

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan dengan bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak batang jamur tiram yang digunakan sebagai agen hidrolisis dan juga mengetahui waktu terbaik dalam proses fermentasi dalam pembuatan bioetanol. Pada penelitian ini digunakan sampel berupa tandan kelapa sawit (TKS) yang telah dihaluskan menjadi serbuk sebagai sampel dalam pembuatan bioetanol. Tandan kelapa sawit (TKS) merupakan limbah perkebunan yang memiliki kandungan selulosa yang cukup tinggi yaitu memiliki kandungan selulosa mencapai 34,2% berat kering, 24,5% hemiselulosa dan kandungan lignin hingga 23,4% (Yulianto, 2009).

Tandan kelapa sawit memiliki selulosa yang nantinya dapat diubah menjadi glukosa melalui proses hidrolisis dan kemudian diubah menjadi etanol dengan proses fermentasi menggunakan ragi *S. Cerevisiae*. Sampel tandan sawit yang sudah tidak digunakan dan dimanfaatkan, diambil sebagai sampel penelitian. Sampel tersebut didapatkan penulis disekitar perkebunan PT. Guntung Hasrat, kabupaten kateman inhil, Riau.

Pada penelitian ini menggunakan ekstrak batang jamur tiram sebagai katalis dalam pembuatan bioetanol, adapun batang jamur tiram didapatkan ditempat budidaya jamur tiram desa cangkringan, Sleman. Batang jamur tiram yang digunakan ialah batang jamur yang sudah tidak dimanfaatkan lagi atau dibuang. Jenis jamur tiram yang digunakan ialah jamur tiram putih karena budidayanya tergolong lebih mudah dan relatif lebih murah. Penggunaan batang jamur tiram digunakan karena pada batang jamur tiram memiliki miselium yang berpengaruh dalam pembuatan bioetanol.

5.1 Preparasi Ekstrak Batang Jamur Tiram

Preparasi ekstrak batang jamur tiram dilakukan dengan menimbang 200 gram batang jamur tiram yang didapatkan dari tempat budidaya jamur. Batang jamur yang telah disiapkan dicuci dengan menggunakan akuades untuk menghilangkan pengotor-pengotor yang masih menempel pada batang jamur

tiram. Batang jamur yang telah bersih dihaluskan dengan menggunakan blender. Kemudian ditambahkan 100 mL larutan buffer asetat pH 5,5 ke dalam batang jamur yang telah dihaluskan dan didiamkan selama 24 jam. Digunakannya larutan buffer asetat pH 5,5 dikarenakan pada pH tersebut umumnya enzim selulase dapat bekerja lebih optimal (Zahria dkk., 2015). Larutan ekstrak batang jamur tiram kemudian disaring menggunakan buchner. Penyaringan tersebut bertujuan untuk memisahkan larutan ekstrak batang jamur tiram dari endapannya. Larutan yang terpisah berwarna kuning bening yang mengandung ekstrak dari batang jamur tiram. Ekstrak batang jamur tiram yang didapat disimpan di dalam lemari pendingin untuk menonaktifkan bakteri atau mikroorganismenya (Arifin, 2018).

5.2 Preparasi Tandan Kelapa Sawit (TKS)

Bioetanol dapat dibuat dari biomassa yang mengandung lignoselulosa salah satunya adalah tandan kelapa sawit (TKS). TKS merupakan limbah industri *crude palm oil* (CPO) yang saat ini merupakan komoditi yang mengalami pertumbuhan yang sangat pesat dan sampai saat ini penanganan limbah TKS masih kurang untuk menjadi sesuatu yang bermanfaat, padahal kandungan selulosa pada TKS cukup tinggi yaitu 41,3% - 46,6% (Syafwina dkk,2002). Selulosa dan hemiselulosa merupakan senyawa yang bernilai ekonomis jika dikonversi menjadi gula-gula sederhana. Gula-gula hasil konversi tersebut selanjutnya bisa difermentasi untuk menghasilkan produk-produk bioteknologi seperti bioetanol, asam glutamat, asam sitrat dan yang lainnya. Berdasarkan hal tersebut, maka TKS ini dapat digunakan sebagai bahan pembuatan bioetanol.

