

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui apakah ekstrak batang jamur tiram dapat digunakan sebagai agen hidrolisis pada pembuatan bioetanol dari jerami padi. Selain itu juga bertujuan untuk mengetahui kondisi terbaik dari penggunaan ekstrak batang jamur tiram dan waktu fermentasi terhadap kadar bioetanol yang dihasilkan. Pada penelitian ini digunakan sampel berupa jerami padi. Jerami padi merupakan limbah pertanian yang memiliki kandungan selulosa yang cukup tinggi yaitu mencapai 34,2% berat kering, 24,5% hemiselulosa dan kandungan lignin hingga 23,4% (Yulianto, 2009). Kandungan selulosa jerami padi nantinya dapat diubah menjadi glukosa melalui proses hidrolisis, kemudian diubah lagi menjadi etanol melalui proses fermentasi. Sampel jerami padi tersebut didapatkan penulis dari sawah disekitar desa Cangkringan yang telah panen, jerami yang tidak lagi dimanfaatkan diambil dan digunakan untuk sampel penelitian.

Penelitian ini juga menggunakan ekstrak batang jamur tiram sebagai katalis enzimatik dalam proses hidrolisis. Penggunaan ekstrak batang jamur tiram dilakukan untuk mengetahui apakah mikroba pada miselium batang jamur berpengaruh terhadap produksi bioetanol. Jenis jamur yang digunakan adalah jamur tiram putih. Hal ini dikarenakan budidaya jamur tiram putih tergolong mudah dan cukup sederhana sehingga jamur tersebut mudah untuk didapatkan, selain itu harganya relatif murah.

Jamur sebagai tanaman memiliki inti, berspora dan merupakan sel-sel lepas atau bersambungan membentuk benang yang bersekat atau tidak bersekat yang

disebut *hifa* (sehelai benang). Hifa jamur menyatu membuat jaringan yang disebut miselium (kumpulan hifa). Miselium jamur bercabang-cabang dan pada titik pertemuannya membentuk bintik kecil yang disebut sporangium yang akan tumbuh menjadi tunas dan akhirnya tumbuh menjadi jamur. Pada awal perkembangan miselium, jamur melakukan penetrasi dengan melubangi dinding sel kayu. Proses penetrasi (pemboran) dinding sel kayu dibantu oleh enzim pemecah selulosa, hemiselulosa dan lignin yang disekresi oleh jamur melalui ujung lateral benang-benang miselium. Enzim mencerna senyawa kayu yang dilubangi sekaligus memanfaatkannya sebagai sumber (zat) makanan jamur (Djarajah, 2001).

5.1 Preparasi Ekstrak Batang Jamur Tiram

Preparasi ekstrak batang jamur tiram dilakukan dengan menimbang 100 gram batang jamur tiram yang didapatkan dari tempat budidaya jamur. Batang jamur yang telah disiapkan dicuci dengan menggunakan aquades 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. 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 mikroorganisme.

5.2 Preparasi Jerami Padi

Bioetanol dapat dibuat dari biomassa yang mengandung lignoselulosa salah satunya adalah jerami padi. Jerami padi merupakan biomassa yang secara kimia merupakan senyawa berlignoselulosa. Menurut Saha (2004) komponen terbesar penyusun jerami padi adalah selulosa (35%-50%), hemiselulosa (20%-35%), lignin (10%-25%) dan zat lain penyusun jerami padi. 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 jerami padi ini dapat digunakan sebagai bahan pembuatan bioetanol.

Preparasi jerami padi dilakukan dengan memilih jerami yang berkualitas bagus (tidak busuk), kemudian dicuci untuk menghilangkan pengotor yang menempel pada jerami padi. Sampel yang telah bersih dikeringkan dengan diangin-anginkan untuk menghilangkan kandungan air. Selanjutnya jerami padi dihaluskan menggunakan *blander*. Penghalusan tersebut bertujuan untuk mendapatkan ukuran sampel yang lebih kecil agar mempermudah saat proses perusakan lignoselulosa (delignoselulosa) pada sampel jerami padi, sehingga dihasilkan glukosa yang lebih maksimal. Sampel jerami padi dikeringkan kembali untuk menghilangkan kandungan airnya dengan dipanaskan di dalam oven bersuhu 50°C selama \pm 24 jam hingga didapatkan bubuk jerami padi yang kering. Pemanasan dengan suhu 50°C

