

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Data Hasil Penelitian

Setelah dilakukan penelitian bioetanol dari limbah sabut kelapa menggunakan metode SSF (*Simultan Sacharification Fermentation*) menggunakan alat bioetanol di Llaboratorium Energi Politeknik Negeri Sriwijaya, didapatkan hasil penelitian dengan variasi ragi *saccharmyces cerevisiae* (2%, 3%, 4%, 5%, 6%) dan waktu fermentasi (4 hari dan 6 hari) dengan pengambilan data sebanyak 10 sample. Berikut ini hasil penelitian bioetanol dari limbah sabut kelapa pada **Tabel 4.1**.

Tabel 4.1 Data Hasil Pengamatan Bioetanol dengan Metode *Simultaneous Saccharification Fermentation* (SSF)

No	Waktu Fermentasi (Hari)	Ragi <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (%)	Volume Etanol (ml)	Kadar Etanol (%)
1	4	2	230	27
		3	250	29
		4	246	26
		5	186	23
		6	150	21
2	6	2	140	25
		3	175	26
		4	197	30
		5	250	21
		6	280	27

Tabel 4.2 Data Hasil Analisa Karakteristik Bioetanol Metode *Simultaneous*

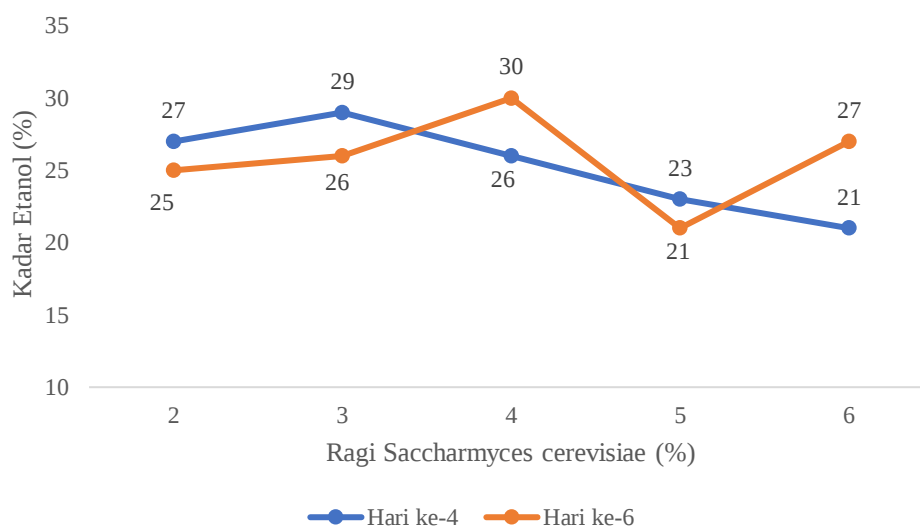
No	Waktu Fermentasi (Hari)	Ragi <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (%)	Densitas (gr/ml)	Indeks Bias	Viskositas (cSt)	Kadar Air (%)
1	4	2	0,9452	1,3509	1,0266	31,56
		3	0,9845	1,3540	1,0519	35,01
		4	0,9898	1,3493	1,0139	31,75
		5	0,9685	1,3447	1,0012	31,35
		6	0,9338	1,3432	0,9885	31,14
2	6	2	0,9107	1,3478	1,0139	31,56
		3	0,9765	1,3493	1,0392	32,73
		4	0,9580	1,3556	1,090	33,05

5	0,9265	1,3432	1,0012	35,07
6	0,9779	1,3417	0,9759	35,17

No	Waktu Fermentasi (Hari)	Ragi <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (%)	Titik nyala (°C)
1	4	3	49,8
2	6	4	47,4

4.2 Pembahasan

4.2.1 Pengaruh waktu fermentasi dan ragi *saccharomyces cerevisiae* terhadap kadar bioetanol



Gambar 4.1 Grafik Pengaruh variasi ragi *saccharomyces cerevisiae* dan waktu terhadap kadar bioetanol dari sabut kelapa dengan metode *Saccharification and Fermentation (SSF)*

Berdasarkan grafik pada Gambar 4.1 pengaruh variasi ragi *saccharomyces cerevisiae* terhadap kadar bioetanol, menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ragi tidak selalu menghasilkan peningkatan kadar bioetanol. Ragi *Saccharomyces cerevisiae* berfungsi sebagai agen fermentasi yang mengubah gula hasil hidrolisis menjadi etanol dan karbon dioksida melalui aktivitas enzimatis (Jannah et al., 2024). Jumlah ragi yang digunakan akan menentukan banyaknya sel khamir yang berperan dalam proses fermentasi. Semakin banyak sel khamir yang aktif hingga batas tertentu, semakin besar kemampuan fermentasi dalam mengonversi gula menjadi etanol (Anggriani et al., 2020).

Hasil penelitian menunjukkan kadar etanol yang dihasilkan dipengaruhi oleh konsentrasi ragi *Saccharomyces cerevisiae* dan lama fermentasi. Pada fermentasi hari ke-4, kadar etanol mengalami peningkatan dari 27% pada konsentrasi ragi 2% menjadi 29% pada konsentrasi ragi 3%. Namun, setelah itu kadar etanol menurun menjadi 26%, 23%, dan 21% pada konsentrasi ragi berturut-turut 4%, 5%, dan 6%.

Pada fermentasi hari ke-6, kadar etanol meningkat dari 25% pada konsentrasi ragi 2% menjadi 26% pada konsentrasi ragi 3%, kemudian mencapai nilai tertinggi sebesar 30% pada konsentrasi ragi 4%. Setelah itu terjadi penurunan menjadi 21% pada konsentrasi ragi 5%, namun kembali meningkat menjadi 27% pada konsentrasi ragi 6%.

Hasil tersebut menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ragi tidak selalu berbanding lurus dengan peningkatan kadar etanol. Pada konsentrasi ragi tertentu, jumlah sel ragi yang cukup mampu mengonversi gula menjadi etanol secara optimal sehingga menghasilkan kadar etanol yang lebih tinggi. Hal ini terlihat pada perlakuan ragi 4% dengan fermentasi 6 hari yang menghasilkan kadar etanol tertinggi sebesar 30%. penambahan ragi yang terlalu tinggi dapat menyebabkan persaingan nutrisi antar sel ragi sehingga proses fermentasi menjadi kurang efisien (Jannah et al., 2024). Selain itu, akumulasi etanol yang dihasilkan selama fermentasi juga dapat menghambat aktivitas ragi (*ethanol inhibition*), sehingga produksi etanol cenderung menurun. Kondisi ini terlihat pada perlakuan ragi 5%, di mana kadar etanol menurun baik pada fermentasi hari ke-4 maupun hari ke-6.

