

## BAB V

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 5.1 Preparasi Bahan Jerami Padi

Tahap persiapan bahan baku jerami padi yaitu dipotong, dikeringkan dan dihaluskan. Jerami padi yang diperoleh dibersihkan dari sisa bulir padi dan dipotong sepanjang ibu jari, dilanjutkan dengan dijemur di bawah sinar matahari. Jerami padi dikeringkan dalam oven bersuhu 50 °C sampai diperoleh berat yang konstan yang bertujuan untuk menghilangkan kadar air. Untuk memperoleh serbuk, jerami padi kering dihaluskan dengan menggunakan blender. Ukuran partikel jerami padi yang semakin kecil hingga batas tertentu dapat meningkatkan proses hidrolisis selulosa menjadi gula, hal ini dikarenakan ukuran partikel yang kecil menyebabkan luas permukaan semakin meningkat (Aiman, 2016). Serbuk sebanyak 10 g ditempatkan dalam enam wadah yang berbeda dan ditambahkan akuades 100 mL sehingga menjadi bubur jerami.

#### 5.2 Proses *Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF)* Jerami Padi

Proses pembuatan bioetanol dengan bahan baku biomassa pada umumnya terdiri dari dua tahap utama, yaitu hidrolisis dan fermentasi. Pada metode terdahulu proses hidrolisis dan fermentasi dilakukan secara terpisah, sedangkan metode terbaru adalah sakarifikasi dan fermentasi serentak (SSF). Proses sakarifikasi/hidrolisis dan fermentasi dilakukan dalam satu wadah sehingga berlangsung secara efisien. Hidrolisis bertujuan untuk memecah polisakarida menjadi monosakarida. Dalam penelitian ini hidrolisis dilakukan secara biologis yaitu dengan menggunakan enzim. Enzim yang digunakan bukan merupakan enzim yang spesifik, namun berasal dari kandungan enzim yang terdapat pada jamur kancing (*Agaricus bisporus*). *Agaricus bisporus* merupakan salah satu kelompok fungi basidiomycota. Kelompok fungi basidiomycota sering disebut jamur oleh orang awam karena banyak jenis-jenis yang tubuh buahnya besar dan dapat dilihat dengan kasat mata (Setiadi, 2017). Isolasi ekstrak enzim selulase dilakukan dengan menghaluskan 200 g jamur kancing dengan 200 mL akuades

dilanjutkan dengan melakukan sentrifugasi sehingga diperoleh cairan supernatan. Supernatan kemudian diambil dan ditambahkan 1 mL larutan buffer phospat pH 5,5. Enzim selulase kasar ekstrak jamur kancing sebanyak 1 mL ditambahkan ke dalam masing-masing wadah berisi bubur jerami padi untuk mendegradasi selulosa.

Proses fermentasi secara simultan dilakukan setelah proses sakarifikasi/hidrolisis. Fermentasi merupakan suatu perubahan kimia pada substrat organik melalui kegiatan enzim atau mikroba spesifik. Fermentasi ini dilakukan dengan penambahan ragi tapai dalam wadah yang telah berisi bubur jerami. Ragi tapai berbentuk bulat pipih berwarna putih. Dalam ragi terdapat mikroorganisme *Saccharomyces cerevisiae* dengan laju fermentasi gula secara intensif pada pH 3,5-6,5 (Wiratmaja, *et al.*, 2011). Selama proses fermentasi perlu adanya medium untuk pertumbuhan, pembentukan sel dan biosintesis produk metabolisme. Sumber karbon yang diberikan berupa selulosa yang berasal dari jerami padi (Karisma, 2015). Selama proses SSF ini, wadah ditutup rapat dan ditempatkan pada lokasi gelap. Fermentasi alkoholik ini pada umumnya berlangsung pada kondisi anaerob atau tanpa oksigen. Apabila terdapat udara pada proses fermentasi, maka etanol yang dihasilkan lebih sedikit karena terjadi respirasi yang mengakibatkan terjadi konversi gula menjadi karbondioksida dan air (Rahim, 2009).

