

# PENGARUH KONSENTRASI NATRIUM HIDROKSIDA SAAT PRETREATMENT DAN WAKTU FERMENTASI TERHADAP KADAR BIOETANOL DARI DAUN NANAS

Novia<sup>(\*)</sup>, Khairunnas, Gigih Tejo Purboyo

<sup>(\*)</sup> Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Sriwijaya

Jl. Raya Palembang - Prabumulih Km. 32 Indralaya, OI, Sumatera Selatan 30662

Email: noviasumardi@yahoo.com

## Abstrak

Peningkatan konsumsi BBM (Bahan Bakar Minyak) di Indonesia menyebabkan defisit dan harus dilakukan impor untuk memenuhinya. Data Kementerian Energi dan Sumber Daya Mineral (ESDM) menyebutkan pada tahun 2012 konsumsi BBM Indonesia sebesar 1,25 juta barrel per hari, sementara produksinya hanya sebesar 875 ribu barrel. Berdasarkan hal tersebut untuk mengurangi impor BBM, pemerintah menghimbau agar memanfaatkan Bahan Bakar Nabati (BBN). Salah satu jenis BBN adalah bioetanol. Pembuatan bioetanol generasi pertama kurang efektif karena bahan bakunya juga berfungsi sebagai bahan pangan. Bioetanol generasi kedua dibuat dari bahan lignoselulosa, seperti daun nanas. Daun nanas merupakan limbah dari hasil perkebunan nanas dan jumlahnya melimpah. Oleh karena itu, penelitian ini memanfaatkan daun nanas sebagai bahan baku pembuatan bioetanol. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh konsentrasi NaOH terhadap kadar lignin dan glukosa serta pengaruh waktu fermentasi terhadap kadar bioetanol dari daun nanas. Pada persiapan bahan baku, daun nanas dijemur, dicacah dan dihaluskan. Pretreatment dilakukan dengan delignifikasi serbuk daun nanas menggunakan NaOH (variasi konsentrasi 0,2 N ; 0,4 N ; 0,6 N ; dan 0,8 N). selanjutnya, tahap hidrolisis menggunakan larutan Asam sulfat 2% (v/v). langkah terakhir yaitu fermentasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* dengan variasi waktu fermentasi 1, 2, 3, 4 dan 5 hari. Bioetanol yang dihasilkan dari fermentasi dimurnikan dengan destilasi. Hasil penelitian menunjukkan semakin besar konsentrasi NaOH semakin kecil kadar lignin dan semakin besar kadar glukosa. Perlakuan delignifikasi 0,8 N NaOH dan waktu fermentasi 3 hari menghasilkan bioetanol dengan kemurnian tertinggi yaitu 3,213 % (v/v).

**Kata kunci :** Daun nanas, delignifikasi, fermentasi, konsentrasi, lignin

## Abstract

*Increased consumption of fuel oil in Indonesia causes deficit and should be imported to meet them. Data from the Ministry of Energy and Mineral Resources (ESDM) in 2012 mentions Indonesia's fuel consumption by 1.25 million barrels per day, while production only amounted to 875 thousand barrels. Under these conditions to reduce fuel imports, the government called for utilizing Biofuel (BBN). One type of biofuel is bioethanol. The first-generation bioethanol production is less effective because the raw material also serves as food ingredient. The second generation is made from lignocellulosic materials, such as pineapple leaves. pineapple leaves is the waste from the pineapple plantations and abundant. Therefore, this study utilizes pineapple leaves as raw material for bioethanol production. The purpose of this study was the effect of the concentration of NaOH against lignin and glucose levels as well as the effect of time on the level of bioethanol fermentation raw pineapple leaves. In preparation of raw materials, dried pineapple leaves, chopped and mashed. Pretreatment is done by delignification pineapple leaf powder using NaOH with variation concentration (0.2 N; 0.4 N; 0.6; and 0.8 N). Then, phase hydrolysis used a solution of sulfuric acid with concentration 2% (v / v). Last step, fermentation using *Saccharomyces cerevisiae* with variation of fermentation time such as 1, 2, 3, 4 and 5 days. Bioethanol fermented purified by distillation. The results showed the greater concentration of NaOH smaller lignin content and greater levels of glucose. Delignification 0.8 N NaOH treatment and fermentation time of 3 days to produce bioethanol with the highest purity that is 3.213% (v / v).*

