

## **BAB II**

### **TINJAUN PUSTAKA**

#### **2.1 Tandan Kosong Kelapa sawit**

Kelapa sawit merupakan biomassa yang berasal dari afrika barat dan diperluas ke asia tenggara, secara ilmiah kelapa sawit dikenal sebagai *Elaeis guinnensis* (Zainal,dkk. 2017). Tanam kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jack.) merupakan tanaman perkebunan yang memegang peranan penting dalam industri pangan. Produksi kelapa sawit di indonesia pada tahun 2019 meningkat di bandingkan tahun sebelumnya hinga mencapai 30,06 juta ton (BPS 2019). Proses pengolahan kelapa sawit menghasilkan produk samping berupa limbah kelapa sawit. Berdasarkan tempat pembentukannya limbah kelapa sawit dapat digolongkan menjadi dua jenis yaitu limbah perkebunan kelapa sawit dan limbah industri kelapa sawit. Limbah industri kelapa sawit adalah limbah yang dihasilkan pada proses pengolahan kelapa sawit. Limbah jenis ini digolongkan dalam tiga jenis yaitu limbah padat, limbah cair, dan limbah gas (Fauzi dkk., 2005). Gambar 2.1 tandan kosong kelapa sawit



Gambar 2.1 tandan kosong kelapa sawit (TKKS)

Tandan kosong kelapa sawit (TKKS) merupakan salah satu jenis limbah padat yang dihasilkan dalam industri minyak sawit. Jumlah tandan kosong kelapa sawit ini cukup besar karena hampir sama dengan jumlah produksi minyak sawit mentah. Limbah tersebut belum banyak dimanfaatkan secara optimal. Komponen terbesar dari tandan kosong kelapa sawit adalah selulosa (40-60%), disamping komponen lain yang jumlahnya lebih kecil seperti hemiselulosa (20-30%), dan

lignin (15-30%). Salah satu alternatif pemanfaatan tandan kosong kelapa sawit adalah sebagai pupuk organik dengan melakukan pengomposan (Fauzi dkk., 2005). Tanda buah segar mengandung 25-34% tandan kosong, tandan kosong kelapa sawit memiliki tiga komponen utama yaitu selulos, hemiselulosa dan lignin (Gayang, 2013).

Tanda kosong kelapa sawit memiliki potensi cukup besar untuk dapat dimanfaatkan. Namun, selama ini TKKS baru dimanfaatkan sebagai pupuk organik, bahan baku pembuatan kertas, briket, dan umumnya baru sampai pada pemanfaatan serat sebagai bahan pengisi suatu medium seperti pengisi rongga jok mobil dan kasur (Wardani, dkk, 2014).

Padahal tandan kosong kelapa sawit berpotensi untuk dikembangkan menjadi barang yang lebih berguna, salah satunya menjadi bahan baku bioetanol. Hal ini karena tandan kosong kelapa sawit banyak mengandung selulosa yang dapat dihirolisis menjadi glukosa kemudian difermentasi menjadi bioetanol. Kandungan selulosa yang cukup tinggi yaitu sebesar 45% menjadikan kelapa sawit sebagai prioritas untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan bioetanol (Aryafatta, 2008).

pengolahan/pemanfaatan TKKS masih sangat terbatas yaitu dibakar, ditimbun (open dumping), dijadikan mulsa di perkebunan kelapa sawit, atau diolah menjadi kompos. Namun karena adanya beberapa kendala seperti waktu pengomposan yang cukup lama sampai 6–12 bulan, fasilitas yang harus disediakan, dan biaya pengolahan TKKS tersebut. Selain jumlah yang melimpah juga karena kandungan selulosa tandan kelapa sawit yang cukup tinggi yaitu sebesar 45 % (Aryafatta, 2008).

Adapun Menurut penelitian Mardawati dkk (2019) komposisi TKKS adalah sebagai berikut :

Tabel 2.1 Komposisi Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS)

Komposisi	Kadar (%)
Selulosa	33,83 ± 1,02
Hemiselulosa	17.07 ± 0,98
Lignin	26.71 ± 0,83

Sumber:(Mardawati dkk,2019)

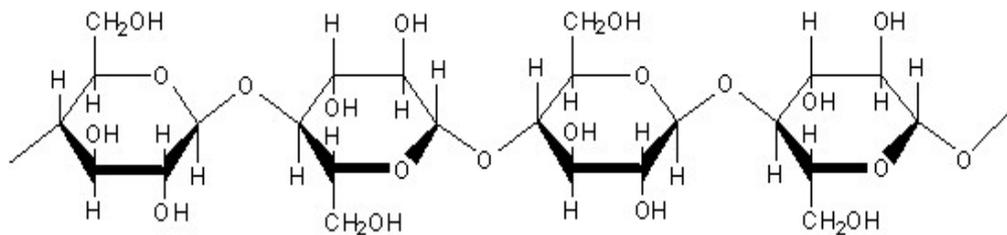
Tanda kosong kelapa sawit merupakan limbah utama dari pengolahan kelapa sawit yang belum dimanfaatkan secara optimal dan banyak mengandung selulosa sehingga tandan kosong kelapa sawit sangat berpotensi untuk digunakan sebagai bahan baku pembuatan bioetanol (Adzhani, 2019).

