

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ilalang

Ilalang atau rumput liar yang sering kita anggap sebagai tumbuhan pengganggu atau gulma, karena sifatnya yang dapat tumbuh dimana saja di lahan-lahan yang kosong. Tetapi tidak hanya sebagai tanaman pengganggu ternyata ilalang juga memiliki banyak manfaat karena unsur-unsur yang terkandung didalamnya. Tanaman Alang-alang atau Ilalang (Gambar 1) yang mempunyai nama latin *Imperata cylindrical* adalah sejenis rumput berdaun tajam, adapun tata nama binomial, rumput ilalang dapat dilihat pada Tabel 1.



Gambar 1. Rumput Ilalang.

Sumber: Shleser, 1994

Tabel 1. Nama binomial *Imperata cylindrical* (L.) Beauv.

Kerajaan	Plantae
Divisi	Magnoliophyta
Kelas	Liliopsida
Ordo	Poales
Famili	Poaceae
Genus	<i>Imperata</i>
Spesies	<i>I. cylindrical</i>

Sumber: Shleser, 1994

Rumput Ilalang merupakan rumput menahun dengan tunas panjang dan bersisik, merayap di bawah tanah. Ujung (pucuk) tunas yang muncul di tanah runcing tajam, serupa ranjau duri. Batang pendek, menjulang naik ke atas tanah dan berbunga, sebagian kerapkali (merah) keunguan, kerapkali dengan karangan rambut di bawah buku. Tinggi 0,2 – 1,5 m, di tempat-tempat lain mungkin lebih.

Helaian daun berbentuk garis (pita panjang) lanset berujung runcing, dengan pangkal yang menyempit dan berbentuk talang, panjang 12-80 cm, bertepi sangat kasar dan bergerigi tajam, berambut panjang di pangkalnya, dengan tulang daun yang lebar dan pucat di tengahnya. Karangan bunga dalam malai, 6-28 cm panjangnya, dengan anak bulir berambut panjang (putih) lk. 1 cm, sebagai alat melayang bulir buah bila masak.

Menurut beberapa penelitian, Rumput Ilalang mengandung unsur kimiawi yang berguna diantaranya mannitol, glukosa, asam malic, asam sitrat, coixol, arundoin, silindrin, fernerol, simiarenol, anemonin, esin, alkali, saponin, taninin, dan polifenol. Adapun kandungan kimia dari rumput ilalang dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kandungan Kimia Rumput Ilalang

Komposisi	Persentase (%)
Abu	5,42
Silika	3,67
Lignin	21,42
Pentosan	28,58
Selulosa	48,12

Sumber : Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Industri Selulosa, 1984

Dari beberapa unsur yang terkandung didalamnya, telah banyak masyarakat yang tertarik untuk memanfaatkannya dan meneliti kegunaannya. Tetapi sejauh ini belum ada yang meneliti untuk membuat bioetanol dari Rumput Ilalang. Dibanding dengan sumber nabati lain, Rumput Ilalang paling ekonomis menghasilkan bioetanol. Karena, Rumput Ilalang kaya lignoselulosa, tak memerlukan perawatan khusus, dan mudah tumbuh.

Hal inilah yang menunjang penelitian ini untuk dilakukan. Proses pembuatan bioetanol dari bahan baku Rumput Ilalang yang melewati 3 proses

dalam pembuatannya, yakni: proses hidrolisa asam, fermentasi dan destilasi untuk pemurnian etanol.

2.2 Pemanfaatan Ilalang

Pemanfaatan Rumput Ilalang sejauh ini diproses hanya untuk dijadikan obat-obatan tradisional untuk menyembuhkan berbagai penyakit. Akan tetapi, pemanfaatannya untuk menjadi bioetanol belum menjadi sorotan yang tajam dikalangan masyarakat. Etanol yang akan dihasilkan dari proses pengolahannya akan tampak bening. Dan proses pembuatannya dari bahan-bahan yang mengandung monosakarida ($C_6H_{12}O_6$), sebagai glukosa langsung dapat difermentasi menjadi ethanol, adapun bahan tanaman yang mengandung karbohidrat yang bisa dimanfaatkan menjadi bioetanol dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Bahan Tanaman Yang Mengandung Karbohidrat Menjadi Bioetanol

Sumber Karbohidrat	Hasil Panen Ton/ha/th	Perolehan Alkohol	
		Liter/ton	Liter/ha/th
Singkong	25 (236)	180 (155)	4500 (3658)
Tetes	3,6	270	973
Sorgum Bici	6	333,4	2000
Ubi Jalar	62,5*	125	7812
Sagu	6,8\$	608	4133
Tebu	75	67	5025
Nipah	27	93	2500
SorgumManis	80**	75	6000

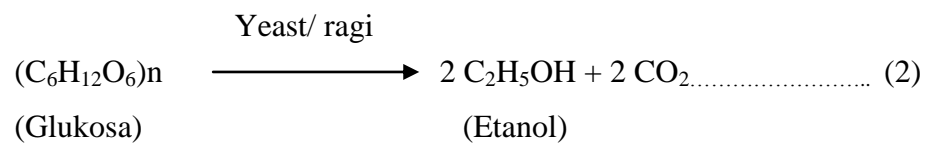
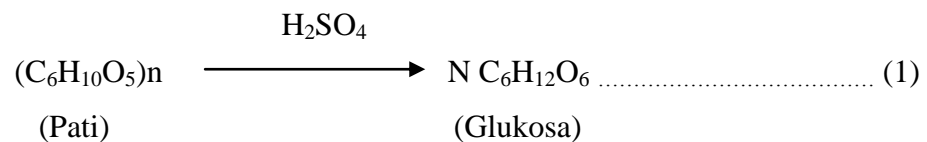
Sumber: Shleser, 1994

Keterangan :*) Panen 2 ½ kali/th; \$ sagu kering; ** panen 2 kali/th. Sumber: Villanueva (1981); kecuali sagu, dari Colmes dan Newcombe (1980); sorgum manis, dari Raveendram; dan Deptan (2006) untuk singkong; tetes dan sorgum biji (tulisan baru).

