

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Bonggol Pisang (*Musa Paradisiaca*)

Pisang (*Musa Paradisiaca*) merupakan salah satu jenis buah tropis yang mempunyai potensi cukup tinggi untuk dikelola. Pisang telah menjadi komoditas ekspor dan impor di pasar internasional. Tanaman ini berasal dari Asia Tenggara yang kemudian menyebar luas ke benua Afrika dan Amerika. Habitatnya adalah daerah tropis yang beriklim basah, dan dapat tumbuh subur di dataran rendah maupun tinggi.

Pisang merupakan salah satu buah yang banyak dikembangkan di seluruh wilayah Indonesia. Pisang umumnya dapat tumbuh di dataran rendah sampai pegunungan dengan ketinggian 2000 m dpl. Pisang dapat tumbuh pada iklim tropis basah, lembab dan panas dengan curah hujan optimal 1.520–3.800 mm/tahun dan 2 bulan kering (Rismunandar, 1990: 8).

Tanaman pisang dalam taksonomi tumbuhan diklasifikasikan sebagai berikut (Suyanti dan Supriyadi, 2008: 5).

Kingdom	: Plantae
Devisi	: Spermatophyta
Sub. Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotylae
Bangsa	: Musales
Suku	: Musaceae
Marga	: Musa
Jenis	: <i>Musa paradisiaca</i>

Tanaman pisang terdiri dari akar, bonggol, batang, daun, bunga dan buah. Akarnya berupa akar serabut yang berpangkal pada umbi batang (bonggol). Akar terbanyak terdapat di bagian bawah tanah yang tumbuh sampai kedalaman 75 sampai 150 cm di dalam tanah. Akar yang berada di bagian samping umbi batang (bonggol) tumbuh ke samping atau mendatar.

Tanaman pisang merupakan tanaman yang serba guna, mulai dari akar sampai daun dapat digunakan, sehingga tanaman pisang memiliki kegunaan diantaranya :

a. Batang pohon

Dapat digunakan sebagai makanan ternak dimusim kekurangan air dan secara sederhana dapat dipergunakan sebagai bahan baku pembuatan pupuk kompos yang bernilai humusnya sangat tinggi. (Munadjim,1988)

b. Daun pisang

Daun yang segar dapat digunakan sebagai makanan ternak dimusim kering dan dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai pembungkus makanan secara tradisional. (Munadjim,1988)

c. Bunga pisang

Bunga pisang yang masih segar (jantung pisang) bisa dijadikan makanan sebagai sayur. (Munadjim,1988)

d. Buah pisang

Selain enak dimakan secara langsung, bisa dijadikan selai pisang yang daya awetnya tinggi dan dapat menghasilkan uang yang lebih serta juga bisa dibuat tepung pisang dari buah yang tua yang belum masak. (Munadjim,1988)

e. Kulit buah pisang

Kulitnya pun bisa untuk makanan ternak, selain itu bisa untuk menghasilkan alkohol yaitu ethanol karena mengandung gula yang mempunyai aroma yang menarik (Munadjim,1988). Kulit buah pisang juga dapat dimanfaatkan menjadi sirup glukosa sebagai pemanis alami makanan.

f. Umbi batang (Bonggol)

Pati yang terkandung dalam umbi batang pisang dapat dipergunakan sebagai sumber karbohidrat bahkan bisa dikeringkan untuk menjadi abu. Dimana abu dari umbi ini mengandung soda yang dapat digunakan sebagai bahan pembuatan sabun dan pupuk (Munadjim,1988). Pati bonggol pisang juga dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan bioetanol, karena memiliki kadar gula yang cukup tinggi.

Dalam banyak kasus, bonggol pisang dapat dimanfaatkan untuk diambil patinya, pati ini menyerupai pati tepung tapioca (Yuanita dkk, 2008). Potensi kandungan pati bonggol pisang yang besar dapat dimanfaatkan sebagai alternatif bahan bakar yaitu, bioetanol. Bonggol pisang memiliki komposisi sebagai berikut.

Tabel 1. Komposisi kimia bonggol pisang per 100 gr bahan

Komponen	Basah	Kering
Kalori (kal)	43	245
Protein (g)	0,6	3,4
Lemak (g)	-	-
Karbohidrat (g)	11,6	66,2
Ca (mg)	15	60
P (mg)	60	150
Fe (mg)	0,5	2
Vitamin A (SI)	-	-
Vitamin B (mg)	0,01	0,04
Vitamin C (mg)	12	4
Air (%)	86	20

Sumber :Direktorat Gizi Departemen Kesehatan R.I., (1996)

2.2. Jenis-Jenis Pisang

2.2.1. Jenis Umum

Sebenarnya tanaman pisang yang dibudidayakan untuk diambil manfaatnya bagi kesejahteraan hidup manusia ini berasal dari jenis herba berumpun yang hidupnya menahun. Jenis-jenis tanaman pisang di Indonesia jumlahnya mencapai ratusan. Secara garis besar jenis itu dapat dikelompokkan menjadi sebagai berikut.

a) Pisang Serat (*Musa Textiles*)

Pisang serat adalah tanaman pisang yang tidak diambil buahnya, tetapi seratnya. Pada awal abad ke 16, pigattota menerangkan penduduk asli daerah cebu, Filipina, memanfaatkan serat pisang manila ini untuk bahan pakaian. Karenanya pisang ini dinamakan *Musa textiles*.

Batangnya merupakan batang semu yang terbentuk dari upih-upih daun yang saling menutupi. Tingginya mencapai 7 meter dengan daun berbentuk lanset warna hijau. Bunganya seperti pisang berbentuk buah jorong yang berkulit tebal, tetapi tidak dapat dimakan. Biji buah hitam bulat kecil keras seperti biji randu.

