

## Pembuatan Bioetanol Berbahan Baku Sabut Kelapa Menggunakan Metode *Simultaneous Saccharification Fermentation*

### Bioethanol Production from Coconut Husk by Using Simultaneous Saccharification Fermentation Method

Asyeni M. Jannah<sup>1)\*</sup>, Nuraini D. Pratiwi<sup>1)</sup>, Titi Lahanda<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Sriwijaya, Inderalaya – Indonesia

\*Email: [asyeni@ft.unsri.ac.id](mailto:asyeni@ft.unsri.ac.id)

#### Abstrak

Bioetanol dapat dijadikan pengganti bahan bakar bensin dan terbuat dari berbagai jenis tanaman dan limbah yang mengandung selulosa. Salah satu limbah yang masih belum dimanfaatkan secara maksimal adalah sabut kelapa. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisa pengaruh variasi konsentrasi H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (5; 7; 10; 13 dan 15%) terhadap kadar lignin yang didegradasi pada proses delignifikasi serta pengaruh variasi enzim (2,5; 5; 7,5 dan 10 mL) yang digunakan terhadap kadar bioetanol yang dihasilkan pada proses *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF). Analisa kadar lignin dan selulosa pada proses delignifikasi menggunakan metode Chesson-Datta. Kadar selulosa optimal didapatkan sebesar 54,25% serta kadar lignin sisa sebanyak 18,78% yang dihasilkan oleh sampel dengan melibatkan 13% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pada proses delignifikasi. Pada proses SSF melibatkan variasi enzim selulase dan *Saccharomyces cerevisiae* serta proses fermentasi dilakukan selama 7 hari. Analisa kadar bioetanol hasil dari proses SSF menggunakan metode densitas. Dari hasil penelitian didapatkan kadar bioetanol maksimum yang dihasilkan sebesar 42,63% pada sampel dengan perlakuan 10 mL enzim selulosa.

**Kata Kunci:** bioetanol, delignifikasi, lignin, sabut kelapa, *simultaneous saccharification and fermentation* (SSF).

#### Abstract

*Bioethanol can be used as a substitute fuel for gasoline and made from various types of plants and waste which contain cellulose. One of the wastes that has not been utilized optimally is coconut husk. This study aimed to analyze the effects of H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> various concentrations (5; 7; 10; 13 and 15%) to the lignin content which degraded in delignification process as well as the effect of various enzyme (2,5; 5; 7,5 and 10 mL) used to bioethanol content that produced in Simultaneous Saccharification and Fermentation process (SSF). The lignin and cellulose contents analyzed by using Chesson-Datta method. The optimum cellulose content was 54.25% and the residual lignin content was 18.78% which produced by sample treated with 13% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> in delignification process. The SSF involved cellulose enzyme and *Saccharomyces cerevisiae* and the fermentation process was carried out for 7 days. Based on this study, maximum bioethanol content was 42.63% which produced by sample that treated with 10 mL cellulose enzyme.*

*Keywords:* bioethanol, delignification, lignin, coconut husk, *simultaneous saccharification and fermentation* (SSF).

#### 1. PENDAHULUAN

Keterbatasan bahan bakar fosil ini termasuk ke dalam permasalahan global dan perlu ditanggulangi dengan beberapa cara, salah satunya adalah menciptakan bahan bakar alternatif yang bisa diperbaharui, dimana ketersediaannya dalam jumlah yang tidak terbatas, memiliki harga yang relatif murah dan kualitas yang baik seperti bahan bakar fosil.

Energi alternatif yang sangat sederhana dan telah dikembangkan saat ini adalah bioetanol. Bioetanol dapat dihasilkan dari biomassa seperti jagung (Tolulope Eunice, 2021), ubi (Chooklin et al., 2020; Kalsum & Juniar, 2018; Rizzolo et al., 2021; Vitus & Otaraku, 2020), sugu (Hung et al., 2018; Rijal, 2020; Widayanti. et al., 2016) dan sorgum (Jiang et al., 2019; Klasson & Boone, 2021). Namun bioetanol dari bahan baku pati masih terkendala

dengan kepentingan kebutuhan pati sebagai bahan makanan. Sehingga pembuatan bioetanol dialihkan ke generasi kedua, yaitu bioetanol yang terbuat dari biomassa yang mengandung lignoselulosa, seperti ampas tebu (Restiawaty et al., 2020), Jerami padi (Gupta & Chundawat, 2020; Nurwahdah et al., 2015; Xing et al., 2018) dan tandan kosong kelapa sawit (Suhartini et al., 2022), biji cempedak (Irvan et al., 2016). Sabut kelapa menjadi limbah yang sangat potensial sebagai bahan baku pembuatan bioetanol dikarenakan pemanfaatannya yang belum optimal. Produksi kelapa yang cukup melimpah di Indonesia yaitu sebanyak 2.811.954 Ton pada tahun 2020 (Direktorat Jenderal Perkebunan, 2021) dan sepertiga dari buah kelapa adalah sabutnya. Sebagian besar hanya dijadikan limbah yang ditumpuk dan selanjutnya dibakar. Dengan pemanfaatan sabut kelapa menjadi bahan baku bioetanol akan menjadikan limbah ini lebih termanfaatkan dan bernilai ekonomis.

