

## **BAB II TINJAUAN PUSTAKA**

### **2.1. Bonggol Pisang**

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	: Musa paradisiaca

Dari keseluruhan bagian pisang, ada bagian yang jarang dimanfaatkan oleh masyarakat, yaitu umbi bonggol pisang. Bonggol pisang bila dibiarkan begitu saja akan menjadi limbah pertanian yang tidak bermanfaat. Bonggol pisang dapat dimanfaatkan untuk diambil patinya. Patinya ini menyerupai pati tepung sagu dan tepung tapioka. Bonggol pisang memiliki komposisi yang terdiri dari 76% pati, 20% air (Yuanita dkk, 2008). Potensi kandungan pati bonggol pisang yang besar dapat dimanfaatkan sebagai alternatif bahan bakar yaitu, bioetanol. Bahan berpati yang digunakan sebagai bahan baku bioetanol disarankan memiliki sifat yaitu berkadar pati tinggi, memiliki potensi hasil yang tinggi, fleksibel dalam usaha tani dan umur panennya (Prihandana, 2007).

Bonggol pisang dapat dimanfaatkan untuk diambil patinya yang menyerupai pati tepung sagu dan tepung tapioka. Potensi kandungan pati bonggol

pisang yang besar dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan bahan bakar alternatif, yaitu bioetanol. Bahan berpati yang digunakan sebagai bahan baku bioetanol disarankan memiliki sifat yaitu berkadar pati tinggi, memiliki potensi hasil yang tinggi, fleksibel dalam usaha tani dan umur panen (Rama Prihandana, 2007: 26).

Tabel 1. Komposisi Kimia Bonggol Pisang per 100 gr bahan

<b>Komponen</b>	<b>Basah</b>	<b>Kering</b>
Kalori (kal)	43	245
Protein (gr)	0,6	3,4
Karbohidrat (gr)	11,6	66,2
Ca (mg)	15	60
P (mg)	60	150
Fe (mg)	0,5	2
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. Bioetanol

Bioetanol diartikan pula sebagai bahan kimia yang diproduksi dari bahan pangan yang mengandung pati, seperti ubi kayu, ubi jalar, jagung, dan sagu. Bioetanol bersifat multi-guna karena dicampur dengan bensin pada komposisi berapapun memberikan dampak yang positif.

Bioetanol berasal dari dua kata yaitu “bio” dan “etanol” yang berarti sejenis alkohol yang merupakan bahan kimia yang terbuat dari bahan pangan (Prihandana, 2007). Bahan baku pembuatan bioetanol ini dibagi menjadi tiga kelompok yaitu:

1. Bahan sukrosa

Bahan-bahan yang termasuk dalam kelompok ini antara lain nira, tebu, nira kelapa, nira aren dan lain-lain

2. Bahan berpati

Bahan-bahan yang termasuk kelompok ini adalah bahan-bahan yang mengandung pati atau karbohidrat. Bahan - bahan tersebut antara lain tepung-tepung ubi ganyong, jagung, sagu, ubi kayu, ubi jalar, dan lain-lain.

### 3. Bahan berselulosa (lignoselulosa)

Bahan berselulosa (lignoselulosa) artinya adalah bahan tanaman yang mengandung selulosa (serat), antara lain kayu, jerami, batang pisang, dan lain-lain.

Berdasarkan ketiga jenis bahan baku tersebut, bahan berselulosa merupakan bahan yang jarang digunakan dan cukup sulit untuk dilakukan. Hal ini karena adanya lignin yang sulit dicerna sehingga proses pembentukan glukosa menjadi lebih sulit. Etanol merupakan senyawa alkohol yang mempunyai dua atom karbon ( $C_2H_5OH$ ). Karena etanol merupakan senyawa alkohol maka etanol memiliki beberapa sifat yaitu larutan yang tidak berwarna (jernih), berfase cair pada temperatur kamar, mudah menguap, serta mudah terbakar. Etanol dapat diperoleh melalui proses fermentasi biomassa. Oleh karena berbahan dasar biomassa, maka selanjutnya lebih dikenal dengan nama bioetanol (Prihandana, 2007).

Bioetanol bersifat multi-guna karena dicampur dengan bensin pada komposisi berapapun memberikan dampak yang positif.