Tanaman ini siap dipanen bila kuncup bunga telah keluar. Artinya siap dipotong untuk diambil seratnya. Serat yang diperoleh adalah serat yang kuat, tahan terhadap air (air tawar maupun air laut). Serat ini cocok dipakai sebagai tali di kapal laut, tali tambang, dan tali untuk kail. Juga bisa dipintal atau dibuat anyaman untuk ayunan, sandal, dll.

b) Pisang Hias (*Heliconia indica Lamk*)

Pisang hias juga tidak diambil buahnya. Pisang hias dibagi dua, yaitu pisang kipas dan pisang-pisangan. Disebut pisang kipas, karena bentuknya persis seperti kipas. Nama lain pisang kipas adalah pisang Madagaskar. Sedangkan pisang-pisangan berbatang semu yang kecil-kecil dan tumbuh bertumpun indah ditanam di muka rumah karena bentuknya yang kecil.

c) Pisang Buah (*Musa Paradisiaca L*)

Pisang jenis ini sudah tidak asing lagi, karena banyak ditemui, dan dapat dibedakan menjadi 4 golongan. Golongan pertama adalah yang dapat dimakan langsung setelah masak (pisang kepok, pisang susu, pisang hijau, pisang mas, pisang raja, dll). Golongan kedua dapat dimakan setelah diolah terlebih dahulu (pisang tanduk, pisang muli, pisang kapas, pisang bangkahulu, dll). Golongan ketiga adalah pisang yang dapat dimakan langsung setelah masak maupun diolah lebih dahulu (pisang kepok dan pisang raja). Sedangkan golongan ke empat adalah pisang yang dapat dimakan sewaktu masih mentah (pisang klutuk/batu) (Satuhu, 2003).

2.2.2. Jenis Pisang Komersil

Pengertian komersial disini adalah banyak terdapat di pasaran, baik di pasar umum maupun di supermarket. Jenis-jenis pisang ini banyak digemari masyarakat karena keistimewaannya. Jenis pisang komersial diantaranya sebagai berikut.

a) Pisang Raja

Pisang jenis ini tangkai buahnya terdiri atas 6 sisir yang masing-masing terdiri dari 15 buah. Berat satu buah pisang sekitar 92 gram dengan panjang 12 sampai 18 cm, dan diameter 3,2 cm. Bentuk buahnya melengkung dengan bagian pangkalnya bulat. Warna daging buahnya kuning kemerahan tanpa biji. Empelur buahnya nyata dengan tekstur kasar. Rasanya manis, lamanya berbunga sejak anakan adalah 14 bulan. Sedangkan buah masak setelah 164 hari sesudah muncul bunga.

b) Pisang Raja Sere

Pisang raja sere dikenal sebagai pisang meja. Ukurannya kecil dengan panjang buah 10 sampai 15 cm dan diameter 3 sampai 4 cm. Berat per tandan 10 sampai 14 kg. Jumlah sisir 5 sampai 9, dan tiap sisir terdiri dari 12 sampai 16 buah. Pada waktu matang warna kulitnya kuning kecoklatan dengan bintik-bintiknya coklat kehitaman. Kulit buahnya tipis, dan warna daging buahnya putih, rasanya manis, dan aromanya harum.

c) Pisang Raja Bulu

Pisang raja bulu termasuk buah yang dapat digunakan sebagai buah meja dan buah olahan. Daging buahnya agak tebal, rasanya manis dan aromanya kuat. Pada waktu matang, warna kulitnya kuning berbintik-bintik coklat. Warna daging buahnya kuning kemerahan. Berat setiap tandannya 7 sampai 10 kg terdiri dari 6 sampai 7 sisir dan tiap sisirnya 10 sampai 15 buah. Panjang buahnya 23 sampai 35 cm dan diameternya 6 sampai 6,5 cm.

d) Pisang Kepok

Pisang kepok di Filipina dikenal dengan nama pisang saba, sedang di Malaysia dikenal dengan nama pisang nipah. Buahnya enak dimakan setelah diolah terlebih dahulu. Bentuk buahnya agak pipih, sehingga kadang disebut pisang gepeng. Beratnya pertandan dapat mencapai 14 sampai 22 kg dengan jumlah sisir 10 sampai 16. Setiap sisir terdiri dari 12 sampai 20 buah. Bila matang warna kulit buahnya kuning penuh.

Pisang kepok banyak jenisnya, yang terkenal antara lain pisang kepok kuning dan putih. Pisang kepok putih warna dagingnya putih, dan pisang kepok

kuning warna dagingnya kuning. Pisang kepok kuning mempunyai rasa yang lebih enak dibandingkan dengan pisang kepok putih, karenanya pisang kepok kuning lebih disukai.

e) Pisang Tanduk

Pisang tanduk ukuran buahnya besar dan bentuknya menyerupai tanduk. Oleh karenanya dikenal dengan nama pisang tanduk. Bila matang warna kulit buahnya coklat kemerahan dan berbintik-bintik. Warna daging buahnya putih kemerahan. Pisang jenis ini cocok untuk olahan. Berat setiap tandannya 7 sampai 10 Kg terdiri dari tiga sisir dan setiap sisirnya terdiri dari 10 buah.

f) Pisang Ambon Lumut

Warna kulit buah pisang ambon lumut pada waktu matang hijau atau hijau kekuningan dengan bintik colat kehitaman. Warna daging buahnya putih kemerahan dan lunak. Rasanya manis dan enak, aromanya juga kuat. Berat setiap tandannya 15 sampai 18 Kg terdiri dari 8 sampai 12 sisir dan setiap sisirnya terdiri dari 20 buah. Ukuran buah 15 sampai 20 cm dengan diameter 3 sampai 3,5 cm.

g) Pisang Nangka

Warna kulit buah pisang nangka pada waktu matang adalah hijau. Rasanya asam manis. Berat setiap tandannya 11 sampai 14 Kg terdiri dari 6 sampai 8 sisir dan setiap sisirnya terdiri dari 14 sampai 24 buah. Ukuran buah 24 sampai 28 cm dengan diameter 3,5 sampai 4 cm (Satuhu, 2003).

2.3. Bioetanol

Bioetanol adalah etanol yang berasal dari sumber hayati. Etanol adalah senyawa organik yang terdiri dari karbon, hidrogen dan oksigen, sehingga dapat dilihat sebagai derivat senyawa hidrokarbon yang mempunyai gugus hidroksil dengan rumus C_2H_5OH .

Bioetanol dapat dihasilkan dari biomassa yang mengandung komponen pati atau selulosa, seperti singkong, umbi garut, ubi jalar, tepung sagu, dan ganyong. Dalam dunia industri, etanol umumnya digunakan sebagai bahan baku industri turunan alkohol, campuran minuman keras, serta bahan baku farmasi dan kosmetika (Erliza Hambali, dkk, 2007: 39).

Bioetanol diperoleh dari hasil fermentasi bahan yang mengandung gula. Tahap inti produksi bioetanol adalah fermentasi gula, baik yang berupa glukosa, sukrosa, maupun fruktosa oleh khamir (Prihardana, 2007). Sifat fisik dan kimia etanol bergantung pada gugus hidroksil. Reaksi yang dapat terjadi pada etanol antara lain dehidrasi, dehidrogenasi, oksidasi, dan esterifikasi. Sifat fisika dan kimia etanol dapat dilihat pada tabel berikut ini.