Setelah dilakukan SSF selama 1, 3 dan 5 hari, cairan disaring menggunakan pompa vakum dan dihasilkan filtrat SSF. Gambar 4 merupakan hasil penyaringan 1 hari fermentasi. Pada gambar 4, diketahui bahwa pada 1 hari fermentasi pengulangan pertama (gambar 4b) dihasilkan warna yang paling berbeda diantara filtrat yang lainnya yaitu coklat tua. Hal ini disebabkan oleh adanya oksigen yang masuk pada media fermentasi dan terjadi reaksi oksidasi. Sedangkan pada pengulangan kedua (gambar 4a) memberikan warna kuning.



Gambar 4. (a) Filtrat fermentasi 1 hari pengulangan kedua (b) filtrat fermentasi 1 hari pengulangan pertama

Hasil penyaringan 3 hari fermentasi pengulangan pertama (gambar 5b) warna yang dihasilkan yaitu coklat. Warna coklat juga dihasilkan pada pengulangan kedua (gambar 5a). Hasil filtrat SSF 3 hari diberikan pada gambar di bawah ini.



Gambar 5. (a) Filtrat fermentasi 3 hari pengulangan kedua (b) filtrat fermentasi 3 hari pengulangan pertama

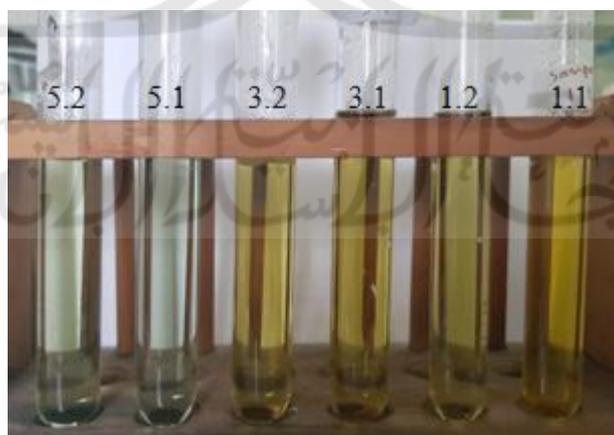
Gambar 6 merupakan hasil penyaringan 5 hari fermentasi diperoleh warna kuning untuk pengulangan pertama dan kedua. Berdasarkan gambar yang ada, setiap filtrat memberikan warna yang berbeda untuk setiap hari pada fermentasi.



Gambar 6. (a) Filtrat fermentasi 5 hari pengulangan kedua (b) filtrat fermentasi 5 hari pengulangan pertama

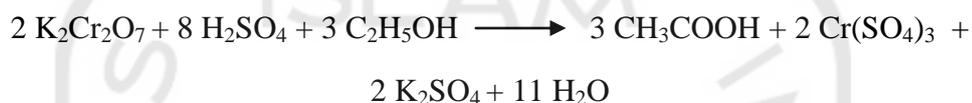
### 5.3 Uji Bioetanol Secara Kualitatif

Filtrat hasil SSF tidak langsung dilakukan analisis menggunakan instrumen. Namun dilakukan uji kualitatif terlebih dahulu menggunakan kalium bikromat,  $K_2Cr_2O_7$  dalam asam sulfat. Penggunaan dua bahan ini lazim disebut dengan oksidasi Jones atau oksidasi menggunakan pereaksi Jones (Sastrohamidjojo, 2011). Prinsipnya adalah reaksi reduksi-oksidasi antara etanol dengan kalium bikromat dalam suasana asam (Rahim, 2009). Kalium bikromat merupakan oksidator kuat. Apabila tereduksi, ion  $Cr^{6+}$  akan mengalami perubahan warna dari larutan berwarna orange menjadi larutan berwarna biru yang mengandung ion  $Cr^{3+}$  (Setiawan & Kusumo, 2015). Hasil uji kualitatif filtrat SSF yang telah ditambahkan pereaksi Jones akan memberikan warna orange dan setelah dipanaskan seperti terlihat pada gambar di bawah ini.



