

Skripsi

Produksi Bioetanol dari Daun Rumput Gajah (*Pennisetum purpureum*) dengan Metode *Simultaneous Saccharification and Fermentatio* (SSF) menggunakan Bakteri *Clostridium acetobutylicum*

NIA KURNIA

H311 16 316



**DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

**Produksi Bioetanol dari Daun Rumput Gajah (*Pennisetum purpureum*)
dengan Metode *Simultaneous Saccharification and Fermentatio* (SSF)
menggunakan Bakteri *Clostridium acetobutylicum***

*Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar sarjana sains*

Oleh:

NIA KURNIA

H311 16 316



MAKASSAR

2021

LEMBAR PENGESAHAN (TUGAS AKHIR)

**Produksi Bioetanol dari Daun Rumpun Gajah (*Pennisetum purpureum*)
dengan *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF) menggunakan
Bakteri *Clostridium acetobutylicum***

Disusun dan diajukan oleh:

NIA KURNIA

H31116316

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Kimia Fakultas
Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin
pada tanggal 8 Juni 2021
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

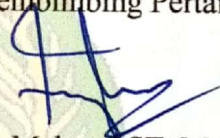
Menyetujui,

Pembimbing Utama



Prof. Dr. Ahyar Ahmad
NIP. 19671231 199103 1 020

Pembimbing Pertama



Dr. Mahyati ST., M.Si
NIP. 19700929 200212 2 001

Ketua Departemen Kimia,



Dr. Abd. Karim, M.Si
NIP. 19620710 198803 1 002

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nia Kurnia
NIM : H311 16 316
Program Studi : Kimia
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul:

Produksi Bioetanol dari Daun Rumpus Gajah (*Pennisetum purpureum*) dengan *Simultaneous Saccharification and Fermentatio* (SSF) menggunakan Bakteri *Clostridium acetobutylicum*

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 8 Juni 2021

Yang menyatakan,



Nia Kurnia

HALAMAN PERSEMBAHAN

*“Bacalah dengan menyebut nama Tuhanmu
Dia telah menciptakan manusia dari segumpal darah Bacalah, dan Tuhanmulah
yang maha mulia, Yang mengajar manusia dengan pena,
Dia mengajarkan manusia apa yang tidak diketahuinya”
(QS: Al- 'Alaq 1-5)*

*“Maka nikmat Tuhanmu yang manakah yang kamu dustakan ?”
(QS: Ar-Rahman 13)*

*“Niscaya Allah akan mengangkat (derajat) orang-orang yang beriman
diantaramu dan orang-orang yang diberi ilmu beberapa derajat”
(QS : Al-Mujadilah 11)*

*“Ukuran Tubuhmu tidak penting, Ukuran Otakmu cukup penting, Ukuran hatimu
itulah yang terpenting”
(BC Gorbis)*

*“Tidakah mereka mengembara dimuka bumi, sehingga mereka mempunyai hati
yang dengan itu mereka mengerti, dan mempunyai telinga yang dengan itu
mereka mendengar?. Sungguh, bukanlah matanya yang buta, tetapi yang buta
ialah hatinya, yang ada dalam (rongga) dadanya”
(QS: Al Hajj 46)*

*Take time to THINK. It is the source of power
Take time to READ. It is foundation of wisdom
Take time to QUIET. It is the opportunity to seek God
Take time to DREAM. It is the future made of
Take time to PRAY. It is the greatest power on earth.
(Author Unknown)*

PRAKATA

Bismillah....

Assalamualaikum warahmatullahi wabarakatuh..

Alhamdulillah Rabbilalamin, puji syukur kita panjatkan kehadiran Allah Subhanahu Wata'ala karena hanya dengan rahmat dan hidayah-Nya kami mohon pertolongan dan hanya kepada-Nya lah kami berharap. Tuhan Rabbulalamin yang telah memberikan kekuatan dan kesabaran, sehingga penulisan skripsi dengan judul "Produksi bioetanol dari daun rumput gajah (*Pennisetum purpureum*) dengan metode SSF menggunakan bakteri *Clostridium acetobutylicum*" dapat terselesaikan dan hadir sebagaimana adanya.

Limpahan rasa hormat dan bakti serta do'a yang tulus, penulis persembahkan kepada Ayahanda *Ismail Samade* dan Ibunda *Kamriati Iskandar*, yang telah mengasuh dan membimbing penulis dengan do'a dan kasih sayang yang tulus senantiasa mengiringi perjalanan dalam menuntut ilmu. Semoga Allah Subhanahu Wata'ala senantiasa melimpahkan kemuliaan kepada keduanya di dunia dan di akhirat. Terima kasih pula penulis haturkan kepada kedua adik yang penulis cintai *Fathul Gani* dan *Ibnu Khair* segenap keluarga yang telah memberikan dukungan baik dari segi moril dan materil, semoga Allah Subhanu Wata'ala senantiasa membalasnya dengan yang lebih baik.

Terima kasih dan penghargaan sebesar-besarnya kepada Bapak *Prof.Dr.Ahyar Ahmad* dan Ibu *Dr.Mahyati.ST.,M.Si* yang telah berkenan meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam membimbing dan memberikan petunjuk yang begitu berharga bagi penulis hingga terselesainya skripsi ini.

Penulis juga menghaturkan terima kasih dan penghargaan sedalam-dalamnya yang telah memberikan bantuan baik secara moril, materil, maupun tenaga kepada:

1. Bapak *Dr. Abdul Karim, M.Si* selaku ketua jurusan kimia dan Ibu *Dr. St. Fauziah, M.Si* selaku sekretaris jurusan kimia serta seluruh dosen dan staf jurusan yang telah mengajarkan dan membantu penulis dalam berbagai hal selama perjalanan menempuh pendidikan di jurusan kimia.
2. Panitia Ujian Sarjana Kimia, yaitu: bapak *Dr. Indah Raya,, M.Si* (Ketua), Bapak *Abdur Rahman Arif, M.Si* (Sekertaris), Bapak *Prof.Dr.Ahyar Ahmad* (Ex. Officio) dan Ibu *Dr.Mahyati.ST.,M.Si* (Ex. Officio),
3. Bapak *Prof.Dr.Ahyar Ahmad* juga selaku Penasehat Akademik yang selalu menuntun penulis dalam kesulitan yang dihadapi selama perkuliahan.
4. Dosen-dosen bidang ilmu biokimia, Bapak *Prof. Dr. Ahyar Ahmad*, ibu *Dr. Hasnah Natsir, M.Si*, , Ibu *Dr. Seniawati Dali, M.Si*, Bapak *Dr. Abdul Karim M.Si*, Ibu *Dr. Rugaiyah A. Arfah, M.Si*, dan Bapak *Abdur Rahman Arif, M.Si*, terima kasih atas bimbingan dan bekal ilmu yang diberikan selama ini.
5. Rekan-rekan peneliti biokimia: *Dionisius Sandi Triputra* yang menjadi teman seperjuangan dalam menyelesaikan proses penelitian hingga adanya skripsi ini, *Afiah, Fitriani B, Dinda, Dinar, Izzah, Middin, Awal, K'Gita, K'Sari* dan *K'Akbar* terima kasih atas kerjasamanya selama penelitian berjalan.
6. Sobat Bucin alumni SMAN 2 PancaRijang, *Upi, Nada, Tina, Riri, Diana, Safar, Mamat* dan *Rian* yang hingga sekarang tidak pernah berubah, dan insya Allah tetap seperti itu.

7. Teman-teman Kromofor 2016 dan seluruh teman-teman angkatan kimia 2016, rekan-rekan seperjuangan yang telah menyertai perjalanaku di kampus merah. Segenap KMF MIPA Unhas dan KMK (Keluarga Mahasiswa Kimia) MIPA Unhas yang telah banyak memberi ilmu, pengalaman, dan cerita yang tak ternilai harganya dan akan selalu dikenang dan mewarnai masa-masa ku di kampus merah.
8. Kanda Kimia Angkatan 2012, 2013, 2014, 2015 dan Adik-adik Kimia Angkatan 2017, 2018, dan 2019.
9. Serta kepada pihak-pihak lain yang selalu memberikan bantuan kepada penulis baik secara langsung maupun tidak langsung.