Akan tetapi disakarida pati, atau pun karbohidrat kompleks harus dihidrolisa terlebih dahulu menjadi komponen sederhana, monosakarida. Oleh karena itu, agar tahap proses fermentasi dapat berjalan secara optimal, bahan tersebut harus mengalami perlakuan pendahuluan sebelum masuk ke dalam proses fermentasi. Disakarida seperti gula pasir ($C_{12}H_{22}O_{11}$) harus dihidrolisa menjadi glukosa. Polisakarida seperti selulosa harus diubah terlebih dahulu menjadi

glukosa. Terbentuknya glukosa berarti proses pendahuluan telah berakhir dan bahan-bahan selanjutnya siap untuk difermentasi.

Rumput Ilalang yang kaya akan lignoselulosa merupakan senyawa polisakarida yang terdiri dari selulosa, hemiselulosa dan lignin. Selulosa dan hemiselulosa ini yang merupakan polimer dari glukosa yang dapat dipecah menjadi gula sederhana, dengan proses hidrolisis. Sebenarnya ada tiga tahapan proses yang penting untuk pembuatan bioetanol dari lignoselulosa ini, yaitu : proses hidrolisis selulosa menjadi gula, fermentasi gula menjadi etanol dan pemurnian etanol. Reaksi yang terjadi pada proses produksi etanol/bio-etanol secara sederhana ditunjukkan pada Reaksi 1 dan 2.



Sumber: Shleser, 1994

Molekul selulosa memanjang dan kaku, meskipun dalam larutan. Gugus hidroksil yang menonjol dari rantai dapat membentuk ikatan hidrogen dengan mudah, mengakibatkan kekristalan dalam batas tertentu. Derajat kekristalan yang tinggi menyebabkan modulus kekenyalan sangat meningkat dan daya regang serat selulosa menjadi lebih besar dan mengakibatkan makanan yang mengangung selulosa lebih liat (*John, 1997*). Selulosa yang merupakan polisakarida terbanyak di bumi dapat diubah menjadi glukosa dengan cara hidrolisis asam (*Groggins, 1958*).

Selulosa berfungsi sebagai bahan struktur dalam jaringan tumbuhan dalam bentuk campuran polimer homolog dan biasanya disertai polisakarida lain dan lignin dalam jumlah yang beragam.

2.3 Selulosa

Selulosa adalah polimer glukosa yang membentuk rantai linier dan dihubungkan oleh ikatan β -1,4 glikosidik. Struktur yang linier menyebabkan selulosa bersifat kristalin dan tidak mudah larut. Selulosa tidak mudah didegradasi secara kimia maupun mekanis. Di alam, biasanya selulosa berasosiasi dengan polisakarida lain seperti hemiselulosa atau lignin membentuk kerangka utama dinding sel tumbuhan (*Holtzaple dkk, 1993*).

Kebanyakan selulosa berasosiasi dengan lignin sehingga sering disebut sebagai lignoselulosa. Selulosa, hemiselulosa dan lignin dihasilkan dari proses fotosintesis. Pada saat yang sama, komponen-komponen utama penyusun tanaman ini diuraikan oleh aktifitas mikroorganisme. Beberapa mikroorganisme mampu menghidrolisis selulosa untuk digunakan sebagai sumber energi, seperti bakteri dan fungi (*Enari, 1983*). Rantai selulosa terdiri dari satuan glukosa anhidrida yang saling berikatan melalui atom karbon pertama dan keempat. Ikatan yang terjadi adalah ikatan β -1,4-glikosidik.

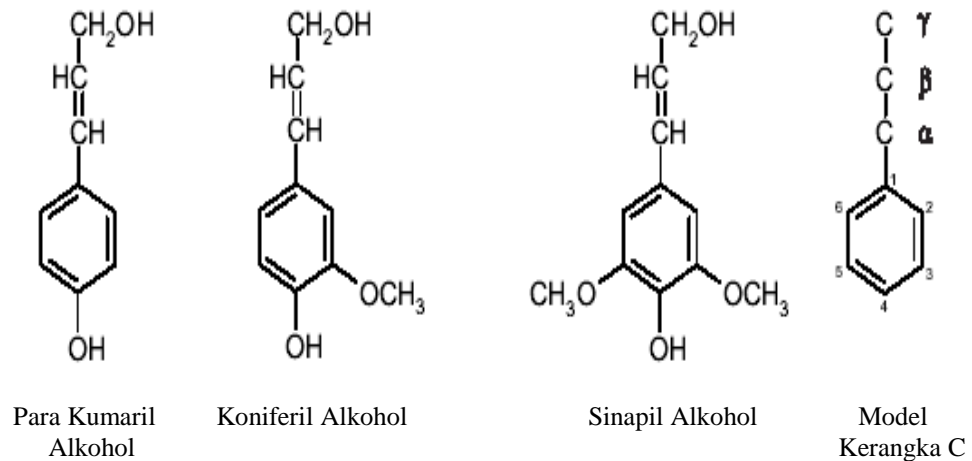
Selulosa dapat dikonversi menjadi produk-produk bernilai ekonomi yang lebih tinggi seperti glukosa, etanol dan pakan ternak dengan jalan menghidrolisis selulosa dengan bantuan selulase sebagai biokatalisator atau dengan hidrolisis secara asam/basa (*Ariestaningtyas, 1991*).