Pembuatan bioetanol dari sabut kelapa ini mengandalkan kandungan selulosa yang terdapat pada ikatan lignoselulosa, namun harus dilepas terlebih dahulu dengan cara mendegradasi kandungan lignin yang terdapat pada lignoselulosa sebagai pembungkus ikatan antara selulosa dan hemiselulosa dikarenakan lignin akan menghambat kerja katalis pada proses hidrolisis. Proses degradasi lignin (delignifikasi) merupakan tahap perlakuan awal yang dilakukan pada proses pembuatan bioetanol berbahan baku lignoselulosa. Kandungan selulosa pada sabut kelapa cukup besar yaitu sebanyak 29-43 % (Bolivar-Telleria et al., 2018). Sabut kelapa dari kelapa yang sudah tua memiliki kandungan selulosa lebih banyak sebesar 43,40 % (Jannah & Asip, 2015) dibandingkan dengan sabut kelapa dari buah kelapa yang masih muda yaitu sebesar 32,80% (da Costa Nogueira et al., 2018). Proses delignifikasi pada penelitian ini melibatkan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dengan variasi konsentrasi sebesar 5, 7, 10, 13 dan 15% (v/b). keterlibatan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pada proses ini memiliki keunggulan antara lain tidak perlu menggunakan konsentrasi tinggi pada prosesnya serta mampu melarutkan lignin lebih baik dibandingkan asam lemah (Kanani et al., 2018). Kadar selulosa, dan lignin sebagai hasil dari proses delignifikasi diuji dengan menggunakan metode Chesson-Datta.

Selanjutnya selulosa hasil proses delignifikasi memasuki proses *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF). Proses SSF sangat jarang digunakan pada proses pembuatan bioetanol berbahan baku lignoselulosa, bahkan belum pernah diterapkan dalam proses pembuatan bioetanol berbahan baku sabut kelapa. Sehingga tujuan penelitian ini adalah untuk mengkaji dan menganalisa pengaruh konsentrasi H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pada proses delignifikasi serta mengkaji dan menganalisa pengaruh volume enzim selulosa yang digunakan pada proses SSF. Pada proses ini selulosa akan

dihidrolisa dengan melibatkan enzim selulase dengan variasi konsentrasi sebesar 2,5; 5; 7,5; dan 10 mL dan langsung di fermentasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* pada satu tahapan proses. Penggunaan enzim selulosa pada proses ini selain ramah lingkungan, dan lebih optimal dalam menghidrolisis selulosa, enzim selulosa juga lebih ekonomis dibandingkan penggunaan bahan kimia. Pada proses SSF, proses hidrolisa selulosa dan konversi glukosa dilakukan secara serentak sehingga proses konversi bioetanol akan lebih singkat dan hemat biaya (Paulová et al., 2014). Bioetanol hasil dari proses SSF dianalisa dengan menggunakan metode densitas.

## **2. METODOLOGI PENELITIAN**

Sabut kelapa yang digunakan berasal dari tanaman buah kelapa di daerah Banyuasin. Sabut kelapa yang telah diambil dibersihkan dari kotorannya, dan di potong kecil-kecil, kemudian sabut kelapa dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 105°C selama 1 jam. Sabut kelapa digiling dengan mesin penggiling dan kemudian diayak menggunakan alat *siever* untuk mendapatkan ukuran 80 mesh. Pada penelitian ini alat yang digunakan antara lain: Erlenmeyer, beker gelas, blender, alat pengayak, autoklaf, oven, furnace, seperangkat alat distilasi, *hot plate*, piknometer, pH meter, neraca analitik, kertas saring, pipet tetes, labu ukur, dan termometer. Sedangkan bahan utama yang digunakan adalah sabut kelapa sebagai bahan baku, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NaOH, *aquadest*, *Saccharomyces cerevisiae*, dan enzim selulase.

### **2.1. Proses Delignifikasi**

Sabut kelapa sebagai bahan baku dihaluskan dan dilakukan pengayakan hingga homogen menjadi 100 mesh. Sebanyak 50 g bubuk sabut kelapa akan dijadikan sampel dalam penelitian ini. Selanjutnya sampel akan dicampurkan larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dengan variasi konsentrasi sebanyak 150 mL pada media Erlenmeyer berukuran 250 ml. Lalu ditutup dengan menggunakan aluminium foil. Selanjutnya panaskan menggunakan autoklaf dengan temperatur pemanasan 121°C selama 60 menit, kemudian didinginkan hingga suhu 25°C. Cuci sabut kelapa dengan menggunakan *aquadest* hingga mencapai pH 7. Kemudian keringkan sabut kelapa dengan menggunakan oven pada suhu 120°C selama 20 menit. Ulangi langkah sebelumnya untuk larutan NaOH 5%. Analisa kadar lignin dengan menggunakan metode Chesson Datta (Taufikurrahman & Delimanto, 2020).

### **2.2. Proses Simultaneous Saccharification Fermentation**

Hidrolisat dari proses delignifikasi selanjutnya dinetralkan pH nya dengan cara melakukan

pencucian terhadap hidrolisat dengan menggunakan aquadest hingga pH nya mencapai 7. Selanjutnya hidrolisat dikeringkan menggunakan oven pada suhu 110°C selama 7-8 jam atau sampai massa hidrolisat konstan. Hidrolisat berupa bubuk sabut kelapa ini selanjutnya dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 mL dan ditambahkan aquadest sebanyak 100 mL, enzim selulosa dengan variasi konsentrasi yang telah ditentukan dan *Saccharomyces cerevisiae* sebanyak 5 g. Kemudian dilakukan pengadukan dengan menggunakan shaker dengan pengadukan 100 ppm selama 10 menit. Pengadukan dilakukan untuk membuat campuran larutan menjadi homogen. erlenmeyer ditutup dengan aluminium foil dan pada bagian ujung Erlenmeyer dipasang selang yang dihubungkan ke dalam sumber air agar ragi mendapatkan oksigen. Proses inkubasi dilakukan selama 7 hari dengan menggunakan inkubator. Setelah 7 hari inkubasi maka akan dilakukan analisa untuk mengetahui kadar glukosa sisa yang masih terbentuk setelah proses fermentasi.

