

## **BAB IV**

### **METODE PENELITIAN**

#### **4.1 Alat Penelitian**

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah piknometer 5 mL (*Pyrex*), labu ukur 50 mL (*Pyrex*), propipet, Erlenmeyer 250 mL (*Pyrex*), gelas beker 100 mL (*Pyrex*), rak tabung reaksi, tabung reaksi (*Pyrex*), pipet ukur 10 mL (*HBG*), corong 75 mm (*Herma*), gelas ukur 25 mL (*Pyrex*), gelas ukur 100 mL (*Pyrex*), kaca arloji, spatula, neraca analitik (*Fujitsu FS-AR210*), grinder (*FCT-2500*), blender (*Cosmos*), corong buchner, pompa vakum, destilasi (*Heidolph*), heating mantel, shaker (*50DGEX*), spektrofotometer Uv-Vis *double beam* (*Hitachi UH5300*), dan Gas Chromatography (*Thermo TRACE 1310*).

#### **4.2 Bahan Penelitian**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: Batang jamur tiram, Larutan buffer asetat pH 5.5, Aquades, Ragi tape (*NKL*) atau *Saccaromyces Cerevisiae*, Tandan Kelapa Sawit (TKS),  $K_2Cr_2O_7$  p.a (*Merck*),  $H_2SO_4$  (*J.T.Baker*), Etanol p.a, (*J.T.Baker*), dan Kertas saring .

#### **4.3 Cara Kerja**

##### **4.3.1 Preparasi Ekstrak Batang Jamur Tiram**

Preparasi ekstrak batang jamur tiram yaitu dengan menimbang sebanyak 200 gram batang jamur tiram. Kemudian dicuci hingga bersih menggunakan aquades, selanjutnya batang jamur tiram diblender hingga halus dan ditambahkan dengan 100 mL larutan buffer asetat pH 5,5 lalu didiamkan selama 24 jam. Kemudian batang jamur tiram yang telah halus disaring menggunakan penyaring vacuum dan ekstrak jamur tiram disimpan kedalam kulkas.

##### **4.3.2 Preparasi Tandan Kelapa Sawit (TKS)**

Preparasi Tandan kelapa sawit dilakukan yaitu dengan membersihkan TKS menggunakan air hingga bersih, Lalu dijemur selama 1 hari hingga kering. Selanjutnya TKS dipotong kecil-kecil untuk mempermudah penghancuran. Kemudian TKS dihancurkan menggunakan grinder hingga halus menjadi serbuk dan disimpan dalam wadah bersuhu normal.

#### 4.3.3 Proses Fermentasi dengan Metode SSF

Fermentasi dengan metode SSF dilakukan dengan menimbang 5 gram serbuk TKS dan dimasukkan dalam botol kaca 250 mL. Kemudian ditambahkan 100 mL akuadest dan 3 gram ragi tape atau *Saccaromyces Cerevisiae*. Setelah itu ditambahkan 25 mL ekstrak batang jamur tiram (enzim selulase) dengan variasi waktu fermentasi selama 1, 2, 3 hari lalu diaduk hingga homogen dan ditutup rapat. Kemudian semua sampel difermentasi menggunakan Shaker dengan kecepatan 270 rpm. Setelah proses fermentasi selesai dilakukan penyaringan larutan dengan pompa vakum sehingga diperoleh larutan alkohol dalam air.

#### 4.3.4 Analisis Kuantitatif Bioetanol

Menentukan kadar bioetanol yang diperoleh digunakan analisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis *double beam* dengan menggunakan reagen dikromat. Sebanyak 2 mL sampel bioetanol kemudian diencerkan dengan akuades hingga 10 mL lalu ditambah 2 mL reagen Jones dan dipanaskan selama 5 menit dan dianalisis dengan spektrofotometer UV-Vis *double beam* pada panjang gelombang 584,0 nm.

#### 4.3.5 Pemurnian Bioetanol

Pemurnian bioetanol dilakukan yaitu dengan menggunakan destilasi sederhana dengan temperatur 78°C pada setiap masing-masing hasil fermentasi.

#### 4.3.6 Analisis Kualitatif Bioetanol

Hasil destilasi yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan *Gas Chromatography* (GC) dengan kolom yang sesuai untuk mendapatkan waktu retensi sebagai pembanding pada setiap masing-masing sampel. Selain itu dilakukan pengukuran massa jenis pada masing-masing sampel menggunakan piknometer.