## 2.2 Selulosa

Selulosa merupakan polisakarida yang terdiri atas satuan glukosa yang terikat dari ikatan  $\beta$ 1-4-glycosidic dengan rumus  $(C_6H_{10}O_5)_n$  dengan n adalah derajat polimerisasinya. Struktur kimia inilah yang membuat selulosa bersifat kristalin dan tidak mudah larut, sehingga tidak mudah didegradasi secara kimia/mekanisme. Molekul glukosa disambung menjadi molekul besar, panjang, dan berbentuk rantai dalam susunan menjadi selulosa. Semakin panjang suatu rangkaian selulosa, maka rangkaian selulosa tersebut memiliki serat yang lebih kuat, lebih tahan terhadap pengaruh bahan kimia, cahaya, dan mikroorganisme. Selulosa itu sendiri merupakan bahan dasar yang penting bagi industri seperti pabrik kertas, pabrik sutera tituan, dll (Putera, 2012). Selulosa merupakan suatu polimer yang banyak terkandung pada serat tumbuhan. Tumbuhan mengandung sekitar 40% selulosa yang berfungsi untuk penstrukturan elemen dalam menyusun dinding sel pada tumbuhan. Selulosa memiliki struktur ramtai linier dan hemiselulosa (Heinze, 2015).

Selulosa merupakan substansi organik dan menjadi salah satu sumber daya yang paling berlimbah di indonesia, selulosa merupakan komponen utama dari lignoselulosa dari dinding sel pada tanaman bersamaan dengan hemiselulosa, lignin, pektin, dan lilin, Menurut Ekebafe, dkk (2011) Penanganan yang biasa dilakukan adalah menjadikannya sebagai pakan ternak. Peningkatan manfaat secara maksimal diperlukan agar limbah tersebut mempunyai nilai yang lebih tinggi. Salah satu kandungan dari limbah tersebut adalah selulosa yang sifatnya ramah lingkungan, dan sangat cocok untuk derivatisasi kimia. Oleh karena itu diperlukan adanya kajian mengenai isolasi selulosa dan karakteristiknya agar kedepannya di ketahui metode yang paling tepat untuk proses isolasi selulosa tersebut.

Selulosa tidak pernah ditemukan dalam keadaan murni di alam, tetapi selalu berasosiasi dengan polisakarida lain seperti lignin, pectin, hemiselulosa, dan xilan. Selulosa membentuk komponen serat dari dinding sel tumbuhan. Molekul selulosa merupakan rantai-rantai atau mikrofibril dan D-glukosa sampai sebanyak 14.000 satuan yang terdapat berkas-berkas tepuntir mirip tali yang terikat satu sama lain oleh ikatan hidrogen (Fessenden & Fessenden, 1982). Kebanyakan selulosa berasosiasi dengan lignin sehingga sering disebut dengan lignoselulosa. Selulosa mempunyai rumus kimia  $(C_6H_{10}O_5)_n$ , setiap struktur selulosa mengandung 3 group alhokol hidroksil yang ditunjukkan pada gambar 2.2 (Margiana, 2017).



Gambar 2.2 Struktur Selulosa

Sifat selulosa terdiri dari sifat fisika dan kimia. Selulosa dengan rantai panjang memiliki sifat fisik yang lebih kuat, tahan lama terhadap degradasi yang disebabkan oleh pengaruh panas, bahan kimia maupun biologis. Sifat fisika dari selulosa yang penting ialah panjang, lebar, dan tebal molekulnya. Sifat fisik lain dari selulosa ialah (Putera, 2012):

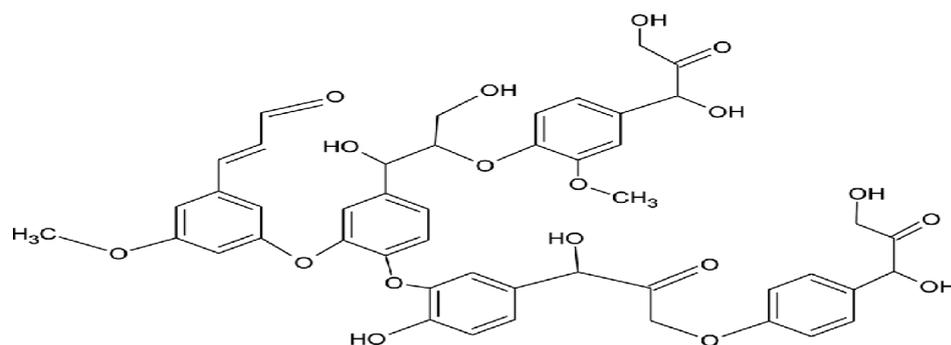
1. Dapat terdegradasi oleh hidrolisa, oksidasi, fotokimia maupun secara mekanis sehingga berat molekulnya turun.
2. Tidak larut dalam air maupun pelarut organik, tetapi sebagian larut pada larutan alkali.
3. Dalam keadaan kering, selulosa bersifat higroskopis (baik menyerap air), keras, juga rapuh. Jika selulosa mengandung banyak air, maka akan bersifat lunak. Jadi fungsi air sini adalah sebagai pelunak.
4. Selulosa dalam Kristal memiliki kekuatan lebih baik dibandingkan dengan bentuk amorfnya

