

**LAPORAN AKHIR
PENELITIAN KOMPETITIF NASIONAL
SKEMA PENELITIAN TERAPAN**

**TEMA:
TEKNOLOGI SUBSTITUSI BAHAN BAKAR**

JUDUL PENELITIAN

Pengembangan Produksi Bioetanol dari Sekam Padi dan Aplikasi pada Mesin Bakar (Praperlakuan Hidrogen Peroksida-Aqueous Ammonia dan Hidrolisis Enzimatik-Fermentasi)



Dibiayai oleh:
Direktorat Sumber Daya
Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi
Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset dan Teknologi
Sesuai dengan Kontrak Penelitian
Nomor: 299/E4.1/AK.04.PT/2021

Ketua Peneliti : **Novia, ST., MT., Ph.D**
Anggota : Dr. Hasanudin, S.si, M.Si
Hermansyah, Ph.D

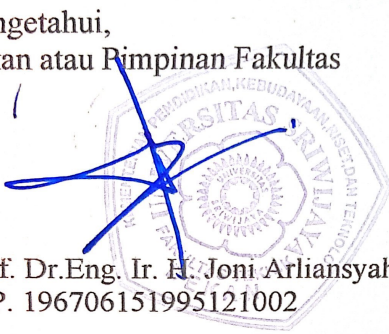
**UNIVERSITAS SRIWIJAYA
NOVEMBER 2021**

HALAMAN PENGESAHAN

1. Judul Penelitian : Pengembangan Produksi Bioetanol dari Sekam Padi dan Aplikasi pada Mesin Bakar (Praperlakuan Hidrogen Peroksida-Aqueous Ammonia dan Hidrolisis Enzimatik-Fermentasi)
2. Bidang Penelitian : Energi Baru dan Terbarukan
3. Ketua Peneliti
- a. Nama Lengkap : Novia, ST., MT., Ph.D
 - b. Jenis Kelamin : Perempuan
 - c. NIDN/NIP : 0005117301/197311052000032003
 - d. Pangkat dan Golongan : Pembina / IV-a
 - e. Jabatan Struktural : -
 - f. Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
 - g. Perguruan Tinggi : Universitas Sriwijaya
 - h. Fakultas/Jurusan/Prodi : Teknik/Teknik Kimia
 - i. Alamat Kantor : Jurusan Teknik Mikia, FT Unsri Km.32, Inderalaya, OI
 - j. Telepon/HP/E-mail : 081368632611/novia@ft.unsri.ac.id
 - k. Alamat rumah : Jl. Poltek Lr. Padang Kapas 1 No.17 Rt.44/03. Bukit Lama. IB I. Palembang
4. Jangka Waktu Penelitian : 2 Tahun
7. Biaya Tahun Pertama : Rp. 157.470.000

Mengetahui,
Dekan atau Pimpinan Fakultas

Prof. Dr.Eng. Ir. H. Joni Arliansyah, MT
NIP. 196706151995121002



Inderalaya, 01 November 2021

Ketua Peneliti.

Novia, ST., MT., Ph.D
NIP. 197311052000032003

Menyetujui
Ketua LPPM Universitas Sriwijaya,



Samsudyadi
NIP. 197102041997021003

PROTEKSI ISI LAPORAN AKHIR PENELITIAN

Dilarang menyalin, menyimpan, memperbanyak sebagian atau seluruh isi laporan ini dalam bentuk apapun kecuali oleh peneliti dan pengelola administrasi penelitian

LAPORAN AKHIR PENELITIAN MULTI TAHUN

ID Proposal: dad93652-8de6-4716-a0db-c5baea565c00
Laporan Akhir Penelitian: tahun ke-1 dari 3 tahun

1. IDENTITAS PENELITIAN

A. JUDUL PENELITIAN

Pengembangan Produksi Bioetanol dari Sekam Padi dan Aplikasi pada Mesin Bakar (Praperlakuan Hidrogen Peroksida-Aqueous Ammonia dan Hidrolisis Enzimatik-Fermentasi)

B. BIDANG, TEMA, TOPIK, DAN RUMPUN BIDANG ILMU

Bidang Fokus RIRN / Bidang Unggulan Perguruan Tinggi	Tema	Topik (jika ada)	Rumpun Bidang Ilmu
Energi	Teknologi Substitusi Bahan Bakar	Pengembangan dan pemanfaatan bioenergi untuk transportasi, listrik dan industri	Teknik Kimia

C. KATEGORI, SKEMA, SBK, TARGET TKT DAN LAMA PENELITIAN

Kategori (Kompetitif Nasional/ Desentralisasi/ Penugasan)	Skema Penelitian	Strata (Dasar/ Terapan/ Pengembangan)	SBK (Dasar, Terapan, Pengembangan)	Target Akhir TKT	Lama Penelitian (Tahun)
Penelitian Kompetitif Nasional	Penelitian Terapan	SBK Riset Terapan	SBK Riset Terapan	4	3

2. IDENTITAS PENGUSUL

Nama, Peran	Perguruan Tinggi/ Institusi	Program Studi/ Bagian	Bidang Tugas	ID Sinta	H-Index
NOVIA Ketua Pengusul	Universitas Sriwijaya	Teknik Kimia		6059009	4
Dr HASANUDIN S.Si, M.Si Anggota Pengusul 1	Universitas Sriwijaya	Kimia	Bertanggung jawab dalam tahapan praperlakuan Hidrogen Peroksida-Aqueous Ammonia	6126233	1
HERMANSYAH S.Si, M.Si, Ph.D Anggota Pengusul	Universitas Sriwijaya	Ilmu Lingkungan	Bertanggung jawab dalam tahap hidrolisis enzimatik-	5978393	4

2			fermentasi- purifikasi		
---	--	--	---------------------------	--	--

3. MITRA KERJASAMA PENELITIAN (JIKA ADA)

Pelaksanaan penelitian dapat melibatkan mitra kerjasama, yaitu mitra kerjasama dalam melaksanakan penelitian, mitra sebagai calon pengguna hasil penelitian, atau mitra investor

Mitra	Nama Mitra
Mitra Calon Pengguna	CV. Fruitanol Energy

4. LUARAN DAN TARGET CAPAIAN

Luaran Wajib

Tahun Luaran	Jenis Luaran	Status target capaian (<i>accepted, published, terdaftar atau granted, atau status lainnya</i>)	Keterangan (<i>url dan nama jurnal, penerbit, url paten, keterangan sejenis lainnya</i>)
1	Dokumen pendaftaran paten proses	Terbit nomor pendaftaran paten	

Luaran Tambahan

Tahun Luaran	Jenis Luaran	Status target capaian (<i>accepted, published, terdaftar atau granted, atau status lainnya</i>)	Keterangan (<i>url dan nama jurnal, penerbit, url paten, keterangan sejenis lainnya</i>)
1	Artikel pada Conference/Seminar Internasional di Pengindeks Bereputasi	Terbit dalam Prosiding	5th International Conference of Chemical Engineering & Industrial Biotechnology

5. ANGGARAN

Rencana anggaran biaya penelitian mengacu pada PMK yang berlaku dengan besaran minimum dan maksimum sebagaimana diatur pada buku Panduan Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Edisi 12.

Total RAB 3 Tahun Rp. 688,939,500

Tahun 1 Total Rp. 229,082,500

Jenis Pembelanjaan	Komponen	Item	Satuan	Vol.	Biaya Satuan	Total
Bahan	ATK	Penggandaan Laporan	Paket	1	1,050,000	1,050,000
Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Bahan kimia untuk tahapan Pretreatment	Paket	1	17,807,500	17,807,500
Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Bahan kimia untuk hidrolisis enzimatik-fermentasi	Paket	1	75,847,000	75,847,000
Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Bahan kimia untuk Uji analisa	Paket	1	5,458,000	5,458,000
Pengumpulan Data	FGD persiapan penelitian	FGD persiapan penelitian	Paket	1	350,000	350,000
Pengumpulan	HR Pembantu Peneliti	Honor	OH	200	80,000	16,000,000

Jenis Pembelian	Komponen	Item	Satuan	Vol.	Biaya Satuan	Total
Data		Pembantu Peneliti 2 orang (5 hari/minggu)				
Pengumpulan Data	Uang Harian	Lumpsum Palembang-Ogan Ilir	OH	3	150,000	450,000
Pengumpulan Data	Biaya konsumsi	Biaya konsumsi	OK	100	25,000	2,500,000
Pengumpulan Data	Biaya konsumsi	Transport Palembang-Ogan Ilir	OH	3	100,000	300,000
Pengumpulan Data	HR Pembantu Lapangan	Honor Pembantu Lapangan 2 orang (5 hari/minggu)	OH	200	80,000	16,000,000
Pengumpulan Data	HR Pembantu Lapangan	Honor Sekretariat untuk Pengumpulan data	OB	10	300,000	3,000,000
Analisis Data	HR Sekretariat/Administrasi Peneliti	Honor sekretariat analisis data	OB	10	300,000	3,000,000
Analisis Data	Biaya analisis sampel	Biaya analisis sampel	Paket	1	43,750,000	43,750,000
Analisis Data	Tiket	Tiket Palembang-Bandung	OK	2	2,500,000	5,000,000
Analisis Data	Uang Harian	Uang harian selama di bandung	OK	6	400,000	2,400,000
Analisis Data	Transport Lokal	Transport lokal selama di bandung	OK	2	150,000	300,000
Analisis Data	Penginapan	Penginapan selama di Bandung	OK	6	450,000	2,700,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	HR Sekretariat/Administrasi Peneliti	Honor sekretariat	OB	10	300,000	3,000,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya seminar internasional	Seminar Internasional	Paket	1	18,170,000	18,170,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Publikasi artikel di Jurnal Internasional	Publikasi Jurnal Internasional (Proof reading dll)	Paket	1	10,000,000	10,000,000

Jenis Pembelanjaan	Komponen	Item	Satuan	Vol.	Biaya Satuan	Total
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Luaran KI (paten, hak cipta dll)	Pendaftaran HKI	Paket	1	2,000,000	2,000,000

Tahun 2 Total Rp. 230,405,000

Jenis Pembelanjaan	Komponen	Item	Satuan	Vol.	Biaya Satuan	Total
Bahan	ATK	Penggandaan Laporan	Paket	1	1,050,000	1,050,000
Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Bahan untuk Pretreatment	Paket	1	6,753,000	6,753,000
Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Bahan untuk hidrolisis enzimatis-fermentasi	Paket	1	74,194,000	74,194,000
Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	bahan untuk Uji analisa	Paket	1	5,458,000	5,458,000
Bahan	Barang Persediaan	Rancang bangun Reaktor Pretreatment	Set	1	25,000,000	25,000,000
Bahan	Barang Persediaan	Rancang bangun Fermentor	Set	1	35,000,000	35,000,000
Bahan	Barang Persediaan	Rancang Bangun Alat Distilasi	Set	1	20,000,000	20,000,000
Pengumpulan Data	FGD persiapan penelitian	FGD persiapan penelitian	OK	10	35,000	350,000
Pengumpulan Data	HR Pembantu Peneliti	Honor Pembantu Peneliti 2 orang (5 hari/minggu)	OH	200	80,000	16,000,000
Pengumpulan Data	HR Sekretariat/Administrasi Peneliti	Honor Sekretariat	OB	10	300,000	3,000,000
Pengumpulan Data	Biaya konsumsi	Biaya konsumsi	OK	100	25,000	2,500,000
Pengumpulan Data	HR Pembantu Lapangan	Honor Pembantu Lapangan 2 orang (5 hari/minggu)	OH	200	80,000	16,000,000
Analisis Data	HR Sekretariat/Administrasi Peneliti	Honor sekretariat	OB	10	300,000	3,000,000
Analisis Data	Biaya analisis sampel	Biaya analisis sampel	Paket	1	6,750,000	6,750,000
Analisis Data	Tiket	Tiket	OK	1	2,500,000	2,500,000

Jenis Pembelanjaan	Komponen	Item	Satuan	Vol.	Biaya Satuan	Total
		Palembang-Bandung				
Analisis Data	Transport Lokal	Transport lokal selama di Bandung	OK	1	150,000	150,000
Analisis Data	Transport Lokal	Transport lokal selama di Bandung	OK	1	150,000	150,000
Analisis Data	Transport Lokal	Lumpsum harian selama di Bndung	OH	3	400,000	1,200,000
Analisis Data	Penginapan	Penginapan selama di Bandung	OK	3	450,000	1,350,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	HR Sekretariat/Administrasi Peneliti	Honor sekretariat	OB	10	300,000	3,000,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya seminar internasional	Seminar internasional	Paket	1	7,000,000	7,000,000

Tahun 3 Total Rp. 229,452,000

Jenis Pembelanjaan	Komponen	Item	Satuan	Vol.	Biaya Satuan	Total
Bahan	ATK	Penggandaan Laporan	Paket	1	1,050,000	1,050,000
Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Bahan untuk Pretreatment	Paket	1	6,503,000	6,503,000
Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Bahan untuk hidrolisis enzimatik-fermentasi	Paket	1	86,691,000	86,691,000
Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Bahan untuk Uji analisa	Paket	1	5,458,000	5,458,000
Bahan	Barang Persediaan	Rancang Bangun Tanki blending & agitator	Set	1	17,500,000	17,500,000
Bahan	Barang Persediaan	Thermocouple (T=500 C)	Buah	1	500,000	500,000
Pengumpulan Data	FGD persiapan penelitian	FGD persiapan penelitian	Paket	1	350,000	350,000
Pengumpulan Data	HR Pembantu Peneliti	Honor Pembantu Peneliti 2 orang (5 hari/minggu)	OH	200	80,000	16,000,000
Pengumpulan Data	HR Sekretariat/Administrasi	Honor Sekretariat	OB	10	300,000	3,000,000

Jenis Pembelian	Komponen	Item	Satuan	Vol.	Biaya Satuan	Total
	Peneliti					
Pengumpulan Data	Biaya konsumsi	Biaya konsumsi	OK	100	25,000	2,500,000
Pengumpulan Data	HR Pembantu Lapangan	Honor Pembantu Lapangan 2 orang (5 hari/minggu)	OH	200	80,000	16,000,000
Analisis Data	Biaya analisis sampel	Biaya analisis sampel	Paket	1	41,000,000	41,000,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	HR Sekretariat/Administrasi Peneliti	Honor sekretariat	OB	10	300,000	3,000,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya seminar internasional	Seminar internasional di malaysia (biaya registrasi, tiket, penginapan, lumpsum, transport loka)	Paket	1	15,750,000	15,750,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya seminar internasional	Seminar internasional di bali (biaya registrasi, tiket, penginapan, lumpsum, transport loka)	paket	1	14,150,000	14,150,000

6. HASIL PENELITIAN

A. RINGKASAN: Tuliskan secara ringkas latar belakang penelitian, tujuan dan tahapan metode penelitian, luaran yang ditargetkan, serta uraian TKT penelitian.

Sektor transportasi paling berkontribusi dalam peningkatan konsumsi bahan bakar minyak dan berdampak pada lingkungan. Salah satu solusi untuk mengurangi dampak lingkungan adalah menggunakan biofuel sebagai bahan bakar alternatif pengganti bahan bakar minyak dari fosil, seperti bioetanol. Bioetanol adalah bahan bakar cair yang ramah lingkungan sifatnya yang terbarukan, diharapkan dapat mengatasi krisis energi global. Bahan baku bioetanol generasi kedua tersedia melimpah, mudah diperoleh dan tidak mengganggu penyediaan bahan pangan. Dari jumlah limbah pertanian yang dihasilkan, Indonesia dapat memenuhi ketersediaan bioetanol nasional untuk mensupport permintaan bahan bakar fosil dan mengurangi dampak lingkungan yang membahayakan. Selama ini biomassa berupa limbah sekam padi belum dimanfaatkan secara optimal oleh petani. Limbah sekam padi hanya dibakar dan ditumpuk di lahan terbuka. Hal ini akan menimbulkan masalah pada lingkungan. Padahal biomassa ini mengandung selulosa yang cukup tinggi, apabila dihidrolisa akan menghasilkan glukosa dan difermentasi menjadi bioetanol. Produksi bioetanol sebagai bahan bakar transportasi dapat mengurangi CO₂ dengan cara: menggantikan penggunaan bahan bakar fosil dan merecycle CO₂ yang dilepas ketika proses pembakaran bahan bakar. Pembuatan bioetanol generasi kedua terkendala oleh proses yang lebih panjang karena lignin yang terkandung pada biomassa harus dihilangkan terlebih dahulu melalui proses pretreatment. Tujuan penelitian ini adalah

memproduksi bioetanol dari sekam padi yang diberi perlakuan Hidrogen Peroksida - Aqueous Ammonia dan Hidrolisis enzimatik – Fermentasi. Selain itu penelitian ini juga akan menghasilkan prototype alat produksi bioetanol dan hasilnya diujicobakan pada mesin bakar. Praperlakuan yang dipilih pada penelitian ini terdiri dari dua tahap. Tahap pertama adalah menggunakan hidrogen peroksida dengan variasi konsentrasi 1, 2, 3, 4, 5 % (v/v) dan variasi waktu (6, 24 dan 48 jam). Tahap kedua menggunakan Aqueous ammonia pada konsentrasi ammonia 20% (v/v) dengan temperatur pretreatment 100oC (Parameter terbaik dari penelitian sebelumnya). Selulosa yang diperoleh lalu dihidrolisa secara enzimatik menggunakan enzim selulase yang diproduksi dari *Aspergillus Niger*. Adapun konsentrasi enzim yang digunakan adalah 2, 4, 6 dan 10% total fraksi enzim (10% artinya 5 mL enzim per 50 gram biomassa kering). Variasi waktu hidrolisis yaitu 5, 10, 15, 20 dan 25 jam. Gula hasil hidrolisa enzimatik difermentasi lebih lanjut menjadi bioetanol. Waktu fermentasi yang diteliti yaitu 5 hari, sedangkan perlakuan terhadap konsentrasi ragi *saccharomyces cerevisiae* yaitu 10% . Selanjutnya, bioetanol yang dihasilkan, dimurnikan dengan proses distilasi untuk mendapatkan bioetanol dengan grade dan spesifikasi tertentu. Tahun pertama penelitian difokuskan pada optimasi pretreatment, proses hidrolisis enzimatik dan fermentasi. Untuk Pretreatment dengan hidrogen peroksida, kadar glukosa dan etanol yang optimum didapatkan pada konsentrasi hidrogen peroksida 3% dengan waktu pretreatment 24 jam berturut-turut sebesar 9,678 mg/ml dan 9,883%. Untuk Pretreatment dengan Hidrogen Peroksida-Aqueous Ammonia, kadar glukosa dan etanol tertinggi diperoleh pada sampel perendaman dengan konsentrasi H₂O₂ 3% selama 6 jam berturut-turut sebesar 15,5062 mg/ml dan 5,59%. Tahun kedua mengaplikasikan proses (pretreatment, hidrolisa enzimatik dan fermentasi) pada desain peralatan skala lebih besar (bench scale). Tahun ketiga adalah pembuktian kinerja bioetanol yang dihasilkan sebagai bahan bakar alternatif campuran bensin, pada mesin bakar. Luaran yang diharapkan dari penelitian ini adalah publikasi hasil penelitian pada seminar maupun jurnal internasional bereputasi, paten, buku ajar dan teknologi tepat guna. Peneliti utama dan anggota telah memiliki pengalaman dalam bidang yang diteliti. Penelitian juga bekerjasama dengan CV. Fruitanol. Pengukuran TKT penelitian yang diajukan ini berada di level 4 dan target TKT yang akan dicapai pada level 6.

B. KATA KUNCI: Tuliskan maksimal 5 kata kunci.

Aqueous Ammonia; Bioetanol; Fermentasi; Hidrogen Peroksida; Hidrolisis Enzimatik

Pengisian poin C sampai dengan poin H mengikuti template berikut dan tidak dibatasi jumlah kata atau halaman namun disarankan seringkasan mungkin. Dilarang menghapus/memodifikasi template ataupun menghapus penjelasan di setiap poin.

C. HASIL PELAKSANAAN PENELITIAN: Tuliskan secara ringkas hasil pelaksanaan penelitian yang telah dicapai sesuai tahun pelaksanaan penelitian. Penyajian dapat berupa data, hasil analisis, dan capaian luaran (wajib dan atau tambahan). Seluruh hasil atau capaian yang dilaporkan harus berkaitan dengan tahapan pelaksanaan penelitian sebagaimana direncanakan pada proposal. Penyajian data dapat berupa gambar, tabel, grafik, dan sejenisnya, serta analisis didukung dengan sumber pustaka primer yang relevan dan terkini.

Pengisian poin C sampai dengan poin H mengikuti template berikut dan tidak dibatasi jumlah kata atau halaman namun disarankan ringkas mungkin. Dilarang menghapus/memodifikasi template ataupun menghapus penjelasan di setiap poin.

C. HASIL PELAKSANAAN PENELITIAN: Tuliskan secara ringkas hasil pelaksanaan penelitian yang telah dicapai sesuai tahun pelaksanaan penelitian. Penyajian dapat berupa data, hasil analisis, dan capaian luaran (wajib dan atau tambahan). Seluruh hasil atau capaian yang dilaporkan harus berkaitan dengan tahapan pelaksanaan penelitian sebagaimana direncanakan pada proposal. Penyajian data dapat berupa gambar, tabel, grafik, dan sejenisnya, serta analisis didukung dengan sumber pustaka primer yang relevan dan terkini.

TAHUN KE-1

I. PRODUKSI BIOETANOL DENGAN OPTIMASI PRAPERLAKUAN HIDROGEN PEROKSIDA

Data Hasil Penelitian

1.1 Data Komposisi Sekam Padi Sebelum dan Sesudah Praperlakuan Hidrogen Peroksida

Data komposisi sekam padi sebelum dan sesudah praperlakuan ini telah melalui serangkaian tahap analisa dengan menggunakan Metode Chesson [1] yang ditunjukkan pada Tabel 1.1. Data komposisi sekam padi berdasarkan Metode Chesson [1] ditunjukkan pada Tabel 1.2.

Tabel 1.1. Berat Sekam Padi Setiap Tahapan Analisa Metode Chesson [1]

Waktu pretreatment	Kode sampel	a	b	c	d	e
Control		1	0,9400	0,8600	0,5200	0,1760
	A1	1	0,432	0,3788	0,141	0,0579
6	A2	1	0,3377	0,2862	0,1507	0,0497
	A3	1	0,3342	0,3040	0,1313	0,0476
	A4	1	0,3397	0,3030	0,1558	0,0558
	A5	1	0,3302	0,3010	0,1375	0,0370
	B1	1	0,5370	0,4405	0,1361	0,0370
24	B2	1	0,4527	0,3580	0,1355	0,0563
	B3	1	0,5360	0,4736	0,1367	0,0746
	B4	1	0,4420	0,3810	0,2710	0,0350
	B5	1	0,5243	0,4320	0,2410	0,0328
	C1	1	0,4201	0,3750	0,1598	0,0546
48	C2	1	0,4178	0,3410	0,1425	0,0549
	C3	1	0,4340	0,3481	0,1339	0,0563
	C4	1	0,4430	0,3592	0,1580	0,0565
	C5	1	0,4347	0,3543	0,1592	0,0565

Tabel 1.2. Komposisi Sekam Padi Sebelum (control) dan Sesudah Praperlakuan Hidrogen Peroksida

Waktu pretreatment (jam)	Konsentrasi H ₂ O ₂ (%)	Kode sampel	Lignin (%)	Selulosa (%)	Hemiselulosa (%)	HWS (%)	Abu (%)
Control			34,4	34	8	6	17,6
6	1	A1	8,31	23,78	5,32	56,8	5,79
		A2	10,1	13,55	5,15	66,23	4,97
		A3	8,37	17,27	3,02	66,58	4,76
		A4	10	14,72	3,67	66,03	5,58
		A5	10,05	16,35	2,92	66,98	3,7
24	1	B1	9,91	30,44	9,65	46,3	3,7
		B2	7,92	22,25	9,47	54,73	5,63
		B3	6,21	33,69	6,24	46,4	7,46
		B4	23,6	11	6,1	55,8	3,5
		B5	20,82	19,1	9,23	47,57	3,28
48	1	C1	10,52	21,52	4,5	58	5,46
		C2	8,76	19,85	7,68	58,22	5,49
		C3	7,76	21,42	8,59	56,6	5,63
		C4	10,15	20,12	8,38	55,7	5,65
		C5	10,27	19,51	8,04	56,53	5,65

1.2. Data Kadar Glukosa Setelah Hidrolisis Enzimatik

Hidrolisis Enzimatik dilakukan selama 24 Jam lalu dianalisa dengan Metode DNS dan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. Hasil kadar glukosa tersaji pada Tabel 1.3. dengan kode sampel A,B, dan C berturut-turut dengan konsentrasi Hidrogen Peroksida 1, 2, 3, 4 dan 5%.

Tabel 1.3. Hasil Analisa Kadar Glukosa Sampel dengan Metode DNS

Waktu Pretreatment Jam	Konsentrasi H ₂ O ₂ %	Kode Sampel	Metode	Glucose (mg/ml)
12	1	A1	Metode DNS	8,911
	2	A2		9,126
	3	A3		9,185
	4	A4		9,094
	5	A5		8,657
24	1	B1	Metode DNS	9,289
	2	B2		8,637
	3	B3		9,678
	4	B4		8,983
	5	B5		9,146

48	1	C1	8,709
	2	C2	8,722
	3	C3	9,002
	4	C4	8,846
	5	C5	8,806

1.3. Data Kadar Etanol Setelah Proses Destilasi

Data kadar etanol yang terdapat pada setiap sampel sekam padi ditunjukkan pada Tabel 1.4.

Tabel 1.4. Kadar Etanol pada Setiap Sampel Sekam Padi

Kode Sampel	Etanol (wt%)
A1	3,676
A2	4,503
A3	4,084
A4	3,849
A5	1,706
B1	4,622
B2	1,159
B3	9,886
B4	3,792
B5	4,084
C1	2,201
C2	3,329
C3	3,792
C4	3,618
C5	3,676

1.4. Pembahasan

1.4.1. Pengaruh Praperlakuan Hidrogen Peroksida terhadap Komposisi Sekam Padi

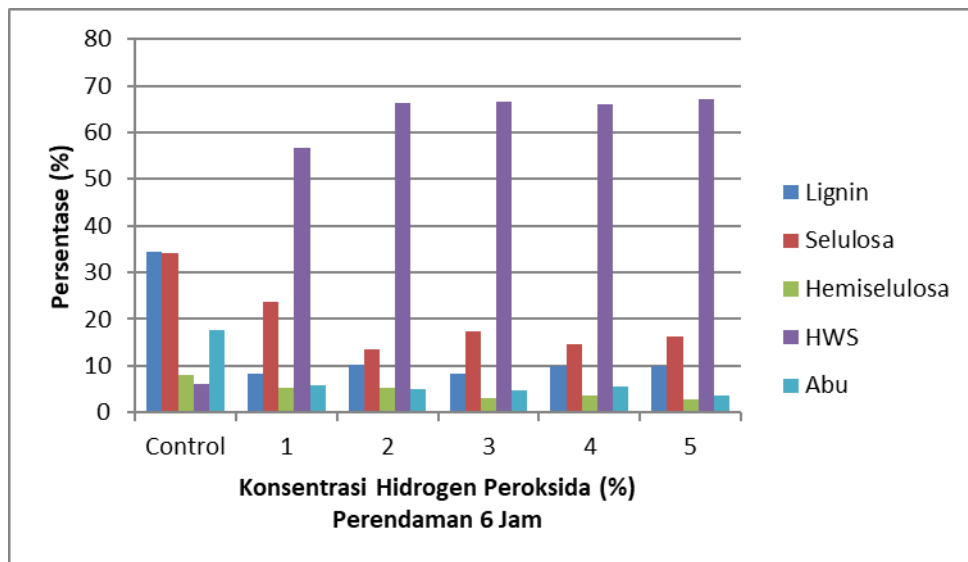
Praperlakuan terdiri dari satu tahap yaitu menggunakan basa berupa hidrogen peroksida. Hidrogen Peroksida adalah senyawa kimia berupa cairan tidak berwarna yang mudah diperoleh. Temperatur operasi dan konsentrasi yang digunakan tergolong rendah sehingga aman dan tidak berpotensi menimbulkan bahaya. Sebelumnya, Hidrogen Peroksida konsentrasi 50% di encerkan menjadi 1, 2, 3, 4, dan 5% v/v. Tujuan dari praperlakuan ini adalah untuk memecah lignin dan memutuskan ikatan selulosa dan hemiselulosa pada lignin.

Praperlakuan dimulai dengan menghaluskan sekam padi menggunakan Grinding Mill dan diayak dengan saringan berukuran 40 mesh. Hal ini bertujuan untuk memaksimalkan proses perendaman dengan Hidrogen Peroksida dalam rangka memecah lignin. Setelah itu sekam padi direndam dengan Hidrogen Peroksida dengan variasi konsentrasi 1, 2, 3, 4, dan 5% dan variasi waktu 6, 24, dan 48 jam. Cairan berwarna hitam terbentuk setelah praperlakuan, ini disebabkan oleh lignin yang terlarut didalam cairan tersebut yang mana biasa disebut black liquor [2]. Black liquor ditunjukkan pada gambar 1.1 yang mana adalah hasil dari praperlakuan menggunakan Hidrogen Peroksida.

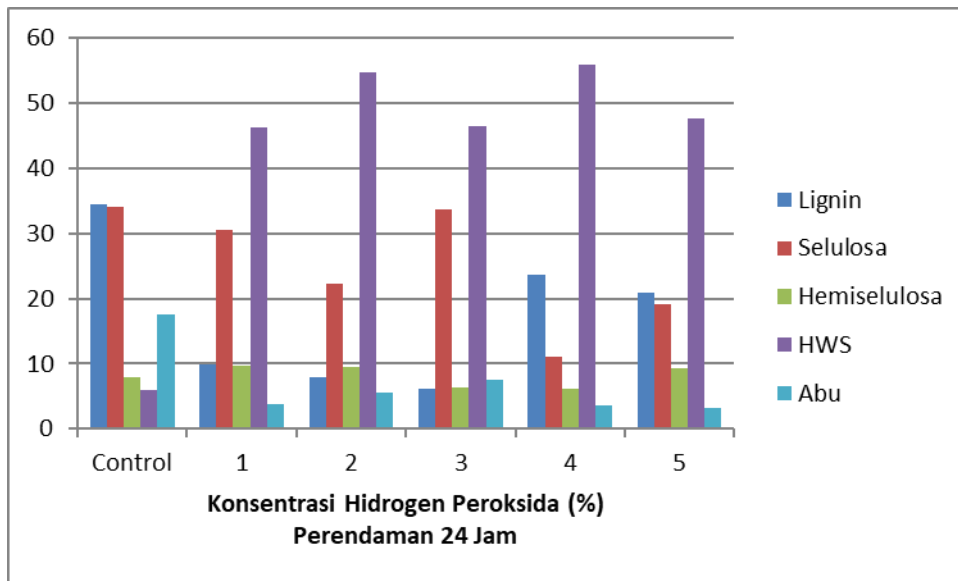


Gambar 1.1. Black Liquor yang Terbentuk Setelah Pra-perlakuan

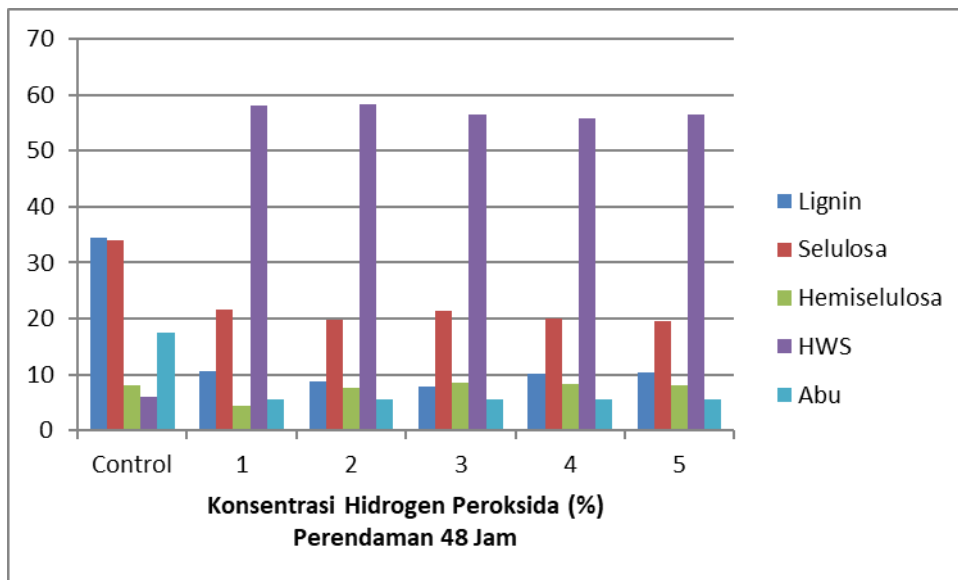
Komposisi kandungan sekam padi sebelum dan setelah praperlakuan selanjutnya dianalisa dengan menggunakan Metode Chesson. Metode Chesson adalah fraksionasi secara sekuensial dimana setiap tahapan dilakukan untuk mendapatkan fraksi-fraksi komposisi dari substrat [1]. Hasil dari analisa ditunjukkan dengan pada Gambar 1.2 , Gambar 1.3 dan Gambar 1.4.



Gambar 1.2. Pengaruh kadar hidrogen peroksida terhadap komposisi sekam padi dengan waktu praperlakuan 6 jam.



Gambar 1.3. Pengaruh kadar hidrogen peroksida terhadap komposisi sekam padi dengan waktu praperlakuan 24 jam.



Gambar 1.4. Pengaruh kadar hidrogen peroksida terhadap komposisi sekam padi dengan waktu praperlakuan 48 jam.

Sebelum praperlakuan, komposisi lignin adalah sebesar 34%. Gambar 1.2 menunjukkan bahwa untuk waktu praperlakuan 6 jam, kadar lignin menurun setelah diberi perlakuan hidrogen peroksida menjadi sekitar 8-10%. Hal ini dikarenakan H₂O₂ terdisosiasi menjadi ion hidrogen dan anion hidroperoksil. Kemudian anion hidroperoksil akan bereaksi dengan H₂O₂ yang tersisa, lalu menjadi hidroksil radikal yang menyerang struktur lignin [3]. Lignin yang putus akan larut di dalam larutan H₂O₂. Besar persentase penurunan lignin tersebut adalah 24-26%. Sementara untuk waktu perendaman 24 jam yang ditunjukkan pada gambar 1.3, dengan bertambahnya konsentrasi H₂O₂ (1-3%) maka kadar lignin semakin turun menjadi 6% sampai 9%. Namun tidak halnya dengan penambahan konsentrasi H₂O₂ (4-5%). Dari semua variabel penelitian, kandungan lignin yang paling rendah dihasilkan oleh sampel B3 yaitu 6,21% dan yang tertinggi adalah sampel B4 23,6%. Sedangkan Gambar 1.4 menunjukkan bahwa persentase penurunan lignin berkisar antara 24-27% yang mana mengalami penurunan seiring dengan bertambahnya konsentrasi H₂O₂ hingga 3% lalu kembali mengalami kenaikan di 4 dan 5%. Persentase lignin yang paling rendah dihasilkan oleh sampel C3 yaitu 7,76% dan tertinggi adalah sampel C1 sebesar 10,52%.

Komposisi selulosa setiap sampel mengalami penurunan setelah dilakukannya praperlakuan Hidrogen Peroksida. Kandungan selulosa pada sekam padi sebelum dilakukan pra-perlakuan sebesar 34%, kemudian mengalami penurunan yang paling besar menjadi 11% dan penurunan paling kecil menjadi 33,69%. Kandungan selulosa tertinggi pada tiap waktu pra-perlakuan adalah sampel A1 sebesar 23,78%, B3 sebesar 33,69%, dan C1 sebesar

21,52%. Komposisi selulosa juga cenderung menurun pada perendaman selama 6 Jam dan 48 Jam. Hal ini dimungkinkan oleh karena waktu perendaman yang terlalu singkat dan terlalu lama. Ini menunjukkan bahwa waktu yang optimal untuk perendaman adalah selama 24 Jam. Jumlah selulosa setelah dilakukannya pra-perlakuan seharusnya mengalami peningkatan (kualitas substrat itu sendiri), karena jumlah selulosa berpengaruh pada saat diolah menjadi glukosa saat hidrolisis [4].