Kelebihan-kelebihan bioetanol dibandingkan bensin :

1. Bioetanol aman digunakan sebagai bahan bakar, titik nyala etanol tiga kali lebih tinggi dibandingkan bensin.
2. Emisi hidrokarbon lebih sedikit.

Kegunaan Bioetanol dalam dunia industri yaitu :

1. Untuk membuat minuman keras seperti bir dan whisky
2. Sebagai obat antiseptik pada luka dengan kadar 70 %
3. Untuk membuat barang industri misalnya zat pewarna, parfum, essence buatan, dan lainnya
4. Untuk kegunaan analisa laboratorium
5. Untuk kepentingan industri bahan bakar dengan kadar > 90 %.

Bioetanol diperoleh dari hasil fermentasi bahan yang mengandung gula. Bioetanol diproduksi melalui proses fermentasi gula, baik yang berupa glukosa, sukrosa, maupun fruktosa dengan bantuan ragi (yeast) terutama *Saccharomyces* sp.

atau bakteri *Zymomonas mobilis*. Pada proses ini gula akan dikonversi menjadi etanol dan gas karbon dioksida (Erliza Hambali, dkk, 2007: 40).

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 106-111, 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.

Tabel 2. Sifat Fisika dan Kimia Etanol

Sifat Fisika dan 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. American Petroleum Institute (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. Etanol sebagai pelarut banyak digunakan dalam industri farmasi, kosmetika, dan resin maupun laboratorium. Pada suhu kamar etanol berupa zat cair bening, mudah menguap, dan berbau khas. (Fessenden dan Fessenden, 1986). Etanol, merupakan cairan yang tidak berwarna, larut dalam air, eter, aseton, benzene, dan semua pelarut organik, serta memiliki bau khas alkohol. Sifat-sifat kimia dan fisis etanol sangat tergantung pada gugus hidroksil.

Bioetanol merupakan bagian dari kelompok metil ( $CH_3-$ ) yang terangkai pada kelompok metilen( $-CH_2-$ ) dan terangkai dengan kelompok hidroksil ( $-OH$ ). Secara umum akronim dari bioetanol adalah EtOH (Ethyl-(OH)). 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 (Prihandana, 2007). Secara umum, produksi bioetanol ini mencakup tiga rangkaian proses, yaitu : hidrolisis, fermentasi, dan pemurnian atau destilasi.

Produksi bioetanol (alkohol) dengan bahan baku tanaman yang mengandung pati atau karbohidrat, dilakukan melalui proses konversi karbohidrat menjadi gula (glukosa) larut air. Sebagai alternatif digunakan campuran bioetanol dengan bensin. Sebelum dicampur, bioetanol harus dimurnikan hingga 100%. Campuran ini dikenal dengan sebutan gasohol (Skadrongautama, 2009).

Mikrobia yang digunakan untuk fermentasi bioetanol, adalah : *Clostridium acetobutylicum*, *Klebsiella pneumoniae*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Sarcina ventriculi*, *Zymomonas mobilis* adalah jenis bakteri yang umum digunakan, sedangkan jenis fungi di antaranya adalah: *Aspergillus oryzae*, *Endomyces lactis*, *Kloeckera sp.*, *Kluyveromyces fragilis*, *Mucor sp.*, *Neurospora crassa*, *Rhizopus sp.*, *Saccharomyces beticus*, *S. cerevisiae*, *S. ellipsoideus*, *S. oviformis*, *S. saki*, dan *Torula sp.* (Nurhidayat, 2009).

### 2.3. 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 cerevisiae*: 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).

*Saccharomyces cerevisiae* merupakan yeast organisme uniseluler yang bersifat mikroskopis dan juga disebut jasad sakarolitik, yaitu menggunakan gula sebagai sumber karbon untuk metabolisme.

*Saccharomyces cerevisiae* merupakan mikrobia yang paling banyak digunakan pada fermentasi alkohol karena dapat berproduksi tinggi, tahan terhadap kadar alkohol yang tinggi, tahan terhadap kadar gula yang tinggi dan tetap aktif melakukan aktivitasnya pada suhu 4-32°C.

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 (Nurhayani, 2000).