### 2.3 Lignin

Lignin merupakan senyawa yang keras karena tersusun atas jaringan polimer 3 dimensi fenolik atau fenilpropanoid bercabang, dan berfungsi sebagai perekat serat selulosa dan hemiselulosa yang membuat dinding sel tanaman mengeras sangat kuat (Sun dan Cheng, 2002). Struktur lignin sangat kompleks dan tidak berpola sama yang membuat selulosa sulit ditembus oleh enzim ataupun mikroorganisme sehingga keberadaan lignin menjadi penghalang dalam produksi bioetanol.

Lignin ini merupakan polimer tiga dimensi yang terdiri dari unit fenil propana melalui ikatan eter (C-O-C) dan ikatan karbon (C-C). Bila lignin berdifusi dengan larutan alkali maka akan terjadi pelepasan gugus metoksil yang membuat lignin larut dalam alkali. Reaksi dengan senyawa tertentu banyak dimanfaatkan dalam proses pembuatan pulp dimana lignin yang tebetuk dapat dipisahkan, sedangkan reaksi oksidasi terhadap lignin digunakan dalam proses pemutihan. Lignin dapat mengurangi daya pengembangan serat serta ikatan antar serat (Putera, 2012).

Lignin adalah polimer berkadar fenolik tinggi, berwarna kecoklatan, dan relatif mudah teroksidasi. Lignin relatif stabil terhadap aksi kebanyakan larutan asam mineral, tetapi larut dalam larutan basa panas dan larutan ion bisulfit panas. Lignin mempunyai titik pelunakan dan titik leleh yang rendah, lignin kayu berdaun jarum melunak pada 80-90°C (basah) dan 120°C (kering) dan meleleh pada 140-150°C . Gambar 2.3 Struktur lignin sebagai berikut



Gambar 2.3 struktur lignin

Lignin zat yang bersama-sama dengan selulosa merupakan salah satu sel yang terdapat dalam kayu. Lignin berguna dalam kayu seperti lem atau semen yang mengikat sel-sel lain dalam kesatuan, sehingga bisa menambah support dan kekuatan kayu (mechanical strength) agar kokoh dan berdiri tegak. Lignin

memiliki struktur kimiawai yang bercabang-cabang dan berbentuk polimer tiga dimensi. Molekul dasar lignin adalah fenil propan. Oleh karena ukuran dan strukturnya yang tiga dimensi bisa memungkinkan lignin berfungsi sebagai semen atau lem bagi kayu yang dapat mengikat serat dan memberikan kekerasan struktur serat (Purnawan dan parawati, 2014).

Saat ini biomassa lignoselulosa sedang dilirik untuk bahan baku pembuatan bahan bakar masa depan (bioetanol). Kandungan lignin merupakan salah satu penghambat utama biokonversi ligoselulosa menjadi bioetanol. Lignin melindungi selulosa, sehingga selulosa sulit untuk di hidrolisis menjadi glukosa . Proses *Pretreatment* saat ini banyak dilakukan untuk memecah pelindung ini sehingga selulosa menjadi mudah di hidrolisis tanpa banyak kehilangan polisakaridanya.

## **2.4 Lignoselulosa**

Bahan lignoselulosa merupakan bio massa yang berasal dari tanaman dengan komponen utama lignin, selulosa, dan hemiselulosa. Ketersediaannya yang cukup melimpah, terutama sebagai limbah pertanian, perkebunan, dan kehutanan, menjadikan bahan ini berpotensi sebagai salah satu sumber energi melalui proses konversi, baik proses fisika, kimia maupun biologis. Salah satu proses konversi bahan lignoselulosa yang banyak diteliti adalah proses konversi lignoselulosa menjadi etanol yang selanjutnya dapat digunakan untuk mensubstitusi bahan bakar bensin untuk keperluan transportasi (Hermiati dkk,2010).

Senyawa lignoselulosa terdiri atas tiga komponen utama, yaitu selulosa, hemiselulosa, dan lignin yang merupakan bahan utama penyusun dinding sel tumbuhan. Konversi bahan lignoselulosa menjadi etanol pada dasarnya terdiri atas tiga tahap, yaitu perlakuan pendahuluan, sakarifikasi, dan fermentasi. Untuk memperoleh fuel-grade ethanol, dilakukan pemurnian yang terdiri atas distilasi dan dehidrasi.