Sebaik-baik penulis pasti ia pernah berbuat kesalahan, dan sebaik-baik manusia adalah yang bersegera memperbaiki dirinya ketika ia mengetahui ia bersalah. Maka penulis mengucapkan terima kasih atas kritik dan saran yang bersifat membangun dalam penulisan selanjutnya.

Akhirnya penulis berharap semoga isi skripsi ini dapat bermanfaat dalam perkembangan ilmu pengetahuan, khususnya biokimia. Aamiin.

Penulis,

2021

ABSTRAK

Bioetanol adalah etanol yang dihasilkan melalui proses fermentasi terhadap glukosa dari bahan alam yang mengandung komponen pati dan selulosa. Penelitian ini bertujuan memanfaatkan daun rumput gajah (*Pennisetum purpureum*) untuk menghasilkan bioetanol dengan metode *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF) menggunakan bakteri *Clostridium acetobutylicum*. Variasi yang digunakan pada penelitian ini adalah waktu fermentasi selama 6; 8; 10; dan 12 hari serta variasi pH dalam proses fermentasi menggunakan pH 5; 5,5; 6; 6,5 dan 7. Hasil penelitian menunjukkan kadar selulosa dalam daun rumput gajah 37,82% dan setelah proses delignifikasi dengan NaOH 3% dan H₂O₂ 3% menjadi 70,24%. Hasil bioetanol optimal didapatkan pada fermentasi menggunakan bakteri *Clostridium acetobutylicum* sebesar 15,25% pada pH 6,5 dengan waktu optimum 8 hari.

Kata kunci : daun rumput gajah, delignifikasi, *C. acetobutylicum*, bioetanol.

ABSTRACT

Bioethanol is an ethanol which produced through the fermentation of glucose from natural materials that contains starch and cellulose components. This study aim to utilize napies grass leaves (*Pennisetum purpureumt*) to produce bioethanol by means of Simultaneous Saccharification and Fermentatio (SSF) using *Clostridium acetobutylicum* bacteria. The variations that used in this study were the fermentation time for 6; 8; 10; and 12 days and variations of pH in the fermentation process using pH 5; 5,5; 6;6.5 and 7. The results of the presentation showed that the cellulose content in elephant grass leaves was 37,82 % and after delignification with NaOH 3% and H₂O₂ 3% to 70,24 %. Optimastic bioethanol results obtained in fermentation using *Clostridium acetobutylicum* bacteria of 15,25% at pH 6,5 with an optimum time of 8 days.

Keywords: napies grass leaves, delignification, *C.acetobutilicum*, bioethanol.

DAFTAR ISI

	Halaman
PRAKATA	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN	xvii
BAB I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Bioetanol.....	6
2.1.1 Bahan Pembuat Bioetanol	8
2.1.2 Proses Pembuatan Bioetanol.....	10
2.2 Rumput gajah	14
2.2.1 Morfologi Rumput gajah.....	14
2.2.2 Kandungan Rumput gajah	16
2.2.3 Manfaat Rumput gajah.....	16

2.3 Bakteri <i>Clostridium acetobutylicum</i>	17
2.4 Instrumen	20
2.4.1 Refraktometer.....	20
2.4.2 Kromatografi Gas.....	23

BAB III. METODE PENELITIAN

3.1 Alat dan Bahan Penelitian.....	26
3.1.1 Alat Penelitian.....	26
3.1.2 Bahan Penelitian.....	26
3.2 Waktu dan Tempat Percobaan	26
3.3. Prosedur Penelitian.....	27
3.3.1 Persiapan Bahan Baku.....	27
3.3.2 Analisis Selulosa dan Lignin (Metode <i>Chesson</i>)	27
3.3.3 Perlakuan Pendahuluan	28
3.3.4. Peremajaan bakteri <i>Clostridium acetobutylicum</i>	28
3.3.5 Penentuan waktu dan pH Optimum	29
3.3.5.1 Pembuatan media inokulum.....	29
3.3.5.2 Pembuatan media Fermentasi	30
3.3.6 Produksi Bioetanol.....	31
3.3.6.1 Pembuatan media inokulum.....	31
3.3.6.2 Pembuatan media Fermentasi	32
3.3.7 Analisis Kandungan Bioetanol pada Sampel	33
3.3.7.1 Proses Destilasi Bioetanol	33
3.3.7.2 Analisis Kualitatif Bioetanol dengan Kromatografi Gas ...	33
3.3.7.3 Analisis Kuantitatif Bioetanol dengan Refraktometer	34

BAB IV. METODE PENELITIAN

4.1 Analisis Hemiselulosa, Selulosa, dan Lignin.....	36
4.1.1 Analisis kadar lignoselulosa sebelum didelignifikasi	36
4.1.2 Analisis kadar lignoselulosa sampel setelah didegnifikasi.....	38
4.2 Penentuan Waktu dan pH Optimum	42
4.2.1 Penentuan Waktu Optimum	43
4.2.2 Penentuan pH Optimum.....	45
4.3 Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Bioetanol	46
4.3.1 Uji Kualitatif Sampel Menggunakan Kromatografi Gas	47
4.3.2 Uji Kuantitatif Bioetanol Menggunakan Refraktometer	48
BAB V. PENUTUP	
5.1 Kesimpulan.....	50
5.2 Saran.....	50
DAFTAR PUSTAKA.....	51
LAMPIRAN	57

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Sifat Fisika dan Kimia Etanol	7
2. Tingkat Kualitas Etanol	8
3. Produksi Bioetanol	9
4. Kandungan Rumput gajah	16
5. Produksi Bioetanol Berbahan Baku Rumput gajah	17
6. Indeks Bias Beberapa Zat	23
7. Komposisi bahan untuk media peremajaan bakteri	28
8. Komposisi bahan untuk media inokulum	29
9. Komposisi bahan untuk media fermentasi	30
10. Komposisi bahan untuk media inokulum	31
11. Komposisi bahan untuk media fermentasi	32
12. Komposisi larutan Standar untuk Uji indeks Bias	34
13. Penelitian Pengukuran kadar lignoselulosa dengan metode <i>Chesson</i> ..	37
14. Efektivitas delignifikasi penambahan NaOH 3% dan H ₂ O ₂ 3% terhadap daun rumput gajah	41
15. Data pengukuran indek bias etanol sampel	48
16. Beberapa Hasil penelitian mengenai produksi bioetanol dengan Menggunakan bakteri <i>Clostridium acetobutylicum</i>	49

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Pembuatan Bioetanol	6
2. Struktur Etanol	7
3. Selulosa pada Tumbuhan.....	8
4. Reaksi Pembuatan Bioetanol	10
5. Proses Preatreatment	11
6. Rumput gajah	15
7. Bakteri <i>Clostridium acetobutylicum</i>	17
8. Proses Pembentukan ABE pada bakteri <i>C.acetobutylicum</i>	19
9. Alat Refratometer	22
10. Instrumen Kromatografi Gas	24
11. Skema Bagian-Bagian Kromatografi Gas	24
12. Kromatogram hasil Uji Kromatografi Gas	25
13. Grafik kadar lignoselulosa pada daun rumput gajah	37
14. Mekanisme Reaksi lignoselulosa dengan NaOH	38
15. Mekanisme Reaksi lignoselulosa dengan H ₂ O ₂	39
16. Grafik kadar lignoselulosa pada daun rumput setelah delignifikasi..	40
17. Grafik penentuan kondisi optimum fermentasi dengan variasi pH dan waktu fermentasi terhadap kadar bioetanol.....	43
18. Grafik pengaruh pH fermentasi terhadap kadar bioetanol.....	45
19. Kromatogram hasil analisis sampel bioetanol dengan GC	47