2.4 Lignin

Lignin adalah bagian utama dari dinding sel tanaman yang merupakan polimer terbanyak setelah selulosa. Lignin yang merupakan polimer aromatik berasosiasi dengan polisakarida pada dinding sel sekunder tanaman dan terdapat sekitar 20-40 %. Komponen lignin pada sel tanaman (monomer guasil dan siringil) berpengaruh terhadap pelepasan dan hidrolisis polisakarida.

Lignin adalah molekul kompleks yang tersusun dari unit *phenylpropane* yang terikat di dalam struktur tiga dimensi. Lignin adalah material yang paling kuat di dalam biomassa. Lignin sangat resisten terhadap degradasi, baik secara biologi, enzimatik, maupun kimia. Karena kandungan karbon yang relatif tinggi

dibandingkan dengan selulosa dan hemiselulosa, lignin memiliki kandungan energi yang tinggi. Adapun Satuan Penyusun Lignin, dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Satuan Penyusun Lignin

Sumber : Steffen, 2003

Pembuatan bahan-bahan lignoselulosa hingga menjadi etanol melalui empat proses utama yaitu pretreatment, hidrolisa, fermentasi, dan terakhir adalah pemisahan serta pemurnian produk etanol (*Mosier dkk., 2005*). Bahan-bahan lignoselulosa umumnya terdiri dari selulosa, hemiselulosa dan lignin. Selulosa secara alami diikat oleh hemiselulosa dan dilindungi oleh lignin. Adanya senyawa pengikat lignin inilah yang menyebabkan bahan-bahan lignoselulosa sulit untuk dihidrolisa (*Iranmahboob dkk., 2002*).

Dari beberapa unsur yang terkandung didalamnya, telah banyak masyarakat yang tertarik untuk memanfaatkannya dan meneliti kegunaannya. Tetapi sejauh ini belum ada yang meneliti untuk membuat bioetanol dari Rumput Ilalang. Dibanding dengan sumber nabati lain, Rumput Ilalang paling ekonomis menghasilkan bioetanol. Karena, Rumput Ilalang kaya lignoselulosa, tak memerlukan perawatan khusus, dan mudah tumbuh.

2.5 Bioetanol

Bioetanol adalah sebuah bahan bakar alternatif yang diolah dari tumbuhan, dimana memiliki keunggulan mampu menurunkan emisi CO hingga 18%. Di

Indonesia, minyak bioetanol sangat potensial untuk diolah dan dikembangkan karena bahan bakunya merupakan jenis tanaman yang banyak tumbuh dinegara ini dan sangat dikenal masyarakat. Bioetanol yang merupakan etanol yang dihasilkan dari fermentasi tumbuh-tumbuhan dengan bahan baku yang mudah didapat disekitar lingkungan. Ditinjau dari kebutuhan yang semakin meningkat , dimana hal ini dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Jumlah Kebutuhan Etanol Nasional

Tahun	Kebutuhan Etanol (liter)
2001	25.251.852
2002	21.076.317
2003	34.063.193
2004	230.613.100

Sumber : BPS, 2005

Bahan baku pembuatan bioetanol ini dibagi menjadi tiga kelompok yaitu :

a. Bahan sukrosa

Bahan - bahan yang termasuk dalam kelompok ini antara lain nira, tebu,nira nipati, nira sargum manis, nira kelapa, nira aren, dan sari buah mete.

b. 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, sorgum biji, jagung, cantel, sagu, ubi kayu, ubi jalar, dan lain-lain.

c. 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.

2.5.1 Kegunaan Bioetanol

Kegunaan bioetanol/etanol (alkohol) berdasarkan literatur adalah sebagai berikut :

Berdasarkan Fessenden (1992) kegunaan bioetanol/etanol adalah:

- Digunakan dalam minuman keras.
- Sebagai pelarut dan reagensia dalam laboratorium dan industri.
- Sebagai bahan bakar.

Etanol mempunyai nilai kalor (Q) sebesar 12.800 Btu/lb. Sedangkan jika dicampur dengan gasoline dimana prosentase 10% etanol dan 90% gasoline akan menghasilkan produk dengan nama dagang Gasohol yang dihasilkan nilai kalor (Q) sebesar 112.000 Btu/gallon (*Hunt, 1981*). Bioetanol mempunyai ciri atau sifat yang diklasifikasikan ke dalam sifat fisika dan sifat kimia yang dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Sifat Fisika dan Kimia Bioetanol

Sifat Fisika dan Sifat Kimia	Nilai
Berat molekul, g/mol	46,1
Titik beku, °C	- 114,1
Titik didih normal, °C	78,32
Densitas, g/ml	0,84154
Viskositas pada 20 °C, mPa.s (Cp)	1,17
Panas penguapan normal, J/g	839,31
Panas pembakaran pada 25 °C, J/g	29676,6
Panas jenis pada 25 oC, J (g °C)	2,42
Indeks Bias	1,3512
Wujud pada suhu kamar	Cair/bening
Dicampur dengan natrium	bereaksi
Kelarutan dalam air	larut
Dapat terbakar sempurna	ya

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

Berdasarkan Austin (1984) kegunaan bioetanol/etanol adalah:

- Sebagai bahan industri kimia.
- Sebagai bahan kecantikan dan kedokteran.
- Sebagai pelarut dan untuk sintesis senyawa kimia lainnya.

