

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bioetanol

Bioetanol adalah etanol yang dibuat dari biomassa yang mengandung komponen pati atau selulosa, seperti singkong dan tetes tebu. Dalam industri, etanol umumnya digunakan sebagai bahan baku industri turunan alkohol, campuran minuman keras (seperti sake atau gin), serta bahan baku farmasi dan kosmetika. Berdasarkan kadar alkoholnya, etanol terbagi menjadi tiga bagian sebagai berikut:

1. Bagian industri dengan kadar alkohol 90 – 94 %.
2. Netral dengan kadar alkohol 96 – 99,5 %, umumnya digunakan untuk minuman keras atau bahan baku farmasi.
3. Bagian bahan bakar dengan kadar alkohol diatas 99,5 %.

Alkohol dapat dibuat dari berbagai bahan hasil pertanian. Menurut Prihandana (2007), secara umum bahan tersebut dibagi dalam tiga golongan yaitu:

1. Bahan yang mengandung turunan gula (molaases, gula tebu, gula bit, sari buah anggur, dan sari buah lainnya).
2. Bahan yang mengandung pati biji-bijian, kentang, ubi kayu, ubi jalar, tepung sagu, jagung, biji sorgum, gandum, kentang, ganyong, garut, umbi dahlia dan buah sukun.
3. Bahan yang mengandung selulosa (kayu, daun nenas, mahkota buah nenas, ampas tebu, onggok (limbah tapioka), batang pisanng, serbuk gergaji, kayu, kertas bekas, koran bekas, kardus, dan beberapa limbah pertanian lainnya).

Etanol memiliki banyak manfaat bagi masyarakat karena memiliki sifat yang tidak beracun. Selain itu, etanol juga memiliki banyak sifat-sifat, baik secara fisika maupun kimia. Adapun sifat fisika etanol dapat pada tabel berikut:

Tabel 1. Sifat-Sifat Fisika Etanol

Sifat – Sifat Fisika Etanol	Keterangan
Berat Molekul	46,07 gr/grmol
Titik Lebur	-112 °C
Titik Didih	78,4 °C
Densitas	0,7893 gr/ml
Indeks Bias	1,36143 cp
Viskositas 20 °C	1,17 cp
Panas Penguapan	200,6 kal/gr
Warna Cairan	Tidak berwarna
Kelarutan	Larut dalam air dan eter
Aroma	Memiliki aroma yang khas

Sumber: perry, dkk., 1999

Etanol dikategorikan dalam dua kelompok utama:

1. Etanol 95 – 96% v/v disebut etanol hidrat yang dibagi dalam:
 - *Technical/raw spit grade*, digunakan untuk bahan bakar spiritus, minuman, desinfektan, dan pelarut.
 - *Industrial grade*, digunakan untuk bahan baku industri pelarut.
 - *Potable grade*, untuk minuman berkualitas tinggi.
2. Etanol > 99,5% v/v, digunakan untuk bahan bakar. Jika dimurnikan lebih lanjut dapat digunakan untuk keperluan farmasi dan pelarut di laboratorium analisis. Etanol ini disebut *fuel grade ethanol (FGE)* atau *anhydrous ethanol* atau etanol kering, yakni etanol yang bebas air atau hanya mengandung air minimal.

2.2 Nenas (*Ananas comosus L. Merr*)

Nenas merupakan tanaman buah berupa semak yang memiliki nama ilmiah *Ananas cosmosus*. Tanaman ini berasal dari benua Amerika. Beberapa bukti yang menguatkan bahwa tanaman nenas berasal dari Amerika adalah penemuan Colombus pada tahun 1493 di pulau Guadelopus, di pulau ini tumbuh subur tumbuhan nenas, dan tahun 1502 hamparan tanaman ini meluas di pantai Puerto Bello.

Nenas masuk ke wilayah Indonesia pada abad ke-15, tepatnya tahun 1599. Penyebaran nenas di Indonesia pada mulanya hanya sebagai tanaman pengisi di

pekarangan, tetapi lambat laun dikebunkan di lahan kering di seluruh wilayah nusantara. Penyebaran nenas meluas hampir di setiap propinsi di Indonesia. Namun, sentra produksi nenas hanya terdapat di lima propinsi, yakni: Sumatera Utara, Riau, Sumatera Selatan, Jawa Barat, dan Jawa Timur (Santoso, 1998). Di Indonesia daerah penghasil nenas yang terkenal di antaranya Subang, Bogor, Riau, Palembang, dan Blitar

Tanaman nenas mempunyai nama botani *Ananas comosus* (L.) Merr. Tanaman nenas jika diklasifikasikan termasuk tanaman berbunga. Klasifikasi dari tanaman nenas adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Ordo	: Farinosae
Subordo	: Comelinidae
Fanilia	: Bromeliaceae
Genus	: Anenas
Spesies	: Anenas comosus

Nenas sering disebut *bromeliad* dengan lebih dari 2400 kerabat yang memiliki penampilan menarik. Tanaman nenas termasuk familia nenas-nenasan. Tanaman ini adalah tanaman tropis yang berasal dari Brazilia, Bolivia, dan Paraguay di Amerika Selatan. Buah nenas bukan buah sejati, melainkan gabungan buah-buah sejati yang bekasnya terlihat dari setiap sisik pada kulit buah. Dalam perkembangannya tergabung bersama dengan tongkol buah. Nenas merupakan tanaman buah yang buahnya selalu tersedia sepanjang tahun. Buahnya buah buni majemuk dengan bentuk bulat panjang berdaging, dan berwarna hijau. Jika masak, buah berwarna kuning. Rasa buah nenas manis hingga asam manis. Varietas nenas yang ditanam di Indonesia termasuk jenis *cayenne* dan *queen*.

Menurut Nikolai Ivanovich Vavilov, seorang botani Soviet, memastikan daerah sentrum asal tanaman nenas adalah Brazilia (Amerika Selatan) tepatnya di

kawasan Brazilia dan Paraguay. Pada tahun 1548 di sebuah pulau Madagaskar nenas mulai ditanam, sementara di India tahun 1550, Filipina tahun 1558, Nepal tahun 1601, Singapura tahun 1637, Taiwan 1650, Afrika Selatan 1660, dan Eropa mulai abad ke-18.