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Umum Bagan Kerja	57
2. Skema Prosedur Kerja Pelakuan Pendahuluan	58
3. Skema Analisis Kadar Selulosa dan Lignin (Metode Chesson)	59
4. Skema Prosedur Peremajaan Bakteri <i>Clostridium acetobutylicum</i> ..	60
5. Skema Pembuatan Inokulum pH dan Waktu Optimun Bakteri <i>Clostridium acetobutylicum</i>	61
6. Skema Pembuatan Media Fermentasi pH dan Waktu Optimun.....	62
7. Skema Pembuatan Inokulum Produksi Bioetanol.....	63
8. Skema Pembuatan Media Produksi Bioetanol	64
9. Perhitungan Pembuatan Larutan	65
10. Rangkaian Alat	66
11. Dokumentasi Penelitian	68
12. Perhitungan Rendamen Sampel Hasil Delignifikasi	77
13. Perhitungan Analisis Hemiselulosa, Selulosa dan Lignin	78
14. Pengukuran Kadar Bioetanol Penentuan pH dan Waktu Optimum dengan Refraktometer	85
15. Hasil Analisis Bioetanol Dengan Menggunakan Kromatografi Gas.	90
16. Pengukuran Kadar Bioetanol Hasil Produksi dengan Refraktometer	91

DAFTAR SINGKATAN

ABE	: Aseton-Butanol-Etanol
BP	: British Petroleum
BBM	: Bahan Bakar Minyak
CPB	: <i>Consolidated Bioprocessing</i>
GC	: <i>Gas Cromatografi</i>
NAD atau NAD ⁺	: Nikotinamida Adenine Dinukleotida
NPK	: Nitrogen, Pospor dan Kalium
pH	: Power of Hydrogen (derajat keasaman)
rpm	: Revolusi per-menit
SHF	: <i>Separate hydrolysis and fermentation</i>
SSF	: <i>Simultaneous saccharification and fermentatio</i>
tR	: waktu retens

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia mulai mengalami defisit neraca minyak sejak 2003 dan kian melebar setiap tahunnya. Berdasarkan data British Petroleum (BP) tahun 2018, defisit neraca minyak nasional meningkat 13,79 % menjadi 977 ribu barel per hari dibandingkan tahun sebelumnya. Melebarnya defisit minyak tersebut dipicu oleh kenaikan konsumsi minyak sebesar 5,24 % menjadi 1,79 juta barel per hari diikuti turunnya produksi sebesar 3,52 % menjadi 808 ribu barel per hari (BP Global Company, 2019). Hal ini berdampak pada kebutuhan masyarakat yang membutuhkan sumber bahan bakar dari minyak bumi, sehingga perlu energi alternatif dari bahan yang ekonomis, emisi yang dihasilkan aman bagi lingkungan dan memiliki nilai oktan yang tinggi (Khaidir, 2016).

Bahan bakar alternatif tersebut meliputi bioetanol, biodiesel, biogas, dan biobriket (Khaidir, 2016). Pemanfaatan bioetanol sebagai bahan bakar yang dicampur dengan bahan bakar pertamax pada motor bensin menghasilkan naiknya torsi yang disebabkan naiknya angka oktan bahan bakar campur tersebut. Hal itu menunjukkan energi pembakaran yang dihasilkan semakin besar karena proses pembakaran menjadi lebih sempurna, ini dapat menurunkan pencemaran lingkungan hingga 50% (Senam, 2009; Winarno, 2011 dan Arlianti, 2018).

Bioetanol dapat diproduksi dari bahan baku tanaman yang mengandung lignoselulosa, gula atau pati. Selulosa pada tanaman merupakan komponen utama bahan baku pembentuk bioetanol yang melalui proses hidrolisis, fermentasi dan destilasi. Indonesia sebagai negara yang memiliki sumber daya alam nabati yang

kaya memiliki peluang besar menjadi negara produsen bioetanol (Meyrinta, 2018; Arlianti, 2018; Susmiati, 2018).

Namun, di Indonesia bioetanol masih kurang dimanfaatkan sebagai bahan bakar disebabkan harganya jauh lebih mahal dibanding dengan bahan bakar alam. Harganya yang mahal disebabkan, pertama karena sebagian besar bahan baku bioetanol bersumber dari tanaman budidaya yang membutuhkan biaya tinggi dan bersaing dengan penyediaan pangan, sehingga dibutuhkan bahan baku lain pembuat bioetanol yang lebih ekonomis dan lahanya tidak bersaing dengan bahan pangan, salah satunya adalah rumput gajah (Susmiati, 2018).

Rumput gajah mempunyai kadar selulosa tinggi (48,05%) yang dapat digunakan sebagai salah satu bahan penghasil etanol. Rumput gajah juga mengandung glukosa (4,836 %), pati (20,367%), protein kasar (5,2%) dan serat kasar (40,85%). Keunggulan lainnya adalah bahan baku rumput gajah tersedia dalam jumlah yang cukup besar, hal ini karena iklim Indonesia memungkinkan pertumbuhan rumput gajah secara kontiyu. Lahan yang digunakan juga dapat disesuaikan sehingga tidak akan bersaing dengan lahan bahan pangan. Sejauh ini juga pemanfaatan rumput gajah hanya sebagai pakan ternak sapi sehingga masih sangat kurang dimanfaatkan di Indonesia (Sari, 2009).

Dalam penelitian Sari (2009) memanfaatkan rumput gajah sebagai bahan baku dengan metode hidrolisis asam klorida dan *S.cerevisiae* menghasilkan 90-95% etanol. Begitupun juga dalam penelitian Ruso dkk (2014) dengan bahan baku batang rumput gajah menggunakan metode SSF dan bakteri *C.acetobutylicum* menghasilkan 96,24% etanol dari satu kilogram bahan baku. Hal ini membuktikan bahwa pemanfatan rumput gajah sebagai bioetanol sangat menjanjikan.

Kedua selain bahan baku, proses produksi bioetanol yang lama dan rumit menyebabkan harganya jauh lebih mahal dibanding dengan bahan bakar alam. Oleh karena itu, dalam penelitian ini kami menggunakan metode SSF. Metode ini sangat penting untuk dikembangkan karena dapat mempersingkat proses pembuatan bioetanol (Agnesia, 2017).

Keuntungan dari proses ini adalah polisakarida yang terkonversi menjadi monosakarida tidak kembali menjadi polisakarida karena monosakarida langsung difermentasi menjadi etanol (Agnesia, 2017). Hal itu disebabkan karena dalam proses hidrolisis dan fermentasi menggunakan mikroba penghasil enzim yang mampu mengubah pati atau selulosa menjadi etanol. Mikroba yang sering digunakan itu adalah *S.cerevisiae*. Namun selain itu, ditemukan jika bakteri *C. acetobutylicum* juga memiliki kemampuan yang sama.

Bakteri *C.acetobutylicum* merupakan organisme *saccharolytic* (proses pemecahan gula) dan mampu menghasilkan sejumlah produk yang berguna secara komersial yang berbeda yaitu aseton, butanol, dan etanol (Fajariah, 2014). Beberapa penelitian yang menggunakan bakteri *C.acetobutylicums* yaitu Armidha (2019) memanfaatkan ampas sagu (*Metroxylon sp.*) menghasilkan kadar etanol sebesar 16,5% pada pH 5 dengan waktu optimum 10 hari, Sari dkk (2018) memanfaatkan kulit nanas menghasilkan kadar etanol sebesar 9% pada pH 6,5 dengan waktu optimum 8 hari, Fajariah (2014) memanfaatkan limbah kayu menghasilkan kadar butanol sebesar 1,88% pada pH 5 dengan waktu fermentasi 12 hari dan Ruso dkk (2014) memanfaatkan batang rumput gajah menghasilkan kadar etanol 96,24% pada pH 6,5 dengan waktu optimum 10 hari.

Berdasarkan uraian diatas dilakukanya penelitian ini, dengan memanfaatkan

daun rumput gajah sebagai sumber selulosa dengan metode SSF dan bakteri *C. acetobutylicum* untuk menghasilkan bioetanol.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah penelitian ini yaitu

1. Apa pengaruh proses delignifikasi terhadap kadar lignin dan selulosa daun rumput gajah sebelum dan sesudah delignifikasi ?
2. Berapa lama waktu dan pH fermentasi optimum untuk produksi bioetanol dari daun rumput gajah dengan menggunakan bakteri *C. acetobutylicum*?
3. Berapa kadar bioetanol yang di hasilkan dari daun rumput gajah pada waktu dan pH optimum?

1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian

1.3.1 Maksud Penelitian

Maksud penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar bioetanol dari daun rumput gajah dengan menggunakan bakteri *C. acetobutylicum* dengan metode SSF.