### 2.3. Distilasi

Pada proses ini, larutan hasil proses SSF akan dimurnikan untuk mendapatkan kadar bioetanol yang murni. Tahapan pertama adalah persiapan alat distilasi selanjutnya larutan distilat dan batu didih dimasukkan ke dalam labu ukur yang telah dilengkapi dengan termometer. Kemudian labu ukur dihubungkan dengan kondensor dengan menggunakan statif, klem dan adaptor, serta dibagian aliran keluar produk diletakkan erlenmeyer untuk menampung hasil distilat. Selanjutnya pasang selang yang dihubungkan ke kondensor tempat aliran air masuk dan keluar. Proses distilasi berlangsung pada kondisi operasi dengan suhu mencapai 80°C selama 10 menit. Distilat yang sudah ditampung kemudian akan diukur volumenya. Hasil akhir berupa bioethanol yang nantinya akan dianalisa densitasnya dan konsentrasi bioethanol yang terkandung didalamnya.

### 2.4. Analisa Proses

#### Analisa Kadar lignin dan Selulosa

Analisa kadar lignin dan selulosa dilakukan setelah proses delignifikasi sampel serbuk kelapa menggunakan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dengan variasi konsentrasi. Analisa kadar lignin dan selulosa dilakukan menggunakan metode Chesson-Datta (gambar 1). Selanjutnya dilakukan perhitungan untuk mendapatkan kadar lignin dan selulosa dengan menggunakan rumus (1) dan (2).

$$\text{Lignin \%} = \frac{d-e}{a} \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{Selulosa \%} = \frac{c-d}{a} \times 100\% \quad (2)$$

Keterangan :

a : Berat kering awal sampel sabut kelapa

c : Berat residu sampel setelah direfluk dengan 0,5M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

d : Berat residu sampel setelah diperlakukan 72% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

e : Abu dari residu sampel

#### Analisa Kadar Glukosa

Analisa kadar glukosa dilakukan untuk mengetahui kadar glukosa yang didapat pada hasil proses SSF, sehingga kadar glukosa yang dihasilkan merupakan kadar glukosa sisa setelah proses akhir atau dengan kata lain glukosa yang teridentifikasi merupakan glukosa yang tidak terkonversi menjadi bioetanol pada proses SSF. Metode yang digunakan untuk menghitung kadar glukosa adalah metode Spektrofotometer dengan menggunakan reagen nelson dan reagen fosfomolibdat (gambar 2).

Langkah-langkah yang dilakukan dalam menganalisa glukosa adalah sebagai berikut:

##### a. Pembuatan kurva standar

Tabung reaksi bersih disiapkan sebanyak 9 buah. Masukkan masing-masing 1 ml glukosa standar ke dalam tabung reaksi, dan siapkan 1 tabung yang diisi dengan akuades blanko. Kemudian tambahkan 1 ml reagen nelson pada masing-masing tabung reaksi. Panaskan semua tabung dengan menggunakan penangas air mendidih selama 20 menit. Selanjutnya dinginkan semua tabung hingga mencapai suhu 25°C. Ketika semua tabung telah dingin, tambahkan 1 ml reagen fosfomolibdat dan melarutkannya hingga endapan yang terbentuk larut kembali. Kemudian ukur serapan masing-masing larutan dan scan panjang gelombang dari 20 sampai dengan 600 nm, serta buat kurva larutan standar yang menunjukkan hubungan konsentrasi glukosa dan absorbansi.

##### b. Penentuan gula pada sampel

Reagen nelson sebanyak 1 ml ditambahkan ke dalam 1 ml larutan sampel. Selanjutnya diperlakukan seperti larutan untuk pembuatan kurva baku. Kemudian Jumlah gula reduksi dapat ditentukan berdasarkan serapan larutan sampel dan kurva standar.

##### c. Pembuatan larutan pereaksi Nelson

###### Nelson A

Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> anhidrous 12,5 gram, garam Rochelle (Na- K-Tartrat) 12,5 gram, NaHCO<sub>3</sub> 10 gram, dan Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidrat 100 gram dilarutkan ke dalam 350 ml akuades. Kemudian, mengencerkannya hingga volume 500 ml.

###### Nelson B

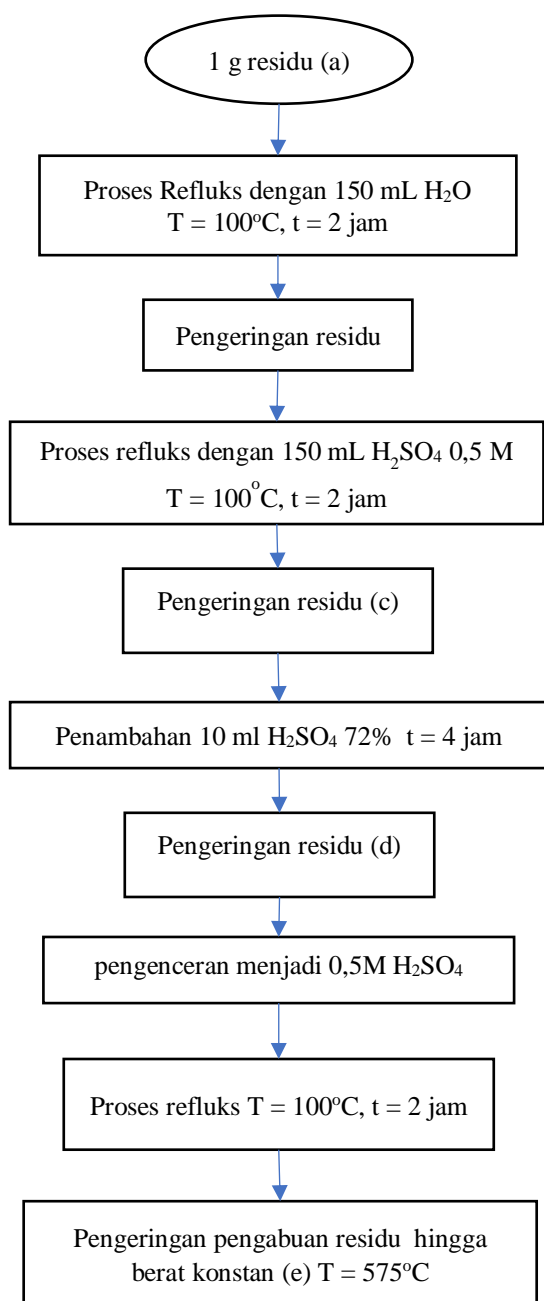
CuSO<sub>4</sub> 7,5 g dan 5 ml H<sub>2</sub>O dilarutkan ke dalam 50 ml akuades. Kemudian ditambahkan 1 sampai 2 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat.