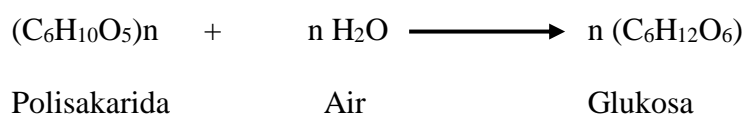
tersebut dimaksudkan agar lignoselulosa tidak rusak dan bubuk jerami tidak gosong. Kemudian sebagian bubuk jerami diambil sebanyak 20 gram dan direndam dengan NaOH 2 M sebanyak 100 mL dan didiamkan selama 1 jam, setelah itu dibilas dengan akuades hingga pH nya netral, kemudian serbuk jerami dikeringkan dengan oven selama \pm 24 jam pada temperatur 50°C. Serbuk jerami yang direndam NaOH ini digunakan untuk kontrol yang dipakai sebagai pembanding kadar etanol yang dihasilkan dengan perendaman menggunakan NaOH dan tanpa perendaman menggunakan NaOH.

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:

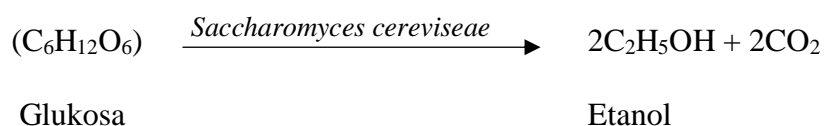


Enzim yang digunakan untuk menghidrolisis selulosa menjadi glukosa adalah enzim selulase. Konversi efektif dari selulosa menjadi monosakarida hanya dimungkinkan oleh kerja sinergis dari ketiga subgrup selulase berikut:

1. Endo- β -1,4-D-glukanase yang memecah ikatan internal glukosidik yang berada diantara rantai glucan yang utuh.
2. Exo- β -1,4-D-glukanase/exo- β -1,4-D-selobiohidrolase yang memecah dimer selubiosa dari rantai glucan 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 jerami padi dilakukan menggunakan ragi tape merek NKL sebanyak 4 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 *Saccharomyces cerevisiae* (Judoamidjojo, 1990). Reaksi yang terjadi pada proses fermentasi yaitu:



Variabel penelitian ini yaitu volume enzim selulase dan waktu fermentasi, serta pretreatment pada jerami padi berupa perendaman menggunakan NaOH sebagai kontrol, untuk mengetahui apakah perendaman dengan NaOH berpengaruh signifikan terhadap kadar etanol yang dihasilkan. Pada percobaan pertama yaitu variasi volume enzim selulase, sampel bubuk jerami padi sebanyak 10 gram ditambahkan dengan 4 gram ragi tape dan 100 mL aquades didalam botol kaca 250 mL. Ditambahkan ekstrak batang jamur tiram yang telah disiapkan sebelumnya ke dalam bubur jerami padi dengan berbagai variasi volume yaitu 0, 10, 15, 20 dan 25 mL yang kemudian diaduk menggunakan spatula hingga homogen kemudian ditutup dan difermentasi selama 9 hari menggunakan *shaker* dengan kecepatan 240 rpm, percobaan dilakukan sebanyak 2 kali (duplo). Penggunaan *shaker* bertujuan agar medium SSF selalu homogen sehingga proses fermentasinya lebih optimal.

Setelah fermentasi selesai larutan kemudian disaring menggunakan penyaring vakum agar didapat filtratnya.

Pada percobaan kedua yaitu variasi waktu fermentasi, sampel bubuk jerami sebanyak 10 gram ditambahkan dengan 4 gram ragi tape dan 100 mL aquades didalam botol kaca 250 mL. Ditambahkan ekstrak batang jamur tiram 25 mL kemudian ditutup dan difermentasi selama 2, 4, 6, 8 dan 10 hari menggunakan shaker dengan kecepatan 240 rpm, percobaan dilakukan sebanyak 2 kali (duplo). Sedangkan untuk kontrol, serbuk jerami yang sudah direndam dengan NaOH diambil sebanyak 10 gram, kemudian ditambahkan 4 gram ragi tape dan aquades 100 mL didalam botol kaca 250 mL. Setelah itu ditambahkan ekstrak batang jamur tiram 25 mL dan difermentasi selama 10 hari menggunakan shaker dengan kecepatan 240 rpm, percobaan dilakukan sebanyak 2 kali.