1.3.2 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah

1. mengkaji pengaruh proses delignifikasi terhadap kadar lignin dan selulosa pada daun rumput gajah sebelum dan sesudah delignifikasi
2. menentukan waktu dan pH fermentasi optimum dalam produksi bioetanol dari daun rumput gajah dengan menggunakan bakteri *C. acetobutylicum*.
3. menentukan kadar bioetanol yang di hasilkan dari daun rumput gajah pada waktu dan pH optimum.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan nilai ekonomi rumput gajah yang dapat membantu mengembangkan sektor pertanian di Indonesia, menambah informasi tentang pemanfaatan dan jumlah produksi rumput gajah dalam pembuatan bioetanol.

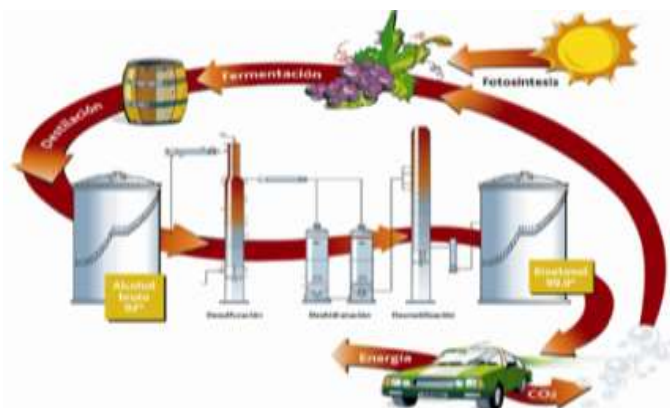
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bioetanol

Bioetanol adalah bahan bakar alternatif yang sedang dikembangkan di dunia. Bioetanol memiliki beberapa keuntungan dalam penggunaannya sebagai bahan bakar selain karena sifatnya yang terbarukan bioetanol juga dipercaya dapat menurunkan beberapa emisi kendaraan bermotor (Octaviani, 2010).

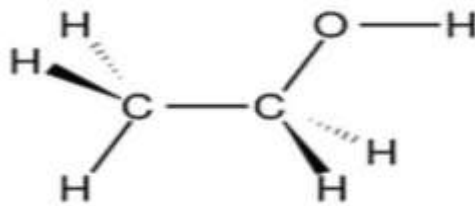
Emisi yang dihasilkan dari proses pembakaran kendaraan bermotor adalah gas karbon dioksida (CO_2) dan uap air, namun kondisi ini jarang terjadi. Hampir semua bahan bakar mengeluarkan polutan. Polutan yang dihasilkan kendaraan bermotor yang menggunakan *fossil fuel* antara lain CO , HC , SO_2 , NO_2 , dan partikulat yang membahayakan kesehatan. Selain itu keberlangsungan *supply fossil fuel* dikhawatirkan akan menurun seiring dengan berkurangnya sumber daya alam tak terbarukan (Octaviani, 2010).



Gambar 1. Pembuatan Bioetanol (Al-Ridha, 2016)

Bioetanol adalah suatu bahan bakar alternatif yang diolah dari tumbuhan (biomassa) dengan cara fermentasi, dimana memiliki keunggulan mampu menurunkan emisi CO_2 hingga 18% (Adini, 2015). Etanol yang dihasilkan dari

proses fermentasi merupakan senyawa organik yang terdiri dari karbon, hidrogen dan oksigen, turunan senyawa hidrokarbon yang mempunyai gugus hidroksi dengan rumus C_2H_5OH bersifat cair, tidak berwarna, berbau spesifik, mudah terbakar dan menguap, dapat bercampur dalam air dengan segala perbandingan (Endah, 2007).



Gambar 2. Struktur Etanol (Wusna dkk., 2016)

Adapun sifat Kimia dan Fisika Etanol dapat dilihat pada Tabel 1 dan Kualitas Etanol pada Tabel 2.

Tabel 1. Sifat Fisika dan Kimia Etanol (MSDS Etanol 95%)

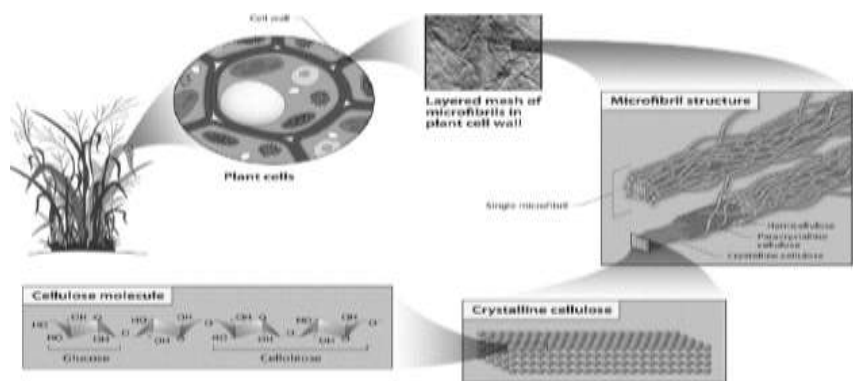
Sifat Fisika	
Warna	Tidak Berwarna
Bau	Berbau khas, menusuk hidung
Titik didih	78,82 °C
Pelarut	Air dan eter
Panas Pembakaran pada keadaan cair	328 Kcal
Keasaman (pKa)	15,9
Viskositas pada 20°C	1,17 cp
Sifat Kimia	
Berat molekul	46,07 gr.mol
Dapat bereaksi	Asam asetat, asam sulfat, asam nitrat, asam ionida

Tabel 2. Tingkat Kualitas Etanol (Soebijanto, 1986 dalam Sari, 2017)

Tingkat Kualitas Etanol	Manfaat
Alkohol teknis (96,5°GL)	Pelarut organik, bahan bakar, dan bahan baku ataupun untuk produksi berbagai senyawa organik lainnya
Spritur (88 °GL)	Bahan bakar untuk alat pemanas ruangan dan alat penerangan
Alkohol absolute (99,7-99,8 °GL)	Bahan Obat-obatan, pelarut dan pembuat senyawa lain skala laboratorium
Alkohol murni (96,0 – 96,5 °GL)	Farmasi dan konsumsi

2.1.1 Bahan Pembuat Bioetanol

Teknologi pengolahan bioetanol berasal dari limbah pertanian dan sampah organik. Bahan tersebut dipilih berdasarkan jenis bahannya (berlignoselulosa, bergula atau, berpati). Selulosa pada tanaman merupakan komponen utama bahan baku pembentuk bioetanol (Susmiati, 2018).



Gambar 3. Selulosa pada Tumbuhan (Asror dan Ayu, 2017)

Selulosa adalah polimer β -glukosa dengan ikatan β -1, 4 diantara satuan glukosanya (John,1997 dalam Sari, 2009). Selulosa pada tanaman terdapat pada dinding sel berbentuk serat selulosa. Selulosa tidak ditemukan dalam bentuk

murni pada tanaman tapi berasosiasi dengan polisakarida lainnya seperti lignin, hemiselulosa, xilan dan peetin.

Dalam proses pembuatan etanol polisakarida seperti selulosa harus diubah terlebih dahulu menjadi glukosa. Selulosa dapat diubah menjadi glukosa dengan cara hidrolisis asam (Groggins,1985 dalam sari, 2009). Terbentuknya glukosa berarti proses pendahuluan telah berakhir dan bahan-bahan selanjutnya siap untuk difermentasi untuk menghasilkan etanol.