Komposisi hemiselulosa pada setiap sampel tidak menunjukkan adanya hubungan antara persentase dengan konsentrasi hidrogen peroksida maupun waktu perendaman. Komposisi hemiselulosa tertinggi didapatkan pada sampel B5 yaitu 9,28% dan terendah adalah sampel A5 yaitu 2,92%. Pra-perlakuan Hidrogen Peroksida mendegradasi lignin dan hemiselulosa, menghasilkan de-esterification of ikatan rantainya [5]. The dissociation of hydroxide ions (OH) happened during pretreatment, and the greater number of (OH) ions enhanced the hydrolysis rate, resulting in more fermentable sugars.

Komposisi Hot Water Soluble (HWS) yang terkandung pada sekam padi mengalami kenaikan setelah pra-perlakuan dengan hidrogen peroksida. Komposisi Hot Water Soluble (HWS) tertinggi ditunjukkan pada sampel A5 yaitu 66,98% dan terendah adalah sampel sebelum di pra-perlakuan yaitu sebesar 6%. Hal ini disebabkan oleh tidak larutnya komposisi Hot Water Soluble (HWS) pada pra-perlakuan hidrogen peroksida sehingga mempengaruhi komposisi sekam padi yang mana komposisi Hot Water Soluble (HWS) menjadi lebih banyak dari pada komposisi lainnya. Kandungan Hot Water Soluble (HWS) menurut Chesson [1] dalam substrat adalah oligosakarida dan pektin. Kedua kandungan ini merupakan penyusun dinding sel dan berperan sebagai pertahanan sel dari berbagai jenis penyakit yang menyerang tumbuhan [6].

Komposisi abu pada sekam padi mengalami penurunan yang pada awalnya sebesar 17,6% menjadi yang paling tinggi pada sampel B3 7,46%. Hasil abu dari setiap sampel yang telah di-furnace berwarna putih. Menurut Raheem & Kareem [7], komposisi dari abu sekam padi didominasi oleh mineral silika, lebih tepatnya silikon dioksida (SiO₂) yang menyebabkan residu abu berwarna putih. Contoh abu hasil furnace dari sampel sekam padi pada Gambar 1.5. berikut ini.

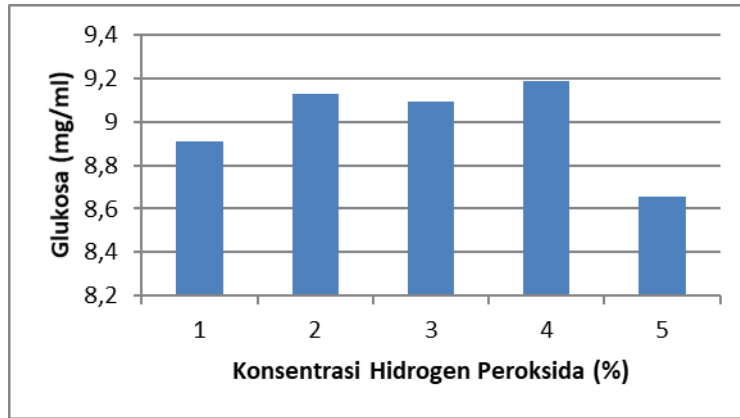


Gambar 1.5. Hasil Abu Sampel Setelah di-furnace.

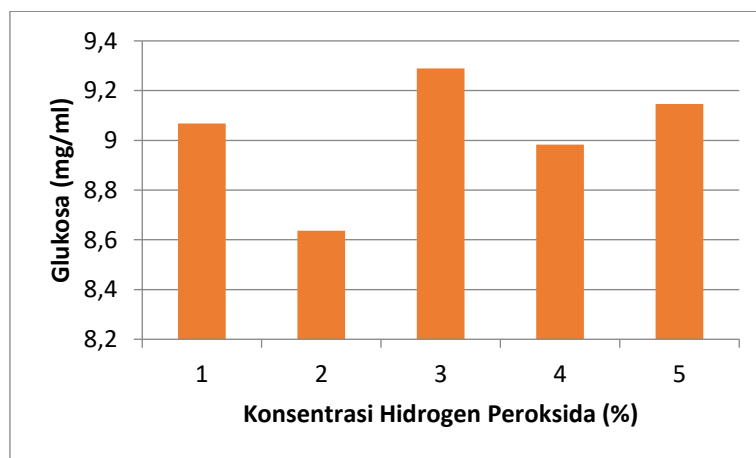
1.4.2. Pengaruh Konsentrasi Hidrogen Peroksida Terhadap Kadar Glukosa yang Dihasilkan pada Proses Hidrolisa

Hasil dari pra-perlakuan hidrogen peroksida berupa penurunan kadar lignin pada sampel selanjutnya di hidrolisis untuk mengolah selulosa yang selanjutnya menjadi glukosa. Tahap hidrolisis ini berperan dalam memecah rantai selulosa menjadi glukosa dengan bantuan katalis. Katalis yang digunakan bisa berupa asam, basa ataupun biologis. Pada penelitian kali ini digunakan katalis biologis yaitu berupa enzim selulase yang berasal dari metabolisme jamur *Aspergillus Niger*.

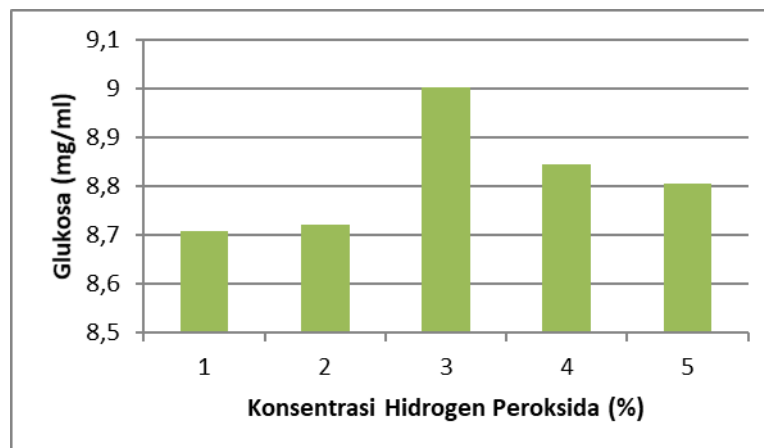
Hidrolisis menggunakan enzim dinilai lebih aman dari segi kondisi operasi karena tidak bersifat korosif dan beracun bagi lingkungan. Kondisi operasi yang digunakan pada hidrolisis enzimatik ini berlangsung pada temperatur 50°C dan pH 4,9-5. Hidrolisis enzimatik pada penelitian ini menggunakan konsentrasi enzim sebesar 10% (v/b) atau sebanyak 5 ml pada setiap sampelnya. Setelah melalui proses hidrolisis, kadar glukosa pada masing-masing sampel di analisa dengan metode DNS menggunakan spektrofotometri UV-VIS. Hasil analisa dengan waktu perendaman 6 jam, 12 jam dan 48 jam berturut turut ditunjukkan pada Gambar 1.6, Gambar 1.7 dan Gambar 1.8.



Gambar 1.6. Pengaruh Kadar Hidrogen Peroksida terhadap Glukosa yang dihasilkan dengan waktu paprerlakuan 6 jam.



Gambar 1.7. Pengaruh Kadar Hidrogen Peroksida terhadap Glukosa yang dihasilkan dengan waktu paprerlakuan 12 jam.



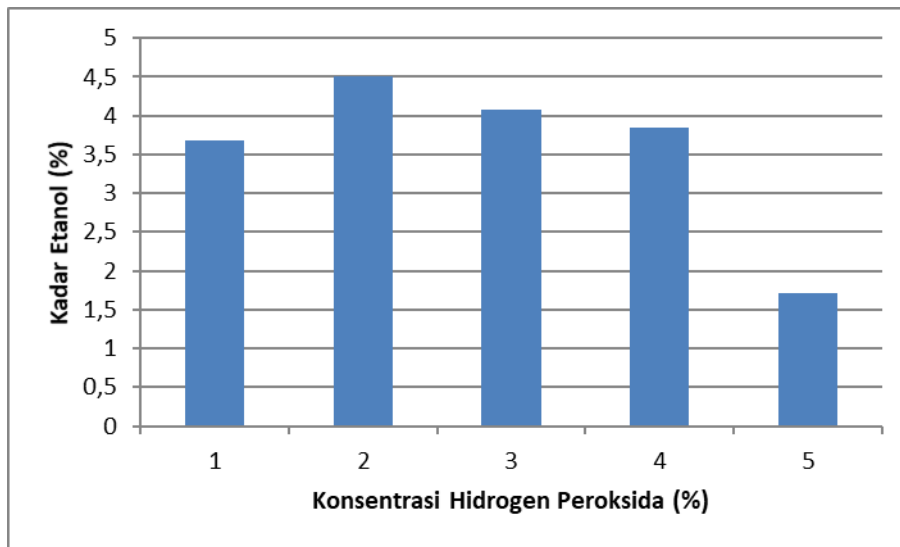
Gambar 1.8. Pengaruh Kadar Hidrogen Peroksida terhadap Glukosa yang dihasilkan dengan waktu paprerlakuan 48 jam.

Hasil analisa menunjukan bahwa konsentrasi hidrogen peroksida yang menghasilkan jumlah glukosa terbanyak terdapat pada konsentrasi 3% untuk setiap variasi waktu. Kadar glukosa terbesar ditunjukan pada sampel B3 yaitu sebesar 9,678 mg/ml. Terlihat data rata-rata kadar glukosa dari sampel fluktuatif dimana terjadi kenaikan sampai 3% lalu penurunan. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Diaz, et al [8] bahwa semakin tinggi konsentrasi Hidrogen Peroksida maka semakin besar glukosa yang dihasilkan namun menurun ketika mencapai titik jenuhnya. Ketika penambahan konsentrasi hidrogen peroksida 4-5 % kadar glukosa menurun, hal ini menunjukkan bahwa

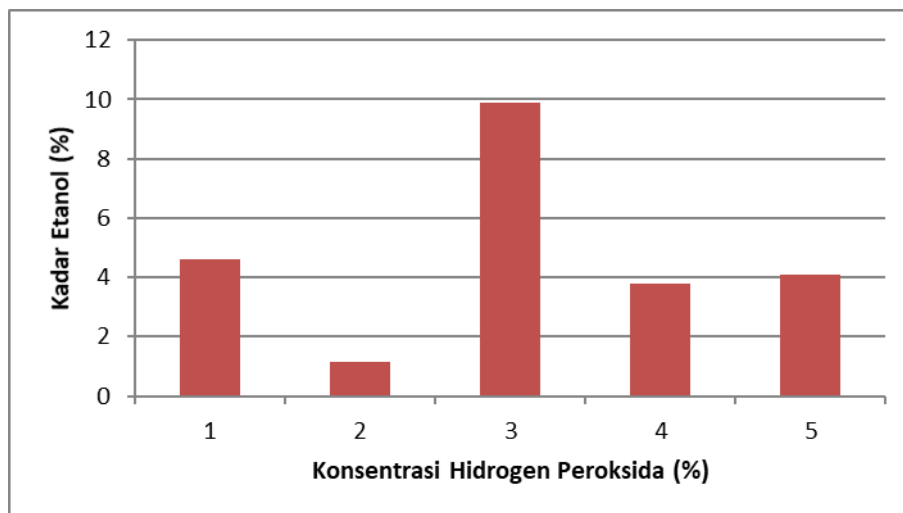
laju pengurangan lignin telah mencapai titik jenuhnya dan kadar lignin dalam sekam padi yang diberi perlakuan menjadi stabil [9].

1.4.3. Pengaruh Konsentrasi Hidrogen Peroksida Terhadap Kadar Etanol yang dihasilkan setelah Proses Destilasi

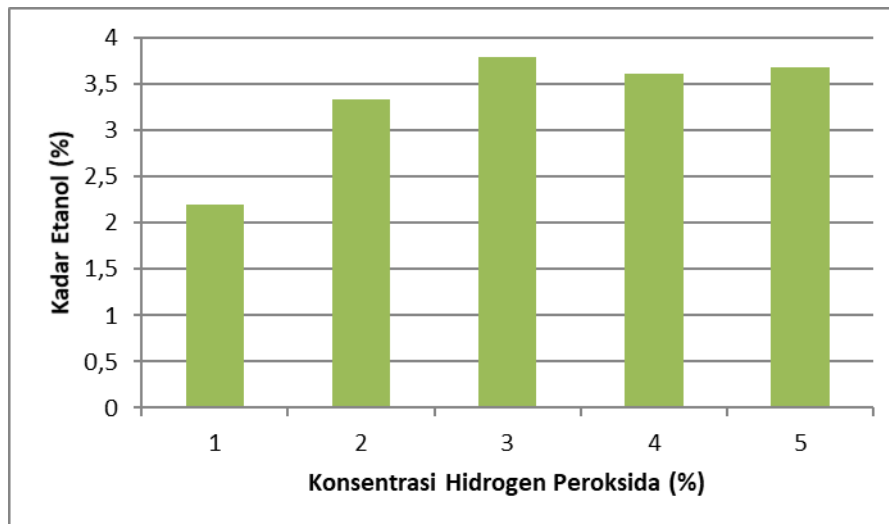
Pengujian kadar etanol pada setiap sampel dilakukan setelah melewati tahapan fermentasi dan destilasi, pada tahap fermentasi digunakan mikroorganism yaitu *Saccharomyces cerevisiae* sebanyak 10% dan dilakukan selama 5 hari. Proses fermentasi bertujuan untuk menguraikan karbohidrat menjadi etanol dan CO₂ yang dihasilkan oleh adanya aktifitas khamir dalam kondisi anaerob. Proses destilasi bertujuan untuk memisahkan larutan media yang digunakan dalam proses Fermentasi dengan etanol yang telah terbentuk dari proses fermentasi. Pengujian dilakukan dengan menggunakan Metode Densitas. Hasil analisa dengan waktu perendaman 6 jam, 12 jam dan 48 jam berturut turut ditunjukkan pada Gambar 1.9, Gambar 1.10 dan Gambar 1.11.



Gambar 1.9. Pengaruh Kadar Hidrogen Peroksida Terhadap Kadar Eatnol Yang Dihasilkan Dengan Waktu Praperlakuan 6 Jam.

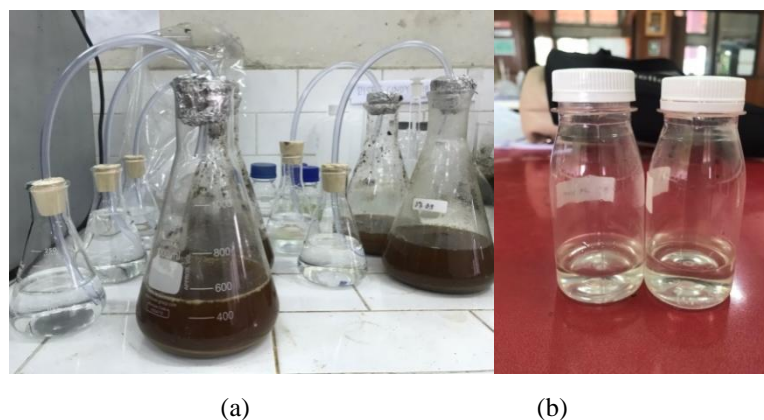


Gambar 1.10. Pengaruh Kadar Hidrogen Peroksida Terhadap Kadar Eatnol Yang Dihasilkan Dengan Waktu Praperlakuan 24 Jam.



Gambar 1.11. Pengaruh Kadar Hidrogen Peroksida Terhadap Kadar Etanol Yang Dihasilkan Dengan Waktu Praperlakuan 48 Jam.

Hasil analisa menunjukkan bahwa kadar etanol terbesar yang dihasilkan tiap-tiap waktu perendam adalah A2 sebesar 4,503%, B3 sebesar 9,883% dan C3 sebesar 3,792%. Dibanding praperlakuan dua tahap, kadar etanol 9,883% adalah cukup tinggi untuk tipe praperlakuan satu tahap pada penelitian ini. Penelitian yang dilakukan oleh [10] menghasilkan kadar etanol 15%, namun mereka menggunakan praperlakuan dua tahap yaitu kombinasi alkaline peroxide dan steam pretreatment dari biomasa rape straw. Studi terdahulu [11] menghasilkan 14,07 % juga menggunakan praperlakuan dua tahap terhadap jerami gandum. Setelah proses destilasi, perubahan warna cairan terjadi yang mana mula-mula berwarna kecoklatan menjadi bening. Hal ini disebabkan terpisahnya etanol yang tidak berwarna dari larutan media yang berwarna kuning kecoklatan. Perubahan warna ini ditunjukkan pada Gambar 1.12.



Gambar 1.12. Cairan sebelum destilasi (a) dan setelah destilasi (b)

II. PRODUKSI BIOETANOL DENGAN PRAPERLAKUAN HIDROGEN PEROKSIDA-AQUEOUS AMMONIA

2.1. Data Komposisi Sekam Padi Sebelum dan Setelah Praperlakuan Hidrogen Peroksida-Aqueous Ammonia

Data berat dari sekam padi yang diperoleh sebelum dan sesudah tahap praperlakuan dengan H_2O_2 dan aqueous ammonia telah melewati serangkaian tahapan analisa menggunakan metode Chesson [1], ditunjukkan oleh Tabel 2.1. Sementara data komposisi sekam padi ditunjukkan pada Tabel 2.2.

Tabel 2.1. Berat Sekam Padi Setiap Tahapan Analisa Metode Chesson (Datta,1981)

Jenis Perlakuan	Sampel	Berat Sekam Padi (gram)				
		a	b	c	d	e
Sebelum <i>Praperlakuan</i>		1	0,9887	0,9662	0,4822	0,0823
Setelah <i>Praperlakuan</i>	A1	1	0,9976	0,9460	0,4037	0,1423
<i>H₂O₂ dan Aqueous</i>	A2	1	0,9746	0,8361	0,4233	0,1458
<i>Ammonia Praperlakuan</i>	A3	1	0,9840	0,9444	0,3060	0,1350
	A4	1	0,9961	0,7711	0,2790	0,0967
	A5	1	0,9985	0,8643	0,3527	0,0958
	B1	1	0,9929	0,8751	0,3906	0,1375
	B2	1	0,9844	0,9832	0,4192	0,1401
	B3	1	0,9316	0,7974	0,4277	0,1280
	B4	1	0,9724	0,8233	0,3833	0,1307
	B5	1	0,9980	0,8280	0,3769	0,1438
	C1	1	0,9636	0,8775	0,3930	0,1108
	C2	1	0,9838	0,8753	0,3113	0,1052
	C3	1	0,9963	0,9050	0,3207	0,1360
	C4	1	0,9943	0,8516	0,3423	0,1157
	C5	1	0,9902	0,8420	0,3122	0,1191

Keterangan :

A = Waktu praperlakuan 6 jam

B = Waktu praperlakuan 24 jam

C = Waktu praperlakuan 48 jam

1,2,3,4,5= Variasi konsentrasi praperlakuan menggunakan 1,2,3,4,5% H₂O₂

Tabel 2.2. Hasil Analisa Komposisi Sekam Padi Sebelum dan Sesudah Praperlakuan Hidrogen Peroksida-Aqueous Ammonia

Jenis Perlakuan	Sampel	Hasil Analisa Komposisi Sekam Padi				
		%HWS	%Hemiselulosa	%Selulosa	%Lignin	%Abu
Sebelum <i>Praperlakuan</i>		1,13	2,25	48,4	39,99	8,23
Setelah <i>Praperlakuan H₂O₂ dan Aqueous Ammonia Praperlakuan</i>	A1	0,24	5,16	54,23	26,14	14,23
	A2	2,54	13,85	41,28	27,75	14,58
	A3	1,6	3,96	63,84	17,10	13,5
	A4	0,39	22,5	49,21	18,23	9,67
	A5	0,15	13,42	51,16	25,69	9,58
	B1	0,71	11,78	48,45	25,31	13,75
	B2	1,56	0,12	56,40	27,91	14,01
	B3	6,84	13,42	36,97	29,97	12,8
	B4	2,76	14,91	44,00	25,26	13,07
	B5	0,2	17	45,11	23,31	14,38
	C1	3,64	8,61	48,45	28,22	11,08
	C2	1,62	10,85	56,40	20,61	10,52
	C3	0,37	9,13	58,43	18,47	13,6
	C4	0,57	14,27	50,93	22,66	11,57
	C5	0,98	14,82	52,98	19,31	11,91

2.2. Data Kadar Glukosa Setelah Hidrolisis Enzimatik

Kadar glukosa yang terdapat dalam sekam padi diperoleh melalui proses hidrolisis enzimatik menggunakan enzim selulosa dan dianalisa dengan metode DNS Spektrofotometer UV-Vis. Kadar glukosa disajikan pada tabel 2.3.

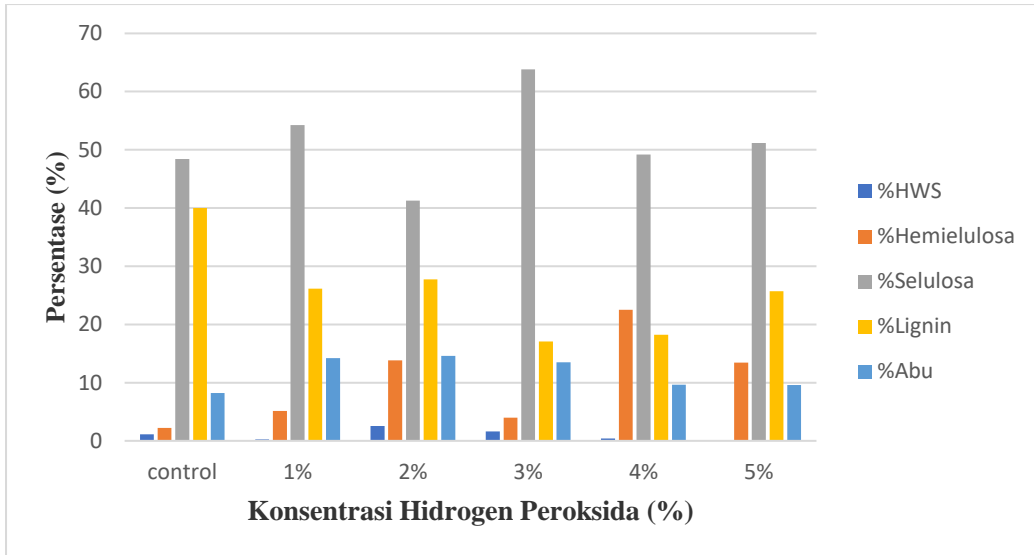
Tabel 2.3. Hasil Analisa Spektrofotometer UV-Vis Sampel

Kode Sampel	Parameter Uji	Metode Uji	Kadar Glukosa (mg/ml)
A1			15,4671
A2			12,5643
A3			15,5062
A4			11,4031
A5			11,6053
B1			15,1018
B2			15,0561
B3	Kadar Glukosa	Spektrofotometer UV-Vis	15,2127
B4			15,3040
B5			15,1866
C1			10,7247
C2			15,2779
C3			15,3692
C4			15,4083
C5			14,9583

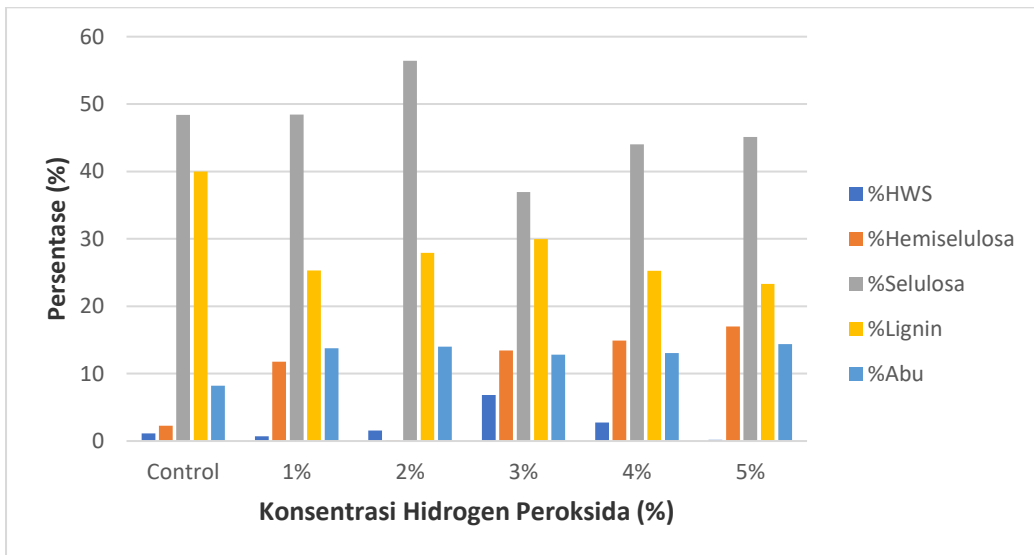
2.3. Pembahasan

2.3.1. Pengaruh Praperlakuan Terhadap Komposisi Sekam Padi

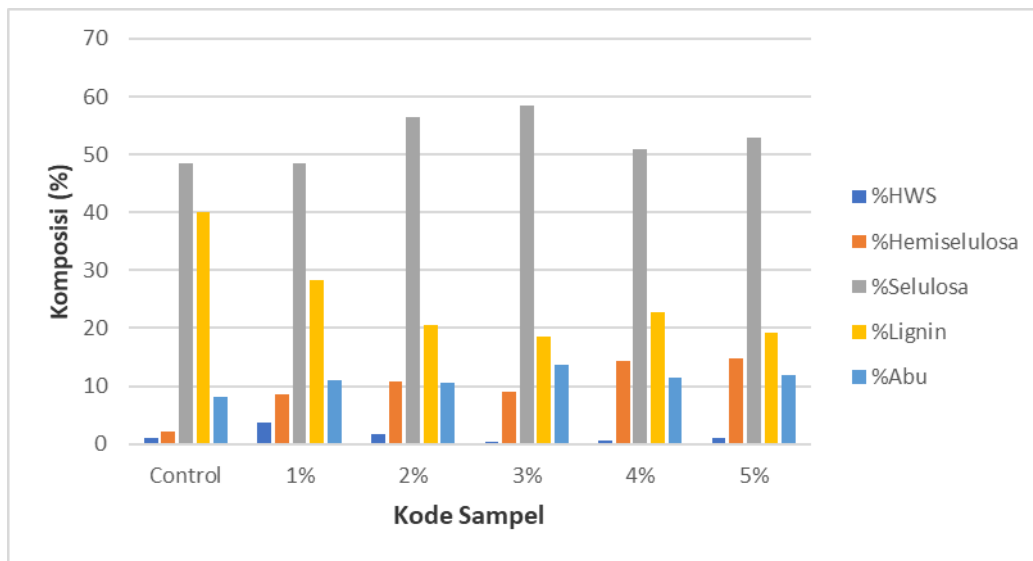
Praperlakuan yang dilakukan terdiri dari dua tahap. Praperlakuan pertama menggunakan senyawa Hidrogen Peroksida. Hidrogen peroksida dipilih karena faktor ketersediaan bahan yang mudah diperoleh dan memiliki kondisi operasi yang tergolong aman untuk digunakan. Hidrogen peroksida tergolong senyawa yang aman digunakan pada konsentrasi yang rendah. Walaupun bersifat korosif, pada konsentrasi yang rendah senyawa ini tidak berpotensi menimbulkan bahaya yang signifikan pada penggunaannya. Praperlakuan selanjutnya adalah menggunakan aqueous ammonia. Senyawa ini digunakan karena ketersediaan bahan yang banyak dan dengan harga yang cukup terjangkau. Alasan utama pemilihan aqueous ammonia sebagai bahan baku praperlakuan adalah karena senyawa ini memiliki kemampuan yang cukup efektif untuk menghilangkan kandungan lignin yang terdapat dalam bahan baku non kayu atau bahan baku yang berasal dari limbah pertanian [12]. Praperlakuan sekam padi menggunakan aqueous ammonia menghasilkan proses delignifikasi yang baik pada kondisi operasi yang relatif tinggi bahkan cenderung ekstrim (temperatur, konsentrasi, dan tekanan yang cukup tinggi) [13]. Komposisi sekam padi sebelum dan sesudah praperlakuan diuji dengan menggunakan Metode Chesson, sehingga diketahui kadar lignin, selulosa, hemiselulosa, HWS dan abu. Adapun komposisinya disajikan pada Gambar 2.1, Gambar 2.2, dan Gambar 2.3.



Gambar 2.1. Pengaruh praperlakuan dengan variasi konsentrasi hidrogen peroksida dan waktu praperlakuan selama 6 jam terhadap komposisi sekam padi.



Gambar 2.2. Pengaruh praperlakuan dengan variasi konsentrasi hidrogen peroksida dan waktu praperlakuan selama 24 jam terhadap komposisi sekam padi.



Gambar 2.3. Pengaruh praperlakuan dengan variasi konsentrasi hidrogen peroksida dan waktu praperlakuan selama 48 jam terhadap komposisi sekam padi.

Parameter persentase lignin menunjukkan kadar lignin pada masing-masing sampel. Kadar lignin awal sebelum diberikan praperlakuan yaitu sebesar 39,99%. Dari gambar 2.1 terlihat bahwa kadar lignin terendah sebesar 17,10% diperoleh saat konsentrasi H_2O_2 3% dan waktu perendaman 6 jam. Komposisi lignin yang diperoleh pada setiap variasi waktu perendaman dan variasi konsentrasi hidrogen peroksida menunjukkan hubungan yang cukup signifikan terhadap komposisi sekam padi. Semakin besar konsentrasi hidrogen peroksida yang digunakan dan semakin lama waktu praperlakuan, maka kadar lignin yang terkandung pada sampel cenderung mengalami penurunan. Penurunan ini disebabkan oleh semakin banyak jumlah lignin yang terdegradasi seiring dengan bertambahnya konsentrasi hidrogen peroksida dan semakin lama waktu perendaman. Hal ini disebabkan oleh kontak antara sekam padi dan larutan praperlakuan semakin besar.

Parameter persentase selulosa menunjukkan kadar selulosa yang terdapat didalam sampel. Hasil yang didapatkan menunjukkan kadar selulosa yang cukup tinggi daripada komposisi lainnya. Kadar selulosa tertinggi ditunjukkan oleh sampel dengan konsentrasi H_2O_2 3% dan waktu perendaman 6 jam yaitu sebesar 63,84%. Sementara kadar selulosa terendah diperoleh pada saat konsentrasi H_2O_2 3% dan waktu perendaman 24 jam yaitu sebesar 36,97%. Kadar selulosa cenderung meningkat pada waktu perendaman 6 dan 48 jam. Namun kadar selulosa mengalami penurunan pada variasi waktu perendaman 24 jam. Dari gambar terlihat bahwa komposisi kadar selulosa tidak menunjukkan hubungan yang cukup signifikan terhadap variasi konsentrasi hidrogen peroksida.

Parameter persentase hemiselulosa menunjukkan kadar hemiselulosa yang terdapat pada sekam padi. Hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi hidrogen peroksida, kadar hemiselulosa yang diperoleh cenderung meningkat disetiap variasi waktu perendaman. Kandungan hemiselulosa tertinggi yaitu sebesar 17% dihasilkan pada saat konsentrasi H_2O_2 3% dan waktu perendaman 24 jam.

Parameter Persentase Hot Water Soluble (HWS) menunjukkan kadar senyawa oligosakarida dan pektin didalam substrat [1] yang berguna sebagai senyawa penyusun dinding sel tumbuhan. Persentase HWS pada sekam padi yang telah dilakukan praperlakuan menunjukkan kecenderungan peningkatan pada sampel perendaman 24 jam, sedangkan menunjukkan kecenderungan penurunan pada sampel perendaman 6 dan 48 jam. Persentase HWS tertinggi ditunjukkan oleh konsentrasi H_2O_2 3% dan waktu perendaman 24 jam yaitu sebesar 6,84% dan terendah ditunjukkan oleh konsentrasi H_2O_2 5% dan waktu perendaman 6 jam yaitu sebesar 0,15%. Komposisi HWS yang didapatkan ini tidak menunjukkan hubungan yang signifikan dengan variasi konsentrasi hidrogen peroksida maupun dengan variasi waktu perendaman.

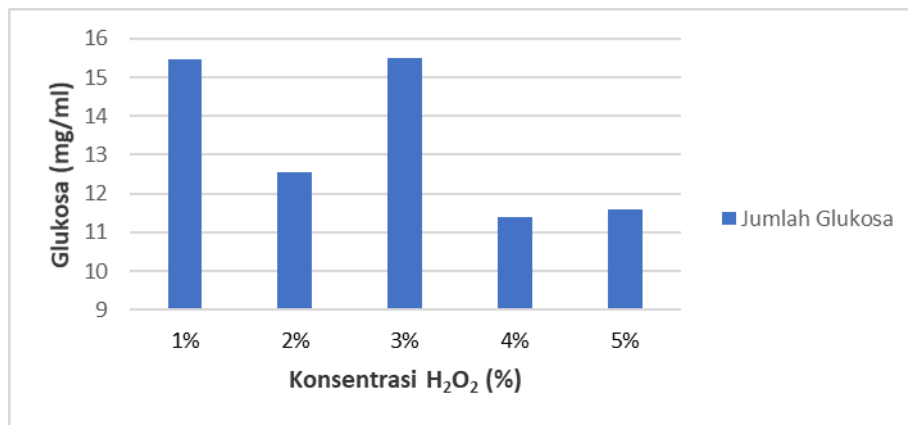
Menurut Raheem dan Kareem komposisi abu sekam padi mayoritas terdiri dari silikon oksida (SiO_2) sehingga residu abu berwarna putih. Contoh dari abu hasil furnace ditunjukkan oleh Gambar 2.4. berikut ini.



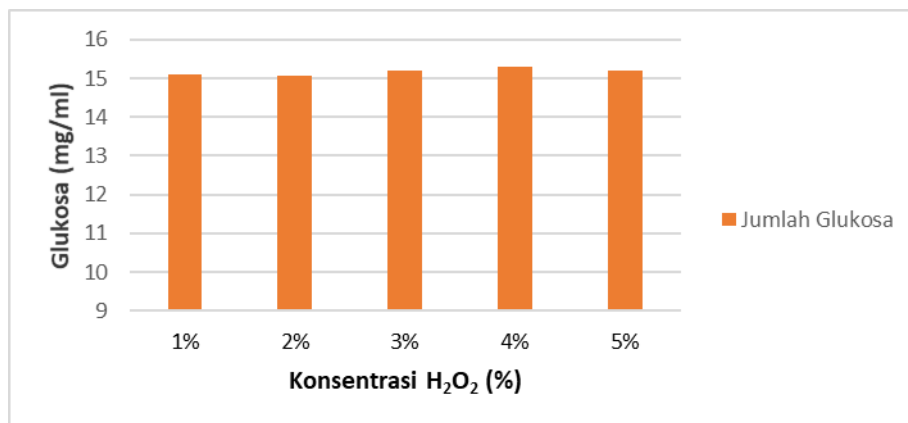
Gambar 2.4. Hasil Abu Sampel Setelah di furnace

2.3.2. Pengaruh Perlakuan Praperlakuan Terhadap Kadar Glukosa

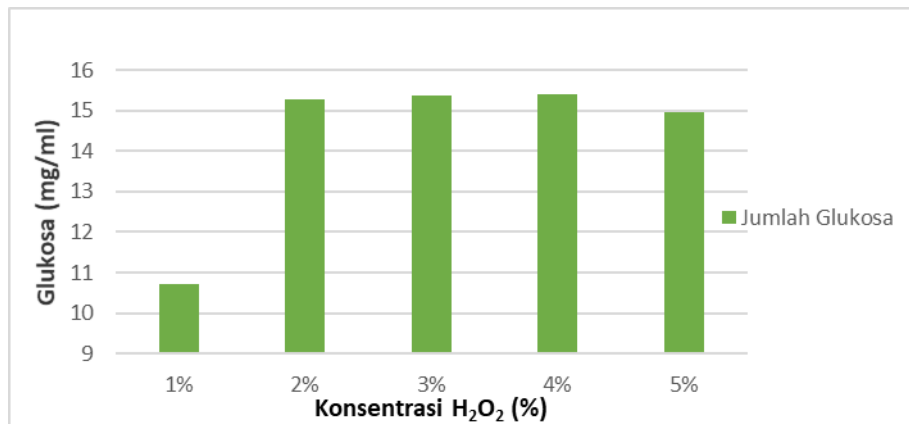
Tahap pengolahan selanjutnya yang dilakukan setelah praperlakuan adalah proses hidrolisis enzimatik dengan tujuan untuk mengubah selulosa menjadi glukosa. Rantai selulosa selanjutnya dipecah menjadi glukosa dengan bantuan katalis. Penelitian ini memanfaatkan katalis biologis berupa enzim selulase yang diperoleh dari metabolisme kapang *aspergillus niger*. Glukosa yang diperoleh dari proses hidrolisis enzimatik ini, dianalisa dengan metode analisa DNS menggunakan alat spektrofotometri UV-VIS. Kadar glukosa yang diperoleh ditunjukkan oleh Gambar 2.5, Gambar 2.6, dan Gambar 2.7 berikut ini.