Gambar 9. Proses SSF

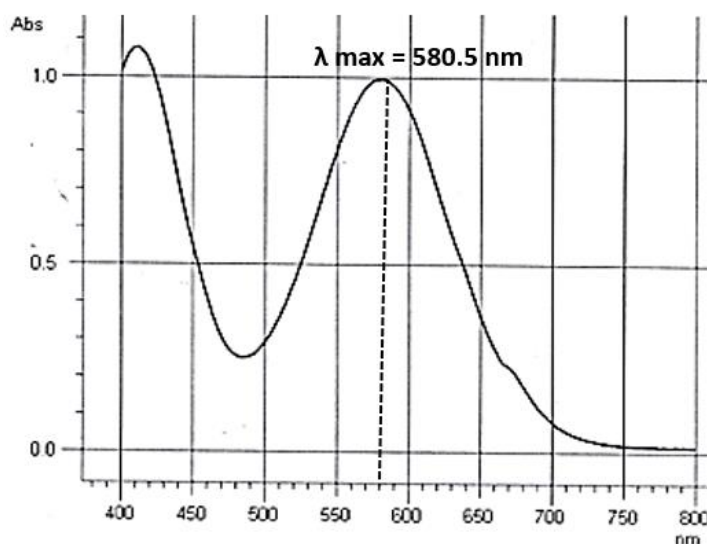
5.4 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (λ_{max})

Penentuan panjang gelombang maksimum bertujuan untuk memperoleh nilai adsorbsivitas yang memberikan sensitivitas pengukuran tertinggi. Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan menggunakan larutan standar etanol dengan konsentrasi 0,5 % sebanyak 5 mL. Kemudian ditambahkan 2 mL

reagen dikromat (*Jones*) dan dilakukan pemanasan selama 5 menit. Pemanasan ini bertujuan untuk menghasilkan perubahan warna dari orange menjadi biru kehijauan. 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.



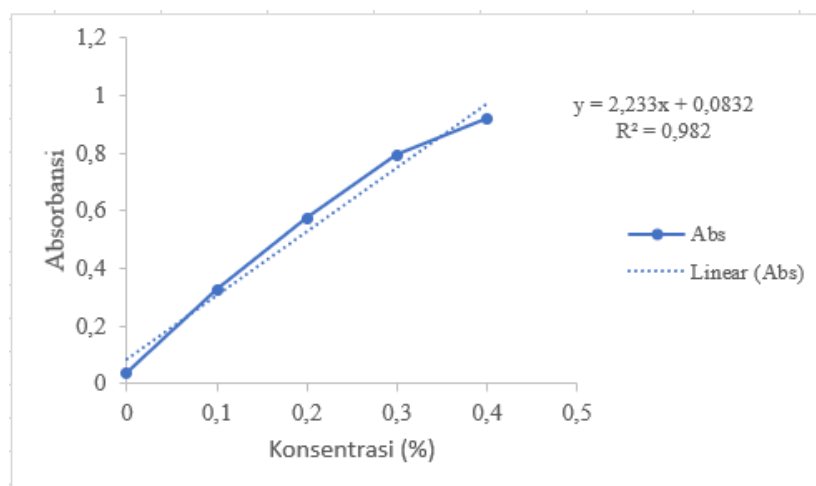
Gambar 10. Grafik Panjang Gelombang Maksimum Reagen Dikromat (*Jones*)

Gambar 10 merupakan hasil pengukuran penentuan panjang gelombang maksimum reagen dikromat (*Jones*), dimana absorbansi maksimum terjadi pada panjang gelombang 580,5 nm. Panjang gelombang 580,5 nm dan 411 nm merupakan daerah sinar tampak. Panjang gelombang 580,5 nm adalah panjang gelombang warna komplementer (transmisi) dari larutan yang diukur yaitu

berwarna biru. Warna yang diserap adalah warna kuning yang mempunyai kisaran panjang gelombang 580 – 595 nm (Sastrohamidjojo, 2001). Panjang gelombang maksimum 580,5 nm ini digunakan untuk pengukuran selanjutnya.

