

PENGARUH WAKTU DELIGNIFIKASI TERHADAP LIGNIN DAN WAKTU SSF TERHADAP ETANOL PEMBUATAN BIOETANOL DARI SEKAM PADI

Novia*, Destarani Wijaya, Putri Yanti

*Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Sriwijaya
Jl. Raya Palembang-Prabumulih Km. 32 Indralaya Ogan Ilir, Sumatera Selatan 30662
Email: noviasumardi@yahoo.com

Abstrak

Penggunaan bahan bakar minyak secara terus menerus dapat menyebabkan krisis energi dan akan mempengaruhi kehidupan manusia. Untuk mengatasi krisis ini diperlukan energi alternatif yang dapat menjanjikan di masa yang akan datang. Bioetanol ialah salah satu contoh energi alternatif yang dapat dihasilkan dari konversi biomassa ke bioenergi. Sekam padi merupakan limbah hasil pertanian yang hanya dimanfaatkan sebagai pakan ternak atau dibuang secara langsung ke alam. Namun, ternyata sekam padi memiliki kandungan selulosa cukup tinggi yang dapat dijadikan sebagai bahan baku pembuatan bioetanol. Pada penelitian ini dilakukan pembuatan bioetanol dari sekam padi melalui *alkaline-acid pretreatment*, kemudian proses hidrolisis dan fermentasi yang dilakukan secara bersamaan (*Simultaneous Saccharification and Fermentation*). Variabel yang dikaji adalah waktu delignifikasi 30, 45, 60, 75, 90 menit dan waktu SSF 3, 4, 5, 6, 7 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar lignin terendah diperoleh pada waktu delignifikasi 90 menit yaitu 1,09%, kadar selulosa tertinggi pada waktu delignifikasi 75 menit yaitu 78,67%, kadar hemicelulosa terendah pada waktu delignifikasi 30 menit yaitu 0,12%, dan kadar etanol tertinggi didapatkan pada waktu SSF 5 hari yaitu 1%.

Kata kunci: *Acid pretreatment, alkaline pretreatment, bioetanol, sekam padi.*

Abstract

The use of fuel oil continuously can cause energy crisis and will affect the human life. To overcome the crisis, it is needed a promising alternative energy. Bioethanol is one of an alternative energy that can be produced from the conversion of biomass to bioenergy. Rice husk is an agricultural waste which is only used as fodder or discharged into nature. However, rice husks contain high cellulose which can be used as raw material for bioethanol. In this research, the produce of bioethanol from rice husk through alkaline pretreatment, acid pretreatment, then the hydrolysis and fermentation are conducted simultaneously (Simultaneous saccharification and Fermentation). The variables studied were acid pretreatment time of 30, 45, 60, 75, 90 minutes and fermentation time 3, 4, 5, 6, 7 days. The results showed that the lowest lignin was obtained from delignification time 90 minutes is 1,09%, the highest cellulose was obtained from delignification time 75 minutes is 78,67%, the lowest hemicellulose was obtained from delignification time 30 minutes is 0,12%, and the highest ethanol was obtained from SSF 5 days is 1%.

Keywords: *Acid pretreatment, alkaline pretreatment, bioethanol, rice husk.*

1. PENDAHULUAN

Penggunaan bahan bakar minyak bumi (BBM) di berbagai negara terus mengalami peningkatan. Hal ini tidak hanya terjadi di negara-negara maju saja, namun di negara berkembang seperti Indonesia juga mengalami peningkatan. Bahan bakar minyak bumi ini merupakan sumber daya alam yang tidak dapat

diperbaharui sehingga jika penggunaannya semakin meningkat maka akan terjadi krisis dan tentunya itu akan mempengaruhi kehidupan manusia. Untuk mengatasi krisis bahan bakar minyak bumi diperlukan energi alternatif yang prospeknya dapat menjanjikan di masa yang akan datang. Saat ini telah banyak energi

alternatif yang berkembang, salah satunya adalah bioetanol.

Bioetanol adalah etanol yang diproduksi dengan cara fermentasi menggunakan bahan baku nabati. Bioetanol dapat dibuat dari biomassa yang mengandung gula, pati, atau selulosa yang telah diproses menjadi glukosa. Etanol atau etil alkohol (lebih dikenal dengan alkohol) adalah cairan tak berwarna dengan karakteristik antara lain mudah menguap, mudah terbakar, larut dalam air, tidak karsinogenik, dan jika terjadi pencemaran tidak memberikan dampak lingkungan yang signifikan (Novia, *et al.*, 2014).