- Sebagai bahan baku (raw material) untuk membuat ratusan senyawa kimia lain, seperti asetaldehid, etil asetat, asam asetat, etilene dibromida, glycol, etil klorida, dan semua etil ester.
- Sebagai pelarut dalam pembuatan cat dan bahan-bahan komestik.
- Diperdayakan di dalam perdagangan domestik sebagai bahan bakar.

Berdasarkan Saunders (1969) sifat fisika bioetanol/etanol adalah sebagai berikut :

- Merupakan senyawa aromatik yang volatile (mudah menguap).
- Konstanta kesetimbangan (K_a) adalah 10-18.
- Mudah terbakar.
- Mudah terbakar dan berbau tajam (menyengat).
- Termasuk B3 (Bahan Berbahaya dan Beracun).
- Specific gravity 0,84154 pada suhu 20⁰C.

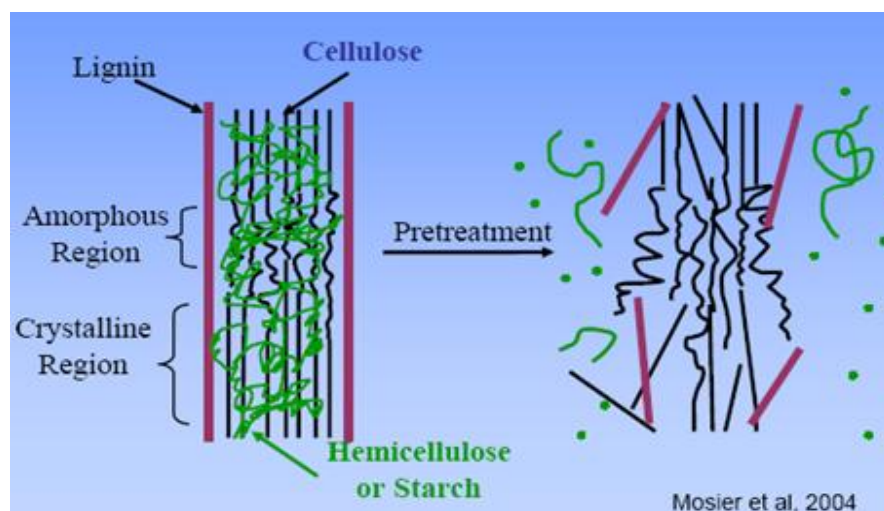
2.6 *Pretreatment*

Pretreatment merupakan faktor yang paling signifikan mempengaruhi baik glukosa enzimatis dan hasil xilosa setelah *pretreatment* termal ringan maksimum 140°C selama 10 menit. The maksimal glukosa enzimatis dan hasil xylose dari padat, pretreated gandum fraksi jerami diperoleh setelah *pretreatment* pada nilai pH yang paling ekstrim (pH 1 atau pH 13) pada suhu *pretreatment* maksimum 140°C. Model respon permukaan mengungkapkan secara signifikan korelasi interaksi pH dan suhu *pretreatment* pada pembebasan enzimatis dari kedua glukosa dan xylose dari pretreatment, jerami gandum padat. Pengaruh suhu paling menonjol dengan pretreatments asam, tetapi hasil tertinggi monosakarida enzimatis diperoleh setelah pretreatments alkali. *Pretreatment Alkaline* juga dilarutkan sebagian besar lignin.

Pretreatment mengubah struktur selulosa biomassa untuk membuat selulosa lebih mudah diakses enzim yang mengkonversi polimer karbohidrat. Selanjutnya, ketika lignoselulosa adalah dipisahkan menjadi komponen-komponennya, dapat dihidrolisis menjadi gula difermentasi (Monosakarida)

dengan menggunakan asam mineral atau enzim. Monosakarida kemudian dapat lebih dikonversi ke bahan kimia berbasis bio yang berharga (*Kamm dan Kamm, 2004*).

Tujuan dari *pretreatment* adalah untuk memecahkan perisai lignin dan struktur kristal selulosa sementara meningkatkan porositas selulosa. Tujuan *pretreatment* secara skematis ditunjukkan oleh Gambar 3.



Gambar 3. Skema Tujuan *Pretreatment* Biomassa Lignoselulosa

Sumber : Mosier, dkk., 2005

Pretreatment dapat dianggap sangat penting untuk proses konversi selulosa praktis. Metode *Pretreatment* biasanya dikategorikan menjadi fisik, kimia, dan biologi *physiochemical* (*Zhao dkk., 2009*). Namun masing-masing metode ini memiliki kelemahan mereka sendiri yang spesifik.

Efektivitas *lignoselulosa pretreatment* adalah salah satu faktor kunci untuk sukses konversi bahan berselulosa menjadi gula dan selanjutnya menjadi biofuel atau bahan bakar nabati *intermediet*. *Pretreatment* bahan selulosa dapat mempengaruhi sifat fisik seperti sebagai derajat polimerisasi, kristalinitas dan bahkan luas permukaan substrat diakses dalam kasus enzimatik hidrolisis lebih lanjut (*Olivier dan Bourbigou, 2010*).

Metode *Pretreatment* (Tabel 6) juga bertujuan untuk meningkatkan luas permukaan dari selulosa yang diharapkan dapat menghasilkan perbaikan dalam kinetika hidrolisis dan konversi selulosa menjadi glukosa.