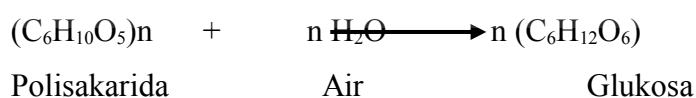
Preparasi TKS dilakukan yaitu dengan memilih TKS yang baik (tidak busuk atau berjamur), kemudian TKS dicuci menggunakan air supaya TKS bersih dari pengotor, sampel TKS yang sudah bersih kemudian dikeringkan dan dijemur dibawah sinar matahari untuk menghilangkan kandungan air pada TKS. Selanjutnya untuk mendapatkan serbuk TKS dilakukan penghalusan menggunakan mesin grinder, TKS dipotong kecil-kecil dan dimasukkan kedalam mesin grinder, pemotongan TKS berukuran kecil bertujuan untuk mempermudah penghalusan didalam mesin grinder sehingga didapatkan serbuk TKS dengan waktu yang singkat, Selain itu penghalusan TKS bertujuan untuk mendapatkan

ukuran sampel yang lebih kecil agar mempermudah proses perusakan lignoselulosa (delignoselulosa) pada sampel TKS, sehingga mendapatkan glukosa yang lebih maksimal.

5.3 Proses SSF

Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF) merupakan metode hidrolisis dan fermentasi dilakukan secara serentak. Bahan baku yang mengandung selulosa mengalami proses hidrolisis terlebih dahulu menjadi glukosa dan kemudian langsung difermentasi menjadi etanol. Digunakannya metode ini dikarenakan *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF) memiliki beberapa keuntungan yaitu hidrolisis oleh enzim selulase dan fermentasi oleh mikroba dapat dilakukan secara serentak, sehingga hanya menggunakan satu reaktor, selain itu selulosa yang dihidrolisis menjadi glukosa akan langsung difermentasi menjadi etanol. Proses hidrolisis dan fermentasi ini akan sangat efisien dan efektif jika dilaksanakan secara berkelanjutan tanpa melalui tenggang waktu yang lama.

Pada tahap pertama dalam metode SSF yaitu proses hidrolisis. Hidrolisis merupakan proses pemecahan polisakarida di dalam biomassa lignoselulosa, yaitu hemiselulosa dan selulosa menjadi monomer gula penyusunnya. Reaksi hidrolisis merupakan reaksi yang melibatkan air atau asam sebagai reaktan agar suatu persenyawaan dapat terpecah atau terurai. Reaksi hidrolisis merupakan reaksi yang berlangsung lambat karenanya untuk mempercepat laju sering ditambahkan katalis. Katalis yang biasa dipakai pada reaksi hidrolisis adalah katalis asam dan enzim, karena penggunaan asam tergolong berbahaya karena sifatnya yang korosif, sehingga pada penelitian ini dilakukan hidrolisis menggunakan enzim. Reaksi yang terjadi pada proses hidrolisis adalah sebagai berikut:



Enzim yang digunakan untuk menghidrolisis selulosa menjadi glukosa adalah enzim selulase. Konversi efektif dari selulosa menjadi monosakarida hanya dimungkinkan oleh kerja sinergis dari ketiga subgrup selulase berikut (Castello dan Chum, 1998; Eklund dan Zacchi, 1995):

1. Endo- β -1,4-D-glukanase yang memecah ikatan internal glukosidik yang berada diantara rantai glukan yang utuh.
2. Exo- β -1,4-D-glukanase/exo- β -1,4-D-selobiohidrolase yang memecah dimer selubiosa dari rantai glukan dan melepaskannya kedalam larutan.
3. β -glucosidase yang menyempurnakan hidrolisis selulosa menjadi glukosa dengan memecah selubiosa menjadi monomer glukosa.