Tabel 2. Sifat Fisika dan Kimia Etanol

Sifat Fisika dan Sifat Kimia	Nilai
Berat molekul, g/mol	46.1
Titik beku, °C	-114.1
Titik didih normal, °C	78.32
Densitas, g/ml	0.7983
Viskositas pada 20°C, mPa.s	1.17
Panas penguapan normal, J/g	839.31
Panas pembakaran pada 25°C, J/g	29676.6
Panas jenis pada 25°C, J (g°C)	2.42
Nilai Oktan	106-111
Wujud pada suhu kamar	Cair
Dicampur dengan natrium	Bereaksi
Kelarutan dalam air	Larut sempurna
Dapat terbakar	Ya

Sumber : Kirk-Orthmer, *Encyclopedia of Chemical Technology*, Vol 9, 1967.

Bioetanol sering ditulis dengan rumus EtOH (Ethyl-OH). Rumus molekul etanol (etil alkohol) adalah C_2H_5OH , sedang rumus empirisnya C_2H_6O atau rumus bangunnya CH_3-CH_2-OH . Etanol banyak digunakan sebagai pelarut, germisida, minuman, bahan anti beku, bahan bakar, dan senyawa antara untuk sintesis senyawa-senyawa organik lainnya. Pada suhu kamar etanol berupa zat cair bening, mudah menguap, dan berbau khas. (Fessenden dan Fessenden, 1986).

Bioetanol digunakan dalam beragam industri sebagai bahan baku industri minuman, farmasi, kosmetika, dan bahan bakar. Secara umum, produksi bioetanol ini mencakup tiga rangkaian proses, yaitu : hidrolisis, fermentasi, dan pemurnian atau destilasi. Produksi bioetanol saat ini telah banyak dihasilkan dari berbagai macam komoditas pertanian yang mengandung karbohidrat seperti gula sederhana, pati, dan selulosa.

Bioetanol memiliki karakteristik yang lebih baik dibandingkan dengan bensin berbasis petrochemical (Erliza Hambali, dkk, 2007: 50). Karakteristik bioetanol tersebut antara lain :

1. Mengandung 35% oksigen, sehingga dapat meningkatkan efisiensi pembakaran dan mengurangi gas rumah kaca.
2. Memiliki nilai oktan yang lebih tinggi, sehingga dapat menggantikan fungsi bahan aditif, seperti metil tertiary butyl eter dan tetra ethyl lead.
3. Mempunyai nilai oktan 96-113, sedangkan nilai oktan bensin hanya 85-96.
4. Bioetanol bersifat ramah lingkungan, karena gas buangnya rendah terhadap senyawa-senyawa yang berpotensi sebagai polutan, seperti karbon monoksida, nitrogen oksida, dan gas-gas rumah kaca.
5. Bioetanol mudah terurai dan aman karena tidak mencemari air.
6. Sebagai sumber energi dapat diperbaharui (*renewable energy*) dan proses produksinya relatif lebih sederhana dibandingkan dengan proses produksi bensin.

Umumnya, penggunaan bioetanol masih dalam bentuk campuran dengan bensin pada konsentrasi 10% (E10), yaitu 10% bioetanol dan 90% bensin. Campuran bioetanol dalam bensin dikenal dengan istilah gasohol. Penambahan etanol dalam bensin disamping dapat menambah volume BBM, juga dapat meningkatkan nilai oktan bensin. Penambahan bioetanol 10% dalam bensin mampu meningkatkan nilai oktan hingga mencapai point ON 92-95 (Erliza Hambali, dkk, 2007: 51). Tingkat kemurnian (*grade*) bioetanol berbeda-beda berdasarkan kegunaannya. Bioetanol yang digunakan sebagai bahan bakar umumnya memiliki tingkat bebas air (*anhydrous grade*) sebesar 99,5%. Bioetanol untuk keperluan industri memiliki anhydrous grade sebesar 95% – 99,5%.

2.4. Ragi

Menurut Nurhayani (2000), ragi adalah suatu inokulum atau starter untuk melakukan fermentasi. Jenis – jenis ragi yang beredar secara komersial terdiri atas isolat kapang dan khamir, berdasarkan kandungan tersebut ragi berperan dalam mengubah pati menjadi gula sederhana. Ragi instan yang terdapat di pasaran terdiri atas 2 jenis, yaitu berbentuk butiran halus dan berbentuk bulat pipih. Ragi instan atau ragi dadak merupakan jenis ragi yang dapat langsung dicampur dengan bahan lainnya, contohnya adalah Fermipan, Mauripan, Saf-instant yang berbentuk butiran halus.

Berdasarkan kualitas produk, Fermipan lebih umum digunakan dalam produksi karena memberikan hasil produk yang lebih baik dalam pembuatan roti dibandingkan jenis ragi komersial lainnya (Nurhayani, 2000).

Contoh dan peranan Ragi/Khamir :

- 1) *Saccharomyces cereviciae*: berfungsi untuk pembuatan roti, tape, dan alkohol
- 2) *Saccharomyces tuac*: berfungsi untuk mengubah air niral legen menjadi tuak.
- 3) *Saccharomyces ellipsoideus*: berfungsi untuk peragian buah anggur menjadi anggur minuman (akhyasrinuki , 2011).

Khamir sejak dulu berperan dalam fermentasi yang produk utama metabolismenya adalah etanol. *Saccharomyces cerevisiae* adalah jenis utama yang berperan dalam produksi minuman beralkohol seperti bir, anggur dan digunakan untuk fermentasi adonan dalam perusahaan roti (Buckle, K. A, 1987).

Mikroorganisme dalam ragi roti terdiri dari *Saccharomyces cerevicae* yang dapat memproduksi alkohol dalam jumlah besar dan mempunyai toleransi pada kadar alkohol yang tinggi. Kadar alkohol yang dihasilkan sebesar 8-20% pada kondisi optimum. Ragi tape dan ragi roti yang bersifat stabil, tidak berbahaya atau menimbulkan racun, mudah di dapat dan malah mudah dalam pemeliharaan. Bakteri tidak banyak digunakan untuk memproduksi alkohol secara komersial, karena bakteri tidak dapat tahan pada kadar alkohol yang tinggi (Sudarmadji dkk., 1989).