Proses *pretreatment* yang sekaligus proses hidrolisa meliputi : perlakuan secara fisik, fisik-kimiawi, kimiawi dan enzimatik (*Mosier dkk., 2005; Sun dan Cheng, 2005*)

Tabel 6. Metode *Pretreatment*

Metode	Contoh
Mekanik panas	Digerus, digiling, digunting, ekstruder
Autohydrolysis	Super critical, carbon dioxide explosion
Perlakuan asam	Asam sulfat dan asam klorida encer, asam sulfat dan asam klorida pekat
Perlakuan alkali	Sodium hidroksida, ammonia, alkali hydrogen peroksida
Perlakuan larutan organik	Methanol, etanol

Sumber : Mosier dkk., 2005; Sun and Cheng, 2005

Perlakuan awal pada proses pengolahan bahan berlignoselulosa sangat mempengaruhi keberhasilan proses secara keseluruhan, ada beberapa macam cara perlakuan awal untuk mengurangi/memisahkan lignin dari bahan diantaranya :

1. Perlakuan Dengan Basa

Perlakuan dengan basa bertujuan melarutkan lignin dan sebagian hemiselulosa dengan merendamkan bahan lignoselulosa dalam larutan basa seperti NaOH dan Ca(OH)_2 .

2. Perlakuan Dengan Asam

Perlakuan dengan asam juga bertujuan melarutkan lignin dan sebagian hemiselulosa dengan merendamkan bahan lignoselulosa dalam larutan asam seperti H_2SO_4 atau HCl.

3. Perlakuan Dengan *Steam Explosion*

Perlakuan awal dengan proses ini yaitu mereaksikan bahan dengan steam bertekanan tinggi kemudian diturunkan dengan tiba-tiba. Dari proses ini dapat dihasilkan produk samping berupa vanilin.

4. Metode Isolasi Lignin

Ada beberapa cara yang dapat digunakan yaitu :

- **Metode klason**

Lignin klason diperoleh dengan menghilangkan polisakarida dari bahan yang diekstraksi dengan hidrolisis menggunakan asam sulfat.

- **Metode bjorkman**

Dilakukan dengan cara menggiling bahan dalam keadaan kering atau dapat menggunakan pelarut yaitu toluene.

- **Metode CEL**

Isolasi lignin dengan menggunakan enzim.

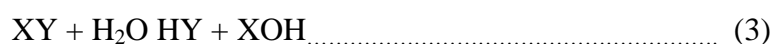
- **Metode isolasi lignin teknis**

Ini adalah metode yang paling banyak digunakan dalam mengisolasi lignin. Ada berbagai teknik untuk mengisolasi lignin yang telah dipelajari sejak lama. Pada prinsipnya semuanya diawali dengan proses pengendapan padatan. *Kim dkk. (1987)* mengembangkan teknik isolasi lignin untuk mendapatkan kemurnian yang tinggi. Adapun tahapan prosesnya sebagai berikut :

- Pengendapan bahan dengan asam sulfat 0,2 M selama 3 hari
- Pencucian asam sulfat
- Pelarutan lignin dengan menggunakan NaOH 0,3M selama 2 hari
- Pencucian dengan air
- Pengeringan padatan

2.7 Hidrolisis Asam

Hidrolisis adalah reaksi organik dan anorganik yang mana terdapat pengaruh air terhadap komposisi ganda (XY), menghasilkan hydrogen dengan komposisi Y dan komposisi X dengan hidroksil, dapat dilihat pada Reaksi 3.



Hidrolisis asam adalah hidrolisis dengan menggunakan asam yang dapat mengubah polisakarida (pati, selulosa) menjadi gula. Dalam hidrolisis asam biasanya digunakan asam chlorida (HCl) atau asam sulfat (H₂SO₄) dengan kadar tertentu. Hidrolisis ini biasanya dilakukan dalam tangki khusus yang terbuat dari

baja tahan karat atau tembaga yang dihubungkan dengan pipa saluran pemanas dan pipa saluran udara untuk mengatur tekanan dalam udara (Soebijanto, 1986).

Selulosa dari rumput dapat diubah menjadi etanol dengan proses hidrolisis asam dengan kadar tertentu. Proses hidrolisis selulosa harus dilakukan dengan asam pekat agar dapat menghasilkan glukosa (Fieser, 1963). Proses hidrolisis ini dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya :

- **pH (derajat keasaman)**

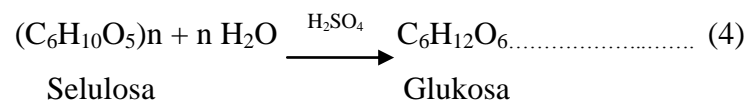
pH mempengaruhi proses hidrolisis sehingga dapat dihasilkan hidrolisis yang sesuai dengan yang diinginkan, pH yang baik untuk proses hidrolisis adalah 2,3 (Soebijanto, 1986).

- **Suhu**

Suhu juga mempengaruhi proses kecepatan reaksi hidrolisis, suhu yang baik untuk hidrolisis selulosa adalah sekitar 21°C.

- **Konsentrasi**

Konsentrasi mempengaruhi laju reaksi hidrolisis, untuk hidrolisis asam digunakan konsentrasi HCl pekat atau H₂SO₄ pekat (Groggins, 1958). Dalam proses ini selulosa dalam Rumput Ilalang diubah menjadi glukosa. Dapat dilihat pada Reaksi 4 sebagai berikut:



2.8 Khamir

Penggunaan *Saccharomyces cerevisiae* dalam produksi etanol secara fermentasi telah banyak dikembangkan di beberapa negara, seperti Brasil, Afrika Selatan, dan Amerika Serikat. Hal ini disebabkan karena *Saccharomyces cerevisiae* dapat memproduksi etanol dalam jumlah besar dan mempunyai toleransi terhadap alkohol yang tinggi.