Masuknya nenas ke Indonesia pada abad ke-15, tepatnya tahun 1599 sebagai tanaman pengisi lahan perkarangan, lambat laun meluas dikebunkan di lahan kering di wilayah Nusantara (Rahmat, 1996). Sentra produksi nenas hanya terdapat di lima propinsi yakni: Sumatera Utara, Riau, Sumatera Selatan, Jawa Barat, dan Jawa Timur (Santoso, 1998). Sedangkan menurut Hendro Sunarjono (2008) daerah penghasil nenas diantaranya Subang, Bogor, Riau, Palembang, dan Blitar.

Nenas tumbuh diberbagai agroklimat sehingga tanaman ini tersebar luas. Nenas tumbuh ditempat yang ketinggiannya 100-1000 m dpl dengan suhu rata-rata 21-30 °C. Curah hujan yang dibutuhkan 635-2500 mm per tahun, dengan bulan basah (curah hujan >200 mm) 3-4 bulan. Namun, juga memerlukan pencahayaan matahari 33-71 % dari pencahayaan maksimum dengan angka tahunan rata-rata 2000 jam. Umumnya nenas toleran terhadap kekeringan. Didaerah beriklim kering dengan 4-6 bulan kering. Tanaman nenas masih mampu berbuah, asalkan daerah tersebut memiliki kedalaman air yang cukup, yakni 50-150 cm. Nenas memiliki akar yang dangkal tetapi mampu menyimpan air (Redaksi Agromedia, 2009).

Nenas merupakan tanaman *xerofit*, *monokotil*, merumpun (bertunas anakan) dan termasuk dalam golongan *Classulacean Acid Metabolism* sehingga tanaman ini sangat tahan terhadap kondisi kekeringan. Tanaman nenas merupakan rumput dan tanaman buah berupa semak yang memiliki nama ilmiah *Anenas cosmosus*, yang batangnya pendek sekali. Daunnya panjang sekali, berurat sejajar, dan tepinya tumbuh duri yang menghadap keatas (ke arah ujung daun). Adapun deskripsi tanaman nenas, yaitu:

1. Tanaman nenas berupa herba tahunan, memiliki tinggi antara 90-100 cm, sebaran daun nenas seluas 130-150 cm. Pada batang bagian bawah tumbuh tunas-tunas samping hingga membentuk rumpun, dan dapat berlangsung

terus. Bila kondisi ini terus berlangsung, tanaman tersebut dapat hidup hingga 50 tahun. Untuk tujuan komersial, panen hanya dilakukan pada buah pertama, sedangkan anaknya hanya digunakan untuk bibit

2. Panjang batang nenas 20-25 cm, diameter bagian bawah 2-3,5 cm dari diameter bagian atas 5,5-6,6 cm dan ruas batang pendek. Batang berfungsi sebagai tempat meletaknya kar, daun, bunga, tunas, dan buah.
3. Daun nenas berurat sejajar dari pangkal sampai ujung dan berserabut, tebal, panjangnya antara 38-80 cm dan tumbuh duri tajam ke arah ujung daun, serta tumbuh menggerombol pada batang. Tetapi ada jenis nenas yang tidak berduri
4. Bunga nenas bersifat *inflorescens*, tumbuh dari titik batang. Bunga akan muncul sekitar 450 hari sesudah tanam. Kumpulan kuntum bunga dengan adanya proses penyerbukan akan menghasilkan buah majemuk dari 100-200 anak buah. Buah-buah kecil akan bergabung dan dihubungkan dengan batang tengah yang disebut hati, sehingga penampakannya seolah hanya satu buah berbentuk bulat dengan bagian ujungnya seperti kerucut. Tanaman nenas mempunyai tepung sari, namun inkompatibel sendiri, dan kebanyakan kultivar adalah kompatibel silang dan menghasilkan biji partenokarpi. Jumlah biji bila disilangkan dapat mencapai 2000-3000 butir per buah.
5. Biji nenas berukuran kecil, panjang 3-4 mm. Lebar 1-2 mm, berwarna coklat, kasar dan liat. Biji dapat digunakan untuk bahan perbanyakan secara generatif namun terbatas.

Pada beberapa varietas nenas, durinya mulai lenyap, tetapi duri pada ujung daunnya sering terlihat. Daun muncul dan terkumpul pada pangkal batang, daun nenas dapat diolah menjadi benang yang bagus sebagai bahan pakaian dan mempunyai serat panjang, tetapi belum dimanfaatkan sebagai bahan pakaian. Serat daun nenas adalah salah satu jenis serat yang berasal dari tumbuhan yang diperoleh dari daun-daun tanaman nenas (Hidayat, 2008). Komposisi kimia serat alam dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Komposisi Kimia Serat Alam

Nama	Selulosa (%)	Hemiselulosa (%)	Lignin (%)	Keterangan
Abaka	60-65	6-8	5-10	Pisang
Coir	43	1	45	Sabut Kelapa
Kapas	90	6	-	Bungkus, Biji
Flax	70-72	14	4-5	-
Jute	61-63	13	3-13	-
Mesta	60	15	10	-
Palmirah	40-50	15	42-45	-
Nenas	80	-	12	Daun, Mahkota
Rami	80-85	3-4	0,5-1	K. Batang
Sisal	60-67	10-15	8-12	Daun

Sumber: Dephan.go.id, 2007

Secara morfologi jumlah serat nenas terdiri dari beberapa ikatan serat (*bundle of fibres*) dan masing-masing ikatan terdiri dari beberapa serat (*multicellular fibre*). Berdasarkan pengamatan dengan mikroskop, sel-sel dalam serat nenas mempunyai ukuran diameter rata-rata berkisar 10 μm dan panjang rata-rata 4,5 mm dengan rasio perbandingan antara panjang dan diameter adalah 450. Rata-rata ketebalan dinding sel dari serat daun nenas adalah 8,3 μm . Ketebalan dinding sel ini terletak antara serat sisal (12,8 μm) dan serat batang pisang (1,2 μm) (Hidayat, 2008). Komposisi kimia serat nenas dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Komposisi Kimia Serat Nenas

Komposisi Kimia	Serat Nenas (%)
Alpha Selulosa	69,5-71,5
Pentosan	17,0-17,8
Lignin	4,4-4,7
Pektin	1,0-1,2
Lemak dan wax	3,0-3,3
Abu	0,71-0,87
Zat-zat lain (protein, asam organik, dan lain-lain)	4,5-5,3

Sumber: Hidayat, 2008

Limbah mahkota nenas dapat dimanfaatkan sebagai salah satu tanaman alternated penghasil serat yang dapat dikonversikan menjadi bioetanol. Secara struktur serat disusun dari berbagai komponen kimia yaitu selulosa, hemiselulosa,

lignin, pectin, lilin, dan lemak, serta zat-zat lain yang bersifat larut dalam air. Komposisi serat kering daun mahkota nenas dapat dilihat tabel 4.