### 2.3.1. *Saccharomyces cerevisiae*

#### a. Pengertian *Saccharomyces cerevisiae*

*Saccharomyces cerevisiae* merupakan khamir sejati tergolong eukariotik (memiliki membran inti), ukuran 6-8 mikron, berbentuk bulat telur, melakukan reproduksi dengan cara bertunas dan dapat hidup di lingkungan aerob maupun anaerob. Kata *Saccharomyces cerevisiae* berasal dari kata *Saccharo* artinya gula dan *myces* artinya makan sedangkan *cerevisiae* artinya berkembang biak yang secara keseluruhan berarti ragi hidup dan berkembang biak dengan memakan gula.

#### b. Klasifikasi *Saccharomyces cerevisiae*

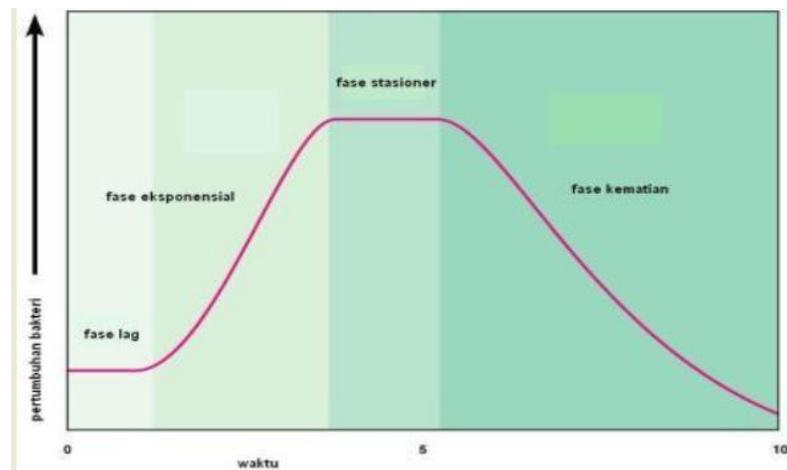
Klasifikasi *Saccharomyces cerevisiae* adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Fungi
Divisio	: Ascomycota
Kelas	: Saccharomycetes
Ordo	: Saccharomycetales
Famili	: Saccharomycetaceae
Genus	: Saccharomyces
Spesies	: Saccharomyces cerevisiae

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).

#### c. Kurva Pertumbuhan Mikroorganisme

Mikroorganisme bila ditumbuhkan/diinokulasikan ke dalam medium yang tepat akan mengalami peningkatan jumlah sel yang sangat banyak. Dengan jumlah sel yang sangat banyak, sangat sulit untuk mengulurkan grafik peningkatan jumlah sel. Oleh karena itu, digunakan log<sub>10</sub> dari jumlah sel untuk mengulurkan kurva pertumbuhan. Berdasarkan kurva pertumbuhan pada Gambar 1 dibawah ini (Zahara, 2011).



**Gambar 1. Kurva Pertumbuhan Mikroorganisme**

Mikroorganisme mengalami beberapa fase pertumbuhan diantaranya adalah fase lag, fase eksponensial, fase stasioner dan fase kematian.

- 1) Fase lag adalah kondisi dimana bakteri baru saja diinokulasikan atau dibiakkan dalam medium. Pada fase ini bakteri belum melakukan pembelahan, tetapi sudah terjadi peningkatan massa volume, sintesis enzim, protein, dan peningkatan aktifitas metabolik. Pada fase tersebut bakteri lebih banyak melakukan adaptasi dengan lingkungan.
- 2) Fase eksponensial adalah fase dimana bakteri melakukan pembelahan secara biner dengan jumlah kelipatan (eksponensial). Pada fase ini, terjadi lonjakan peningkatan jumlah biomassa sel, sehingga bisa diketahui seberapa besar terjadi pertumbuhan secara optimal dan tingkatan produktifitas biomassa sel.
- 3) Fase stasioner adalah fase dimana bakteri sudah tidak melakukan pembelahan lagi. Ada 3 penyebab utama yang menyebabkan fase tersebut, diantaranya adalah ketidaktersediaan nutrient, penumpukan metabolit penghambat dan produk akhir, kekurangan ruang gerak pada fase stasioner disebut "*Lack of Biological Space*".
- 4) Fase kematian adalah fase keterlanjutan dari fase stasioner adalah fase kematian, dimana akan terjadi pengurangan jumlah sel bakteri yang hidup. Fase kematian ditandai dengan jumlah sel yang mati lebih banyak daripada

sel yang hidup karena nutrisi semakin menurun (bahkan habis), energi cadangan didalam sel juga habis dan terkumpulnya produk limbah.