5.5 Penentuan Konsentrasi Bioetanol

Pada penentuan konsentrasi bioetanol, pertama-tama dibuat kurva kalibrasi terlebih dahulu. Kurva kalibrasi dibuat dengan cara mengukur absorbansi dari larutan standar yang telah ditentukan konsentrasinya yaitu 0%, 0,1%, 0,2%, 0,3% dan 0,4% yang diharapkan nantinya *range* tersebut dapat mewakili pengukuran konsentrasi bioetanol pada sampel untuk analisa berikutnya. Pengukuran absorbansi kelima larutan standar dilakukan pada panjang gelombang maksimum (λ_{\max}) 580,5 nm. Hasilnya diperoleh persamaan regresi linier $y = 2,233x + 0,0832$ dengan nilai koefisien regresi (R^2) = 0,9822, dengan 2,233 sebagai slope dan 0,0832 sebagai intercept. Persamaan tersebut telah sesuai dengan hukum Lambert-Beer yang menghubungkan antara absorbansi dengan konsentrasi larutan dimana grafiknya dapat dilihat pada Gambar 11.



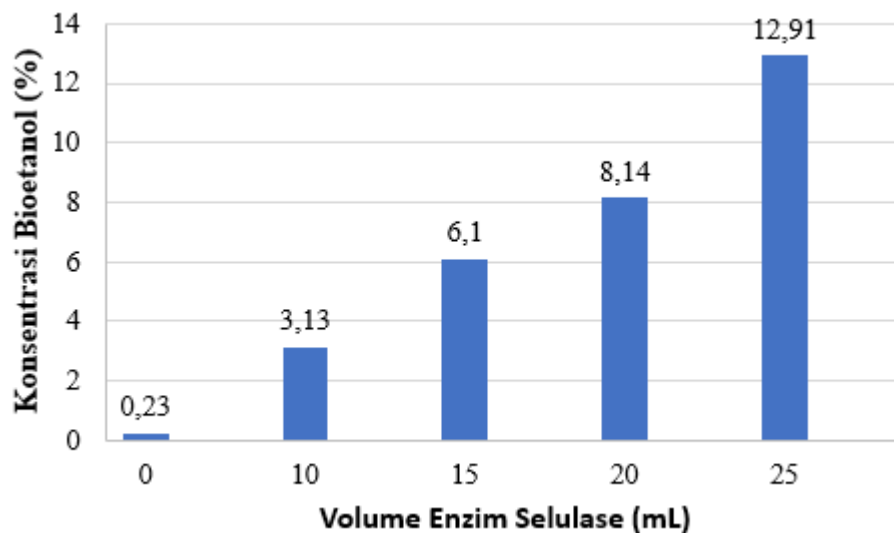
Gambar 11. Grafik hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi larutan standar etanol

Kurva kalibrasi yang sudah dibuat kemudian digunakan untuk menentukan konsentrasi bioetanol. Pada analisis bioetanol secara kuantitatif dengan Spektrofotometer UV-Vis, sampel diencerkan sebanyak 5 kali menggunakan aquades karena absorbansi sampel tanpa pengenceran yang didapat tidak masuk dalam *range* absorbansi larutan standar etanol. Pada percobaan variasi volume enzim selulase, nilai absorbansi dan kadar hasil analisis sampel bioetanol dengan pengenceran sebanyak 5 kali yang didapat dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Kadar sampel bioetanol variasi volume enzim

Sampel		Absorbansi	Rata-rata Absorbansi	Konsentrasi (%)
0 ml	A1	0,097	0,099	0,23
	A2	0,101		
10 ml	B1	0,245	0,248	3,13
	B2	0,251		
15 ml	C1	0,401	0,387	6,1
	C2	0,373		
20 ml	D1	0,464	0,472	8,14
	D2	0,481		
25 ml	E1	0,716	0,676	12,91
	E2	0,636		

Dari Tabel 4 hasil perhitungan kadar bioetanol hasil analisa dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis, maka didapatkan hubungan seperti pada Gambar 12.



Gambar 12 . Grafik kadar sampel bioetanol variasi volume enzim

Volume enzim selulase yang ditambahkan pada proses SSF bervariasi, yaitu 0, 10, 15, 20 dan 25 mL dan waktu fermentasi yang digunakan sama yaitu 9 hari. Berdasarkan Gambar 12, terlihat bahwa kenaikan persen bioetanol berbanding lurus dengan penambahan volume enzim selulase. Bertambahnya volume enzim selulase berkaitan dengan kecepatan reaksi kimia yang berlangsung. Dalam waktu fermentasi yang sama, semakin banyak volume enzim selulase maka proses hidrolisis dari selulosa menjadi glukosa akan lebih cepat, sehingga akan langsung dikonversi menjadi etanol dengan kadar yang tinggi pula. Pada variasi volume enzim selulase 0 mL (tanpa penambahan enzim), kadar etanol yang dihasilkan yaitu sebesar 0,23%. Kadar yang dihasilkan sangat sedikit, hal ini terjadi karena proses hidrolisis tanpa menggunakan enzim akan berjalan lambat, sehingga selulosa yang dikonversi menjadi glukosa jumlahnya sedikit yang menyebabkan kadar etanol yang dihasilkan juga sedikit. Reaksi tanpa enzim biasanya membutuhkan jumlah energi yang lebih besar untuk membentuk produk akhir daripada reaksi dengan