Gambar 2.5. Pengaruh praperlakuan dengan variasi konsentrasi hidrogen peroksida dan waktu praperlakuan selama 6 jam terhadap kadar glukosa.



Gambar 2.6. Pengaruh praperlakuan dengan variasi konsentrasi hidrogen peroksida dan waktu praperlakuan selama 24 jam terhadap kadar glukosa.

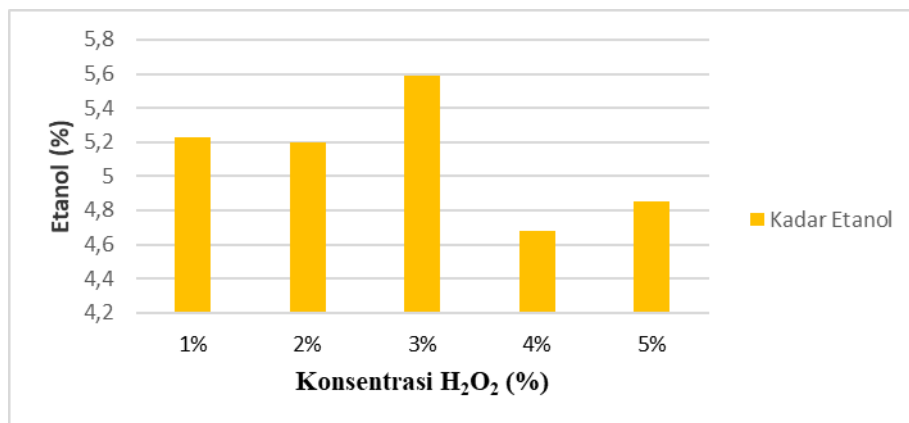


Gambar 2.7. Pengaruh praperlakuan dengan variasi konsentrasi hidrogen peroksida dan waktu praperlakuan selama 48 jam terhadap kadar glukosa.

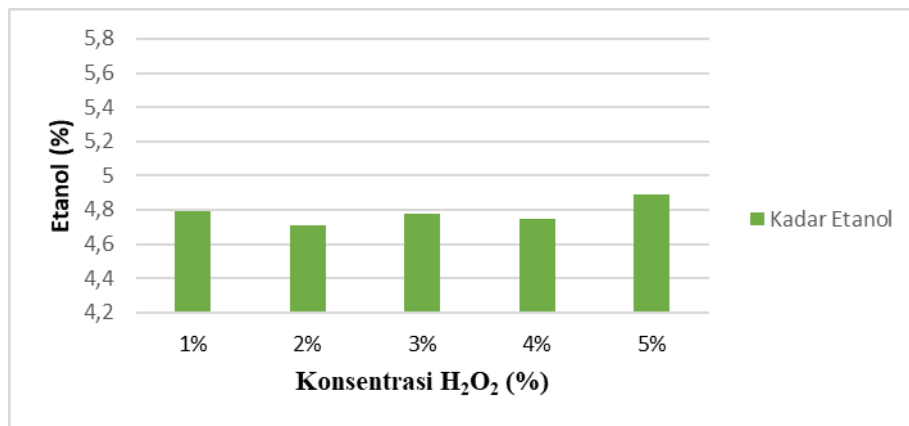
Gambar 2.5 menunjukkan bahwa konsentrasi yang menghasilkan jumlah glukosa optimal di setiap variasi waktu perendaman adalah konsentrasi H₂O₂ 3% pada waktu perendaman 6 jam yaitu sebesar 15,5062 mg/ml. Hasil uji analisa menunjukkan glukosa yang dihasilkan menunjukkan kecenderungan meningkat pada variasi waktu perendaman 24 dan 48 jam, sedangkan pada variasi waktu perendaman selama 6 jam cenderung menurun.

2.3.3. Pengaruh Praperlakuan H₂O₂-Ammonia Terhadap Kadar Etanol

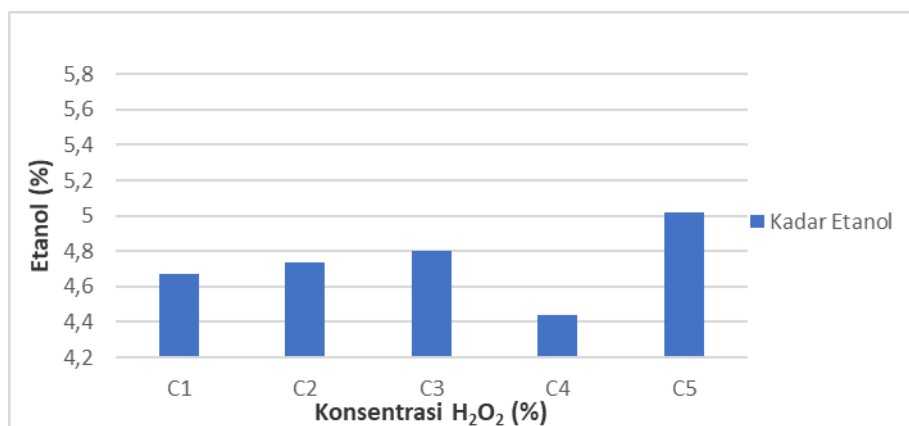
Proses fermentasi menggunakan mikroorganismenya berupa *Saccharomyces cerevisiae*, dilakukan selama waktu 5 hari. Fermentasi memiliki tujuan untuk mengubah glukosa menjadi etanol. Etanol yang diperoleh dari hasil fermentasi, selanjutnya dimurnikan dengan destilasi untuk memperoleh kadar etanol yang lebih pekat. Hasil dari uji analisa etanol ditunjukkan pada Gambar 2.8, Gambar 2.9, dan Gambar 2.10 sebagai berikut.



Gambar 2.8. Pengaruh praperlakuan dengan variasi konsentrasi hidrogen peroksida dan waktu praperlakuan selama 6 jam terhadap kadar etanol.

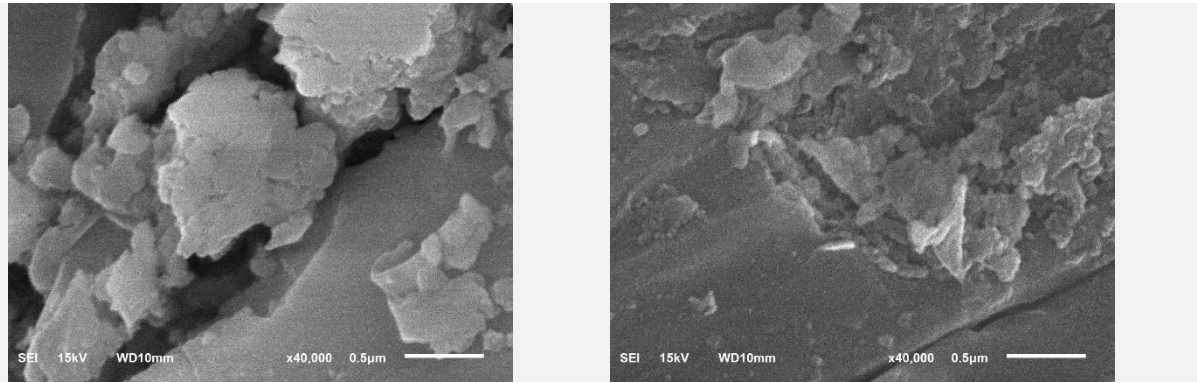


Gambar 2.9. Pengaruh praperlakuan dengan variasi konsentrasi hidrogen peroksida dan waktu praperlakuan selama 24 jam terhadap kadar etanol.



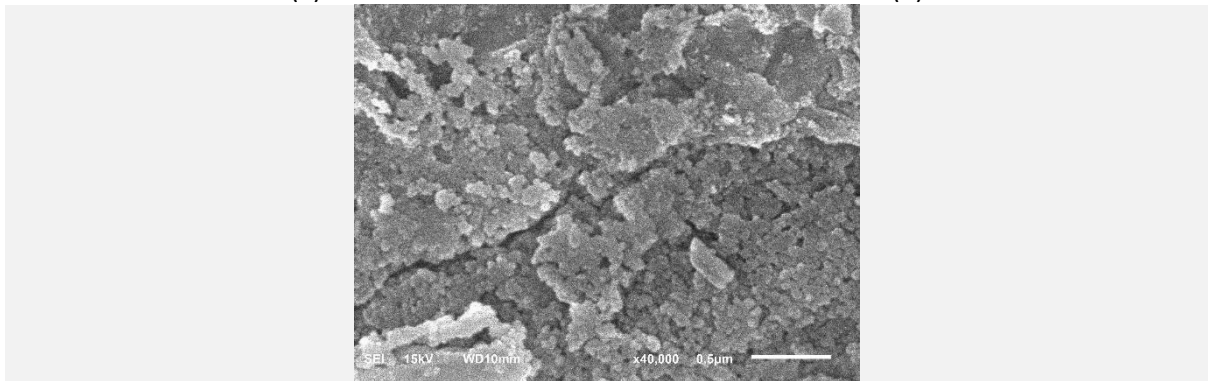
Gambar 2.10. Pengaruh praperlakuan dengan variasi konsentrasi hidrogen peroksida dan waktu praperlakuan selama 48 jam terhadap kadar etanol.

Hasil analisa menunjukkan bahwa kadar etanol dari hasil perendaman 24 dan 48 jam cenderung meningkat, sedangkan pada perendaman selama 6 jam kadar etanol cenderung menurun. Kadar etanol tertinggi diperoleh pada konsentrasi H₂O₂ 3% dan waktu perendaman 6 jam yaitu 5,59% dan yang terendah yaitu konsentrasi H₂O₂ 4% dan waktu perendaman 48 jam yaitu sebesar 4,44%.



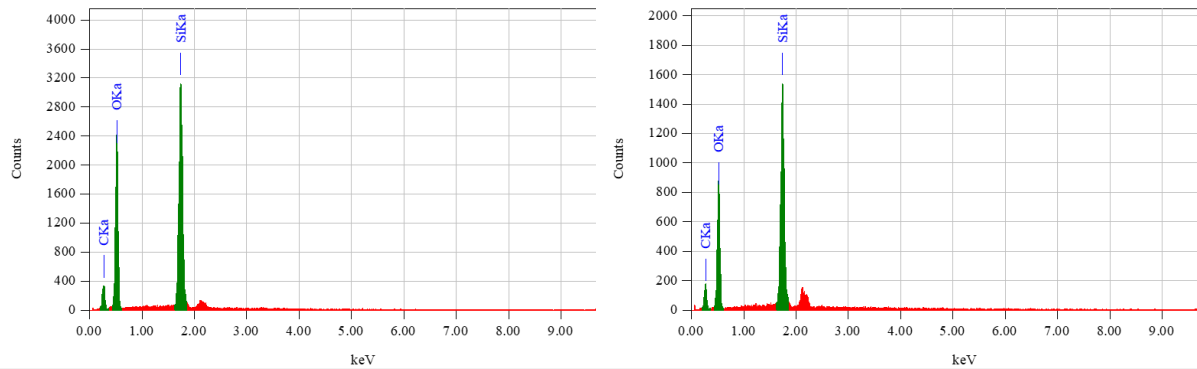
(a)

(b)



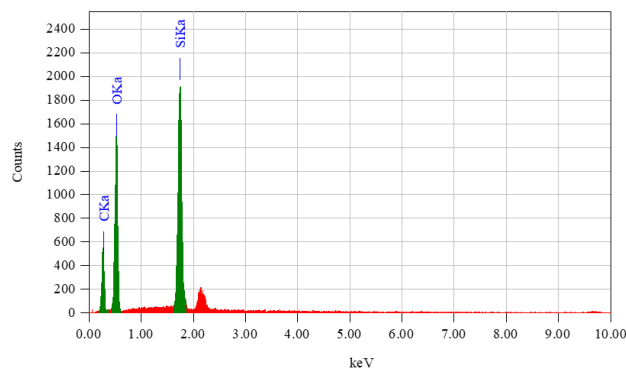
(c)

Gambar 2.11. Analisa SEM dari sekam padi: (a) Sebelum praperlakuan; (b) Setelah praperlakuan H₂O₂ dengan konsentrasi H₂O₂ 3% (v/v); dan (c) Setelah praperlakuan H₂O₂-Aqueous Ammonia dengan konsentrasi H₂O₂ 3% (v/v) dan konsentrasi Aqueous Ammonia 20% (v/v).



(a)

(b)



(c)

Gambar 2.12. Analisa EDS dari sekam padi: (a) Sebelum praperlakuan; (b) Setelah praperlakuan H₂O₂ dengan konsentrasi H₂O₂ 3% (v/v); dan (c) Setelah praperlakuan H₂O₂-Aqueous Ammonia dengan konsentrasi H₂O₂ 3% (v/v) dan konsentrasi Aqueous Ammonia 20% (v/v).

Analisa SEM dan EDS dari sekam padi sebelum diberi praperlakuan, setelah diberi praperlakuan H₂O₂ dan setelah diberi praperlakuan H₂O₂-Aqueous Ammonia disajikan pada gambar 2.11. dan gambar 2.12. Gambar 2.11. menunjukkan gambar hasil analisa SEM permukaan epidermis eksterior dari ukuran partikel serbuk sekam padi 35 mesh pada kondisi sebelum dan sesudah pretreatment dengan konsentrasi H₂O₂ 3% (v/v) dan konsentrasi Aqueous Ammonia 20% (v/v). Perubahan kandungan lignin dari sekam padi dapat juga dilihat dari bentuk fisik partikel. Sebelum diberikan praperlakuan, partikel sekam padi berwarna kuning pucat dan permukaannya terasa kasar, sedangkan setelah diberikan praperlakuan partikel sekam padi berwarna kuning kecoklatan dan lebih pekat dengan permukaan lebih halus. Hal ini menandakan, lignin pada partikel sekam padi telah rusak. Untuk membuktikan hal tersebut, serbuk partikel sekam padi sebelum dan sesudah praperlakuan dianalisis dengan SEM-EDS untuk H₂O₂ 3% (v/v) dan konsentrasi Aqueous Ammonia 20% (v/v). Hasil analisis SEM terhadap partikel sebelum dan sesudah ditunjukkan pada gambar 2.11. Sebelum pretreatment tekstur berbentuk seperti serat yang terikat dengan rongga-rongga kecil. Setelah dilakukan pretreatment, luas permukaan dari partikel sekam padi semakin bertambah.

Dapat dilihat dari gambar 2.11 bahwa tekstur sampel sebelum diberi praperlakuan, setelah diberi praperlakuan H₂O₂ dan setelah diberi praperlakuan H₂O₂-Aqueous Ammonia, mengalami kerusakan sehingga terdapat lobang-lobang (pori) yang menandakan bahwa luas permukaan semakin besar dan bertambah pada setiap tekstur sampel setelah dilakukan pretreatment. Hal ini disebabkan ikatan lignin telah terurai dan mampu memecah karbohidrat pada sekam padi yang didalamnya terkandung selulosa dan hemiselulosa. Luas permukaan partikel yang semakin besar menandakan semakin besarnya luas permukaan biomassa. Sehingga peningkatan luas permukaan biomassa bisa mengakibatkan kontak enzim terhadap selulosa pada proses hidrolisis akan semakin mudah dan bisa meningkatkan glukosa yang terkonversi dari selulosa.

Pada hasil analisa SEM-EDS salah satu unsur utama penyusun selulosa adalah karbon sedangkan untuk kandungan lignin bisa dilihat dari kandungan silika. Menurut peneliti terdahulu [14], silika tahan terhadap pembusukan dan dapat melindungi serat dari biodegradasi. Sifat silika yang keras dan kaku serta berfungsi sebagai pelindung lapisan antar sel membuatnya bisa disamakan dengan sifat dari lignin.

III. PRODUKSI BIOETANOL DENGAN OPTIMASI PROSES HIDROLISIS ENZIMATIK

Hidrolisis Enzimatik dilakukan dengan variasi waktu 5 jam, 10 jam, 15 jam, 20 jam dan 25 jam dan variasi konsentrasi enzim 2%, 4% dan 6%. Hasil hidrolisis dianalisa dengan Metode DNS dan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. Hasil kadar glukosa tersaji pada Tabel 3.1 dengan kode sampel A, B, dan C berturut-turut dengan konsentrasi 2%, 4% dan 6%. Volume sampel setelah dihidrolisis dapat dilihat pada tabel 3.2. Volume sampel setelah proses distilasi dapat dilihat pada tabel 3.3.

Tabel 3.1. Hasil Analisa Spektrofotometer UV-Vis Sampel

Kode Sampel	Parameter Uji	Metode Uji	Kadar Glukosa (mg/ml)
A1			4,0793
A2			5,4442
A3			3,9769
B1			4,2016
B2			4,5552
B3			4,7436
C1			2,8004
C2	Kadar Glukosa	Spektrofotometer UV-Vis	3,3093
C3			3,2234
D1			1,4124
D2			6,4785
D3			2,9656
E1			2,0370
E2			4,1586
E3			6,0291

Keterangan :

- A = Waktu hidrolisis 5 jam
 B = Waktu hidrolisis 10 jam
 C = Waktu hidrolisis 15 jam
 D = Waktu hidrolisis 20 jam
 E = Waktu hidrolisis 25 jam
 1,2,3 = Variasi konsentrasi enzim selulase 2,4,6 %

Tabel 3.2. Volume Sampel setelah Proses Hidrolisis Enzimatis.

Volume Sampel (mL)			
Waktu Hidrolisis	Kadar Enzim		
	2 %	4%	6%
5 jam	445	390	405
10 jam	136	138	134
15 jam	151	159	153
20 jam	127	156	370
25 jam	159	139	155

Tabel 3.3. Volume Sampel setelah Proses Distilasi.

Volume Sampel (mL)			
Waktu Hidrolisis	Kadar Enzim		
	2 %	4%	6%
5 jam	14	30	25
10 jam	18	9,25	11
15 jam	16	19,5	17
20 jam	6,5	30	3,5
25 jam	21	16	27

D. STATUS LUARAN: Tuliskan jenis, identitas dan status ketercapaian setiap luaran wajib dan luaran tambahan (jika ada) yang dijanjikan pada tahun pelaksanaan penelitian. Jenis luaran dapat berupa publikasi, perolehan kekayaan intelektual, hasil pengujian atau luaran lainnya yang telah dijanjikan pada proposal. Uraian status luaran harus didukung dengan bukti kemajuan ketercapaian luaran sesuai dengan luaran yang dijanjikan. Lengkapi isian jenis luaran yang dijanjikan serta unggah bukti dokumen ketercapaian luaran wajib dan luaran tambahan melalui Simlitabmas mengikuti format sebagaimana terlihat pada bagian isian luaran

Luran wajib yang dijanjikan di tahun 1:

1. Terbit nomor pendaftaran paten
 Dokumen pendaftaran paten: Proses Pembuatan Bioetanol dari Sekam padi dengan Praperlakuan Hidrogen Peroksida-Aqueous Ammonia.

Untuk draft paten telah selesai dengan nomor permohonan pendaftaran paten: **P00202110330**. Adapun formulir permohonan pendaftaran paten dan draft paten terlampir.

Luran tambahan yang dijanjikan di tahun 1:

1. Artikel pada Conference/Seminar Internasional di Pengindeks Bereputasi Paper telah diseminasikan pada Seminar Internasional “Sriwijaya International Conference on Engineering and Technology 2021 (SICETO 2021)” pada tanggal 26 Oktober 2021. Bukti Paper, sertifikat dan letter of acceptance terlampir. Saat ini masih menunggu proses penerbitan pada Prosiding AIP Publishing.

Tahun 1 masih di tahap level TKT 4, validasi teknologi pada skala laboratorium. Sehingga keterlibatan MITRA belum terlalu banyak. Bukti dokumen terlampir.

E. **PERAN MITRA:** Tuliskan realisasi kerjasama dan kontribusi Mitra baik *in-kind* maupun *in-cash* (jika ada). Bukti pendukung realisasi kerjasama dan realisasi kontribusi mitra dilaporkan sesuai dengan kondisi yang sebenarnya. Bukti dokumen realisasi kerjasama dengan Mitra diunggah melalui Simlitabmas mengikuti format sebagaimana terlihat pada bagian isian mitra

Tahun 1 masih di tahap level TKT 4, validasi teknologi pada skala laboratorium. Sehingga keterlibatan MITRA belum terlalu banyak. Bukti dokumen terlampir.

F. **KENDALA PELAKSANAAN PENELITIAN:** Tuliskan kesulitan atau hambatan yang dihadapi selama melakukan penelitian dan mencapai luaran yang dijanjikan, termasuk penjelasan jika pelaksanaan penelitian dan luaran penelitian tidak sesuai dengan yang direncanakan atau dijanjikan.

Karena pandemi covid-19, sehingga pelaksanaan penelitian menjadi belum optimal. Karena penundaan pelaksanaan penelitian yang seharusnya tahun 2020, ditunda menjadi tahun 2021, sehingga seminar yang awalnya di rencanakan ke 5th International Conference of Chemical Engineering & Industrial Biotechnology tahun 2020 berubah menjadi “Sriwijaya International Conference on Engineering and Technology 2021 (SICETO 2021)” pada tanggal 26 Oktober 2021. Seminar Internasional ini awalnya menjanjikan bahwa artikel prosiding terbit di tahun 2021. Namun sampai bulan November 2021 ini ternyata belum terbit di AIP Publishing Proceeding.

Koordinasi secara langsung dengan Mitra juga terhalang karena pandemi.

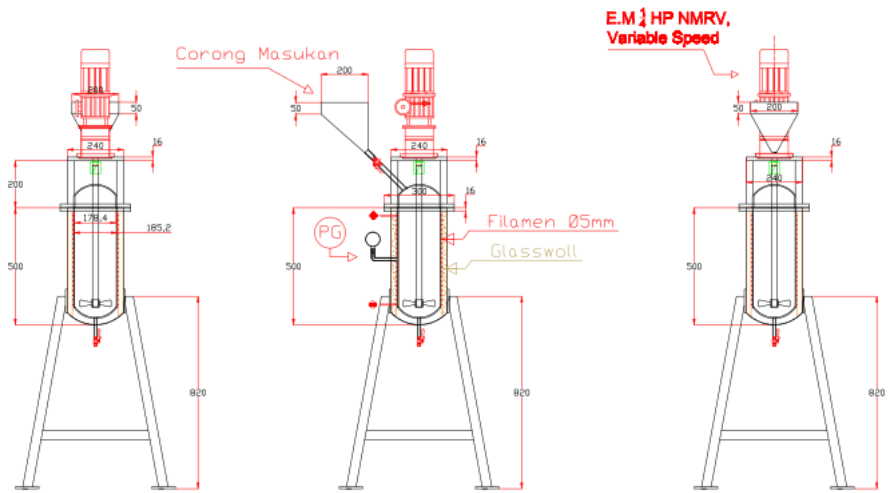
G. **RENCANA TINDAK LANJUT PENELITIAN:** Tuliskan dan uraikan rencana tindak lanjut penelitian selanjutnya dengan melihat hasil penelitian yang telah diperoleh. Jika ada target yang belum diselesaikan pada akhir tahun pelaksanaan penelitian, pada bagian ini dapat dituliskan rencana penyelesaian target yang belum tercapai tersebut.

Rencana Penelitian Tahun Ke-2

Tahapan Kegiatan Penelitian selama tiga tahun disajikan pada gambar G.3. Road Map penelitian 3 tahunan dan Road Map keseluruhan dapat dilihat pada gambar G.4 dan G.5. Rencana penelitian tahun ke-2 adalah merancang dan mendesain alat pretreatment, fermentor dan distilasi.

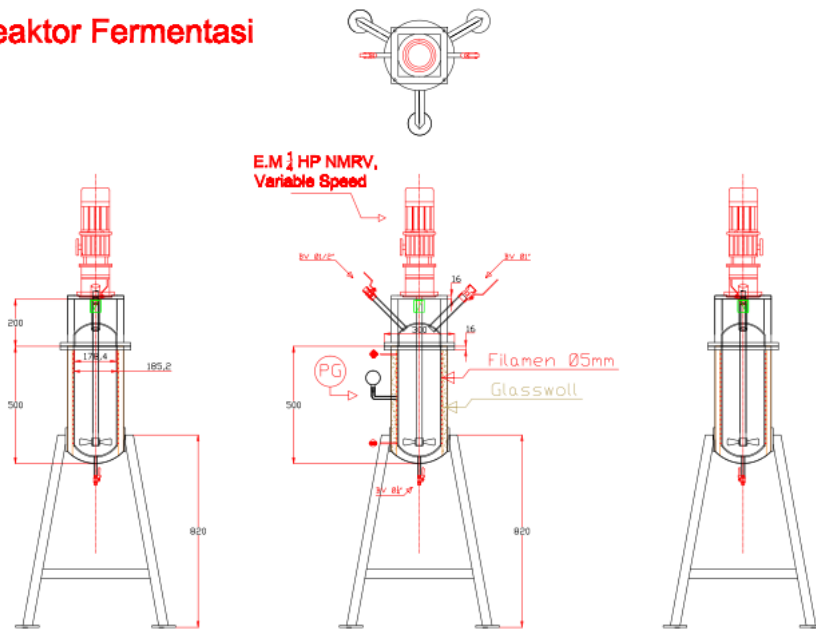
Desain Reaktor Pretreatment dan Fermentor

Rencana desain reaktor pretreatment dapat dilihat pada gambar G.1. Fermentor didesain seperti pada gambar G.2.

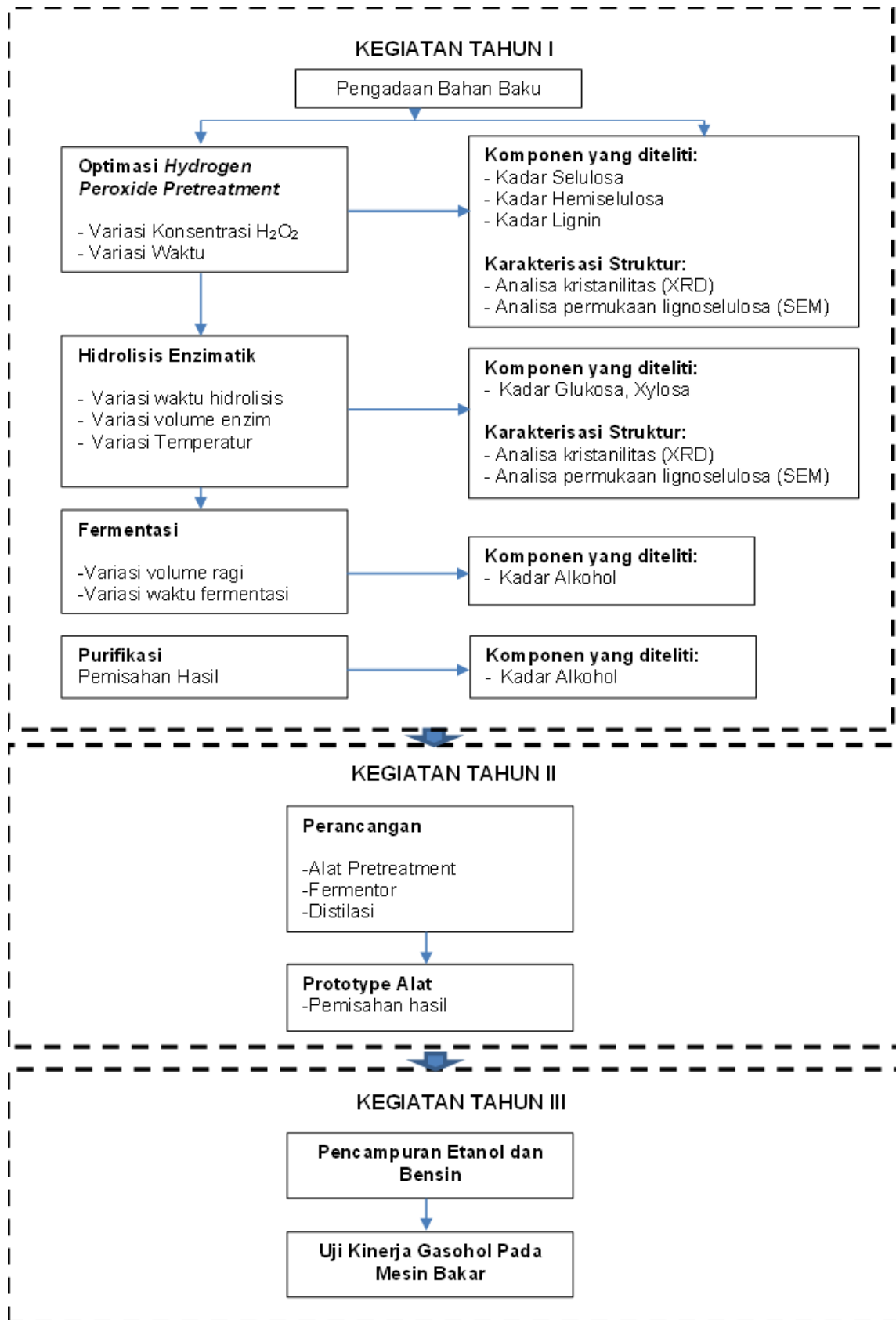


Gambar G.1 Desain reaktor pretreatment

Reaktor Fermentasi

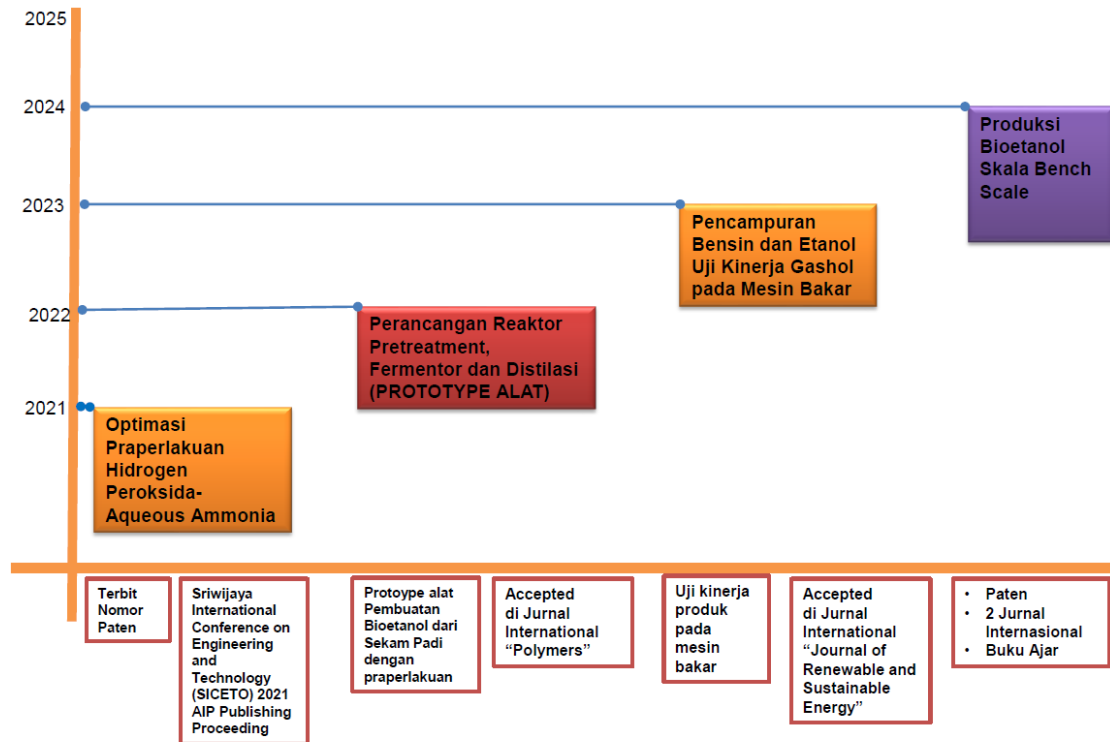


Gambar G.2 Desain Fermentor



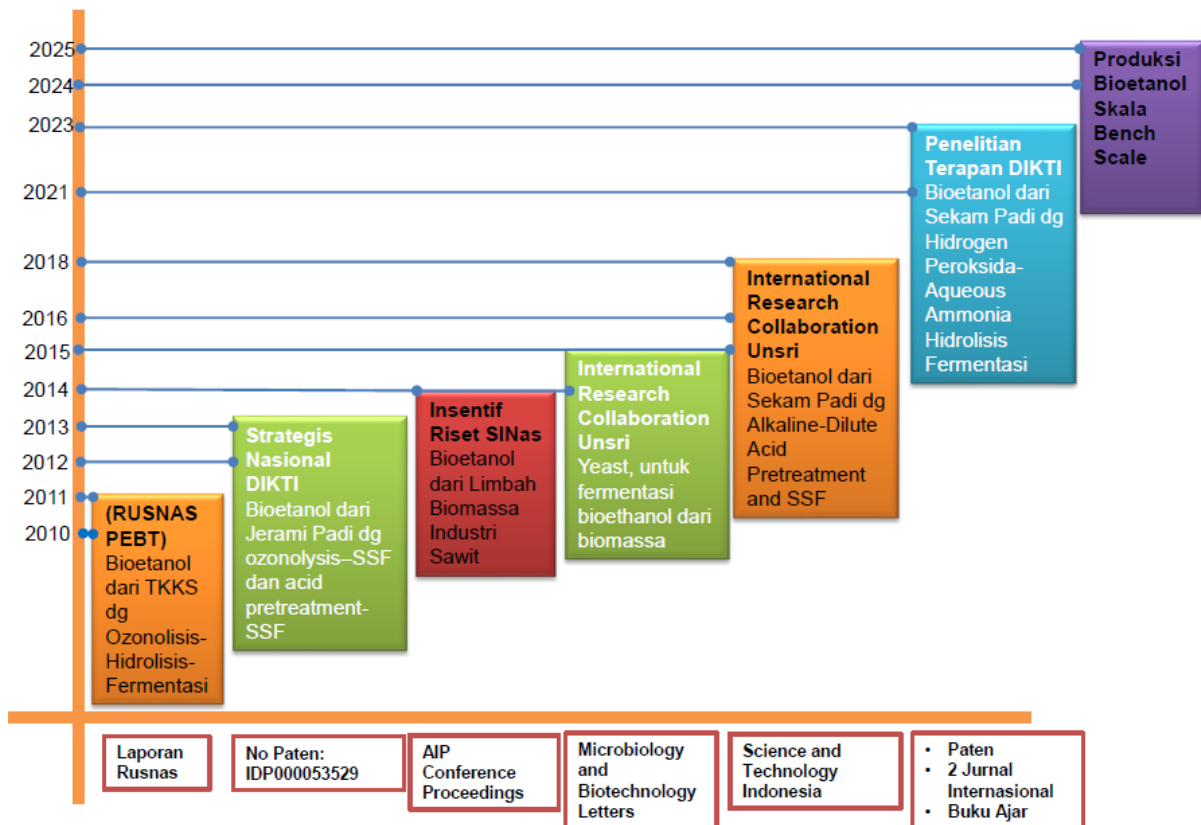
Gambar G.3 Tahapan Kegiatan Penelitian Selama 3 Tahun

ROAD MAP PENELITIAN



Gambar G.4 Road Map Penelitian Selama 3 Tahun

ROAD MAP PENELITIAN



Gambar G.5 Road Map Penelitian Keseluruhan

METODE PENELITIAN

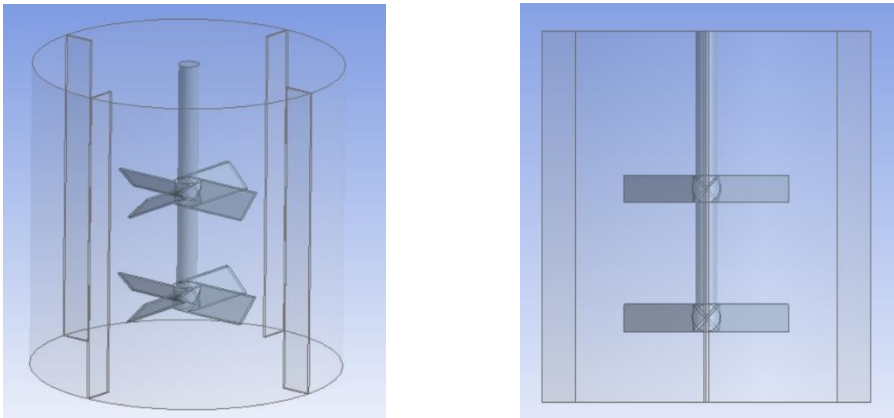
Prosedur Pemodelan dan Simulasi CFD

Tahapan dalam pemodelan dan simulasi CFD secara garis besar dapat diklasifikasikan menjadi 3 tahapan utama, yaitu pre-processing, solving, dan post-processing. Pemodelan dan simulasi CFD dilakukan dengan program ANSYS 2021 R2. Tahapan ringkas pemodelan dan simulasi CFD disajikan dalam bentuk diagram alir yang dapat dilihat pada Gambar G.3.