Ragi tape dan ragi roti mempunyai temperatur maksimal sekitar 40-50°C dengan temperatur minimum 0°C. Pada interval 15-30°C fermentasi mengikuti pola bahwa semakin tinggi suhu, fermentasi makin cepat berlangsung. suhu optimum untuk ragi roti adalah 19-32°C dan suhu optimum untuk ragi tape adalah 35-47°C. Oleh karena itu, pengaturan suhu dibuat dalam range tersebut (Winarno & Fardiaz, 1992).

### **2.3.2. Ragi Roti**

Dalam proses fermentasi untuk menghasilkan etanol salah satunya dapat memakai ragi roti. Ragi roti ialah produk yang dibuat dengan membiakkan khamir jenis *Saccharomyces cerevisiae* dalam media serelia atau bahan lain yang sesuai, dikeringkan, serta mempunyai kemampuan meragikan adonan tepung pada pembuatan roti dan kue-kue (Standar Nasional Indonesia Departemen Pertanian, 1992).

Ragi roti mengandung enzim yang langsung berkaitan dengan fermentasi ada 3 yaitu maltase, invertase dan zimase. Maltase mengubah maltosa menjadi glukosa. Invertase mengubah sukrosa menjadi fruktosa dan glukosa. Zimase mengubah fruktosa dan glukosa menjadi gas karbondioksida. Keuntungan menggunakan ragi roti antara lain adalah :

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

(Sumber: *P.T Sangra Ratu Boga, 2014*).

### **2.3.3. Ragi Tape**

Ragi tidak untuk dikonsumsi, tetapi digunakan untuk pemecah pati dalam pembuatan tape ketan, brem, tape ketela, dan arak. Pada umumnya, ragi yang

digunakan untuk membuat makanan fermentasi, seperti tape dan tempe, mengandung lebih dari satu jenis mikroorganisme yaitu khamir, kapang, dan bakteri.

Mikroorganisme dalam ragi telah diidentifikasi. Mikroorganisme dari ragi teridentifikasi dua spesies khamir, yaitu *Candida lactose* dan *Pichia malanga*. Penelitian lain berhasil mengidentifikasi kapang *Chlamydomucor oryzae*, lima spesies dari genus *Mucor* dan satu spesies *Rhizopus*, serta khamir *Pichia burtonii* dan *Endomycopsis fibuliger* dari ragi tape.

Penelitian terbaru mengungkapkan spesies-spesies lain yang terdapat dalam ragi tape, antara lain khamir *Candida utilis*, *S. cerevisiae*, bakteri *Pediococcus* sp. dan *Bacillus* sp. Berdasarkan uraian tersebut, dapat disimpulkan bahwa mikroorganisme yang terdapat dalam ragi tape meliputi kapang *Amylomyces rouxii*, *Mucor* sp., dan *Rhizopus* sp., khamir *S. fibuligera*, *S. malanga*, *Pichia burtonii*, *S. cerevisiae*, *Candida utilis*, dan bakteri *Pediococcus* sp. dan *Bacillus* sp. (Nur, 2010: 28-32).

### **Penunjang Pertumbuhan Ragi**

Ragi membutuhkan beberapa unsur sebagai nutrisi penunjang pertumbuhannya. Unsur-unsur yang dibutuhkan antara lain :

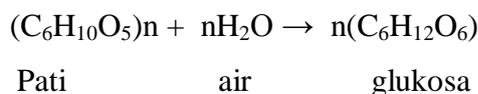
- a. Karbon : merupakan sumber utama dari ragi
- b. Hidrogen : berfungsi sebagai pengatur pH untuk pertumbuhan ragi
- c. Oksigen : merupakan faktor pertumbuhan yang penting bagi ragi karena tidak ada oksigen sama sekali akan menghambat pertumbuhan ragi
- d. Nitrogen : merupakan penyusun sel ragi dan mengisi 10% dari berat kering ragi
- e. Belerang : merupakan unsur yang berperan pada proses biosintesis pada sel ragi
- f. Fosfor : berperan penting dalam pembentukan ortofosfat, yaitu senyawa yang berfungsi sebagai substrat dan kofaktor enzim
- g. K dan Mg : berperan dalam membangun lingkungan kation di sel ragi.