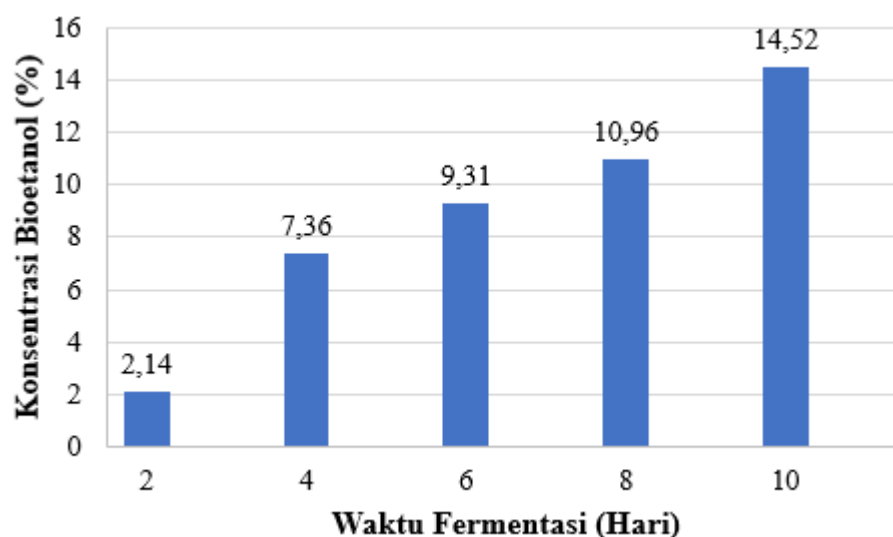
menggunakan enzim. Hal ini dikarenakan penggunaan enzim dalam reaksi menurunkan energi aktivasi sehingga energi yang dibutuhkan untuk mencapai produk akhir lebih kecil dibandingkan reaksi tanpa enzim. Berdasarkan grafik pada Gambar 14 menunjukkan bahwa dari ke lima variasi volume enzim selulase yang digunakan, didapatkan kadar bioetanol tertinggi pada penambahan volume enzim selulase 25 mL yaitu sebesar 12,91%. Hal ini menunjukkan bahwa enzim selulase pada volume tersebut bersifat efektif dan bekerja baik sebagai biokatalis yang membantu dalam proses hidrolisis.

Pada percobaan kedua yaitu variasi waktu fermentasi selama 2, 4, 6, 8 dan 10 hari dengan volume enzim selulase yang sama yaitu 25 mL, volume tersebut dipilih berdasarkan percobaan sebelumnya yang menunjukkan bahwa pada volume tersebut merupakan volume yang paling efektif. Hasil perhitungan analisis kadar etanol menggunakan Spektrofotometer UV-Vis Double Beam dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Kadar sampel bioetanol variasi waktu fermentasi

Sampel	Absorbansi	Rata-rata Absorbansi	Konsentrasi (%)
2 hari	A1	0,206	2,14
	A2	0,157	
4 hari	B1	0,408	7,36
	B2	0,436	
6 hari	C1	0,480	9,31
	C2	0,541	
8 hari	D1	0,584	10,96
	D2	0,588	
10 hari	E1	0,754	14,52
	E2	0,746	

Dari tabel hasil perhitungan kadar bioetanol hasil analisa dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis Double Beam, maka didapatkan hubungan seperti pada Gambar 13.