###### Pereaksi Nelson

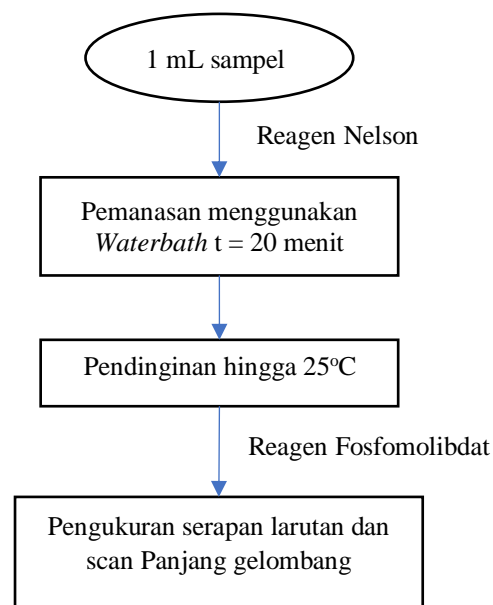
Nelson A: Nelson B = 25:1 (dibuat baru setiap kali pakai).

d. Pembuatan larutan Ammonium Molibdat ((NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>MO<sub>7</sub>O<sub>24</sub>.4H<sub>2</sub>O)

Ammonium molibdat dalam bentuk padatan ditimbang sebanyak 4 gram dan dimasukkan ke dalam beaker gelas. Kemudian larutkan dengan 50 ml akuades dan encerkan larutan ke dalam labu ukur 100 ml



**Gambar 1.** Diagram Analisa Chesson-Datta



**Gambar 2.** Diagram Analisa Glukosa

### Analisa Densitas

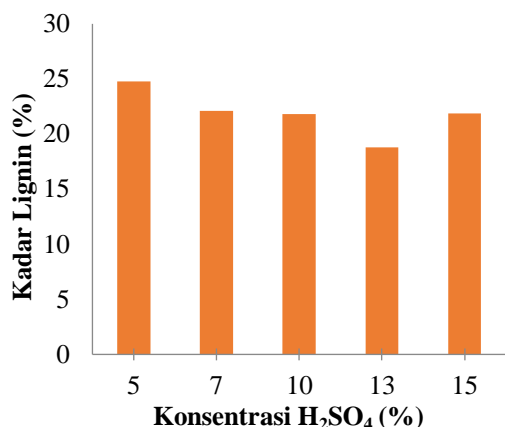
Analisa densitas dilakukan untuk mendapatkan densitas hasil bioetanol yang kemudian dengan menggunakan table konversi densitas dapat diketahui kadar bioetanol yang terkandung didalam produk. Analisa ini dilakukan dengan menggunakan metode hitung densitas secara stokiometri menggunakan piknometer.

Tahap pertama adalah dengan melakukan penimbangan piknometer yang kosong. Selanjutnya dinginkan akuades hingga suhu 20°C dan masukkan ke dalam piknometer kosong. Kemudian timbang piknometer dan akuades. Buang cairan akuades yang berada di dalam piknometer dan kemudian piknometer dikeringkan. Selanjutnya dinginkan sampel bioetanol hingga suhu 20°C dan masukkan ke dalam piknometer. Timbang piknometer dan sampel.

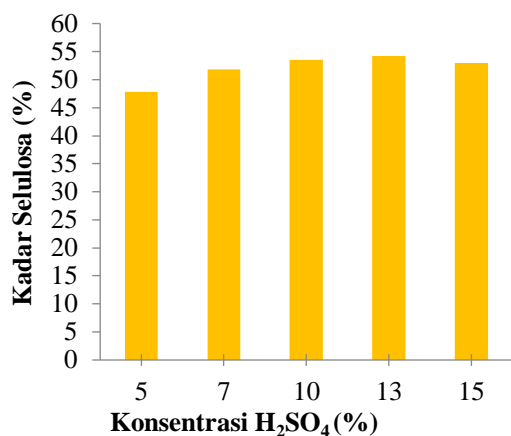
### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Pengaruh Larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> Terhadap Kadar Lignin Pada Sabut Kelapa

Kadar lignin yang dimiliki oleh sabut kelapa sangat berpengaruh dengan keberhasilan konversi selulosa menjadi glukosa pada proses hidrolisis. Gambar 3 dan 4 menunjukkan bahwa kadar selulosa semakin bertambah dan kadar lignin semakin berkurang seiring dengan bertambahnya persen larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Dapat dilihat bahwa semakin banyaknya larutan asam yang digunakan pada proses hidrolisa, maka kandungan lignin yang terdapat pada sabut kelapa akan semakin menurun dan juga kandungan selulosanya akan semakin meningkat.



Gambar 3. Pengaruh Larutan  $H_2SO_4$  Terhadap Kadar Lignin Pada Sabut Kelapa



Gambar 4. Pengaruh Larutan  $H_2SO_4$  Terhadap Kadar Selulosa Pada Sabut Kelapa

Pada konsentrasi  $H_2SO_4$  (5, 7, 10, 13) % mengalami penurunan dalam kandungan lignin, tetapi kemudian mengalami kenaikan hasil setelah konsentrasi  $H_2SO_4$  dinaikkan menjadi 15%. Hal ini dikarenakan pada konsentrasi  $H_2SO_4$  15% terjadi kenaikan suhu pemanasan, sehingga selulosa yang terbentuk ikut terdegradasi bersama lignin. Penggunaan suhu  $121^\circ C$  lebih efektif dalam proses *pretreatment*, karena suhu yang terlalu tinggi akan menyebabkan terdegradasinya selulosa, sedangkan pada suhu rendah maka lignin akan sulit untuk terdelignifikasi sehingga masih menutupi selulosa, dan kadar lignin yang berkurang akan sedikit (Permatasari et al., 2014). Begitu pula sebaliknya, untuk kandungan selulosa pada sabut kelapa mengalami kenaikan pada konsentrasi  $H_2SO_4$  (5, 7, 10, 13) %, hal ini menunjukkan bahwa larutan  $H_2SO_4$  dapat mendegradasi lignin dan akan larut dalam larutan pada saat dipanaskan sehingga kandungan selulosa pada sabut kelapa akan meningkat. Kadar lignin dan selulosa pada sabut kelapa yang terbaik didapatkan sebesar 18,78% dan 54,25% pada konsentrasi larutan  $H_2SO_4$  13%.