Selain *Saccharomyces cerevisiae*, *Zymomonas mobilis* juga sangat potensial, namun bakteri ini perlu dikembangkan lebih lanjut, karena toleransinya yang rendah terhadap garam dalam media dan membutuhkan media yang steril, sehingga menyulitkan untuk aplikasi skala industri.

Ragi (*Saccharomyces cerevisiae*) adalah mikroorganisme penghasil etanol yang paling dikenal saat ini. Efisiensi fermentasi dapat ditingkatkan dengan cara mengamobilisasi sel mikroorganisme yang digunakan. Amobilisasi sel bertujuan untuk membuat sel menjadi tidak bergerak atau berkurang ruang geraknya sehingga sel menjadi terhambat pertumbuhannya dan substrat yang diberikan hanya digunakan untuk menghasilkan produk.

2.9 Fermentasi

Proses fermentasi yang dilakukan adalah proses fermentasi yang tidak menggunakan oksigen atau proses anaerob. Cara pengaturan produksi etanol dari gula cukup kompleks, konsentrasi substrat, oksigen, dan produk ethanol, semua mempengaruhi metabolisme khamir, daya hidup sel, pertumbuhan sel, pembelahan sel, dan produksi etanol. Seleksi galur khamir yang cocok dan mempunyai toleransi yang tinggi terhadap baik konsentrasi, substrat ataupun alkohol merupakan hal yang penting untuk peningkatan hasil (*Higgins dkk, 1985*).

Fermentasi pertama kalinya dilakukan perlakuan dasar terhadap bibit fermentor / persiapan starter. Dimana starter diinokulasikan sampai benar-benar siap menjadi fermentor, baru dimasukkan ke dalam substrat yang akan difermentasi. Bibit fermentor yang biasa digunakan adalah *Saccharomyces cerevisiae*. *Saccharomyces cerevisiae* mempunyai ciri-ciri sebagai berikut:

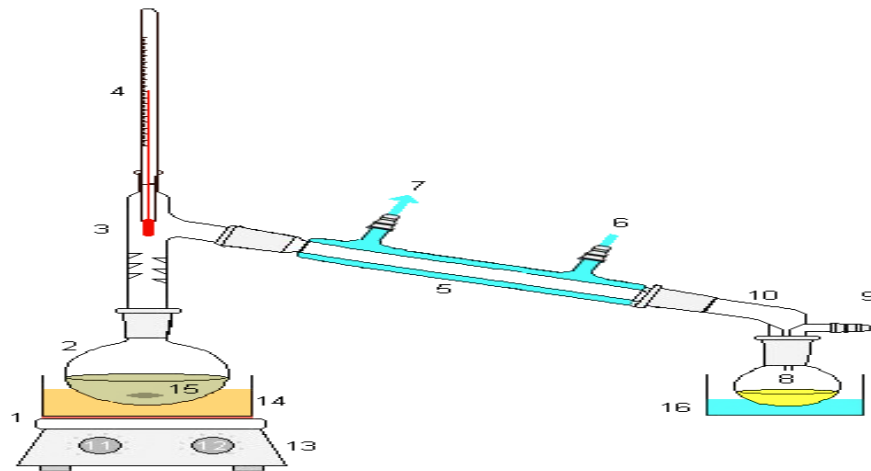
- Mempunyai bentuk sel yang bulat, pendek oval, atau oval.
- Mempunyai ukuran sel (4,2-6,6) x (5-11) mikron dalam waktu tiga hari pada 25°C dan pada media agar.
- Dapat bereproduksi dengan cara penyembulan atau multilateral.
- Mampu mengubah glukosa dengan baik.
- Dapat berkembang dengan baik pada suhu antara 20-30°C (*Judoamidjojo, 1992*).

2.10 Distilasi

Etanol merupakan bahan pembentuk gasohol yaitu campuran alkohol dan bensin. Yang umum digunakan dalam pemisahan dan pemurnian etanol 96%

adalah dengan distilasi. Distilasi atau penyulingan adalah suatu metode pemisahan bahan kimia berdasarkan perbedaan kecepatan atau kemudahan menguap (volatilitas) bahan.

Dalam penyulingan, campuran zat dididihkan sehingga menguap, dan uap ini kemudian didinginkan kembali ke dalam bentuk cairan. Zat yang memiliki titik didih lebih rendah akan menguap lebih dulu. Pada Gambar 4 dapat dilihat rangkaian peralatan distilasi.



Gambar 4. Rangkaian Peralatan Distilasi

Berikut adalah susunan rangkaian alat distilasi sederhana:

- | | |
|-----------------------------|-------------------------------|
| 1. Baskom | 8. Labu distilat |
| 2. Labu distilasi | 9. Lubang udara |
| 3. Sambungan | 10. Tempat keluarnya distilat |
| 4. Termometer | 13. Penangas |
| 5. Kondensor | 14. Air penangas |
| 6. Aliran masuk air dingin | 15. Larutan zat dan |
| 7. Aliran keluar air dingin | 16. Wadah labu distilat |

Penerapan proses ini didasarkan pada teori bahwa pada suatu larutan, masing-masing komponen akan menguap pada titik didihnya. Model ideal distilasi didasarkan pada Hukum Raoult dan Hukum Dalton.