Pre-Processing

Geometri alat pretreatment dan fermentor bioetanol dibuat dengan program Ansys SpaceClaim, sedangkan meshing dilakukan dengan menggunakan program Ansys Fluent Meshing.

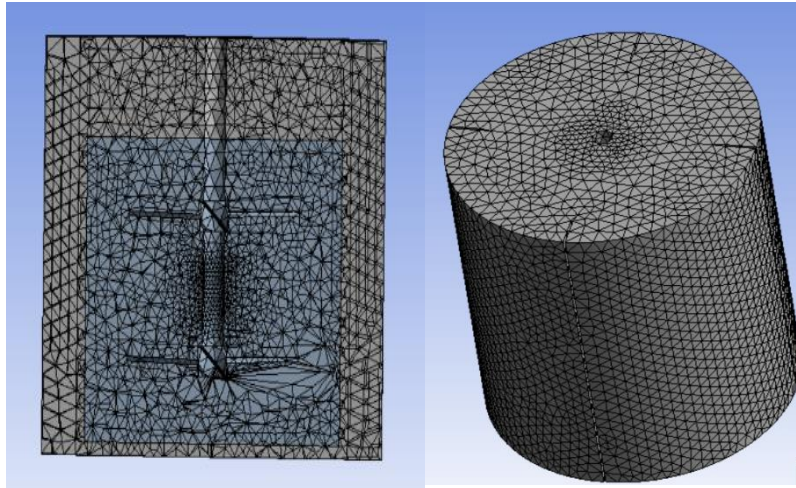
- 1) Geometri reaktor berbentuk silinder tiga dimensi dengan dua pengaduk 4-blade axial turbine dibuat modelnya sesuai dengan Gambar G.1.
- 2) Penamaan boundary conditions dilakukan dengan menggunakan Ansys SpaceClaim pada saat geometri reaktor telah selesai.
- 3) Geometri reaktor yang sudah diberi nama kondisi batas kemudian dilakukan tahapan meshing. Zona tangki fermentor terdiri dari tiga zona fluida, yaitu zona stationari, zona rotary top (impeller atas), dan zona rotary bottom (impeller bawah). Spesifikasi hasil meshing tersajikan pada Tabel G.1., sedangkan hasil meshing geometri tangki dapat dilihat pada Gambar G.2.



Gambar G.1. Geometri Reaktor

Tabel G.1. Spesifikasi Mesh

Parameter	Kualitas/Kuantitas
Nodes	25424
Elements	123728
Mesh Shape type	Tetrahedron
Maximum aspect ratio	2884.5
Minimum orthogonal quality	1.1579



Gambar G.2. Hasil *Meshing* Geometri Reaktor

Solving

1. Hasil meshing reaktor diinput ke dalam solver (setup) Ansys Fluent, kemudian dicek apakah terdapat error atau tidak dengan menggunakan mesh check, dan dipilih mode simulasi transient.
2. Model multiphase diaktifkan dengan menggunakan model Eulerian.
3. Model viscous dipilih Realizable k-epsilon dengan Standard wall functions wall treatment, dan model turbulensi multifasa yang dipilih adalah campuran.
4. Material yang didefinisikan yaitu fluida air dan glukosa dengan sifat2 fisika dan kimianya telah ditentukan.
5. Cell zone conditions didefinisikan dengan tiga zona yaitu zona stationari, rotary top, dan rotary bottom. Zona rotary top dan rotary bottom didefinisikan sebagai frame motion dengan kecepatan putar sesuai dengan variabel bebas penelitian.
6. Boundary conditions (BC) didefinisikan dengan dua tipe yaitu internal dan wall. Kondisi temperatur yang digunakan yaitu 293K di tiap Boundary Condition, Boundary Condition wall tiap impeller diatur stationary dengan relative terhadap adjacent cell zone, dan Boundary Condition wall batang shaft diatur moving dengan kecepatan putar sama seperti kecepatan putar cell zone rotary.
7. Solution Methods diatur dengan menggunakan skema Phase Coupled SIMPLE, gradient Least Squares Cell Based, pressure PRESTO, momentum First Order Upwind, volume fraction First Order Upwind, Turbulent Kinetic Energy First Order Upwind, dan Turbulent Dissipation Rate First Order Upwind.
8. Solution dilakukan standard initialize sebelum memulai perhitungan iterasi.
9. Perhitungan iterasi dilakukan dengan input awal 1000 kali iterasi.

Post-Processing

- 1) Menampilkan contour dari berbagai variabel yang diamati dan grafik mixing time.
- 2) Gambar contour, serta grafik yang telah diperoleh kemudian diolah dan dianalisa.

Prosedur Validasi Eksperimental

Hasil dari pemodelan simulasi CFD divalidasi secara eksperimental agar dapat diketahui seberapa akurat hasil tersebut. Metode validasi eksperimental dilakukan dengan metode coloring/decoupling process yang merujuk pada [15]. Percobaan dibagi menjadi dua tahap. Langkah pertama adalah untuk mengkarakterisasi sifat reologi glukosa murni dan campuran glukosa-air. Langkah kedua adalah menganalisis perilaku pencampuran berdasarkan data yang diperoleh dengan menggunakan metode visualisasi.

1. Tangki ini diisi dengan glukosa hingga ketinggian 1/3 dari tangki, dan air sebanyak 2/3 dari tangki. Baling-baling berbilah tiga kemudian diputar dengan kecepatan 20 rpm, 40 rpm, 60 rpm, 80 rpm, dan 100 rpm. Sebuah tachometer digunakan untuk memastikan keakuratan kecepatan rotasi baling-baling. Proses pencampuran diamati dan direkam menggunakan kamera digital.
2. Waktu pencampuran diperoleh saat larutan mengalami decoloring total (reaksi mencapai ekuilibrium).
3. Foto yang diperoleh melalui perekaman dengan kamera digital kemudian diolah dan dianalisa.
4. Hasil kuantitatif waktu pencampuran dan kualitatif visual dinamika pencampuran kemudian dibandingkan

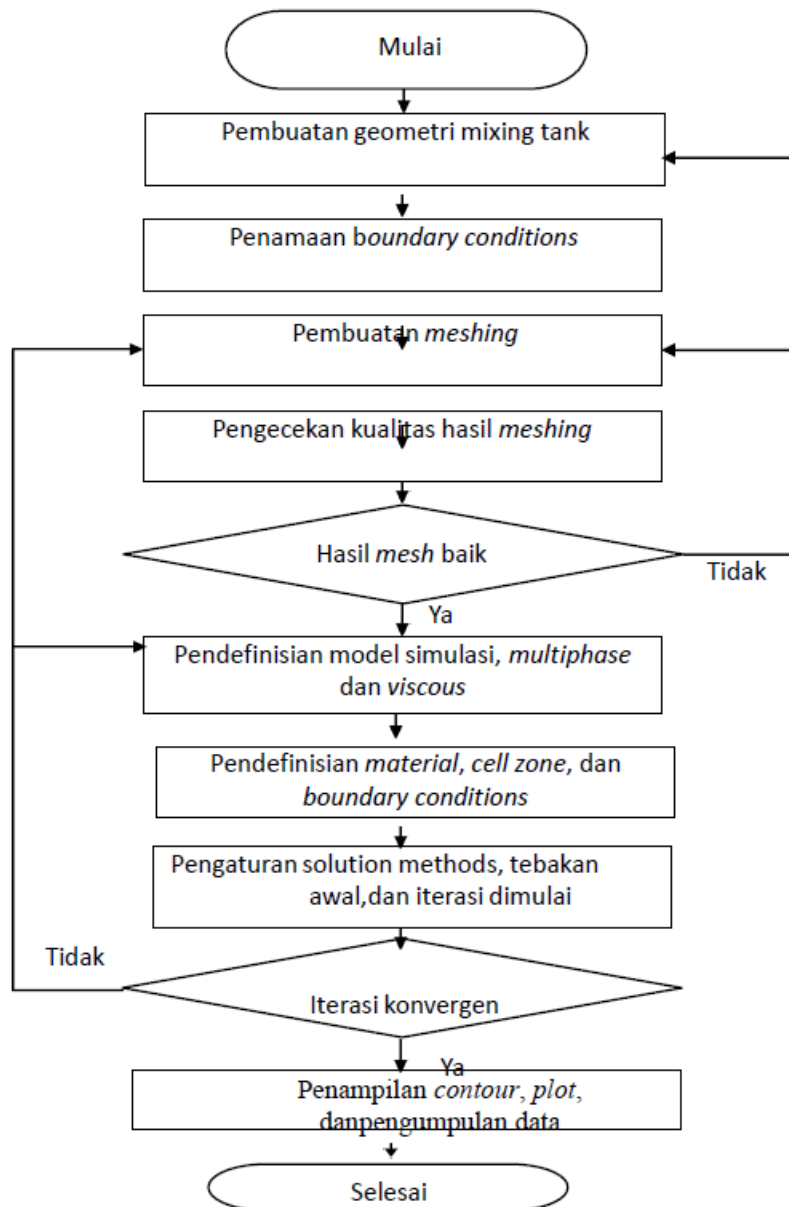
dengan hasil post-processing simulasi CFD tangka pencampuran yang sudah diperoleh.

Variabel Penelitian

Kecepatan, shear stress, pola aliran, dan waktu pencampuran merupakan variabel terikat atau variabel yang diobservasi pada simulasi CFD tangki. Variabel bebas yang diuji pada penelitian ini adalah konfigurasi baffle dan kecepatan putar dari impeller, yaitu 20 rpm, 40 rpm, 60 rpm, 80 rpm, dan 100 rpm. Variabel terkontrol adalah temperatur dan larutan glukosa. Variabel yang divariasikan menghasilkan berbagai kondisi yang dapat dilihat pada matriks Tabel G.2.

Tabel G.2. Matriks Simulasi dan Eksperimen

Kondisi	Konfigurasi Baffle	Kecepatan Pengadukan (rpm)
A2		20
A4		40
A6	Ada	60
A8		80
A10		100
T2		20
T4		40
T6	Tidak ada	60
T8		80
T10		100



Gambar G.3. Skema Diagram Alir Tahapan Simulasi CFD

Energi terbarukan dari biomassa merupakan salah satu sumber energi alternatif yang menjanjikan di sektor transportasi. Bioetanol adalah bahan bakar terbarukan yang memiliki struktur yang sama minyak bumi. Bioetanol dicampur dengan bensin (gasohol) dapat meningkatkan proses pembakaran bensin. Bioetanol dapat diproduksi dari: (1) Biomassa yang diberi pra-perlakuan untuk menurunkan kandungan lignin sehingga selulosa dapat diakses oleh enzim, (2) sakarifikasi enzimatik biomassa yang telah diberipraperalakuan sebelumnya, untuk menguraikan polisakarida menjadi gula, (3) fermentasi mikroba gula menjadi bioetanol, dan (4) memurnikan bioetanol dari kaldu fermentasi [16]. Beberapa bahan baku yang dapat digunakan untuk membuat bioetanol seperti ampas tebu [17], [18], tongkol jagung [19] [20], jerami padi [21], jerami gandum [22], [23], rumput [24], [25], dan alga [26], [27]. Semua bahan baku ini dapat dimanfaatkan untuk membentuk gula, yang kemudian difermentasi untuk menghasilkan bioetanol. Selain itu, untuk memurnikan bioetanol juga diperlukan sistem distilasi.

Peneliti sebelumnya (Madhania, Muharam, Winardi, & Purwanto, 2019) menggunakan simulasi CFD untuk mengevaluasi viskositas molase. Untuk memprediksi proses pencampuran molase dan air, mereka menggunakan model Large Eddy Simulation. Beberapa penelitian telah menggunakan simulasi CFD untuk melihat bagaimana berbagai jenis impeller dapat mempengaruhi pencampuran selama fermentasi. Penelitian tahun kedua ini mengkaji aplikasi Computational Fluid Dynamics (CFD) untuk pemodelan dan pengembangan bioetanol yang diperlukan untuk mendisain reaktor pretreatment, hydrolysis, fermentasi dan distilasi.

Pretreatment

Pretreatment bertujuan untuk membuat selulosa lebih mudah diakses saat hidrolisis enzimatis, fermentasi gula, dan menghasilkan etanol. Beberapa peneliti menggunakan teknik peningkatan laju pretreatment dengan memvariasikan dosis kimia, distribusi ukuran bahan, massa katalis, dan waktu reaksi [28]. Pretreatment dan hidrolisis enzimatis adalah dua dari lima proses dalam pembuatan bioetanol yang memiliki dampak besar pada konversi dan efektivitas [28]. Hidrolisis selulosa diperlukan untuk sintesis bioetanol dari bahan lignoselulosa, dapat diperbaiki dengan memberikan praperlakuan pada bahan baku [29]. Pretreatment digunakan sebelum hidrolisis enzimatis untuk memecah komposisi dasar bahan lignoselulosa sehingga dapat meningkatkan hasil gula. Tugas utama tahap pretreatment adalah menghasilkan biaya yang rendah dan produksi enzimatis yang kompetitif [28]. Oleh karena itu, disain dan pengembangan reaktor pretreatment yang efektif dan hemat daya sangat diperlukan [30].

Pengecilan ukuran merupakan jenis pretreatment, dimana sifat karbohidrat yang terdiri dari polimer panjang lurus yang telah diperkecil ukurannya dapat menghasilkan jenis gula yang beragam. Air dapat larut dalam glukosa. Ketika glukosa dikombinasikan dengan air dan dipanaskan, atom hidrogen polisakarida bereaksi dengan molekul air dan glukosa larut. Akibatnya, denaturasi protein terjadi. Sementara dalam proses pembuatan etanol dari biomassa lignoselulosa, fenomena ini tidak diinginkan karena gel yang terbentuk adalah media yang tidak cocok untuk proses ini [16].

Pretreatments biologis melibatkan mikroorganisme. Mikroba yang digunakan mampu mendegradasi bahan biomassa ke fase cair [31]. Kelebihan pretreatment biologis lebih ramah lingkungan. Pretreatment biologis hanya membutuhkan lingkungan yang moderat, sehingga tidak ada daya tambahan yang diperlukan. Metode ini tidak memerlukan bahan kimia lagi karena kapasitas inheren jamur untuk menghancurkan dinding lignocellulosa [16]. Makroalga laut *K. alvarezii* dan *G. amansii* diberi perlakuan dengan *T.harzianum* lalu dihidrolisis secara enzimatis, menghasilkan kandungan gula 0,55 g g⁻¹ dan 0,53 g g⁻¹ [27].

Pretreatment kimia diantaranya dengan menggunakan: asam [32], [33], alkali [25], [34], ozonolisis [35], dan peroksida [36], [37], steam [38]. Pretreatment alkali adalah salah satu pretreatments yang paling efektif. Kelebihan metode ini alkali adalah pengurangan kandungan lignin tanpa menghancurkan gula dan karbohidrat, meningkatkan porositas dan luas permukaan bahan, dan peningkatan hidrolisis enzimatis [39]. Sodium hidroksida, Sulfit, amonium hidroksida, aqueous ammonia, dan kapur adalah beberapa larutan alkali digunakan pada pretreatment alkali. Dari beberapa pretreatments alkali yang digunakan oleh peneliti terdahulu [40], pretreatment *Saccharum spontaneum* dengan aqueous ammonia menghasilkan 0,58 g (85%) gula reduksi / g dari *saccharum spontaneum* awal. Kombinasi metode pretreatment dapat menghasilkan produksi gula yang lebih tinggi [41] [36], [42].

Sakarifikasi enzimatis

Hidrolisis dan fermentasi (SHF) terpisah dan sakarifikasi dan fermentasi simultan (SSF) adalah dua metode yang paling umum untuk sakarifikasi dan fermentasi. Proses mixing dalam reaktor fermentasi dan reaktor pretreatment berbeda. Mixing dalam bioreaktor dimulai dengan bahan baku padat tetapi segera berubah ke fase cair. Sementara mixing dalam reaktor pretreatment, peralatan pengadukan harus kontak dengan seluruh fraksi padatan sepanjang waktu pretreatment digunakan [19].

Pretreatment, sakarifikasi enzimatis, dan fermentasi mikroorganisme adalah tiga fase berturut-turut dalam pembuatan bioetanol. Sakarifikasi enzimatis adalah terpendek dan persentase paling banyak dari 3 bagian ini. Sepanjang proses sakarifikasi, enzim terlarut ditransfer oleh aliran fluida fraksi cair ke antarmuka padat-cair, di mana mereka menyebar ke dalam struktur berpori dari gaya kapiler padatan, dimana terjadi adsorpsi dari enzim carbohydrate ke substrat yang tidak larut [28], [43].

Sakarifikasi enzimatis adalah proses yang menggunakan katalis heterogen multi-tahap yang membutuhkan karakteristik transportasi molekul dan karakteristik kimia. Beberapa tahun terakhir, penelitian telah dilakukan untuk meningkatkan reaksi sakarifikasi enzimatis sehingga hasil produk meningkat dan biaya yang lebih rendah [44] [28], [29], [45]. Karena variabel yang mempengaruhi sakarifikasi enzimatis beragam dan saling berhubungan (misalnya, kendala pretreatment, faktor enzimatis, dan sifat selulosa), maka penelitian lanjutan masih diperlukan untuk menghasilkan parameter proses yang relevan [28].

Disisi lain, sakarifikasi enzimatis adalah tahap pembatas dalam rantai pasokan bioetanol, di mana tingginya harga enzim, adanya inhibitor yang menghalangi aktivitas enzim dan mikroorganisme fermentasi, serta terbatasnya studi kelayakan bioetanol berbasis biomassa. Namun demikian sistem bioreaktor adalah kunci dari upaya untuk mengatasi kendala ini [46]. Menurut peneliti terdahulu [47], untuk hidrolisis enzimatis selulosa berbahan baku *Sunn hemp fiber* yang telah diberi perlakuan, pencampuran reaktor tidak mempengaruhi non-karakter inhibitor.

Oleh karena itu untuk meningkatkan efektivitas proses pretreatment dan sakarifikasi enzimatik, maka peneliti memanfaatkan data eksperimental dan pemodelan analitis menggunakan CFD untuk mendesain reaktor.

Fermentasi

Pada produksi bioetanol, teknik SSF telah diterapkan sebagai metode intensifikasi proses. Fermentasi sakarifikasi simultan memiliki beberapa kelebihan, seperti mencegah selulase dari inhibitor produk sakarifikasi. Kelemahan sakarifikasi enzimatik dan fermentasi dilakukan dalam satu reaktor, menghasilkan parameter yang tidak bisa dioptimasi untuk setiap bioaktivitas [48].

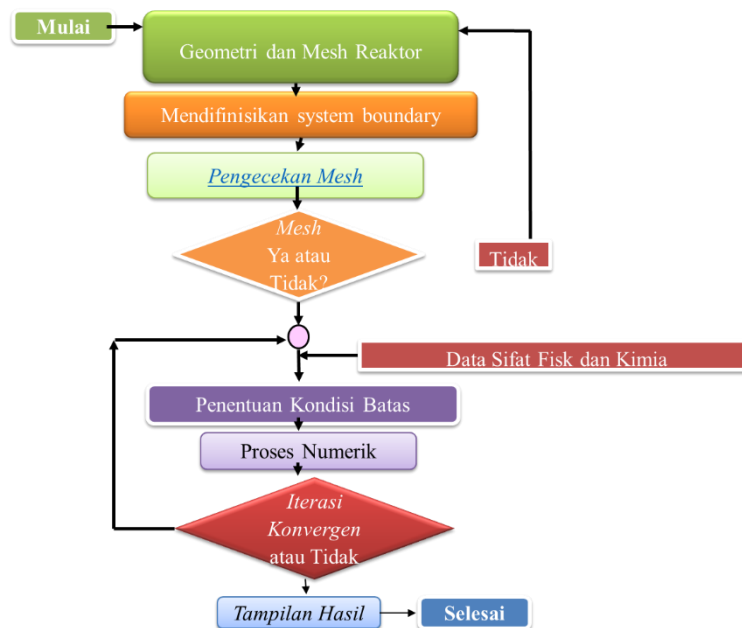
Komputasi Dinamika Fluida

Pendekatan numerik diperlukan untuk mengukur situasi yang oleh aliran multifase dalam bioreaktor komersial. Untuk memperkirakan besarnya gradien, maka diperlukan model hidrodinamika terintegrasi dengan reaksi kinetik. Hidrodinamika dalam berbagai geometri fermenter telah dimodelkan menggunakan CFD oleh beberapa peneliti [49]–[51]. Simulasi CFD menghasilkan data dengan standar sensitivitas dan spesifik, serta kemampuan untuk menghitung parameter operasi yang bahkan tidak khas. Kelebihan lain memungkinkan pengguna untuk mengamati fenomena dalam mesin produksi dengan cara yang sangat sulit dikendalikan secara praktek. Persyaratan komputasi yang tinggi dari metode estimasi CFD dibutuhkan untuk menggambarkan proses sebagai dinamis dengan time step size yang kecil, serta ukuran grid besar yang diperlukan untuk mensimulasikan geometri interior yang kompleks ditemui dalam desain fermenter.

Dengan loading biomassa lignocellulosa lebih tinggi dari 50-70%, maka proses pretreatment tidak bisa diberlakukan sebagai fluida Newtonian. Untuk kandungan solid yang tinggi, fisiokimia fluida non-Newton dapat dikembangkan dan diterapkan dengan menggunakan simulasi CFD [52]. Untuk pretreatment dengan konsentrasi fase solid tinggi, karakteristik rheologi diintegrasikan ke dalam model distribusi normal, dan analisis CFD dilakukan dan diterapkan untuk teknologi reaktor industri [30].

Faktor utama yang mempengaruhi karakteristik rheologikal dan produk sakarifikasi enzimatik adalah suhu. Simulasi CFD dikembangkan untuk pretreatment dengan konsentrasi fase padat tinggi dan diterapkan untuk teknologi reaktor komersial setelah variabel reologis dihubungkan dengan model power-law.

Pada kenyataannya, mensimulasikan beberapa ratus detik dari proses membutuhkan beberapa minggu, maka simulasi CFD hanya dapat dilakukan untuk mewakili gambar dari sistem fed-batch. Pemodelan keseluruhan waktu fermentasi fed-batch tidak mungkin tanpa penghematan waktu simulasi [53]. Diagram alir penyelesaian numerik dengan CFD dapat dilihat pada gambar G.4.



Gambar G.4. Diagram alir penyelesaian numerik dengan CFD.

DESAIN BIOREAKTOR

Penggunaan teknik CFD dapat membantu agar lebih memahami pencampuran dalam reaktor tangki berpengaduk. Selama beberapa tahun terakhir, terobosan yang menjanjikan dalam pemodelan suspensi solid aktif telah dicapai [54]. Biasanya, baik Lagrangian [55], [56] atau teknik pemodelan multifase Eulerian [49], [57] telah digunakan untuk mensimulasikan distribusi partikel.

Dalam pendekatan Lagrangian, partikel padat diperlakukan sebagai partikel individu yang mengalami hidrodinamika yang diestimasi melalui persamaan partikel tunggal. Sementara dalam pendekatan Eulerian, partikel padat diperlakukan sebagai fase primer terpisah. Untuk memprediksi hubungan antara padatan dan fase fluida, disertakan juga persamaan transfer interfase. Pendekatan Granular adalah varian dari pendekatan Eulerian di mana partikel padat diwakili sebagai pseudo-fluid. Teori kinetik aliran granular digunakan untuk memperoleh parameter fisik pseudo-fluida termasuk viskositas, tekanan padatan, dan stres [58].

Peneliti sebelumnya [58] menggunakan teknik pemodelan CFD untuk memperkirakan tinggi kabut dalam reaktor tangki berpengaduk dengan pisau PBT aksial tunggal dan ganda. Mereka menggunakan model multifase Eulerian-Granular untuk mensimulasi reaktor dengan CFD. Pengaruh model drag Gidaspow dan Schiller-Naumann, slip, gaya dispersi turbulen aliran juga diteliti. Hasil simulasi mereka memprediksi tinggi kabut pada berbagai parameter uji, dengan desain pisau tunggal pada kecepatan agitasi yang lebih rendah.

Karena biomassa memiliki densitas rendah, maka sedikit yang dapat mengisi area dalam tangki bioreaktor berpengaduk. Oleh karena itu, lebih praktis untuk mengurangi ukuran biomassa melalui proses penggilingan untuk meningkatkan bebannya dalam bioreaktor. Meskipun dengan kecepatan putar yang sangat tinggi, pengaruh agitator dalam proses pencampuran menurun karena jumlah bahan baku meningkat. Pencampuran yang tidak sempurna dapat disebabkan oleh beban material yang besar menciptakan masalah perpindahan massa dan energi; misalnya, kontrol pH menjadi rumit, suhu dan konsentrasi kimia dalam bioreaktor terjadi dalam jangka waktu yang lama, dan aksi enzim terhambat [59].

Kebanyakan hidrolisis enzimatis, dilakukan dalam reaktor alir tangki berpengaduk (RATB). Teknik yang paling mungkin adalah membuat RATB untuk enzimalisis lignoselulosa menggunakan RATB untuk gula sebagai dasar. Efek dari agitator jenis helikal pada efektivitas pretreatment telah dipelajari oleh penulis sebelumnya [19], menggunakan CFD untuk memprediksi laju aliran uap dari tongkol jagung di sekitar pengaduk. Penggunaan beberapa reaktor alir tangki berpengaduk (RATB) lebih handal dibanding satu reaktor. Ketika jumlah RATB bertambah, maka pola aliran mendekati plug flow, sehingga menghasilkan distribusi waktu tinggal yang konstan. Selain itu, viskositas tinggi dari campuran lignocellulose membatasi efek pencampuran, dan propeller adalah titik awal yang dapat mengontrol pengaruh pencampuran dan penggunaan daya [60].

Hidrodinamika

Parameter hidrodinamika mempengaruhi proses pencampuran dan difusi molekuler dalam reaksi multifase, dapat juga menentukan konversi reaktor. Pengaruh faktor hidrodinamika pada proses pencampuran di dalam RATB reaktor tangki bervariasi tergantung pada persyaratan tertentu, yang dapat berubah dari waktu ke waktu.

Dalam reaktor multifase, dispersi partikel di dalam tangki harus dipertimbangkan bersamaan dengan spesifikasi desainnya. Beberapa prosedur hanya membutuhkan partikel untuk dipertahankan pada bagian bawah, sementara yang lain sebagai suspensi partikel padat.

Distribusi partikel padat dan tinggi uap tetap penting setelah seluruh partikel dispersi. Penentuan variabel diperlukan dalam prosedur penelitian, namun yang paling dasar adalah mode visual. Mode visual lebih tepat untuk menentukan dispersi partikel daripada dispersi total.

Metode numerik dari CFD dapat digunakan untuk tujuan penghematan biaya peralatan dan keterbatasan teknologi [61]–[64]. Pemodelan yang akurat dan informasi eksperimental pada antarmuka solid-cair diperlukan untuk mendapatkan pemahaman tentang efek hidrodinamika pada kehomogenan sistem pencampuran.

Gaya geser hidrodinamik yang dihasilkan oleh dua jenis impeller Rushton-Rushton dan Rushton-marine dalam bioreaktor tangki berpengaduk pada berbagai variasi kecepatan telah diteliti menggunakan CFD dengan metode k-epsilon [65]. Dengan kecepatan 100 RPM, mereka memperoleh biomassa tertinggi sebesar 3,9 g/l, menghasilkan tekanan geser 2,64 Pa. Peningkatan hidrodinamika pada parameter shear stres dan waktu pencampuran dalam reaktor, sebagai hasil dari teknik CFD, dianggap berasal dari pertumbuhan terukur alga (34,46% lebih tinggi).

Pada proses sakarifikasi enzimatis ampas tebu yang telah diberi praperlakuan pada plate yang dilengkapi dengan beberapa lubang (24 lubang untuk 0,45 mm) menunjukkan bahwa sensitivitas lebih tinggi sehingga menghasilkan total gula reduksi 45,47 g/100 g ampas tebu [48].

Kinetika reaksi

Reaksi yang kompleks dapat ditunjukkan secara hipotetis dengan menurunkan dan menerapkan fenomena reaksi yang tepat, dan pelengkap untuk kedua variabel kunci dan terkait dengan implementasi dapat dibahas secara kualitatif dan kuantitatif. Pemodelan kinetika reaksi memperkirakan pola pretreatment dan hidrolisis pada berbagai kondisi yang dapat diterapkan sebagai metode yang berguna untuk menentukan proses pretreatment dan hidrolisis yang paling hemat biaya dan efisien [28].

Bila dibandingkan dengan tanpa pengadukan, selama 72 jam sakarifikasi pada rasio maksimum enzim dan selulosa 1:15, dengan kecepatan reaktor 150 rpm menghasilkan konversi glukosa sebesar 5,6-6,4% dan yield gula 6-7% untuk konsentrasi selulosa 10-50 mg / ml [47]. Penulis lain (Sitaraman et al., 2019) mempresentasikan simulasi numerik proses hidrolisis enzimatik berbasis selulosa menggunakan model CFD yang dikombinasikan dengan simulasi kinetika reaksi kimia.

Pendekatan Eulerian-Eulerian digunakan untuk mensimulasi hidrodinamika multifasa. ANSYS Fluent 2021 melibatkan penyelesaian numeris persamaan-persamaan differensial parsial yang menggambarkan hukum dasar gerakan fluida dan perpindahan energi. Persamaan-persamaan yang diperlukan antara lain:

Persamaan-persamaan Konservasi

Persamaan konservasi massa fasa i (i = fluida, solid):

$$\frac{\partial}{\partial t}(\rho_i \varepsilon_i) + \nabla \cdot (\rho_i \varepsilon_i \mathbf{U}_i) = 0 \quad (1)$$

$$\text{dimana: } \varepsilon_f + \varepsilon_s = 1 \quad (2)$$

Persamaan konservasi momentum fasa i (i = fluida, solid, k≠i)

$$\frac{\partial}{\partial t}(\rho_i \varepsilon_i \mathbf{U}_i) + \nabla \cdot (\rho_i \varepsilon_i \mathbf{U}_i \mathbf{U}_i) = -\varepsilon_i \nabla P - \nabla P_s + \nabla \cdot \boldsymbol{\tau}_i + \rho_i \varepsilon_i \mathbf{g} - \beta(\mathbf{U}_i - \mathbf{U}_k) \quad (3)$$

Persamaan konservasi energi fasa i:

$$\frac{\partial}{\partial t}(\rho_i \varepsilon_i H_i) + \nabla \cdot (\varepsilon_i \rho_i \mathbf{U}_i H_i) = -\varepsilon_i \frac{\partial P_i}{\partial t} + \boldsymbol{\tau}_i : \nabla \mathbf{U}_i - \nabla \cdot \mathbf{q}_i + S_i \quad (4)$$

$$\text{dimana: } H_i = \sum_i \varepsilon_i \int_{T_{ref}}^T C_{p_i} dT \quad (5)$$

Koefisien pertukaran Fluida-Solid

Untuk aliran multifasa Eulerian-eulerian, pertukaran momentum antar fasa didasarkan pada nilai koefisien pertukaran fluida-solid (β). Untuk Syamlal-O'Brian Model:

$$\beta = \frac{3}{4} C_D \frac{\rho_f}{d_s} \frac{1}{v_{r,s}^2} |\mathbf{U}_s - \mathbf{U}_f| \quad (6)$$

Drag coefficient untuk Syamlal-O'Brian model, C_D :

$$C_D = \left(0.63 + \frac{4.8}{\sqrt{\text{Re}_s / v_{r,s}}} \right)^2 \quad (7)$$

dimana:

$$\text{Re}_s = \frac{\rho_f d_s |\mathbf{U}_s - \mathbf{U}_f|}{\mu_f} \quad (8)$$

$$v_{r,s} = 0.5 \left(A - 0.06 \text{Re}_s + \sqrt{(0.06 \text{Re}_s)^2 + 0.12 \text{Re}_s (2B - A) + A^2} \right) \quad (9)$$

$$A = \varepsilon_g^{4.14} \quad (10)$$

$$B = 0.8\varepsilon_g^{1.28} \text{ for } \varepsilon_g \leq 0.85 \text{ and } B = \varepsilon_g^{2.65} \text{ for } \varepsilon_g > 0.85 \quad (11)$$

Tekanan Solid

$$P_s = (1 + 2(1 + e_s)\varepsilon_s g_o)\varepsilon_s \rho_s \Theta_s \quad (12)$$

$$= \rho_s \varepsilon_s \Theta_s + 2g_o \rho_s \varepsilon_s^2 \Theta_s (1 + e) \quad (13)$$

Θ_s adalah temperature granular yang berhubungan dengan energi turbulen kinetic gerakan partikel. e_s adalah koefisin restitusi partikel dan g_o adalah fungsi distribusi radial (Sinclair and Jackson, 1989):

$$g_o = \left[1 - \left(\frac{\varepsilon_s}{\varepsilon_{s,\max}} \right)^{\frac{1}{3}} \right]^{-1} \quad (14)$$

Solids Shear Stress

Solid phase bulk viscosity:

$$\mu_b = \frac{4}{3} \varepsilon_s \rho_s d_s g_o (1 + e_s) \left(\frac{\Theta_s}{\pi} \right)^{\frac{1}{2}} \quad (15)$$

The solids phase shear viscosity:

$$\mu_s = \frac{2\mu_{s,dil}}{(1 + e)g_o} \left[1 + \frac{4}{5} (1 + e_s) g_o \varepsilon_s \right]^2 + \frac{4}{5} \varepsilon_s \rho_s d_s g_o (1 + e_s) \left(\frac{\Theta_s}{\pi} \right)^{\frac{1}{2}} \quad (16)$$

Solid phase dilute viscosity:

$$\mu_{s,dil} = \frac{5}{16} \rho_s \varepsilon_s l_s \sqrt{2\pi\Theta_s} \quad (17)$$

dimana $l_s = \frac{\sqrt{2} d_s}{12 \varepsilon_s}$ (18)

Temperatur Granular

$$\frac{3}{2} \frac{\partial}{\partial t} (\rho_s \varepsilon_s \Theta_s) + \nabla \cdot (\rho_s \varepsilon_s \mathbf{U}_s \Theta_s) = T_s : \nabla \mathbf{U}_s + \nabla \cdot (k_s \nabla \Theta_s) - \gamma_s \quad (19)$$

Diffusion coefficient for granular energy, k_s :

$$k_s = \frac{2k_{s,dil}}{(1 + e_s)g_o} \left(1 + \frac{6}{5} (1 + e_s) g_o \varepsilon_s \right)^2 + 2\varepsilon_s^2 \rho_s d_s g_o (1 + e_s) \left(\frac{\Theta_s}{\pi} \right)^{\frac{1}{2}} \quad (20)$$

dimana:

$$k_{s,dil} = \frac{75}{64} \rho_s \varepsilon_s l_s \sqrt{2\pi\Theta_s} \quad (21)$$

The collisional energy dissipation, γ_s :

$$\gamma_s = 3(1 - e_s^2) \varepsilon_s^2 \rho_s g_o \Theta_s \left[\frac{4}{d_s} \left(\frac{\Theta_s}{\pi} \right)^{1/2} - \nabla U_s \right] \quad (22)$$

k-ε Turbulence Models

Umumnya, reaktor berada pada kondisi turbulen. Oleh karena itu, perlu menggunakan pemodelan turbulensi yang cocok untuk menggambarkan pengaruh fluktuasi turbulen kecepatan dan variable lain. k- ε model digunakan untuk menggambarkan gerakan turbulen dalam kedua fasa. Pada k- ε model, viskositas turbulen didefinisikan sebagai:

$$\mu_{t,i}^{(t)} = \rho_i \varepsilon_i C_\mu \frac{k_i^2}{\varepsilon_i} \quad (22)$$

Energi kinetik turbulensi, k, dan laju dissipasi ε , bisa dihitung dari persamaan perpindahan berikut:

$$\frac{\partial}{\partial t} (\rho_i \varepsilon_i k_i) + \nabla \cdot (\rho_i \varepsilon_i k_i U_i) = \nabla \cdot \left(\varepsilon_i \frac{\mu_t}{\sigma_k} \nabla k_i \right) + (\varepsilon_i G_k - \varepsilon_i \rho_i \varepsilon_i) \quad (23)$$

$$\frac{\partial}{\partial t} (\varepsilon_i \rho_i \varepsilon_i) + \nabla \cdot (\rho_i \varepsilon_i \varepsilon_i U_i) = \nabla \cdot \left(\varepsilon_i \frac{\mu_t}{\sigma_k} \nabla \varepsilon_i \right) + \frac{\varepsilon_i}{k} (C_{1\varepsilon} \varepsilon_i G_k - C_{2\varepsilon} \varepsilon_i \rho_i \varepsilon_i) \quad (24)$$

Jadwal Kegiatan Tahun ke-2

No	Kegiatan	Bulan (2021)											
		3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
1	Persiapan bahan baku												
2	Perancangan reaktor pretreatment												
3	Perancangan Fermentor												
4	Perancangan distilasi												
5	Prototype alat skala benchscale												
6	Produksi bioetanol skala benchscale												
7	Analisis produk (HPLC, Density, kalor pembakaran, flash point, GC-MS, bilangan oktan)												
8	Seminar Internasional												
9	Artikel ke Jurnal internasional terindeks scopus dlm status "accepted"												

10	Ada dokumen uji prototype											
11	Bahan ajar (submit ke penerbit unsri)											
12	Analisis data hasil penelitian dan Pembuatan Laporan											

H. DAFTAR PUSTAKA: Penyusunan Daftar Pustaka berdasarkan sistem nomor sesuai dengan urutan pengutipan. Hanya pustaka yang disitasi pada laporan akhir yang dicantumkan dalam Daftar Pustaka.