Tabel 4. Komposisi Kering Serat Daun Mahkota Nenas

Komposisi Kimia	Serat Nenas (%)
Selulosa	62,9 – 65,7
Lignin	4,4 – 4,7
Serat Kasar	22,3 – 25,4
Abu	3,7 – 4,1

Sumber: Glory dkk.2011

2.3 Jenis – jenis nenas

Berdasarkan habitat tanaman, terutama bentuk daun dan buah dikenal 4 jenis golongan nenas, yaitu : *Cayenne* (daun halus, tidak berduri, buah besar), *Queen* (daun pendek berduri tajam, buah lonjong mirip kerucut), *Spanyol* atau *Spanish* (daun panjang kecil, berduri halus sampai kasar, buah bulat dengan mata datar) dan *Abacaxi* (daun panjang berduri kasar, buah silindris atau seperti piramida). Varietas kultivar nenas yang banyak ditanam di Indonesia adalah golongan *Cayenne* dan *Queen*. Golongan *Spanish* dikembangkan di kepulauan India Barat, Puerte Rico, Mexico dan Malaysia. Golongan *Abacaxi* banyak ditanam di Brazilia. Dewasa ini ragam varietas atau kultivar nenas yang dikategorikan unggul adalah nenas Bogor, Subang dan Palembang.

Dua varietas yang sudah lama dikembangkan di Indonesia yaitu nenas *Queen* dan nenas *smooth cayenne*. Nenas *Queen* banyak ditanam di daerah Bogor dan Palembang. Nenas jenis *Queen* memiliki rasa yang lebih manis daripada nenas *Cayenne* dan memiliki daun yang berduri. Nenas ini umumnya ditanam di dataran rendah, sedangkan nenas *Cayenne* ditanam di datarb tinggi, khususnya daerah Subang. Nenas *Cayenne* memiliki buah yng lebih manis daripada nenas *Queen* dan ditanam didaerah lain (Redaksi Agromedia Pustaka, 2009). Dalam penelitian ini digunakan mahkota buah nenas jenis *Queen*.

Nama nenas Subang, Bogor, dan Palembang sendiri sebenarnya hanya sebutan varietas yang hanya berdasarkan tempat nenas-nenas itu tumbuh baik, dengan hasil istimewa. Nenas Subang tumbuh dengan baik di Subang. Kemudian muncul kultivar dengan nama baru dari varietas ini, yaitu Si Madu karena rasa

manis seperti madu yang disebabkan banyaknya unsur kalium dalam tanah. Dari varietas yang sama juga muncul nenas walungka yang berukuran besar.

Sedangkan yang dikenal masyarakat dengan nenas Bogor, menurut Herbagijondono, kolektor 46 kultivar nenas, merupakan varietas *Queen*. Ada tiga kultivar yang disebut nenas Bogor, yaitu gati, kiara, dan kapas. Ketiganya banyak ditanam di Bogor dan sekitarnya. Nama nenas Bogor yang sama juga dijumpai di beberapa daerah lain seperti Pontianak, Sukamere, dan Probolinggo. Semuanya merupakan varietas *Cayenne*. Di Palembang ada ada varietas nenas, yaitu nenas Palembang (merupakan varietas *Queen*) dan *Cayennelis* (dari varietas *Cayenne lissae*). Yang lebih terkenal di masyarakat adalah nenas Palembang dari varietas *Queen*. Berikut Varietas nenas di Indonesia yaitu:

1. Nenas Varietas *Queen*

Rasanya manis, aromanya harum, dan warna kulitnya menarik, kuning cerah dan kemerahan. Ukuran buah sedang sampai besar. Bobotnya sekitar 1 kg. Bentuk buah cenderung memanjang Empulur atau lonjong berbentuk kerucut seperti silindris. buah cukup lunak sehingga dapat dimakan. Kekurangannya, ukuran buah kecil, dan matanya agak dalam sehingga banyak daging buah yang terbuang ketika dikupas.



Sumber: Acamedia, 2014

Gambar 1. Nenas Varietas *Queen*

Varietas *Queen* yang paling dikenal ialah nenas dari Bogor (gati, kapas, dan kiara), nenas Palembang, serta batu dari Kediri. Daerah lain yang dijumpai varietas ini adalah : Pontianak (nenas cina), Palangkaraya (nenas betawi), Purwokerto (nenas batu), Kediri (nenas bali/jawa), Jember (monserat dan bali), Bondowoso (kidang dan uling), Sumenep (durian), dan Salatiga (nenas bogor).

2. Nenas Varietas Cayane

Daun nenas ini tidak berduri atau berduri halus pada ujungnya. Rasanya manis asam. Diameter buah 11-16 cm dengan bobot 1,8-2,3 kg. Bahkan ada yang mencapai 5-7 kg yang dikenal dengan nama Walungka atau Sarawak. Kandungan airnya cukup tinggi, dan empulur (hatinya) relatif kecil. Matanya tidak dalam. Nenas ini berwarna hijau kekuning-kuningan. Karena ukuran dan rasanya, nenas ini paling cocok dikalengkan. Selain kelebihan itu, ada juga kekurangannya. Perubahan warna kulitnya agak lambat, sehingga kadang buah sudah matang tapi kulitnya masih hijau. Jenis ini baik untuk buah kalengan. Varietas ini banyak ditanam di daratan rendah sampai dataran tinggi. Contoh varietas atau kultivar nenas golongan *cayenne* adalah *Smooth Cayenne* atau *Cayenne Lisse*.