Etanol dipisahkan dari campurannya melalui dua tahap untuk mendapatkan etanol absolut sebagai bahan baku gasohol. Metode konvensional dengan dua tahap proses distilasi campuran ethanol-air menjadi ethanol 95,6% berat pada konsentrasi azeotrop. Kemudian dilanjutkan dengan distilasi *azeotrop* dengan menambahkan pelarut sebagai komponen ketiga yang dibolehkan untuk *recovery* ethanol 100% (Tanaka dan Otten, 1986). Komponen yang dimaksud antara lain benzen, sikloheksana, etilen glikol, pentana, dietil eter, gliserin dan bensin. Benzen atau bensin dipakai sebagai pelarut apabila produk etanol 100% akan digunakan sebagai bahan bakar. Metode pemisahan konvensional sangat efektif tapi dengan distilasi dua tahap ini membutuhkan energi yang besar. Proses adsorpsi untuk pengeringan etanol dengan menggunakan adsorbent anorganik (CaO dan K_2CO_3) pertama kali dijadikan sebagai literatur dan terpublikasi pada tahun 1930-an. Meskipun prosedur ini telah menjadi standar teknik laboratorium selama 50 tahun, namun dalam perkembangannya telah ditemukan metode adsorpsi dengan menggunakan bahan organik. Dengan demikian untuk efisiensi energi metode yang tepat digunakan dalam pemisahan ethanol-air adalah dengan metode adsorpsi.

Adsorpsi merupakan suatu peristiwa terkontakannya partikel padatan dan cairan pada kondisi tertentu sehingga sebagian cairan terserap di permukaan padatan dan konsentrasi cairan yang tidak terserap tidak mengalami perubahan. Proses adsorpsi menggunakan adsorbent biji-bijian untuk dehidrasi bahan bakar alkohol. Mereka telah mencoba menggunakan adsorbent organik seperti tepung jagung, gula, selulosa, biji jagung dan sisa-sisa jagung. Dan ternyata sama baiknya dengan menggunakan adsorbent anorganik seperti CaO, NaOH, dan CaSO. Hasilnya dari percobaan mengindikasikan bahwa selulosa, tepung jagung, dan biji jagung memberikan hasil yang sama dengan CaO. Ini menunjukkan adsorbent organik mampu menghidrasi etanol menjadi murni lebih dari 99% volume. Selanjutnya, dari hasil pengamatan untuk proses regenerasi adsorbent organik kebutuhan energi jauh lebih sedikit daripada dengan CaO. Regenerasi adsorbent selulosa dibutuhkan 430 kJ/kg untuk

memproduksi etanol anhidrid, sedangkan adsorbent CaO dibutuhkan 900 kJ/kg. Proses regenerasi adsorbent CaO dilakukan pada temperatur 160-170⁰C, sedangkan regenerasi pada adsorbent jagung pada temperatur 80-100⁰C (*Ladish, dkk, 1984*).

2.11 Kromatografi Gas

Kromatografi Gas (Gambar 5) adalah teknik kromatografi yang bisa digunakan untuk memisahkan senyawa organik yang mudah menguap. Senyawa-senyawa tersebut harus mudah menguap dan stabil pada temperatur pengujian, utamanya dari 50 – 300⁰C. Jika senyawa tidak mudah menguap atau tidak stabil pada temperatur pengujian, maka senyawa tersebut bisa diderivatisasi agar dapat dianalisis dengan kromatografi gas (*Mardoni, 2005*).



Gambar 5. Kromatografi Gas

Sumber : Laboraturium Kimia Analitik Instrumen Polsri, 2014

Dalam kromatografi gas atau KG, fase gerak berupa gas lembam seperti helium, nitrogen, argon bahkan hidrogen digerakkan dengan tekanan melalui pipa yang berisi fase diam (*Mardoni, 2005*). Tekanan uap atau keatsirian memungkinkan komponen menguap dan bergerak bersama-sama dengan fase gerak yang berupa gas. Kromatografi gas merupakan metode yang sangat tepat dan cepat untuk memisahkan campuran yang sangat rumit. Komponen campuran dapat diidentifikasi dengan menggunakan waktuambat (waktu retensi) yang khas pada kondisi yang tepat. Waktuambat ialah waktu yang menunjukkan berapa lama suatu senyawa tertahan dalam kolom.

Waktu retensi (t_R) adalah perbedaan waktu antara penyuntikan komponen sampel dengan puncak maksimum yang tercatat pada kromatogram. Volume retensi (v_R) adalah produk dari waktu retensi dan kecepatan aliran gas pengemban. Umumnya, waktu retensi yang sudah disetel ($t'R$) dan volume retensi yang sudah disetel ($v'R$), dan retensi relatif ($T A/B$) digunakan untuk analisis kualitatif. Waktu retensi atau volume retensi yang sudah disetel adalah perbedaan antara waktu retensi atau volume retensi dari sampel dengan suatu komponen yang inert, biasanya udara. Retensi relatif adalah rasio dari waktu retensi atau volume retensi yang disetel dari standar dengan waktu retensi atau volume retensi yang disetel dari komponen sampel. Sistem peralatan dari kromatografi gas terdiri dari 6 bagian utama. Diantaranya :

- | | |
|--|------------------------|
| 1. Tabung gas pembawa | 4. Detektor |
| 2. Pengontrolan aliran dan regulator tekanan | 5. Rekorder (pencatat) |
| 3. Injection port (tempat injeksi cuplikan) | 6. Kolom |