2.5. Hidrolisis Pati

Hidrolisis adalah reaksi kimia antara air dengan suatu zat lain yang menghasilkan satu zat baru atau lebih dan juga dekomposisi suatu larutan dengan menggunakan air. Proses ini melibatkan pengionan molekul air ataupun peruraian senyawa yang lain (Pudjaatmaka dan Qodratillah, 2002), hidrolis juga dapat diartikan sebagai suatu proses antara reaktan dengan air agar suatu senyawa pecah terurai.

Hidrolisis diterapkan pada reaksi kimia yang berupa organik atau anorganik dimana air mempengaruhi dekomposisi ganda dengan campuran yang lain, hydrogen akan membentuk satu komponen dan hidroksil ke komponen yang lain.

Reaksi hidrolisis pati berlangsung menurut persamaan reaksi sebagai berikut :



Pati air glukosa

Reaksi antara air dan pati berlangsung sangat lambat sehingga diperlukan bantuan katalisator untuk memperbesar kereaktifan air. Katalisator bisa berupa asam maupun enzim, sehingga hidrolisis pati dibagi menjadi dua yaitu hidrolisis asam dan hidrolisis enzimatik.

2.5.1. Hidrolisis Asam

Konversi polisakarida menjadi monomer-monomer dapat dilakukan dengan proses hidrolisis baik secara enzimatik maupun secara kimiawi. Hidrolisis secara kimiawi biasanya menggunakan asam. Asam yang sering dipergunakan adalah asam sulfat, asam klorida dan asam fosfat. Hidrolisis asam pada dasarnya ada 2 jenis, yaitu hidrolisis pada suhu rendah dengan konsentrasi asam tinggi (*concentrated-acid hydrolysis*) dan hidrolisis pada suhu tinggi dengan konsentrasi asam rendah (*dilute-acid hydrolysis*) (Taherzadeh dan Keikhosro 2007). Pemilihan antara kedua metode kimiawi ini didasarkan pada pertimbangan laju hidrolisis, tingkat degradasi, produk dan biaya total produksi. Terdapat perbandingan keuntungan dan kelemahan antara *concentrated-acid hydrolysis* dengan *dilute-acid hydrolysis*.

Tabel 3. Perbandingan keuntungan dan kelemahan antara *concentrated-acid hydrolysis* dengan *dilute-acid hydrolysis*

Metode Hidrolisis	Keuntungan	Kelemahan
Hidrolisis pada suhu rendah dengan konsentrasi asam tinggi	<ul style="list-style-type: none"> • Dioperasikan pada suhu rendah • Rendemen gula tinggi 	<ul style="list-style-type: none"> • Konsentrasi asam tinggi • Korosi peralatan • Energi tinggi untuk pengambilan asam
Hidrolisis pada suhu tinggi dengan konsentrasi asam rendah	<ul style="list-style-type: none"> • Konsentrasi asam rendah • Waktu tinggal singkat 	<ul style="list-style-type: none"> • Suhu operasi tinggi • Yield gula rendah • Korosi peralatan

Sumber : Taherzadeh dan Keikhosro (2007).

Hidrolisis asam dengan konsentrasi rendah (*dilute-acid*) dilakukan dalam dua tahap yaitu: pertama, tahap yang melibatkan asam encer untuk menghidrolisis gula dari golongan pentosa umumnya yang terdapat fraksi hemiselulosa. Tahapan ini biasanya menggunakan 1% H_2SO_4 pada suhu 80-120⁰C selama 30-240 menit. Tahap kedua menggunakan asam dengan konsentrasi yang lebih tinggi untuk menghidrolisis gula yang berasal dari golongan heksosa seperti selulosa menjadi glukosa, biasanya dilakukan dengan konsentrasi asam 5-20 % H_2SO_4 dengan suhu mendekati 180⁰C. Dengan menggunakan hidolisis bertahap ini, maka kondisi optimum untuk memaksimalkan hasil glukosa dan mimumumkan hasil samping yang tidak diinginkan (Purwadi, 2006). Proses pemisahan antara fraksi gula dengan fraksi asam dapat dilakukan dengan proses pertukaran ion dan asam dapat dikonsentrasikan kembali dengan proses evaporasi (Demirbas, 2007).

Hidrolisis asam dengan konsentrasi rendah merupakan proses yang murah dan cepat untuk memperoleh gula dari bahan lignoselulosa. Namun, proses ini akan menghasilkan senyawa-senyawa penghambat yang bersifat toksik untuk mikroorganisme pada proses fermentasi, termasuk yeast. Toksik ini dapat menurunkan hasil produktivitas dan merusak pertumbuhan sel. Proses hidrolisis asam pada bahan lignoselulosik biasanya akan menghasilkan glukosa, manosa,

xilosa atau campuran senyawa-senyawa fenolik. Selama proses hidrolisis asam gula pentosa akan menghasilkan furfural dan gula heksosa menghasilkan 5-hidroksimetilfurfural (HMF) (Lopez dkk., 2004).

Hidrolisis asam dengan konsentrasi rendah dapat dipergunakan sebagai langkah perlakuan awal (*pretreatment*) untuk proses hidrolisis secara enzimatik. Perlakuan awal hidrolisis enzimatik pada limbah lignoselulosik menggunakan H_2SO_4 0,1-1 % pada suhu 140-190⁰C akan dapat melemahkan ikatan-ikatan selulosa. Pretreatment dapat dilakukan selama 5 menit pada suhu 180⁰C atau 30-90 menit pada suhu 120⁰C (Taherzadeh dan Karimi, 2007)

2.5.2. Hidrolisis Enzimatik

Enzim adalah satu atau beberapa gugus polipeptida atau protein yang berfungsi sebagai katalis dalam suatu reaksi kimia. Enzim bekerja dengan cara menempel pada permukaan molekul zat-zat yang bereaksi sehingga dapat mempercepat proses reaksi. Percepatan terjadi karena enzim menurunkan energi pengaktifan yang dengan sendirinya akan mempermudah terjadinya reaksi. Enzim bekerja secara khas, yang artinya setiap jenis enzim hanya dapat bekerja pada satu macam senyawa atau reaksi kimia. Hal ini disebabkan perbedaan struktur kimia tiap enzim yang bersifat tetap. Sebagai contoh, enzim α -amilase hanya dapat digunakan pada proses perombakan pati menjadi glukosa.