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

## 2.4. 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).

Hidrolisis diterapkan pada reaksi kimia yang berupa organik atau anorganik dimana air mempengaruhi dekomposisi ganda dengan campuran yang lain, hidrogen akan membentuk satu komponen dan hidroksil ke komponen yang lain. Reaksi hidrolisis pati berlangsung menurut persamaan reaksi sebagai berikut:



Karena reaksi antara pati dengan air berlangsung sangat lambat, maka untuk memperbesar kecepatan reaksinya diperlukan penambahan katalisator. Penambahan katalisator ini berfungsi untuk memperbesar keaktifan air, sehingga reaksi hidrolisis tersebut berjalan lebih cepat. Katalisator yang sering digunakan adalah asam sulfat, asam nitrat, dan asam klorida.

### 2.4.1. Hidrolisis Asam

Dalam metode hidrolisis asam, biomassa lignoselulosa dipaparkan dengan asam pada suhu dan tekanan tertentu selama waktu tertentu dan menghasilkan monomer gula dari polimer selulosa dan hemiselulosa. Beberapa asam yang umum digunakan untuk hidrolisis asam antara lain adalah asam sulfat (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), asam perklorat, dan asam klorida (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.

Hidrolisis asam pekat merupakan teknik yang sudah dikembangkan cukup lama. Braconnot di tahun 1819 pertama menemukan bahwa selulosa bisa dikonversi menjadi gula yang dapat difermentasi dengan menggunakan asam pekat. Hidrolisis asam pekat menghasilkan gula yang tinggi dibandingkan dengan hidrolisis asam encer, dengan demikian akan menghasilkan ethanol yang lebih tinggi. Hidrolisis asam pekat dapat dilakukan pada suhu rendah. Namun demikian, konsentrasi asam yang digunakan sangat tinggi (30%-70%). Proses ini juga sangat korosif karena adanya pengenceran dan pemanasan asam. Proses ini membutuhkan peralatan yang mahal atau dibuat secara khusus. Recovery asam juga membutuhkan energi yang besar. Di sisi lain, jika menggunakan asam sulfat, dibutuhkan proses netralisasi yang menghasilkan limbah gypsum/kapur yang sangat banyak. Dampak lingkungan yang kurang baik dari proses ini membatasi penggunaan asam perklorat dalam proses ini.

Hidrolisis asam pekat juga membutuhkan biaya investasi dan pemeliharaan yang tinggi, dimana hal ini mengurangi ketertarikan untuk komersialisasi proses ini. Kelemahan dari hidrolisis asam encer adalah degradasi gula hasil dalam reaksi hidrolisis dan pembentukan produk samping yang tidak diinginkan. Degradasi gula dan produk samping ini tidak hanya akan mengurangi hasil panen gula, tetapi juga dapat menghambat pembentukan ethanol pada tahap fermentasi selanjutnya. Beberapa senyawa inhibitor yang dapat terbentuk selama proses hidrolisis asam encer adalah furfural, 5-hydroxymethylfurfural (HMF), asam levulinik (levulinic acid), asam asetat (acetic acid), asam format (formic acid), asam uronat (uronic acid), asam 4-hydroxybenzoic, asam vanilik (vanilic acid), vanillin, phenol, cinnamaldehyde, formaldehida (formaldehyde), dan beberapa senyawa lain.

#### **2.4.2. Hidrolisis Enzimatik**

Hidrolisis enzimatik lebih menarik dari sisi penggunaan energi karena dapat dilangsungkan pada temperature rendah dan menghasilkan perolehan glukosa sampai 70%, akan tetapi laju reaksinya lambat (T. de Vrije, 2002). Kesulitan lain pada hidrolisis enzimatis adalah tingginya harga enzim komersial.

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.

Enzim selulase terdiri dari tiga komponen yaitu endo-1,4- $\beta$ -D-glukanase, ekso-1,4- $\beta$ -D-glukanase dan 1,4- $\beta$ -D-glukosidase yang dapat dihasilkan oleh berbagai macam mikroorganisme. *Trichoderma reesei* mampu menghasilkan endoglukanase sampai 80% tetapi  $\beta$ -glukosidasenya rendah lebih rendah dari yang dibutuhkan untuk menghidrolisis selulosa sampai menjadi glukosa secara efisien, sehingga produk utama hidrolisisnya bukan glukosa melainkan selobiosa yang merupakan inhibitor kuat terhadap endoglukanase dan eksoglukanase (A. Ahamed, 2008).