Perbedaan kadar etanol antara fermentasi hari ke-4 dan hari ke-6 menunjukkan bahwa lama fermentasi turut memengaruhi pembentukan etanol. Pada konsentrasi ragi 3%, 4%, dan 6%, fermentasi selama 6 hari menghasilkan kadar etanol yang lebih tinggi dibandingkan fermentasi 4 hari. Hal ini menunjukkan bahwa waktu fermentasi yang lebih lama memberikan kesempatan bagi ragi untuk mengonversi gula menjadi etanol secara lebih maksimal. Namun pada konsentrasi ragi 2% dan 5%, kadar etanol pada hari ke-6 justru lebih rendah dibandingkan hari ke-4, yang mengindikasikan bahwa sebagian etanol mungkin telah mengalami

oksidasi atau terjadi penurunan aktivitas ragi akibat keterbatasan substrat dan akumulasi produk fermentasi.

Secara keseluruhan, perlakuan terbaik diperoleh pada konsentrasi ragi *Saccharomyces cerevisiae* 4% dengan lama fermentasi 6 hari yang menghasilkan kadar etanol tertinggi sebesar 30%. Hasil ini menunjukkan bahwa kombinasi konsentrasi ragi dan lama fermentasi yang optimal sangat penting untuk memperoleh produksi bioetanol yang maksimal (Rifka Alkhilyatul Ma'rifat, I Made Suraharta, 2024).

Meskipun metode Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF) memiliki keunggulan karena proses hidrolisis dan fermentasi berlangsung secara bersamaan sehingga dapat mengurangi akumulasi glukosa yang menghambat kerja enzim, kadar etanol yang diperoleh pada penelitian ini masih relatif rendah, yaitu berkisar antara 21–30%. Rendahnya kadar etanol tersebut diduga disebabkan oleh beberapa faktor. Salah satunya adalah proses hidrolisis yang belum berlangsung secara optimal karena pada metode SSF enzim selulase dan *Saccharomyces cerevisiae* bekerja secara bersamaan dalam satu reaktor dengan kondisi operasi yang sama, padahal enzim selulase memiliki suhu optimum sekitar 45–50°C, sedangkan *Saccharomyces cerevisiae* bekerja optimum pada suhu 30–35°C. Perbedaan kondisi optimum tersebut menyebabkan aktivitas enzim dalam menghidrolisis selulosa menjadi glukosa tidak berlangsung secara maksimal sehingga jumlah gula yang tersedia untuk difermentasi menjadi etanol menjadi terbatas (Pendse et al., 2023).

Sabut kelapa merupakan biomassa lignoselulosa yang memiliki kandungan lignin cukup tinggi sehingga meskipun telah dilakukan pretreatment menggunakan NaOH 0,5 M dan microwave, masih terdapat kemungkinan lignin belum terdegradasi secara sempurna. Lignin yang masih tersisa dapat menghalangi akses enzim selulase terhadap selulosa sehingga proses sakarifikasi menjadi kurang efektif dan menyebabkan jumlah glukosa yang dihasilkan lebih sedikit, yang pada akhirnya berdampak pada rendahnya kadar etanol yang diperoleh (Shukla et al., 2023).

Di samping itu, peningkatan konsentrasi ragi yang terlalu tinggi juga dapat menyebabkan persaingan nutrisi antar sel ragi, sedangkan etanol yang mulai

terakumulasi selama fermentasi dapat menghambat aktivitas metabolisme *Saccharomyces cerevisiae* (ethanol inhibition), sehingga efisiensi konversi glukosa menjadi etanol menurun. Faktor lain yang turut memengaruhi adalah karakteristik biomassa lignoselulosa yang memiliki struktur kompleks sehingga memerlukan pretreatment yang efektif agar selulosa lebih mudah diakses oleh enzim. Apabila proses delignifikasi belum optimal, maka efisiensi hidrolisis dan fermentasi akan menurun sehingga kadar etanol yang dihasilkan menjadi lebih rendah (Broda et al., 2022).

Oleh karena itu, kadar etanol pada penelitian ini masih tergolong rendah dibandingkan beberapa penelitian lain, terutama yang menggunakan metode Separate Hydrolysis and Fermentation (SHF). Pada metode SHF, tahap hidrolisis dan fermentasi dilakukan secara terpisah sehingga masing-masing proses dapat berlangsung pada kondisi optimum, yaitu hidrolisis pada suhu optimum enzim selulase dan fermentasi pada suhu optimum *Saccharomyces cerevisiae*. Kondisi tersebut menyebabkan pembentukan glukosa berlangsung lebih maksimal sebelum difermentasi menjadi etanol, sehingga efisiensi produksi bioetanol umumnya lebih tinggi dibandingkan metode SSF (Pendse et al., 2023).

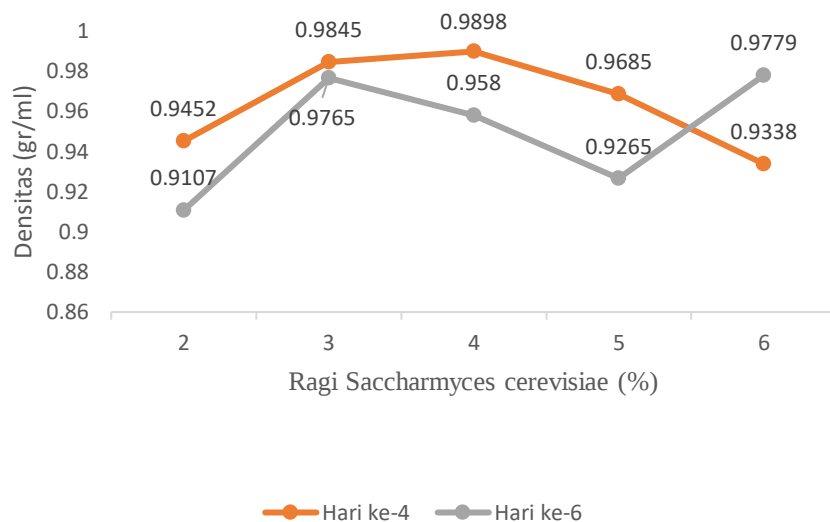
4.2.2 Pengaruh waktu fermentasi dan ragi *saccharomyces cerevisiae* terhadap karakteristik bioetanol

Bioetanol yang dihasilkan dari proses fermentasi limbah sabut kelapa memiliki karakteristik yang berbeda-beda tergantung pada kondisi fermentasi yang digunakan. Oleh karena itu, dilakukan pengujian terhadap beberapa parameter mutu bioetanol, yaitu densitas, indeks bias, viskositas dan titik nyala. Parameter-parameter tersebut dapat digunakan sebagai indikator untuk menilai tingkat kemurnian dan kualitas bioetanol yang diperoleh.

