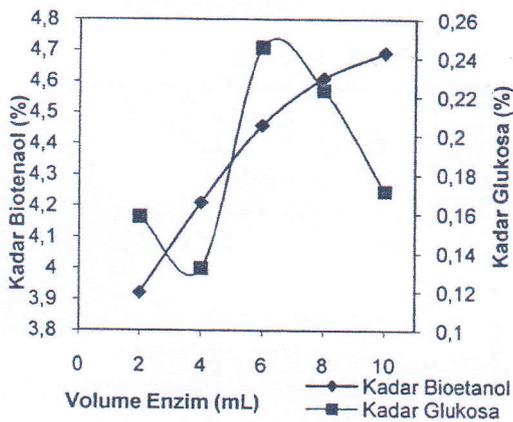
Gambar 7. Hubungan antara kadar glukosa, kadar etanol dengan volume enzim yang ditambahkan pada waktu fermentasi 2 hari.



Gambar 8. Hubungan antara kadar glukosa, kadar etanol dengan volume enzim yang ditambahkan pada waktu fermentasi 3 hari.



Gambar 9. Hubungan antara kadar glukosa, kadar etanol dengan volume enzim yang ditambahkan pada waktu fermentasi 4 hari.



Gambar 10. Hubungan antara kadar glukosa, kadar etanol dengan volume enzim yang ditambahkan pada waktu fermentasi 5 hari

Dari kelima gambar di atas terlihat bahwa tampak adanya hubungan antara kadar etanol, kadar glukosa dan volume enzim yang ditambahkan yaitu semakin bertambahnya volume enzim maka semakin besar pula kadar etanol yang diperoleh. Namun berbeda untuk kadar glukosa, semakin besar volume enzim ditambahkan, maka kadar glukosa semakin berkurang sampai volume 4 ml. Setelah melewati volume 4 ml terjadi kenaikan glukosa kembali sampai pada volume 6 dan 8 ml. Pada penambahan volume enzim 10 ml kadar glukosa kembali mengalami penurunan. Hal ini disebabkan volume enzim yang lebih tinggi akan mengubah komposisi selulosa, dan hemiselulosa menjadi glukosa dan senyawa gula lainnya.

### 3.4. Analisa Kadar Etanol Dengan Menggunakan Gas Chromatograph

Sampel yang dianalisa menggunakan Gas Chromatograph merupakan 5 sampel yang memiliki kadar etanol tertinggi pada saat analisa menggunakan Piknometer.

#### Perhitungan:

Tabel 3. Nilai Larutan Baku Etanol

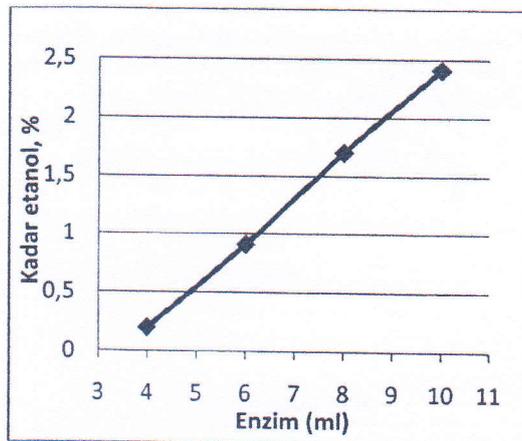
Larutan Baku	RT	AREA	TYPE	AR/HT	AREA %
Etanol	1,88	4196400	PB	0,207	98,426

Tabel 4. Hasil Data Sampel Setelah Dilakukan Analisa Gas Chromatograph

Identitas Cuplikan	RT	AREA	TYPE	AR/HT	AREA %
Sampel 10	1,75	8148	PB	0,27 2	100
Sampel 24	2,13	37700	PB	0,25 4	97,273
Sampel 15	1,84	38106	PB	0,22 7	85,487
Sampel 20	2,18	71398	PB	0,44 9	77,686
Sampel 25	2,18	101140	PB	0,29 2	89,778

#### Keterangan :

- RT : Waktu retensi
- Area : Luas puncak
- Type : Tipe puncak
- Area% : Persen senyawa dalam campuran



Gambar 11. Grafik Kadar Etanol Berdasarkan Analisa Gas Chromatograph

Dari analisa menggunakan *Gas Chromatograph* (GC) diperoleh perbedaan nilai dengan analisa menggunakan piknometer. Hal ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor:

- 1) Analisa piknometer bersifat kotor, nilai hasil analisa merupakan densitas campuran sehingga lebih besar jika dibandingkan dengan analisa GC. Sedangkan dengan analisa GC, hanya etanol yang dideteksi untuk diukur nilainya.
- 2) Jarak waktu antara analisa piknometer dengan analisa GC cukup lama.