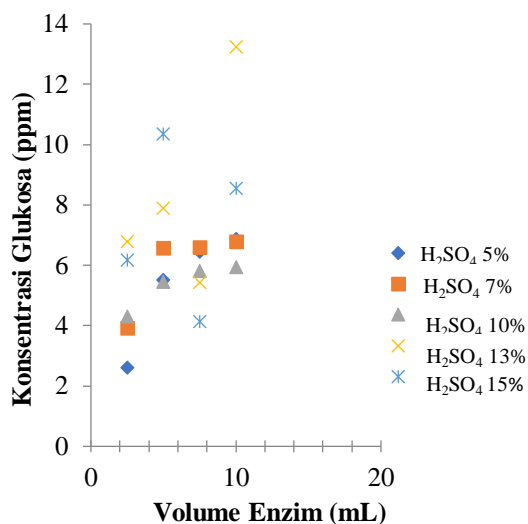
Hal ini dikarenakan sabut kelapa diberi perlakuan fisik berupa pemanasan dan penambahan larutan asam, dikarenakan lignin mempunyai sifat akan melunak dan kemudian menjadi hancur bila dipanaskan. Persentase kandungan lignin dan selulosa sabut kelapa sebelum dilakukan *pretreatment* yaitu sebesar 31,66% dan 44,44 % (Asip et al., 2016), sehingga pada konsentrasi larutan  $H_2SO_4$  13% mampu menurunkan kandungan lignin sebesar 12,88% serta meningkatnya kandungan selulosa sebesar 9,81%.

### Pengaruh Larutan $H_2SO_4$ Terhadap Konsentrasi Glukosa

Konsentrasi glukosa pada sabut kelapa menunjukkan indikasi atau jumlah total glukosa yang terkandung di dalam sabut kelapa yang dianalisa. Konsentrasi glukosa yang dimiliki oleh sabut kelapa tersebut mempengaruhi jumlah etanol yang akan dihasilkan. Semakin tinggi konsentrasi glukosa pada sabut kelapa yang dihasilkan dari hidrolisis maka semakin tinggi pula etanol yang akan dihasilkan dari proses fermentasi nantinya. Seperti terlihat pada Gambar 5.

Berdasarkan pada Gambar 5. menunjukkan bahwa larutan  $H_2SO_4$  dan  $NaOH$  berpengaruh terhadap konsentrasi glukosa yang dihasilkan. Hal ini dikarenakan semakin banyak lignin yang terdegradasi oleh larutan asam maka selulosa yang terbentuk akan semakin banyak, sehingga glukosa yang dihasilkan dari proses fermentasi akan semakin banyak pula. Kandungan glukosa yang terbaik di dapatkan pada konsentrasi larutan  $H_2SO_4$  13% yaitu sebesar 13,23 ppm. Hal ini dikarenakan larutan  $H_2SO_4$  13% sudah cukup untuk melarutkan lignin yang terkandung di dalam sabut kelapa sehingga selulosa yang terbentuk akan semakin banyak. Dimana semakin banyak lignin yang terdegradasi maka akan semakin banyak selulosa yang terbentuk dan akan menghasilkan konversi selulosa ke glukosa semakin tinggi (Jannah & Aziz, 2017).

Pada konsentrasi  $H_2SO_4$  15% mengalami penurunan kandungan glukosa, hal ini dikarenakan kandungan selulosa yang terbentuk pada konsentrasi  $H_2SO_4$  15% tidak sebanyak pada konsentrasi  $H_2SO_4$  13% seperti yang ditunjukkan pada gambar (4) dan kandungan lignin yang masih terdapat pada sampel dengan perlakuan  $H_2SO_4$  15% lebih tinggi dibandingkan dengan sampel yang diberi perlakuan awal menggunakan  $H_2SO_4$  sebanyak 13% ditunjukkan pada gambar (3). Kandungan lignin yang terkandung pada sampel sangat mempengaruhi proses SSF.



**Gambar 5.** Pengaruh Larutan  $H_2SO_4$  Terhadap Konsentrasi Glukosa Pada Sabut Kelapa

Hal ini dikarenakan keberadaan ikatan lignin pada lignoselulosa membungkus selulosa dan hemiselulosa. Sehingga selulosa dapat berkontak dengan pelarut atau katalis dan kemudian terkonversi menjadi glukosa akan terjadi hanya jika ikatan lignin sebagai pembungkusnya dapat didegradasi. Sedikitnya kadar lignin yang terkandung didalam sampel menunjukkan bahwa proses delignifikasi yang melibatkan  $H_2SO_4$  berlangsung secara maksimal, sehingga ikatan selulosa akan mudah berkontak dengan enzim selulase pada proses SSF. Selain itu, konsentrasi enzim juga berpengaruh terhadap glukosa yang terbentuk (Purwoko et al., 2017).