Sekam padi adalah limbah hasil pertanian yang kadang hanya dimanfaatkan sebagai pakan ternak. Namun sebenarnya, sekam padi ini dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan bioetanol karena sekam padi memiliki kandungan selulosa yang cukup tinggi. Ketersediaan sekam padi yang cukup melimpah di beberapa daerah di Indonesia dapat dijadikan peluang untuk pembuatan bioetanol.

Untuk mengolah sekam padi menjadi bioetanol diperlukan proses delignifikasi yang bertujuan untuk menghilangkan kandungan lignin dari sekam padi. Lignin merupakan salah satu penyusun tumbuhan yang melindungi selulosa dan hemiselulosa. Lignin ini perlu dihilangkan agar selulosa dan hemiselulosa dapat dikonversi menjadi bioetanol. Selama ini delignifikasi biomassa masih belum memperlihatkan penurunan kadar lignin yang cukup signifikan. Seperti pada penelitian Maria dkk tahun 2011 dan penelitian Novia dkk tahun 2014, penurunan kadar lignin masing-masing hanya 10.6% dan 4,7250%. Oleh karena itu, pada penelitian ini digunakan dua tahap proses delignifikasi yaitu *alkaline- acid pretreatment* dan diharapkan penurunan kadar lignin yang lebih besar.

Selain proses delignifikasi, pembuatan bioetanol ini juga dilakukan proses fermentasi yang bertujuan untuk mengubah glukosa menjadi etanol. Pada penelitian ini dilakukan metode *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF) dengan variasi waktu 3,4,5,6 dan 7 hari untuk mengetahui waktu SSF yang baik dalam pembuatan bioetanol yang dilakukan dengan dua tahap delignifikasi.

Sekam Padi

Sekam padi merupakan kulit padi yang terpisah dari butir beras. Sekam padi diperoleh dari proses penggilingan padi, kulit padi akan terpisah dari butir beras dan menjadi bahan sisa atau limbah hasil samping penggilingan padi.

Sekam padi dapat dijadikan sebagai salah satu bahan baku yang berpotensi untuk menghasilkan bioetanol. Selulosa dalam sekam padi dapat dihidrolisis menjadi glukosa dengan mudah. Glukosa ini kemudian dikonversikan menjadi etanol melalui proses fermentasi (Binod, *et al.*, 2010).

Selain mengandung selulosa, sekam padi juga mengandung hemiselulosa dan lignin. Selulosa, hemiselulosa, dan lignin merupakan unsur organik yang terdapat dalam sekam padi. Selain itu, sekam padi juga mengandung unsur anorganik seperti abu serta beberapa senyawa-senyawa lainnya. Berikut beberapa senyawa yang terkandung dalam sekam padi:

Tabel 1. Komposisi Kimia Sekam Padi

No.	Komposisi	% Berat
1.	Air	11,35–32,40
2.	Protein kasar	1,70–7,26
3.	Lemak	0,38–2,98
4.	Ekstrak nitrogen bebas	24,70–38,79
5.	Serat	31,37–49,92
6.	Abu	13,16–29,04
7.	Pentosa	16,94–21,95
8.	Selulosa	34,34–43,80
9.	Lignin	21,40–46,97

(Sumber: Ismunadji, 1988 dalam Sihombing)

Selulosa

Selulosa adalah polimer glukosa yang tidak bercabang. Bentuk polimer ini memungkinkan selulosa saling menumpuk atau terikat menjadi bentuk serat yang sangat kuat. Kebanyakan selulosa berasosiasi dengan lignin sehingga sering disebut sebagai lignoselulosa.

Panjang molekul selulosa yang disebut dengan derajat polimerisasi ditentukan oleh jumlah unit *glucan* di dalam polimer. Derajat polimerisasi 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 (Isroi, 2008).

Hemiselulosa

Hemiselulosa mirip dengan selulosa yang merupakan polimer 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 glukorolat, asam metal glukoronat, dan asam galaturonat. *Xylosa* adalah salah satu gula C-5 dan

merupakan gula terbanyak kedua setelah glukosa. Kandungan hemiselulosa di dalam biomassa yang tergabung dengan lignoselulosa berkisar antara 11-37 % (berat kering biomassa). Hemiselulosa lebih mudah dihidrolisis daripada selulosa, tetapi gula C-5 lebih sulit difermentasi menjadi etanol dari pada gula C-6.