#### 4. KESIMPULAN

Dari penelitian yang dilakukan, dapat diambil kesimpulan antara lain :

- 1) Semakin banyak jumlah enzim yang digunakan, maka kadar etanol yang dihasilkan semakin tinggi.
- 2) Semakin lama waktu fermentasi, maka kadar etanol yang dihasilkan semakin tinggi.
- 3) Kondisi penelitian terbaik adalah pada saat penambahan jumlah enzim 10 ml dan waktu fermentasi 5 hari, dengan kadar etanol yang dihasilkan sebesar 4,69 %.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Cahyono, Eko. 2010. *Pembuatan Etanol dari Ampas Tebu*. Diakses pada 23 April 2011, <http://www.dokterkimia.com/2010/06/pembuatan-etanol-dari-ampas-tebu.html>
- Daru., Meilinda. 2011. *Pembuatan Bioetanol dari Tandan Kosong Kelapa Sawit Menggunakan Metode Hidrolisis Enzimatik dan Fermentasi*. Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik UNSRI: Indralaya.
- Goenadi, Didiek H., Wayan R. Susila, dan Isroi. 2005. *Pemanfaatan Produk Samping Kelapa Sawit Sebagai Sumber Energi Alternatif Terbarukan*. Diakses pada 28 November 2010 dari <http://isroi.wordpress.com/2008/03/12/pemanfaatan-produk-samping-kelapa-sawit-sebagai-sumber-energi-alternatif-terbarukan.html>
- Gusmailina. 2010. *Prospek Bioethanol sebagai Pengganti Minyak Tanah*. Diakses pada 23 April 2011 dari <http://www.indobioethanol.com>
- Hidayat, Achmad N. 2008. *Produksi Etanol*. Diakses pada 29 November 2010 dari <http://ujangky.blogspot.com/2008/09/produksi-etanol.html>
- Ikhsan., Zamzami. 2011. *Pengaruh Variabel Konsentrasi Asam dan Basa pada Proses Delignifikasi Terhadap Kadar Etanol yang Dihasilkan dari Tandan Kosong Kelapa Sawit*. Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik UNSRI: Indralaya
- Isroi. 2008. *Potensi Biomassa Lignoselulosa di Indonesia Sebagai Bahan Baku Etanol: Tandan Kosong Kelapa Sawit*. Diakses pada 20 April 2011 dari <http://isro.wordpress.com>
- Kumar, P., Barrett, D.M., Delwiche, M.J., and Stroeve, P. 2009. *Methods for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Efficient Hydrolysis and Biofuel Production*, Ind. Eng. Chem. Res., 48(8), 3713-3729.
- Muljono, Judoamidjojo, Darwis, Aziz, A., dan Gumbira, E. 2002. *Teknologi Fermentasi*. Rajawali pers: Jakarta
- Orpahdt, Charles E. 2003. *Organic and Biochemistry*. Diakses pada 23 April 2011, <http://www.elmhurst.edu/~chm/vchembook>
- Sari, Ajeng Arum, dan Vera Barlianti. 2009. *Desain Analisa Pemaparan Daur Hidup Etanol dari Tandan Kosong Kelapa Sawit*. Berita IPTEK 2009: 42-47
- Sun, Y., dan Cheng, J., 2002. *Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review*. Bioresource Technology 83: 1 – 11
- UKM, B. 2009. *Bahan Bakar Nabati (Etanol)*. Khalifah Niaga Lantabura: Yogyakarta
- Willis, Alex., et all. 2007. *Pyrolysis Chemistry*. Diakses pada 28 November 2010 dari <http://blogs.princeton.edu/chm333/f2006/biomass>
- Zuhandri., Ivan. 2011. *Pengaruh Massa Ragi dan Lama Fermentasi Terhadap Pembentukan Etanol dari Ampas Kelapa*. Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik UNSRI: Indralaya.