1. Densitas

Densitas merupakan salah satu sifat fisik bioetanol yang dapat digunakan sebagai indikator tingkat kemurnian produk. Pengukuran densitas dilakukan untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi ragi *Saccharomyces cerevisiae* dan waktu fermentasi terhadap kualitas bioetanol yang dihasilkan. Semakin tinggi kandungan etanol dalam larutan, maka nilai densitas yang diperoleh cenderung

semakin rendah. Oleh karena itu, parameter densitas digunakan untuk mengevaluasi mutu bioetanol hasil fermentasi limbah sabut kelapa.



Gambar 4.2 Grafik Pengaruh variasi ragi *saccharomyces cerevisiae* dan waktu terhadap densitas (gr/ml)

Berdasarkan Gambar 4.2 pengaruh konsentrasi ragi *Saccharomyces cerevisiae* dan waktu fermentasi terhadap densitas bioetanol, diperoleh nilai densitas yang bervariasi pada setiap perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa variasi konsentrasi ragi dan lama fermentasi memengaruhi nilai densitas bioetanol yang dihasilkan (Widyastuti et al., 2022). Pada fermentasi 4 hari, densitas mengalami peningkatan dari 0,9452 g/mL pada konsentrasi ragi 2% menjadi 0,9845 g/mL pada konsentrasi ragi 3%, kemudian 0,9898 g/mL pada konsentrasi ragi 4%. Sementara itu, pada fermentasi 6 hari nilai densitas tertinggi diperoleh pada konsentrasi ragi 6% yaitu sebesar 0,9779 g/mL, sedangkan densitas terendah diperoleh pada konsentrasi ragi 3% yaitu sebesar 0,9107 g/mL.

Densitas merupakan salah satu parameter yang dapat digunakan untuk mengetahui tingkat kemurnian bioetanol (Purwandani et al., 2020). Nilai densitas dipengaruhi oleh kandungan etanol dan air dalam larutan. Semakin tinggi kadar etanol yang terkandung, maka densitas bioetanol cenderung semakin rendah (Andara et al., 2025). karena densitas etanol ($\pm 0,789$ g/mL) lebih kecil dibandingkan densitas air ($\pm 1,000$ g/mL). Sebaliknya, semakin tinggi kandungan air atau senyawa pengotor lainnya, maka nilai densitas akan meningkat.

Jika dibandingkan dengan hasil kadar etanol yang diperoleh, terlihat adanya kecenderungan hubungan berbanding terbalik antara kadar etanol dan densitas. Pada perlakuan fermentasi 6 hari dengan konsentrasi ragi 4%, kadar etanol mencapai nilai tertinggi sebesar 30%, sedangkan densitas yang diperoleh relatif lebih rendah yaitu 0,9580 g/mL. Sebaliknya, pada perlakuan dengan kadar etanol yang lebih rendah, densitas cenderung lebih tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan kadar etanol dalam larutan berpengaruh terhadap penurunan densitas bioetanol yang dihasilkan.

Perbedaan nilai densitas pada setiap perlakuan juga menunjukkan bahwa proses fermentasi belum menghasilkan bioetanol dengan tingkat kemurnian yang sama. Selain etanol, hasil fermentasi dan distilasi masih mengandung air serta senyawa lain yang dapat memengaruhi nilai densitas (Visca et al., 2020). Variasi kandungan komponen tersebut menyebabkan densitas bioetanol yang dihasilkan berbeda-beda pada setiap perlakuan konsentrasi ragi dan waktu fermentasi.

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa konsentrasi ragi *Saccharomyces cerevisiae* dan lama fermentasi berpengaruh terhadap densitas bioetanol yang dihasilkan dari limbah sabut kelapa. Nilai densitas yang diperoleh menunjukkan adanya perbedaan tingkat kemurnian bioetanol pada setiap perlakuan, dimana perubahan densitas berkaitan erat dengan jumlah etanol yang terbentuk selama proses fermentasi dan distilasi.

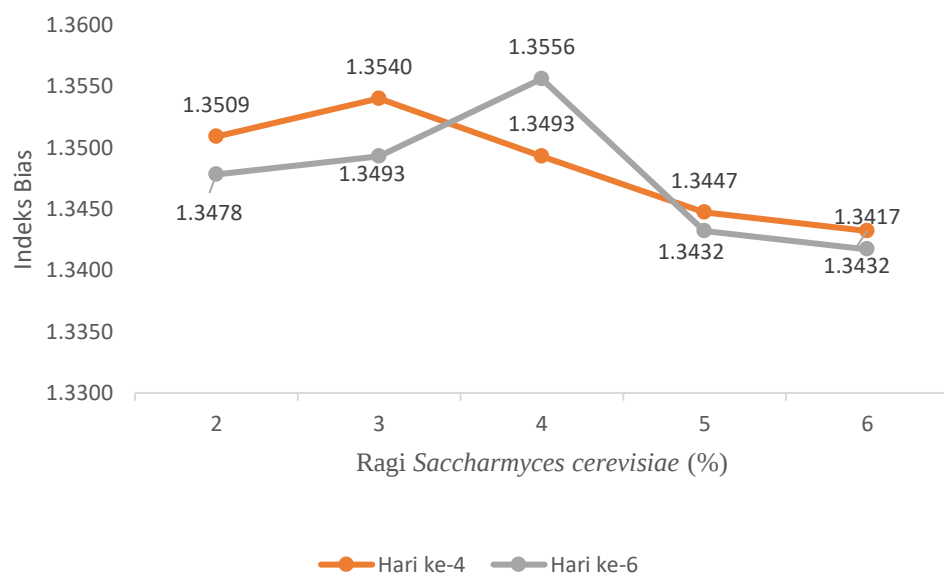
Meskipun variasi konsentrasi ragi dan lama fermentasi memengaruhi nilai densitas bioetanol, hasil penelitian menunjukkan bahwa seluruh nilai densitas yang diperoleh (0,9107–0,9898 g/mL) masih lebih tinggi dibandingkan densitas etanol murni. Hal ini mengindikasikan bahwa bioetanol yang dihasilkan masih mengandung air dan senyawa lain dalam jumlah yang cukup besar sehingga tingkat kemurniannya masih rendah. Salah satu penyebabnya adalah proses fermentasi pada metode Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF) yang dilakukan secara bersamaan, sehingga hidrolisis selulosa menjadi glukosa belum berlangsung secara optimal. Akibatnya, jumlah etanol yang terbentuk masih relatif sedikit dibandingkan kandungan air yang masih tersisa dalam hasil fermentasi, sehingga densitas bioetanol menjadi lebih tinggi (Pendse et al., 2023).