Hidrolisis pati dapat menggunakan enzim α -amilase dan glukoamilase. Enzim α -amilase merupakan endo-enzim yang dapat memecah ikatan α -1,4 glikosidik secara acak dibagian dalam molekul baik pada amilosa maupun pada amilopektinnya. Hasil akhir hidrolisis amilosa adalah glukosa dan maltosa dengan perbandingan 13 % dan 17 %, sedangkan hasil akhir hidrolisis amilopektin menghasilkan campuran limit dekstrin bercabang dan tidak bercabang yang terdiri dari hepta, heksa, penta, tetra dan trisakarida juga maltosa dan isomaltosa disertai sedikit glukosa.

Hidrolisis pati juga dapat menggunakan enzim glukoamilase. Enzim ini juga dikenal dengan nama α -1,4 glukon glukohidrolase. Enzim glukoamilase mampu memecah ikatan polimer monosakarida pada bagian luar dan

menghasilkan unit-unit glukosa dari ujung non-pereduksi rantai polimer polisakarida. Enzim glukoamilase dapat diperoleh dari strain *Aspergillus* dan *Rhizopus*. Enzim ini bersifat eksoamilase, yaitu memutuskan rantai pati menjadi molekul-molekul glukosa pada bagian non pereduksi, baik pada ikatan α -1,4 dan α -1,6 glikosidik (Tjokroadikoesoemo, 1986).

Selulosa dapat dikonversi menjadi produk-produk bernilai ekonomi yang lebih tinggi seperti etanol, glukosa dan pakan ternak dengan jalan menghidrolisis selulosa dengan bantuan selulase sebagai biokatalisator atau dengan hidrolisis asam atau basa. Selulase adalah enzim yang dapat mengkatalis terjadinya reaksi hidrolisis selulosa menjadi glukosa. Keuntungan hidrolisis enzim dibandingkan dengan hidrolisis asam adalah kondisi reaksi ringan dan tidak terjadi reaksi samping yang berarti.

Enzim selulase dapat diproduksi oleh mikroorganisme, seperti *T.viride* atau *T.reesei*. Mikroorganisme selulolitik mampu menghasilkan selulase kompleks, yaitu suatu campuran beberapa jenis selulase yang berbeda. Selulase kompleks mampu menghidrolisis kristal selulosa menjadi gula-gula terlarut secara efisien. Beberapa spesies bakteri yang dapat memproduksi enzim selulase dan hemiselulase adalah *Clostridium*, *Cellulomonas*, *Thermomonospora*, *Bacillus*, *Bacteriodes*, *Ruminococcus*, *Erwinia*, *Acetovibrio*, *Microbispora* dan *Streptomyces*, dan jamur seperti *Trichoderma*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Phanerochaete*, *Humicola* dan *Schizophillum spp.* Walaupun enzim selulase dapat diproduksi oleh berbagai macam mikroorganisme, enzim selulase dari *T.reesei* atau *T viride* telah banyak dipelajari dan mempunyai karakteristik yang paling baik.

Enzim selulase kompleks terdiri dari tiga enzim utama yaitu endoglukanase, eksoglukanase dan selobiase. Endoglukanase menghidrolisis ikatan 1,4 β -glikosidik secara acak pada daerah amorf selulosa menghasilkan glukosa, selobiosa dan selodekstrin. Eksoglukanase menghidrolisis selodekstrin dengan memutus unit selobiosa dari ujung rantai polimer. Selobiase menghidrolisis selobiosa dan selo-oligosakarida menjadi glukosa (Wu *et al.* 2000; Jeewon 1997).

Enzim endoglukonase atau endoselulase menguraikan kristal-kristal penyusun serat selulosa dan melepaskan ikatan pada rantai kristal membentuk selulosa tunggal. Selulosa tunggal tersebut diurai oleh eksoglukonase atau eksoselulase menjadi unit-unit selobiase yang merupakan disakarida. Selobiase diuraikan menjadi glukosa oleh β -glukosidase.

Faktor-faktor yang berpengaruh pada proses hidrolisis enzim diantaranya yaitu kualitas dan konsentrasi substrat, metode perlakuan awal yang diaplikasikan, aktivitas enzim selulase dan kondisi proses hidrolisis seperti suhu dan pH. Suhu dan pH optimum merupakan fungsi dari bahan, sumber enzim dan waktu hidrolisis. Suhu dan pH optimum pada enzim selulase umumnya pada 40 – 50 °C dan pH 4 – 5, sehingga waktu yang digunakan tergantung pada kondisi tersebut.

Salah satu faktor utama yang berpengaruh terhadap hasil yang diperoleh dan kecepatan hidrolisis enzimatis adalah substrat. Konsentrasi substrat yang tinggi dapat menyebabkan penghambat yang memperlambat proses hidrolisis. Terjadinya penghambat oleh substrat tergantung pada perbandingan antara banyaknya enzim terhadap banyaknya substrat. Masalah pengadukan dan perpindahan panas juga akan timbul pada substrat yang berkonsentrasi tinggi.

Banyaknya enzim yang ditambahkan pada substrat sangat berpengaruh terhadap kecepatan proses hidrolisis. Semakin banyak enzim yang ditambahkan akan semakin cepat proses hidrolisis yang terjadi dan hasil yang diperoleh juga semakin banyak, tetapi semakin tinggi biaya yang harus dikeluarkan. Banyaknya enzim yang ditambahkan pada substrat biasanya 5 – 35 FPU/gram substrat. Pengurangan biaya untuk penyediaan enzim pada proses hidrolisis enzim dapat dilakukan dengan daur ulang enzim selulase. Bercampurnya enzim dalam hidrolisat dan terbentuknya sisa proses yang berupa padatan (kemungkinan lignin) mempersulit proses pemisahan enzim. Alternatif yang dapat dilakukan untuk mengatasi hal tersebut adalah dengan aplikasi imobilisasi enzim selama proses.

2.5.3. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Hidrolisis Pati

Faktor-faktor yang berpengaruh pada hidrolisis pati antara lain :

a. Suhu

Dari kinetika reaksi, semakin tinggi suhu reaksi makin cepat pula jalannya reaksi. Tetapi apabila proses berlangsung pada suhu yang tinggi, konversi akan menurun. Hal ini disebabkan adanya glukosa yang pecah menjadi arang.

b. Waktu

Semakin lama waktu hidrolisis, konversi yang dicapai semakin besar dan pada batas waktu tertentu akan diperoleh konversi yang relatif baik dan apabila waktu tersebut diperpanjang, penambahan konversi kecil sekali.

c. Pencampuran pereaksi

Karena pati tidak larut dalam air maka pengadukan perlu diadakan agar persentuhan butir-butir pati dan air dapat berlangsung dengan baik.

d. Konsentrasi katalisator

Penambahan katalisator bertujuan memperbesar kecepatan reaksi. Jadi semakin banyak jumlah katalisator yang dipakai makin cepat reaksi hidrolisis. Dalam waktu tertentu pati yang berubah menjadi glukosa juga meningkat.