## 2.5 *Saccharomyces cerevisiae*

*Saccharomyces cerevisiae* dapat diperoleh dari ragi roti. Roti mengandung *Saccharomyces cerevisiae* yang telah mengalami seleksi, mutasi akan hibridasi untuk meningkatkan kemampuannya dalam memfermentasi gula dengan baik dalam adonan dan mampu tumbuh dengan cepat (Pelezar dan cham, 2013). *Saccharomyces* adalah genus dalam kerajaan jamur yang mencakup banyak jenis ragi. *Saccharomyces* berasal dari bahasa latin yang berarti gula jamur. *Saccharomyces* merupakan mikroorganisme bersel satu tidak berklorofil, termasuk dalam *Eumycetes*. Tumbuh baik pada suhu 30°C dan pH 4,8. Beberapa kelebihan *Saccharomyces* dalam proses fermentasi yaitu mikroorganisme ini cepat berkembang biak, tahan terhadap kadar alkohol yang tinggi, tahan terhadap suhu yang tinggi, mempunyai sifat stabil dan cepat mengadakan adaptasi. Pertumbuhan *Saccharomyces* dipengaruhi oleh adanya penambahan nutrisi yaitu unsur C sebagai sumber carbon, unsur N yang diperoleh dari penambahan urea, Za, ammonium dan pepton, mineral dan vitamin. Suhu optimum untuk fermentasi antara 28-30°C.

Keuntungan menggunakan ragi roti antara lain adalah (Tri wijaya Purnama, 2015);

- a. Hemat biaya
- b. Mudah digunakan
- c. Memiliki kemampuan fermentasi tinggi
- d. Dosis pemakaian rendah

*Saccharomyces cerevisiae* merupakan organisme uniseluler dan umumnya membelah diri dengan pertunasaan. Pada umumnya, sel yeast lebih besar daripada bakteri dengan ukuran sangat beragam yaitu lebar 1-5  $\mu\text{m}$  dan panjangnya lebih dari 3-30  $\mu\text{m}$ . Yeast biasanya berbentuk bulat telur atau memanjang dan tidak dilengkapi dengan *Flagellum* atau organ penggerak lainnya. Yest bersifat fakularif anaerob, artinya dapat hidup dalam keadaan anaerob maupun aerob. Yeast dapat tumbuh kisaran suhu yang cukup luas. Suhu optimum pertumbuhannya 30°C, suhu maksimumnya adalah 35-37°C, sedangkan suhu minimumnya adalah 9-11°C.

Yeast sering digunakan dalam pembuatan roti, anggur, dan bir dalam rumah tangga maupun skala industri. Klasifikasi yeast adalah sebagai berikut

Kingdom : Fungi

Filium : Ascomycota

Kelas : Hemiascomycetes

Ordo : Saccharomycetaceae

Genus : Saccharomyces

Spesies : *Saccharomyces cerevisiae*

Yeast dapat tumbuh dalam suatu media/substrat yang mengandung glukosa.

Pertumbuhan maksimum yeast biasanya terjadi hingga hari ke-3 dan mulai mengalami penurunan setelah hari ke-7 (Novi Chisilia, 2011).

## 2.6 Bioetanol

Bioetanol ( $C_2H_5OH$ ) adalah cairan biokimia pada proses fermentasi gula dari sumber karbohidrat yang menggunakan bantuan mikroorganisme. Dalam perkembangannya, produksi alkohol yang paling banyak digunakan adalah metode fermentasi dan distilasi. Bahan baku yang dapat digunakan pada pembuatan etanol adalah nira bergula (sukrosa): nira tebu, nira nipah, nira sorgum manis, nira kelapa, nira aren, nira siwalan, sari buah mete; bahan berpati: tepung sorgum biji, sagu, singkong, ubi jalar, ganyong, garut, umbi dahlia; bahan berselulosa (lignoselulosa): kayu, jerami, batang pisang, dan lain-lain (LIPI, 2019). Bioetanol yang dibuat dari biomassa yang mengandung komponen pati atau selulosa, seperti singkong dan tetes tebu. Dalam dunia industri, bioetanol umumnya digunakan sebagai bahan baku industri, bioetanol umumnya digunakan sebagai bahan baku industri turunan alkohol, campuran untuk minuman keras (seperti sake atau gin), serta baku farmasi dan kosmetika (dzaki, 2018).