Sumber: *acamedia*, 2014

Gambar 2. Nenas Varietas *Cayane*

Varietas *Cayenne* dikenal di beberapa daerah di Indonesia dengan nama berbeda. Seperti: *Cayennelis* (Palembang dan Salatiga). Suka Menanti (Bukit Tinggi), Serawak (Tanjung Pinang dan Pacitan), Bogor (Pontianak, Probolinggo,

dan Purbalingga), dan Paung (Palangkaraya). Namun hanya di Subang pertumbuhan *Cayenne* amat baik sehingga sebutan nenas Subang seolah identik dengan nenas *Cayenne*.

3. Nenas Varietas Spanish

Waktu matang rasanya manis dan aromanya tajam menyenangkan, namun varietas ini kurang disukai, karena berserat. Nenas ini banyak dimanfaatkan sebagai bahan pembuat kertas dan tekstil. Kertas uang dolar Amerika dibuat dari serat nenas ini yang diambil dari daunnya. Bobot buahnya 0,9-1,8 kg, jadi antara Cayenne dan Queen diameternya 9-13 cm. Matanya cukup dalam sehingga daging buah banyak terbuang ketika dikupas. Daunnya berduri, sedangkan kulit buahnya kasar dan kuat sehingga buah tidak mudah rusak dalam pengangkutan. Jenis ini banyak ditanam sebagai tanaman hias karena warna buahnya cukup menarik, merah oranye berkat zat antosianin. Berdasarkan bentuk tanaman dan buahnya dibedakan menjadi dua tipe yaitu:

1. Tipe 1

Buah berukuran cukup besar, berbentuk silindris, kulit buah yang matang berwarna hijau kekuningan, daging buah berwarna kuning keemasan, dan buah haku tidak berduri.



Sumber: *acamedia*, 2014

Gambar 3. Nenas Varietas *Spanish* Tipe 1

2. Tipe 2

Buah berbentuk bulat telur, kulit buah yang matang berwarna kuning hingga merah, daging buah berwarna putih dan daun berduri tajam.



Sumber: *acamedia*, 2014

Gambar 4. Nenas Varietas *Spanish* Tipe 2

4. Nenas Abacaxi

Nenas Abacaxi memiliki struktur buah berukuran sedang, berbentuk silindris sampai kerucut, bertangkai panjang, kulit buah yang matang berwarna hijau kekuningan dan ada pula yang merah. Daging buah umumnya putih, rasanya agak asam, daun berukuran kecil, panjang, dan berduri tajam. Contoh varietas atau kultur nenas golongan Abacaxi di antaranya adalah Pernambuco, Sugar loaf, dan Eleuthera.



Sumber: *acamedia*, 2014

Gambar 5. Nenas Varietas *Abacaxi*

2.4 Kandungan pada Mahkota Buah Nenas

2.4.1 Selulosa

Selulosa merupakan kandungan utama tanaman merupakan polisakarida yang terdiri atas satuan-satuan gula (glukosa) yang terikat dengan ikatan 1,4- β -D glikosidik. Selulosa adalah polimer dari rantai unit α -D-1-4 anhidroglukosa ($C_6H_{12}O_6$)_n, sebanyak 40-60 % yang terdapat dalam dinding sel pada tumbuhan berkayu. Beberapa ciri-ciri dari struktur selulosa yang berdasarkan pada karakteristik kimia yang dimiliki adalah dapat mengembang dalam air, berbentuk kristalin, adanya kelompok fungsional yang spesifik dan dapat bereaksi dengan enzim selulolitik.

Selulosa tersintesis di alam sebagai molekul individu atau rantai lurus dari residu glukosil, 30 molekul selulosa bergabung membentuk unit yang lebih besar yaitu fibril dasar. Fibril dasar akan bergabung membentuk unit lebih besar yang disebut dengan mikrofibril, mikrofibril ini bergabung dan membentuk selulosa.

Selulosa sangat erat berasosiasi dengan hemiselulosa dan lignin dalam lignoselulosa. Selulosa merupakan komponen utama penyusun dinding sel tanaman. Kandungan selulosa pada dinding sel tanaman tingkat tinggi sekitar 35-50 % dari berat kering tanaman (Lynd *et al.*, 2002).

Selulosa merupakan serat-serat panjang yang bersama-sama hemiselulosa, pektin, dan protein membentuk struktur jaringan yang memperkuat dinding sel tanaman. Karakteristik serat selulosa merupakan serat cukup halus, berstruktur linier, memiliki ikatan hidrogen intramolekul dan antarmolekul yang tinggi. Ikatan ini mengakibatkan selulosa tidak termoplastik dan sulit untuk diuraikan tanpa bahan kimia atau enzim. Adanya ikatan-ikatan molekul glukosa dalam bentuk 1,4- β -D glikosidik yang membentuk rantai-rantai selulosa yang panjang menyebabkan selulosa sukar larut dalam air.

Kristalin alami selulosa adalah struktur di mana semua atom memiliki posisi tetap dengan posisi tersendiri antara atom. Kumpulan kristalin merupakan komponen molekul individu mikrofibril yang tersusun secara kuat untuk mencegah penetrasi dari enzim dan molekul yang lebih kecil seperti air.

Gugus fungsi pada rantai selulosa adalah gugus fungsi hidroksil (OH). Hidroksil ini mampu berinteraksi dengan $-OH$ atau dengan O-, N-, S- membentuk ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen terdapat juga pada grup OH dari selulosa dan molekul air. Gugus hidroksil membuat permukaan selulosa menjadi sangat hidrofilik. Rantai selulosa mempunyai gugus OH pada kedua ujungnya dan rantai selulosa sangat stabil karena adanya ikatan hidrogen sepanjang rantainya. Pada tumbuhan, rantai selulosa tersusun bersama-sama untuk membentuk kristalin mikrofibril pada tiap rantai selulosa dan saling berkaitan satu dengan yang lainnya.

Pada proses pematangan, penyimpanan, atau pengolahan, komponen selulosa dan hemiselulosa mengalami perubahan sehingga terjadi perubahan struktur. Selulosa adalah polimer berantai lurus, bila dihidrolisis oleh enzim selobiose akan terhidrolisis dan menghasilkan dua molekul glukosa dari ujung rantai, sehingga dihasilkan selobiosa (Winarno, 1992). Sedangkan menurut Hartati (2009) mengungkapkan bahwa Selulosa mempunyai sifat antara lain berwarna putih, berserat, tidak larut dalam air dan pelarut organik serta mempunyai kuat tarik yang tinggi.