Hidrolisis pati dapat menggunakan enzim  $\alpha$ -amilase dan glukoamilase. Enzim  $\alpha$ -amilase merupakan endo-enzim yang dapat memecah ikatan  $\alpha$ -1,4 glikosidik secara acak dibagian dalam molekul baik pada amilosa maupun pada amilopektinnya. 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*.

#### **2.4.3. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Hidrolisis Pati**

Faktor-faktor yang mempengaruhi hidrolisis pati menurut Groggins, 1992 antara lain :

a. Suhu

Dari kinetika reaksi, semakin tinggi suhu reaksi makin cepat pula jalannya reaksi. Tetapi apabila proses berlangsung pada suhu 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 atas waktu tertentu akan diperoleh konversi yang relatif baik dan apabila waktu tersebut diperpanjang, penambahan konversi kecil sekali.

c. Pencampuran reaksi

Karena 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.

## 2.5. Fermentasi

Fermentasi merupakan ilmu yang dianggap sangat tua karena semenjak zaman dahulu telah banyak dilakukan pembuatan makanan dan minuman yang merupakan hasil fermentasi. Fermentasi adalah proses produksi energi dalam sel dalam keadaan anaerobik (tanpa oksigen). Secara umum, fermentasi adalah salah satu bentuk respirasi anaerobik, akan tetapi, terdapat definisi yang lebih jelas yang mendefinisikan fermentasi sebagai respirasi dalam lingkungan anaerobik dengan tanpa akseptor elektron eksternal (Winarno & Fardiaz, 1992). Gula adalah bahan yang umum dalam fermentasi. Beberapa contoh hasil fermentasi adalah etanol, asam laktat, dan hidrogen. Akan tetapi beberapa komponen lain dapat juga dihasilkan dari fermentasi seperti asam butirat dan aseton (Satuhu & Supardi, 1994).

Fermentasi bioetanol dapat didefinisikan sebagai proses penguraian gula menjadi bioetanol dan karbondioksida yang disebabkan enzim yang dihasilkan oleh massa sel mikroba. Perubahan yang terjadi selama proses fermentasi adalah glukosa menjadi bioetanol oleh sel-sel ragi tape dan ragi roti (Prescott and Dunn, 1959). Proses fermentasi mempunyai enam komponen dasar, yaitu :

1. Susunan medium yang digunakan selama pengembangan inokulum dan di dalam fermentor.

2. Sterilisasi medium, fermentor, dan peralatan yang lain.
3. Aktivitas produksi, pemanfaatan kultur murni, jumlah inokulum untuk produksi. Pertumbuhan mikroba dalam fermentor produksi pada kondisi optimum untuk pembentukan hasil.
4. Ekstraksi produk dan pemurnian.
5. Penanganan limbah yang dihasilkan selama proses.

Fermentasi alkohol adalah proses penguraian karbohidrat menjadi etanol dan CO<sub>2</sub> yang dihasilkan oleh aktivitas suatu jenis mikroba yang disebut khamir dan keadaan anaerob. Perubahan ini 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. Perubahan yang terjadi selama proses fermentasi adalah glukosa menjadi bioetanol oleh sel-sel ragi tape dan ragi roti (Prescott and Dunn, 1959).



Variabel yang berpengaruh pada proses fermentasi adalah bahan baku, suhu, lama fermentasi, pH, mikroba (ragi), dan makanan.

- a. Bahan Baku
 

Pada umumnya bahan baku yang mengandung senyawa organik terutama glukosa dan pati dapat digunakan sebagai substrat dalam proses fermentasi bioetanol (Prescott and Dunn, 1959).
- b. Suhu
 

Suhu berpengaruh terhadap proses fermentasi melalui dua hal secara langsung mempengaruhi aktivitas enzim khamir dan secara langsung mempengaruhi hasil alkohol karena adanya penguapan, seperti proses biologis (enzimatik) yang lain.
- c. Lama fermentasi
 

Lama fermentasi biasanya ditentukan pada jenis bahan dan jenis yeast serta gula. Fermentasi berhenti ditandai dengan tidak terproduksinya lagi CO<sub>2</sub>.