Lignin

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 relative tinggi dibandingkan dengan selulosa dan hemiselulosa, lignin memiliki kandungan energi yang tinggi (Isroi, 2008).

Pretreatment

Proses *pretreatment* biomassa lignoselulosa merupakan proses pemecahan ikatan lignin, dimana lignin mengikat hemiselulosa dan selulosa. *Pretreatment* dilakukan untuk membuka struktur lignoselulosa agar selulosa menjadi lebih mudah diakses oleh enzim yang memecah polimer polisakarida menjadi monomer gula. Jika tidak dilakukan *pretreatment* terlebih dahulu, lignoselulosa sulit untuk dihidrolisis karena ikatan lignin sangat kuat melindungi selulosa, sehingga dikhawatirkan akses enzim ketika proses hidrolisa tidak terjadi dengan baik.

Pretreatment lignoselulosa dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu secara kimiawi, fisis, dan mikrobiologis.

- 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.

Hidrolisis

Hidrolisis merupakan proses pemecahan polisakarida di dalam biomassa lignoselulosa, yaitu selulosa dan hemiselulosa menjadi monomer gula penyusunnya. Hidrolisis yang sempurna ialah hidrolisis selulosa menghasilkan glukosa dan hemiselulosa menghasilkan beberapa monomer gula pentose (C5) dan heksosa (C6).

Hidrolisis dapat dilakukan secara kimia (asam) atau enzimatik. (Isroi, 2008)

- 1) Hidrolisis Kimia
Selulosa pertama-tama diperlakukan dengan asam ditambah panas dan tekanan, kemudian diairi yang akan membebaskan komponen gulanya. Metode ini tidak umum digunakan karena produk samping yang beracun, yang seringkali mengurangi efektivitas tahap berikutnya.
- 2) Hidrolisis enzimatik
Proses ini mirip dengan yang terjadi di dalam lambung binatang pemamah biak seperti sapi. Enzim yang mirip dengan selulosa dan telah disintesis secara buatan dengan bantuan bakteri dan jamur digunakan untuk memecah selulosa menjadi komponen gulanya.

Fermentasi

Fermentasi adalah suatu kegiatan penguraian bahan karbohidrat yang tidak menimbulkan bau busuk dan menghasilkan gas karbondioksida. Proses fermentasi yang busuk merupakan fermentasi yang terdapat kontaminan selama terjadinya reaksi. Fermentasi membentuk alkohol dari gula dilakukan oleh suatu mikroba, contohnya *Saccharomyces cerevisiae*.

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 mikro-organisme dilakukan berdasarkan substrat yang akan difermentasi.
- 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.
- 4) Kadar Gula
Gula yang ditambahkan berguna sebagai nutrisi untuk mikroba agar fermentasi dapat terjadi secara maksimal. Kadar gula yang optimum adalah 10 sampai 18 %.
- 5) Suhu
Suhu untuk tiap-tiap golongan memiliki suhu pertumbuhan optimum yang berbeda-beda, untuk mikroba suhu optimumnya 19–32°C.

Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF)

Secara umum sintesis bioetanol yang berasal dari biomassa terdiri dari dua tahap utama, yaitu hidrolisis dan fermentasi. Pada metode terdahulu proses hidrolisis dan fermentasi dilakukan secara terpisah atau *Separated Hydrolysis and Fermentation (SHF)* dan yang terbaru adalah proses *Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF)* atau Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak (SFS).

SSF pertama kali dikenalkan oleh Takagi et al, 1977, yaitu kombinasi antara hidrolisis menggunakan enzim selulase dan *yeast S. cerevisiae* untuk fermentasi gula menjadi etanol secara simultan. Proses SSF sebenarnya hampir sama dengan dengan proses yang terpisah antara hidrolisis dengan enzim dan proses fermentasi, hanya dalam proses SSF hidrolisis dan fermentasi dilakukan dalam satu reaktor.

2. METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh waktu delignifikasi dan waktu SSF terhadap kadar lignin dan etanol pada pembuatan bioetanol dari sekam padi. Penelitian dilakukan di Laboratorium Bioproses Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Sriwijaya, Inderalaya.