Selanjutnya pada tahap kedua, sampel yang telah terhidrolisis akan mengalami fermentasi. Fermentasi merupakan proses penguraian gula menjadi etanol dan karbondioksida yang disebabkan oleh enzim yang dihasilkan oleh massa sel mikroba. Perubahan yang terjadi selama proses fermentasi adalah perubahan glukosa menjadi etanol oleh sel-sel *Saccharomyces cerevisiae* (Prescott dan Dunn, 1959). Fermentasi glukosa merupakan salah satu jenis fermentasi anaerob atau tanpa menggunakan oksigen pada prosesnya. Fermentasi glukosa pada tandan kelapa sawit dilakukan menggunakan ragi tape merek NKL sebanyak 3 gram sebagai sumber *Saccharomyces cerevisiae* yang dapat hidup secara anaerob dalam media fermentasi. Digunakannya *Saccharomyces cerevisiae* karena dalam ragi terdapat banyak jenis khamir, namun hanya satu spesies yang dikenal dapat mengkonversi gula menjadi etanol yang sangat tinggi yaitu *Saccaromyces cerevisiae* (Judoamidjojo, 1990). Reaksi yang terjadi pada proses fermentasi yaitu:



Variabel penelitian ini yaitu waktu fermentasi, percobaan yang dilakukan ialah diambil 5 gram serbuk TKS ditambahkan dengan 3 gram ragi tape dan 100 mL akuades didalam botol 250 mL. Kemudian ditambahkan 25 mL ekstrak batang jamur tiram, volume tersebut dipilih berdasarkan pada penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa pada volume tersebut merupakan volume yang paling efektif (Arifin I, 2018). Pada variasi waktu fermentasi yaitu 1, 2, dan 3 hari. Lalu diaduk merata dengan spatula hingga homogen dan perlakuan sampel dilakukan sebanyak 2 kali (duplo). Selama waktu fermentasi berlangsung semua sampel

diletakkan diatas shaker dengan kecepatan 270 rpm yang bertujuan agar medium SSF selalu homogen sehingga proses fermentasinya lebih optimal. Setelah fermentasi selesai larutan kemudian disaring menggunakan penyaring vakum agar didapat filtratnya.



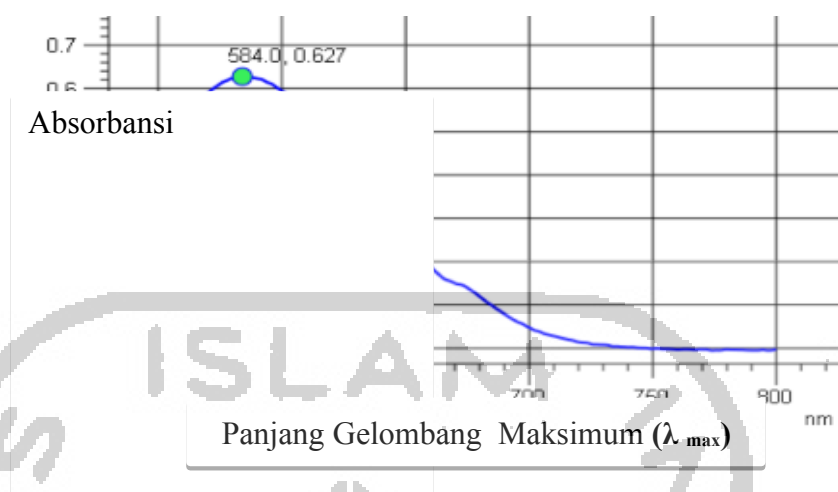
Gambar 10. Proses SSF

5.4 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (λ_{max})

Penentuan panjang gelombang dilakukan yaitu dengan menggunakan 10 mL larutan standar etanol 0,2% dan ditambahkan 2 mL reagen dikromat (*Jones*). Kemudian dilakukan pemanasan hingga terjadi perubahan warna. Penentuan panjang gelombang maksimum bertujuan untuk memperoleh nilai adsorbsivitas yang memberikan sensitivitas pengukuran tertinggi. Reagen dikromat (*Jones*) adalah larutan antara kalium dikromat direaksikan dengan asam sulfat pekat. Reagen dikromat (*Jones*) berfungsi sebagai oksidator yang akan mengoksidasi etanol menjadi asam asetat yang ditandai dengan warna biru kehijauan. Reaksi yang terjadi adalah sebagai berikut:



Pengukuran panjang gelombang maksimum dilakukan pada kisaran panjang gelombang 400-800 nm. Panjang gelombang maksimum merupakan puncak adsorpsi maksimum dari suatu unsur atau senyawa.