Etanol dapat diproduksi secara fermentasi dari bahan baku yang mengandung gula atau secara sintesis dapat juga diproduksi dari turunan minyak bumi. Tetapi hampir 93% produksi etanol di dunia diproduksi secara fermentasi. Berdasarkan pengalaman dan ketersediaan teknologi penyediaan glukosa untuk proses fermentasi inilah proses produksi etanol digolongkan menjadi tiga generasi. Generasi pertama adalah pemanfaatan glukosa dari sirup gula alami seperti nira

dan molase sisa pabrik gula. Berdasarkan penilikan sejarah, teknologi seperti ini sudah sangat populer dan melekat hampir di semua budaya masyarakat di belahan dunia mana saja

Glukosa di fermentasikan untuk menghasilkan etnaol menurut reaksi



Generasi kedua adalah pemanfaatan glukosa dari hasil hidrolisis pati. Proses produksi ini lebih maju dan lebih membutuhkan kajian teknologi dibandingkan generasi pertama. Proses hidrolisis pati tanpa bantuan katalis membutuhkan kondisi suhu dan tekanan tinggi. Seiring dengan perkembangan teknologi maka dikembangkan berbagai jenis katalis dan biokatalis yang bisa memungkinkan penyelenggaraan reaksi pada suhu lebih rendah bahkan pada suhu ruang bila menggunakan biokatalis amilase. Generasi paling mutakhir dari proses produksi etanol adalah pemanfaatan glukosa dari hasil proses hidrolisis selulosa. Selulosa adalah komponen organik dengan rumus molekul ( $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$ ) yang merupakan polisakarida yang tersusun atas beta-glukosa. Selulosa menyusun dinding sel tanaman hijau. Berdasarkan susunan selulosa yang merupakan polisakarida dan adanya potensi selulosa untuk dikonversi menjadi etanol, maka selulosa sangat berpotensi untuk dijadikan sebagai bahan baku etanol. Ketersediaan selulosa yang melimpah di bumi karena keberadaannya sebagai penyusun dinding sel tumbuhan hijau, serta keberadaannya yang melimpah pada bahan non pangan, bahan berselulosa bisa dijadikan pilihan yang tepat untuk mengurangi kompetisi dengan bahan baku etanol selama ini. Etanol yang diproduksi dari bahan berlignoselulosa meliputi dua tahap reaksi. Tahap pertama adalah konversi selulosa menjadi gula dan tahap kedua adalah produksi etanol dari gula hasil konversi. Konversi selulosa menjadi gula dilakukan melalui reaksi hidrolisis. Reaksi hidrolisis dapat dilakukan secara kimia maupun secara enzimatis, Substrat yang dapat difermentasikan menjadi etanol adalah :

1. Bahan yang mengandung gula, antara lain : tebu dan sisa produknya (molase, bagasse, gula bit, buah-buahan, kentang, sorgum, dan lain-lain).
2. Bahan-bahan berpati, antara lain : tapioka, maizena, gandum, padi dan kentang.

3. Bahan-bahan biomassa lignoselulosa, antara lain : sumber selulosa dan lignoselulosa yang berasal dari limbah pertanian dan kayu.

Berikut ini merupakan tabel parameter kualitas bio etanol berdasarkan Standar Nasional Indonesia (SNI)

Tabel 2.2 Standar Nasional Indonesia Kualitas Bioetanol (SNI 7390-2008)

Parameter	Unit,Min/Max	Spesifikasi	Metode Uji (SNI 7390-2008)
Kadar Etanol	%-v, min	99,5 ( Sebelum denaturasi) 94,0 (Setelah denaturasi)	Sub 11,1
Kadar Metanol	mg/L , max	300	Sub 11,1
Kadar Air	%-v,max	1	Sub 11,2
Kadar denaturan	%-v , min	2	Sub 11,2
	%-v, max	5	Sub 11,3
Kadar Cu	mg/Kg, max	0,1	Sub 11,4
Keasaman CH <sub>3</sub> COOH		30	Sub 11,5
Tampakan		Jernih dan tidak ada endapan	Peng. Visual
Ion klorida	mg/L, max	40	Sub 11,6
Kandungan Sulfur	mg/L, max	50	Sub 11,7
Getah	mg/ 100mL, max	5	Sub 11,8
pH		6,5 - 9,0	Sub 11,9

## 2.7 Proses Pembuatan Bioetanol

Bioetanol adalah salah satu jenis Biofuel (Bahan bakar cair dari pengolahan tumbuhan) disamping biodiesel. Bioetanol adalah etanol yang dihasilkan dari fermentasi glukosa (gula) yang dilanjutkan dengan proses distilasi (Firstyarkha Habibah,2015). Proses pembuatan ethanol dari lignoselulosa dapat dibagi menjadi empat tahapan umum yaitu *pretreatment*, hidrolisis, fermentasi, destilasi (Axelsson, 2011).

### 2.7.1 Pretreatment

Pretreatment atau perlakuan awal merupakan tahapan yang penting untuk produksi ethanol generasi kedua. Tahapan ini melibatkan beberapa proses yang mengubah ukuran, struktur, dan kandungan kimia dalam biomassa untuk

mengoptimalkan kondisi hidrolisis. Prinsip dari pretreatment adalah meningkatkan kemampuan bahan dengan membuka ikatan struktur lignoselulosa kompleks. Metode pretreatment dapat dilakukan dengan 3 cara yaitu secara fisik, kimia, dan biologi. Selain itu, banyak juga penelitian yang menggunakan gabungan antara pretreatment secara fisik dan kimia (Axelsson, 2011).