- [1] R. Datta, "Acidogenic fermentation of lignocellulose—acid yield and conversion of components," *Biotechnol. Bioeng.*, vol. 23, no. 9, pp. 2167–2170, 1981, doi: 10.1002/bit.260230921.
- [2] J. W. Kim *et al.*, "Two-stage pretreatment of rice straw using aqueous ammonia and dilute acid," *Bioresour. Technol.*, vol. 102, no. 19, pp. 8992–8999, 2011, doi: 10.1016/j.biortech.2011.06.068.
- [3] P. Alvira, E. Tomás-Pejó, M. Ballesteros, and M. J. Negro, "Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review," *Bioresour. Technol.*, vol. 101, no. 13, pp. 4851–4861, 2010, doi: 10.1016/j.biortech.2009.11.093.
- [4] M. Balat, "Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: A review," *Energy Convers. Manag.*, vol. 52, no. 2, pp. 858–875, 2011, doi: 10.1016/j.enconman.2010.08.013.
- [5] K. Malik, E. S. Salama, T. H. Kim, and X. Li, "Enhanced ethanol production by *Saccharomyces cerevisiae* fermentation post acidic and alkali chemical pretreatments of cotton stalk lignocellulose," *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, vol. 147, no. November 2019, p. 104869, 2020, doi: 10.1016/j.ibiod.2019.104869.
- [6] H. Chen, *Biotechnology of Lignocellulose: Theory and Practice*. Dordrecht Heidelberg New York London: SpringerJointly published with Chemical Industry Press, 2014.
- [7] A. A. Raheem and M. A. Kareem, "Chemical composition and physical characteristics of rice husk ash blended cement," *Int. J. Eng. Res. Africa*, vol. 32, no. October, pp. 25–35, 2017, doi: 10.4028/www.scientific.net/JERA.32.25.
- [8] A. B. Díaz, A. Blandino, C. Belleli, and I. Caro, "An effective process for pretreating rice husk to enhance enzyme hydrolysis," *Ind. Eng. Chem. Res.*, vol. 53, no. 27, pp. 10870–10875, 2014, doi: 10.1021/ie501354r.
- [9] Z. You, S. Y. Pan, N. Sun, H. Kim, and P. C. Chiang, "Enhanced corn-stover fermentation for biogas production by NaOH pretreatment with CaO additive and ultrasound," *J. Clean. Prod.*, vol. 238, p. 117813, 2019, doi: 10.1016/j.jclepro.2019.117813.
- [10] G. Luo, F. Talebnia, D. Karakashev, L. Xie, Q. Zhou, and I. Angelidaki, "Enhanced bioenergy recovery from rapeseed plant in a biorefinery concept," *Bioresour. Technol.*, vol. 102, no. 2, pp. 1433–1439, 2011, doi: 10.1016/j.biortech.2010.09.071.
- [11] P. Karagöz, I. V. Rocha, M. Özkan, and I. Angelidaki, "Alkaline peroxide pretreatment of rapeseed straw for enhancing bioethanol production by Same Vessel Saccharification and Co-Fermentation," *Bioresour. Technol.*, vol. 104, pp. 349–357, 2012, doi: 10.1016/j.biortech.2011.10.075.
- [12] T. H. Kim, R. Gupta, and Y. Y. Lee, "Pretreatment of Biomass by Aqueous Ammonia for Bioethanol Production," in *Biofuels: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology*, vol. 581, J. R. Mielenz, Ed. LLC: Humana Press, 2009, pp. 79–91.
- [13] Novia, I. Utami, and L. Windiyati, "Pembuatan Bioetanol Dari Sekam Padi Menggunakan Kombinasi Soaking in Aqueous Ammonia (SAA) Pretreatment – Acid Pretreatment – Hidrolisis – Fermentasi," *J. Tek. Kim.*, vol. 20, no. 1, pp. 46–53, 2014.
- [14] T. H. Kim, F. Taylor, and K. B. Hicks, "Bioethanol production from barley hull using SAA (soaking in

- aqueous ammonia) pretreatment q,” vol. 99, pp. 5694–5702, 2008, doi: 10.1016/j.biortech.2007.10.055.
- [15] F. Conti, L. Wiedemann, M. Sonnleitner, A. Saidi, and M. Goldbrunner, “Monitoring the mixing of an artificial model substrate in a scale-down laboratory digester,” *Renew. Energy*, vol. 132, pp. 351–362, 2019, doi: 10.1016/j.renene.2018.08.013.
- [16] H. B. Aditiya, T. M. I. Mahlia, W. T. Chong, H. Nur, and A. H. Sebayang, “Second generation bioethanol production: A critical review,” *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 66, pp. 631–653, 2016, doi: 10.1016/j.rser.2016.07.015.
- [17] B. P. Prajapati, U. K. Jana, R. K. Suryawanshi, and N. Kango, “Sugarcane bagasse saccharification using *Aspergillus tubingensis* enzymatic cocktail for 2G bio-ethanol production,” *Renew. Energy*, vol. 152, pp. 653–663, 2020, doi: 10.1016/j.renene.2020.01.063.
- [18] N. Singh, A. S. Mathur, C. J. Barrow, D. K. Tuli, R. P. Gupta, and M. Puri, “Influence of substrate loadings on the consolidated bioprocessing of rice straw and sugarcane bagasse biomass using *Ruminiclostridium thermocellum*,” *Bioresour. Technol. Reports*, vol. 7, no. January, p. 100138, 2019, doi: 10.1016/j.biteb.2019.01.010.
- [19] Y. He, L. Zhang, J. Zhang, and J. Bao, “Helically agitated mixing in dry dilute acid pretreatment enhances the bioconversion of corn stover into ethanol,” *Biotechnol. Biofuels*, vol. 7, no. 1, pp. 1–13, 2014, doi: 10.1186/1754-6834-7-1.
- [20] X. Li, T. H. Kim, and N. P. Nghiem, “Bioethanol production from corn stover using aqueous ammonia pretreatment and two-phase simultaneous saccharification and fermentation (TPSSF),” *Bioresour. Technol.*, vol. 101, no. 15, pp. 5910–5916, 2010, doi: 10.1016/j.biortech.2010.03.015.
- [21] X. Jin, J. Ma, J. Song, and G. Q. Liu, “Promoted bioethanol production through fed-batch semisimultaneous saccharification and fermentation at a high biomass load of sodium carbonate-pretreated rice straw,” *Energy*, vol. 226, p. 120353, 2021, doi: 10.1016/j.energy.2021.120353.
- [22] Z. Yuan, Y. Wen, and G. Li, “Production of bioethanol and value added compounds from wheat straw through combined alkaline/alkaline-peroxide pretreatment,” *Bioresour. Technol.*, vol. 259, pp. 228–236, 2018, doi: 10.1016/j.biortech.2018.03.044.
- [23] Y. Zheng *et al.*, “Integrating enzymatic hydrolysis into subcritical water pretreatment optimization for bioethanol production from wheat straw,” *Bioresour. Technol.*, vol. 199, no. September 2019, p. 124833, 2021, doi: 10.1016/j.renene.2020.07.031.
- [24] S. Mohapatra, C. Mishra, S. S. Behera, and H. Thatoi, “Application of pretreatment, fermentation and molecular techniques for enhancing bioethanol production from grass biomass – A review,” *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 78, no. May, pp. 1007–1032, 2017, doi: 10.1016/j.rser.2017.05.026.
- [25] X. Yan, J. R. Cheng, Y. T. Wang, and M. J. Zhu, “Enhanced lignin removal and enzymolysis efficiency of grass waste by hydrogen peroxide synergized dilute alkali pretreatment,” *Bioresour. Technol.*, vol. 301, no. January, p. 122756, 2020, doi: 10.1016/j.biortech.2020.122756.
- [26] V. Alfonsín, R. Maceiras, and C. Gutiérrez, “Bioethanol production from industrial algae waste,” *Waste Manag.*, vol. 87, pp. 791–797, 2019, doi: 10.1016/j.wasman.2019.03.019.
- [27] Sulfhari, S. Mushlihah, D. R. Husain, A. Langford, and A. C. M. A. R. Tassakka, “Fungal pretreatment as a sustainable and low cost option for bioethanol production from marine algae,” *J. Clean. Prod.*, vol. 265, p. 121763, 2020, doi: 10.1016/j.jclepro.2020.121763.
- [28] H. Zhang, L. Han, and H. Dong, “An insight to pretreatment, enzyme adsorption and enzymatic hydrolysis of lignocellulosic biomass: Experimental and modeling studies,” *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 140, no. 12, p. 110758, 2021, doi: 10.1016/j.rser.2021.110758.
- [29] B. R. Moreira, M. C. Breitzkreitz, R. Simister, S. J. McQueen-Mason, L. D. Gomez, and C. A. Rezende, “Improved hydrolysis yields and silica recovery by design of experiments applied to acid-alkali pretreatment in rice husks,” *Ind. Crops Prod.*, vol. 170, no. June, p. 113676, 2021, doi: 10.1016/j.indcrop.2021.113676.
- [30] W. Hou, L. Zhang, J. Zhang, and J. Bao, “Rheology evolution and CFD modeling of lignocellulose biomass during extremely high solids content pretreatment,” *Biochem. Eng. J.*, vol. 105, pp. 412–419, 2016, doi: 10.1016/j.bej.2015.10.021.
- [31] S. Bhushan, M. S. Rana, M. Bhandari, A. K. Sharma, H. Simsek, and S. K. Prajapati, “Enzymatic

- pretreatment of algal biomass has different optimal conditions for biogas and bioethanol routes,” *Chemosphere*, vol. 284, no. April, p. 131264, 2021, doi: 10.1016/j.chemosphere.2021.131264.
- [32] L. Dong, X. Zhao, and D. Liu, “Kinetic modeling of atmospheric formic acid pretreatment of wheat straw with ‘potential degree of reaction’ models,” *RSC Adv.*, vol. 5, no. 27, pp. 20992–21000, 2015, doi: 10.1039/c4ra14634d.
- [33] X. Zhao, J. Wen, H. Chen, and D. Liu, “The fate of lignin during atmospheric acetic acid pretreatment of sugarcane bagasse and the impacts on cellulose enzymatic hydrolyzability for bioethanol production,” *Renew. Energy*, vol. 128, pp. 200–209, 2018, doi: 10.1016/j.renene.2018.05.071.
- [34] M. Hans *et al.*, “Liquid ammonia pretreatment optimization for improved release of fermentable sugars from sugarcane bagasse,” *J. Clean. Prod.*, vol. 281, p. 123922, 2021, doi: 10.1016/j.jclepro.2020.123922.
- [35] Y. Rosen, H. Mamane, and Y. Gerchman, “Immersed ozonation of agro-wastes as an effective pretreatment method in bioethanol production,” *Renew. Energy*, vol. 174, pp. 382–390, 2021, doi: 10.1016/j.renene.2021.04.047.
- [36] J. Cao, J. Yang, Y. Yang, and Z. Wang, “Enhanced enzymatic hydrolysis of sisal waste by sequential pretreatment with UV-catalyzed alkaline hydrogen peroxide and ionic liquid,” *Renew. Energy*, vol. 169, pp. 1157–1165, 2021, doi: 10.1016/j.renene.2021.01.075.
- [37] C. Huang *et al.*, “Modified alkaline peroxide pretreatment: An efficient path forward for bioethanol production from bamboo,” *Energy Convers. Manag.*, vol. 224, no. July, p. 113365, 2020, doi: 10.1016/j.enconman.2020.113365.
- [38] A. Verardi, A. Blasi, T. Marino, A. Molino, and V. Calabrò, “Effect of steam-pretreatment combined with hydrogen peroxide on lignocellulosic agricultural wastes for bioethanol production: Analysis of derived sugars and other by-products,” *J. Energy Chem.*, vol. 27, no. 2, pp. 535–543, 2018, doi: 10.1016/j.jechem.2017.11.007.
- [39] J. S. Kim, Y. Y. Lee, and T. H. Kim, “A review on alkaline pretreatment technology for bioconversion of lignocellulosic biomass,” *Bioresour. Technol.*, vol. 199, pp. 42–48, 2016, doi: 10.1016/j.biortech.2015.08.085.
- [40] G. Chaudhary, L. K. Singh, and S. Ghosh, “Alkaline pretreatment methods followed by acid hydrolysis of *Saccharum spontaneum* for bioethanol production,” *Bioresour. Technol.*, vol. 124, pp. 111–118, 2012, doi: 10.1016/j.biortech.2012.08.067.
- [41] D. J. Bernier-Oviedo, J. A. Rincón-Moreno, J. F. Solanilla-Duqué, J. A. Muñoz-Hernández, and H. A. Váquiro-Herrera, “Comparison of two pretreatments methods to produce second-generation bioethanol resulting from sugarcane bagasse,” *Ind. Crops Prod.*, vol. 122, no. June, pp. 414–421, 2018, doi: 10.1016/j.indcrop.2018.06.012.
- [42] R. Bhatia *et al.*, “Production of oligosaccharides and biofuels from *Miscanthus* using combinatorial steam explosion and ionic liquid pretreatment,” *Bioresour. Technol.*, vol. 323, no. November 2020, p. 124625, 2021, doi: 10.1016/j.biortech.2020.124625.
- [43] X. Shao, L. Lynd, and C. Wyman, “Kinetic modeling of cellulosic biomass to ethanol via simultaneous saccharification and fermentation: Part II. experimental validation using waste paper sludge and anticipation of CFD analysis,” *Biotechnol. Bioeng.*, vol. 102, no. 1, pp. 66–72, 2009, doi: 10.1002/bit.22047.
- [44] J. J. Lischeske and J. J. Stickel, “A two-phase substrate model for enzymatic hydrolysis of lignocellulose: Application to batch and continuous reactors,” *Biotechnol. Biofuels*, vol. 12, no. 1, pp. 1–15, 2019, doi: 10.1186/s13068-019-1633-2.
- [45] H. Sitaraman, N. Danes, J. J. Lischeske, J. J. Stickel, and M. A. Sprague, “Coupled CFD and chemical-kinetics simulations of cellulosic-biomass enzymatic hydrolysis: Mathematical-model development and validation,” *Chem. Eng. Sci.*, vol. 206, pp. 348–360, 2019, doi: 10.1016/j.ces.2019.05.025.
- [46] M. S. Pino *et al.*, “Bioreactor design for enzymatic hydrolysis of biomass under the biorefinery concept,” *Chem. Eng. J.*, vol. 347, no. November 2017, pp. 119–136, 2018, doi: 10.1016/j.cej.2018.04.057.
- [47] S. K. Paul and S. Chakraborty, “Mixing effects on the kinetics of enzymatic hydrolysis of lignocellulosic Sunn hemp fibres for bioethanol production,” *Chem. Eng. J.*, vol. 377, no. October 2018, p. 120103, 2019, doi: 10.1016/j.cej.2018.10.040.

- [48] R. Terán Hilaes *et al.*, “Hydrodynamic cavitation-assisted continuous pre-treatment of sugarcane bagasse for ethanol production: Effects of geometric parameters of the cavitation device,” *Ultrason. Sonochem.*, vol. 63, no. December 2019, p. 104931, 2020, doi: 10.1016/j.ultsonch.2019.104931.
- [49] V. Cappello, C. Plais, C. Vial, and F. Augier, “Scale-up of aerated bioreactors: CFD validation and application to the enzyme production by *Trichoderma reesei*,” *Chem. Eng. Sci.*, vol. 229, p. 116033, 2021, doi: 10.1016/j.ces.2020.116033.
- [50] G. Nadal-Rey *et al.*, “Development of dynamic compartment models for industrial aerobic fed-batch fermentation processes,” *Chem. Eng. J.*, vol. 420, no. P3, p. 130402, 2021, doi: 10.1016/j.cej.2021.130402.
- [51] H. Zhang, W. Williams-Dalson, E. Keshavarz-Moore, and P. A. Shamlou, “Computational-fluid-dynamics (CFD) analysis of mixing and gas–liquid mass transfer in shake flasks,” *Biotechnol. Appl. Biochem.*, vol. 41, no. 1, p. 1, 2005, doi: 10.1042/ba20040082.
- [52] L. P. Zhang, J. Zhang, C. H. Li, and J. Bao, “Rheological characterization and CFD modeling of corn stover-water mixing system at high solids loading for dilute acid pretreatment,” *Biochem. Eng. J.*, vol. 90, pp. 324–332, 2014, doi: 10.1016/j.bej.2014.06.018.
- [53] G. Nadal-Rey, D. D. McClure, J. M. Kavanagh, S. Cornelissen, D. F. Fletcher, and K. V. Gernaey, “Understanding gradients in industrial bioreactors,” *Biotechnol. Adv.*, vol. 46, no. October 2020, p. 107660, 2021, doi: 10.1016/j.biotechadv.2020.107660.
- [54] A. Ochieng and M. S. Onyango, “CFD simulation of solids suspension in stirred tanks: Review,” *Hem. Ind.*, vol. 64, no. 5, pp. 365–374, 2010, doi: 10.2298/HEMIND100714051O.
- [55] C. Haringa, H. J. Noorman, and R. F. Mudde, “Lagrangian modeling of hydrodynamic–kinetic interactions in (bio)chemical reactors: Practical implementation and setup guidelines,” *Chem. Eng. Sci.*, vol. 157, pp. 159–168, 2017, doi: 10.1016/j.ces.2016.07.031.
- [56] M. Rezavand, D. Winkler, J. Sappl, L. Seiler, M. Meister, and W. Rauch, “A fully Lagrangian computational model for the integration of mixing and biochemical reactions in anaerobic digestion,” *Comput. Fluids*, vol. 181, pp. 224–235, 2019, doi: 10.1016/j.compfluid.2019.01.024.
- [57] S. K. Naeeni and L. Pakzad, “Droplet size distribution and mixing hydrodynamics in a liquid–liquid stirred tank by CFD modeling,” *Int. J. Multiph. Flow*, vol. 120, 2019, doi: 10.1016/j.ijmultiphaseflow.2019.103100.
- [58] S. Gohel, S. Joshi, M. Azhar, M. Horner, and G. Padron, “CFD modeling of solid suspension in a stirred tank: Effect of drag models and turbulent dispersion on cloud height,” *Int. J. Chem. Eng.*, vol. 2012, 2012, doi: 10.1155/2012/956975.
- [59] W. Geng, Y. Jin, H. Jameel, and S. Park, “Strategies to achieve high-solids enzymatic hydrolysis of dilute-acid pretreated corn stover,” *Bioresour. Technol.*, vol. 187, pp. 43–48, 2015, doi: 10.1016/j.biortech.2015.03.067.
- [60] Y. Li, X. Cao, Z. Geng, and M. Zhang, “A novel quasi plug-flow reactor design for enzymatic hydrolysis of cellulose using rheology experiment and CFD simulation,” *Can. J. Chem. Eng.*, vol. 96, no. 3, pp. 770–778, 2018, doi: 10.1002/cjce.22963.
- [61] X. Duan, X. Feng, C. Peng, C. Yang, and Z. Mao, “Numerical simulation of micro-mixing in gas–liquid and solid–liquid stirred tanks with the coupled CFD-E-model,” *Chinese J. Chem. Eng.*, vol. 28, no. 9, pp. 2235–2247, 2020, doi: 10.1016/j.cjche.2020.06.016.
- [62] N. Novia, V. K. Pareek, H. Hermansyah, and A. M. Jannah, “Effect of Dilute Acid - Alkaline Pretreatment on Rice Husk Composition and Hydrodynamic Modeling with CFD,” *Sci. Technol. Indones.*, vol. 4, no. 1, p. 18, 2019, doi: 10.26554/sti.2019.4.1.18-23.
- [63] L. Wiedemann, F. Conti, A. Saidi, M. Sonnleitner, and M. Goldbrunner, “Modeling Mixing in Anaerobic Digesters with Computational Fluid Dynamics Validated by Experiments,” *Chem. Eng. Technol.*, vol. 41, no. 11, pp. 2101–2110, 2018, doi: 10.1002/ceat.201800083.
- [64] H. L. Zhang, J. Baeyens, and T. W. Tan, “Mixing phenomena in a large-scale fermenter of starch to bioethanol,” *Energy*, vol. 48, no. 1, pp. 380–391, 2012, doi: 10.1016/j.energy.2012.05.015.
- [65] R. Verma, L. Mehan, R. Kumar, A. Kumar, and A. Srivastava, “Computational fluid dynamic analysis of hydrodynamic shear stress generated by different impeller combinations in stirred bioreactor,” *Biochem.*

Dokumen pendukung luaran Wajib #1

Luaran dijanjikan: Paten proses

Target: Terbit nomor pendaftaran paten

Dicapai: Tersedia

Dokumen wajib diunggah:

1. Dokumentasi Luaran

Dokumen sudah diunggah:

1. Dokumentasi Luaran

Dokumen belum diunggah:

- Sudah lengkap

FORMULIR PERMOHONAN PENDAFTARAN PATEN INDONESIA
APPLICATION FORM OF PATENT REGISTRATION OF INDONESIA

Data Permohonan (Application)

Nomor Permohonan <i>Number of Application</i>	: P00202110330	Tanggal Permohonan <i>Date of Submission</i>	: 19-Nov-2021
Jenis Permohonan <i>Type of Application</i>	: PATEN	Jumlah Klaim <i>Total Claim</i>	: 2
		Jumlah halaman <i>Total page</i>	: 17
Judul <i>Title</i>	: PROSES PEMBUATAN BIOETANOL DARI BIOMAS LIGNOSELULOSA DENGAN PRAPERLAKUAN HIDROGEN PEROKSIDA-AQUEOUS AMMONIA		
Abstrak <i>Abstract</i>	: Invensi ini berhubungan dengan proses pembuatan bioetanol dari biomas lignoselulosa dengan pra-perlakuan hidrogen peroksida-aqueous ammonia. Lebih khusus lagi invensi ini menggunakan kombinasi perlakuan awal hidrogen peroksida dan aqueous ammonia untuk menghilangkan kandungan lignin yang ada pada biomas dan dilanjutkan dengan proses Hidrolisis Enzimatis dan Fermentasi (SHF). Metode pembuatan bioetanol dari biomas lignoselulosa meliputi langkah-langkah: Melakukan praperlakuan biomas lignoselulosa dengan larutan hidrogen peroksida untuk mendegradasi lignin yang terkandung dalam biomas lignoselulosa. Variasi larutan hidrogen peroksida yang digunakan antara 1-5% (v/v) dan variasi waktu praperlakuan yang digunakan antara 6-48 jam. Rasio perbandingan biomas dan larutan hidrogen peroksida yang digunakan adalah 1:10 (berat/volume), temperatur reaksi 85°C dan kecepatan 150 rpm. Kemudian melakukan pretreatment lanjutan menggunakan Aqueous Ammonia konsentrasi 20% di dalam reaktor pada suhu 50°C dan kecepatan 200 rpm. Setelah itu melakukan proses Hidrolisis Enzimatis. Hidrolisis enzimatis berlangsung 24 jam menggunakan enzim selulase dari <i>Aspergillus Niger</i> dengan konsentrasi 10% total fraksi enzim. Setelah itu dilanjutkan dengan Fermentasi di dalam reaktor tertutup berpengaduk selama waktu 5 hari, dengan konsentrasi ragi/yeast <i>Saccharomyces cerevisiae</i> yang digunakan 10% (volume/berat). Selanjutnya produk bioetanol dipisahkan dari kandungan air dengan proses distilasi pada temperatur 80°C. Bioetanol yang dihasilkan berkisar antara 1,16 - 9,89 % volume/volume).		

Permohonan PCT (PCT Application)

Nomor PCT <i>PCT Number</i>	:	Nomor Publikasi <i>Publication Number</i>	:
Tanggal PCT <i>PCT Date</i>	:	Tanggal Publikasi <i>Publication Date</i>	:

Pemohon (Applicant)

Name (Name)	Alamat (Address)	Surel/Telp (Email/Phone)
Sentra HKI Universitas Sriwijaya	Jl. Palembang - Prabumulih KM. 32 Indralaya Kabupaten Ogan Ilir Provinsi Sumatera Selatan	0711581077 sentrahki@yahoo.com

Penemu (Inventor)			
Nama (Name)	Warganegara (Nationality)	Alamat (Address)	Surel/Telp. (Email/Phone)
Novia, ST., MT., Ph.D	Indonesia	Jl. Poltek Lr. Padang Kapas 1 No.17 RT. 44 Rw.03 Kel. Bukit Lama-Iilir Barat I, Palembang, Sumatera Selatan, 30139	novia@ft.unsri.ac.id 081368632611
Hermansyah, S.Si, M.Si, Ph.D	Indonesia	Jl. Sukarela Lrg.H Cekmid RT. 21 RW. 7 No.1326b Sukarami Palembang	hermansyah@unsri.ac.id 082182532570
Dr. Hasanudin, S.Si, M.Si	Indonesia	Jl. S. M. Mansyur Komp. Green Forest Residence Blok N-1 Palembang	hasanudinkf@gmail.com 081367471272

Data Prioritas (Priority Data)		
Negara (Country)	Nomor (Number)	Tanggal (Date)

Korespondensi (Correspondence)		
Nama (Name)	Alamat (Alamat)	Surel/Telp. (Email/Phone)
Sentra HKI Universitas Sriwijaya	Jl. Palembang - Prabumulih KM. 32 Indralaya Kabupaten Ogan Ilir Provinsi Sumatera Selatan	sentrahki@yahoo.com 0711581077

Lampiran (Attachment)
SURAT PENGALIHAN HAK ATAS INVENSI
SURAT PERNYATAAN KEPEMILIKAN INVENSI OLEH INVENTOR
KLAIM
ABSTRAK
GAMBAR TEKNIK
DESKRIPSI

Detail Pembayaran (Payment Detail)

No	Nama Pembayaran	Sudah Bayar	Jumlah Data
1.	Pembayaran Permohonan Paten	<input checked="" type="checkbox"/>	-
2.	Pembayaran Kelebihan Deskripsi	<input type="checkbox"/>	-
3.	Pembayaran Kelebihan Klaim	<input type="checkbox"/>	-
4.	Pembayaran Percepatan Pengumuman	<input type="checkbox"/>	-
5.	Pembayaran Pemeriksaan Substantif	<input type="checkbox"/>	-

Jakarta, 19-Nov-2021
Pemohon / Kuasa
Applicant / Representative



Tanda Tangan / Signature
Nama Lengkap / Fullname

Deskripsi

PROSES PEMBUATAN BIOETANOL DARI BIOMAS LIGNOSELULOSA DENGAN PRAPERLAKUAN HIDROGEN PEROKSIDA-AQUEOUS AMMONIA

5

Bidang Teknik Invensi

Invensi ini berhubungan dengan proses pembuatan bioetanol dari biomas lignoselulosa dengan pra-perlakuan hidrogen peroksida-
10 aqueous ammonia. Lebih khusus lagi invensi ini menggunakan kombinasi perlakuan hidrogen peroksida dan aqueous ammonia untuk menghilangkan kandungan lignin yang ada pada biomas dan dilanjutkan dengan proses hidrolisis enzimatik dan fermentasi.

Latar Belakang Invensi

Saat ini produksi bioetanol dari biomas lignoselulosa untuk memecahkan masalah krisis energi masih merupakan metode yang sangat menarik untuk dikaji. Bahan baku bioetanol berasal dari limbah pertanian yang tersedia melimpah, murah serta kandungan
20 selulosa dan hemiselulosanya tinggi. Bioetanol mengandung 35% oksigen yang dapat mengurangi partikulat dan emisi NO_x dari proses pembakaran (Balat, et al., 2008, *Progress in Energy and Combustion Science* 34(5), 551-573). Emisi CO₂ yang dihasilkan dari pembakaran bioetanol lebih rendah, sehingga bagus untuk lingkungan (Balat, et
25 al., 2011, *Energy Conversion and Management* 52(2), 858-875).

Struktur dasar dari biomasa terdiri dari tiga polimer dasar yaitu selulosa, hemiselulosa dan lignin. Selulosa merupakan polimer linear dari glukosa, ikatan hidrogen tambahan membuat polimer ini kuat dan sulit untuk dipecah. Hemiselulosa lebih siap
30 untuk dihidrolisis dibanding selulosa, karena cabangnya bersifat amorf. Sementara lignin adalah komponen yang tidak diinginkan dari bahan biomas lignoselulosa (Okur & Koyuncu, 2020, *Biomass and Bioenergy*, 142(October), 105811. Pengurangan kandungan lignin melalui pretreatment menghasilkan kandungan polisakarida selulosa
35 yang lebih tinggi. Konversi biomas lignoselulosa menjadi bioetanol lebih sulit dikarenakan: ketahanan biomasa untuk terpecah, jenis

gula yang diproduksi ketika polimer selulosa dan hemiselulosa dipecah dan biaya pengumpulan dan penyimpanan bahan lignoselulosa (Balat, et al., 2011, *Energy Conversion and Management* 52(2), 858-875).

5 Matriks polimer lignoselulosa biomasa yang kompleks dapat mengganggu hidrolisis gula selanjutnya (Mosier, et al., 2005, *Bioresource Technology* 96, 673-686). Namun polimer kompleks ini dapat didegradasi dengan tahapan pretreatment (Alvira, et al., 2010, *Bioresource Technology* 101(13), 4851-4861). Sehingga
10 pengembangan metode pretreatment yang dapat meningkatkan digestibilitas selulosa untuk dikonversi menjadi gula pada tahap hidrolisis enzimatis menjadi fokus pada penelitian kali ini.

Tujuan utama dari pretreatment adalah menghilangkan lignin dan membuat selulosa lebih mudah diakses oleh enzim pada saat
15 hidrolisis. Pretreatment adalah salah satu dari tahapan proses yang mahal (Zheng, et al., 2009, *International Journal of Agricultural and Biological Engineering* 2(3), 51-68). Oleh karena itu pretreatment seharusnya memiliki syarat sebagai berikut: memproduksi fiber selulosa yang reaktif saat terjadinya serangan
20 enzim, menghindari rusaknya hemiselulosa dan selulosa, menghindari terbentuknya inhibitor pada saat hidrolisis enzimatis dan fermentasi, mengurangi kebutuhan energi, mengurangi biaya pengecilan ukuran, mengurangi biaya konstruksi bahan reaktor, menggunakan bahan kimia yang murah atau tanpa bahan kimia
25 (Taherzadeh & Karimi, 2008, *International Journal of Molecular Sciences* 9(9), 1621-1651). Pretreatment dapat menghilangkan lignin dan hemiselulosa dari matriks ligniselulosa dan meningkatkan proses sakarifikasi enzimatis (Shen, et al., 2011, *Journal of Food Process Engineering* 34(3), 905-921). Hidrolisis tanpa pretreatment
30 menghasilkan yield <20%, sementara yield setelah pretreatment >90% (Hamelinck, et al., 2005, *Biomass and Bioenergy* 28(4), 384-410). Praperlakuan biomas adalah tahap yang paling penting dari seluruh proses produksi biofuel dari gula (Baksi, et al., 2019, *Chemical Engineering & Processing: Process Intensification*, 143(July),
35 107607. Praperlakuan dengan amonia telah dikaji oleh penelitian sebelumnya (Truong & Kim, 2018, *Molecules*, 23(5)). Sebagian besar

penelitian telah berkonsentrasi pada biomassa herba, terutama bagasse tebu (Hans et al., 2021, *Journal of Cleaner Production*, 281, 123922); Raj & Krishnan, 2018, *Industrial Crops and Products*, 111(October 2017), 673-683; Shi et al., 2019, *Bioresource Technology*, 289(April), 121628.). Hanya sedikit yang fokus pada sekam padi. Beberapa tahun terakhir telah banyak metode pretreatment yang diujikan pada berbagai kondisi, namun penelitian pengembangan masih dibutuhkan untuk memperbaiki efisiensi, mengurangi biaya dan memenuhi persyaratan lingkungan.

10 Pretreatment kimia paling cocok diterapkan untuk aplikasi industri skala komersial. Senyawa kimia dapat mendegradasi dinding biomassa dan rantai karbohidrat kompleks melalui rekasi kimia langsung, sehingga tidak membutuhkan energi yang terlalu besar. Namun pretreatment ini dapat menyebabkan korosi pada peralatan dan
15 membutuhkan waktu yang lama (Mosier, et al., 2005, *Bioresource Technology* 96, 673-686). Ditinjau dari lingkungan, pretreatment berbasis alkali peroksida dapat diimplementasikan untuk mentreatemnt biomassa tanpa adanya inhibitor saat hidrolisis enzimatik lanjut (Alvarez-Vasco & Zhang, 2017, *Biomass and*
20 *Bioenergy*, 96, 96-102).

Metode alkaline dan alkaline peroksida dengan kondisi operasi rendah telah menunjukkan efektifitas yang tinggi pada residu limbah pertanian (Alvira, et al., 2010, *Bioresource Technology* 101(13), 4851-4861). Metode ini dapat menghilangkan lignin dan
25 berbagai jenis substitusi asam uronik pada hemiselulosa (Silverstein, et al., 2007, *Bioresource Technology* 98(16), 3000-3011). Kelebihan metode ini adalah ketersediaanya yang melimpah dan siap untuk digunakan, ramah lingkungan untuk konsentrasi yang rendah. Metode ini beroperasi pada temperatur rendah dan tekanan
30 atmosfir, tidak memerlukan reaktor mahal yang di khusus. Biaya operasi lebih rendah dibanding menggunakan pelarut organik. Metode alkaline pretreatment menggunakan NaOH, Ca(OH)₂ dan ammonia lebih banyak digunakan untuk menghasilkan bioetanol generasi kedua.

Penambahan H₂O₂ sebagai agen pengoksidasi pada limbah
35 pertanian menghasilkan persentase gula lebih banyak dibanding limbah yang tidak dipretreatment. Namun untuk mengoptimasi kondisi

pretreatment, kemungkinan hilangnya gula dan produksi zat inhibitor harus menjadi pertimbangan (Alvira, et al., 2010, *Bioresource Technology* 101(13), 4851-4861). Penambahan agen oksidan seperti hidrogen peroksida pada pretreatment alkaline bisa
5 memperbaiki performansi melalui penghilangan lignin (Alvarez-Vasco & Zhang, 2013, *Bioresource Technology* 150, 321-327).

Aksi oksidatif dari radikal H_2O_2 berkontribusi untuk proses depolimerisasi lignin dengan menyerang rantai samping lignin dan memecah makrostruktur lignin menjadi senyawa dengan berat molekul
10 rendah (Gould, 1984, *Biotechnology and Bioengineering* 26(1), 46-52). Pretreatment dengan hidrogen peroksida telah diterapkan pada berbagai jenis bahan baku biomasa lignoselulosa diantaranya tongkol jagung, ampas tebu, ampas apel, jerami gandum, jerami barley, bambu, jerami padi. Menurut peneliti terdahulu (Rabelo, et
15 al., 2008, *Applied Biochemistry and Biotechnology* 148(1-3), 45-58), pretreatment dengan hidrogen peroksida memiliki keuntungan yaitu tidak meninggalkan sisa residu dalam biomassa karena dapat terdegradasi dalam oksigen dan air. Untuk mencapai hasil pretreatment yang baik, maka invensi kali ini menggunakan
20 kombinasi hidrogen peroksida dengan aqueous ammonia untuk meningkatkan derajat dekrystalisasi sekam padi, sehingga menaikkan konsentrasi glukosa menjadi bioetanol.