Sifat fisik dan kimia selulosa yaitu tidak larut dalam air dingin, larut dalam asam dan alkali encer serta pelarut organik netral seperti benzene, alkohol, eter, dan kloroform. Selulosa larut dalam asam sulfat 72%, asam klorida 44%, serta asam fosfat 85%. Selulosa juga tahan terhadap oksidasi oleh oksidator seperti klorin, natrium hipoklorit, kalsium hipoklorit, klorin-dioksida, hidrogen peroksida, natrium peroksida, dan oksigen. Proses degradasi selulosa dapat dilakukan oleh mikroorganisme selolitik yang berasal dari bakteri ataupun jamur. Degradasi selulosa yang sempurna akan melepaskan karbondioksida (CO_2) dan air pada kondisi aerobik. Sedangkan pada kondisi anaerobik, degradasi sempurna akan melepaskan karbondioksida, metana, dan air. Pada proses hidrolisis selulosa yang sempurna akan menghasilkan monomer selulosa yaitu glukosa, dan hidrolisis selulosa yang tak sempurna akan menghasilkan disakarida dari selulosa yang disebut selobiosa.

2.4.2 Lignin

Lignin merupakan salah satu dari tiga komponen dasar dinding sel selain selulosa dan hemiselulosa. Lignin merupakan bahan organik bukan karbohidrat yang berbentuk amorf dan tersusun atas satuan fenil (Chang et al., 1981).

Lignin adalah polimer yang strukturnya heterogen dan kompleks yang terdiri dari koniferil alkohol, sinaphil alkohol, dan kumaril alkohol sehingga sulit untuk dirombak. Sekitar 30% material pohon adalah lignin yang berfungsi sebagai penyedia kekuatan fisik pohon, pelindung dari biodegradasi dan serangan mikroorganisme salah satu mikroorganisme yang mampu mendegradasi lignin (Singh, 2006; Grainger & Lynch, 1984).

Menurut Batubara (2002) Lignin merupakan zat yang keras, lengket, kaku dan mudah mengalami oksidasi. Lignin merupakan rantai dengan karbon-karbon terikat dan ikatan lainnya yang terdiri dari jaringan yang dihubungkan dengan polisakarida yang terdapat di dalam dinding sel. Lignin membentuk matriks yang mengelilingi selulosa dan hemiselulosa, penyedia kekuatan pohon dan pelindung dari biodegradasi. Lignin sangat resisten terhadap degradasi, baik secara biologi, enzimatik, maupun kimia.

Fungsi lignin yaitu mengikat sel tanaman satu dengan lainnya dan mengisi dinding sel, sehingga dinding sel menjadi keras, teguh, dan kaku. Lignin memiliki sifat fisika dan kimiawi yang berbeda dengan selulosa. Menurut Pasaribu (1987), lignin mudah dioksidasi oleh larutan alkali dan bahan oksidatif, tahan terhadap hidrolisis oleh asam mineral, mudah larut dalam larutan sulfat pada keadaan basa dan lignin yang telah dihalogenasi dengan klor akan mudah larut dalam alkali.

Selanjutnya Sofyan (1976), mengatakan bahwa lignin dapat dilarutkan dalam larutan alalkalimetil sulfat, dalam bentuk protolignin (terikat pada karbohidrat) tidak larut, tidak memiliki titik lebur yang pasti, hanya bisa melunakkan dengan suhu ± 90 °C serta lignin mengandung lebih sedikit grup hidrofilik daripada karbohidrat, sehingga daya menyerap kelembabannya sedikit.

2.5 Proses Pembuatan Bioetanol

2.5.1 Delignifikasi

Untuk membuat bioetanol dari bahan yang tidak mengandung pati atau bahan yang mengandung selulosa seperti mahkota buah nenas. Mahkota buah nenas ini mengandung selulosa dan lignin. Oleh karena itu perlu dilakukan pengambilan selulosa dari mahkota buah nenas dengan metode delignifikasi atau penghilangan kandungan lignin pada mahkota buah nenas. Adanya senyawa lignin ini menyebabkan bahan selulosa sulit untuk dihidrolisis menjadi glukosa yang akan dimanfaatkan mikroorganisme untuk mengkonversikannya menjadi bioetanol.

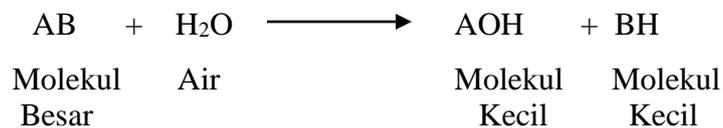
Ada beberapa teori yang mengemukakan untuk delignifikasi, teori pertama menyatakan bahwa permukaan serat bagian dalam berlaku sebagai membran semi permeabel, dimana tekanan osmosis terjadi akibat melarutnya rantai-rantai lignin dalam pelarut. Teori lain menyatakan bahwa penurunan berat terjadi penolakan elektrolisis antara partikel-partikel lignin. Melarutnya bahan-bahan lignin oleh pelarut (NH_4OH , NaOH , MnSO_4 , dan Cadoxen) disebabkan terjadinya proses penyabunan dari group-group ester. Larutan pengembang tersebut secara kimia dapat memutuskan ikatan hidrogen dari molekul glukosa yang berdekatan dalam jaringan lignin.

Menurut Darwis et al., (1995) melaporkan bahwa pengecilan ukuran tongkol jagung dan dilanjutkan dengan proses delignifikasi dengan NH_4OH seperti yang dilakukan dengan penelitian ini, merupakan salah satu upaya untuk meningkatkan efektivitas hidrolisis selulosa dalam proses delignifikasi. Peningkatan efektivitas hidrolisis selulosa pada akhirnya akan meningkatkan produktivitas mikroorganisme dalam memproduksi selulosa.