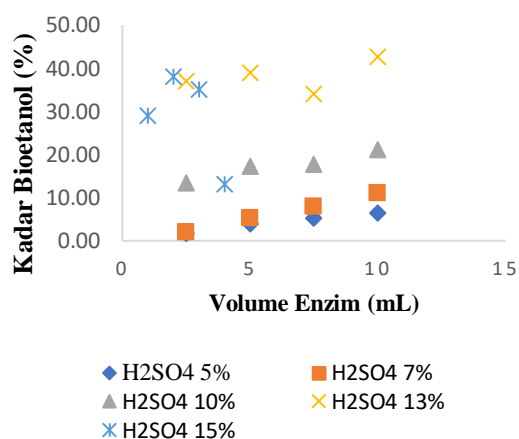
#### Pengaruh Larutan $H_2SO_4$ dan Konsentrasi Enzim Terhadap Kadar Bioetanol yang Dihasilkan

Dari hasil proses SSF, produk bioetanol yang dihasilkan dianalisa menggunakan metode densitas. Berdasarkan pada Gambar 6 menunjukkan bahwa densitas yang paling rendah didapat pada sampel dengan delignifikasi menggunakan konsentrasi  $H_2SO_4$  sebesar 13% dan 10 ml enzim pada proses SSF yaitu 0,93 gr/ml. Apabila densitas yang dihasilkan bioetanol rendah maka kandungan air di dalam bioetanol tersebut juga rendah. Hal ini dipengaruhi oleh konsentrasi glukosa yang terdapat pada masing – masing sampel, Sehingga pada konsentrasi  $H_2SO_4$  13% dengan enzim 10 ml mengandung lebih banyak etanol daripada air. Pada konsentrasi tersebut, kondisi lingkungan ragi yang asam sudah cukup optimal sehingga ragi dapat melakukan fermentasi dengan sempurna, dan seluruh glukosa telah difermentasi oleh ragi dengan sangat baik.

**Tabel 1.** Data Densitas (gr/ml)

$H_2SO_4$ (%)	Enzim (mL)			
	2,5	5	7,5	10
5	0,99497	0,99121	0,98894	0,98719
7	0,99449	0,98908	0,98478	0,98048
10	0,97725	0,97219	0,97163	0,96719
13	0,94115	0,93721	0,94664	0,92974
15	0,95541	0,93910	0,94491	0,97764

Selain itu, konsentrasi enzim juga berpengaruh terhadap konsentrasi bioetanol yang dihasilkan. Apabila semakin tinggi konsentrasi enzim, maka konsentrasi bioetanol yang dihasilkan juga tinggi. Hal inilah yang menyebabkan sebagian besar produk hidrolisis enzim menghasilkan glukosa lebih banyak dibandingkan produk hidrolisis asam, sehingga kadar bioetanol yang dihasilkan juga akan semakin tinggi jika glukosa yang dihasilkan banyak. Dari densitas yang didapatkan dengan menggunakan tabel densitas etanol, maka didapatkan kadar bioetanol masing-masing sampel seperti pada gambar 6.



**Gambar 6.** Pengaruh Larutan  $H_2SO_4$  dan Volume Enzim pada Proses SSF Terhadap Konsentrasi Bioetanol

Terlihat pada gambar 6, kadar bioetanol cenderung meningkat dengan meningkatnya jumlah volume enzim yang digunakan. Kadar bioetanol tertinggi dihasilkan dari sampel dengan perlakuan delignifikasi menggunakan  $H_2SO_4$  sebesar 13% dan enzim selulase sebanyak 10 mL pada proses SSF, yaitu 42,63%. Jumlah enzim selulase sebanyak 10 mL pada proses SSF merupakan jumlah yang optimum untuk digunakan. Namun pada sampel dengan delignifikasi  $H_2SO_4$  sebesar 15% dan enzim selulase sebanyak 10 mL pada proses SSF mengalami penurunan kadar bioetanol. Hal ini terjadi dikarenakan zat nutrisi yang ada di dalam medium sudah sangat berkurang karena dipakai oleh mikroorganisme untuk pertumbuhannya, serta hasil metabolisme yang mungkin sifatnya beracun atau dapat menghambat pertumbuhan jasad-jasad renik.

Berdasarkan standar SNI (7390:2021) densitas bioetanol sebesar 0,798 gr/mL (Bahri et al., 2019), sedangkan dari hasil penelitian didapatkan data densitas berada pada range 0,92-0,99 gr/mL. adanya perbedaan nilai densitas sampel yang cukup jauh dari nilai densitas standar SNI dikarenakan kadar bioetanol yang dihasilkan masih dibawah 50%.

**Tabel 2.** Bioetanol yang dihasilkan dari beberapa limbah pertanian

Biomassa	Deskripsi Proses	Kadar Bioetanol
Tandan kosong kelapa sawit (Dahnum et al., 2015)	<i>Pretreatment</i> 10% NaOH dan SSF	6,05%
Tandan kosong kelapa sawit ( et al., 2015)	<i>Pretreatment</i> 1% NaOH, enzimatik hidrolisis dan fermentasi	19,3-20,6%
Tongkol Jagung (Yu et al., 2017)	<i>Pretreatment</i> , hidrolisis dan fermentasi	42,46 g/L
Jerami gandum (Chen et al., 2021)	<i>Pretreatment</i> menggunakan air subkritis, hidrolisis dan fermentasi	37,0 g/L
Jerami Gandum (Zhang et al., 2013)	<i>Pretreatment</i> NaOH dan SSF	37,84 g/L
Ampas tebu (Terán Hilares et al., 2018)	<i>Alkaline Pretreatment</i> , enzimatik hidrolisis dan fermentasi	31,5 g/L
Ampas tebu (Nosratpour et al., 2018)	<i>Pretreatment</i> menggunakan Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , hidrolisa dan fermentasi	7,27 g/L

Kadar bioetanol yang didapat dari hasil penelitian sebesar 42,63% sudah sangat baik jika dibandingkan dengan beberapa penelitian dengan bahan baku limbah pertanian lainnya seperti tampak pada Tabel 2. Sehingga sabut kelapa memiliki potensi besar untuk dijadikan bahan baku bioetanol,