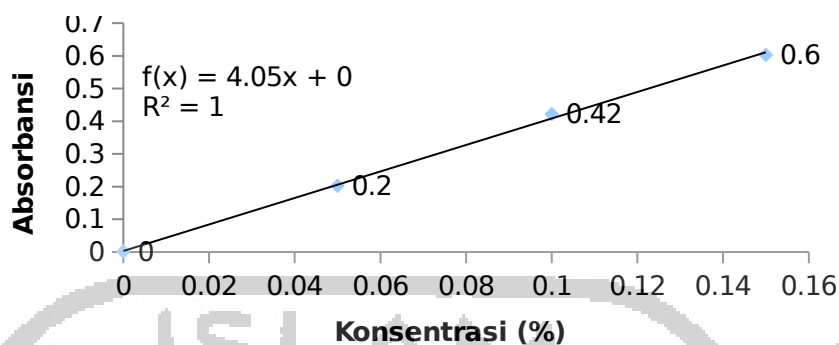


Gambar 12. Grafik Panjang Gelombang Maksimum Reagen Dikromat (*Jones*)

Gambar 12 merupakan hasil pengukuran penentuan panjang gelombang maksimum larutan standar etanol 0.2% dan reagen dikromat (*Jones*) menggunakan spektrofotometer Uv-Vis double beam, dimana nilai absorbansi maksimum terjadi pada gelombang 584,0 nm. Selanjutnya nilai panjang gelombang tersebut digunakan untuk mengukur konsentrasi bioetanol secara kuantitatif.

5.5 Penentuan Konsentrasi Bioetanol

Pada penentuan konsentrasi bioetanol, hal utama yang dilakukan ialah membuat kurva kalibrasi, dimana kurva kalibrasi tersebut dibuat menggunakan nilai absorbansi dari larutan standar etanol 0%, 0,05%, 0,1% dan 0,15% dengan panjang gelombang maksimum 584.0 nm yang nantinya diharapkan pada pengukuran konsentrasi bioetanol pada sampel dapat berfungsi sebagai *range*. Kemudian dihasilkan persamaan regresi linier $y = 4,052x + 0,0031$ dengan nilai koefisien regresi (R^2) = 0,9987, dimana 4,052 sebagai nilai slope dan 0,0031 sebagai nilai intercept. Persamaan tersebut telah sesuai dengan hukum Lambert-Beer, dapat dilihat pada gambar 13.



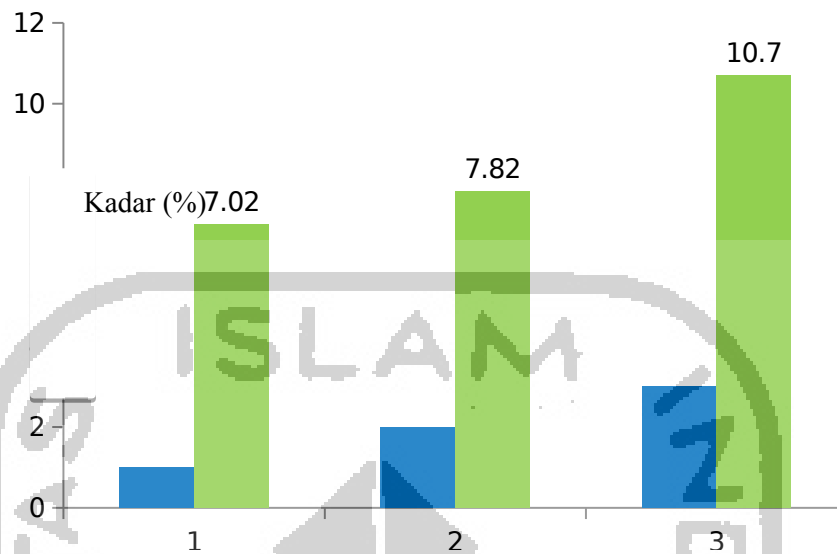
Gambar 13. Grafik hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi larutan standar etanol