Selain itu, proses distilasi satu tahap yang digunakan dalam penelitian ini diduga belum mampu memisahkan etanol dari air secara sempurna. Campuran etanol dan air memiliki sifat azeotrop sehingga pemisahan menggunakan distilasi sederhana memiliki keterbatasan dalam menghasilkan etanol berkemurnian tinggi. Kandungan air yang masih tinggi setelah distilasi menyebabkan nilai densitas bioetanol tetap tinggi dan belum memenuhi standar bioetanol bahan bakar (David et al., 2023).

Faktor lain yang diduga memengaruhi tingginya densitas adalah masih adanya senyawa hasil fermentasi seperti gula yang belum terfermentasi, senyawa organik terlarut, gliserol, dan komponen lignoselulosa yang ikut terbawa selama proses distilasi. Keberadaan senyawa-senyawa tersebut dapat meningkatkan massa jenis larutan sehingga nilai densitas menjadi lebih besar dibandingkan etanol murni (Jayakumar et al., 2023). Kondisi ini juga sejalan dengan hasil kadar etanol pada penelitian yang hanya mencapai 21–30%, sehingga menunjukkan bahwa proses konversi selulosa menjadi etanol dan proses pemurnian belum berlangsung secara optimal.

2. Indeks Bias

Indeks bias merupakan parameter yang digunakan untuk menggambarkan kemampuan suatu medium dalam membiaskan cahaya. Nilai indeks bias dipengaruhi oleh konsentrasi zat terlarut dalam larutan. Pada penelitian, pengukuran indeks bias dapat digunakan sebagai indikator perubahan kadar gula dan padatan terlarut selama proses fermentasi berlangsung. Semakin tinggi konsentrasi zat terlarut, maka semakin tinggi pula nilai indeks bias yang dihasilkan.



Gambar 4.3 Grafik Pengaruh variasi ragi *saccharomyces cerevisiae* dan waktu terhadap indeks bias

Berdasarkan Gambar 4.3 hubungan konsentrasi ragi *Saccharomyces cerevisiae* dengan nilai indeks bias pada fermentasi hari ke-4 dan hari ke-6, nilai indeks bias bioetanol pada variasi konsentrasi ragi *Saccharomyces cerevisiae* selama fermentasi hari ke-4 dan hari ke-6 menunjukkan pola yang berfluktuasi. Pada fermentasi hari ke-4, nilai indeks bias sebesar 1,3509 pada konsentrasi ragi 2%, kemudian meningkat menjadi 1,3540 pada konsentrasi 3%. Selanjutnya, nilai tersebut menurun menjadi 1,3493 pada konsentrasi 4%, 1,3447 pada konsentrasi 5%, dan mencapai 1,3432 pada konsentrasi 6%. Sementara itu, pada fermentasi hari ke-6, indeks bias meningkat dari 1,3478 pada konsentrasi ragi 2% menjadi 1,3493 pada konsentrasi 3%, kemudian mencapai nilai tertinggi sebesar 1,3556 pada konsentrasi 4%. Setelah itu, nilai indeks bias mengalami penurunan menjadi 1,3432 pada konsentrasi 5% dan 1,3417 pada konsentrasi 6%.

Hasil tersebut menunjukkan bahwa variasi konsentrasi ragi dan lama fermentasi memengaruhi nilai indeks bias bioetanol, meskipun perubahan yang terjadi tidak bersifat linier. Peningkatan nilai indeks bias hingga konsentrasi ragi 2% pada hari ke-4 dan 4% pada hari ke-6 mengindikasikan bahwa pada kondisi tersebut proses fermentasi berlangsung lebih optimal sehingga pembentukan etanol lebih baik. Sebaliknya, pada konsentrasi ragi 5% nilai indeks bias mengalami penurunan. Hal ini diduga karena jumlah ragi yang terlalu tinggi menyebabkan

persaingan dalam memperoleh nutrisi dan ruang tumbuh, sehingga aktivitas metabolisme ragi menjadi kurang efisien. Akibatnya, proses konversi gula menjadi etanol tidak berlangsung secara maksimal.

Selain dipengaruhi oleh kadar etanol, indeks bias juga dipengaruhi oleh kandungan air dan senyawa lain yang masih terdapat dalam hasil fermentasi dan distilasi. Apabila kandungan air dan pengotor masih tinggi, maka nilai indeks bias akan berubah. Oleh karena itu, fluktuasi nilai indeks bias pada setiap perlakuan menunjukkan adanya perbedaan komposisi bioetanol yang dihasilkan akibat variasi konsentrasi ragi dan waktu fermentasi.

nilai indeks bias bioetanol yang diperoleh berada pada kisaran 1,3432–1,3556. Nilai tersebut menunjukkan bahwa bioetanol telah terbentuk, namun belum mencapai kemurnian etanol absolut karena masih terdapat kandungan air dan komponen lain dalam hasil distilasi. Dengan demikian, variasi konsentrasi ragi *Saccharomyces cerevisiae* memberikan pengaruh terhadap karakteristik bioetanol yang dihasilkan, di mana kondisi terbaik berdasarkan parameter indeks bias diperoleh pada konsentrasi 2% untuk fermentasi hari ke-4 dan 4% untuk fermentasi hari ke-6.