**Keyword :** Pineapple leaves, delignification, fermentations, concentrations, lignin

## 1. PENDAHULUAN

Pertumbuhan populasi dan ekonomi Indonesia yang pesat mengakibatkan meningkatnya konsumsi energi. Kondisi ini menuntut penyediaan energi untuk kelangsungan hidup. Salah satu energi yang

paling banyak dikonsumsi adalah Bahan Bakar Minyak (BBM). Menurut data Kementerian Energi dan Sumber Daya Mineral pada tahun 2012 konsumsi BBM Indonesia sebesar 1,25 juta barrel per hari, sementara produksinya

sebesar 875 ribu barrel. Kondisi ini mengakibatkan defisit BBM dan dilakukan impor untuk memenuhinya. Berdasarkan hal tersebut untuk mengurangi impor BBM, pemerintah membuat Peraturan Menteri Energi dan Sumber Daya Mineral nomor 20 tahun 2014 mengenai perubahan kedua atas Peraturan Menteri Energi dan Sumber Daya Mineral nomor 32 tahun 2008 tentang penyediaan, pemanfaatan, dan tata niaga Bahan Bakar Nabati (*Bioefuel*) sebagai bahan bakar lain. Peraturan menteri ini berisi tentang peningkatan pemanfaatan Bahan Bakar Nabati (BBN) sebagai energi alternatif BBM. Salah satu BBN tersebut adalah bioetanol.

Bioetanol dapat dibuat dari bahan yang mengandung gula dan pati, seperti : molase, tebu dan lain-lain (generasi pertama). Pemanfaatan bahan baku tersebut kurang efektif karena berfungsi juga sebagai bahan pangan. Oleh karena itu diperlukan alternatif bahan baku untuk mengatasi kondisi tersebut, dimana dalam pembuatannya tidak mengganggu stabilitas bahan pangan. Bioetanol generasi kedua dibuat dari bahan-bahan yang mengandung selulosa dan tidak termasuk bahan pangan, seperti jerami padi, daun nenas, dan lain – lain. Daun nenas merupakan salah satu limbah perkebunan buah nenas. Setiap tahun perkebunan buah nenas menghasilkan limbah daun nenas sebanyak 9 ton per hektare (Kementerian Perindustrian, 2004 dalam Rahman, 2014). Daun nenas berpotensi untuk dijadikan bahan baku bioetanol generasi kedua karena ketersediaan bahan baku dan tidak termasuk bahan pangan.

Penelitian mendalam perlu dilakukan untuk menghasilkan produk yang mampu memenuhi kebutuhan bioetanol di masa depan. Oleh karena itu, penelitian ini memanfaatkan daun nenas sebagai bahan baku bioetanol generasi kedua.

### Daun Nanas

Daun nenas merupakan daun yang dihasilkan dari perkebunan tanaman nenas. Tanaman nenas memiliki nama latin *Ananas Cosmosus* dan masuk dalam keluarga Bromeliaceae. Tanaman ini menghasilkan buah dalam jangka waktu musiman dan diganti tanaman baru setelah dua atau tiga kali panen. Terdapat lebih dari 50 varietas tanaman nenas di dunia.