Kadar etanol yang dihasilkan akan semakin tinggi sampai waktu optimal dan setelah itu kadar etanol yang dihasilkan menurun (Prescott and Dunn, 1959).

d. Keasaman (pH)

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

e. Mikroba (Ragi)

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).

f. 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).

## 2.6. Destilasi

Destilasi adalah cara pemisahan zat cair dari campurannya berdasarkan perbedaan titik didih atau berdasarkan kemampuan zat untuk menguap. Dimana zat cair dipanaskan hingga titik didihnya, serta mengalirkan uap ke dalam alat pendingin (kondensor) dan mengumpulkan hasil pengembunan sebagai zat cair. Pada kondensor digunakan air yang mengalir sebagai pendingin. Air pada kondensor dialirkan dari bawah ke atas, hal ini bertujuan supaya air tersebut dapat

mengisi seluruh bagian pada kondensor sehingga akan dihasilkan proses pendinginan yang sempurna.

Saat suhu dipanaskan, cairan yang titik didihnya lebih rendah akan menguap terlebih dahulu. Uap ini akan dialirkan dan kemudian didinginkan sehingga kembali menjadi cairan yang ditampung pada wadah terpisah. Zat yang titik didihnya lebih tinggi masih tertinggal pada wadah semula. Prinsip dari destilasi adalah penguapan dan pengembunan kembali uapnya dari tekanan dan suhu tertentu.

Tujuan dari destilasi adalah pemurnian zat cair pada titik didihnya dan memisahkan cairan dari zat padat. Uap yang dikeluarkan dari campuran disebut sebagai uap bebas. Kondensat yang jatuh sebagai destilat dan bagian cair yang tidak menguap sebagai residu. Apabila yang diinginkan adalah bagian bagian campurannya yang tidak teruapkan dan bukan destilatnya maka proses tersebut dinamakan pengentalan dengan evaporasi. Destilasi adalah sebuah aplikasi yang mengikuti prinsip-prinsip "Jika suatu zat dalam larutan tidak sama-sama menguap, maka uap larutan akan mempunyai komponen yang berbeda dengan larutanaslinya". Jika salah satu zat menguap dan yang lain tidak, pemisahan dapat terjadi sempurna. Tetapi jika kedua zat menguap tetapi tidak sama, maka pemisahannya hanya akan terjadi sebagian, akan tetapi destilat atau produk akan menjadi kaya pada suatu komponen dari pada larutan aslinya.

### **2.6.1. Jenis-jenis Destilasi**

#### **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 ke dalam 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 mendistilasinya tidak perlu terlalu tinggi.

## 2.7. 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.

### 2.7.1. 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<sub>2</sub> + 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.

Prinsip : 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).

### 2.7.2. 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 atraksi atau afinitas antara komponen-komponen campuran itu dengan kedua fase, menyebabkann komponen-komponen itu bergerak dengan kecepatan berbeda melalui kolom.

### **2.7.3. Kelebihan dan Kekurangan Kromatografi Gas**

#### **1. Kelebihan**

- a. Waktu analisis yang singkat dan ketajaman pemisahan yang tinggi
- b. Dapat menggunakan kolom lebih panjang untuk menghasilkan efisiensi pemisahan yang tinggi
- c. Gas mempunyai viskositas yang rendah
- d. Kesetimbangan partisi antara gas dan cairan berlangsung cepat sehingga analisis relatif cepat dan sensitifitasnya tinggi
- e. Pemakaian fase cair memungkinkan kita memilih dari sejumlah fase diam yang sangat beragam yang akan memisahkan hampir segala macam campuran.

#### **2. Kekurangan**

- a. Teknik Kromatografi gas terbatas untuk zat yang mudah menguap
- b. Kromatografi gas tidak mudah dipakai untuk memisahkan campuran dalam jumlah besar. Pemisahan pada tingkat mg mudah dilakukan, pemisahan pada tingkat gram mungkin dilakukan, tetapi pemisahan dalam tingkat pon atau ton sukar dilakukan kecuali jika ada metode lain.
- c. Fase gas dibandingkan sebagian besar fase cair tidak bersifat reaktif terhadap fase diam dan zat terlarut.