Alat dan Bahan

Alat

- 1) *Blender*
- 2) *Autoclave*
- 3) Erlenmeyer
- 4) Beker gelas
- 5) Gelas ukur
- 6) Labu ukur
- 7) Cawan porselen
- 8) Kertas saring
- 9) Kertas pH dan pH meter
- 10) Pipet volume
- 11) Pipet tetes

- 12) Corong kaca
- 13) Spatula
- 14) Batang pengaduk
- 15) *Hot plate*
- 16) Alat titrasi
- 17) *Water bath*
- 18) *Screening*
- 19) *Gas Chromatography (GC)*
- 20) Corong buchner
- 21) Erlenmeyer hisap
- 22) Pompa vakum

Bahan

- 1) Sekam padi
- 2) NaOH
- 3) H₂SO₄
- 4) Enzim selulase dari *Aspergillus sp.*
- 5) Fermipan
- 6) *Yeast*
- 7) Glukosa
- 8) Pepton
- 9) Alkohol
- 10) *Aquadest*
- 11) KI
- 12) Na₂S₂O₃
- 13) Amilum
- 14) KmnO₄

Prosedur Penelitian

Sekam padi yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari *milling unit* padi di Desa Negeri Pakuan Kecamatan Buay Pemuka Peliung, Kabupaten Ogan Komering Ulu, Provinsi Sumatera Selatan

Variabel -Variabel Penelitian

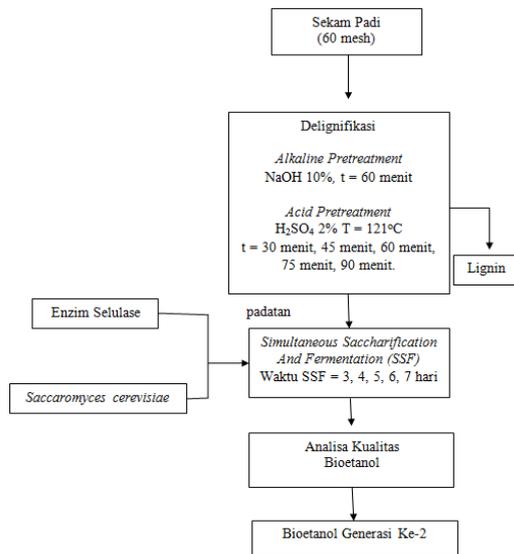
Variasi yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu:

- 1) Variasi waktu delignifikasi: 30 menit, 45 menit, 60 menit, 75 menit dan 90 menit.
- 2) Variasi waktu pada *Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF)*: 3 hari, 4 hari, 5 hari, 6 hari dan 7 hari.

Persiapan Bahan Baku

- 1) Biomassa berupa sekam padi diperoleh dari *milling unit* padi di desa Tanjung Raja, Ogan Ilir, Sumatera Selatan.
- 2) Sekam padi kering dihaluskan dengan cara di *blender* sampai halus. Lalu diayak menggunakan pengayak berukuran 60 mesh. Lalu dianalisa kadar selulosa, hemiselulosa, dan ligninnya.

Diagram Alir Penelitian



Gambar 1. Diagram Alir Penelitian

Deskripsi Proses

Alkaline Pretreatment

- 1) Sekam padi kering dihaluskan menggunakan *blender* dan diayak lolos 60 mesh.
- 2) Serbuk sekam padi ditimbang sebanyak 70 gr dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer berukuran 1000 ml.
- 3) Tambahkan 700 ml larutan NaOH 10% kemudian diinkubasi dalam *water bath* pada suhu 85°C selama 1 jam.
- 4) Sampel disaring dan dicuci hingga pH netral kemudian dikeringkan dalam *oven* pada suhu 105°C.
- 5) Analisa kadar selulosa dan hemiselulosa dengan metode *Chesson Datta* dan kadar lignin dengan metode kappa.

Acid pretreatment

- 1) Serbuk sekam padi hasil proses *alkaline pretreatment* kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer 500 ml dan ditambahkan 200 ml H₂SO₄ 2% lalu tutup rapat erlenmeyer dengan gabus.
- 2) Sampel dipanaskan dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 30, 45, 60, 75, 90 menit.
- 3) Bubur sekam padi disaring untuk memisahkan airnya, lalu tambahkan 100 ml NaOH 4% kedalam sampel dan tutup rapat Erlenmeyer.
- 4) Panaskan kembali pada suhu 121°C selama 30 menit. Fase solidnya kemudian dicuci dengan air beberapa kali.