Kurva kalibrasi dan persamaan regresi linier yang sudah dibuat kemudian digunakan untuk mengukur konsentrasi bioetanol pada sampel secara kuantitatif menggunakan spektrofotometer Uv-Vis *double beam*. Pada analisis sampel bioetanol, diambil 2 mL sampel bioetanol kemudian diencerkan hingga 10 mL atau dilakukan 5 kali pengenceran menggunakan aquades karena sampel tanpa pengenceran yang didapat tidak masuk dalam *range* absorbansi larutan standar etanol. Kemudian ditambahkan 2 mL reagen dikromat dan dilakukan juga pemanasan hingga terjadi perubahan warna. Pada pengukuran variasi waktu fermentasi sampel bioetanol didapatkan hasil sebagai berikut, dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 2. Kadar sampel bioetanol waktu fermentasi

Sampel	Douplo	Nilai Absorbansi	Rata-rata Absorbansi	Konsentrasi sebenarnya(%)	Massa (gram)	Kadar (%)
1 hari	A1	0,298	0,294	0,36%	0,351	7,02
	A2	0,291				
2 hari	B1	0,327	0,328	0,401	0,391	7,82
	B2	0,330				
3 hari	C1	0,458	0,448	0,549	0,535	,7
	C2	0,438				

Dari Tabel 2, hasil perhitungan kadar bioetanol hasil analisa menggunakan Spektrofotometer UV-Vis, maka didapatkan hubungan seperti Gambar 12.



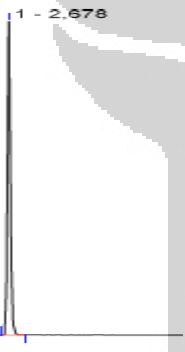
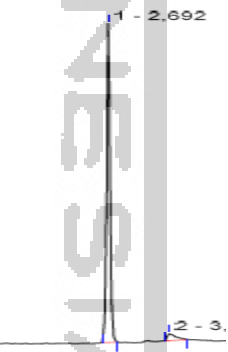


Gambar 14 . Grafik kadar bioetanol pada waktu fermentasi

Grafik sampel bioetanol variasi waktu fermentasi terlihat bahwa pada proses SSF terjadi kenaikan yang signifikan pada kadar bioetanol yang dihasilkan dari lamanya waktu fermentasi yang dilakukan. Hal ini berkaitan dengan pertumbuhan dari *Saccharomyces cerevisiae* atau ragi, karena pertumbuhan dari mikroorganisme ini mengalami 4 fase pertumbuhan, yaitu fase adaptasi (lag fase), fase tumbuh cepat (fase eksponensial), fase stasioner (fase tumbuh konstan), dan fase kematian. Namun pada penelitian ini, jika dilihat dari gambar 12, ragi *Saccharomyces cerevisiae* hanya terjadi pada fase adaptasi dan fase tumbuh cepat. Pada fase adaptasi digambarkan dengan garis kurva dari keadaan nol, pada fase ini *Saccharomyces cerevisiae* sedang dalam mengalami masa adaptasi dengan lingkungan sehingga belum ada kadar bioetanol yang dihasilkan. Kemudian setelah *Saccharomyces cerevisiae* mengalami fase adaptasi pada lingkungan maka *Saccharomyces cerevisiae* mengalami fase tumbuh cepat (fase eksponensial), pada fase ini *Saccharomyces cerevisiae* mengalami pertumbuhan yang sangat cepat, dimana *Saccharomyces cerevisiae* memecahkan gula secara besar-besaran dalam keadaan anaerob menjadi alkohol sehingga terjadi peningkatan pada kadar bioetanol yang dihasilkan. Dari gambar 12 dapat dilihat bahwa waktu fermentasi pada hari ke 1 menghasilkan kadar bioetanol dengan volume enzim selulase 25 mL sebesar 7,02%, hari ke 2 sebesar 7,82% dan kondisi terbaik ialah pada hari ke

3 dengan kadar bioetanol sebesar 10,7%. Pada penelitian ini juga kadar bioetanol menggunakan TKS yang dihasilkan lebih banyak dari penelitian sebelumnya, dimana sampel yang digunakan ialah jerami padi yaitu pada waktu fermentasi selama 2 hari menghasilkan 2,14% dan 4 hari hanya menghasilkan 7,36% (Arifin I,2018).