Karena pretreatment tunggal kurang memadai, teknik pretreatment dua tahap telah dirancang dan secara efektif
25 digunakan pada berbagai residu pertanian. Ada banyak penelitian menggunakan prosedur pretreatment kombinasi untuk meningkatkan pemulihan gula dan membatasi produksi kimia penghambatan dari biomas lignocellulosa. Namun, belum ada yang mendokumentasikan penggunaan Hidrogen Peroksida diikuti dengan praperlakuan aqueous
30 ammonia buntuk meningkatkan pproduk hidrolisis enzimatik. Untuk alasan ini, tujuan dari invensi ini adalah untuk menetapkan kelayakan teknis bioetanol sekam padi dengan menggunakan pretreatment Kombinasi Hidrogen Peroksida-Aqueous Ammonia.

Polimer karbohidrat dalam biomasa dikonversikan menjadi gula
35 sederhana melalui hidrolisis (Taherzadeh & Karimi, 2007, *Bioresources Technology* 2(3), 472-499). Metode hidrolisis yang

paling banyak digunakan adalah: hidrolisis kimia (menggunakan asam encer dan asam pekat) dan hidrolisis enzimatik. Hidrolisis enzimatik dapat mencegah terjadinya degradasi gula menjadi produk samping. Proses ini sangat lambat, karena hidrolisis selulosa terhalang oleh lignin, hemiselulosa, luas permukaan dan kristanilitas selulosa. Biaya operasi dari hidrolisis enzimatik lebih rendah dibanding hidrolisis asam, karena dilakukan pada kondisi operasi yang rendah (Temperatur 318-323 K, pH 4.8) dan tidak menyebabkan korosi (Sun & Cheng, 2002, *Bioresource Technology* 83(1), 1-11). Hidrolisis enzimatik menghasilkan yield (75-85%) bahkan kedepannya diharapkan bisa mencapai 95% (Hamelinck et al., 2005, *Biomass and Bioenergy* 28(4), 384-410). Hidrolisis enzimatik lebih ramah lingkungan karena menggunakan enzim yang dapat mendegradasi karbohidrat untuk menghidrolisis biomasa menjadi gula yang dapat difermentasi (Keshwani & Cheng, 2009, *Bioresource Technology* 100(4), 1515-1523).

Selulosa dihidrolisis oleh enzim yang dikenal dengan selulase. Enzim ini diproduksi dari beberapa mikroorganisme seperti bakteri dan jamur. Beberapa jenis bakteri yang dapat memproduksi selulase diantaranya: *Clostridium*, *Bacillus*, *Microbispora*, dan *Streptomyces*. Jenis jamur yang dapat memproduksi selulase: *P. Chrysosporium*, spesies dari *Trichoderma*, *Aspergillus* dan *Penicilium*.

Faktor yang mempengaruhi hidrolisis enzimatik selulosa diantaranya: substrat, aktifitas selulase, kondisi reaksi (temperatur, pH) dan inhibitor. Untuk memperbaiki yield dan laju hidrolisis enzimatik, invensi perlu difokuskan pada optimasi proses hidrolisis dan peningkatan aktivitas dari selulase. Konsentrasi substrat yang rendah memberikan laju dan yield yang rendah pula, sementara dosis selulase yang tinggi dapat menambah biaya.

Faktor-faktor yang mempengaruhi fermentasi: range temperatur, pH, toleransi alkohol, laju pertumbuhan, produktifitas, toleransi osmotik, spesifikasi, yield, stabilitas genetik, toleransi inhibitor. *Saccharomyces cerevisiae* and *Zymomonas mobilis* dapat menfermentasi glukosa menjadi bioetanol secara efisien, namun tidak bisa menfermentasi xylosa (Keshwani & Cheng, 2009,

Bioresource Technology 100(4), 1515-1523). Mikroorganismen yang sering digunakan untuk fermentasi bioetanol skala industri adalah *Saccharomyces cerevisiae*.

5 Uraian Singkat Invensi

Invensi ini berhubungan dengan proses pembuatan bioetanol dari biomas lignoselulosa dengan pra-perlakuan hidrogen peroksida-aqueous ammonia dan proses hidrolisis enzimatis dan fermentasi yang meliputi langkah-langkah:

- a. Menyiapkan biomas lignoselulosa dengan tahapan sebagai berikut:
 - a.1. Mengeringkan biomas dengan menggunakan panas matahari selama 1 hari,
 - a.2. Memperkecil ukuran biomas lignoselulosa menggunakan *grinder* yang dilanjutkan dengan pengayakan hingga diperoleh ukuran biomas antara 0,425 mm dan 0,850 mm,
 - a.3. Memasukkan 100 gr biomas dari tahap a.2 kedalam erlenmeyer berukuran 1000 ml,
 - a.4. Melakukan pra-perlakuan biomas dari tahap a.3. dengan menambahkan 250 ml hidrogen peroksida yang telah diataur pHnya menjadi 11,5 dengan menggunakan 2M NaOH. Pra-perlakuan dilakukan di dalam reaktor tertutup pada suhu 85°C dengan variasi konsentrasi larutan hidrogen peroksida yang digunakan adalah 1-5% (v/v) dan variasi waktu selama 6-48 jam.
 - a.5. Meletakkan slurry yang dihasilkan dari tahap a.4. diatas rotary shaker dengan kecepatan 150 rpm,
 - a.6. Memisahkan slurry menggunakan filter vakum, menimbang fase padat dan mengukur volume fase liquidnya,
 - a.7. Mencuci masing-masing padatan hasil pra-perlakuan pada tahap a.6 dengan akuades,
 - a.8. Memanaskan sampel padat pada tahap a.7. dengan menggunakan suhu 90 °C selama 15 menit untuk inaktivasi catalase.
 - a.9. Menganalisa kadar selulosa, hemiselulosa dan lignin.

- b. Memberikan praperlakuan Aqueous Ammonia pada biomas yang telah diberi praperlakuan hydrogen-proksida melalui tahapan sebagai berikut:
- b.1. Memberikan praperlakuan Aqueous Ammonia dengan konsentrasi 20% pada suhu 100°C,
 - b.2. Meletakkan slurry yang dihasilkan dari tahap b.1. diatas rotary shaker dengan kecepatan 150 rpm,
 - b.3. Memisahkan slurry dari fase liquidnya menggunakan filter vakum,
 - b.4. Mencuci masing-masing padatan hasil praperlakuan pada tahap b.3 dengan akuades,
 - b.5. Mengeringkan biomas dalam oven pada temperatur 105°C hingga berat konstan dengan kadar moisture (kelembaban) $\pm 10\%$,
 - b.6. Menganalisa kadar selulosa, hemiselulosa dan lignin dengan metode Chesson.
- c. Melakukan proses hidrolisis enzimatik
- c.1. Memasukkan biomas sebanyak 50 gr yang telah dipretreatment sebelumnya (tahap a dan b) ke dalam erlenmeyer 1000 ml,
 - c.2. Menambahkan larutan media (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) dengan perbandingan 1 : 10 (b/v) dan mengatur pH $\pm 5,0$.
 - c.3. Mensterilkan larutan pada tahap c.2 dalam autoclave dengan suhu 121 °C selama 60 menit,
 - c.4. Membiarkan bubur biomas menjadi dingin,
 - c.5. Menambahkan enzim selulase dengan konsentrasi 10% total fraksi enzim (10% artinya 10 mL enzim per 100 gram biomassa kering),
 - c.6. Menutup erlenmeyer secara rapat menggunakan gabus,
 - c.7. Meletakkan Erlenmeyer di dalam waterbath pada suhu 50°C,
 - c.8. Mengaduk slurry pada tahap c.7 menggunakan pengaduk magnetik dengan kecepatan 200 rpm,

- c.9. Setelah tahap d.8 berlangsung 24 jam, suhu diturunkan menjadi 30°C,
- c.10. Menganalisa kadar glukosa yang dihasilkan pada setiap sampel dengan metode DNS.
- 5 d. Melakukan proses fermentasi
- d.1. Menyiapkan YPD-medium yang terdiri dari 10 gram ekstrak yeast, 20 gram pepton dan 20 gram glukosa,
- d.2. Menginokulasi *Sacharomices cerevisiae* dengan satu loopfull yeast didalam 500 mL botol shake-flasks
10 dengan 150 mL YPD-medium,
- d.3. Menempatkan bahan pada tahap d.2 pada infors HT Ecotron Rotary Shaker pada suhu 32 °C selama 24 jam,
- d.4. Mensterilkan alat-alat yang akan digunakan pada proses fermentasi dalam autoclave pada suhu 120 °C selama 20
15 menit dan didinginkan,
- d.5. Melakukan fermentasi didalam Erlenmeyer selama waktu 5 hari, menggunakan ragi *Saccharomyces cereviseae* pada tahap d.3 dengan konsentrasi 10%. Konsentrasi ragi 10% yaitu penambahan ragi dengan 10% total fraksi ragi (5
20 ml ragi per 50 gram biomas kering),
- d.6. Menutup Erlenmeyer pada tahap d.5 dengan karet penyumbat yang dilengkapi dengan dua cabang, satu untuk sampling dan satunya lagi untuk membuang CO₂,
- d.7. Meletakkan larutan fermentasi pada tahap d.6 diatas
25 rotary shaker 120 rpm selama waktu fermentasi yang telah ditentukan,
- d.8. Memisahkan larutan dari residu dengan alat centrifuge sehingga diperoleh cairan alkohol + air.
- e. Melakukan Purifikasi (Destilasi)
- 30 e.1. Memasukkan cairan hasil fermentasi kedalam labu destilasi. Temperatur pemanas dijaga pada suhu 80 °C,
- e.2. Melakukan proses destilasi selama 1,5 - 2 jam sampai bioetanol tidak ada yang menetes lagi,
- e.3. Menganalisa kadar bioetanol yang dihasilkan pada
35 tahap e.2.

Uraian Singkat Gambar

Gambar 1-6 merupakan diagram alir untuk memproduksi bioetanol dari biomas lignoselulosa dengan pra-perlakuan hidrogen peroksida-
5 aqueous ammonia.

Uraian Lengkap Invensi

10 Biomas lignoselulosa merupakan salah satu bahan baku bioetanol yang berasal dari limbah industri (kayu, kelapa sawit, *pulp/kertas*), sampah organik, dan limbah-limbah pertanian seperti sekam padi, jerami padi, ampas tebu dan tongkol jagung. Merujuk pada Gambar 1, untuk menghasilkan bioetanol, pertama-tama biomas lignoselulosa harus dikeringkan dengan menggunakan panas matahari
15 selama 1 hari, untuk menghilangkan kandungan air dalam biomas tersebut. Biomas yang telah kering ini masih memerlukan perlakuan untuk memperkecil ukurannya dengan menggunakan peralatan *grinder* dan dilanjutkan dengan pengayakan sampai mencapai ukuran yang diinginkan yakni 0,425 mm dan/atau 0,850 mm. Pengecilan ukuran
20 biomas dilakukan selain untuk mendapatkan ukuran yang lebih seragam, juga dimaksudkan untuk memperluas permukaan dari biomas sehingga mempermudah dan memaksimalkan proses pelarutannya.

Merujuk pada Gambar 2, dimana biomas ditambahkan larutan hidrogen peroksida yang telah diataur pHnya menjadi 11,5 dengan
25 menggunakan 2M NaOH. Penambahan larutan hidrogen peroksida ini dimaksudkan untuk mengurangi kandungan lignin yang ada pada biomas. Karena lignin dapat menghambat aktivitas enzimatik pada proses hidrolisis dan fermentasi selanjutnya. Hidrogen peroksida dipilih karena faktor ketersediaan bahan yang mudah diperoleh dan
30 memiliki kondisi operasi yang tergolong aman untuk digunakan. Hidrogen peroksida tergolong senyawa yang aman digunakan pada konsentrasi yang rendah. Walaupun bersifat korosif, pada konsentrasi yang rendah senyawa ini tidak berpotensi menimbulkan bahaya yang signifikan pada penggunaannya. Hidrogen peroksida
35 sebagai oksidator kuat mampu mendegradasi lignin sehingga melepaskan selulosa yang kemudian dapat dihidrolisis menjadi

glukosa. Rasio perbandingan biomas dan larutan hidrogen peroksida yang digunakan adalah 1:10 (berat/volume). Pra-perlakuan hidrogen peroksida ini dilakukan di dalam reaktor tertutup pada temperatur 85°C dengan variasi konsentrasi larutan hidrogen peroksida yang digunakan adalah 1-5% (v/v) dan variasi waktu selama 6-48 jam. Selama pra-perlakuan hidrogen peroksida, reaktor sesekali diaduk dengan kecepatan 150 rpm. Hal ini bertujuan agar slurry tercampur dengan homogen (sempurna). Setelah itu masing-masing sampel hasil praperlakuan hidrogen peroksida, dicuci dengan akuades. Selanjutnya fase padat dipisahkan dari fase liquidnya menggunakan filter vakum. Pemisahan ini dilakukan agar lignin yang telah diberi pra-perlakuan hidrogen peroksida terpisah dari padatan biomas. Kemudian fase padat dipanaskan pada suhu 90 °C selama 15 menit. Hal ini bertujuan untuk inaktivasi catalase dan untuk memastikan lignin tersebut benar-benar telah terpisah dari biomas.

Untuk mengoptimalkan pengurangan kadar lignin, maka biomas yang telah diberi pra-perlakuan hydrogen-proksida, diberi pra-perlakuan lanjut Aqueous Ammonia. Aqueous Ammonia digunakan karena ketersediaan bahan yang banyak dan dengan harga yang cukup terjangkau. Alasan utama pemilihan aqueous ammonia sebagai bahan baku praperlakuan adalah karena senyawa ini memiliki kemampuan yang cukup efektif untuk menghilangkan kandungan lignin yang terdapat dalam bahan baku non kayu atau bahan baku yang berasal dari limbah pertanian (Gupta dkk, 2008). Praperlakuan sekam padi menggunakan aqueous ammonia menghasilkan proses delignifikasi yang baik pada kondisi operasi yang relatif tinggi bahkan cenderung ekstrim (temperatur, konsentrasi, dan tekanan yang cukup tinggi) (Novia dkk, 2014). Berdasarkan gambar 3, Pra-perlakuan lanjut Aqueous Ammonia berlangsung pada reaktor tertutup pada suhu 100°C dengan konsentrasi Aqueous Ammonia 20%. Selama pra-perlakuan lanjut Aqueous Ammonia, reaktor sesekali diaduk dengan kecepatan 150 rpm. Setelah itu masing-masing sampel hasil praperlakuan Aqueous Ammonia, dicuci dengan akuades. Selanjutnya fase padat dipisahkan dari fase liquidnya menggunakan filter vakum. Pemisahan ini dilakukan agar lignin yang telah diberi pra-perlakuan Aqueous Ammonia terpisah dari padatan biomas. Setelah itu, biomas

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

Merujuk pada gambar 4, biomas yang telah diberi perlakuan hidrogen peroksida-aqueous ammonia dimasukkan ke dalam reaktor, 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 biomasa adalah 1 : 10 (berat/volume) dan mengatur pH ± 5 . Kemudian larutan 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 konsentrasi 10% total fraksi enzim (10% artinya 10 mL enzim per 100 gram biomassa kering). Reaksi hidrolisis enzimatik berlangsung di dalam reaktor tertutup pada suhu 50°C selama 24 jam dengan kecepatan 200 rpm. Biomas selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada temperatur 30°C. Kadar glukosa yang dihasilkan dianalisa dengan metode DNS.

Merujuk pada gambar 5, setelah biomas dihidrolisis secara enzimatik, selanjutnya difermentasi di dalam reaktor tertutup berpengaduk waktu 5 hari, dengan konsentrasi ragi/yeast *Saccharomyces cereviseae* yang digunakan 10% (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 yang dihasilkan ditimbang dan dianalisa kadar etanolnya. Etanol yang dihasilkan berkisar antara 1,16 - 9,89 % (volume/volume).

Contoh percobaan

Dari percobaan yang dilakukan dengan variasi konsentrasi larutan hidrogen peroksida dan waktu, biomas yang telah

diperlakukan dengan perlakuan variasi konsentrasi larutan hidrogen peroksida dan waktu diperoleh komposisi biomas sebelum diberi pra-perlakuan adalah Selulosa (48,40%); Hemiselulosa (2,25%); Lignin (39,99%); HWS (1,13%) dan Abu (8,23%). Komposisi biomas sebelum dan setelah diberi perlakuan hidrogen peroksida-aqueous ammonia dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kadar lignin setelah diberi perlakuan Hidrogen Peroksida-Aqueous Ammonia

Jenis Perlakuan	Waktu (jam)	Konsentrasi H ₂ O ₂ (%)	Hasil Analisa Komposisi Sekam Padi				
			%HWS	%Hemiselulosa	%Selulosa	%Lignin	%Abu
Sebelum Praperlakuan			1,13	2,25	48,4	39,99	8,23
Setelah Praperlakuan Hidrogen Peroksida-Aqueous Ammonia	6	1	0,24	5,16	54,23	27,75	14,23
		2	2,54	13,85	41,28	25,69	14,58
		3	1,60	3,96	63,84	17,10	13,5
		4	0,39	22,50	49,21	18,23	9,67
		5	0,15	13,42	51,16	26,14	9,58
	24	1	0,71	11,78	48,45	27,91	13,75
		2	1,56	0,12	56,40	23,31	14,01
		3	6,84	13,42	36,97	18,97	12,80
		4	2,76	14,91	44,00	25,26	13,07
		5	0,20	17,00	45,11	25,31	14,38
	48	1	3,64	8,610	48,45	20,61	11,08
		2	1,62	10,85	56,40	19,31	10,52
		3	0,37	9,13	58,43	18,47	13,60
		4	0,57	14,27	50,93	22,66	11,57
		5	0,98	14,82	52,98	28,22	11,91

Pada Tabel 1 di atas dapat dijelaskan bahwa setelah diberi pra-perlakuan Hidrogen Peroksida-Aqueous Ammonia, kadar selulosa naik berkisar antara 48,45 % - 63,84 %; kadar Hemiselulosa naik berkisar antara 3,96 % - 22,5 %; kadar lignin turun berkisar antara 17,10 % - 28,22 %; kadar HWS berkisar antara 0,15 % - 6,84 %; dan

kadar abu naik berkisar antara 9,58 % - 14,58 %. Dari Tabel dapat disimpulkan bahwa bahwa semakin besar konsentrasi Dari Tabel 1 dapat disimpulkan bahwa kadar lignin terendah sebesar 17,10% diperoleh saat konsentrasi H_2O_2 3% dan waktu praperlakuan 6 jam.

5 Komposisi lignin yang diperoleh pada setiap variasi waktu dan variasi konsentrasi hidrogen peroksida menunjukkan hubungan yang cukup signifikan terhadap komposisi biomas. Semakin besar konsentrasi hidrogen peroksida yang digunakan dan semakin lama waktu praperlakuan, maka kadar lignin yang terkandung pada sampel
10 cenderung mengalami penurunan. Penurunan ini disebabkan oleh semakin banyak jumlah lignin yang terdegradasi seiring dengan bertambahnya konsentrasi hidrogen peroksida dan semakin lama waktu praperlakuan. Hal ini disebabkan oleh karena kontak antara biomas dan larutan semakin besar.

15 Parameter persentase selulosa menunjukkan kadar selulosa yang terdapat didalam sampel. Hasil yang didapatkan menunjukkan kadar selulosa yang cukup tinggi daripada komposisi lainnya. Kadar selulosa tertinggi ditunjukkan oleh sampel dengan konsentrasi H_2O_2 3% dan waktu perendaman 6 jam yaitu sebesar 63,84%. Sementara kadar
20 selulosa terendah diperoleh pada saat konsentrasi H_2O_2 3% dan waktu perendaman 24 jam yaitu sebesar 36,97%. Kadar selulosa cenderung meningkat pada waktu perendaman 6 dan 48 jam. Namun kadar selulosa mengalami penurunan pada variasi waktu perendaman 24 jam.

Parameter persentase hemiselulosa menunjukkan kadar
25 hemiselulosa yang terdapat pada sekam padi. Hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi hidrogen peroksida, kadar hemiselulosa yang diperoleh cenderung meningkat disetiap variasi waktu praperlakuan. Kandungan hemiselulosa tertinggi yaitu sebesar 22,5 % dihasilkan pada saat konsentrasi H_2O_2 4% dan waktu
30 perendaman 6 jam.

Parameter Persentase Hot Water Soluble (HWS) menunjukkan kadar senyawa oligosakarida dan pektin didalam substrat (Datta, 1981) yang berguna sebagai senyawa penyusun dinding sel tumbuhan. Persentase HWS pada sekam padi yang telah dilakukan praperlakuan
35 menunjukkan kecendrungan peningkatan pada sampel perendaman 24 jam, sedangkan menunjukkan kecendrungan penurunan pada sampel

perendaman 6 dan 48 jam. Persentase HWS tertinggi ditunjukkan oleh konsentrasi H_2O_2 3% dan waktu perendaman 24 jam yaitu sebesar 6,84% dan terendah ditunjukkan oleh konsentrasi H_2O_2 5% dan waktu perendaman 6 jam yaitu sebesar 0,15%. Komposisi HWS yang didapatkan ini tidak menunjukkan hubungan yang signifikan dengan variasi konsentrasi hidrogen peroksida maupun dengan variasi waktu perendaman.

Tahap pengolahan selanjutnya yang dilakukan setelah praperlakuan adalah proses hidrolisis enzimatis dengan tujuan untuk mengubah selulosa menjadi glukosa. Rantai selulosa selanjutnya dipecah menjadi glukosa dengan bantuan katalis. Penelitian ini memanfaatkan katalis biologis berupa enzim selulase yang diperoleh dari metabolisme kapang *Aspergillus Niger*. Glukosa yang diperoleh dari proses hidrolisis enzimatis ini, dianalisa dengan metode analisa DNS menggunakan alat spektrofotometri UV-VIS. Kadar glukosa yang diperoleh ditunjukkan pada Tabel 2 di bawah.

Tabel 2. Kadar Glukosa setelah proses Hidrolisis Enzimatis

Waktu (jam)	Konsentrasi H_2O_2 (%)	Kadar Glukosa (mg/ml)
6	1	15,4671
	2	12,5643
	3	15,5062
	4	11,4031
	5	11,6053
24	1	15,1018
	2	15,0561
	3	15,2127
	4	15,3040
	5	15,1866
48	1	10,7247
	2	15,2779
	3	15,3692
	4	15,4083

5	14,9583
---	---------

Tabel 2 dapat disimpulkan bahwa bahwa konsentrasi yang menghasilkan jumlah glukosa optimal di setiap variasi waktu praperlakuan adalah konsentrasi H_2O_2 3% pada waktu perendaman 6 jam yaitu sebesar 15,5062 mg/ml. Hasil uji analisa menunjukkan glukosa yang dihasilkan cenderung meningkat pada variasi waktu praperlakuan 24 dan 48 jam, sedangkan pada variasi waktu perendaman selama 6 jam cenderung menurun.

Proses fermentasi menggunakan mikroorganismenya berupa *Saccharomyces cerevisiae*, dilakukan selama waktu 5 hari. Fermentasi memiliki tujuan untuk mengubah glukosa menjadi etanol. Etanol yang diperoleh dari hasil fermentasi, selanjutnya dimurnikan dengan destilasi untuk memperoleh kadar etanol yang lebih pekat. Etanol dari proses destilasi dianalisa menggunakan metode densitas.

Melalui fermentasi 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 dapat disimpulkan bahwa kadar etanol dari hasil praperlakuan 24 dan 48 jam cenderung meningkat, sedangkan pada praperlakuan selama 6 jam kadar etanol cenderung menurun. Kadar etanol tertinggi diperoleh pada konsentrasi H_2O_2 3% dan waktu praperlakuan 24 jam yaitu 9,89% dan yang terendah yaitu konsentrasi H_2O_2 4% dan waktu praperlakuan 48 jam yaitu sebesar 4,44%. Konsentrasi H_2O_2 3% dan waktu praperlakuan 24 jam menghasilkan etanol tertinggi dikarenakan konsentrasi H_2O_2 3% dan waktu praperlakuan 24 jam memiliki jumlah glukosa tertinggi sehingga etanol yang dihasilkan lebih banyak.

Tabel 3. Kadar etanol hasil distilasi

Waktu (jam)	Konsentrasi H_2O_2 (%)	Kadar Etanol (%)
6	1	5,23

		5,20
	2	
	3	5,59
	4	4,68
	5	4,85
24	1	4,79
	2	4,71
	3	9,89
	4	4,75
	5	4,89
48	1	4,67
	2	4,74
	3	4,80
	4	4,44
	5	5,02

Klaim

- 5 1. Proses pembuatan bioetanol dari biomas lignoselulosa meliputi langkah-langkah:
- a. Menyiapkan biomas lignoselulosa dengan tahapan sebagai berikut:
- 10 a.1. Mengeringkan biomas dengan menggunakan panas matahari selama 1 hari,
- a.2. Memperkecil ukuran biomas lignoselulosa menggunakan grinder yang dilanjutkan dengan pengayakan hingga diperoleh ukuran biomas antara 0,425 mm dan 0,850 mm,
- 15 a.3. Memasukkan 100 gr biomas dari tahap a.2 kedalam erlenmeyer berukuran 1000 ml,
- a.4. Melakukan pra-perlakuan biomas dari tahap a.3. dengan menambahkan 250 ml hidrogen peroksida yang telah diataur pHnya menjadi 11,5 dengan menggunakan 2M NaOH. Praperlakuan dilakukan di dalam reaktor
- 20 tertutup pada suhu 85oC dengan variasi konsentrasi

larutan hidrogen peroksida yang digunakan adalah 1-5% (v/v) dan variasi waktu selama 6-48 jam.

a.5. Meletakkan slurry yang dihasilkan dari tahap a.4. diatas rotary shaker dengan kecepatan 150 rpm,

5 a.6. Memisahkan slurry menggunakan filter vakum, menimbang fase padat dan mengukur volume fase liquidnya,

a.7. Mencuci masing-masing padatan hasil praperlakuan pada tahap a.6 dengan akuades,

10 a.8. Memanaskan sampel padat pada tahap a.7. dengan menggunakan suhu 90 oC selama 15 menit untuk inaktivasi catalase.

a.9. Menganalisa kadar selulosa, hemiseslulosa dan lignin.

15 b. Memberikan praperlakuan Aqueous Ammonia pada biomas yang telah diberi praperlakuan hydrogen-proksida melalui tahapan sebagai berikut:

b.1. Memberikan praperlakuan Aqueous Ammonia dengan konsentrasi 20% pada suhu 100°C,

b.2. Meletakkan slurry yang dihasilkan dari tahap b.1. diatas rotary shaker dengan kecepatan 150 rpm,

20 b.3. Memisahkan slurry dari fase liquidnya menggunakan filter vakum,

b.4. Mencuci masing-masing padatan hasil praperlakuan pada tahap b.3 dengan akuades,

25 b.5. Mengeringkan biomas dalam oven pada temperatur 105oC hingga berat konstan dengan kadar moisture (kelembaban) ± 10 %,

b.6. Menganalisa kadar selulosa, hemiselulosa dan lignin dengan metode Chesson.

c. Melakukan proses hidrolisis enzimatik

30 c.1. Memasukkan biomas sebanyak 50 gr yang telah dipretreatment sebelumnya (tahap a dan b) ke dalam erlenmeyer 1000 ml,

35 c.2. Menambahkan larutan media (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) dengan perbandingan 1 : 10 (b/v) dan mengatur pH ± 5 ,

- c.3. Mensterilkan larutan pada tahap c.2 dalam autoclave dengan suhu 121 °C selama 60 menit,
- c.4. Membiarkan bubur biomas menjadi dingin,
- 5 c.5. Menambahkan enzim selulase dengan konsentrasi 10% total fraksi enzim (10% artinya 10 mL enzim per 100 gram biomassa kering),
- c.6. Menutup erlenmeyer secara rapat menggunakan gabus,
- c.7. Meletakkan Erlenmeyer di dalam waterbath pada suhu 50°C,
- 10 c.8. Mengaduk slurry pada tahap c.7 menggunakan pengaduk magnetik dengan kecepatan 200 rpm,
- c.9. Setelah tahap d.8 berlangsung 24 jam, suhu diturunkan menjadi 30°C,
- c.10. Menganalisa kadar glukosa yang dihasilkan pada 15 setiap sampel dengan metode DNS.
- d. Melakukan proses fermentasi
- d.1. Menyiapkan YPD-medium yang terdiri dari 10 gram ekstrak yeast, 20 gram pepton dan 20 gram glukosa,
- d.2. Menginokulasi *Sacharomices cerevisiae* dengan satu 20 loopfull yeast didalam 500 mL botol shake-flasks dengan 150 mL YPD-medium,
- d.3. Menempatkan bahan pada tahap d.2 pada infors HT Ecotron Rotary Shaker pada suhu 32 °C selama 24 jam,
- d.4. Mensterilkan alat-alat yang akan digunakan pada 25 proses fermentasi dalam autoclave pada suhu 120 oC selama 20 menit dan didinginkan,
- d.5. Melakukan fermentasi didalam Erlenmeyer selama waktu 5 hari, menggunakan ragi *Saccharomyces cereviseae* pada tahap d.3 dengan konsentrasi 10%. Konsentrasi 30 ragi 10% yaitu penambahan ragi dengan 10% total fraksi ragi (5 ml ragi per 50 gram biomas kering),
- d.6. Menutup Erlenmeyer pada tahap d.5 dengan karet penyumbat yang dilengkapi dengan dua cabang, satu untuk sampling dan satunya lagi untuk membuang CO2,

d.7. Meletakkan larutan fermentasi pada tahap d.6 diatas rotary shaker 120 rpm selama waktu fermentasi yang telah ditentukan,

d.8. Memisahkan larutan dari residu dengan alat centrifuge sehingga diperoleh cairan alkohol + air.

5

e. Melakukan Purifikasi (Destilasi)

e.1. Memasukkan cairan hasil fermentasi kedalam labu destilasi. Temperatur pemanas dijaga pada suhu 80 °C,

10 e.2. Melakukan proses destilasi selama 1,5 - 2 jam sampai bioetanol tidak ada yang menetes lagi,

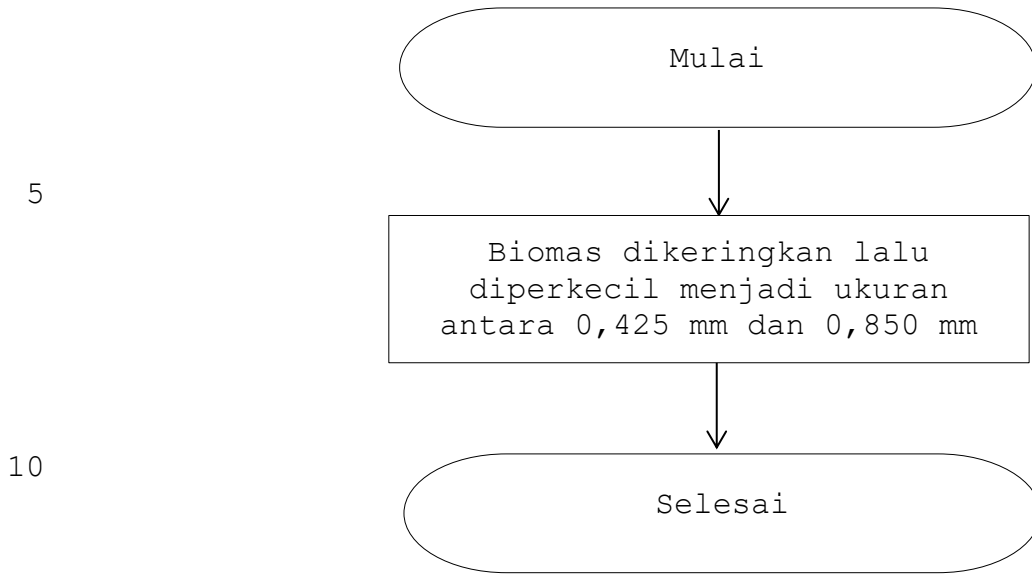
e.3. Menganalisa kadar bioetanol yang dihasilkan pada tahap e.2.

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

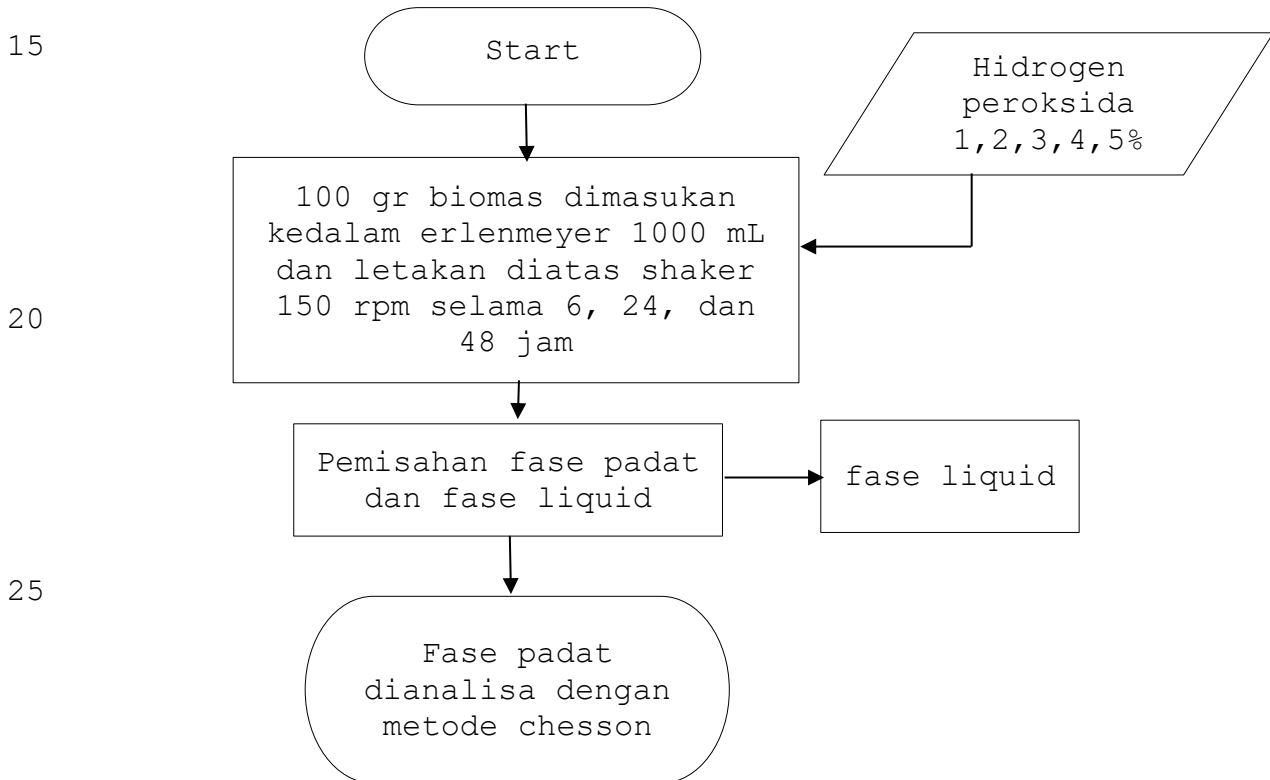
Abstrak**PROSES PEMBUATAN BIOETANOL DARI BIOMAS LIGNOSELULOSA**

5 Invensi ini berhubungan dengan proses pembuatan bioetanol dari biomas lignoselulosa dengan pra-perlakuan hidrogen peroksida-aqueous ammonia. Lebih khusus lagi invensi ini menggunakan kombinasi perlakuan awal hidrogen peroksida dan aqueous ammonia untuk menghilangkan kandungan lignin yang ada pada biomas dan
10 dilanjutkan dengan proses Hidrolisis Enzimatik dan Fermentasi (SHF).