#### 4. KESIMPULAN

Kesimpulan yang didapat dari hasil penelitian ini adalah semakin tinggi konsentrasi larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pada proses delignifikasi maka semakin banyak juga lignin yang terdegradasi serta selulosa yang

terbentuk. Hasil terbaik yang didapat pada konsentrasi H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 13% yaitu kandungan lignin sebesar 18,78%. Selain itu, semakin tinggi konsentrasi enzim maka semakin tinggi konsentrasi bioetanol yang dihasilkan. Hasil terbaik yang didapat pada konsentrasi H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 13% dan enzim 10 ml pada proses SSF yaitu sebesar 42,63%. Dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa proses SSF berhasil dengan sangat baik dalam memproduksi bioetanol.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Sriwijaya yang telah memberikan bantuan dana untuk mendukung terealisasinya penelitian dan karya tulis ini.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Asip, F., Wibowo, Y. P., & Wahyudi, R. T. (2016). *Konsentrasi HCl Pada Hidrolisa Sabut Kelapa Untuk Memproduksi Bioetanol*. 22(1), 10–20.
- Bahri, S., Aji, A., & Yani, F. (2019). Pembuatan Bioetanol dari Kulit Pisang Kepok dengan Cara Fermentasi menggunakan Ragi Roti. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*, 7(2), 85. <https://doi.org/10.29103/jtku.v7i2.1252>
- Bolivar-Telleria, M., Turbay, C., Favarato, L., Carneiro, T., De Biasi, R. S., Fernandes, A. A. R., Santos, A. M. C., Fernandes, P. M. B., & Lei, Z. (2018). Second-Generation Bioethanol from Coconut Husk. *BioMed Research International*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/4916497>
- Chen, J., Wang, X., Zhang, B., Yang, Y., Song, Y., Zhang, F., Liu, B., Zhou, Y., Yi, Y., Shan, Y., & Lü, X. (2021). Integrating Enzymatic Hydrolysis into Subcritical Water Pretreatment Optimization for Bioethanol Production from Wheat straw. *Science of the Total Environment*, 770(22), 145321. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145321>
- Chooklin, S., Ninup-Patham, P., & Choojit, S. (2020). Potential utilization of low quality sweet potato for bioethanol production by *Saccharomyces cerevisiae* TISTR5339. *Walailak Journal of Science and Technology*, 17(9), 933–946. <https://doi.org/10.48048/wjst.2020.5685>
- da Costa Nogueira, C., de Araújo Padilha, C. E., de Sá Leitão, A. L., Rocha, P. M., de Macedo, G. R., & dos Santos, E. S. (2018). Enhancing Enzymatic Hydrolysis of Green Coconut Fiber—Pretreatment Assisted by Tween 80 and Water Effect on The Post-Washing. *Industrial Crops and Products*, 112(December 2017), 734–740. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.12.047>

- Dahnum, D., Tasum, S. O., Triwahyuni, E., Nurdin, M., & Abimanyu, H. (2015). Comparison of SHF and SSF Processes Using Enzyme and Dry Yeast for Optimization of Bioethanol Production from Empty Fruit Bunch. *Energy Procedia*, 68, 107–116. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2015.03.238>
- Direktorat Jenderal Perkebunan. (2021). Statistik Perkebunan Unggulan Nasional. In *Sekretariat Dirjend Perkebunan Kementerian Pertanian (I)*. Sekretariat Direktorat Jendral Perkebunan, Direktorat Jenderal Perkebunan Kementerian Pertanian Republik Indonesia. [https://drive.google.com/file/d/1ZpXeZogAQYfCINBOgVLhYi8X\\_vujJdHx/view](https://drive.google.com/file/d/1ZpXeZogAQYfCINBOgVLhYi8X_vujJdHx/view)
- Gupta, K., & Chundawat, T. S. (2020). Zinc Oxide Nanoparticles Synthesized Using Fusarium Oxysporum to Enhance Bioethanol Production From Rice-Straw. *Biomass and Bioenergy*, 143(July), 105840. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2020.105840>
- Hung, H. C., Adeni, D. S. A., Johnny, Q., & Vincent, M. (2018). Production of bioethanol from sago hampas via Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF). *Nusantara Bioscience*, 10(4), 240–245. <https://doi.org/10.13057/nusbiosci/n100407>
- Irvan, Ayu Wandira Putri, Sri Ulina Surbakti, & Bambang Trisakti. (2016). Pengaruh Konsentrasi Ragi dan Waktu Fermentasi Pada Pembuatan Bioetanol dari Biji Cempedak (*Artocarpus champeden spreng*). *Jurnal Teknik Kimia USU*, 5(2), 21–26. <https://doi.org/10.32734/jtk.v5i2.1530>
- Jannah, A. M., & Asip, F. (2015). Bioethanol production from coconut fiber using alkaline pretreatment and acid hydrolysis method. *International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology*, 5(5), 320–322. <https://doi.org/10.18517/ijaseit.5.5.570>
- Jannah, A. M., & Aziz, T. (2017). *Pemanfaatan Sabut Kelapa Menjadi Bioetanol dengan Proses Delignifikasi Acid-Pretreatment*. 23(4), 245–251.
- Jiang, D., Hao, M., Fu, J., Liu, K., & Yan, X. (2019). Potential Bioethanol Production from Sweet Sorghum on Marginal Land in China. *Journal of Cleaner Production*, 220, 225–234. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.01.294>
- Kalsum, U., & Juniar, H. (2018). Pembuatan Bioetanol Dari Pati Ubi Dengan Proses Hidrolisis Asam. *Jurnal Distilasi*, 2(2), 47. <https://doi.org/10.32502/jd.v2i2.1203>
- Kanani, N., Wardono, E. Y., Hafidz, A. M., & Octavani, H. R. (2018). Pengaruh Konsentrasi Pelarut Terhadap Proses Delignifikasi Dengan Metode Pre-Treatment Kimia. *Teknika: Jurnal Sains Dan Teknologi*, 14(1), 87. <https://doi.org/10.36055/tjst.v14i1.5863>
- Klasson, K. T., & Boone, S. A. (2021). Bioethanol Fermentation of Clarified Sweet Sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) Syrups Sealed and Stored under Vegetable Oil. *Industrial Crops and Products*, 163(January), 113330. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113330>
- Nosratpour, M. J., Karimi, K., & Sadeghi, M. (2018). Improvement of Ethanol and Biogas Production from Sugarcane Bagasse Using Sodium Alkaline Pretreatments. *Journal of Environmental Management*, 226(March), 329–339. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.08.058>
- Nurwahdah, Naini, A. A., Nadia, A., Lestari, R. Y., & Sunardi. (2015). Pretreatment Lignoselulosa dari Jerami Padi dengan Deep Eutectic Solvent untuk Meningkatkan Produksi Bioetanol Generasi Dua. *Jurnal Riset Industri Hasil Hutan*, 10(1), 43–54.
- Paulová, L., Patáková, P., Rychtera, M., & Melzoch, K. (2014). High solid fed-batch SSF with delayed inoculation for improved production of bioethanol from wheat straw. *Fuel*, 122, 294–300. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2014.01.020>
- Permatasari, H., Gulo, F., & Lesmini, B. (2014). Pengaruh Konsentrasi H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> DAN NaOH Terhadap Delignifikasi Serbuk Bambu (*GIGANTOCHLOA APUS*). *Jurnal Penelitian Pendidikan Kimia: Kajian Hasil Penelitian Pendidikan Kimia*, 1(2), 131–140. <https://doi.org/10.36706/jppk.v1i2.1891>
- Purwoko, T., Sari, S. L. A., Mahadjoeno, E., & Sunarto. (2017). Bioethanol Production From Rice and Corn Husks After Enzymatic and Microbes Hydrolysis and Yeast Fermentation. *Bioteknologi*, 14(1), 19–23. <https://doi.org/10.13057/biotek/c140105>
- Restiawaty, E., Gani, K. P., Dewi, A., Arina, L. A., Kurniawati, K. I., Budhi, Y. W., & Akhmaloka. (2020). Bioethanol Production from Sugarcane Bagasse Using *Neurospora Intermedia* in an Airlift Bioreactor. *International Journal of Renewable Energy Development*, 9(2), 247–253. <https://doi.org/10.14710/ijred.9.2.247-253>
- Richana, N., Winarti, C., Hidayat, T., & Prastowo, B. (2015). Hydrolysis of Empty Fruit Bunches of Palm Oil (*Elaeis Guineensis* Jacq.) by Chemical, Physical, and Enzymatic Methods for Bioethanol Production. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, 6(6), 422–426. <https://doi.org/10.7763/ijcea.2015.v6.522>
- Rijal, M. (2020). Bioethanol from Sago Waste Fermented by Baker's and Tapai Yeast as a Renewable Energy Source. *International*