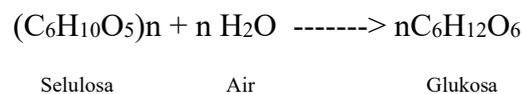
Pretreatment biomassa ligniselulosa harus dilakukan untuk mendapatkan hasil yang tinggi dimana penting untuk pengembangan teknologi biokonversi dalam skala komersial (Mosier dkk, 2005). Tujuan dari pretreatment adalah untuk membuka struktur ligniselulosa agar selulosa menjadi lebih mudah diakses oleh enzim yang memecah polymer polisakarida menjadi monomer gula. Pretreatment mengubah struktur selulosa biomassa untuk membuat selulosa lebih mudah diakses enzim yang mengkonversi polimer karbohidrat. Selanjutnya, ketika lignoselulosa dipisahkan menjadi komponen-komponennya, dapat dihidrolisis menjadi gula difermentasi (Monosakarida) dengan menggunakan asam mineral atau enzim. Monosakarida kemudian dapat lebih dikonversi ke bahan kimia berbasis bio yang berharga (Kamm, 2004). Pretreatment dapat dilakukan secara kimia maupun fisik. Metode fisik yang dapat dilakukan adalah dengan menggunakan temperatur dan tekanan tinggi, penggilingan, radiasi, atau pendinginan, kesemuanya membutuhkan energi yang tinggi. Sedangkan metode pretreatment secara kimia menggunakan solven untuk memecah dan melarutkan lignin (metode delignifikasi) (Badger, 2002). Tujuan dari pretreatment adalah untuk memecahkan perisai lignin dan struktur kristal selulosa sementara meningkatkan porositas selulosa.

### 2.7.2 Hidrolisis

Hidrolisis secara teori merupakan tahap awal proses digestasi anaerobik yang senyawa organik kompleks (atau senyawa polimer) diuraikan menjadi bentuk yang lebih sederhana (Wibawa, 2014). Hidrolisis merupakan reaksi kimia yang memecah beberapa molekul dengan penambahan molekul air dengan tujuan untuk mengkonversi polisakarida menjadi monomer-monomer sederhana (Osvaldo, dkk, 2012:55). Hidrolisis merupakan proses pemecahan polimer menjadi monomernya agar suatu senyawa pecah terurai seperti glukosa. Pada hidrolisis sempurna

selulosa akan menghasilkan glukosa sedangkan hemiselulosa menghasilkan monomer gula pentose (C5) dan heksosa (C6) (Anggraeni, dkk. 2013 : 64).

Hidrolisis meliputi proses pemecahan polisakarida di dalam biomassa ligniselulosa, yaitu selulosa dan hemiselulosa menjadi monomer gula penyusunnya. Hidrolisis sempurna selulosa menghasilkan glukosa, sedangkan hemiselulosa menghasilkan beberapa monomer gula pentose (C5) dan Heksosa (C6), Hidrolisis dapat dilakukan secara kimia (asam) atau enzimatik. Hidrolisis secara kimia dapat dilakukan dengan menggunakan asam encer maupun asam pekat. Penggunaan asam encer pada proses hidrolisis dilakukan pada temperatur dan tekanan tinggi dengan waktu reaksi yang singkat (beberapa menit). Temperatur yang dibutuhkan adalah mencapai 200°C, Asam encer yang digunakan adalah 0,2-4% berat (Nguyen dan Tucker, 2002). Penggunaan asam encer untung menghidrolisis selulosa biasa mampu mencapai konversi reaksi sampai 50% (Badger, 2002). Konversi yang rendah ini disebabkan oleh degradasi gula hasil hidrolisis yang terbentuk karena temperatur reaksi yang digunakan tinggi. Degradasi gula tersebut tidak hanya menurunkan konversi reaksi, namun juga dapat meracuni mikroorganisme pada saat reaksi fermentasi pada pembentukan etanol. Penggunaan asam pekat pada proses hidrolisis selulosa dilakukan pada temperatur yang lebih rendah daripada asam encer. Sumber asam yang biasa digunakan adalah asam sulfat. Temperatur reaksi adalah 100°C dan membutuhkan waktu reaksi antara 1 dan 2 jam Temperatur yang lebih rendah meminimalisasi degradasi gula. Reaksi yang terjadi pada proses hidrolisis selulosa menjadi glukosa yaitu :



### 2.7.3 Fermentasi

Fermentasi merupakan suatu proses perubahan kimia pada suatu substrat organik melalui aktivitas enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme (Suprihatin,2010).Fermentasi sendiri berasal dari bahasa latin “ferfere” yang berarti mendidihkan. Fermentasi merupakan proses relatif murah yang pada hakekatnya telah lama dilakukan secara tradisional (Hidayat 2006).Seiring

perkembangan teknologi, definisi fermentasi meluas menjadi semua proses yang melibatkan mikroorganisme untuk menghasilkan suatu produk primer dan produk sekunder dalam suatu lingkungan yang dikendalikan. Pada mulanya istilah fermentasi digunakan untuk menunjukkan proses pengubahan glukosa menjadi etanol yang berlangsung secara anaerob. Namun kemudian istilah fermentasi berkembang lagi menjadi seluruh perombakan senyawa organik yang dilakukan mikroorganisme dimana melibatkan enzim yang dihasilkannya. Dengan kata lain, fermentasi adalah perubahan struktur kimia dari bahan-bahan organik dengan memanfaatkan agen biologis terutama enzim sebagai biokatalis.