Indeks bias dipengaruhi oleh kandungan etanol, air, dan pengotor dalam hasil distilasi. Semakin mendekati nilai indeks bias etanol murni ($\pm 1,361$), maka bioetanol yang dihasilkan semakin murni. Fluktuasi nilai indeks bias pada penelitian ini menunjukkan bahwa proses fermentasi dan distilasi belum menghasilkan bioetanol dengan kemurnian yang seragam pada setiap perlakuan. Kondisi tersebut diduga disebabkan oleh kandungan gula hasil hidrolisis yang belum optimal, sehingga jumlah glukosa yang tersedia untuk difermentasi menjadi etanol masih terbatas. Selain itu, produksi bioetanol dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti konsentrasi ragi, ketersediaan nutrisi, suhu, pH, dan waktu fermentasi. Apabila salah satu faktor tersebut tidak berada pada kondisi optimum, maka pembentukan etanol menjadi kurang maksimal (Tse et al., 2021).

Peningkatan konsentrasi ragi tidak selalu meningkatkan kadar etanol maupun nilai indeks bias. Pada konsentrasi ragi yang terlalu tinggi (5–6%), dapat terjadi kompetisi antarsel ragi dalam memperoleh nutrisi dan ruang tumbuh sehingga efisiensi metabolisme menurun. Sebagian glukosa digunakan untuk

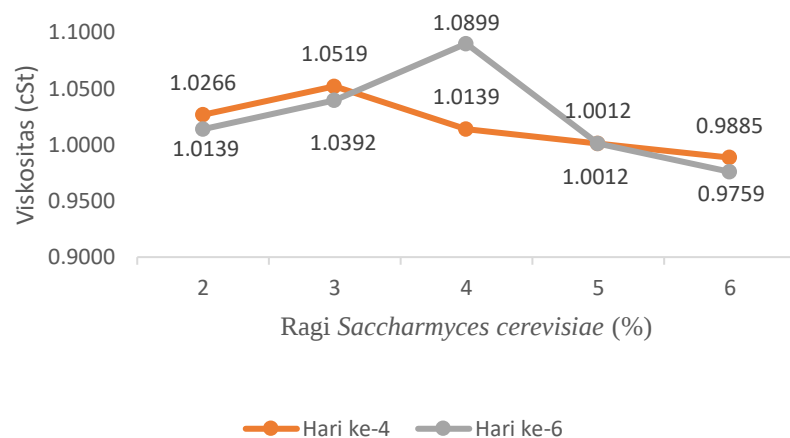
pertumbuhan biomassa dan pembentukan metabolit lain, seperti gliserol, asam organik, dan alkohol rantai tinggi (fusel alcohol), sehingga etanol yang dihasilkan menjadi lebih rendah (Eardley & Timson, 2020).

Selain itu, rendahnya nilai indeks bias juga menunjukkan bahwa proses hidrolisis selulosa kemungkinan belum berlangsung secara maksimal. Sabut kelapa merupakan biomassa lignoselulosa dengan kandungan lignin yang cukup tinggi sehingga sebagian selulosa masih terlindungi dan sulit diakses oleh enzim selulase. Akibatnya, glukosa yang dihasilkan selama hidrolisis menjadi terbatas dan berdampak pada rendahnya produksi etanol selama fermentasi (Mihajlovski et al., 2023).

Proses pemurnian melalui distilasi juga berpengaruh terhadap nilai indeks bias bioetanol. Distilasi konvensional hanya mampu meningkatkan kadar etanol hingga sekitar 95,6% karena etanol dan air membentuk campuran azeotrop. Oleh karena itu, hasil distilasi masih mengandung air sehingga nilai indeks bias yang diperoleh belum mencapai nilai indeks bias etanol murni ($\pm 1,361$). Untuk memperoleh etanol anhidrat ($>99,5\%$) diperlukan proses dehidrasi lanjutan, misalnya menggunakan molecular sieve atau pervaporation.

3. Viskositas

Viskositas merupakan sifat fisik yang menggambarkan tingkat kekentalan suatu cairan. Pengukuran viskositas pada penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi ragi *Saccharomyces cerevisiae* dan lama fermentasi terhadap karakteristik produk fermentasi yang dihasilkan. Perubahan nilai viskositas selama fermentasi dapat terjadi akibat perubahan komposisi zat terlarut yang dihasilkan dari aktivitas metabolisme mikroorganisme.



Gambar 4.4 Grafik Pengaruh variasi ragi *saccharomyces cerevisiae* dan waktu terhadap Viskositas

Berdasarkan Gambar 4.4 grafik nilai Viskositas bioetanol pada berbagai konsentrasi ragi *Saccharomyces cerevisiae* selama fermentasi hari ke-4 dan ke-6 berkisar antara 0,9759–1,090 cSt. Secara umum, nilai viskositas yang diperoleh relatif rendah dan mendekati viskositas etanol, yang menunjukkan bahwa hasil distilasi didominasi oleh campuran etanol dan air (Bekele Bayu et al., 2022).

Nilai viskositas bioetanol pada variasi konsentrasi ragi *Saccharomyces cerevisiae* selama fermentasi hari ke-4 dan hari ke-6 menunjukkan pola yang berfluktuasi. Pada fermentasi hari ke-4, viskositas meningkat dari 1,0266 cSt pada konsentrasi ragi 2% menjadi 1,0519 cSt pada konsentrasi 3%. Selanjutnya, viskositas menurun menjadi 1,0139 cSt pada konsentrasi 4%, kemudian kembali menurun menjadi 1,0012 cSt pada konsentrasi 5% dan 0,9885 cSt pada konsentrasi 6%. Sementara itu, pada fermentasi hari ke-6, nilai viskositas meningkat dari 1,0139 cSt pada konsentrasi ragi 2% menjadi 1,0392 cSt pada konsentrasi 3% dan mencapai nilai tertinggi sebesar 1,0899 cSt pada konsentrasi 4%. Setelah itu, viskositas menurun menjadi 1,0012 cSt pada konsentrasi 5% dan 0,9759 cSt pada konsentrasi 6%. Penurunan viskositas ini menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ragi hingga 6% mampu meningkatkan efektivitas fermentasi sehingga menghasilkan bioetanol dengan kandungan etanol yang lebih tinggi (Sotiriadou et al., 2023).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi ragi *Saccharomyces cerevisiae* dan lama fermentasi memengaruhi nilai viskositas bioetanol. Namun,

pola perubahan viskositas tidak sepenuhnya linier karena proses fermentasi dipengaruhi oleh berbagai faktor, seperti jumlah substrat yang tersedia, aktivitas enzim, pertumbuhan mikroorganisme, serta efisiensi proses distilasi. Nilai viskositas yang semakin rendah umumnya mengindikasikan kualitas bioetanol yang semakin baik karena kandungan etanol yang lebih tinggi.