Tabel 3. Produksi Bioetanol (Anggorowati dan Betaria, 2013; Muin dkk., 2015; Wusnah dkk., 2016; Agnesia, 2017; Anggraeni dkk., 2017; Winarni dan Beuna, 2017; Daniar, 2018; Meyrinta dkk., 2018; dan Sari dkk., 2018)

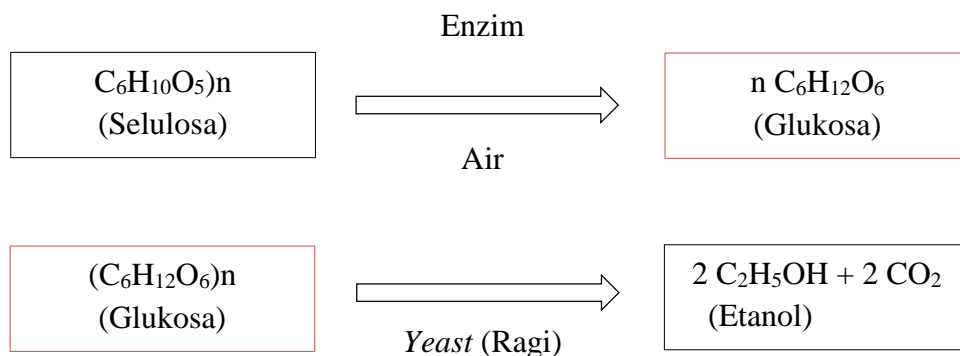
Bahan Baku	Jumlah Bioetanol (%)	Waktu Fermentasi (Hari)	Mikroba	Pustaka
Sabuk Kelapa	0,01289	7	Ragi Tape	Anggorowati dan Betaria, 2013
Nasi Aking	26,464	7	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Muin dkk., 2015
Kulit Pisang Kepok	40	7	Urea, NKP dan Ragi Roti	Wusnah dkk., 2016
Singkong Karet	32,0109	3	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> dan Ragi Tape	Agnesia, 2017
Biji Salak	11,2	2	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Anggraeni dkk., 2017
Kayu Sengon	17,7	4	Urea, NPK, <i>Sacharomyces cereviciae</i>	Winarni dan Beuna, 2017
Bagas (limbah padat industri gula)	53	5	<i>Sacharomyces cereviciae</i>	Daniar, 2018
Jerami Nangka	64,933	10	<i>Sacharomyces cereviciae</i>	Meyrinta dkk., 2018
Kulit Nanas	9	8	<i>Clostridium acetobutylicum</i>	Sari dkk., 2018

2.1.2 Proses Pembuatan Bioetanol

Efisiensi prosesi bioetanol bisa dilakukan secara hidrolisis dan fermentasi terpisah/*Separate hydrolysis and fermentation* (SHF), hidrolisis dan fermentasi dalam satu reaktor/*Simultaneous saccharification and fermentation* (SSF) dan hidrolisis dan fermentasi dalam satu reaktor disertai dengan penumbuhan mikroba dalam reaktor tersebut/*Consolidated Bioprocessing* (CPB) (Susmiati, 2018).

Dalam penelitian ini metode yang digunakan adalah Metode SSF (*Simultaneous saccharification and fermentation*). Metode ini sangat penting untuk dikembangkan karena dapat mempersingkat proses pembuatan bioetanol. Keuntungan dari proses ini adalah polisakarida yang terkonversi menjadi monosakarida tidak kembali menjadi polisakarida karena monosakarida langsung difermentasi menjadi etanol (Agnesia, 2017).

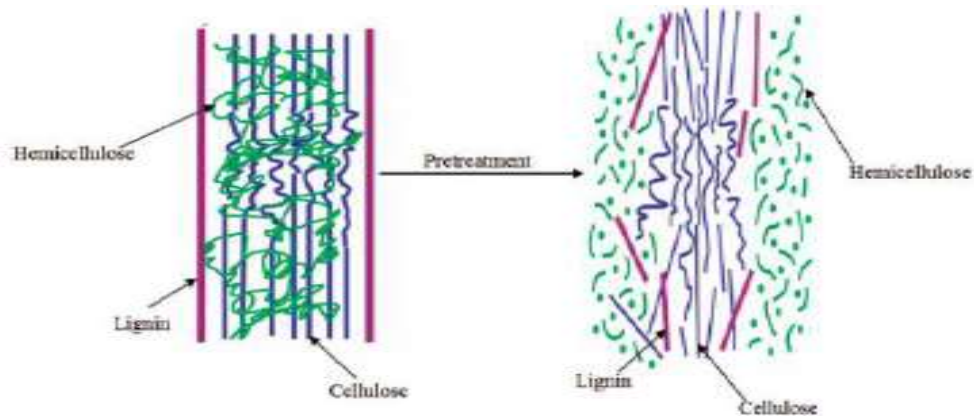
Seperti dalam penelitian Jayus, dkk (2017) dengan membandingkan metode fermentasi SHF dan SSF dalam produksi bioetanol dari Kulit Ubi Kayu dengan menggunakan *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride* dan *New Aule Instant Dry Yeast*. Dari hasil penelitiannya metode SSF dapat menghasilkan produksi etanol lebih banyak dan dalam waktu singkat dibanding dengan metode SHF.



Gambar 4. Reaksi Pembuatan Bioetanol

Bioetanol dapat diproduksi dari bahan baku tanaman yang mengandung pati atau karbohidrat yang kemudian dihasilkan dengan cara hidrolisis, fermentasi dan destilasi (Meyrinta dkk., 2018). Adapun proses pembuatan bioetanol yaitu:

1. Pretreatment



Gambar 5. Proses Pretreatment (Kristina dkk., 2012)

Pretreatment ini dimaksudkan untuk meningkatkan kemampuan area permukaan (porositas) selulosa sehingga dapat meningkatkan konversi selulosa menjadi glukosa (Sharma dkk., 2002 dalam Sari, 2017). Oleh karena itu pretreatment diperlukan untuk menghilangkan lignin dan hemiselulosa, menurunkan tingkat kekristalan selulosa sehingga meningkatkan fraksi amorph selulosa, dan meningkatkan porositas material (Sari, 2017).

2. Proses Delignifikasi

Pada beberapa penelitian, delignifikasi umumnya menggunakan NaOH dan H₂SO₄. Delignifikasi bertujuan untuk mengurangi kadar lignin di dalam bahan berlignoselulosa. Delignifikasi akan membuka struktur lignoselulosa agar selulosa menjadi lebih mudah diakses. Proses delignifikasi akan melarutkan kandungan lignin di dalam bahan sehingga mempermudah proses pemisahan lignin dengan serat (Sumada dkk., 2011 dalam Sari, 2017) proses ini dapat dilakukan secara kimiawi, mekanik, dan semikimia.

3. Proses Hidrolisis

Proses hidrolisis adalah proses mengubah lignoselulosa (selulosa dan hemiselulosa) menjadi monomer gula penyusunnya.

Jenis proses hidrolisis ada lima macam yaitu sebagai berikut (Sari, 2010) :

a. Hidrolisis murni

Pada proses ini hanya melibatkan air saja. Proses ini tidak dapat menghidrolisis secara efektif karena reaksi berjalan lambat. Hidrolisis murni ini biasanya hanya untuk senyawa yang sangat reaktif dan reaksinya dapat dipercepat dengan memakai uap air.

b. Hidrolisis dengan larutan asam

Menggunakan larutan asam sebagai katalis. Larutan asam yang digunakan dapat encer atau pekat, seperti H_2SO_4 atau HCl .

c. Hidrolisis dengan larutan basa

Menggunakan larutan basa encer maupun pekat sebagai katalis. Basa yang digunakan pada umumnya adalah $NaOH$ atau KOH . Selain berfungsi sebagai katalis, larutan basa pada proses hidrolisis berfungsi untuk mengikat asam sehingga kesetimbangan akan bergeser ke kanan.

d. Hidrolisis dengan enzim

Hidrolisis ini dilakukan dengan menggunakan enzim sebagai katalis. Salah satu enzim yang dapat medegradasi lignoselulosa yaitu enzim selulosa. Enzim ini berasal dari fungi (*Tricoderma*, *Aspergillus* dan *Penlicillum*), bakteri (*Pseudomonas*, *Cellulomona*, dan *Bacillus*) dan ruminasia. Selain itu juga dapat menggunakan *T.uridae* dan *S.creviseae*. Enzim yang dihasilkan akan hidrolisis lignoselulosa menjadi gula monomer penyusunnya (Groggins, 1958 dalam Sari, 2010).

e. Alkali fusion

Hidrolisis ini dilakukan tanpa menggunakan air pada suhu tinggi, misalnya dengan menggunakan NaOH padat.