Gambar 13. Grafik kadar sampel bioetanol variasi waktu fermentasi

Waktu fermentasi yang divariasikan pada proses SSF yaitu 2, 4, 6, 8 dan 10 hari. Dari Gambar 13, terlihat bahwa kenaikan persen bioetanol berbanding lurus dengan lama waktu proses SSF. Lama fermentasi berkaitan dengan pertumbuhan dari *Saccharomyces cerevisiae*. Seperti mikroorganisme yang lain, pertumbuhan dari *Saccharomyces cerevisiae* dapat digambarkan dengan kurva pertumbuhan yang menunjukkan masing-masing fase pertumbuhan. Dalam fermentasi sebenarnya ada 4 fase pertumbuhan yang meliputi fase adaptasi (lag fase), fase tumbuh cepat (fase eksponensial), fase stasioner (fase tumbuh konstan), dan fase kematian. Fase adaptasi digambarkan dengan garis kurva dari keadaan nol kemudian sedikit ada kenaikan. Dalam fase ini *Saccharomyces cerevisiae* mengalami masa adaptasi dengan lingkungan dan belum ada pertumbuhan. Fase tumbuh cepat yang digambarkan dengan garis kurva yang mulai menunjukkan

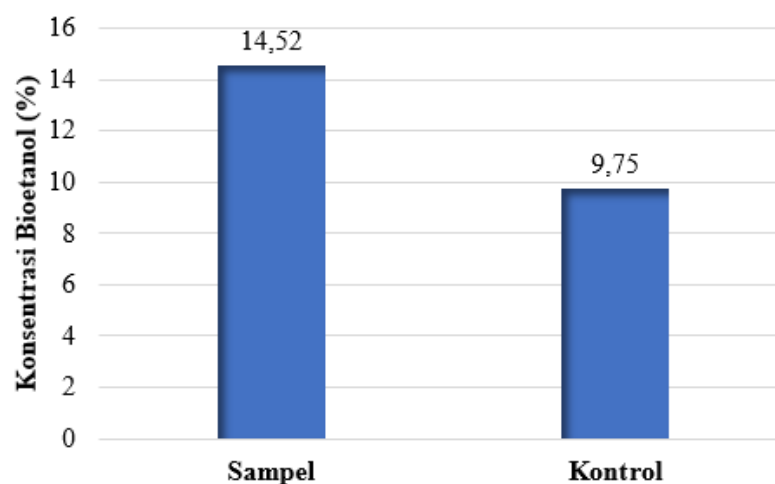
adanya peningkatan yang tajam. Pada fase ini *Saccharomyces cerevisiae* mengalami pertumbuhan sangat cepat. Di dalam fase ini terjadi pemecahan gula secara besar-besaran guna memenuhi kebutuhan pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae*. Hasil pemecahan gula oleh *Saccharomyces cerevisiae* dalam keadaan anaerob menghasilkan alkohol. Kemungkinan dihasilkan alkohol paling tinggi pada fase ini. Fase stasioner digambarkan dengan garis kurva mendatar yang menunjukkan jumlah *Saccharomyces cerevisiae* yang hidup sebanding dengan jumlah yang mati. Fase kematian digambarkan dengan penurunan garis kurva. Pada fase ini jumlah *Saccharomyces cerevisiae* yang mati jumlahnya lebih banyak sampai akhirnya semua *Saccharomyces cerevisiae* mati. Pada penelitian ini ragi *Saccharomyces cerevisiae* hanya dapat dilihat fase lag dan fase eksponensialnya untuk merubah glukosa menjadi bioetanol. Dari gambar 15 dapat dilihat bahwa kondisi terbaik dari penelitian ini yaitu pada saat waktu SSF 10 hari dengan volume enzim selulase 25 mL yang menghasilkan kadar bioetanol sebesar 14,52%.

Pada percobaan ketiga yaitu penambahan pretreatment (perlakuan) terhadap sampel jerami padi yang telah dihaluskan dengan merendam sampel jerami sebanyak 20 gram dalam 100 mL larutan NaOH 2 M, sampel tersebut kemudian digunakan sebagai kontrol atau pembanding dengan sampel yang memiliki perlakuan dengan kadar etanol tertinggi. Dalam hal ini sampel diberi perlakuan penambahan enzim selulase sebanyak 25 mL dengan waktu fermentasi 10 hari. Hal ini bertujuan untuk membuktikan apakah dengan adanya penambahan NaOH pada sampel jerami akan berpengaruh signifikan terhadap etanol yang dihasilkan atau tidak. Dari percobaan yang telah dilakukan didapatkan data sebagai berikut:

Tabel 6. Kadar sampel kontrol bioetanol

Sampel	Absorbansi	Rata-rata absorbansi	Konsentrasi (%)
Kontrol	C1	0,538	9,75
	C2	0,525	

Tabel 6 menunjukkan kadar sampel kontrol bioetanol, jika dibandingkan dengan data sampel yang memiliki konsentrasi bioetanol tertinggi yaitu pada variasi waktu fermentasi 10 hari (E1 dan E2) dari tabel 6, maka dapat dibuat grafik perbandingan sebagai berikut:



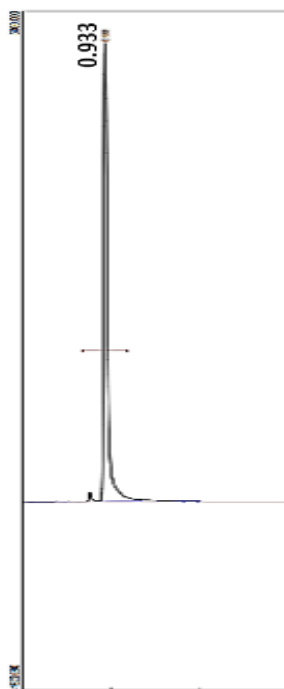
Gambar 14. Grafik perbandingan kadar bioetanol antara sampel dengan kontrol

Berdasarkan Gambar 14 terlihat bahwa perbandingan antara konsentrasi sampel dengan kontrol terlihat cukup berbeda. Sampel dengan waktu fermentasi 10 hari menunjukkan konsentrasi yang lebih tinggi daripada kontrol. Menurut teori, praperlakuan basa (penambahan NaOH) dapat memutuskan ikatan antara lignin dan karbohidrat dan mengacaukan struktur lignin, sehingga karbohidrat menjadi lebih mudah diserang. Namun dalam percobaan kali ini bioetanol yang dihasilkan oleh sampel tanpa praperlakuan basa memiliki kadar yang lebih tinggi daripada dengan

praperlakuan basa. Adanya praperlakuan basa terhadap sampel jerami tidak memberikan dampak yang signifikan terhadap kadar bioetanol yang dihasilkan. Karena pada dasarnya jamur tiram memperoleh makanannya dengan cara mengeluarkan enzim selulase dan dapat merombak struktur lignoselulosa dari kayu ataupun residu pertanian. Sehingga tanpa bantuan praperlakuan basa pun enzim selulase tersebut sudah dapat bekerja dengan baik.

5.6 Analisis Etanol secara Kualitatif menggunakan Kromatografi Gas

Sampel yang dianalisa menggunakan *Gas Chromatography* merupakan sampel yang telah didestilasi sebelumnya. Pada analisis bioetanol menggunakan GC, larutan standar yang digunakan adalah larutan standar etanol 1%. Diperoleh nilai waktu retensi sebesar 0,933.



Gambar 15. Kromatogram larutan standar etanol 1%

Berdasarkan Gambar 15, dapat dilihat bahwa terbentuk puncak tajam pada waktu retensi sebesar 0,933 yang menunjukkan puncak dari etanol. Nilai waktu retensi tersebut selanjutnya akan digunakan sebagai pembanding.

Setelah itu sampel dianalisis satu persatu, uji kualitatif menggunakan GC ini ditentukan dengan cara membandingkan waktu retensi antara larutan standar dengan sampel. Adanya kemiripan nilai waktu retensi menunjukkan adanya kandungan etanol dalam sampel tersebut. Dari hasil analisis menggunakan GC dihasilkan data sebagai berikut:

Tabel 7. Data sampel hasil analisis GC pada variasi volume enzim

Volume enzim (mL)	Waktu retensi (menit)
0	-
10	0,920
15	0,920
20	0,920
25	0,920

Tabel 8. Data sampel hasil analisis GC pada variasi waktu fermentasi

Waktu Fermentasi (Hari)	Waktu retensi (menit)
2	0,916
4	0,933
6	0,923
8	0,920
10	0,916

Tabel 9. Data GC pada sampel kontrol (penambahan NaOH)

Puncak	Waktu retensi (menit)
1	0,753
2	0,920

Pada perlakuan variasi enzim selulase ditunjukkan pada tabel 7, dari data tersebut dapat dilihat bahwa pada variasi enzim selulase 0 mL tidak menunjukkan adanya puncak pada kromatogram sehingga tidak memiliki waktu retensi, hal ini berarti pada sampel tersebut tidak terdapat etanol ataupun senyawa yang lain. Pada saat proses destilasi pada sampel tersebut kemungkinan hanya air yang terdestilasi. Kemudian pada variasi enzim 10 mL sampai dengan 25 mL menunjukkan waktu retensi yang mirip dengan larutan standar yaitu sebesar 0,920. Hal ini menandakan bahwa pada sampel tersebut terdapat etanol, selain itu puncak yang muncul pada kromatogram hanya ada 1 puncak yang menunjukkan bahwa senyawa tersebut benar etanol.