Fluktuasi nilai viskositas pada penelitian ini menunjukkan bahwa proses fermentasi dan distilasi belum menghasilkan bioetanol dengan komposisi yang seragam pada setiap perlakuan. Perbedaan viskositas diduga dipengaruhi oleh jumlah etanol yang terbentuk, kandungan air yang masih tersisa, serta adanya senyawa lain seperti gula yang belum terfermentasi, gliserol, dan senyawa organik hasil fermentasi (Bekele Bayu et al., 2022).

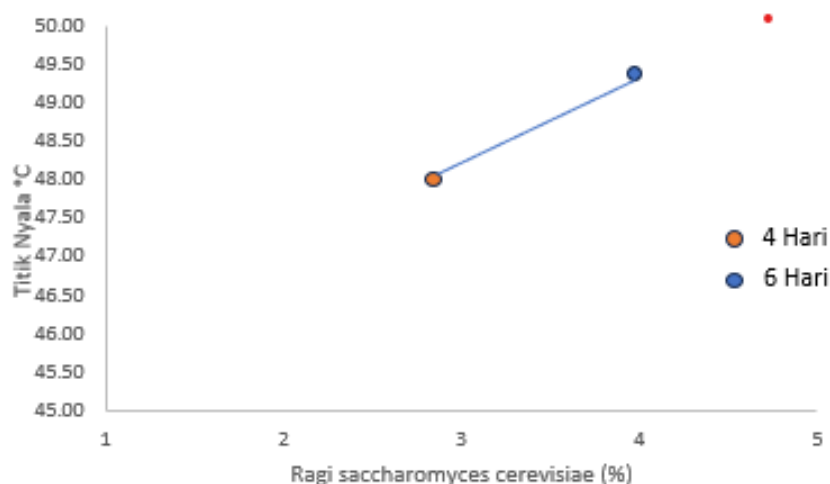
Pada fermentasi hari ke-6 dengan konsentrasi ragi 4%, viskositas mencapai nilai tertinggi yaitu 1,0899 cSt. Kondisi ini diduga disebabkan oleh proses fermentasi yang belum berlangsung secara optimal sehingga masih terdapat senyawa non-etanol yang meningkatkan kekentalan bioetanol. Selain itu, konsentrasi ragi yang semakin tinggi tidak selalu meningkatkan produksi etanol. Jumlah ragi yang berlebihan dapat menyebabkan kompetisi antarsel dalam memperoleh nutrisi dan substrat sehingga efisiensi konversi glukosa menjadi etanol menurun (Walker & Basso, 2020).

Penurunan viskositas pada konsentrasi ragi 5% dan 6% menunjukkan bahwa bioetanol yang dihasilkan memiliki komposisi yang lebih didominasi oleh etanol dibandingkan senyawa lain. Namun, nilai viskositas yang masih berada pada kisaran 0,9759–1,0899 cSt mengindikasikan bahwa bioetanol hasil penelitian belum sepenuhnya murni karena masih mengandung air dan komponen pengotor yang tidak dapat dipisahkan seluruhnya melalui distilasi sederhana (Broda et al., 2022)

Selain dipengaruhi oleh kadar etanol, viskositas bioetanol juga dipengaruhi oleh efisiensi hidrolisis selulosa. Apabila hidrolisis belum menghasilkan glukosa dalam jumlah yang cukup, maka fermentasi menjadi kurang optimal sehingga etanol yang terbentuk lebih sedikit. Akibatnya, komponen selain etanol masih mendominasi hasil distilasi dan menyebabkan nilai viskositas berfluktuasi (Tse et al., 2021)

4. Titik Nyala

Titik nyala (*flash point*) merupakan suhu terendah saat uap suatu bahan bakar mulai dapat menyala ketika diberi sumber api. Parameter ini digunakan untuk mengetahui tingkat kemudahan bahan bakar terbakar serta aspek keamanannya dalam penyimpanan dan penanganan. Semakin rendah nilai titik nyala, maka semakin mudah bahan tersebut menghasilkan uap yang dapat terbakar. Pada bioetanol, nilai titik nyala dipengaruhi oleh kadar etanol dan kandungan senyawa lain yang masih terdapat dalam produk hasil fermentasi dan distilasi. Oleh karena itu, pengukuran titik nyala dapat digunakan sebagai salah satu indikator kualitas bioetanol yang dihasilkan.



Gambar 4.5 Grafik Perbandingan Titik nyala

Berdasarkan Gambar 4.5 nilai titik nyala (*flash point*) bioetanol pada variasi konsentrasi ragi *Saccharomyces cerevisiae* menunjukkan adanya peningkatan antara fermentasi hari ke-4 dan hari ke-6. Pada fermentasi hari ke-4 dengan konsentrasi ragi 3%, titik nyala bioetanol yang diperoleh sebesar 47,7°C. Sementara itu, pada fermentasi hari ke-6 dengan konsentrasi ragi 4%, nilai titik nyala meningkat menjadi sekitar 49,8°C. Hasil tersebut menunjukkan bahwa variasi konsentrasi ragi dan lama fermentasi memengaruhi karakteristik bioetanol yang dihasilkan, meskipun peningkatannya tidak terlalu besar.

Peningkatan nilai titik nyala diduga berkaitan dengan perubahan komposisi bioetanol setelah proses fermentasi. Semakin lama fermentasi berlangsung,

semakin optimal proses konversi gula menjadi etanol (Maidangkay & Dosoputranto, 2021). Namun, apabila masih terdapat kandungan air atau senyawa pengotor yang terbawa setelah proses distilasi, maka sifat pembakaran bioetanol juga akan berubah (Sulistiawan & Nurdiansyah, 2022). Kandungan air yang lebih tinggi cenderung meningkatkan titik nyala karena campuran menjadi lebih sulit menghasilkan uap yang mudah terbakar. Sebaliknya, bioetanol dengan kemurnian yang lebih tinggi umumnya memiliki titik nyala yang lebih rendah karena lebih mudah menguap dan terbakar.