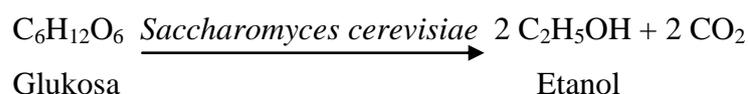
e. Kadar suspensi pati

Perbandingan antara air dan pati yang tepat akan membuat reaksi hidrolisis berjalan cepat. (Groggins,1992)

2.6. Fermentasi

Fermentasi alkohol adalah proses penguraian karbohidrat menjadi etanol dan CO₂ yang dihasilkan oleh aktifitas suatu jenis mikroba yang disebut khamir dalam keadaan anaerob (Prescott dan Dunn, 1959). Perubahan dapat terjadi jika mikroba tersebut bersentuhan dengan makanan yang sesuai bagi pertumbuhannya. Pada proses fermentasi biasanya tidak menimbulkan bau busuk dan biasanya menghasilkan gas karbondioksida. Hasil fermentasi dipengaruhi banyak faktor. Seperti, bahan pangan atau substrat, jenis mikroba dan kondisi sekitar.

Fermentasi juga dapat diartikan sebagai suatu proses perubahan-perubahan kimia dalam suatu substrat organik yang dapat berlangsung karena aksi katalisator biokimia, yaitu enzim yang dihasilkan oleh mikrobia – mikrobia tertentu (Tjokroadikoesoemo, 1986). Fermentasi gula oleh ragi, misalnya *Saccharomyces cerevisiae* dapat menghasilkan etil alkohol (etanol) dan CO₂ melalui reaksi sebagai berikut:



Reaksi tersebut merupakan dasar dari pembuatan tape, brem, tuak, anggur minuman, bir, roti dan lain – lain. (Winarno, 1984)

Faktor-faktor yang mempengaruhi proses fermentasi:

a. Keasaman (pH)

Tingkat keasaman sangat berpengaruh dalam perkembangan bakteri. Kondisi keasaman yang baik untuk pertumbuhan bakteri adalah 4 – 5. (Winarno, 1984)

b. Mikroba

Fermentasi biasanya dilakukan dengan menggunakan kultur murni yang dihasilkan di laboratorium. Kultur ini dapat disimpan dalam keadaan kering atau dibekukan. Berbagai macam jasad renik dapat digunakan untuk proses fermentasi antara lain yeast. Yeast tersebut dapat berbentuk bahan murni pada media agar-agar atau dalam bentuk dry yeast yang diawetkan. (Winarno, 1984)

c. Suhu

Suhu fermentasi sangat menentukan macam mikroba yang dominan selama fermentasi. Tiap-tiap mikroorganisme memiliki suhu pertumbuhan optimal, yaitu suhu yang memberikan pertumbuhan terbaik dan memperbanyak diri secara tercepat. Pada suhu 30°C mempunyai keuntungan terbentuk alkohol lebih banyak karena ragi bekerja optimal pada suhu itu. (Winarno, 1984)

d. Oksigen

Udara atau oksigen selama proses fermentasi harus diatur sebaik mungkin untuk memperbanyak atau menghambat mikroba tertentu. Setiap mikroba membutuhkan oksigen yang berbeda jumlahnya untuk pertumbuhan atau membentuk sel – sel baru dan untuk fermentasi. Misalnya ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*) akan tumbuh lebih baik pada keadaan aerobik, tetapi akan melakukan fermentasi terhadap gula jauh lebih cepat pada keadaan anaerobik. (Winarno, 1984)

e. Makanan

Semua mikroorganisme memerlukan nutrient yang akan menyediakan:

- 1) Energi biasanya diperoleh dari substansi yang mengandung karbon.
- 2) Nitrogen untuk sintesis protein. Salah satu contoh sumber nitrogen yang dapat digunakan adalah urea.
- 3) Mineral yang dipergunakan mikroorganisme salah satunya adalah asam fosfat yang dapat diambil dari pupuk NPK.
- 4) Vitamin, sebagian besar sumber karbon dan nitrogen alami sudah mengandung semua atau beberapa vitamin yang dibutuhkan mikroorganisme. (Gaman, 1992)

2.7. Destilasi

Bioetanol yang dihasilkan dari proses fermentasi masih mengandung gas-gas CO₂ (yang ditimbulkan dari perubahan glukosa menjadi bioetanol) dan aldehid sebanyak 35% volume yang perlu dibersihkan dengan menyaring bioetanol yang terikat oleh CO₂. Kadar bioetanol dari proses fermentasi, biasanya mencapai 8 sampai 10 %, sehingga untuk memperoleh etanol yang murni diperlukan proses destilasi (Wasito, 1981).

Bioetanol hasil proses fermentasi dipisahkan dengan cara disaring, kemudian filtrat di destilasi sehingga dapat dihasilkan bioetanol yang bebas dari kontaminan atau pengotor yang terbentuk selama proses fermentasi. Hasil destilasi yang dilakukan dapat dianalisa kadarnya dengan berbagai macam metode analisis seperti *Gas Chromatography*.

Secara umum, destilasi banyak diartikan sebagai berikut :

- a) Destilasi adalah suatu proses penguapan dan pengembunan kembali, yang dimaksudkan untuk memisahkan campuran dua atau lebih zat cair ke dalam fraksi-fraksinya berdasarkan perbedaan titik didih. Pada umumnya, pemisahan hasil fermentasi glukosa/dektrosa menggunakan sistem uap-cairan, dan terdiri dari komponen-komponen tertentu yang mudah tercampur. Umumnya destilasi berlangsung pada tekanan atmosfer, contoh dalam hal ini adalah sistem alkohol-air, yang pada tekanan atmosfer memiliki titik didih sebesar $78,6^{\circ}\text{C}$. (Tjokroadikoesoemo, 1986)
- b) Destilasi dapat diartikan sebagai suatu metode operasi yang digunakan pada proses pemisahan suatu komponen dari campurannya berdasarkan titik didih masing-masing komponen dengan menggunakan panas sebagai tenaga pemisah. (Brown, 1987).
- c) Destilasi juga merupakan proses pemisahan komponen berdasarkan titik didihnya, titik didih etanol murni sebesar 78°C , sedangkan air adalah 100°C , dengan pemanasan larutan pada suhu rentang $78 - 100^{\circ}\text{C}$ akan mengakibatkan sebagian besar etanol menguap, dan melalui unit kondensasi akan bisa dihasilkan etanol dengan konsentrasi 95 % volume.