## 2.8. Penelitian Terdahulu

Penelitian mengenai bioetanol sudah banyak dilakukan serta dipublikasikan dengan maksud menambah referensi tentang pembuatan bioetanol dari berbagai macam bahan baku. Berikut merupakan beberapa dari penelitian tersebut yakni :

- a. Sulistyani (2010) mengatakan bahwa terhadap berbagai jenis bonggol pisang, terdapat indikasi bahwa tidak ada pengaruh terhadap penggunaan jenis bonggol pisang ini dalam penentuan kadar etanol yang diperoleh dari pembuatan bioetanol.
- b. Menurut Solikhin Nurjati, dkk. (2012) yang menganalisa mengenai pengaruh jumlah starter yang ditambahkan dan waktu fermentasi menyatakan bahwa penambahan nutrisi dan konversi glukosa yang optimum adalah pada starter 8% dengan waktu fermentasi 5 hari dengan kadar etanol sebesar 12,2% v/v. Semakin banyak nutrisi yang dihasilkan, maka semakin baik pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae*, sehingga memicu penambahan glukosa menjadi etanol semakin banyak pula.
- c. Menurut Warsa I Wayan, (2013) menyatakan bahwa dari penelitian yang telah dilakukan, didapatkan bahwa kandungan pati (karbohidrat) dalam bonggol pisang kepok sebesar 48,26%. Dari hasil tersebut maka memungkinkan untuk dijadikan bioetanol dengan cara proses hidrolisis menggunakan enzim yang kemudian dilanjutkan dengan proses fermentasi. Dari proses hidrolisis menggunakan enzim alfa-amilase dan enzim glukamilase didapatkan hasil uji glukosa sebesar 10,05%, dari hasil ini maka bahan tersebut dapat dilanjutkan sampai pada tahap fermentasi. Pada proses fermentasi kondisi terbaik diperoleh pada penambahan starter dengan konsentrasi starter 9 % dan waktu fermentasi selama 7 hari yang menghasilkan kadar etanol sebesar 9,90%. Proses destilasi dilakukan selama 9 jam dan menghasilkan bioetanol dengan konsentrasi 30,59%.
- d. Setiawati, dkk. (2013) dengan judul Pembuatan Bioetanol dari Kulit Pisang Kepok yang menganalisa mengenai pengaruh jenis ragi, pengaruh konsentrasi ragi, pengaruh pH, pengaruh lama fermentasi dan pengaruh

perebusan umpan terhadap hasil bioetanol yang diperoleh. Dimana hasil penelitian mengatakan bahwa dengan menggunakan ragi roti kadar bioetanol yang dihasilkan lebih baik yaitu sebesar 6,1277% dibanding ragi tape yang hanya menghasilkan kadar bioetanol sebesar 5,2897%. Pada konsentrasi ragi 3% berat sampel, dihasilkan kadar bioetanol yang baik yaitu sebesar 7,0774%. Pada pH 4, dihasilkan bioetanol yang baik yaitu sebesar 7,5995%. Pada waktu fermentasi 2 hari dihasilkan bioetanol yang baik yaitu sebesar 6,2646%. Dengan perebusan bahan baku terlebih dahulu dihasilkan kadar bioetanol yang baik yaitu sebesar 9,7917% dibanding dengan kadar bioetanol tanpa perebusan yaitu sebesar 6,2646%.

Berdasarkan beberapa referensi penelitian terdahulu tersebut, penelitian yang akan dilakukan berupa pembuatan bioetanol dari limbah bonggol pisang dengan variasi temperatur inkubasi dan jenis ragi yang baik untuk menghasilkan kadar bioetanol dengan kondisi optimum dari variasi temperatur 20°C, 25°C, 30°C, 35°C dan 40°C dengan jenis ragi yang digunakan yaitu ragi roti dan ragi tape (*Saccharomyces cerevicae*) yang dapat memproduksi alkohol dalam jumlah besar dan mempunyai toleransi pada kadar alkohol yang tinggi. Ragi tape dan ragi roti yang bersifat stabil, tidak berbahaya atau menimbulkan racun, mudah didapat 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 K., 1989). Kemudian waktu fermentasi selama 4 hari dan pH antara 4-5. Sedangkan untuk menganalisa hasil kadar etanolnya digunakan *Gas Chromatography*.