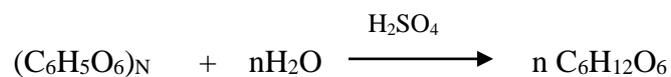
Pengecilan ukuran dan delignifikasi menyebabkan terputusnya rantai polimer yang panjang menjadi rantai polimer yang lebih pendek, meningkatkan daerah amorf dengan kata lain (menurunkan derajat kristalinitas) dan memisahkan bagian lignin dari selulosa. Perlakuan yang efisien harus dapat membebaskan struktur Kristal dengan memperluas daerah amorfnya serta membebaskan juga lapisan ligninnya.

2.5.2 Hidrolisis

Hidrolisis adalah pemecahan kimiawi suatu molekul karena pengikatan air, menghasilkan molekul-molekul yang lebih kecil. Proses ini dapat dinyatakan dengan persamaan reaksi berikut:



Sebagai contoh reaksi hidrolisis selulosa dengan H_2SO_4 :



Proses hidrolisis ini bertujuan mengubah selulosa menjadi gula-gula sederhana seperti glukosa. Hidrolisis selulosa dapat dilakukan dengan menggunakan larutan asam, larutan basa, secara enzimatik, maupun termal, masing-masing dengan kelebihan dan kekurangannya (Pejo et al., 2008).

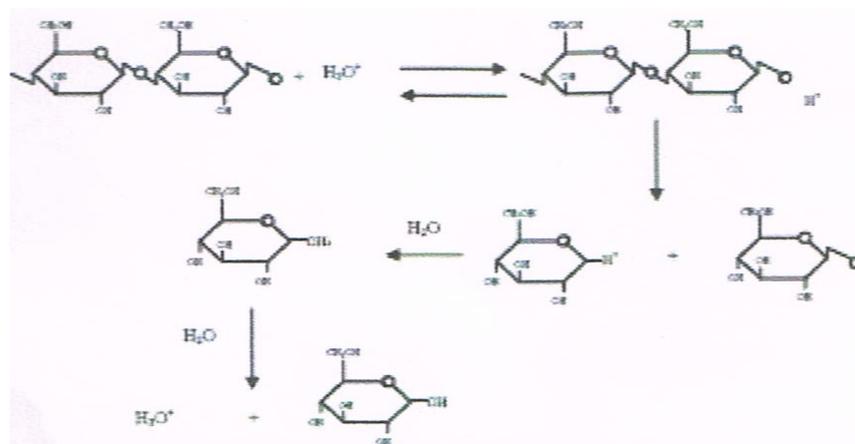
Beberapa asam yang umum digunakan untuk hidrolisis asam antara lain adalah asam sulfat (H_2SO_4), asam perklorat, dan HCl. Asam sulfat merupakan asam yang paling banyak diteliti dan dimanfaatkan untuk hidrolisis asam. Hidrolisis asam dapat dikelompokkan menjadi hidrolisis asam pekat dan hidrolisis asam encer (Taherzadeh dan Karimi, 2007).

Teknologi biokimia dapat dikelompokkan lagi menjadi tiga sub kelompok berdasarkan metode hidrolisis yang digunakan, yaitu: 1) hidrolisis asam encer (*dilute acid hydrolysis*), 2) hidrolisis asam pekat (*concentrated acid hydrolysis*), dan 3) hidrolisis enymatic (*enzymatic hydrolysis*) (NREL, 2008). Setelah tahap hidrolisis tersebut dilakukan tahap fermentasi, tahapan fermentasi merupakan tahapan penting dari semua kelompok diatas, tetapi teknik fermentasi bervariasi tergantung pada organisme yang digunakan dan metode fermentasinya.

1. Teknologi hidrolisis asam encer (*dilute acid hydrolysis*)

Teknologi hidrolisis asam encer merupakan teknologi tertua untuk memproduksi etanol selulosik dari biomassa. Hidrolisis asam encer dikenal dengan hidrolisis asam dua tahap dan merupakan metode hidrolisis yang banyak dikembangkan dan diteliti saat ini. Hidrolisis asam encer pertama kali dipatenkan oleh H.K. Moore pada tahun 1919. Hidrolisis selulosa dengan menggunakan asam telah dikomersilkan pertama kali pada tahun 1898 (Hamelinck, Hooijdonk, dan Faaiji, 2005). Tahap pertama dilakukan dalam kondisi yang lebih lunak dan akan menghidrolisis hemiselulosa (misalnya 0,7% asam sulfat, 190°C). Tahap kedua dilakukan pada suhu yang lebih tinggi, tetapi dengan konsentrasi asam yang lebih rendah untuk menghidrolisis selulosa (215°C, 0,4% asam sulfat) (Hamelinck, Hooijdonk, dan Faaiji, 2005). Tahap kedua ini akan menghasilkan glukosa yang selanjutnya difermentasi.

Keuntungan utama hidrolisis dengan asam encer adalah tidak diperlukannya *recovery* asam, dan tidak adanya kehilangan asam dalam proses (Iranmahboob et al., 2002). Umumnya asam digunakan adalah H_2SO_4 atau HCl (Mussato dan Roberto, 2004) pada *range* konsentrasi 2-5% (Iranmahboob et al., 2002; Sun dan Cheng, 2002), dan suhu reaksi $\pm 160^\circ C$. Mekanisme reaksi hidrolisis selulosa dengan H_2SO_4 :



Sumber: Humprey, 1979

Gambar 6. Mekanisme Reaksi Hidrolisis Selulosa Oleh Asam

2. Teknologi hidrolisis asam pekat (*concentrated acid hydrolysis*)

Hidrolisis asam pekat merupakan teknik yang sudah dikembangkan cukup lama. Braconnot di tahun 1819 pertama menemukan bahwa selulosa bisa dikonversi menjadi gula yang tinggi (90% dari hasil teoritik) dibandingkan dengan hidrolisis asam encer, dan dengan demikian akan menghasilkan etanol yang lebih tinggi (Hamelinck, Hooijdonk, dan Faaiji, 2005).

Hidrolisis asam dapat dilakukan pada suhu rendah. Namun, jika konsentrasi asam yang digunakan sangat tinggi (30-70%) akan mengakibatkan korosi pada peralatan sehingga membutuhkan peralatan metal yang dibuat secara khusus dan mahal, sehingga proses ini membutuhkan biaya investasi dan pemeliharaan yang tinggi. *Recovery* asam juga membutuhkan energi yang besar. Jika menggunakan asam sulfat pekat, dibutuhkan proses netralisasi yang menghasilkan limbah *gypsum*/kapur yang sangat banyak (Taherzadeh dan Karimi, 2007).