Gambar 7. Filtrat SSF ditambah pereaksi Jones dan dipanaskan

Perubahan warna setelah dipanaskan tidak terlalu terlihat dengan jelas. Pada tabung reaksi 1.1 dan 1.2 dimana SSF dilakukan 1 hari, larutan berwarna kuning tanpa terjadi perubahan warna. Hal ini juga diperoleh pada tabung reaksi 3.1 dan 3.2 yang memberikan warna kuning. Apabila diamati secara langsung, pada tabung reaksi 5.1 dan 5.2 mengalami perubahan warna dari kuning menjadi hijau. Reaksi yang terjadi antara etanol dengan pereaksi Jones adalah:

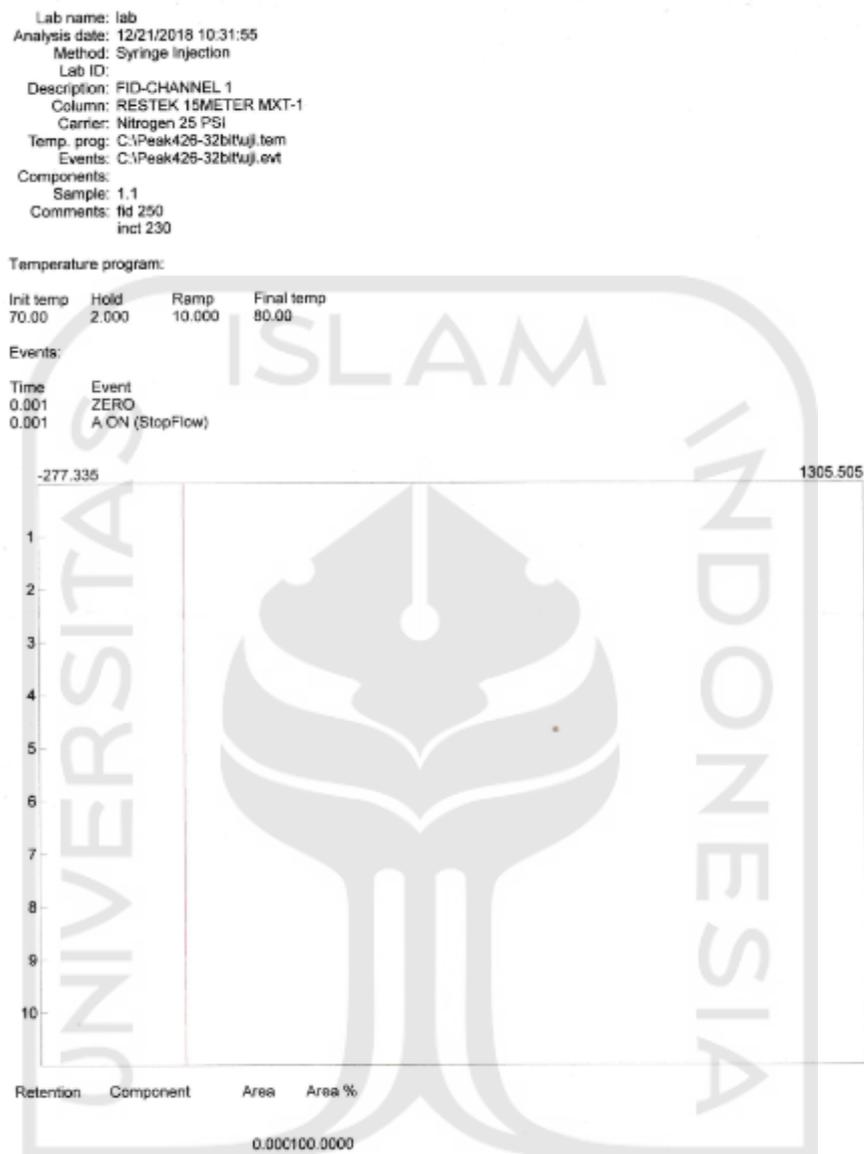


Uji kualitatif juga dilakukan menggunakan instrumen kromatografi gas untuk mengidentifikasi satu komponen atau lebih dari suatu cuplikan. Hal ini dilakukan dengan membandingkan dua data kromatogram dengan melihat *peak report*. *Peak report* memberikan data banyaknya puncak, waktu retensi, luas area puncak dan % area. Hasil kromatogram ditunjukkan oleh tabel 2.

Tabel 2. Hasil analisis dengan kromatografi gas

| Larutan            | Waktu retensi (menit) | Luas Area |
|--------------------|-----------------------|-----------|
| standar etanol 1 % | 1,100                 | 1633,636  |
| Filtrat 1.1        | -                     | -         |
| Filtrat 1.2        | 1,086                 | 43,0738   |
| Filtrat 3.1        | 1,103                 | 133,1868  |
| Filtrat 3.2        | 1,110                 | 121,6686  |
| Filtrat 5.1        | 1,080                 | 51,8344   |
| Filtrat 5.2        | 1,096                 | 85,8266   |

Berdasarkan data pada tabel 2, dapat diketahui bahwa hanya filtrat 1.1 (1 hari fermentasi pengulangan pertama) yang tidak memberikan informasi waktu retensi dan luas area. Hal dikarenakan pada kromatogram filtrat 1.1 tidak ada senyawa yang keluar/*peak* tidak keluar sehingga tidak memberikan informasi apapun. Tidak keluarnya *peak* kromatogram ini karena etanol yang dihasilkan telah menguap ketika berlangsungnya proses fermentasi.