Daun nenas berwarna hijau dan sedikit hitam. Helaian daun berbentuk pedang, tebal, panjang 80-120 cm, lebar 2-6 cm, ujung lancip menyerupai duri, tepi berduri tempel yang bengkok ke atas, sisi bawah bersisik putih,

berwarna hijau atau hijau kemerahan, bunga majemuk (Sugeng, 2010 dalam Rahman, 2014). Populasi tanaman berkisar antara 4.000 – 5.000 tanaman per ha. Biasanya bibit ditanam dengan jarak tanam antara 75 – 90 cm (Fath, 2009 dalam Rahman, 2014). Pada penanamannya, sinar matahari yang tidak banyak akan menghasilkan serat yang kuat, halus, dan mirip sutera (*strong, fine, and silky fibre*) (Doraiswamy et al., 1993 dalam Hidayat, 2008).

### Komposisi Kimia Daun Nanas

Beberapa tumbuhan yang menghasilkan serat alam memiliki kandungan kimia berupa selulosa. Selain selulosa kandungan zat kimia lain yang terdapat pada serat alam tersebut adalah lemak dan *waxs, hemicellulose, lignin, pectin* dan pigmen pewarna serat. Pada umumnya komposisi yang terkandung dalam zat-zat tersebut bervariasi. Tabel 1 menunjukkan kandungan beberapa bahan yang mengandung selulosa dan lignin.

**Tabel 1.** Komposisi Kimia Bahan Baku Lignoselulosa Selain Daun Nanas

| Jenis Limbah                  | Selulosa (%) | Lignin (%) |
|-------------------------------|--------------|------------|
| Bagas molase                  | 33           | 29         |
| Jerami gandum                 | 30           | 18         |
| Jerami sorgum                 | 33           | 15         |
| Jerami oat                    | 41           | 11         |
| Jerami padi                   | 32           | 13         |
| Bonggol Jagung                | 42           | 14         |
| Batang Jagung                 | 35           | 19         |
| Sekam padi                    | 36           | 19         |
| Serbuk gergaji                | 55           | 21         |
| Cemara                        | 44           | 29         |
| Cangkang kacang yang digiling | 38           | 16         |

Sumber : Chandel et al., 2007 dalam Anindyawati, 2009

**Tabel 2.** Komposisi Kering Daun Nanas

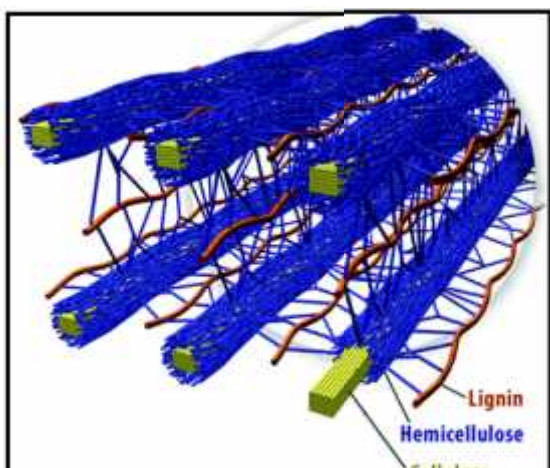
| Komposisi Kimia                             | Serat Nanas (%) |
|---------------------------------------------|-----------------|
| Lignin                                      | 4,4 – 4,7       |
| Pentosan                                    | 17,0 – 17,8     |
| Selulosa                                    | 69,5 – 71,5     |
| Lemak dan Wax                               | 3,0 – 3,3       |
| Pektin                                      | 1,0 – 1,2       |
| Abu                                         | 0,71 – 0,87     |
| Zat – zat lain (protein, asam organik, dll) | 4,5 – 5,3       |

Sumber : Onggo dan Jovita, 2003 dalam Jayanudin, 2009

Berdasarkan tabel diatas, semakin banyak kandungan selulosa suatu bahan baku, maka semakin banyak bioetanol yang bisa dihasilkan.