- 5) Analisa kadar selulosa dan hemiselulosa dengan metode *Chesson Datta* dan kadar lignin dengan metode kappa.

Penyiapan Prekultur *Saccharomyces Cerevisiae*

- 1) Sebanyak 1 gr fermipan ditimbang, dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambah 9 ml akuadest steril (10⁻¹) lalu dikocok hingga homogen.
- 2) Dari tabung (pengenceran 10⁻¹) diambil 1 ml dengan pipet ukur lalu dipindahkan ke tabung kedua dan ditambah dengan 9 mL akuadest steril (pengenceran 10⁻²). Hal yang sama dilakukan sampai pengenceran 10⁻⁸.
- 3) *Saccharomyces cerevisiae* pada pengenceran 10⁻⁸ dibiakkan pada medium PDA.
- 4) Diambil 1 ml larutan pengenceran 10⁻⁸, kemudian disebar pada permukaan medium secara merata, medium didiamkan selama 48 jam sampai koloninya tumbuh.
- 5) Untuk pemurniannya 1 jarum ose koloni diinokulasikan secara zig zag pada petridish yang berisi medium PDA, didiamkan selama 72 jam.
- 6) Pembuatan inokulum pada agar miring (3 ose) dikembangkan pada 100 ml medium peremajaan.
- 7) Inokulum tersebut kemudian ditempatkan pada inkubator pengaduk pada 220 rpm selama 12 jam.
- 8) Isolat yeast *Saccharomyces cerevisiae* diremajakan pada media PDA dan diinkubasi selama 2 hari.
- 9) Setelah itu isolat ditumbuhkan lagi pada 50 ml media YGP yang terdiri dari ekstrak yeast 5 gr/l, glukosa 10 gr/l dan pepton 5 gr/l di dalam erlenmeyer 200 ml.
- 10) Inkubasi dilakukan dengan agitasi berkecepatan 125 rpm pada suhu 30°C selama 24 jam.

Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF)

- 1) Hasil *pretreatment* sebanyak 20 gr dimasukkan ke dalam erlenmeyer 500 ml bertutup.
- 2) Tambahkan 100 ml *aquadest* dan larutan H₂SO₄ encer sedikit demi sedikit hingga pH mencapai pH 5,4.
- 3) Tambahkan enzim dengan 10% total fraksi enzim (2 ml enzim per 20 gr biomassa kering) dan 1 ml pre-kultur (hasil isi total akhir 100 g dan konsentrasi yeast *Saccharomyces cerevisiae* awal 0,1

g/l) ke dalam erlenmeyer yang berisi bubuk

- 4) Aduk pada 150 rpm pada 30°C sampai homogen.
- 5) Tutup erlenmeyer dengan karet penyumbat yang dilengkapi dua cabang, satu untuk sampling dan satunya lagi untuk membuang CO₂.
- 6) Larutan difermentasikan selama 3, 4, 5, 6 dan 7 hari (sesuai perlakuan).
- 7) Setelah fermentasi, larutan dipisahkan dari residu dengan menggunakan kertas saring.
- 8) Kadar bioetanol yang terbentuk diukur menggunakan *Gas Chromatography* (GC).

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 79-80°C.
- 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 di ukur densitasnya dengan menggunakan piknometer.

Analisis Hasil Proses

Kadar Selulosa dan Hemiselulosa dengan Metode Chesson Datta.

Prosedur Pengujian:

- 1) Satu gr (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).

Perhitungan

Kadar selulosa dan hemiselulosa (%) dalam sampel dapat dihitung dengan cara sebagai berikut:

$$a) \text{ Kadar Selulosa} = \frac{c-d}{a} \times 100\%$$

$$b) \text{ Kadar Hemiselulosa} = \frac{b-c}{a} \times 100\%$$

Pengujian Kadar lignin dengan Metode Kappa:

Prosedur pengujian

- 1) Masukkan sampel sebanyak 3,5 gram ke dalam gelas piala dan tambahkan 400 ml *aquadest* dan masukkan *magnetic stirrer* lalu hidupkan *hot plate*.
- 2) Tambahkan 50 ml larutan kalium permanganat 0,1 N dan 50 ml larutan asam sulfat 4 N secara bersamaan.
- 3) Lalu biarkan pengadukan berlangsung selama 10 menit.
- 4) Setelah 10 menit, lalu tambahkan larutan kalium iodida 1 N sebanyak 10 ml.
- 5) Lakukan titrasi dengan larutan natrium tiosulfat 0,1 N hingga larutan berubah warna menjadi kuning.
- 6) Lalu tambahkan dengan indikator amilum 1% hingga larutan berubah warna menjadi biru.
- 7) Selanjutnya lanjutkan titrasi hingga larutan tak berwarna (putih bening) dan catat volume pemakaian natrium tiosulfat sebagai *a* ml dilakukan percobaan yang sama sebanyak 3 kali.
- 8) Kerjakan untuk blanko seperti perlakuan pada point 1-7 tanpa menggunakan sampel. Catat pemakaian volume larutan natrium tiosulfat titrasi blanko sebagai *b* ml.

Perhitungan

Kadar lignin dalam sampel dapat dihitung dengan cara sebagai berikut:

$$p = \frac{(b - a)N}{0,1}$$

$$K = \frac{pxf}{w}$$

Kadar lignin = Bilangan Kappa x 0,15

Keterangan:

K : nilai bilangan Kappa

f : faktor koreksi

w : berat sampel (gram)

p : larutan permanganat yang terpakai oleh sampel (ml)

- b : volume natrium thiosulfat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) yang terpakai oleh blanko (ml)
 a : volume natrium thiosulfat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) yang terpakai oleh sampel (ml)
 N: normalitas larutan natrium thiosulfat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$)

Pengujian Kadar Etanol dengan Analisa Density:

- 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.

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

Dari *density* yang diperoleh, dapat ditentukan kadar alkohol (etanol) yang terkandung, dengan melihat tabel *density* standar etanol pada suhu kamar.

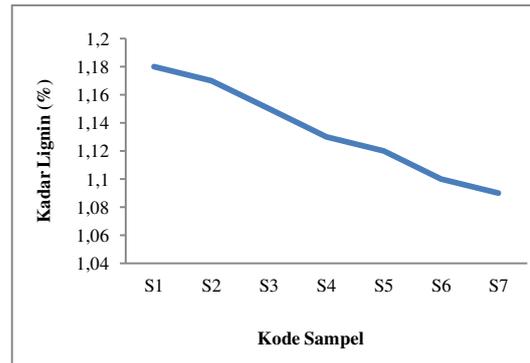
Analisa Kadar Bioetanol dengan Gas Chromatography (GC)

Dari kromatogram yang didapat setiap sampel dapat dihitung kadar etanol yang terdapat dalam sampel dengan menggunakan rumus:

$$\text{Kadar Etanol (\%)} = \frac{y - b}{a}$$

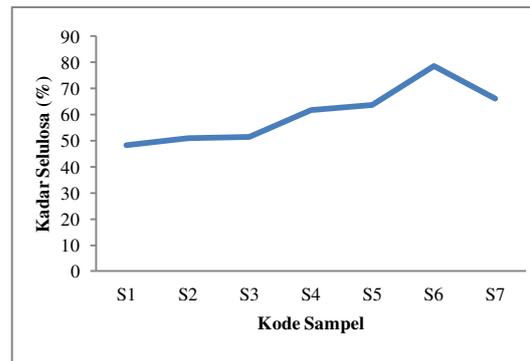
3. HASIL DAN PEMBAHASAN Pengaruh Waktu Delignifikasi Terhadap Kadar Lignin

Pada penelitian ini sekam padi diberi perlakuan *alkaline pretreatment* menggunakan NaOH 10% dalam *water bath* pada suhu 85°C selama 1 jam dan *acid pretreatment* menggunakan H_2SO_4 2% pada beberapa variasi waktu (30, 45, 60, 75, dan 90 menit). Setelah dilakukan proses delignifikasi, kadar lignin dianalisa dengan metode kappa dan hasilnya dapat dilihat pada grafik berikut.