Gambar 8. Kromatogram filtrat 1.1

Filtrat 1.2 sampai dengan filtrat 5.2 memberikan waktu retensi yang hampir sama dengan waktu retensi larutan standar etanol 1%. Waktu retensi suatu komponen pada kolom dan kondisi kromatografi tertentu bersifat karakteristik bagi komponen tersebut. Sehingga dapat diduga bahwa filtrat 1.2 sampai dengan filtrat 5.2 mengandung senyawa etanol. Puncak filtrat 1.2 (fermentasi 1 hari pengulangan kedua) keluar pada menit ke 1,086 seperti terlihat pada gambar 9.

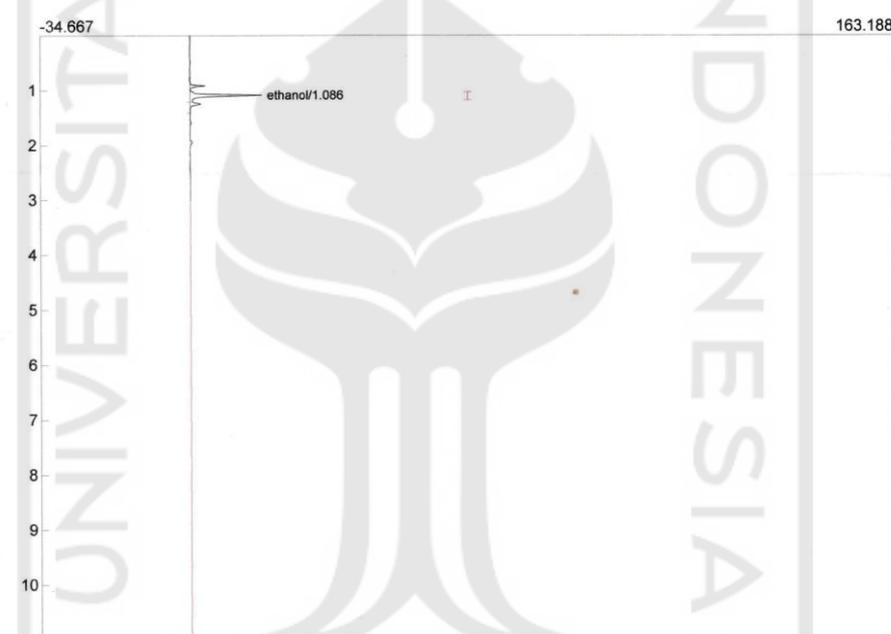
Lab name: lab  
 Analysis date: 12/21/2018 09:53:42  
 Method: Syringe Injection  
 Lab ID:  
 Description: FID-CHANNEL 1  
 Column: RESTEK 15METER MXT-1  
 Carrier: Nitrogen 25 PSI  
 Temp. prog: C:\Peak426-32bit\uji.tem  
 Events: C:\Peak426-32bit\uji.evt  
 Components:  
 Sample: sampel 1.2  
 Comments: fid 250  
 inct 230

Temperature program:

| Init temp | Hold  | Ramp   | Final temp |
|-----------|-------|--------|------------|
| 70.00     | 2.000 | 10.000 | 80.00      |

Events:

| Time  | Event           |
|-------|-----------------|
| 0.001 | ZERO            |
| 0.001 | A ON (StopFlow) |