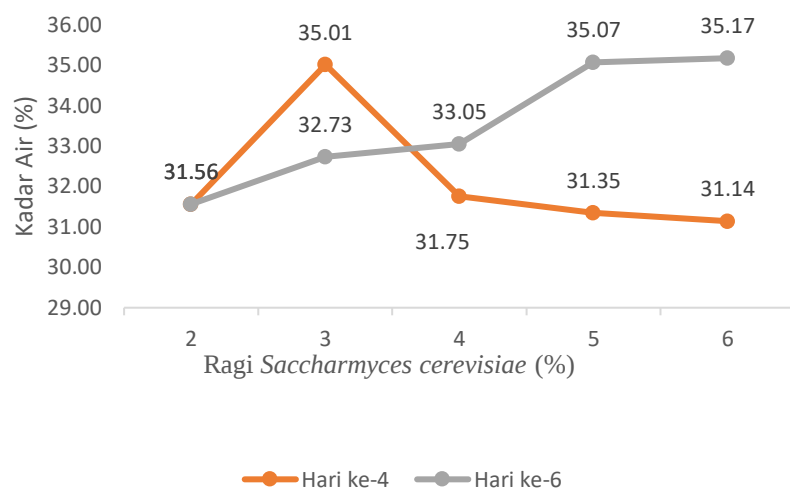
Selain dipengaruhi oleh lama fermentasi, konsentrasi ragi juga berperan dalam menentukan jumlah etanol dan senyawa hasil metabolisme yang terbentuk. Penggunaan ragi yang optimum akan meningkatkan aktivitas fermentasi sehingga menghasilkan etanol dalam jumlah lebih besar (Jasman & Ahmad, 2021). akan tetapi, apabila proses pemurnian belum berlangsung secara sempurna, masih adanya senyawa lain seperti air dan metabolit hasil fermentasi dapat memengaruhi nilai titik nyala bioetanol. Oleh karena itu, nilai titik nyala tidak hanya dipengaruhi oleh kadar etanol, tetapi juga oleh tingkat kemurnian bioetanol yang dihasilkan (Sulistiawan & Nurdiansyah, 2022).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ragi dari 2% menjadi 4% dan lama fermentasi dari 4 hari menjadi 6 hari cenderung meningkatkan nilai titik nyala bioetanol. Hal ini mengindikasikan bahwa variasi perlakuan fermentasi memengaruhi sifat mudah terbakar bioetanol melalui perubahan komposisi dan tingkat kemurnian produk akhir.

5. Kadar Air

Kadar air merupakan salah satu parameter penting dalam menentukan kualitas bioetanol. Semakin rendah kadar air yang terkandung dalam bioetanol, maka tingkat kemurnian etanol akan semakin tinggi. Sebaliknya, kadar air yang tinggi menunjukkan bahwa proses pemurnian atau distilasi belum berlangsung secara optimal sehingga masih terdapat air yang terbawa bersama etanol (Sulaiman, 2021). Keberadaan air dalam bioetanol dapat menurunkan kualitas bahan bakar karena memengaruhi sifat fisik bioetanol dan menurunkan nilai kalor. Oleh karena itu, kadar air perlu dikendalikan agar bioetanol yang dihasilkan memenuhi standar

mutu dan memiliki performa yang baik sebagai bahan bakar alternatif (Maidangkay & Dosoputranto, 2021).



Gambar 4.6 Grafik Pengaruh variasi ragi *saccharomyces cerevisiae* dan waktu terhadap Kadar Air

Berdasarkan Gambar 4.6 kadar air bioetanol menunjukkan perubahan pada setiap variasi konsentrasi ragi *Saccharomyces cerevisiae* dan lama fermentasi. Kadar air bioetanol pada variasi konsentrasi ragi *Saccharomyces cerevisiae* selama fermentasi hari ke-4 dan hari ke-6 menunjukkan pola yang berbeda. Pada fermentasi hari ke-4, kadar air sebesar 31,56% pada konsentrasi ragi 2%, kemudian meningkat menjadi 35,01% pada konsentrasi 3%. Selanjutnya, kadar air mengalami penurunan menjadi 31,75% pada konsentrasi 4%, 31,35% pada konsentrasi 5%, dan mencapai nilai terendah sebesar 31,14% pada konsentrasi 6%. Sementara itu, pada fermentasi hari ke-6, kadar air meningkat secara bertahap dari 31,56% pada konsentrasi ragi 2% menjadi 32,73% pada konsentrasi 3%, 33,05% pada konsentrasi 4%, 35,07% pada konsentrasi 5%, dan 35,17% pada konsentrasi 6%.

Perbedaan kadar air tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi ragi dan lama fermentasi memengaruhi kualitas bioetanol yang dihasilkan. Selama fermentasi, *Saccharomyces cerevisiae* mengubah gula menjadi etanol, sedangkan proses distilasi berfungsi memisahkan etanol dari air. Apabila proses pemisahan belum berlangsung secara optimal, maka kadar air pada bioetanol masih relatif tinggi sehingga kemurnian bioetanol menjadi lebih rendah. Hal ini sesuai dengan

penelitian mengenai bioetanol air leri yang menyatakan bahwa lama fermentasi dan proses distilasi berpengaruh terhadap kadar etanol yang dihasilkan sehingga menentukan kualitas bioetanol.

Pada penelitian ini, kadar air terendah diperoleh pada fermentasi 4 hari dengan konsentrasi ragi 6% sebesar 31,14%, sedangkan kadar air tertinggi diperoleh pada fermentasi 6 hari dengan konsentrasi ragi 6% sebesar 35,17%. Kondisi tersebut menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ragi dan lama fermentasi tidak selalu menghasilkan bioetanol dengan kadar air yang lebih rendah. Semakin banyak ragi yang digunakan atau semakin lama fermentasi berlangsung, tidak selalu meningkatkan kualitas bioetanol apabila proses pemurnian belum mampu memisahkan air secara efektif. Hasil serupa juga dilaporkan pada penelitian bioetanol dari kulit buah sukun, di mana konsentrasi ragi memengaruhi hasil fermentasi, namun kualitas bioetanol tetap dipengaruhi oleh proses pemurnian setelah fermentasi (Mulyadi et al., 2023).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar air bioetanol dipengaruhi oleh kombinasi konsentrasi ragi dan lama fermentasi. Kadar air merupakan salah satu parameter mutu bioetanol karena berkaitan dengan tingkat kemurnian produk. Semakin rendah kadar air yang dihasilkan, maka kualitas bioetanol cenderung semakin baik sehingga lebih layak digunakan sebagai bahan bakar alternatif.