5.6 Analisis Etanol secara Kualitatif menggunakan Kromatografi Gas

Pada analisis etanol sampel menggunakan *Gas Chromatography* secara kualitatif, sampel bioetanol terlebih dahulu dilakukan proses destilasi untuk menghilangkan air pada sampel sehingga diharapkan mendapatkan sampel etanol yang lebih murni. Pada analisis ini digunakan larutan standar etanol 1% dan diperoleh waktu retensi sebesar 2,678. Hasil waktu retensi larutan standar etanol tersebut digunakan sebagai pembanding sampel etanol yang lainnya seperti pada gambar berikut.

	
Standar etanol 1% Waktu retensi 2,678	1 hari waktu Fermentasi Waktu Retensi 2,692
	
2 hari Waktu Fermentasi Waktu Retensi 2,688	3 hari Waktu Fermentasi Waktu Retensi 2,687

Gambar 15. Kromatogram larutan standar etanol 1% dan Sampel etanol

Berdasarkan Gambar 15, didapatkan puncak etanol 1% sebesar 2,678 dan sampel etanol lainnya, kemudian dapat dilihat perbandingan hasil analisis standar dan sampel etanol menggunakan GC sebagai berikut:

Tabel 3. Data sampel hasil analisis GC waktu fermentasi dan standar

Waktu Fermentasi (hari)	Retention Time (menit)
Standar etanol 1%	2,678
1	2,692
2	2,688
3	2,687

Pada perlakuan sampel etanol, dilihat dari tabel 3 menunjukkan bahwa nilai waktu retensi yang muncul pada sampel etanol yang dihasilkan memiliki kemiripan dengan standar, hal ini menandakan bahwa sampel tersebut terdapat etanol dari proses SSF dan selain itu juga pada hasil kromatogram sampel etanol memiliki beberapa puncak yang dimungkinnya tercapat pengotor pada sampel etanol yang dianalisis.

5.7 Penentuan Nilai Densitas Etanol menggunakan Piknometer

Pada analisis ini, untuk mengetahui nilai suatu masa jenis dari etanol pada sampel perlu dilakukan penentuan nilai densitas etanol menggunakan piknometer dengan volume 5 mL. Dimana, terlebih dahulu dilakukan penentuan nilai densitas pada standar etanol p.a yang bertujuan sebagai pembandingan pada sampel etanol yang lain. Data hasil analisis densitas bioetanol dapat dilihat pada tabel 10.

Tabel 4. Data hasil analisis densitas bioetanol pada sampel dan standar

Waktu Fermentasi (hari)	Densitas (g/mL)
Standar etanol SNI	0,789
Standar etanol p.a	0,820
1	1,0003
2	0,994
3	0,999

Dari tabel 10, dapat dilihat bahwa hasil nilai densitas atau masa jenis etanol standar SNI ialah 0,789 g/mL sedangkan pada standar etanol p.a percobaan

ialah 0,820 g/mL, hal ini dimungkinkan etanol p.a percobaan tidak memiliki kemurnian dan telah bercampur dengan zat lain. Kemudian nilai densitas pada etanol yang dihasilkan pada proses SSF juga tidak memiliki kemiripan dengan standar SNI maupun percobaan. Hal ini menunjukkan bahwa, dari analisis sebelumnya adanya etanol pada sampel tersebut. Namun, adanya perbedaan nilai densitas standar etanol dengan sampel dimungkinkan karena masih adanya air yang ikut menguap pada proses destilasi sehingga mempengaruhi kemurnian etanol pada sampel.