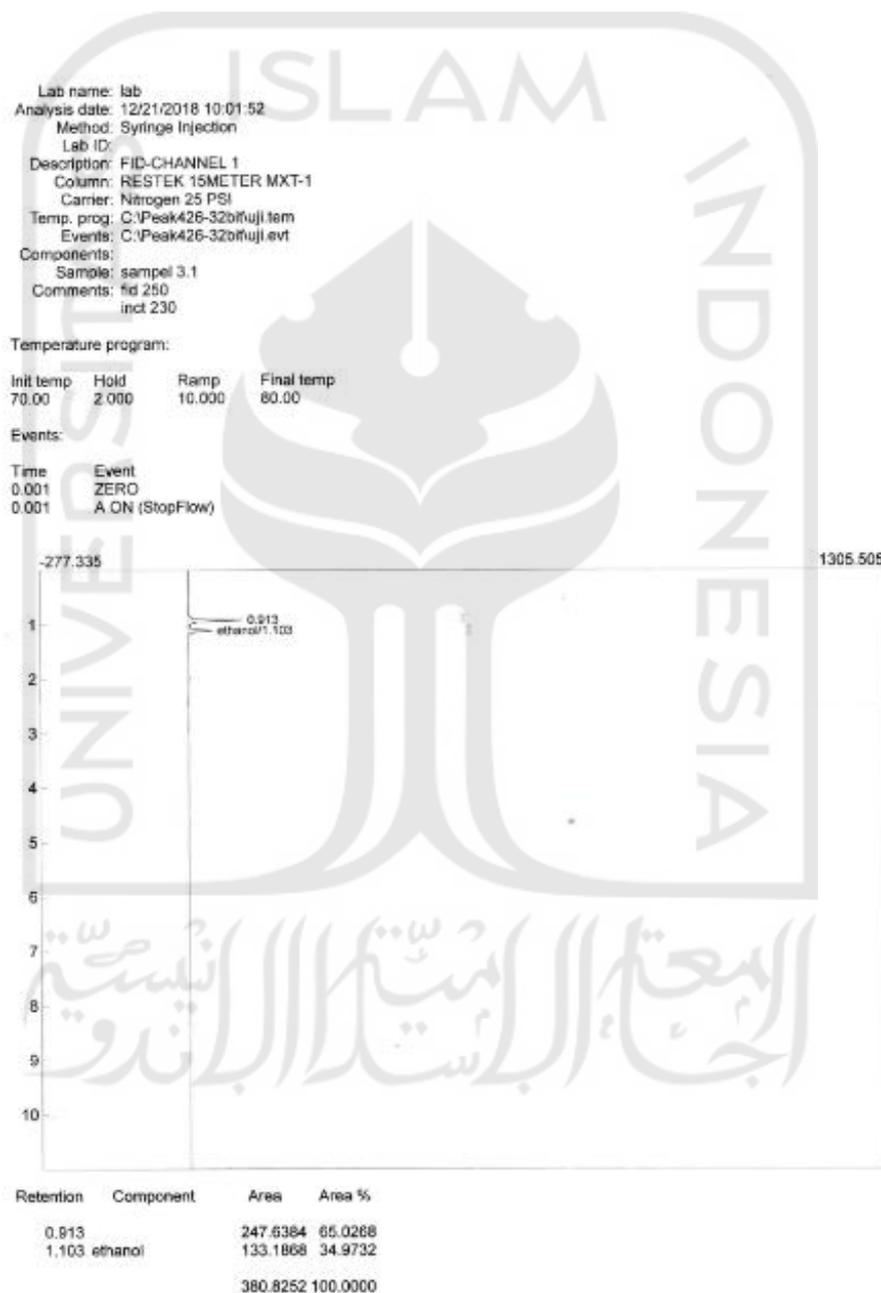


| Retention | Component | Area    | Area %   |
|-----------|-----------|---------|----------|
| 1.086     | ethanol   | 43.0738 | 100.0000 |
|           |           | 43.0738 | 100.0000 |

Gambar 9. Kromatogram filtrat 1.2

Kromatogram filtrat 3.1 (fermentasi 3 hari pengulangan pertama) memiliki dua puncak dimana waktu retensi salah satunya adalah 0,913 menit dan yang lainnya merupakan etanol. Hal ini juga terjadi pada kromatogram 3.2 (fermentasi 3 hari pengulangan kedua) memberikan dua puncak dimana waktu retensi salah satunya adalah 0,906 menit dan yang lainnya merupakan etanol. Tidak diketahui

nama kedua senyawa tersebut. Adapun kromatogram filtrat 3.1 dan filtrat 3.2 terlihat pada gambar 10 dan gambar 11. Sementara itu, puncak kromatogram filtrat 5.1 (fermentasi 5 hari pengulangan pertama) keluar pada menit ke 1,080 dan filtrat 5.2 (fermentasi 5 hari pengulangan kedua) keluar pada menit ke 1,096. Kromatogram filtrat 5.1 dan 5.2 terlihat pada gambar 12 dan 13.