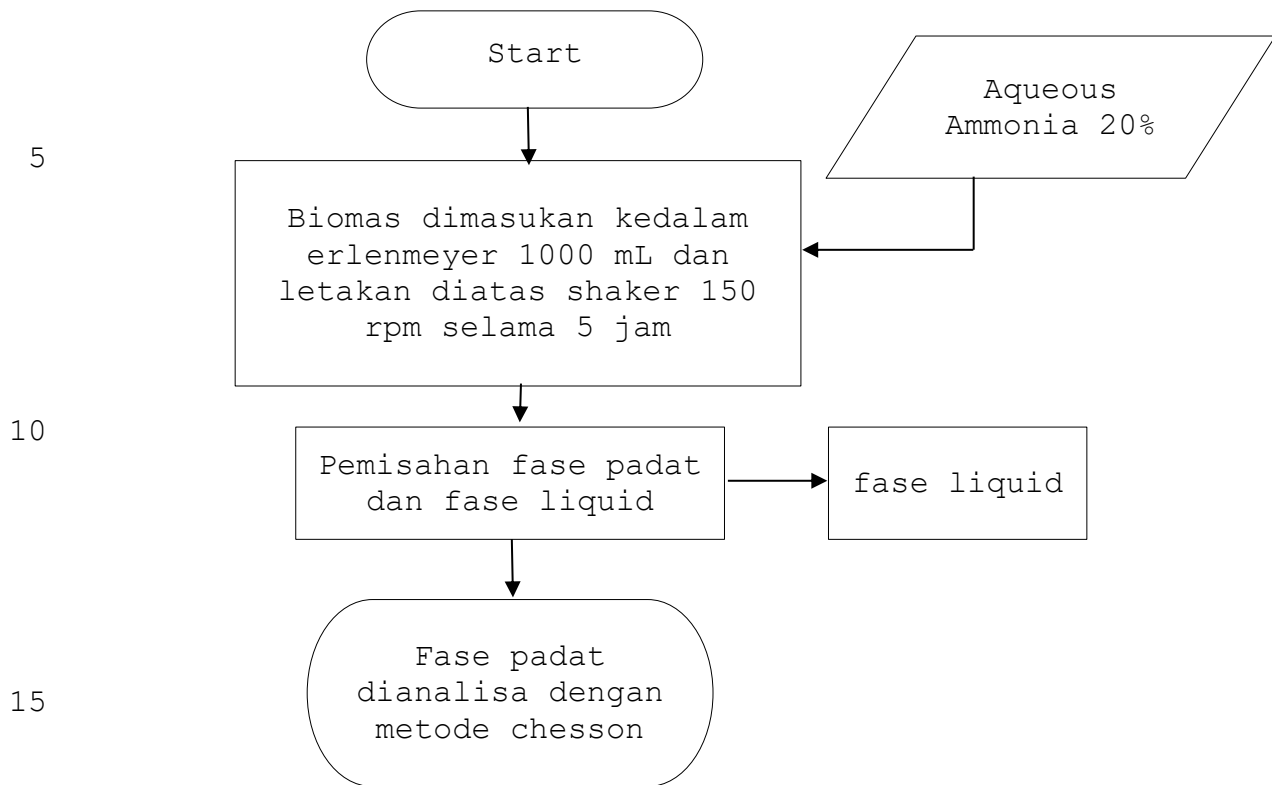
 Metode pembuatan bioetanol dari biomas lignoselulosa meliputi langkah-langkah: Melakukan praperlakuan biomas lignoselulosa dengan larutan hidrogen peroksida untuk mendegradasi
15 lignin yang terkandung dalam biomas lignoselulosa. Variasi larutan hidrogen peroksida yang digunakan antara 1-5% (v/v) dan variasi waktu praperlakuan yang digunakan antara 6-48 jam. Rasio perbandingan biomas dan larutan hidrogen peroksida yang digunakan adalah 1:10 (berat/volume), temperatur reaksi 85°C dan kecepatan
20 150 rpm. Kemudian melakukan pretreatment lanjutan menggunakan Aqueous Ammonia konsentrasi 20% di dalam reaktor pada suhu 50°C dan kecepatan 200 rpm. Setelah itu melakukan proses Hidrolisis Enzimatik. Hidrolisis enzimatik berlangsung 24 jam menggunakan enzim selulase dari *Aspergillus Niger* dengan konsentrasi 10% total
25 fraksi enzim. Setelah itu dilanjutkan dengan Fermentasi di dalam reaktor tertutup berpengaduk selama waktu 5 hari, dengan konsentrasi ragi/*yeast Saccharomyces cereviseae* yang digunakan 10% (volume/berat). Selanjutnya produk bioetanol dipisahkan dari kandungan air dengan proses distilasi pada temperatur 80°C.
30 Bioetanol yang dihasilkan berkisar antara 1,16 - 9,89 % volume/volume).



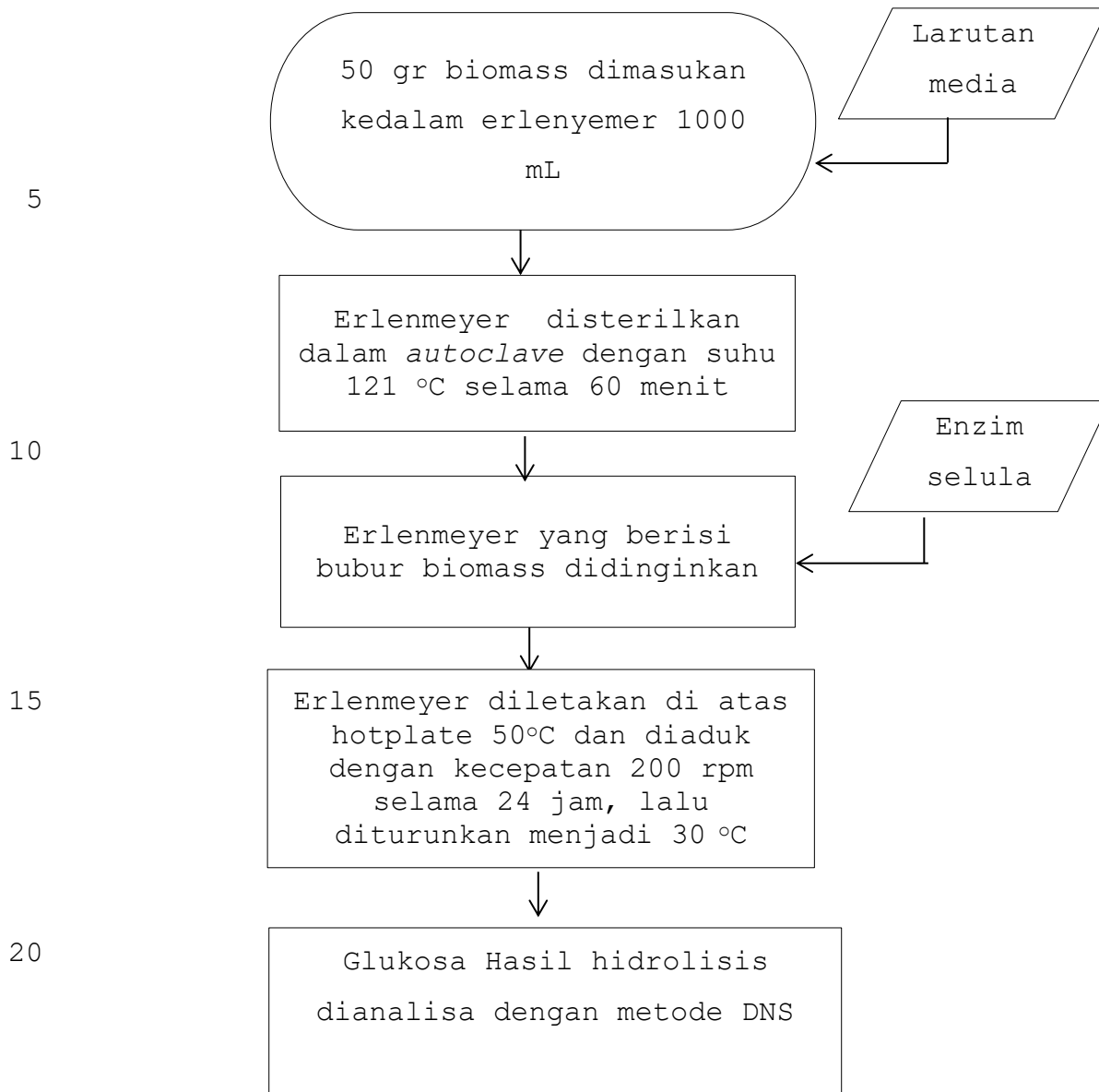
Gambar 1. Diagram Alir Persiapan Bahan Baku



Gambar 2. Diagram Pra-perlakuan Sekam Padi dengan Hidrogen Peroksida

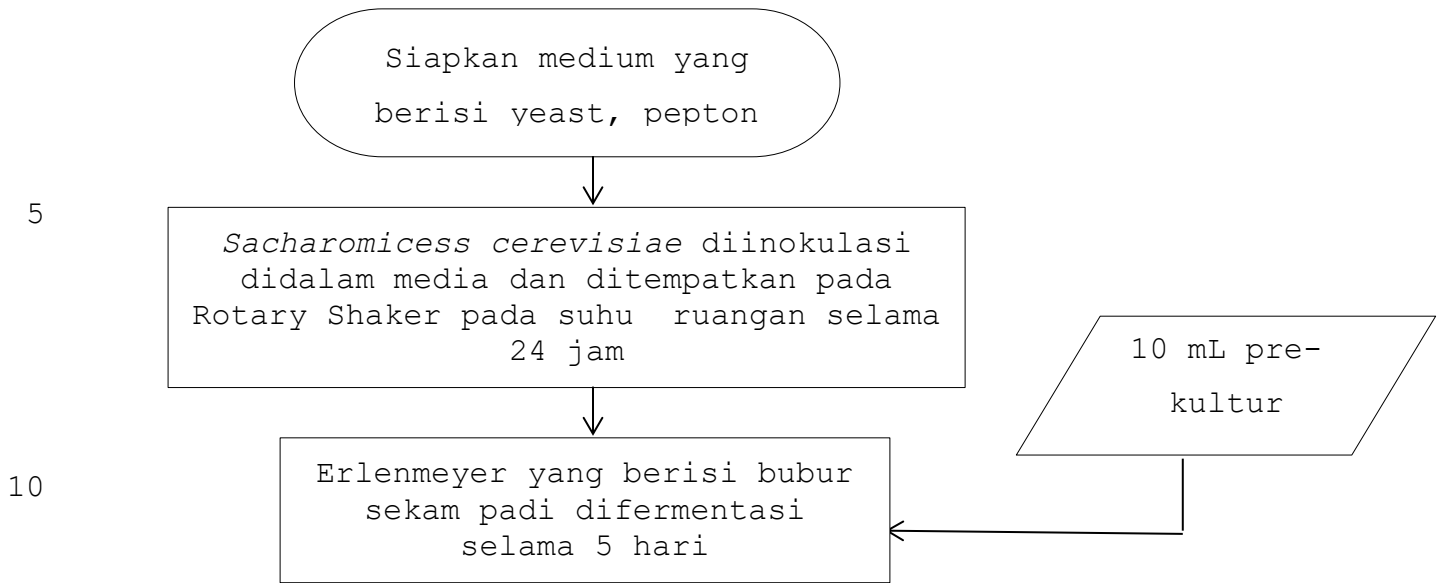


Gambar 3. Diagram Pra-perlakuan Sekam Padi dengan Aqueous Ammonia



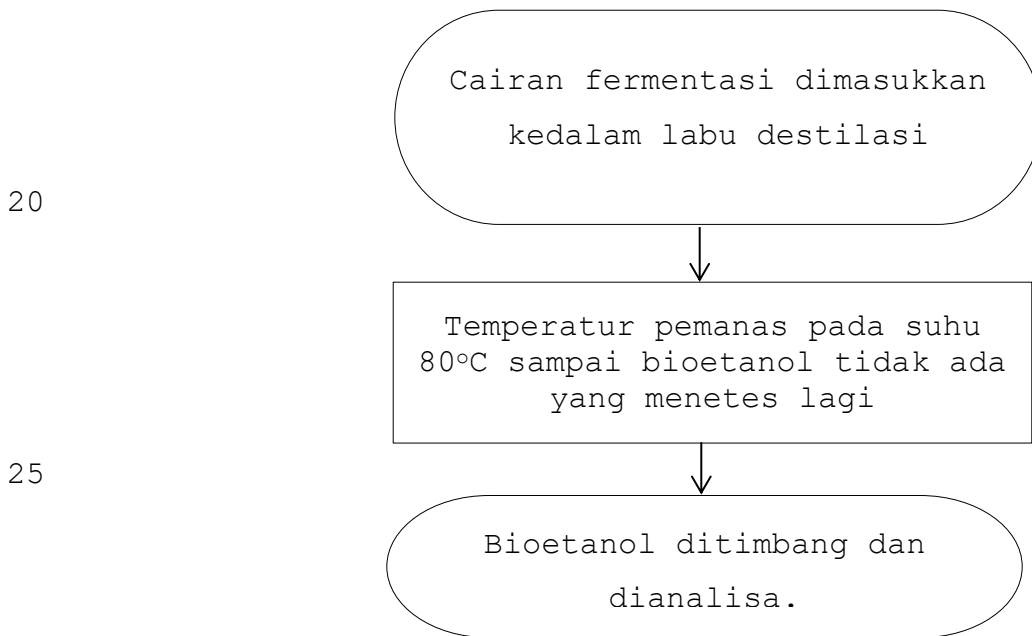
25

Gambar 4. Diagram Alir Hidrolisis Enzimatik



Gambar 5. Diagram Alir Fermentasi

15



30

Gambar 6. Diagram Alir Destilasi

35

Dokumen pendukung luaran Tambahan #1

Luaran dijanjikan: Artikel pada Conference/Seminar Internasional di Pengindeks Bereputasi

Target: Terbit dalam Prosiding

Dicapai: Accepted

Dokumen wajib diunggah:

1. Naskah artikel
2. Surat keterangan accepted dari editor

Dokumen sudah diunggah:

1. Naskah artikel
2. Surat keterangan accepted dari editor

Dokumen belum diunggah:

-

Peran penulis: first author

Nama Konferensi/Seminar: Sriwijaya International Conference on Engineering and Technology (SICETO) 2021

Lembaga penyelenggara: Universitas Sriwijaya

Tempat penyelenggara: The Zuri Palembang Hotel, Indonesia

Tgl penyelenggaraan mulai: 25 Oktober 2021 | Tgl selesai: 26 Oktober 2021

Lembaga pengindeks: Scopus (AIP Publishing)

URL website: <https://siceto.conf.unsri.ac.id/>

Judul artikel: Enhanced Bioethanol Production by H₂O₂ Pretreatment-Hydrolysis-Fermentation of Rice Husk



Kampus
Merdeka
INDONESIA JAYA



2021
SICETO

CERTIFICATE OF APPRECIATION

Sriwijaya International Conference on Engineering and Technology 2021 (SICETO 2021)

this certificate is presented to:

Novia

of Paper ID/Title :

**(168_CHE) Enhanced Bioethanol Production by H₂O₂ Pretreatment-Hydrolysis-Fermentation
of Rice Husk**

in recognition of his expertise sharing as a **Presenter**
at Sriwijaya International Conference on Engineering and Technology 2021 (SICETO 2021)
held by Engineering Faculty, Universitas Sriwijaya, Indonesia.

The Zuri Palembang Hotel, Indonesia
October 25th-26th, 2021



Dean of Engineering Faculty
Universitas Sriwijaya

Prof. Dr. Eng. Ir. Joni Arliansyah, M.T.



Chairman
SICETO 2021

Barlin, S.T., M.Eng., Ph.D.



Enhanced Bioethanol Production by H₂O₂ Pretreatment-Hydrolysis-Fermentation of Rice Husk

Novia Novia^{1, a)}, Hermansyah², Hasanuddin², Cindy Tamara¹ and Firdha Wani Chairunnisah¹

¹ *Departement of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Universitas Sriwijaya, Jl. Raya Palembang-Prabumulih KM 32 Inderalaya Ogan Ilir (OI), Sumatera Selatan, Indonesia 30662*

² *Departement of Chemical Science, Faculty of Mathematics and Natural Sciences Universitas Sriwijaya, Jl. Raya Palembang-Prabumulih KM 32 Inderalaya Ogan Ilir (OI), Sumatera Selatan, Indonesia 30662*

^{a)} *Corresponding author: novia@ft.unsri.ac.id*

Abstract. Fuel oil is one of the most crucial daily necessities. An alternative fuel that can be used to replace fuel oil is bioethanol. Rice husks contain cellulose and hemicellulose which can be processed into bioethanol. The purposes of this study were to determine the effect of hydrogen peroxide on the composition of rice husks (lignin, cellulose, hemicellulose), glucose levels, and bioethanol levels. The concentration of hydrogen peroxide used is 1, 2, 3, 4.5% (v/v) with a time variation of 6, 24, and 48 h. Pretreated rice husks were continued to enzymatically hydrolysis and fermentation. The highest cellulose content at each pre-treatment time is 23.78%, 33.69%, and 21.52. The lowest lignin content (6.21%) was produced at H₂O₂ 3% for 24 h of pretreatment time. The results show that the increasing amount of hydrogen peroxide (1-3%) caused a decrease in lignin levels for each pretreatment time. The lowest lignin was obtained of about 6.21% at hydrogen peroxide 3% for 24 h pretreatment time. Glucose levels increased with hydrogen peroxide concentration (1-3%) for each pretreatment time. The highest glucose (9.678 mg/ml) was obtained at hydrogen peroxide 3% for 24 h pretreatment time. Optimum ethanol content was obtained of about 9.883% at a hydrogen peroxide concentration of 3% for 24 h pretreatment time.

INTRODUCTION

Fuel oil is one of the needs that are very important to meet daily life. The large demand for fuel results in reduced petroleum supplies. Meanwhile, the use of fuel oil is faster than the process of its formation. The use of fossil fuels also contributes to CO₂ emissions that cause an increase in global warming and climate change. Therefore, Indonesia should immediately replace the use of fossil energy with renewable energy that is much cleaner and environmentally friendly. One alternative fuel that can be used is the utilization of the cellulose content in rice husks into bioethanol. Rice husk is one of the rice-producing agricultural waste. The abundant numbers of rice husks have the potential to be processed into something more valuable such as bioethanol. Rice husks are rice plants that have been taken their fruit (grain) so that the remaining stems and leaves are agricultural waste. Meanwhile, Indonesia has rice harvest area of 10,677 887,15 ha with rice production reaching 54,604,033,34 tons / year [1]. The rice milling process produces 20% of rice husks that means that every year there are 11 million tons of rice husks. The major components of rice husk are cellulose, hemicellulose, and lignin. The conversion of rice husk's cellulose and hemicellulose into fermentable sugar is a technological and financial concern.

The main purpose of pretreatment is to remove lignin and make cellulose more accessible to enzymes at the time of hydrolysis. Pretreatment is one of the stages of an expensive process [2]. Hydrolysis without pretreatment yields <20%, while yields after pretreatment >90% [3]. In recent years many pretreatment methods have been tested on a variety of conditions [4], [5], but development research is still needed to improve efficiency, reduce costs and meet environmental requirements. Pretreatment biologically uses microorganisms that can degrade lignocellulose components into amorphous forms [6]. Biological pretreatment was chosen because it is more environmentally

friendly but less suitable for large-scale industries. Chemical pretreatment is best applied to commercial-scale industrial applications. Chemical compounds can degrade biomass walls and complex carbohydrate chains through a direct chemical reaction, so they don't require too much energy. However, this pretreatment can cause corrosion in the equipment and takes a long time [7].

Alkaline and alkaline peroxide methods with low operating conditions have shown high effectiveness in agricultural waste residues [8]. This method can eliminate lignin and various types of uranic acid substitution in hemicellulose [9]. The advantage of this method is its abundant availability and being ready for use, environmentally friendly for low concentration. This method operates at low temperatures and atmospheric pressures, requiring no expensive reactors designed specifically. Operating costs are lower than using organic solvents. The drawback is that the cost of reagents is more expensive and the pretreatment time is longer if using hemorrhoid conditions [10].

The addition of oxidant agents such as hydrogen peroxide to alkaline pretreatment can improve the performance of lignin removal [2], [8]. Oxidative action of H_2O_2 radicals contributes to the process of depolymerization of lignin by attacking the side chains of lignin and breaking down lignin macrostructures into low molecular weight compounds [11]. The addition of H_2O_2 as an oxidizing agent in agricultural waste produces a higher percentage of sugar than untreated waste. But to optimize pretreatment conditions, the possibility of sugar loss and the production of inhibitory substances should be considered [8]. The addition of oxidant agents such as hydrogen peroxide to alkaline pretreatment can improve performance through the removal of lignin [8], [12]. By adjusting the pH of the solution with hydroxyl ion, radical species and molecular oxygen are created as part of hydrogen peroxide breakdown, which selectively interacts with lignin in many reaction processes, resulting in a complex overall oxidation reaction process and high delignification [13]. The use of H_2O_2 as a pretreatment for lignocellulosic material has been proven to be effective [14]–[17], because it produces high glucose yields and may be done at a reasonable temperature and pressure without causing damage.

The previous study [18] used hydrogen peroxide (4.3 vol%) to delignify cashew apple bagasse for 6 h at 35 °C, it induced lignin solubilization of up to 92.44. While the hydrogen peroxide content was raised from 0.645 to 4.3 vol% with solid concentration (10%) and parameters (24 h, 35 °C, pH 11.5), the rate of delignification increased dramatically from 16.5 to 80.2%. H_2O_2 is a colorless liquid, has a density greater than water, and can mix with water in a variety of compositions. H_2O_2 has very weak acidic properties and a very high oxidizing ability. The optimum temperature of H_2O_2 is 80°-85°C. If the temperature is less than 80°C then the hydrolysis process will run slowly, while if more than 85°C the process results are not perfect. H_2O_2 is very effectively used as an accumulative material because it can release oxygen effectively and when heated easily decompose. The oxygen formed from this reaction has a role as an oxidizer to whiten the material. According to previous researchers [19], the content of metal ions such as Fe, Cu, and Mn can accelerate the decomposition reaction of H_2O_2 . This explains that the content of Fe, Cu, and Mn causes the bleaching process to be ineffective.

Oxidative action of H_2O_2 radicals contributes to the process of depolymerization of lignin by attacking the side chains of lignin and breaking down lignin macrostructures into low molecular weight compounds [20]. For effective peroxide applications, pH is one of the important actors [21]. Pretreatment with hydrogen peroxide has been applied to various types of lignocellulosic biomass raw materials including cashew apple [18], [22], sugar cane bagasse [23], cotton stalks [24], corn cobs [25], corn stover [26], cotton stalks [27], bamboo [28], sisal waste [29], wheat straw [30]. According to previous researchers [31], pretreatment with hydrogen peroxide has the advantage of leaving no residual residue in biomass because it can be degraded in oxygen and water.

Hydrolysis is a process of decomposing compounds carried out by water. Hydrolysis aims to break lignin bonds, remove lignin and hemicellulose content and damage the crystal structure of cellulose and will eliminate the porosity of raw materials [32]. Damage to the crystal structure of cellulose will cause the easy breakage of cellulose into glucose. Hemicellulose will also break down into simple sugar compounds such as glucose, galactose, mannose, hexose, pentose, xylose, and arabinose. These simple sugar compounds then go to the fermentation process by microorganisms [20].

The rate of reaction has a relation to the temperature of hydrolysis. The higher the temperature of hydrolysis, the faster the hydrolysis. This is due to the constant rate of the reaction increasing due to the high operating temperature and the addition of the reaction time. The high temperature will further enlarge the conversion achieved to its optimum point. Cellulose can be hydrolyzed into glucose through the activity of complex enzymes called cellulase enzymes, which are produced by organisms that can degrade cellulose. Hemicellulose bonds are heterogeneous biopolymers whose breakdown requires some hydraulic enzyme activity. The advantage of enzymatic hydrolysis is that it does not corrode and uses low and non-toxic energy. Hydrolysis using the cellulase enzyme is usually done in temperatures that are not too high and pH in the range of 4.5-5.5 [33].

The process of enzymatic hydrolysis using cellulase enzymes or other enzymes can break down cellulose into its monomers. When compared to acid hydrolysis, enzymatic hydrolysis has several advantages, including no sugar degradation resulting from hydrolysis, lower process conditions (pH of about 4.70-4.80 and temperatures of 45–50 °C), no side reactions, more environmentally friendly, and does not involve corrosive materials [34]. Some disadvantages of enzymatic hydrolysis include taking longer, and enzyme work inhibited by the product. Enzymes cannot penetrate the lignin that binds to cellulose and hemicelluloses. Therefore, before enzymatic hydrolysis, lignocellulose waste must undergo the process of removing lignin or commonly called delignification. Another disadvantage of enzymatic hydrolysis is the relatively expensive price compared to acids [35].

The purpose of this study is to confirm the efficacy and practicality of the hydrogen peroxide pretreatment technique as a rice husk biomass pretreatment method for bioethanol production. The effects of hydrogen peroxide catalysis on delignification, glucose content, and ethanol were investigated.

RESEARCH METHODS

Rice husks were obtained from Pemulutan village, Ogan Ilir, South Sumatera, Indonesia. They were dried for 1 day in sunlight and then reduced in size to 35 mesh.

Pretreatment of Raw Materials

100 g of rice husks are inserted into a 1000 mL Erlenmeyer, then added 250 mL of hydrogen peroxide that has been adjusted pH to 11.5 using 2M NaOH. The concentration of hydrogen peroxide used is 1, 2, 3, 4.5% (v/v) with a time variation of 6, 24, and 48 h. Erlenmeyer is placed on a rotary shaker with a speed of 150 RPMs. Then, the slurry was separated using a vacuum filter, the solid phase is weighed and the liquid phase is measured volume. Pretreated solid samples were heated at a temperature of 90 °C for 15 min. Unpretreated and pretreated rice husk were analyzed with the Chesson method [36].

Enzymatic Hydrolysis

50 g pretreated rice husk, put into Erlenmeyer 1000 ml and then added a media solution (consisting of yeast extract, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, K_2HPO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, and $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) with a ratio of 1: 10 (b/v) and set the $\text{pH} \pm 5$. Then they were sterilized in an autoclave with a temperature of 121 °C for 60 min. Once autoclave, rice husk porridge was allowed to cool and then added crude enzymes (from *Aspergillus Niger*) with a 10% concentrate variation in the total enzyme fraction (10%)/ In addition, Erlenmeyer was tightly closed using cork. Erlenmeyer was placed in a water bath at a temperature variation of 50°C and stirred using a magnetic stirrer with a speed of 200 RPMs. After 24 h, the temperature was lowered to 30°C. The glucose levels produced in each sample were determined by the DNS method.

Fermentation

Prepare a medium YPD consisting of 10 g of yeast extract, 20 g of peptone, and 20 g of glucose. *Saccharomyces Cerevisiae* was inoculated with one loop full yeast in a 500 mL shake-flask bottle with 150 mL of medium YPD and placed on the HT Ecotron Rotary Shaker at 32 °C for 24 h. The tools to be used in the fermentation process were sterilized in an autoclave at 120 °C for 20 min and cooled. The fermentation time was 5 days, while the treatment of *Saccharomyces Cerevisiae* yeast concentration is 10%. Erlenmeyer is covered with rubber clogging equipped with two branches, one for sampling and the other for removing CO_2 . Then placed on a 120 RPMs rotary shaker during a predetermined fermentation time. Then the solution was separated from the residue with a centrifuge tool so that the liquid alcohol water was obtained.

Purification (Distillation)

The liquid resulting from fermentation is then put into the distillation gourd. The heating temperature is maintained at 80 °C. The distillation process was carried out for 1.5 - 2 h until the bioethanol does not drip anymore. The resulting bioethanol is weighed and analyzed with the density method.

RESULTS AND DISCUSSION

Pretreatment consists of one stage that uses a base in the form of hydrogen peroxide. Hydrogen Peroxide is a chemical compound in the form of a colorless liquid that is easily obtained. The operating temperature and concentration used are relatively low so it is safe and does not have the potential to cause harm. Previously, Hydrogen Peroxide concentrations were 50% diluted to 1, 2, 3, 4, and 5% v/v. The purpose of this pretreatment is to break down lignin and break the cellulose and hemicellulose bonds in lignin.

Effect of Hydrogen Peroxide Pretreatment on Rice Husk Composition

Pretreatment consists of one stage that uses a base in the form of hydrogen peroxide. Hydrogen Peroxide is a chemical compound in the form of a colorless liquid that is easily obtained. The operating temperature and concentration used are relatively low so it is safe and does not have the potential to cause harm. Previously, Hydrogen Peroxide concentrations were 50% diluted to 1, 2, 3, 4, and 5% (v/v). The purpose of this pretreatment is to break down lignin and break the cellulose and hemicellulose bonds in lignin to enhance further enzymatic hydrolysis.

Pre-treatment start by smoothing the rice husk using a grinding mill and was shaken with a 40-mesh screener. It aims to maximize the immersion process with hydrogen peroxide to break down lignin. After that rice husks were soaked with hydrogen peroxide at concentration variations of 1, 2, 3, 4, and 5% v/v) and time variations of 6, 24, and 48 h. The black liquid was formed after pretreatment, this is caused by lignin dissolved in the liquid which is commonly called black liquor [37]. Black liquor is presented in fig.



FIGURE 1. Black Liquor Formed After Pre-treatment

The composition of rice husk content before and after pre-treatment is further analyzed using the Chesson Method. The Chesson method is sequential fractionation in which each stage is performed to obtain the compositional fractions of the substrate [36]. The results of the analysis are shown in Fig. 2, Fig. 3, and Fig. 4.

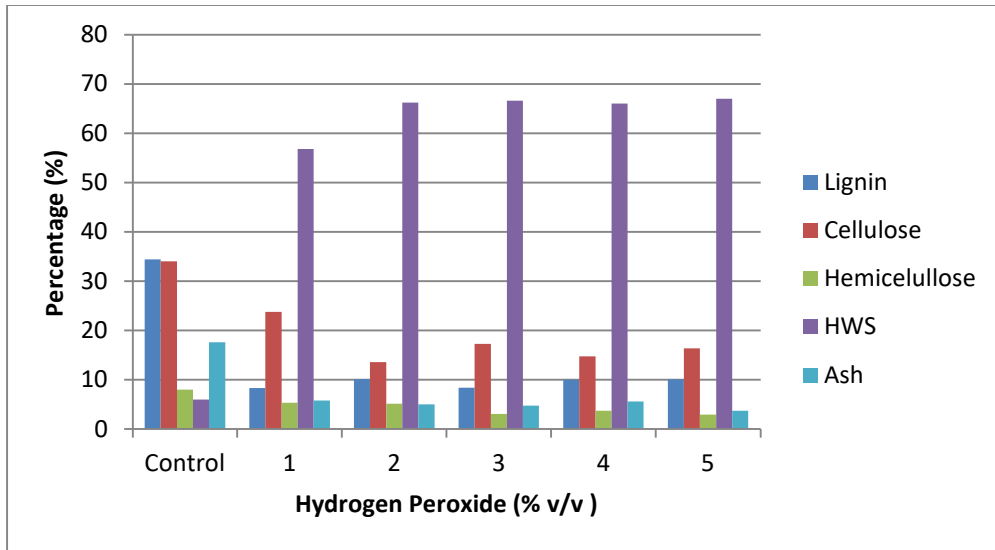


FIGURE 2. Effect of hydrogen peroxide concentration on the rice husks composition for 6 h of immersion time

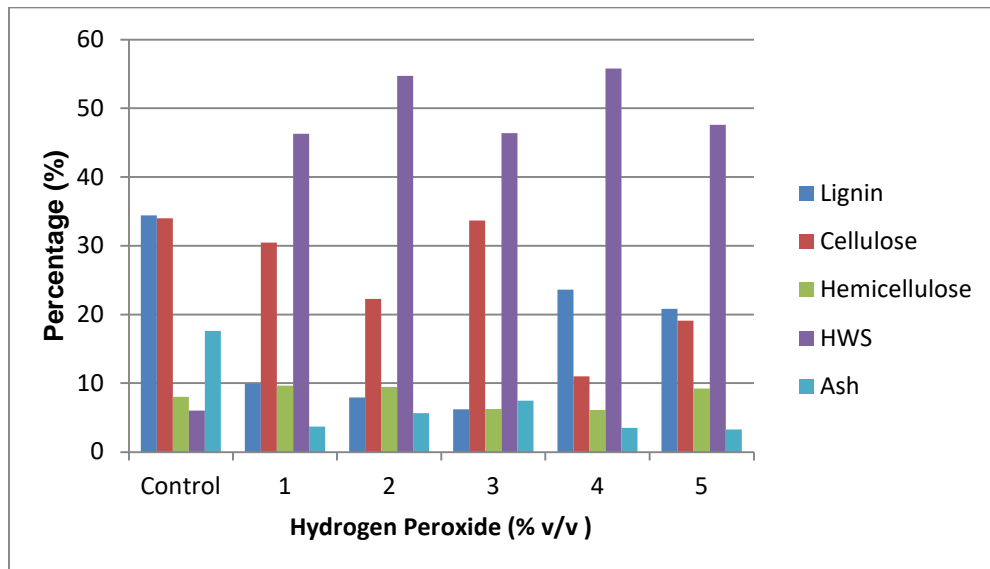


FIGURE 3. Effect of hydrogen peroxide concentration on the rice husks composition for 24 h of immersion time

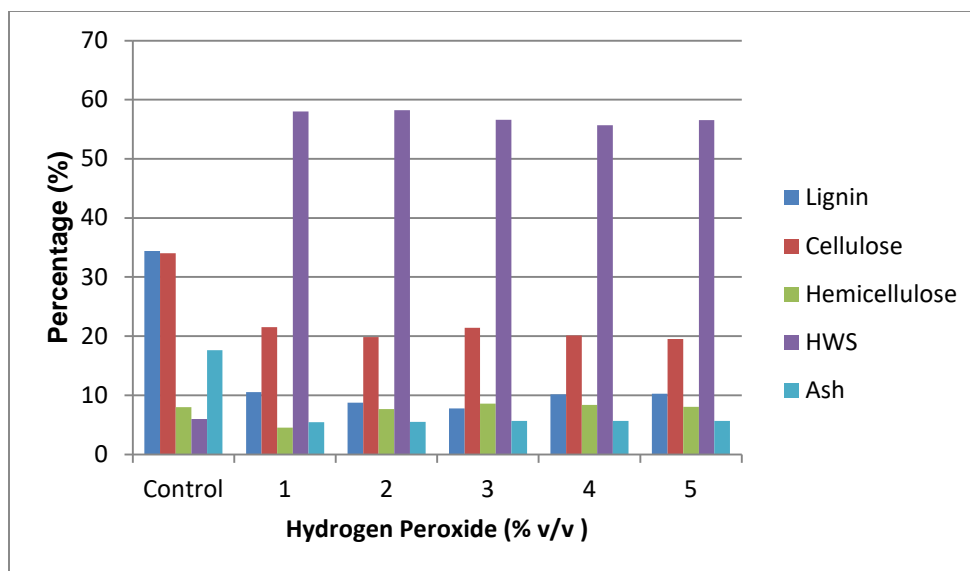


FIGURE 4. Effect of hydrogen peroxide concentration on the rice husks composition for 48 h of immersion time

The lignin content of untreated rice husk was 34%. Fig. 2 shows that at immersion time of 6 h, lignin levels decreased after being treated with hydrogen peroxide to about 8-10%. It is due to H_2O_2 dissociated into hydrogen ions and hydroperoxyl anions. Then the hydroperoxyl anion will react with the remaining H_2O_2 , then become a radical hydroxyl that attacks the lignin structure. The broken lignin will dissolve in solution H_2O_2 . The percentage decrease in lignin is 24-26%. Fig. 3 described that for immersion time of 24 h, the increasing concentration of H_2O_2 (1-3% v/v) then lignin levels decreased to 6% to 9%. But this is not the case with the addition of H_2O_2 concentration (4-5% v/v). The increase in lignin was most likely caused by carbohydrate loss, mostly from hemicellulose breakdown during hydrogen peroxide pretreatment [24]. As shown in Fig. 3 that the lowest lignin was about 6.21% at H_2O_2 3% (v/v) for 24 h of immersion time. On the other hand, the highest was lignin was about 23.6% at H_2O_2 4% for 24 h of immersion time. While Fig. 4 shows that the percentage of lignin decreased with the increasing H_2O_2 concentration to 3%, and then increased in H_2O_2 concentration of 4 and 5%.

The cellulose composition of each sample decreased after the pre-treatment of hydrogen peroxide. The cellulose content in rice husks before pre-treatment was 34%. The highest cellulose content was 23.78%, 33.69%, and 21.52% at each pre-treatment time respectively. The optimal immersion time is 24 h. The amount of cellulose after pre-treatment increased (the quality of the substrate itself) because the amount of cellulose has an effect when processed into glucose during hydrolysis [6]. Cellulose is degraded to glucose, then dissolves in the rest of the pre-treatment solution in the form of black liquor.