4. Proses Fermentasi

Proses fermentasi dipengaruhi oleh nutrisi, pH, suhu, waktu yang dibutuhkan untuk fermentasi, kandungan gula, volume starter (Sari, 2010). Namun faktor penting mempengaruhi proses fermentasi adalah jenis mikroba atau karmir. Mikroorganisme yang digunakan untuk fermentasi mempunyai beberapa syarat sebagai berikut:

1. mempunyai kemampuan untuk memfermentasi glukosa secara cepat
2. mempunyai genetik yang stabil (tidak mudah mengalami mutasi)
3. toleran terhadap alkohol yang tinggi (antara 14 – 15%)
4. mempunyai sifat regenerasi yang cepat.

Proses fermentasi yang dilakukan adalah proses fermentasi yang tidak menggunakan oksigen (*anaerob*). Fermentasi pertama 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. Hasil fermentasi ini mengubah glukosa menjadi etanol (Sari, 2009). Dalam proses fermentasi dilakukan dengan variasi waktu bertujuan untuk mengetahui dan memperoleh data bagaimana pengaruh waktu fermentasi terhadap kadar etanol yang dihasilkan (Anggraeni dan Betaria, 2017).

5. Proses Destilasi

Pemisahan secara destilasi pada prinsipnya adalah metode pemisahan yang didasarkan karena adanya perbedaan titik didih antara komponen-komponen yang akan dipisahkan. Destilasi digunakan untuk menarik senyawa organik yang titik

didihnya di bawah 250 °C. Pada destilasi senyawa yang akan diambil komponen yang diinginkan didihkan dan uapnya dilewatkan melalui suatu pendingin mencair kembali. Proses pendidihan erat hubungannya dengan kehadiran udara dipermukaan. Bila suatu cairan dipanaskan, maka pendidihan akan terjadi pada suhu dimana tekanan uap dari cairan yang akan didestilasi sama dengan tekanan uap di permukaan. Bila pendidihan terjadi pada 760 mmHg maka pendidihan ini disebut pendidihan normal dan titik didihnya disebut titik didih normal. Secara toeritis bila perbedaan titik didih antar komponen makin besar maka pemisahan dengan cara destilasi akan berlangsung makin baik yaitu hasil yang diperoleh makin murni (Nasution dkk., 2016).

2.2 Rumput gajah

Rumput gajah yang dikenal dengan *napier grass* atau *elephant grass* berasal dari Afrika tropika, kemudian menyebar dan diperkenalkan ke daerah tropika di dunia dan tumbuh alami di seluruh Asia Tenggara yang bercurah hujan lebih dari 1.000 mm dan tidak ada musim panas yang panjang (Sirait, 2017).

2.2.1 Morfologi Rumput gajah

Rumput gajah dikenal dengan nama ilmiah : *Pennisetum purpureum Schumach.* Nama daerahnya : *Elephant grass, napier grass (Inggris), Herbe d'elephant, fausse canne a sucre (Prancis), Rumput gajah (Indonesia, Malaysia), Buntot-pusa (Tagalog, Filipina), Handalawi (Bokil), Lagoli (Bagobo), Yanepia (Thailand), Co' duoi voi (Vietnam), Pasto Elefante (Spanyol).* Rumput gajah berasal dari Afrika tropika, kemudian menyebar dan diperkenalkan ke daerah-daerah tropika didunia, dikembangkan terus menerus dengan berbagai silangan sehingga menghasilkan banyak kultivar, terutama di Amerika, Philipina dan India (Sari, 2009).



Gambar 6. Rumput gajah (Sayuti dkk, 2020)

- Klasifikasi :Rumput gajah
Kingdom : Plantae
Sub-kingdom :Tracheobionta
Super-divisi : Spermatophyta
Divisi :Magnoliophyta
Kelas : Liliopsida (monokotil)
Ordo : Poales
Famili : Poaceae (suku rumput-rumputan)
Bangsa : Paniceae
Genus : *Pennisetum*
Spesies : *P. purpureum*

P. purpureum secara umum adalah tanaman tahunan yang berdiri tegak, berakar dalam, tinggi rimpang yang pendek. Tinggi batang dapat mencapai 2 - 4 meter (bahkan mencapai 6-7 meter), dengan diameter batang dapat mencapai lebih dari 3 cm dan terdiri sampai 20 ruas/buku. Tumbuh membentuk rumpun dengan lebar rumpun hingga 1 meter. Pelepah daun gundul hingga berbulu pendek, helai daun bergaris dengan dasar yang lebar, ujungnya runcing (Sari, 2009).

P. purpureum dapat tumbuh suhu 25-40°C dan curah hujan 1.500 mm/tahun. Rumput ini toleran terhadap kekeringan dan lebih cocok tumbuh pada lahan

dengan drainase yang baik dan pada tanah yang subur serta memiliki adaptasi yang luas terhadap tingkat kemasaman (pH) tanah (4,5-8,2). Rumput gajah merupakan rumput yang tumbuh baik pada kondisi cahaya penuh, meskipun masih dapat berproduksi bila yang ternaungi hanya sebagian tanaman dan akan tumbuh sangat baik bila ditanam di tanah yang gembur dan subur (Heuze et al. 2016 dalam Sirait, 2017).

2.2.2 Kandungan Rumput gajah

Adapun kandungan rumput gajah dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Kandungan Rumput gajah (*Laboratorium OTK UPN "Veteran" JATIM dalam Sari (2010) dan Sari (2009)*)

Kandungan Nutrien		Kandungan Lain	
Nitrogen	10-30 kg/ ton	Protein kasar	5,2 %
Fosfor	2-3 kg/ ton	Serat kasar	40,85%
Kalium	30 kg/ ton	Selulosa	48,055%
Kasium	3-6 kg/ton	Glukosa	4,836%
Magnesium	2-3 kg/ ton	Pati	20,367%
Sulfur/Belerang	2-3 kg /ton	Air	43,61%

2.2.3 Manfaat Rumput gajah

Adapun Manfaat dari rumput gajah (*P.purpureum*) adalah :

1. *P.purpureum* memiliki palatabilitas dan nilai nutrisi yang baik sehingga sangat menjanjikan sebagai sumber hijauan pakan yang berkesinambungan untuk ruminansia.
2. *P.purpureum* merupakan tumbuhan yang memiliki kandungan selulosa yang cukup tinggi. Karena itu dapat dijadikan bahan baku pembuatan kertas

melalui *Chemical Pulping* (proses Kimia) menggunakan NaOH dan Na₂CO₃ yang berbeda (Sanastri, 2014).

3. *P.purpureum* dapat menghasilkan etanol karena mengandung selulosa. Cara pembuatan etanol dari *P.purpureum* yaitu selulosa dari dihidrolisis menjadi glukosa. Kemudian difermentasi menggunakan *S.cerevisiae* (Nasution, 2016).

Tabel 5. Produksi Bioetanol berbahan baku Rumput gajah (Sari, 2009; Ruko dkk., 2014; dan Nasution dkk, 2016)

Mikroba	Waktu fermentasi	Jumlah produksi	Pustaka
<i>Saccharomyces cerevisiae.</i>	6 hari	90-95%	Sari, 2009
<i>Clostridium acetobutylicum</i>	10 hari	96,24%	Ruko dkk., 2014
<i>Saccharomyces cerevisiae.</i>	6 hari	27,83%	Nasution dkk, 2016

2.3 Bakteri *Clostridium acetobutylicum*

Clostridium acetobutylicum adalah bakteri yang berkembang sebelum bumi memiliki atmosfer oksigen. Bagi mereka udara yang kita hirup adalah racun untuk bertahan hidup mereka menghasilkan spora, tahan terhadap agen fisik dan kimia. *C.acetobutylicum* sama sekali tidak berbahaya dan membuat berbagai bahan kimia yang berguna untuk manusia (Kee, 2002)

Taksonomi dari bakteri *Clostridium acetobutylicum* sebagai berikut: (McCoy, 1926 dalam Armidha, 2019):