Gambar 10. Kromatogram filtrat 3.1

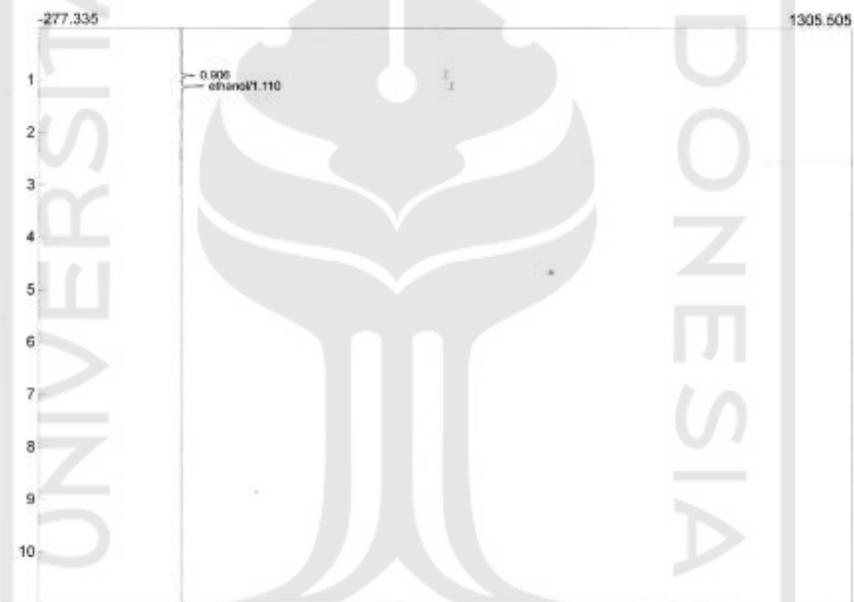
Lab name: lab  
 Analysis date: 12/21/2018 10:08:20  
 Method: Syringe Injection  
 Lab ID:  
 Description: FID-CHANNEL 1  
 Column: RESTEK 15METER MXT-1  
 Carrier: Nitrogen 25 PSI  
 Temp. prog: C:\Peak428-32bit\uji.tem  
 Events: C:\Peak428-32bit\uji.evt  
 Components:  
 Sample: sampel 3.2  
 Comments: fld 250  
 inct 230

Temperature program:

| Init temp | Hold  | Ramp   | Final temp |
|-----------|-------|--------|------------|
| 70.00     | 2.000 | 10.000 | 80.00      |

Events:

| Time  | Event           |
|-------|-----------------|
| 0.001 | ZERO            |
| 0.001 | A ON (StopFlow) |



| Retention | Component | Area     | Area %   |
|-----------|-----------|----------|----------|
| 0.906     |           | 80.7476  | 33.3016  |
| 1.110     | ethanol   | 121.6586 | 66.6984  |
|           |           | 182.4162 | 100.0000 |

Gambar 11. Kromatogram filtrat 3.2

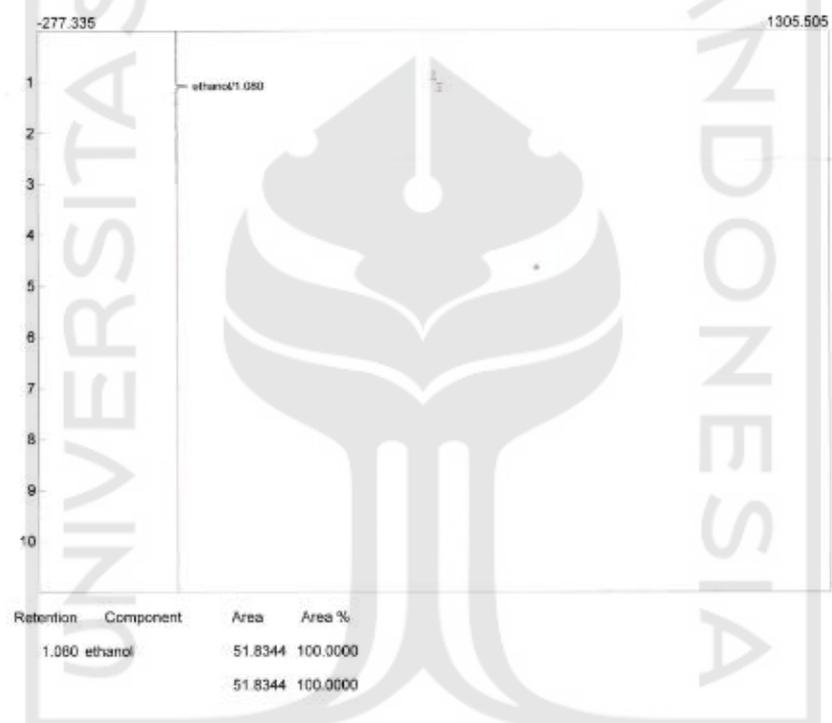
Lab name: lab  
Analysis date: 12/21/2018 10:14:18  
Method: Syringe Injection  
Lab ID:  
Description: FID-CHANNEL 1  
Column: RESTEK 15METER MXT-1  
Carrier: Nitrogen 25 PSI  
Temp. prog: C:\Peak426-32bit\uji.tem  
Events: C:\Peak426-32bit\uji.ev1  
Components:  
Sample: 5.1  
Comments: fid 250  
Incl 230