Pada perlakuan variasi waktu fermentasi ditunjukkan pada tabel 8, dari data tersebut dapat dilihat bahwa nilai waktu retensi dari masing-masing sampel mendekati nilai waktu retensi dari larutan standar, selain itu puncak yang muncul dari masing-masing sampel hanya ada 1 puncak sehingga dapat dikatakan bahwa masing-masing sampel mengandung etanol.

Pada perlakuan penambahan NaOH (sampel kontrol) ditunjukkan pada tabel 9, dari data tersebut dapat dilihat bahwa terbentuk 2 puncak yang memiliki luas area hampir sama besar. Waktu retensi yang didapat yaitu 0,753 dan 0,920. Pada waktu retensi 0,920 menunjukkan adanya etanol dan pada waktu retensi 0,753 menunjukkan adanya senyawa lain yaitu natrium fenolat, hal ini terjadi karena adanya penambahan NaOH pada sampel jerami padi sehingga ion OH^- dari NaOH akan memutuskan ikatan-ikatan dari struktur dasar lignin sedangkan ion Na^+ akan berikatan dengan lignin membentuk natrium fenolat.

5.7 Penentuan Nilai Densitas Etanol menggunakan Piknometer

Analisis Densitas bertujuan untuk menentukan massa jenis dari etanol yang dihasilkan pada proses SSF apakah hasilnya sesuai dengan standar atau tidak. Analisis densitas dilakukan dengan menggunakan alat piknometer dengan volume 5 mL. Data hasil analisis densitas bioetanol dapat dilihat pada tabel 10.

Tabel 10. Data hasil analisis densitas bioetanol pada berbagai variasi

Sampel	Densitas (g/mL)
0 mL	1,003
10 mL	0,834
15 mL	0,799
20 mL	0,814
25 mL	0,798
2 Hari	0,801
4 Hari	0,817
6 Hari	0,816
8 Hari	0,812
10 Hari	0,794
Kontrol	0,838
Standar etanol p.a	0,785

Piknometer kosong ditimbang beratnya dan dicatat, kemudian dimasukkan akuades kedalam piknometer sampai penuh, ditutup rapat dan dicatat beratnya. Standar yang digunakan adalah larutan standar etanol p.a, etanol dimasukkan kedalam piknometer sampai penuh kemudian ditutup rapat dan ditimbang beratnya. Massa jenis standar etanol yang dihasilkan berdasarkan Tabel 10 yaitu sebesar 0,785 g/mL. Nilai densitas standar etanol ini kemudian akan dijadikan pembanding dengan sampel lainnya.

Pada perlakuan variasi volume enzim selulase ditunjukkan pada Tabel 10, dari data tersebut dapat dilihat bahwa pada variasi enzim 0 mL dihasilkan nilai densitas yang berbeda jauh dari densitas standar etanol yaitu sebesar 1,003 g/mL, nilai densitas tersebut mendekati nilai densitas air yaitu 1 g/mL. Hal ini menunjukkan bahwa sampel tersebut memang tidak mengandung etanol. Kemudian pada variasi volume enzim dari 10 mL sampai dengan 25 mL rata-rata memiliki nilai densitas yang mendekati dengan standar, yang paling mendekati standar yaitu pada variasi volume enzim 25 mL yang memiliki nilai densitas sebesar 0,798 g/mL. Hal ini menandakan pada sampel tersebut mengandung etanol.

Pada perlakuan variasi waktu fermentasi ditunjukkan pada Tabel 10, dari data tersebut dapat dilihat bahwa rata-rata sampel memiliki nilai densitas yang mendekati standar, dan yang paling mendekati yaitu pada variasi waktu fermentasi 10 hari yang memiliki nilai densitas sebesar 0,794 g/mL. Selain itu pada sampel kontrol, nilai densitasnya cukup mendekati dengan standar etanol yaitu sebesar 0,838 g/mL. Sehingga dapat dikatakan sampel tersebut mengandung etanol. Adanya perbedaan nilai densitas antara larutan standar dengan sampel disebabkan karena pada saat destilasi masih terdapat air yang ikut terdestilasi, sehingga mempengaruhi nilai kemurnian dari etanol tersebut. Adanya air yang ikut terdestilasi dikarenakan suhu destilasi sulit untuk dikendalikan menggunakan *heating mantle*, yang menyebabkan suhu tidak stabil.