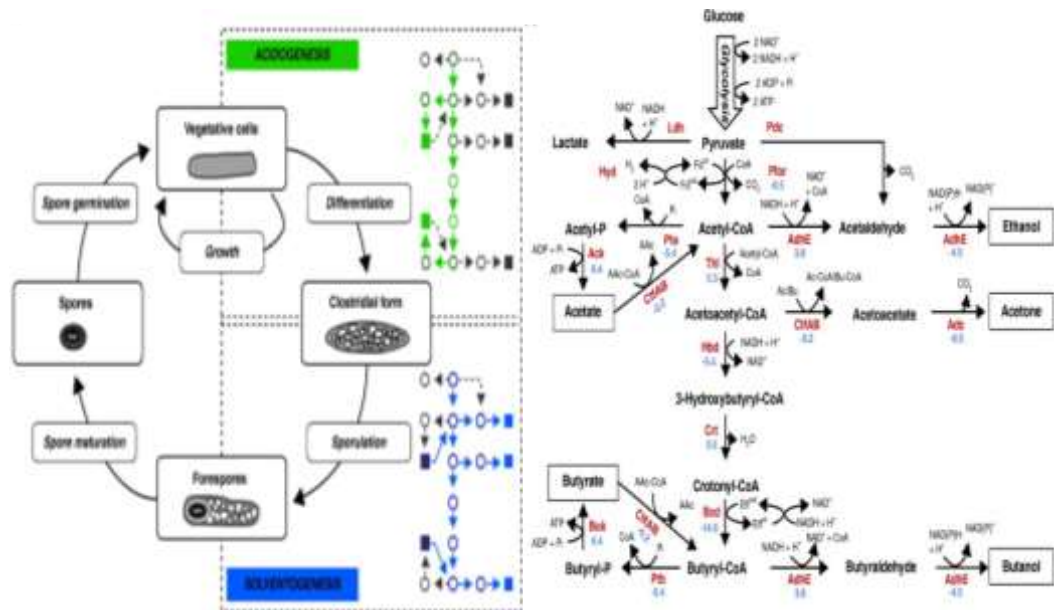
Gambar 7. Bakteri *Clostridium acetobutylicum* (Krisno, 2011) 2

Kingdom : Bacteria
Phylum : Firmicuter
Class : Clostridia
Ordo : Clostridiales
Famili : Clostridiaceae
Genus : *Clostridium*
Spesies : *Clostridium acetobutylicum*

Bakteri dari genus *Clostridium* memenuhi empat kriteria umum: (1) memiliki dinding sel Gram-positif, (2) membentuk endospora tahan panas, (3) menunjukkan metabolisme fermentasi anaerob obligat, dan (4) tidak mampu reduksi disimilasi sulfat (Montville dan Karl, 2008). *C.acetobutylicum* merupakan bakteri anaerob, sehingga memberikan keuntungan untuk proses fermentasi selulosa yang berlangsung dalam keadaan anaerob. Selain itu, bakteri *C.acetobutylicum* dapat bertahan pada pH rendah, antara 4,5-5 dengan suhu optimum 37 °C (Whitman, 2009).

Bakteri *Clostridium acetobutylicum* merupakan organisme *saccharolytic* (kemampuannya untuk mendegradasi pati ataupun selulosa yang sangat kompleks) dan mampu menghasilkan sejumlah produk yang berguna seperti aseton-butanol-etanol (ABE) (Ruko, 2011). Krisis bahan bakar fosil baru-baru ini mendorong penelitian lebih ke *C. acetobutylicum* dan pemanfaatan proses ABE karena proses petrokimia menjadi lebih hemat biaya-efektif (Muladno, 2002).

Proses pembentukan ABE diawali dengan mendegradasi pati ataupun selulosa menjadi glukosa, kemudian glukosa mengalami glikosisi menghasilkan asam piruvat. Asam piruvat itu kemudian akan menjadi aseton-butano-etanol (ABE) yang dapat digambarkan pada gambar 8.



Gambar 8. Jalur Pembentukan ABE pada bakteri *C.acetobutylicum* (Meer dan Greg, 2020)

Selama fase pertumbuhan eksponensial, sel vegetatif *C. acetobutylicum* berbentuk batang lurus berukuran $0,5-0,9 \times 1,5-6 \mu\text{m}$ dan mengubah gula atau pati menjadi asam asetat dan butirrat. Fase pertumbuhan ini disebut asidogenesis. Pada akhir pertumbuhan eksponensial dalam kaitannya dengan fase pertumbuhan transisi, sel-sel berdiferensiasi, membengkak secara nyata, dan membentuk sel berbentuk cerutu (tahap clostridial). Pada saat ini, sel mengakumulasi polisakarida granulosa, polimer mirip glikogen yang terdiri dari α -d-glukosa, yang diharapkan berfungsi sebagai simpanan energi untuk pembentukan spora selanjutnya. Sementara itu, metabolisme sel beralih ke produksi pelarut (solventogenesis), yang disebut sebagai saklar pelarut dalam fermentasi ABE. Clostridia pelarut mengubah asam yang dihasilkan (asetat dan butirrat) menjadi pelarut netral (masing-masing aseton dan butanol). Produksi pelarut disertai dengan inisiasi sporulasi (Montville dan Karl, 2008)

Proses pembuatan etanol oleh *Clostridium acetobutylicum* berbeda dengan ragi. Rantai produksi bercabang dari asetil-KoA, dan aldehida dehidrogenase

menghasilkan asetaldehida dan NAD^+ . Alkohol dehidrogenase yang bergantung pada NAD yang akhirnya menghasilkan produk akhir etanol (Doelle, 1975)

Beberapa penelitian yang menggunakan bakteri *C.acetobutylicums* yaitu Armidha (2019) memanfaatkan ampas sagu (*Metroxylon sp.*) menghasilkan kadar etanol sebesar 16,5 % pada pH 5 dengan waktu optimum 10 hari, Sari dkk (2018) memanfaatkan kulit nanas menghasilkan kadar etanol sebesar 9 % pada pH 6,5 dengan waktu optimum 8 hari, Fajariah (2014) memanfaatkan limbah kayu menghasilkan kadar butanol sebesar 1,88 % pada pH 5 dengan waktu fermentasi 12 hari dan Ruko dkk (2014) memanfaatkan batang rumput gajah menghasilkan kadar etanol 96,24 % pada pH 6,5 dengan waktu optimum 10 hari.

2.4 Instrumen

Dalam menguji kemurnian suatu sampel hasil destilasi dapat ditentukan dengan kromatografi gas untuk mengidentifikasi adanya kandungan yang diharapkan dalam sample. Kemudian dapat dilanjutkan dengan uji kualitatif dengan menentukan nilai indeks bias sampel tersebut. Oleh karena itu, perlu diketahui lebih jauh terkait penentuan indeks bias dan prinsip penggunaan kromatografi gas.

2.4.1 Refraktometer

Indeks bias merupakan salah satu dari beberapa sifat optis yang penting dari medium (Rofiq, 2010). Indeks bias merupakan perbandingan (rasio) antara kelajuan cahaya di ruang hampa terhadap kelajuan cahaya di dalam bahan seperti dinyatakan oleh (Young dkk., 2003):

$$n = \frac{c}{v} \quad (1)$$

dengan,

n = indeks bias

c = kelajuan cahaya di ruang hampa (m/s)

v = kelajuan cahaya di dalam medium (m/s)

Suatu sinar melewati dua medium yang berbeda, akan terjadi pembiasan. Jika sinar dilewatkan dari udara melewati zat cair, maka sinar di dalam zat cair itu akan dibelokkan. Peristiwa pembiasan pada bidang batas antara dua medium memenuhi Hukum Snellius (Young dkk., 2003).

$$n_1 \sin \theta_1 = n_2 \sin \theta_2 \quad (2)$$

dengan,

n_1 = indeks bias medium tempat cahaya datang

θ_1 = sudut datang

n_2 = indeks bias medium tempat cahaya bias

θ_2 = sudut bias

Besarnya nilai indeks bias suatu larutan berbanding terbalik dengan besar sudut biasnya. Semakin kecil sudut bias pada larutannya maka indeks biasnya semakin besar yang menandakan sampel tersebut murni. Begitu pula sebaliknya semakin besar sudut bias pada larutannya maka semakin kecil nilai indeks biasnya yang berarti sampel tersebut tidak murni (Kasli dan Rida, 2016).