The composition of hemicellulose in each sample showed no association between the percentage with the concentration of hydrogen peroxide or the immersion time. The highest hemicellulose content was obtained of about 9.28% at H_2O_2 5% for 24 h of immersion time. The lowest hemicellulose content was about 2.92% at H_2O_2 5% for 6 h of immersion time. The hydrogen peroxide pretreatment degraded lignin and hemicellulose, resulting in the de-esterification of their cross-linkages [24]. The dissociation of hydroxide ions (OH) happened during pretreatment, and the greater number of (OH) ions enhanced the hydrolysis rate, resulting in more fermentable sugars.

The composition of Hot Water Soluble (HWS) in rice husks increased after immersion with hydrogen peroxide. The highest Hot Water Soluble (HWS) composition was about 66.98% at H_2O_2 5% for 6 h of immersion time. The lowest Hot Water Soluble (HWS) was 6%. This is due to the insoluble composition of Hot Water Soluble (HWS) in pre-treatment of hydrogen peroxide so that it affects the composition of rice husks where the composition of Hot Water Soluble (HWS) becomes more than any other composition. The content of Hot Water Soluble (HWS) according to Chesson [36] in substrates is oligosaccharides and pectin. Both of these ingredients are constituents of the cell wall and act as a cell defense against various types of diseases that attack plants [38].

The composition of ash in rice husks decreased from 17.6% to 7.46%. The ash from each sample that has been furnace is white. According to [39], the composition of rice husk ash is dominated by silica minerals, more precisely silicon dioxide (SiO_2) which causes white ash residues. An example of ash from a rice husk sample is shown in Fig. 5.



FIGURE 5. Sample of Ash Results from the furnace

Effect of Hydrogen Peroxide Concentration on Glucose Levels Produced in Hydrolysis Process

The result of hydrogen peroxide pre-treatment in the form of lowering lignin levels in subsequent samples was hydrolyzed to manage cellulose which then becomes glucose. This stage of hydrolysis plays a role in breaking down the cellulose chain into glucose with the help of a catalyst. The catalyst used can be either acidic, alkaline, or biological. This research used biological catalysts in the form of cellulase enzymes derived from the metabolism of the fungus *Aspergillus Niger*.

Hydrolysis using enzymes is considered safer in terms of operating conditions because it is not corrosive and toxic to the environment. The operating conditions used in enzymatic hydrolysis take place at 50°C and pH 4.9-5. Enzymatic hydrolysis in this study used an enzyme concentration of 10% (v/w) or as much as 5 mL in each sample. After going through the hydrolysis process, the glucose levels in each sample were analyzed by DNS method using UV-VIS spectrophotometry. The glucose levels for each immersion time are shown in Fig. 6.

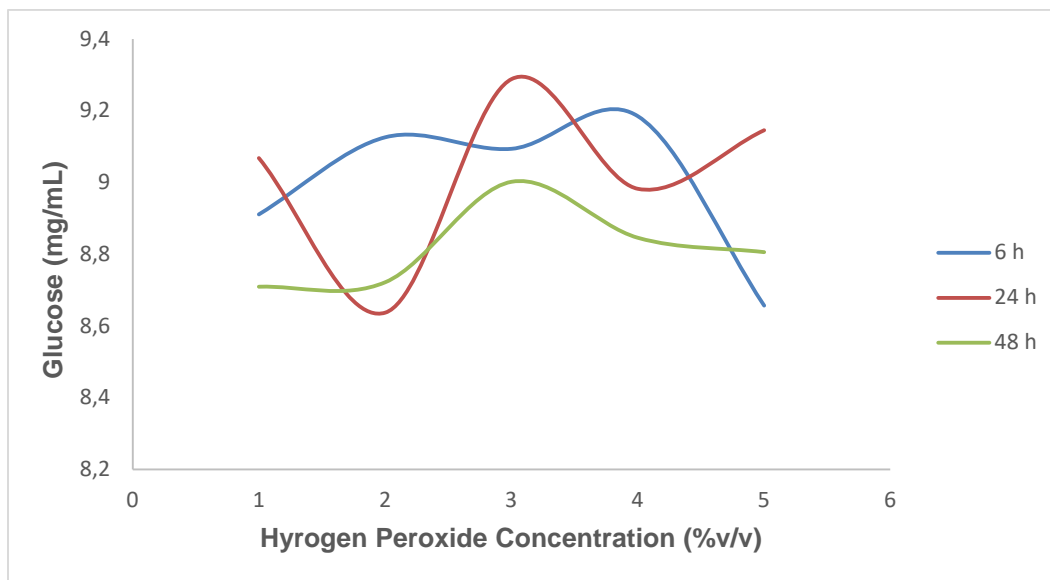


FIGURE 6. Effect of Hydrogen Peroxide Concentrations on Glucose produced at various immersion time

It can be seen from Fig. 6 that the largest glucose level was obtained of 9,289 mg/mL at hydrogen peroxide 3% for 24 h immersion time. The glucose levels increased with the increasing concentration of H₂O₂ (1-3%). The results of this study are in line with the experiment of Diaz, et al [13] that the higher the concentration of Hydrogen Peroxide, the greater the glucose produced but decreases when it reaches its saturation point. However, once 4-5 % H₂O₂ was

added, the glucose dropped, indicating that the lignin removal rate had achieved "saturation," and the lignin concentration in pretreated rice husk remained stable [16], [30]. The accessibility of cellulase to substrate increased considerably after the lignin removal rate was raised, as did the concentration of glucose generated by enzymolysis [40].

Effect of Hydrogen Peroxide Pretreatment on Ethanol Levels

Determining ethanol levels in each sample was done after passing the fermentation and distillation stage. Microorganism used at the fermentation stage is *Saccharomyces Cerevisiae* 10%. Fermentation was carried out for 5 days. The fermentation process aims to decompose carbohydrates into ethanol and CO₂ produced by yeast activity in anaerobic conditions. The distillation process aims to separate the media solution used in the fermentation process from the ethanol that has been formed from the fermentation process. Ethanol concentration was determined by using the Density Method. The Ethanol concentration for immersion times of 6 h, 12 h, and 48 h are shown in Fig. 7.

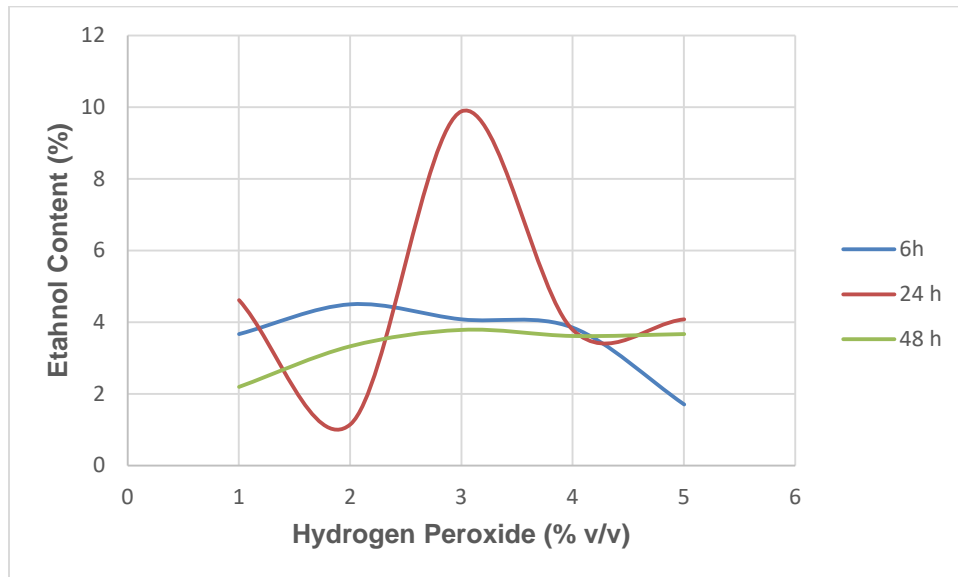


FIGURE 7. Effect of Hydrogen Peroxide Concentrations on Bioethanol Levels at various immersion time

The largest ethanol levels produced each immersion time were 4.50%, 9.88%, and 3.79%. The ethanol level of 9.88% is high enough for a single pretreatment type compared to the other combination pretreatments. The ethanol yield was 15% in the research of [41], which utilized a combination of alkaline peroxide and steam pretreatment of rape straw, and 14,07 percent in the previous study of [42], which used alkaline pre-extraction and hydrogen peroxide pretreatment for the pretreatment of wheat straw.

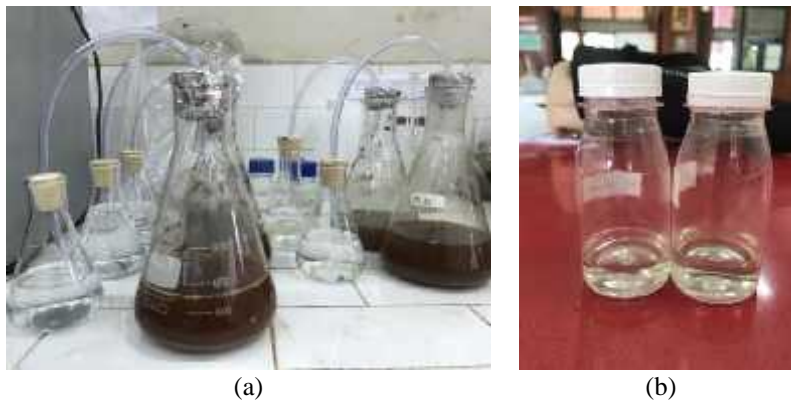


FIGURE 8. Liquid before distillation (a) and after distillation (b)

After the distillation process, a change in the color of the liquid occurs which is first brownish to clear. This is due to the separateness of colorless ethanol from the brownish-yellow media solution. This color change is shown in Fig. 8.

CONCLUSION

The increasing amount of hydrogen peroxide (1-3% v/v) caused a decrease in lignin levels for each pretreatment time. The lowest lignin was obtained of about 6.21% at hydrogen peroxide 3% for 24 h pretreatment time. Glucose levels increased with hydrogen peroxide concentration (1-3% v/v) for each immersion time. The highest glucose (9.678 mg/ml) was obtained at hydrogen peroxide 3% for 24 h immersion time. Optimum ethanol content was obtained of about 9.883% at a hydrogen peroxide concentration of 3% (v/v) for 24 h immersion time.

ACKNOWLEDGMENTS

All of authors are grateful for the financial funding presented by Direktorat Sumber Daya-DIKTI, Ministry of Education and Culture, Indonesia, for the research project No. 299/E4.1/AK.04.PT/2021 Tanggal 12 Juli 2021 (as Research Contract: Skema Penelitian Terapan, No. 0164.01/UN9/SB3.LP2M.PT/2021, 13 Juli 2021).

REFERENCES

1. Central Statistics Agency, "Rice Harvest, Productivity, and Production Area By Province, 2019," 2019.
2. S. B. Kim, S. J. Lee, J. H. Lee, Y. R. Jung, L. P. Thapa, J. S. Kim, Y. Um, C. Park, and S. W. Kim, *Biotechnol. Biofuels* 6 (1), 1–11 (2013).
3. J. M. Gould, *Biotechnol. Bioeng.* 26 (1), 46–52 (1984).
4. S. Baksi, U. Sarkar, S. Saha, A. K. Ball, J. C. Kuniyal, A. Wentzel, C. Birgen, H. A. Preisig, B. Wittgens, and S. Markussen, *Chem. Eng. Process. Process Intensif.* 143 (July), 107607-102019 (2019).
5. M. Balat, H. Balat, and C. Oz, *Prog. Energy Combust. Sci.* 34 (5), 551–573 (2008).
6. M. Balat, *Energy Convers. Manag.* 52 (2), 858–875, (2011).
7. C. S. Goh and K. T. Lee, *Renew. Sustain. Energy Rev.* 15 (6), 2714–2718 (2011).
8. T. H. Kim, F. Taylor, and K. B. Hicks, *Bioresour. Technol.* 99 (13), 5694–5702 (2008).
9. Y. Zheng, Z. Pan, and R. Zhang, *Int. J. Agric. Biol. Eng.* 2 (3), 51–68 (2009).
10. M. J. Taherzadeh and K. Karimi, *International Journal of Molecular Sciences* 9 (9), 1621-1651 (2008).
11. P. Alvira, E. Tomás-Pejó, M. Ballesteros, and M. J. Negro, *Bioresour. Technol.* 101 (13), 4851–4861 (2010).
12. G. Shen, H. Tao, M. Zhao, B. Yang, D. Wen, Q. Yuan, G. Rao, *J. Food Process Eng.* 34 (3), 905–921 (2011).
13. A. B. Díaz, A. Blandino, C. Belleli, and I. Caro, *Ind. Eng. Chem. Res.* 53 (27), 10870–10875 (2014).
14. S. C. Rabelo, R. R. Andrade, R. Maciel Filho, and A. C. Costa, *Fuel* 136, 349–357 (2014).
15. G. Ramadoss and K. Muthukumar, *Chem. Eng. J.* 260, 178–187 (2015).
16. X. Yan, J. R. Cheng, Y. T. Wang, and M. J. Zhu, *Bioresour. Technol.* 301 (January), 122756-122020.
17. G. Li, Y. Sun, W. Guo, and L. Yuan, *J. Clean. Prod.* 181, 217–223 (2018).
18. J. A. da C. Correia, J. E. M. Júnior, L. R. B. Gonçalves, and M. V. P. Rocha, *Bioresour. Technol.* 139, 249–256 (2013).
19. K. Nakamata, Y. Motoe, and H. Ohi, *J. Wood Sci.* 50 (3) 242–247 (2004).
20. N. Mosier, C. Wyman, B. Dale, R. Elander, Y. Y. Lee, M. Holtzapple, M. Ladisch Mosier, *Bioresour. Technol.* 96 (6), 673–686 (2005).
21. C. N. Hamelinck, G. Van Hooijdonk, and A. P. C. Faaij, *Biomass and Bioenergy* 28, (4), 384–410 (2005).
22. J. A. da Costa, J. E. Marques, L. R. B. Gonçalves, and M. V. P. Rocha, *Bioresour. Technol.* 179, 249–259 (2015).
23. M. T. Gao, S. Yano, H. Inoue, and K. Sakanishi, *Biochem. Eng. J.* 68, 152–158 (2012).
24. K. Malik, E. S. Salama, T. H. Kim, and X. Li, *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 147, 104869 (2020).
25. M. Fernández-Delgado, P. E. Plaza, M. Coca, M. T. García-Cubero, G. González-Benito, and S. Lucas, *Ind. Crops Prod.* 130, (November), 409–419 (2019).
26. C. Zhao, X. Qiao, Q. Shao, M. Hassan, Z. Ma, and L. Yao, *Ind. Crops Prod.* 146, 112177 (2020).
27. R. A. Silverstein, Y. Chen, R. R. Sharma-Shivappa, M. D. Boyette, and J. Osborne, *Bioresour. Technol.* 98 (16), 3000–3011 (2007).

28. Q. Qing et al., *Bioresour. Technol.* 201, 230–236 (2016).
29. Y. Yang, J. Yang, J. Cao, and Z. Wang, *Bioresour. Technol.* 267 (July), 517–523 (2018).
30. Z. Yuan, Y. Wen, and G. Li, *Bioresour. Technol.* 259, 228–236 (2018).
31. J. Gao, X. Yang, J. Wan, Y. He, C. Chang, X. Ma, and J. Bai, *BioResources* 11 (1), 2403–2416 (2016).
32. Y. Sun and J. Cheng, *Bioresour. Technol.* 83 (1), 1–11 (2002).
33. A. Al Jibouri, “Effect of intermediate washing on ozonolysis delignification and enzymatic hydrolysis of wheat straw,” Ph.D. thesis, Ryerson University, 2012.
34. J. J. Cheng and G. R. Timilsina, *Renew. Energy* 36 (1), 3541–3549 (2011).
35. C. Schacht, C. Zetzl, and G. Brunner, *J. Supercrit. Fluids* 46 (3), 299–321 (2008).
36. R. Datta, *Biotechnol. Bioeng.*, 23 (9), 2167–2170 (1981).
37. J. W. Kim, K. S. Kim, J. S. Lee, S. M. Park, H. Y. Cho, J. C. Park, and J. S. Kim, *Bioresour. Technol.* 102 (19), 8992–8999 (2011).
38. H. Chen, *Biotechnology of Lignocellulose: Theory and Practice*. SpringerJointly published with Chemical Industry Press, Dordrecht Heidelberg New York London: pp. 205-205, 2014.
39. A. A. Raheem and M. A. Kareem, “*Int. J. Eng. Res. Africa* 32 (October), 25–35, 2017.
40. Z. You, S. Y. Pan, N. Sun, H. Kim, and P. C. Chiang, *J. Clean. Prod.* 238, 117813 (2019).
41. G. Luo, F. Talebnia, D. Karakashev, L. Xie, Q. Zhou, and I. Angelidaki, *Bioresour. Technol.* 102 (2), 1433–1439 (2011).
42. P. Karagöz, I. V. Rocha, M. Özkan, and I. Angelidaki, *Bioresour. Technol.* 104, 349–357 (2012).



Sriwijaya International Conference on Engineering and Technology (SICETO)

Faculty of Engineering Universitas Sriwijaya

Jalan Sriwijaya Negara, Bukit Besar, Palembang-Sumatera Selatan

Website : <https://siceto.conf.unsri.ac.id> | E-Mail : siceto@ft.unsri.ac.id

Palembang, September 30th, 2021

Number : 0061/C/SICETO/2021
Events : Acceptance Letter

Dear author(s)

We are pleased to inform you that the manuscript in SICETO 2021, after the peer review, your paper:

TITLE : Enhanced Bioethanol Production by H₂O₂ Pretreatment-Hydrolysis-Fermentation of Rice Husk
AUTHOR : Novia Novia, Hermansyah, Hasanuddin, Cindy Tamara and Firdha Wani Chairunnisah
PAPER ID : 168_CHE

has been ACCEPTED and SELECTED with content unaltered to publish in **AIP Proceeding publication Scopus index year 2021.**

Again, thank you for working with SICETO 2021. I believe that our collaboration will help to accelerate the global knowledge creation and sharing one step further. SICETO 2021 looks forward to your final publication package. Please do not hesitate to contact me if you have any further questions.

Sincerely,


BARLIN, Ph.D.

Dept. of Mechanical Engineering,
Faculty of Engineering, Universitas Sriwijaya, Indonesia



Sriwijaya International Conference on Engineering and Technology (SICETO)

Faculty of Engineering Universitas Sriwijaya

Jalan Sriwijaya Negara, Bukit Besar, Palembang-Sumatera Selatan

Website : <https://siceto.conf.unsri.ac.id> | E-Mail : siceto@ft.unsri.ac.id

REGISTRATION, PROOF OF PAYMENT AND VIDEO PRESENTATION

Dear author(s),

PAPER ID	: 168_CHE
TITLE	: Enhanced Bioethanol Production by H ₂ O ₂ Pretreatment-Hydrolysis-Fermentation of Rice Husk

This is a follow up to complete your registration, you need make the payment of **IDR 1.500.000,-** to the following bank account and upload the proof of payment in the OJS SICETO system at copyediting section.

PAYMENT DETAILS

Bank:	Bank Negara Indonesia (BNI) 46
Beneficiary Name:	RPL 014 Unsri Penerimaan BLU
Account Number:	0070570115
SWIFT Code:	BNINIDJA
Bank Address:	Bank BNI KCP UNIV. SRIWIJAYA JL. LUNJUK JAYA NO.1 BUKIT BESAR - PALEMBANG Kota Palembang, Sumatera Selatan - 30139

Please write the description of the transaction as SICETO2021-(Your paper ID). The payment needs to be made no later than 11 October 2021. Should you require an invoice, please contact us at siceto@ft.unsri.ac.id.

Note: the committee does not accept payment mechanisms via SMS (Short Message Service) banking.

Please inform to me if you want on the spot payment.

UPLOAD PROOF OF PAYMENT AND COPYRIGHT

Please upload the proof of payment and copyright to the OJS in Copyediting section (<https://siceto.conf.unsri.ac.id/submit>).

REVISED PAPER

To ensure your paper can be published **AIP proceeding publication Scopus index year 2021**, please make sure that you have revised your paper based on the comments from the



Sriwijaya International Conference on Engineering and Technology (SICETO)

Faculty of Engineering Universitas Sriwijaya

Jalan Sriwijaya Negara, Bukit Besar, Palembang-Sumatera Selatan

Website : <https://siceto.conf.unsri.ac.id> | E-Mail : siceto@ft.unsri.ac.id

reviewer(s). The scientific committee will check your revised paper to ensure corrections have been made, and the similarity index is below 30%. **Please note that we are unable to publish your paper if these conditions are not fulfilled, even though you have made the payment.** Your revised paper needs to be submitted in the OJS. *You can ignore this part if you have already submitted your revised paper.*

PRESENTATION VIDEO

The participants are required to prepare of **7-minutes video presentation**. Make sure your video has a good resolution (at least 720p), your voice is clear, and avoid using any background music. It is preferred that your presentation video contains the presenter's face together with the slides you are presenting. Please refer to the following YouTube video on how to record PowerPoint presentation and your face using your webcam: https://youtu.be/Mu6UwK5F_KI (optional).

For the background video conference can be download in: <https://bit.ly/37KoyGv>.

Once you have recorded your presentation video, please share your google drive video link in the SICETO OJS at copyediting section.

On the conference day, the link of remote video meeting sessions will be created based on the topic of your presentation. In each session, the session chair will be playing back your pre-recorded presentation video according to the schedule (which will be provided a few days before the symposium). You need to be present in the session. After the video playback is finished, there will be a 3-minute Q&A session. This is the only interactive session between the presenter and other participants in the session. The process is repeated for every presenter.

Note: We accept if you want uses another video editing system.

SUMMARY

Should you have any questions, please feel free to contact us at siceto@ft.unsri.ac.id or send us a WhatsApp message at [+62823 7865 0027](https://wa.me/6282378650027) and or phone number [+62831 9469 2231](https://wa.me/6283194692231).

Sincerely,

SICETO 2021 TEAM

Faculty of Engineering

Universitas Sriwijaya, Indonesia.

This License to Publish must be signed and returned to the Proceedings Editor before the manuscript can be published. If you have questions about how to submit the form, please contact the AIP Publishing Conference Proceedings office (confproc@aip.org). For questions regarding the copyright terms and conditions of this License, please contact AIP Publishing's Office of Rights and Permissions, 1305 Walt Whitman Road, Suite 300, Melville, NY 11747-4300 USA; Phone 516-576-2268; Email: rights@aip.org.

Article Title ("Work"):

(Please indicate the final title of the Work. Any substantive changes made to the title after acceptance of the Work may require the completion of a new agreement.)

All Author(s):

(Please list **all** the authors' names in order as they will appear in the Work. All listed authors must be fully deserving of authorship and no such authors should be omitted. For large groups of authors, attach a separate list to this form.)

Title of Conference: Sriwijaya International Conference on Engineering and Technology (SICETO) 2021

Name(s) of Editor(s) Barlin, Dendy Adanta, Zulkarnain

All Copyright Owner(s), if not Author(s):

(Please list **all** copyright owner(s) by name. In the case of a Work Made for Hire, the employer(s) or commissioning party(ies) are the copyright owner(s). For large groups of copyright owners, attach a separate list to this form.)

Copyright Ownership and Grant of Rights

For the purposes of this License, the "Work" consists of all content within the article itself and made available as part of the article, including but not limited to the abstract, tables, figures, graphs, images, and multimedia files, as well as any subsequent errata. "Supplementary Material" consists of material that is associated with the article but linked to or accessed separately (available electronically only), including but not limited to data sets and any additional files.

This Agreement is an Exclusive License to Publish not a Transfer of Copyright. Copyright to the Work remains with the Author(s) or, in the case of a Work Made for Hire, with the Author(s)' employer(s). AIP Publishing LLC shall own and have the right to register in its name the copyright to the proceedings issue or any other collective work in which the Work is included. Any rights granted under this License are contingent upon acceptance of the Work for publication by AIP Publishing. If for any reason and at its own discretion AIP Publishing decides not to publish the Work, this License is considered void.

Each Copyright Owner hereby grants to AIP Publishing LLC the following irrevocable rights for the full term of United States and foreign copyrights (including any extensions):

- The exclusive right and license to publish, reproduce, distribute, transmit, display, store, translate, edit, adapt, and create derivative works from the Work (in whole or in part) throughout the world in all formats and media whether now known or later developed, and the nonexclusive right and license to do the same with the Supplementary Material.
- The right for AIP Publishing to freely transfer and/or sublicense any or all of the exclusive rights listed in #1 above. Sublicensing includes the right to authorize requests for reuse of the Work by third parties.
- The right for AIP Publishing to take whatever steps it considers necessary to protect and enforce, at its own expense, the exclusive rights granted herein against third parties.

Author Rights and Permitted Uses

Subject to the rights herein granted to AIP Publishing, each Copyright Owner retains ownership of copyright and all other proprietary rights such as patent rights in the Work.

Each Copyright Owner retains the following nonexclusive rights to use the Work, without obtaining permission from AIP Publishing, in keeping with professional publication ethics and provided clear credit is given to its first publication in an AIP Publishing proceeding. Any reuse must include a full credit line acknowledging AIP Publishing's publication and a link to the Version of Record (VOR) on AIP Publishing's site.

Each Copyright Owner may:

- Reprint portions of the Work (excerpts, figures, tables) in future works created by the Author, in keeping with professional publication ethics.
- Post the Accepted Manuscript (AM) to their personal web page or their employer's web page immediately after acceptance by AIP Publishing.
- Deposit the AM in an institutional or funder-designated repository immediately after acceptance by AIP Publishing.

- Use the AM for posting within scientific collaboration networks (SCNs). For a detailed description of our policy on posting to SCNs, please see our Web Posting Guidelines (<https://publishing.aip.org/authors/web-posting-guidelines>).
- Reprint the Version of Record (VOR) in print collections written by the Author, or in the Author's thesis or dissertation. It is understood and agreed that the thesis or dissertation may be made available electronically on the university's site or in its repository and that copies may be offered for sale on demand.
- Reproduce copies of the VOR for courses taught by the Author or offered at the institution where the Author is employed, provided no fee is charged for access to the Work.
- Use the VOR for internal training and noncommercial business purposes by the Author's employer.
- Use the VOR in oral presentations made by the Author, such as at conferences, meetings, seminars, etc., provided those receiving copies are informed that they may not further copy or distribute the Work.
- Distribute the VOR to colleagues for noncommercial scholarly use, provided those receiving copies are informed that they may not further copy or distribute the Work.
- Post the VOR to their personal web page or their employer's web page 12 months after publication by AIP Publishing.
- Deposit the VOR in an institutional or funder-designated repository 12 months after publication by AIP Publishing.
- Update a prior posting with the VOR on a noncommercial server such as arXiv, 12 months after publication by AIP Publishing.

Author Warranties

Each Author and Copyright Owner represents and warrants to AIP Publishing the following:

- The Work is the original independent creation of each Author and does not infringe any copyright or violate any other right of any third party.
- The Work has not been previously published and is not being considered for publication elsewhere in any form, except as a preprint on a noncommercial server such as arXiv, or in a thesis or dissertation.
- Written permission has been obtained for any material used from other sources and copies of the permission grants have been supplied to AIP Publishing to be included in the manuscript file.
- All third-party material for which permission has been obtained has been properly credited within the manuscript.
- In the event that the Author is subject to university open access policies or other institutional restrictions that conflict with any of the rights or provisions of this License, such Author has obtained the necessary waiver from his or her university or institution.

This License must be signed by the Author(s) and, in the case of a Work Made for Hire, also by the Copyright Owners. One Author/Copyright Owner may sign on behalf of all the contributors/owners only if they all have authorized the signing, approved of the License, and agreed to be bound by it. The signing Author and, in the case of a Work Made for Hire, the signing Copyright Owner warrants that he/she/it has full authority to enter into this License and to make the grants this License contains.

1. The Author must please sign here (except if an Author is a U.S. Government employee, then please sign under #3 below):

Author(s) Signature	Print Name	Date
---------------------	------------	------

2. The Copyright Owner (if different from the Author) must please sign here:

Name of Copyright Owner	Authorized Signature and Title	Date
-------------------------	--------------------------------	------

3. If an Author is a U.S. Government employee, such Author must please sign below. The signing Author certifies that the Work was written as part of his/her official duties and is therefore not eligible for copyright protection in the United States.

Name of U.S. Government Institution (e.g., Naval Research Laboratory, NIST)

Author Signature	Print Name	Date
------------------	------------	------

PLEASE NOTE: NATIONAL LABORATORIES THAT ARE SPONSORED BY U.S. GOVERNMENT AGENCIES BUT ARE INDEPENDENTLY RUN ARE NOT CONSIDERED GOVERNMENT INSTITUTIONS. (For example, Argonne, Brookhaven, Lawrence Livermore, Sandia, and others.) Authors at these types of institutions should sign under #1 or #2 above.

If the Work was authored under a U.S. Government contract, and the U.S. Government wishes to retain for itself and others acting on its behalf, a paid-up, nonexclusive, irrevocable, worldwide license in the Work to reproduce, prepare derivative works from, distribute copies to the public, perform publicly, and display publicly, by or on behalf of the Government, please check the box below and add the relevant Contract numbers.

Contract #(s) _____ [1.16.1]

Accepted Manuscript (AM): The final version of an author's manuscript that has been accepted for publication and incorporates all the editorial changes made to the manuscript after submission and peer review. The AM does not yet reflect any of the publisher's enhancements to the work such as copyediting, pagination, and other standard formatting.

arXiv: An electronic archive and distribution server for research article preprints in the fields of physics, mathematics, computer science, quantitative biology, quantitative finance, and statistics, which is owned and operated by Cornell University, <http://arxiv.org/>.

Commercial and noncommercial scholarly use: *Noncommercial* scholarly uses are those that further the research process for authors and researchers on an individual basis for their own personal purposes. They are author-to-author interactions meant for the exchange of ideas. *Commercial* uses fall outside the author-to-author exchange and include but are not limited to the copying or distribution of an article, either in hard copy form or electronically, for resale or licensing to a third party; posting of the AM or VOR of an article by a site or service where an access fee is charged or which is supported by commercial paid advertising or sponsorship; use by a for-profit entity for any type of promotional purpose. Commercial uses require the permission of AIP Publishing.

Embargo period: The period of time during which free access to the full text of an article is delayed.

Employer's web page: A web page on an employer's site that highlights the accomplishments and research interests of the company's employees, which usually includes their publications. (See also: Personal web page and Scholarly Collaboration Network).

Exclusive License to Publish: An exclusive license to publish is a written agreement in which the copyright owner gives the publisher exclusivity over certain inherent rights associated with the copyright in the work. Those rights include the right to reproduce the work, to distribute copies of the work, to perform and display the work publicly, and to authorize others to do the same. The publisher does not hold the copyright to the work, which continues to reside with the author. The terms of the AIP Publishing License to Publish encourage authors to make full use of their work and help them to comply with requirements imposed by employers, institutions, and funders.

Full Credit Line: AIP Publishing's preferred format for a credit line is as follows (you will need to insert the specific citation information in place of the capital letters): "Reproduced from [FULL CITATION], with the permission of AIP Publishing." A FULL CITATION would appear as: Journal abbreviation, volume number, article ID number or page number (year). For example: Appl. Phys. Lett. 107, 021102 (2015).

Institutional repository: A university or research institution's digital collection of articles that have been authored by its staff and which are usually made publicly accessible. As authors are encouraged and sometimes required to include their published articles in their institution's repository, the majority of publishers allow for deposit of the Accepted Manuscript for this purpose. AIP Publishing also allows for the VOR to be deposited 12 months after publication of the Work.

Journal editorial office: The contact point for authors concerning matters related to the publication of their manuscripts. Contact information for the journal editorial offices may be found on the journal websites under the "About" tab.

Linking to the Version of Record (VOR): To create a link to your article in an AIP Publishing journal or proceedings, you need to know the CrossRef digital object identifier (doi). You can find the doi on the article's abstract page. For instructions on linking, please refer to our Web Posting Guidelines at <https://publishing.aip.org/authors/web-posting-guidelines>.

National Laboratories: National laboratories are sponsored and funded by the U.S. Government but have independent nonprofit affiliations and employ private sector resources. These institutions are classified as Federally Funded Research and Development Centers (FFRDCs). Authors working at FFRCs are not

considered U.S. Government employees for the purposes of copyright. The Master Government List of FFRDCs may be found at <http://www.nsf.gov/statistics/ffrdclist/>.

Personal web page: A web page that is hosted by the author or the author's institution and is dedicated to the author's personal research interests and publication history. An author's profile page on a social media site or scholarly collaboration network site is *not* considered a personal web page. (See also: Scholarly Collaboration Network; Employer's web page).

Peer X-Press: A web-based manuscript submission system by which authors submit their manuscripts to AIP Publishing for publication, communicate with the editorial offices, and track the status of their submissions. The Peer X-Press system provides a fully electronic means of completing the License to Publish. A hard copy of the Agreement will be supplied by the editorial office if the author is unable to complete the electronic version of the form. (Conference Proceedings authors will continue to submit their manuscripts and forms directly to the Conference Editors.)

Preprint: A version of an author's manuscript intended for publication but that has not been peer reviewed and does not reflect any editorial input or publisher enhancements.

Professional Publication Ethics: AIP Publishing provides information on what it expects from authors in its "Statement of ethics and responsibilities of authors submitting to AIP Publishing journals" (<http://publishing.aip.org/authors/ethics>). AIP Publishing is also a member of the Committee on Publication Ethics (COPE) (<http://publicationethics.org/>), which provides numerous resources and guidelines for authors, editors, and publishers with regard to ethical standards and accepted practices in scientific publishing.

Scholarly Collaboration Network (SCN): Professional networking sites that facilitate collaboration among researchers as well as the sharing of data, results, and publications. SCNs include sites such as Academia.edu, ResearchGate, and Mendeley, among others.

Supplementary Material: Related material that has been judged by peer review as being relevant to the understanding of the article but that may be too lengthy or of too limited interest for inclusion in the article itself. Supplementary Material may include data tables or sets, appendixes, movie or audio clips, or other multimedia files.

U.S. Government employees: Authors working at Government organizations who author works as part of their official duties and who are not able to license rights to the Work, since no copyright exists. Government works are in the public domain within the United States.

Version of Record (VOR): The final published version of the article as it appears in the printed journal/proceedings or on the Scitation website. It incorporates all editorial input, is formatted in the publisher's standard style, and is usually viewed in PDF form.

Waiver: A request made to a university or institution to exempt an article from its open-access policy requirements. For example, a conflict will exist with any policy that requires the author to grant a nonexclusive license to the university or institution that enables it to license the Work to others. In all such cases, the Author must obtain a waiver, which shall be included in the manuscript file.

Work: The "Work" is considered all the material that comprises the article, including but not limited to the abstract, tables, figures, images, multimedia files that are directly embedded within the text, and the text itself. The Work does not include the Supplementary Material (see Supplementary Material above).

Work Made for Hire: Under copyright law, a work prepared by an employee within the scope of employment, or a work that has been specially ordered or commissioned for which the parties have agreed in writing to consider as a Work Made for Hire. The hiring party or employer is considered the author and owner of the copyright, not the person who creates the work.

Dokumen Realisasi Mitra

**SURAT PERNYATAAN MITRA
BERSEDIA MENJADI MITRA PENELITI PADA SKIM PENELITIAN TERAPAN TAHUN 2020**

Yang bertanda tangan di bawah ini,

nama perusahaan : **CV.Fruitanol Energy**

alamat : **Jl. Kaliurang KM 7, Gang Mawar no 44, RT 02/RW 43, Kayen,
Condong Catur, Kecamatan Depok, Kabupaten Sleman,
Yogyakarta 55283**

menyatakan bahwa saya memiliki komitmen, kemampuan, dan kesanggupan untuk memberikan dukungan penuh serta bekerja sama sebagai mitra pelaksana pelaksana penelitian dengan topik:

Produksi Bioetanol dari Sekam Padi dan Aplikasi pada Mesin Bakar (Praperlakuan Hidrogen Peroksida-Aqueous Amonia dan Hidrolisis Enzimatik Fermentasi)

Hal-hal yang mengatur peran/kontribusi dan tanggung jawab dalam kerja sama tersebut akan didiskusikan berdasarkan kesepakatan kedua belah pihak.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan sebenar-benarnya.

Yogyakarta, 19 Agustus 2019



Stamp: TERAJ MPPEL, DEPARTEMEN TEKNOLOGI, FRUITANOL ENERGY. Signature: Dita Adisaputra.

Dita Adisaputra, MSc