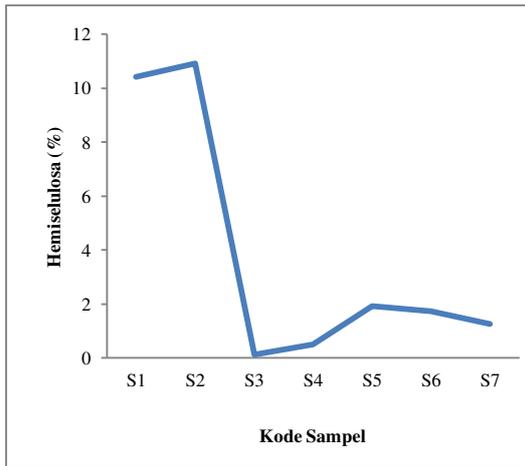
Gambar 2. Pengaruh waktu delignifikasi terhadap kadar lignin

Dari gambar 2 dapat dilihat bahwa setelah dilakukan proses *alkaline-acid pretreatment* terjadi penurunan kadar lignin dari 1,18 % menjadi 1,09%. Hal ini terjadi karena semakin lama waktu delignifikasi maka senyawa lignin terdegradasi lebih banyak. Proses delignifikasi ini membuat ikatan lignoselulosa terpecah sehingga kandungan selulosa dan hemiselulosa pada sekam padi meningkat. Kandungan selulosa setelah dilakukan *alkaline-acid pretreatment* dapat dilihat pada grafik berikut.



Gambar 3. Kandungan selulosa setelah *alkaline acid pretreatment*

Dari gambar 3 dapat dilihat bahwa setelah dilakukan *alkaline-acid pretreatment* maka kandungan selulosa akan meningkat. Peningkatan selulosa tertinggi terjadi pada waktu delignifikasi 75 menit sebesar 78,67%. Untuk kandungan hemiselulosa dapat dilihat pada grafik di bawah ini.



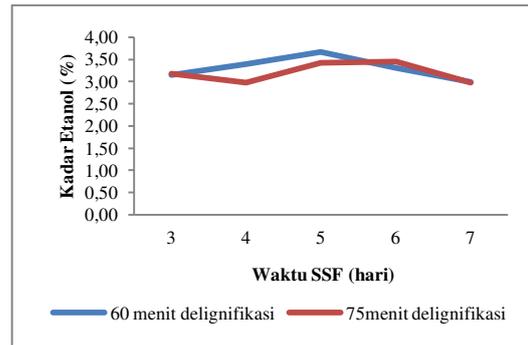
Gambar 4. Kandungan hemiselulosa setelah *alkaline-acid pretreatment*

Dari gambar 3 dapat dilihat bahwa setelah dilakukan *alkaline pretreatment* maka kandungan hemiselulosa naik yaitu dari 10,41% menjadi 10,91%. Hal ini terjadi karena larutan NaOH dapat mengekstrak hemiselulosa dari biomassa sekam padi sehingga dapat meningkatkan kandungan hemiselulosa. Namun setelah dilakukan *alkaline pretreatment*, kandungan hemiselulosa menurun. Hal ini karena hemiselulosa larut dalam kondisi asam sehingga kandungan hemiselulosa semakin berkurang. Kandungan hemiselulosa tertinggi terjadi pada proses setelah *acid-pretreatment* pada waktu delignifikasi 75 menit yaitu 2,72%.

Proses delignifikasi dengan *alkaline-acid pretreatment* menggunakan larutan NaOH dan H_2SO_4 . Larutan NaOH bertujuan untuk merusak struktur lignin dalam biomassa. Larutan NaOH dapat mengekstraksi selulosa dan hemiselulosa dengan memecah struktur lignoselulosa, sedangkan larutan H_2SO_4 dengan konsentrasi rendah digunakan untuk mencegah selulosa ikut terdegradasi.

Pengaruh Waktu SSF Terhadap Kadar Etanol Pada Berbagai Variasi Waktu Delignifikasi

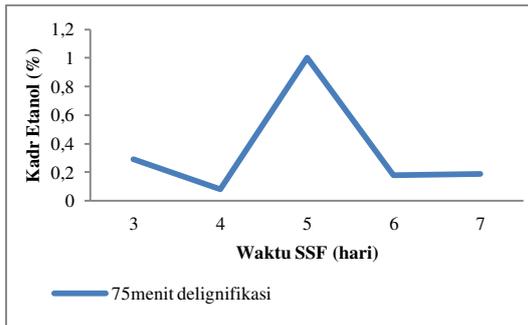
Pada penelitian ini dilihat juga pengaruh waktu SSF terhadap kadar etanol yang dihasilkan. Waktu SSF yang digunakan yaitu 3,4,5,6, dan 7 hari. Dari hasil analisa yang dilakukan dengan analisa piknometer, kadar etanol dapat dilihat pada grafik berikut.