Bioetanol yang digunakan sebagai campuran bahan bakar untuk kendaraan harus benar-benar kering dan anhydrous supaya tidak korosif, sehingga bioetanol harus mempunyai *grade* sebesar 99,5 – 100 % volume. Oleh karena itu, bioetanol hasil destilasi harus ditambahkan suatu bahan yang dapat menyerap atau menarik kandungan air yang masih terdapat dalam bioetanol, bahan yang sering digunakan diantaranya yaitu, CaCO_3 , dan zeolit atau dilakukan destilasi vakum, sehingga dapat dihasilkan bioetanol yang lebih murni yang dapat dijadikan sebagai bahan bakar.

Destilasi fraksionasi juga dapat dilakukan untuk memisahkan campuran etanol-air berdasarkan fraksinya, serta destilasi vakum dan berulang dapat juga digunakan pada percobaan untuk mendapatkan bioetanol yang berkualitas baik dengan memiliki kadar bioetanol yang mencapai 98 % dan dapat digunakan sebagai campuran bahan bakar minyak (*biofuel*).

2.7.1 Jenis-jenis Destilasi

Terdapat beberapa jenis destilasi yang biasa digunakan, yakni diantaranya adalah sebagai berikut :

a. Destilasi Sederhana

Destilasi sederhana atau destilasi biasa adalah teknik pemisahan kimia untuk memisahkan dua atau lebih komponen yang memiliki perbedaan titik didih yang jauh. Suatu campuran dapat dipisahkan dengan destilasi biasa ini untuk memperoleh senyawa murni. Senyawa yang terdapat dalam campuran akan menguap saat mencapai titik didih masing-masing.

b. Destilasi Fraksionasi (Bertingkat)

Sama prinsipnya dengan destilasi sederhana, hanya destilasi bertingkat ini memiliki rangkaian alat kondensor yang lebih baik, sehingga mampu memisahkan dua komponen yang memiliki perbedaan titik didih yang berdekatan. Untuk memisahkan dua jenis cairan yang sama mudah menguap dapat dilakukan dengan destilasi bertingkat. Destilasi bertingkat adalah suatu proses destilasi berulang. Proses berulang ini terjadi pada kolom fraksional. Kolom fraksional terdiri atas beberapa plat dimana pada setiap plat terjadi pengembunan. Uap yang naik plat yang lebih tinggi lebih banyak mengandung cairan yang lebih atsiri (mudah menguap) sedangkan cairan yang kurang atsiri lebih banyak kondensat.

c. Destilasi Azeotrop

Memisahkan campuran *azeotrop* (campuran dua atau lebih komponen yang sulit di pisahkan), biasanya dalam prosesnya digunakan senyawa lain yang dapat memecah ikatan *azeotrop* tersebut atau dengan menggunakan tekanan tinggi.

d. Destilasi Uap

Untuk memurnikan zat / senyawa cair yang tidak larut dalam air, dan titik didihnya cukup tinggi, sedangkan sebelum zat cair tersebut mencapai titik didihnya, zat cair sudah terurai, teroksidasi atau mengalami reaksi pengubahan (*rearrangement*), maka zat cair tersebut tidak dapat dimurnikan secara destilasi sederhana atau destilasi bertingkat, melainkan harus didestilasi dengan destilasi uap. Destilasi uap adalah istilah yang secara umum digunakan untuk destilasi campuran air dengan senyawa yang tidak larut dalam air, dengan cara mengalirkan uap air kedalam campuran sehingga bagian yang dapat menguap berubah menjadi uap pada temperature yang lebih rendah dari pada dengan pemanasan langsung. Untuk destilasi uap, labu yang berisi senyawa yang akan dimurnikan dihubungkan dengan labu pembangkit uap. Uap air yang dialirkan kedalam labu yang berisi senyawa yang akan dimurnikan, dimaksudkan untuk menurunkan titik didih senyawa tersebut, karena titik didih suatu campuran lebih rendah dari pada titik didih komponen-komponennya.

e. Destilasi Vakum

Memisahkan dua komponen yang titik didihnya sangat tinggi, metode yang digunakan adalah dengan menurunkan tekanan permukaan lebih rendah dari 1 atm, sehingga titik didihnya juga menjadi rendah, dalam prosesnya suhu yang digunakan untuk mendestilasinya tidak perlu terlalu tinggi.

2.8. Kromatografi Gas (*Gas Chromatography*)

Kromatografi Gas adalah proses pemisahan campuran menjadi komponen-komponennya dengan menggunakan gas sebagai fase bergerak yang melewati suatu lapisan serapan (sorben) yang diam. Kromatografi Gas (*Gas Chromatography*) atau dapat disingkat dengan GC termasuk alat-alat analisa.

Analisa dapat dibagi menjadi :

1. Analisa Kualitatif berarti penentuan sifat-sifat dari suatu komponen atau campuran dari komponen.
2. Analisa Kuantitatif berarti penentuan jumlah dari suatu komponen atau komponen-komponen dalam suatu campuran.

Hingga demikian GC dapat digunakan sebagai alat untuk analisa kualitatif maupun kuantitatif. Dengan kata lain GC merupakan alat analisa yang sangat berguna pada saat ini.

2.8.1. Analisis Etanol

1. Uji Kualitatif Etanol

Uji kualitatif etanol digunakan untuk mengetahui ada tidaknya kandungan etanol di dalam suatu zat. Uji kualitatif etanol perlu diterapkan pada penetapan kadar etanol metode bobot jenis karena untuk mengetahui kapan destilasi harus dihentikan, hal ini penting untuk mengetahui bahwa etanol yang didestilasi sudah benar-benar habis dan mencegah bercampurnya destilat dengan air.

- a. Prinsip : Terbentuknya warna dan timbulnya bau
- b. Cara : Etanol + Asam salisilat + Asam sulfat pekat \longrightarrow Timbul bau harum dari etil salisilat

Etanol + Asam sulfanilat HCl + NaNO_2 + NaOH \longrightarrow Terbentuk warna merah frambus

(Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1989).