3. Teknologi *enzymatic hydrolysis*

Teknologi *enzymatic hydrolysis* mirip dengan proses-proses diatas yaitu dengan mengganti asam dengan enzim. Teknik ini dikenal dengan teknik hidrolisis dan fermentasi terpisah (SHF, *Separated Hydrolysis and Fermentation*). Hidrolisis dengan enzim tidak membuat atau menghasilkan kondisi lingkungan yang kurang mendukung proses biologi atau menghasilkan kondisi lingkungan yang kurang mendukung proses biologi atau fermentasi seperti pada hidrolisis dengan asam, kondisi ini memungkinkan untuk dilakukan tahapan hidrolisis dan fermentasi secara bersamaan yang dikenal dengan *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF). Teknik ini menggunakan kombinasi enzim selulase dan mikroorganisme fermentasi, gula yang dihasilkan dari hidrolisis enzim selulase dapat secara segera diubah menjadi etanol oleh mikroba. Tiga fraksi enzim selulase dihasilkan dari fungi mesofilik misalnya *Trichoderma resei* atau dari bakteri termofil selulolitik seperti *Thermotoga*, *Anaerocellum*, *Rhodothermus*, *Clostridium*, *Thermoascus*, *Thermophilum*, *Acremonium* (Scheper, 2007; Kavanagh, 2005).

Selama beberapa tahun terakhir berbagai teknik *pretreatment* telah dipelajari melalui pendekatan biologi, fisika, kimia. Menurut (Sun & Cheng, 2002) *pretreatment* seharusnya memenuhi kebutuhan berikut ini: 1) meningkatkan pembentukan gula atau kemampuan menghasilkan gula pada proses berikutnya melalui hidrolisis enzimatik; 2) menghindari degradasi atau kehilangan karbohidrat; 3) menghindari pembentukan produk samping yang dapat menghambat proses hidrolisis dan fermentasi, 4) biaya yang dibutuhkan ekonomis.

2.5.3 Fermentasi

Fermentasi merupakan proses perubahan dari glukosa menjadi alkohol (Lee, 1992). Kata fermentasi (*Fermentatio* dalam Bahasa Inggris) berasal dari bahasa latin *ferfere* yang artinya mendidihkan. Ini dianggap masih sangat muda sehingga terbentuknya gas dari suatu cairan kimia hanya dapat dibandingkan dengan keadaan seperti air mendidih atau mulai mendidih.

Proses fermentasi glukosa dari selulosa pada prinsipnya sama dengan yang digunakan pada fermentasi glukosa dari pati atau nira yang tersedia secara komersial. Proses ini, gula-gula sederhana yang terbentuk difermentasi menjadi etanol dengan bantuan khamir seperti *Saccharomyces cereviseae*. Fermentasi ini biasanya dilakukan pada suhu 30°C, pH 4-5, dan sedikit aerobik.

Saccharomyces cereviseae sering dipakai pada fermentasi etanol karena menghasilkan etanol yang tinggi, toleran terhadap kadar etanol yang tinggi, mampu hidup pada suhu tinggi, tetap stabil selama kondisi fermentasi dan juga dapat bertahan hidup pada pH yang rendah. *Saccharomyces cereviseae* juga dapat toleran terhadap alkohol yang cukup tinggi dan tetap aktif melakukan fermentasi pada suhu 4-32°C.

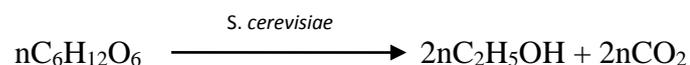
Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi jumlah etanol yang dihasilkan dari fermentasi adalah mikroorganisme dan media yang digunakan, adanya komponen media yang dapat menghambat pertumbuhan serta kemampuan fermentasi mikroorganisme dan kondisi fermentasi. Selain itu hal yang diperhatikan selama fermentasi adalah pemilihan khamir, konsentrasi gula, keasaman, ada tidaknya

oksigen, lama fermentasi dan suhu dari perasan buah. Khamir yang baik digunakan untuk menghasilkan etanol adalah genus *Saccharomyces*. Kriteria pemilihan khamir untuk produksi etanol adalah mempunyai laju fermentasi dan laju pertumbuhan cepat, perolehan etanol banyak, tahan terhadap konsentrasi etanol dan glukosa tinggi, tahan terhadap konsentrasi garam tinggi, pH optimum serta fermentasi rendah, temperature optimum fermentasi sekitar 25-30 tahan stress fisika dan kimia. Lama fermentasi biasanya ditentukan pada jenis bahan dan jenis ragi serta gula. Pada umumnya diperlukan waktu 2-12 hari untuk memperoleh hasil fermentasi yang sempurna. Menurut Amerine (1982) fermentasi berlangsung selama 1 sampai 2 minggu dan ditandai dengan tidak diproduksinya CO₂. Pada umumnya pH untuk fermentasi dibutuhkan optimum antara 3-5 jika pH dibawah 3 dan diatas 5, maka pertumbuhan mikroba akan terganggu. Sedangkan kadar gula yang ditambahkan bertujuan untuk memperoleh kadar etanol yang tinggi, tetapi bila kadar gula terlalu tinggi maka aktifitas khamir dapat terhambat. Kadar gula optimum untuk aktifitas pertumbuhan khamir adalah 10-18%. Suhu untuk tiap-tiap golongan mikroba memiliki pertumbuhan yang optimum yang berbeda-beda, untuk mikroba ini suhu optimumnya 19-32°C.