Fermentasi merupakan istilah umum mengenai degradasi glukosa atau nutrient organik lainnya secara anaerob untuk memperoleh energi (Lehninger, 1982). Proses Fermentasi adalah proses yang memanfaatkan jasa mikroorganisme, maka pengendalian proses fermentasi pada dasarnya adalah pengendalian pertumbuhan dan aktivitas mikroorganisme tersebut. Faktor utama yang mengendalikan pertumbuhan mikroorganisme pada bahan pangan adalah:

- Ketersedian sumber-sumber karbon dan nitrogen yang akan digunakan oleh mikroorganisme tersebut untuk tumbuh dan berkembang-biak
- Ketersedian zat gizi khusus tertentu yang merupakan persyaratan karakteristik bagi mikroorganisme tertentu untuk tumbuh dengan baik
- Nilai pH produk pangan
- Suhu inkubasi
- Kadar air
- Ada/tidaknya kompetisi dengan mikroorganisme lainnya (dzaki, 2018).

#### 2.7.4 Distilasi

Destilasi adalah proses penjernihan air dari mineral padat/zat-zat yang tidak diinginkan melalui proses penguapan dan pengembunan (Retta, 2016). Destilasi atau penyulingan adalah suatu metode pemisahan bahan kimia berdasarkan kecepatan atau kemudahan menguap (volatilitas) bahan. Dalam penyulingan, campuran zat dididihkan sehingga menguap, dan uap ini kemudian didinginkan kembali ke dalam bentuk cairan. Zat yang memiliki titik didih rendah akan menguap lebih dulu. Proses destilasi diawali dengan pemanasan, sehingga zat yang memiliki titik didih rendah akan menguap. Uap tersebut bergerak menuju

kondensor yaitu pendingin proses pendinginan terjadi karena mengalirkan air ke dalam dinding (bagian luar kondensor). Sehingga uap yang dihasilkan akan kembali cair. Proses ini berjalan terus menuruk dan akhirnya dapat memisahkan seluruh senyawa-senyawa yang ada dalam campuran homogen tersebut (Syukri, 2007).

Pemisahan secara distilasi pada prinsipnya adalah metode pemisahan yang didasarkan karena adanya perbedaan titik didih antara komponen-komponen yang akan dipisahkan. Secara teoritis pula, bila perbedaan titik didih antar komponen makin besar maka pemisahan secara distilasi akan berlangsung makin baik yaitu hasil yang diperoleh makin murni. Distilasi digunakan untuk menarik senyawa organik yang titik didihnya dibawah  $250^{\circ}\text{C}$ . Pendestilasian senyawa dengan titik didih terlalu tinggi dikhawatirkan akan merusak senyawa yang akan didistilasi diakibatkan terjadinya oksidasi dan dekomposisi. Pada distilasi senyawa yang akan diambil komponen yang diinginkan dididihkan dan uapnya dilewatkan melalui suatu pendingin sehingga mencair kembali. Proses pendidihan erat hubungannya dengan kehadiran udara dipermukaan. Bila suatu cairan dipanaskan, maka pendidihan akan terjadi pada suhu dimana tekanan uap dari cairan yang akan didistilasi sama dengan tekanan udara dipermukaan. Tekanan udara dipermukaan terjadi oleh adanya udara diatmosfir. Bila pendidihan terjadi pada 760 mmHg maka pendidihan ini disebut pendidihan normal dan titik didihnya disebut titik didih normal (Ibrahim, 2013).

Dalam pembuatan etanol, distilasi merupakan tahap akhir proses. Hal ini dilakukan untuk meningkatkan konsentrasi etanol yang dihasilkan. Distilasi merupakan suatu metode pemisahan komponen bahan kimia berdasarkan perbedaan titik didih. Pada penelitian ini digunakan distilasi sederhana. Dengan memanaskan larutan pada suhu rentang antara  $78-90^{\circ}\text{C}$  pada tekanan 1 atm akan mengakibatkan sebagian bioetanol atau etanol menguap karena titik didih etanol adalah  $78^{\circ}\text{C}$  sedangkan titik didih air adalah  $100^{\circ}\text{C}$ .

## 2.8 Analisis Produk

Produk hasil fermentasi kemudian di distilasi untuk memisahkan komponen bio etnaol dari campuran. Setelah produk bioetanol di peroleh maka dilakukan analisa meliputi indeks bias , gas kromatografi, pH , dan Berat Jenis.