2. Uji Kuantitatif Etanol

Metode yang digunakan untuk menetapkan kadar etanol antara lain metode bobot jenis yang merupakan metode konvensional dan kromatografi gas yang merupakan metode instrumental.

- a. Metode Bobot Jenis

Definisi : Suatu metode penetapan etanol dengan perbandingan massa dari suatu zat terhadap massa sejumlah volume air yang sama pada temperatur yang tertentu (Mardon, dkk. 2005).

Prinsip : Sampel didestilasi kemudian destilat yang diperoleh ditetapkan bobot jenisnya. Dari bobot jenis destilat maka dapat ditetapkan kadar etanolnya dengan menggunakan daftar bobot jenis (T. M, Endang, dkk. 2005).

b. Metode Kromatografi Gas

Definisi : Suatu metode penetapan etanol dengan teknik kromatografi yang analisisnya berdasarkan pada teknik pemisahan campuran atas dasar perbedaan distribusi zat-zat tersebut diantara fase diam (cairan) dan fase gerak (gas), yang bisa digunakan untuk memisahkan senyawa organik yang mudah menguap.

Definisi : Fase diam dimasukkan kedalam kolom kemudian sampel disuntikkan kedalam kolom. Senyawa akan terpisah dari campuran diantara fase gerak dan fase diam sehingga zat tidak bercampur karena perbedaan kelarutan, dimana kelarutan dalam satu pelarut lebih mudah dibanding dengan pelarut lainnya. Hasil akan keluar berupa puncak-puncak (kromatogram). Setiap puncak mewakili satu senyawa. Kadar etanol ditetapkan dengan mengukur waktu retensi dan membandingkan luas puncak sampel dengan luas puncak baku (Takeuchi, Yoshito, 2009).

2.8.2. Dasar-dasar Kromatografi

Kromatografi merupakan cara pemisahan yang mendasarkan partisi cuplikan antara fasa bergerak dan fasa diam. Fasa bergerak dapat berupa gas atau cairan dan fasa diam dapat berupa cairan atau padatan. Fase diam disini dapat berupa suatu zat padat yang ditempatkan dalam suatu kolo, atau dapat juga berupa cairan terserap (teradsopsi) berupa lapisan yang tipis pada butir-butir halus pada suatu zat padat pendukung (*solid support material*) yang ditempatkan di dalam kolom. Fase geraknya dapat berupa gas (gas pembawa) atau cairan.

Campuran yang akan dipisahkan komponen-komponennya, dimasukkan kedalam kolom yang mengandung fase diam. Dengan bantuan fase gerak, komponen-komponen campuran itu kemudian dibawa bergerak melalui fase diam

di dalam kolom. Perbedaan ataraksi atau afinitas antara komponen-komponen campuran itu dengan kedua fase, menyebabkan komponen-komponen itu bergerak dengan kecepatan berbeda melalui kolom.

2.9. Penelitian Terdahulu

Penelitian bioetanol sudah banyak dilaksanakan serta dipublikasikan dengan maksud menambah referensi tentang pembuatan bioetanol dari berbagai macam bahan baku yang bersumber dari alam. Penelitian-penelitian tersebut berbeda-beda yang digunakan untuk meningkatkan kadar maupun kondisi Adapun penelitian-penelitian tersebut adalah:

- a) Dalam penelitian yang dilakukan oleh Sulistyani (2010) terhadap berbagai sampel bonggol pisang, terdapat indikasi bahwa tidak ada pengaruh terhadap penggunaan berbagai jenis bonggol pisang terhadap kadar bioetanol yang diperoleh serta semua jenis bonggol pisang dapat dimanfaatkan menjadi bioetanol.
- b) Dalam penelitian Nurjati Solikhin, dkk. (2012) terhadap pembuatan bioetanol hasil hidrolisa bonggol pisang dengan fermentasi menggunakan *Saccaromycess Cereviceae*, bahwa dengan variasi penambahan *starter* dan lama fermentasi diperoleh kadar etanol paling tinggi adalah pada *starter* 4%, fermentasi 4 hari yaitu 10,03% v/v, untuk *starter* 6 %, fermentasi 4 hari yaitu 11,19% v/v, dan untuk *starter* 8%, fermentasi 5 hari yaitu 12,20% v/v.
- c) Dalam penelitian I Wayan Warsa, dkk. (2013) dalam jurnal teknik kimia, Vol.8, No.1 UPN “Veteran”, pembuatan bioetanol dari bonggol pisang dengan proses hidrolisis dan fermentasi, dimana hidrolisis ini menggunakan enzim alfa-amilase dan enzim glukamylase lalu dilanjutkan dengan proses fermentasi dengan menggunakan *saccharomyces cereviceae*. Variabel fermentasi yang dijalankan adalah 2,3,5,7, dan 8 hari serta konsentrasi starter *saccharomyces cereviceae* 8%,9%, dan 10%. Hasil terbaik diperoleh dengan menggunakan

konsentrasi starter 9% dan waktu fermentasi 7 hari, kadar bioetanol yang dihasilkan sebesar 30,59%.

- d) Dalam penelitian Nurbaiti (2013) dalam laporan akhir teknik kimia, Politeknik Negeri Sriwijaya, pengaruh variasi konsentrasi asam sulfat terhadap pati umbi talas (*Colocasia Esculenta [L] Schoot*) menjadi etanol secara fermentasi, menggunakan variabel konsentrasi sebesar 0,1M, 0,2M, 0,3M asam sulfat, menghasilkan kadar bioetanol tertinggi 46,51% dengan konsentrasi sebesar 0,2M asam sulfat.
- e) Dalam penelitian Roosdiana Muin, dkk. (2014) dalam jurnal Teknik Kimia No.4, Vol.20 Universitas Sriwijaya. Penelitian menggunakan variasi konsentrasi asam sulfat sebesar 3%, 4%, 5%, 6%, dan 7% serta waktu fermentasi selama 72 jam, 120 jam dan 168 jam. Pengaruh konsentrasi asam sulfat dan waktu fermentasi terhadap kadar bioetanol yang dihasilkan dari biji alpukat menghasilkan kadar etanol tertinggi sebesar 15,100% pada konsentrasi asam sulfat 6%, temperatur 120⁰C dan waktu fermentasi selama 120 jam.

Dengan referensi tersebut, percobaan yang akan dilakukan berupa pembuatan bioetanol dari limbah bonggol pisang dengan memvariasikan konsentrasi asam sulfat dan waktu fermentasi serta menganalisa kadar etanolnya dengan menggunakan *Gas Chromatography*.