Reaksi pembentukan etanol terjadi karena adanya aktivitas dari *yeast* yang ada pada substrat. *Yeast* akan menggunakan materi yang mengandung karbon seperti glukosa untuk proses respirasi. Reaksi yang terjadi adalah sebagai berikut:



Dari reaksi diatas dapat dilihat bahwa reaksi tersebut membutuhkan oksigen. Apabila kondisi ini tidak terpenuhi, artinya tidak ada oksigen, maka reaksi yang terjadi adalah reaksi pembentukan etanol berikut:



2.5.3.1 Ragi

Ragi atau *fermen* ialah zat yang menyebabkan fermentasi. Ragi biasanya mengandung mikroorganisme yang melakukan fermentasi dan media biakan ragi tersebut. Media biakan ini dapat berupa butiran kecil atau cairan nutrient. Ragi umumnya digunakan dalam industri makanan dan minuman seperti roti, tempe, bir, dll. Mikroorganisme yang digunakan dalam ragi umumnya terdiri dari berbagai bakteri dan fungi (khamir dan kapang). Yaitu *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Amylomyces*, *Endomycopsis*, *Sacharomyces*, *Hansemula anomal*, dan lain sebagainya.

Ada tiga jenis ragi yang umum dikenal yaitu ragi roti, ragi tape, dan ragi tempe. Ragi roti dan ragi tape mengandung jenis mikroba yang sama yaitu *Saccharomyces cerevisiae*, sedangkan ragi tempe adalah jenis *Rhizopus*.

Ragi mengandung enzim *zimase* yang bertindak sebagai katalis untuk mengubah sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa. Fruktosa dan glukosa kemudian beraksi dengan enzim *invertase* yang mengubahnya menjadi alkohol dan karbondioksida. Proses fermentasi berlangsung selama 3-7 hari dan berlangsung pada temperatur 25-30°C. Ragi membutuhkan beberapa unsur sebagai nutrisi penunjang pertumbuhannya. Unsur-unsur yang dibutuhkan tersebut yaitu:

1. Karbon sebagai sumber energi utama ragi
2. Hidrogen berfungsi sebagai pengatur pH
3. Oksigen sebagai faktor terpenting bagi ragi karena tidak ada oksigen akan menghambat pertumbuhan ragi
4. Nitrogen sebagai penyusun sel ragi dan mengisi 10% dari berat kering ragi
5. Belerang merupakan unsur yang berperan pada proses biosintesis pada sel ragi
6. Fosfor berperan penting dalam pembentukan ortofosfat (senyawa yang berfungsi sebagai substrat dan kofaktor enzim)
7. Unsur terakhir yaitu K dan Mg yang berperan dalam membangun lingkungan kation di sel ragi.

Fungsi enzim *invertase* selanjutnya mengubah monosakarida menjadi alkohol dengan proses fermentasi. Pada awal fermentasi masih diperlukan oksigen untuk pertumbuhan dan perkembangan *Saccharomyces cerevisiae*, tetapi kemudian tidak dibutuhkan lagi karena kondisi proses yang diperlukan adalah anaerob. Sebelum dilakukan proses fermentasi dilakukan proses sterilisasi dan proses penyiapan inokulum. Proses sterilisasi dilakukan terhadap bahan dan alat sehingga terbebas dari kontaminasi mikroorganisme lain.

Ragi yang paling sering digunakan pada fermentasi glukosa menjadi etanol adalah *Saccharomyces cerevisiae* karena jenis ini mampu menghasilkan produk yang cukup tinggi, toleran terhadap kadar alkohol tinggi (12-20% v/v), dan tahan terhadap kadar gula yang tinggi (Samsuri dkk., 2007- Ramos dan Rojas, 2004).

2.5.3.2 *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae memiliki sel berbentuk ellipsoid atau silindris (Hidayat *et al.*, 2006: 21). Ukuran sel antara 5-20 mikron, biasanya 5-10 kali lebih besar dari ukuran bakteri dan merupakan mikroorganisme bersel tunggal, tidak bergerak sehingga tidak memiliki struktur tambahan di bagian luarnya seperti flagella (Buckle *et al.*, 2007: 95). *Saccharomyces cerevisiae* termasuk khamir uniseluler. Khamir ini bersifat nonpatogenik dan nontoksik, sehingga sejak dahulu banyak digunakan dalam berbagai proses fermentasi seperti pada pembuatan roti, asam laktat, dan alkohol (Lee, 1992 dalam Thontowi *et al.*, 2007: 253).

Saccharomyces cerevisiae memerlukan kondisi lingkungan yang cocok untuk pertumbuhannya, yaitu nutrisi sebagai sumber energi terutama gula, pH optimum 4-5, temperatur optimum 28 °C - 30°C serta kebutuhan akan oksigen terutama pada awal pertumbuhan (Hidayat *et al.*, 2006: 181). *Saccharomyces cerevisiae* merupakan organisme fakultatif anaerob yang dapat menggunakan baik sistem aerob maupun anaerob untuk memperoleh energi dari pemecahan glukosa. *Saccharomyces cerevisiae* dapat menghasilkan alkohol dalam jumlah yang besar (Elevri & Putra, 2006: 105). Selain itu juga memiliki toleransi yang tinggi terhadap alkohol, toleransi terhadap alkohol pada variasi strain berbeda (Crueger, 1984: 105).

2.5.4 Destilasi

Produk etanol yang didapatkan dari proses fermentasi akan dimurnikan dengan cara didestilasi. Prinsip dari destilasi yang terdiri dari komponen-komponen yang berbeda nyata suhu didihnya, destilasi merupakan cara yang paling mudah dioperasikan dan juga merupakan cara pemisahan yang secara termal efisien. Pada tekanan atmosfer, air mendidih pada suhu 100°C dan etanol mendidih pada suhu sekitar 78°C, perbedaan titik didih inilah yang memungkinkan pemisahan campuran etanol air (Lurgi, 1989).

Kadar alcohol setelah proses destilasi hanya dipengaruhi oleh alat destilasi yang digunakan. Alat destilasi yang digunakan merupakan alat destilasi satu tingkat yang hanya mampu menghasilkan etanol dengan kadar alcohol 40% (Shidik, 2011).

Kadar etanol hasil fermentasi tidak mencapai level diatas 18-21% sebab etanol dengan kadar tersebut bersifat racun terhadap ragi yang memproduksi etanol tersebut sehingga untuk memperoleh etanol dengan kadar yang lebih tinggi perlu dilakukan destilasi. Destilasi adalah proses pemanasan yang memisahkan etanol dengan beberapa komponen cair lain dari substrat fermentasi sehingga diperoleh kadar etanol yang lebih tinggi (Archunan, 2004).