Temperature program:

| Init temp | Hold  | Ramp   | Final temp |
|-----------|-------|--------|------------|
| 70.00     | 2.000 | 10.000 | 80.00      |

Events:

| Time  | Event           |
|-------|-----------------|
| 0.001 | ZERO            |
| 0.001 | A ON (StopFlow) |



Gambar 12. Kromatogram filtrat 5.1

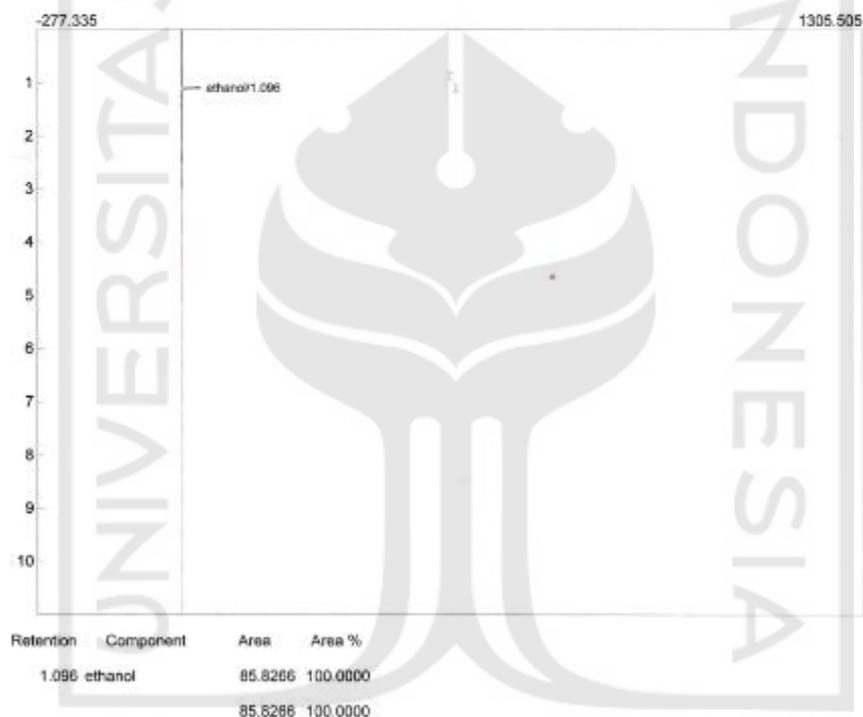
Lab name: lab  
 Analysis date: 12/21/2018 10:20:17  
 Method: Syringe Injection  
 Lab ID:  
 Description: FID-CHANNEL 1  
 Column: RESTEK 15METER MXT-1  
 Carrier: Nitrogen 25 PSI  
 Temp. prog: C:\Peak426-32bit\uji.tem  
 Events: C:\Peak426-32bit\uji.evt  
 Components:  
 Sample: 5.2  
 Comments: fid 250  
 Inct 230

Temperature program:

| Init temp | Hold  | Ramp   | Final temp |
|-----------|-------|--------|------------|
| 70.00     | 2.000 | 10.000 | 80.00      |