Pengukuran indeks bias dapat dilakukan dengan metode (Rofiq, 2010):

1. metode interferometri seperti Mach-Zender, Jamin, Michelson dan Fabry-Perot umumnya cenderung rumit dan membutuhkan waktu yang lama, sehingga dibutuhkan suatu alat yang dapat mengukur indeks bias secara lebih mudah dan cepat.
2. metode menggunakan spektrometer. Metode ini juga cukup akurat untuk mengukur indeks bias. Namun demikian, metode ini juga mempunyai

kelemahan yaitu selain pengoperasian alat yang rumit, metode ini membutuhkan sampel penelitian dalam jumlah yang banyak dan juga membutuhkan waktu yang lama.

3. metode menggunakan refraktometer. Metode ini merupakan metode yang sederhana. Sampel yang digunakan juga relatif lebih sedikit dibandingkan dengan metode-metode yang lainnya.



Gambar 9. Alat Refraktometer Abbe (Koleksi Pribadi, 2021)

Refraktometer ditemukan oleh Dr. Ernest Abbe seorang ilmuwan dari Jerman pada permulaan abad 20. Refraktometer Abbe adalah refraktometer untuk mengukur indeks bias cairan, padatan dalam cairan atau serbuk dengan indeks bias dari 1,300 sampai 1,700 dan persentase padatan 0 sampai 95 %. Indeks bias zat cair ditentukan oleh kerapatan molekul-molekulnya, kerapatan zat cair dipengaruhi oleh suhu, maka suhu berpengaruh terhadap indeks bias zat cair (Supriyana dan Muhammad, 2017).

Ciri khas refraktometer yaitu dapat dipakai untuk mengukur secara tepat dan sederhana karena hanya memerlukan zat yang sedikit yaitu 0,1 ml dan ketelitiannya sangat tinggi. Faktor faktor yang mempengaruhi harga indeks bias cairan, yaitu (Parmitasari dan Eko., 2013):

1. berbanding terbalik dengan suhu.
2. berbanding terbalik dengan panjang gelombang sinar yang digunakan

3. berbanding lurus dengan tekanan udara dipermukaan udara
4. berbanding lurus dengan kadar atau konsentrasi larutan

Selain itu yang perlu juga diperhatikan yaitu beberapa faktor yang dapat mempengaruhi penyimpangan hasil pengukuran ini diantaranya temperatur dan kekentalan zat cair (Zamroni, 2013).

Prinsip kerja Refraktometer adalah pembiasan. Refraktometer adalah alat yang digunakan untuk mengukur kadar atau konsentrasi bahan atau zat terlarut. Metode pengukuran didasarkan pada prinsip bahwa cahaya yang masuk melewati prisma-cahaya hanya bisa dilewati bidang batas antara cair dan prisma kerja dengan suatu sudut yang terletak dalam batas-batas tertentu yang ditentukan oleh sudut batas antara cairan dan alas (Green et al, 2007 dalam Afrizal, 2017).

Tabel 6. Indeks Bias Beberapa Zat (*ISBN 9780321188786*)

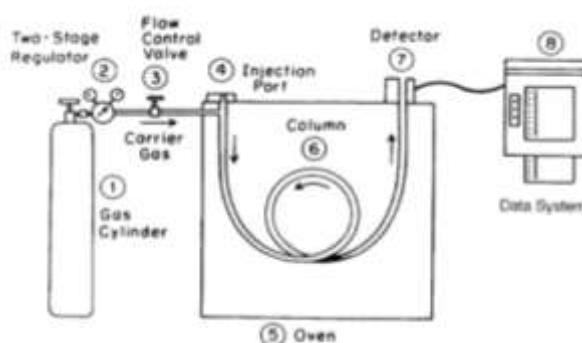
Nama Zat	Indeks Bias
Udara (0°C, 1 atm)	1,000293
Air	1,3330
Etanol	1,361
Benzen	1,501

2.4.2 Kromatografi Gas

Dalam Analisis kualitatif membuktikan sampel mengandung etanol dapat diuji dengan membandingkan waktu retensi (tR) sampel dengan waktu retensi (tR) etanol dengan menggunakan standar internal. Hal ini dapat ditunjukkan dengan nilai (tR) sampel dengan (tR) baku pembanding sama. Selain menggunakan waktu retensi untuk mengetahui kandungan didalam sample, dapat juga dilakukan dengan analisis kualitatif menggunakan kromatografi gas (Riyanto, 2013).



Gambar 10. instrumen Kromatografi Gas (Arrhalmahridi, 2012)

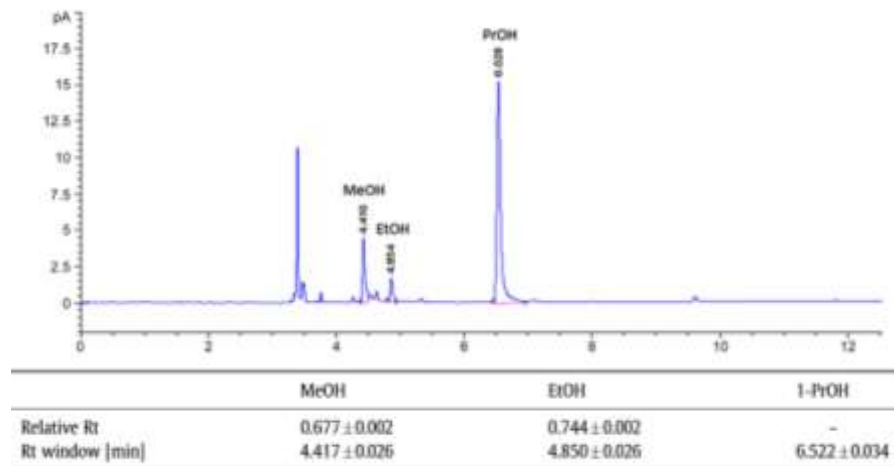


Gambar 11. Skema Bagian-Bagian Kromatografi Gas (Faricha dkk., 2014)

Prinsip pemisahan dengan metode *gas chromatography* berdasar pada perbedaan koefisien partisi dari senyawa yang diuapkan antara fase cair dan fase gas yang dilewatkan dalam kolom dengan bantuan gas pembawa. Kondisi analisis yang perlu diperhatikan yaitu laju alir gas pembawa yang biasanya gas helium, laju alir dari kolom, laju alir nitrogen dan laju udara pengoksida. Gas helium memenuhi syarat sebagai gas pembawa karena tidak reaktif dan murni. Selain itu, memberikan efisiensi kromatografi yang lebih baik (mengurangi pelebaran pita) (Rizalina dkk., 2018).

Hal yang perlu diperhatikan juga saat menggunakan kromatografi gas yaitu suhu injektor harus lebih kecil dibanding suhu kolom, dan suhu kolom harus lebih kecil dari suhu detektor. Suhu injektor harus cukup tinggi untuk menguapkan analit dengan cepat sehingga tidak menghilangkan keefisienan yang disebabkan oleh cara penyuntikan. Sebaliknya, suhu injektor harus cukup rendah untuk

mencegah peruraian akibat panas. Suhu kolom harus cukup tinggi dengan suhu injektor agar analisis dapat diselesaikan dalam waktu yang cukup layak dan pemisahan yang dikehendaki tercapai. Suhu detektor minimal harus 125 °C agar cuplikan tidak mengembun (Rizalina dkk., 2018).



Gambar 12. Kromatogram hasil uji Kromatografi Gas (Raquel dkk., 2014)

Pemanfaatan kromatografi gas yaitu menganalisa suatu zat dalam suatu bahan seperti pada penelitian Raquel dkk (2014) yang menganalisa kadar metanol dan etanol dalam beberapa minyak zaitun dari berbagai daerah, dengan menggunakan standar internal propanol diperoleh waktu relatif metanol yaitu 4,417 menit, etanol yaitu 4,850 menit sedangkan propanol 6,522 menit.

Pada penelitian Yanti, dkk (2019) yang penelitian bertujuan menentukan optimasi metode kadar etanol dan metanol pada minuman keras oplosan menggunakan kromatografi gas, dari hasil penelitian metode preparasi yang paling tepat adalah metode destilasi dengan hasil validasi uji akurasi yang dinyatakan dalam % *Recovery* metanol dan etanol masing-masing 102,79 % dan 100,26%.