Tingginya kadar air bioetanol pada penelitian ini menunjukkan bahwa proses fermentasi dan pemurnian belum berlangsung secara optimal. Hal ini diduga disebabkan oleh kadar gula hasil hidrolisis yang relatif rendah sehingga etanol yang terbentuk selama fermentasi belum maksimal. Selain itu, proses distilasi sederhana belum mampu memisahkan etanol dan air secara sempurna karena etanol dan air membentuk campuran azeotrop, sehingga sebagian air masih terbawa pada produk akhir (M. et al., 2022)

Faktor lain yang diduga memengaruhi tingginya kadar air adalah penggunaan konsentrasi ragi yang terlalu tinggi serta waktu fermentasi yang lebih lama. Kondisi tersebut dapat menyebabkan nutrisi dalam media fermentasi semakin berkurang dan aktivitas metabolisme *Saccharomyces cerevisiae* menurun, sehingga efisiensi konversi glukosa menjadi etanol tidak berlangsung secara optimal (Walker & Basso, 2020).

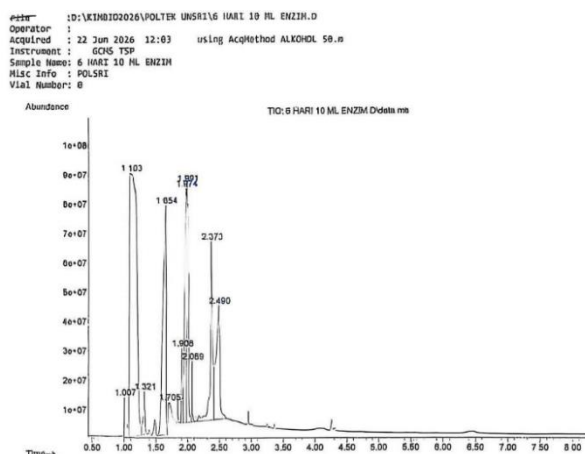
Untuk mengatasi permasalahan tersebut, diperlukan optimasi proses hidrolisis agar kadar gula yang dihasilkan lebih tinggi, misalnya dengan meningkatkan efektivitas pretreatment atau mengoptimalkan dosis enzim selulase. Selain itu, proses pemurnian dapat ditingkatkan menggunakan distilasi bertingkat atau dilanjutkan dengan proses dehidrasi, seperti molecular sieve atau pervaporation, sehingga kadar air bioetanol dapat diturunkan dan kemurnian etanol meningkat (M. et al., 2022).

4.2.3 Analisa GC-MS Bioetanol Sabut Kelapa Menggunakan Metode

Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF)

Analisis Gas Chromatography–Mass Spectrometry (GC-MS) dilakukan untuk mengidentifikasi komposisi senyawa kimia yang terdapat pada bioetanol hasil fermentasi dan distilasi. Metode ini memiliki kemampuan yang tinggi dalam memisahkan senyawa volatil berdasarkan waktu retensi (retention time) serta mengidentifikasi senyawa melalui pola fragmentasi ion yang dihasilkan oleh spektrometer massa, sehingga banyak digunakan dalam karakterisasi produk bioetanol (Swetachattr et al., 2019).

Hasil analisis GC-MS dapat menunjukkan keberadaan etanol sebagai komponen utama maupun senyawa lain yang masih terkandung dalam bioetanol, seperti alkohol, ester, aldehid, atau senyawa organik volatil lainnya yang terbentuk selama proses fermentasi. Informasi tersebut digunakan untuk mengevaluasi tingkat kemurnian bioetanol dan efektivitas proses produksi (Putri et al., 2025). analisis GC-MS menjadi salah satu metode karakterisasi yang penting dalam penelitian bioetanol karena mampu memberikan informasi yang akurat mengenai profil senyawa penyusun bioetanol hasil fermentasi dan distilasi.



Gambar 4.7 Analisa GC-MS Bioetanol Sabut Kelapa Menggunakan Metode *Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF)*

Berdasarkan hasil analisis GC-MS pada sampel bioetanol hasil fermentasi selama 6 hari dengan konsentrasi ragi *Saccharomyces cerevisiae* 4%, diperoleh kromatogram yang menunjukkan beberapa puncak (peak) pada waktu retensi sekitar 1,10; 1,65; 1,89; 2,37; dan 2,49 menit. Banyaknya puncak yang muncul menunjukkan bahwa sampel bioetanol masih mengandung lebih dari satu komponen, sehingga produk hasil fermentasi belum tersusun atas etanol murni.

Puncak dengan intensitas tertinggi menunjukkan komponen yang memiliki kelimpahan (abundance) paling besar di dalam sampel. Sementara itu, puncak-puncak lainnya mengindikasikan adanya senyawa lain yang kemungkinan merupakan hasil samping fermentasi atau senyawa yang masih terbawa selama proses distilasi. Keberadaan beberapa puncak tersebut menunjukkan bahwa proses pemurnian bioetanol belum berlangsung secara sempurna sehingga masih terdapat pengotor dalam sampel.

Hasil kromatogram juga menunjukkan bahwa sebagian besar senyawa terelusi pada waktu retensi kurang dari 3 menit, yang mengindikasikan bahwa komponen penyusun sampel merupakan senyawa dengan sifat mudah menguap (volatile compounds). Hal ini sesuai dengan karakteristik etanol dan senyawa alkohol rantai pendek yang memiliki titik didih relatif rendah.

Hasil analisis GC-MS digunakan untuk mengevaluasi komposisi kimia bioetanol hasil fermentasi. Semakin sedikit jumlah puncak selain etanol dan

semakin besar persentase area etanol, maka semakin tinggi tingkat kemurnian bioetanol yang dihasilkan.