Cara pemisahan dari sistem ini sangat sederhana sekali, cuplikan yang akan dipisahkan diinjeksikan kedalam injektor, aliran gas pembawa yang inert akan membawa uap cuplikan kedalam kolom. Kolom akan memisahkan komponen-komponen cuplikan tersebut. Komponen-komponen yang telah terpisah tadi dapat dideteksi oleh detektor sehingga memberikan sinyal yang kemudian dicatat pada rekorder dan berupa puncak-puncak (kromatogram).

a. Gas Pembawa

Gas pembawa ditempatkan dalam tabung bertekanan tinggi. Untuk memperkecil tekanan tersebut agar memenuhi kondisi pemisahan maka digunakan *drager* yang dapat mengurangi tekanan dan mengalirkan gas dengan laju tetap. Aliran gas akan mengelusi komponen-komponen dengan waktu yang karakteristik terhadap komponen tersebut (waktu retensi). Karena kecepatan gas tetap maka komponen juga mempunyai volume yang karakteristik untuk gas pembawa

(volume retensi). Adapun persyaratan-persyaratan yang harus dipenuhi oleh gas pembawa adalah :

- Inert, agar tidak terjadi interaksi dengan pelarut.
- Murni, mudah didapat dan murah harganya.
- Dapat mengurangi difusi dari gas
- Cocok untuk detektor yang digunakan.

b. Tempat Injeksi

Sebelum memasuki kolom maka ia harus dirubah menjadi uap dan ini dilakukan pada tempat injeksi. Suhu pada tempat injeksi ini haruslah $\pm 50C$ diatas titik didih tertinggi yang ada dalam campuran cuplikan dan tidak boleh terlalu tinggi karena kemungkinan dapat mengurai senyawa yang akan dianalisa.

c. Kolom

Ada 2 jenis kolom yang digunakan dalam kromatografi gas secara umum, yaitu kolom jejal (*packed columns*) dan kolom tubuler terbuka (*open tubular columns*). Kolom jejal (*packed columns*) adalah kolom metal atau gelas yang diisi bahan pengepak terdiri dari penunjang padatan yang dilapisi fase cair yang tidak menguap (untuk kromatografi gas-padatan). Kolom tubuler terbuka sangat berbeda dengan kolom jejal, yaitu gas yang mengalir sepanjang kolom tidak mengalami hambatan, karena kolomnya merupakan tabung tanpa bahan pengisi.

Kolom jejal umumnya mempunyai panjang yang berkisar antara 0,7 sampai 2 meter, sedangkan kolom tubuler terbuka dapat mempunyai panjang dari 30 sampai 300 meter. Kolom yang panjang ini biasanya dibuat dalam bentuk melilit bergulung seperti spiral.

Kemampuan memisahkan komponen per meter kolom pada kolom tubuler terbuka tidak jauh berbeda dengan pemisahan pada kolom jejal. Meskipun demikian, penggunaan kolom yang sangat panjang bersama-sama dengan waktu analisis yang relatif cepat merupakan alat penolong yang berharga bagi para ahli kimia untuk dapat memisahkan komponen-komponen yang perbedaannya kecil didalam sifat-sifat fisiknya. Ada 2 jenis kolom tubuler terbuka, yaitu WCOT (*Wall*

Coated Open Tubular Columns) dan SCOT (*Support Coated Open Tubular Columns*).

d. Detektor

Detektor dapat menunjukkan adanya sejumlah komponen didalam aliran gas pembawa serta sejumlah dari komponen-komponen tersebut. Detektor yang diinginkan adalah detektor yang mempunyai sensitifitas yang tinggi, noisena rendah, responnya linear, dapat memberikan respon dengan setiap senyawa, tidak sensitif terhadap perubahan temperatur dan kecepatan aliran dan juga tidak mahal harganya.

e. Rekorder (Pencatat)

Rekorder jenis potensiometer yang dipergunakan dalam kromatografi gas adalah *servo-operated voltage balancing device*. Adapun keunggulan dari kromatografi gas-cair (GLC) yaitu :

1. Kecepatan

- a. Gas yang merupakan fasa bergerak sangat cepat mengadakan kesetimbangan antara fase bergerak dengan fase diam.
- b. Kecepatan gas yang tinggi dapat juga digunakan

2. Sederhana

Alat GLC relatif sangat mudah dioperasikan. Interpretasi langsung dari data yang diperoleh dapat dikerjakan. Harga dari alat GLC relatif murah. Alat GLC dapat dipakai dalam waktu yang lama dan berulang-ulang.

3. Sensitif

GLC sangat sensitif. Alat yang paling sederhana dapat mendeteksi konsentrasi dalam ukuran 0,01% (100 ppm).

4. Pemisahan

Dengan GLC memungkinkan untuk memisahkan molekul-molekul dari suatu campuran, di mana hal ini tidak mungkin dipisahkan dengan cara-cara yang lain.

5. Analisa, dapat digunakan sebagai :

- a. Analisa kualitatif yaitu dengan membandingkan waktu retensi.
- b. Analisa kuantitatif yaitu dengan perhitungan luas puncak.

2.12 Indeks Bias

Indeks bias pada medium didefinisikan sebagai perbandingan antara kecepatan cahaya dalam ruang hampa udara dengan cepat rambat cahaya pada suatu medium. Pengujian Indeks Bias dapat digunakan untuk menentukan kemurnian bioetanol dan dapat menentukan dengan cepat terjadinya hidrogenasi katalis. Semakin panjang rantai karbon dan semakin banyak ikatan rangkap maka indeks bias semakin besar. Indeks bias juga dipengaruhi faktor-faktor proses oksidasi dan suhu. Alat yang digunakan untuk menentukan Indeks Bias adalah Refraktometer.