Gambar 5. Kadar etanol hasil analisa Piknometer setelah proses SSF

Dari gambar 4.4 terlihat bahwa kadar etanol yang paling tinggi diperoleh pada waktu SSF 5 hari dengan waktu delignifikasi selama 60 menit yaitu sebesar 3,66 %. Semakin lama waktu SSF, maka semakin besar juga kadar etanol yang dihasilkan. Hal ini terjadi karena lama waktu SSF berhubungan erat dengan kurva pertumbuhan mikroba. Peningkatan kadar etanol terjadi pada waktu SSF 3-5 hari. Namun setelah mencapai titik optimum, untuk waktu SSF 6-7 hari kadar etanol mengalami penurunan. Hal ini terjadi karena dari fase pertumbuhan mikroba pada hari ke 6 telah memasuki fase menuju kematian dan pada hari ke 7 *saccharomyces cerevisiae* mengalami fase kematian. Namun saat waktu delignifikasi 75 menit, dengan waktu SSF 3 hari mikroba mengalami pertumbuhan cepat, sedangkan pada waktu SSF 4 hari kadar etanol mengalami penurunan. Hal ini karena selulosa diubah menjadi glukosa masih berlanjut, sehingga kadar etanol meningkat pada waktu SSF 5 hari. Pada waktu SSF 6 hari *saccharomyces cerevisiae* mengalami fase stasioner. Pada fase ini, jumlah *saccharomyces cerevisiae* yang hidup sebanding dengan jumlah *saccharomyces cerevisiae* yang mati sehingga tidak ada penambahan jumlah mikroba yang akan mengubah substrat menjadi etanol. Pada waktu SSF 7 hari *saccharomyces cerevisiae* memasuki fase kematian.

Untuk hasil analisa etanol menggunakan *Gas Chromatography* (GC) dapat dilihat pada grafik di bawah ini.



Gambar 6. Kadar Etanol Hasil Analisa GC Setelah Proses SSF

Dari gambar 6 dapat dilihat kadar etanol tertinggi pada waktu delignifikasi 75 menit dan waktu SSF 5 hari sebesar 1 %. Dari analisa menggunakan piknometer dan gas kromatografi, nilai kadar etanol yang dihasilkan berbeda. Hal ini karena pengukuran dengan piknometer menggunakan densitas campuran, sedangkan pada analisa GC, hanya etanol yang dideteksi untuk diukur kadar etanolnya. Selain itu, jarak waktu antara analisa piknometer dengan analisa GC cukup lama.

4. KESIMPULAN

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

- 1) Semakin lama waktu delignifikasi maka kadar lignin yang dihasilkan semakin kecil. Proses delignifikasi terbaik ialah pada waktu delignifikasi 90 menit yang menghasilkan kadar lignin 1,09%
- 2) Proses delignifikasi alkaline-acid pretreatment dengan waktu delignifikasi 30, 45, 60, 75, dan 90 menit kurang efektif karena persentasi kadar lignin yang dihasilkan tidak terlalu jauh.
- 3) Waktu optimum proses *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF) pada penelitian ini adalah waktu SSF 5 hari yang menghasilkan kadar bioetanol tertinggi 1% maka kadar etanol yang diperoleh juga akan semakin meningkat.

DAFTAR PUSTAKA

- Binod. P., Sindhu. R., Singhanian. R. R., Vikram. S., Devi., L., Nagalakshmi. S., Kurien. N., Sukumaran. R. K., Pandey. A. 2010. Bioethanol Production from Rice Straw : An Overview. *Bioresource Technology*. 101 : 4767-4774.
- Inggrid, M, dkk. 2011. *Pretreatment Sekam Padi dengan Alkali Peroksida dalam Pembuatan Bioetanol*. *Jurnal Teknik Kimia*.
- Isroi. 2008. *Potensi Biomassa Lignoselulosa di Indonesia Sebagai Bahan Baku Etanol: Tandan Kosong Kelapa Sawit..* <http://isroi.wordpress.com>.

Diakses pada 28 Januari 2016.

- Novia, dkk. 2014. Pembuatan Bioetanol dari Jerami Padi dengan Metode Ozonolisis-*Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF).
- Oswaldo, 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.
- Ismunadji. 1988. *Conversion of rice straw to sugar by dilute acid hydrolysis*. *Biomass Bioenergy*, 30: 247-253.