Events:

| Time  | Event           |
|-------|-----------------|
| 0.001 | ZERO            |
| 0.001 | A ON (StopFlow) |

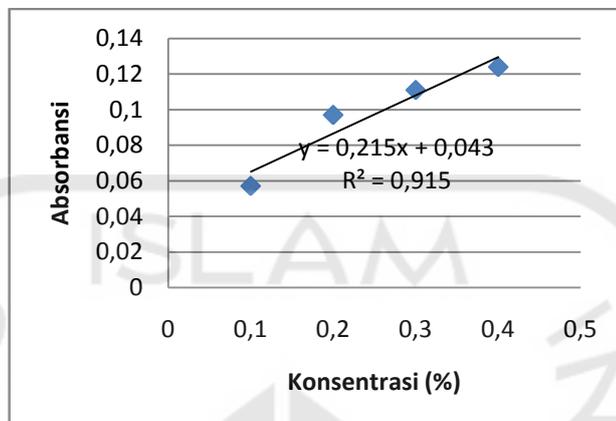


Gambar 13. Kromatogram filtrat 5.2

#### 5.4 Pengukuran Kadar Bioetanol

Kadar bioetanol dihitung dengan mengukur absorbansi filtrat SSF menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Sebelumnya telah dilakukan pencarian panjang gelombang maksimum. Panjang gelombang maksimum yang diperoleh adalah 579 nm. Analisis dilakukan dengan metode kurva standar. Larutan standar masing-masing konsentrasi diukur pada panjang gelombang maksimum yang sudah diperoleh. Kemudian dibuat grafik regresi serapan (absorbansi) vs

konsentrasi dan persamaan regresi linear serta koefisien regresi dapat ditentukan seperti gambar dibawah ini.



Gambar 14. Kurva kalibrasi larutan standar

Hasil pengukuran larutan standar diperoleh persamaan linear  $y = 0,215x + 0,043$  dengan  $R^2 = 0,915$  yang berarti data dapat diterima. Dari persamaan linear,  $x$  merupakan konsentrasi bioetanol yang akan dicari dan  $y$  merupakan nilai absorbansi dari bioetanol. Tabel 3 memperlihatkan kadar bioetanol yang diperoleh dari proses SSF. Adapun standar deviasi digunakan untuk mengetahui penyimpangan antara data sampel dengan rata-ratanya. Semakin tinggi nilai standar deviasi yang diperoleh, menunjukkan semakin tinggi juga penyimpangannya. Hasil perhitungan nilai standar deviasi untuk 1 hari fermentasi adalah 0,0696, sedangkan nilai standar deviasi untuk 3 hari fermentasi adalah 0,0362 dan untuk nilai standar deviasi untuk 5 hari fermentasi adalah 0,0361. Nilai-nilai tersebut menunjukkan besarnya penyimpangan antara nilai sampel dengan rata-ratanya.

Tabel 3. Hasil pengukuran absorbansi dan kadar bioetanol

| Sampel SSF | Absorbansi | Konsentrasi (%) | Rata-rata Konsentrasi (%) | Standar Deviasi |
|------------|------------|-----------------|---------------------------|-----------------|
| 1.1        | 0,101      | 0,2690          | 0,3182                    | 0,0696          |
| 1.2        | 0,122      | 0,3674          |                           |                 |
| 3.1        | 0,108      | 0,3023          | 0,3279                    | 0,0362          |
| 3.2        | 0,119      | 0,3535          |                           |                 |
| 5.1        | 0,153      | 0,5116          | 0,4860                    | 0,0361          |
| 5.2        | 0,142      | 0,4605          |                           |                 |

Hasil diatas termasuk kecil apabila dibandingkan dengan penelitian sebelumnya. Hal ini dikarenakan filtrat setelah proses SSF tidak dimurnikan lebih lanjut karena filtrat yang dihasilkan tidak banyak. Kadar bioetanol dari jerami padi tertinggi pada waktu fermentasi 5 hari yaitu 0,4860% (v/v). Waktu fermentasi mempengaruhi kadar bioetanol yang dihasilkan. Semakin lama waktu fermentasi maka semakin tinggi kadar bioetanol yang dihasilkan hingga tercapai kadar optimum. Tabel 3 memperlihatkan bahwa pada fermentasi 1, 3 dan 5 hari, kadar bioetanol yang diperoleh semakin meningkat bersamaan dengan lama hari fermentasi.