- Journal of Scientific and Technology Research*, 9(3), 4918–4924.
- Rizzolo, J. A., Woiciechowski, A. L., Júnior, A. I. M., Torres, L. A. Z., & Soccol, C. R. (2021). The potential of sweet potato biorefinery and development of alternative uses. *SN Applied Sciences*, 3(3), 1–9. <https://doi.org/10.1007/s42452-021-04369-y>
- Suhartini, S., Rohma, N. A., Mardawati, E., Kasbawati, Hidayat, N., & Melville, L. (2022). Biorefining of Oil Palm Empty Fruit Bunches for Bioethanol and Xylitol Production in Indonesia: A Review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 154(December 2020), 111817. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.111817>
- Taufikurahman, T., & Delimanto, W. O. (2020). A Comparison of Alkali and Biological Pretreatment Methods in Napier Grass (*Pennisetum purpureum* Scumach.) for Reducing Lignin Content in the Bioethanol Production Process. *3BIO: Journal of Biological Science, Technology and Management*, 2(1), 31. <https://doi.org/10.5614/3bio.2020.2.1.5>
- Terán Hilaes, R., Kamoei, D. V., Ahmed, M. A., da Silva, S. S., Han, J. I., & Santos, J. C. dos. (2018). A New Approach for Bioethanol Production from Sugarcane Bagasse Using Hydrodynamic Cavitation Assisted-Pretreatment and Column Reactors. *Ultrasonics Sonochemistry*, 43(January), 219–226. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.01.016>
- Tolulope Eunice, K. (2021). Enzymatic and Dilute Acid Hydrolyses of Maize Stalk Substrate in Bio-ethanol Production. *Journal of Energy, Environmental & Chemical Engineering*, 6(1), 24. <https://doi.org/10.11648/j.jeece.20210601.14>
- Vitus, J., & Otaraku, I. J. (2020). *Bioethanol Production from Sweet Potatoes*. 11(3), 1045–1050.
- Widayanti., S. N., Mappiratu., & Hardi, J. (2016). Optimalisasi penerapan bioteknologi dalam produksi bioetanol dari sagu (*Metroxylon* sp.). *Online Journal of Natural Science*, 5(1), 41–48.
- Xing, W., X, G., Dong, J., Han, R., & Ni, Y. (2018). Novel Dihydrogen-bonding Deep Eutectic Solvents: Pretreatment of Rice Straw for Butanol Fermentation Featuring Enzyme Recycling and High Solvent Yield. *Chemical Engineering Journal*, 333(June 2017), 712–720. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.09.176>
- Yu, H., Guo, J., Chen, Y., Fu, G., Li, B., Guo, X., & Xiao, D. (2017). Efficient Utilization of Hemicellulose and Cellulose in Alkali Liquor-Pretreated Corncob for Bioethanol Production at High Solid Loading by *Spathaspora passalidarum* U1-58. *Bioresource Technology*, 232, 168–175. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.01.077>
- Zhang, W., Lin, Y., Zhang, Q., Wang, X., Wu, D., & Kong, H. (2013). Optimisation of Simultaneous Saccharification and Fermentation of Wheat Straw for Ethanol Production. *Fuel*, 112, 331–337. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2013.05.064>