### 2.8.1 Indeks Bias

Indeks bias didefinisikan sebagai perbandingan antara kecepatan cahaya dalam ruang hampa udara dengan cepat rambat cahaya pada suatu medium. Pengujian indeks bias dapat digunakan untuk menentukan kemurnian bioctanol. Makin panjang rantai karbon dan makin banyak ikatan rangkap, maka indeks bias semakin besar, Indeks bias juga dipengaruhi faktor-faktor proses oksidasi dan suhu. Alat yang digunakan untuk menentukan indeks bias adalah refraktometer.

### 2.8.2 Gas kromatografi

*Gas chromatography* (GC) adalah alat yang digunakan untuk pemisahan suatu zat atau senyawa yang umumnya bersifat volatil. Senyawa volatile merupakan senyawa yang mudah menguap pada suhu kamar. Sampel yang digunakan dalam GC ini ada wujud cair dan gas. Prinsip kerja dari gas Chromatography yaitu sampel yang yang diinjeksikan ke dalam fase gerak, kemudian akan dibawah oleh fase gerak yang berupa gas inert ke dalam kolom pemisahan komponen sampel berdasarkan kemampuannya interaksi diantara fase gerak dan fase diam. Pemisahan tercapai dengan partisi sampel antara fase bergerak dan fase diam berupa cairan dengan titik didih tinggi (Tidak mudah menguap) yang terikat pada zat dan penunjanngua (Khopkar, 1984).

Cara keja dari kromotografi gas adalah suatu fase gerak / gas pembawa yang biasanya digunakan hidrogen atau helium mengalir di bawah tekanan melewati pipa yang dipanaskan oleh fase diam cair pada suatu penyangga padat. Analit ini dimuatkan ke bagian atas kolom melalui suatu portal injeksi yang dipanaskan. Suhu oven deprogram agar meningkat secara berhahap. Terjadi pemisahan antar komponennya pada saar berada dalam kolom. Lamanya waktu

relative pemisahan ini tergantung yang dibutuhkan oleh semua komponen di fase diam (Sparkman dkk., 2011).

Kromatografi adalah suatu cara pemisahan yang penting didalam analisis kimia. Di dalam kromatografi diperlukan adanya dua fase yang tidak saling bercampur, yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diamnya disini berupa zat padat yang ditempatkan dalam suatu kolom atau dapat juga berupa cairan terserap dalam bentuk berupa lapisan yang tipis ada butir-butir halus suatu zat padat pendukung yang ditempatkan didalam kolom. Sedangkan fase geraknya dapat berupa gas atau cairan. Cara pemisahan dari sistem ini sangat sederhana sekali, cuplikan yang akan dipisahkan diinjeksikan kedalam injektor, aliran gas pembawa yang inert akan membawa uap cuplikan kedalam kolom. Kolom akan memisahkan komponen-komponen cuplikan tersebut. Komponen-komponen yang telah terpisah tadi dapat dideteksi oleh detektor sehingga memberikan sinyal yang kemudian dicatat pada rekorder dan berupa puncak-puncak (kromatogram). Campuran yang akan dipisahkan komponen-komponennya, dimasukkan ke dalam kolom yang mengandung fase diam. Dengan bantuan fase gerak, komponen-komponen campuran itu kemudian dibawa bergerak melalui fase diam di dalam kolom. Perbedaan afinitas antara komponen-komponen itu bergerak dengan kecepatan berbeda melalui kolom. Akibat adanya perbedaan kecepatan komponen-komponen itu terpisah satu sama lain. Pada gas kromatografi, fase geraknya berupa gas dan fase diamnya berupa cairan. Partisi komponen cuplikan berdasarkan pelarutan uap komponen itu di dalam gas uap.

### 2.8.3 Derajat Keasaman (pH)

pH atau derjat keasaamaan digunakan untuk menyatakan tingkat keasamaan atau basa yang memiliki oleh suatu zat, larutan atau benda. pH normal memiliki nilai 7 sementara bila nilai  $pH > 7$  menunjukkan zat tersebut memiliki sifat basa sedangkan nilai  $pH < 7$  menunjukkan keasamaan. pH 0 menunjukkan derajat keasaman yang tinggi, dan pH 14 menunjukka derat kebasaan tertinggi.

pH adalah derajat keasaman yang digunakan untuk menyatakan tingkat keasaman atau kebasaan yang dimiliki oleh suatu larutan. Indikator asam basa adalah alat yang digunakan untuk mengetahui sifat asam dan basa dari suatu

larutan. Ada beberapa jenis indikator yang dapat digunakan untuk membedakan sifat asam basa, anatar lain kertas lakmus , kertas indikator universal.

Pada penelitian kali ini menggunakan kertas indikator universal untuk menguji derajat keasaman (pH) pada bioetanol. Indikator universal hampir sama dengan kertas lakmus. Kelebihan indikator universal adalah mampu mengukur pH larutasn yang akan di ukur. Setelah itu mencocokkan warna dengan tabel warna yang telah disediakan. Dengan demikian dapat mengetahui pH dari larutan yang telah diukur.