### Lignoselulosa

Lignoselulosa merupakan massa yang berasal dari tanaman yang memiliki komponen utama berupa lignin, selulosa, dan hemiselulosa (Fujita dkk, 1991 dalam Wiratmaja, 2011). Struktur lignoselulosa dideskripsikan dengan selulosa melekat pada ikatan silang matriks bagian hemiselulosa dan keduanya dilapisi oleh lignin (Hovart, 2006 dalam Yuanisa 2015).



**Gambar 1.** Sketsa Susunan Komponen Lignoselulosa (sumber: <http://pubs.rsc.org/>)

Menurut Anindyawati (2009), ketiga komponen tersebut merupakan sumber penting untuk menghasilkan produk seperti gula fermentasi, bahan kimia dan bahan bakar cair. Lignoselulosa dapat berasal dari jerami, bahan kayu, limbah industri, limbah pertanian, rumput-rumputan dan bahan berserat lainnya.

### Selulosa

Selulosa adalah komponen utama penyusun bahan lignoselulosa yang berupa mikrofibril homopolisakarida dan tersusun atas unit  $\beta$ -D-glukopiranososa yang dihubungkan oleh ikatan glikosidik. Selulosa memiliki rumus empiris  $(C_6H_{10}O_5)_n$ , dimana n adalah nilai derajat polimerisasi selulosa (antara 15-1400). Selulosa memiliki sifat relatif stabil terhadap panas (mulai terdekomposisi pada suhu 260-270 °C), tidak meleleh selama pemanasan, kuat, padat, stabil terhadap oksidasi, tidak larut dalam air, alkohol, eter dan tidak dapat dicerna oleh tubuh manusia. Selulosa termasuk bahan organik yang melimpah dan mudah ditemukan dalam.

Bahan utama pembuatan bioetanol generasi kedua adalah selulosa. Kadar selulosa

yang tinggi menunjukkan bahwa kayu tersebut mempunyai potensi untuk diolah lebih lanjut menjadi bioetanol. Adanya perlakuan pendahuluan (*pretreatment*), hidrolisis dan fermentasi serta kadar lignin yang sama, kayu dengan kandungan selulosa lebih tinggi akan memberikan massa gula  $C_6$  (gula dengan 6 atom karbon) yang lebih tinggi dibandingkan kayu dengan kadar selulosa yang lebih rendah. Kadar selulosa yang lebih rendah juga dapat menggambarkan besarnya kandungan senyawa lain yang dapat menghambat proses depolimerisasi dan dekrystalisasi selulosa. Hal ini dapat mengakibatkan asam/enzim yang digunakan dalam proses hidrolisis akan kesulitan dalam mengakses selulosa dan mengubah selulosa menjadi glukosa serta mempercepat reaksi dalam proses fermentasi menjadi lebih rendah.

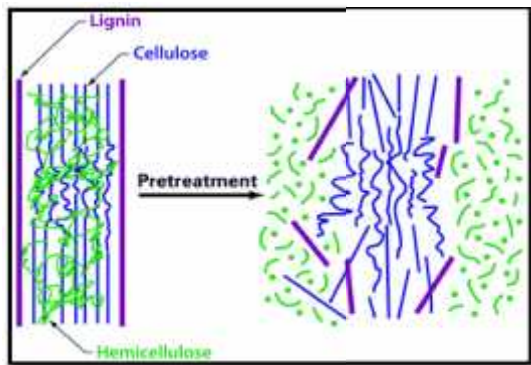
### Lignin

Lignin merupakan bahan organik polimer yang banyak terkandung pada tumbuhan. Lignin tersusun atas jaringan polimer fenolik. Jaringan tersebut berfungsi sebagai perekat serat selulosa dan hemiselulosa sehingga menjadi kuat (Cheng, 2002 dalam Wiratmaja, 2011).

Lignin tersusun atas fenilpropana yang berbeda, yaitu *p-kumaril*, *koniferil*, dan *sinapil alkohol*. Unit-unit fenil propana saling terikat oleh ikatan eter (C-O-C) maupun ikatan karbon. Adanya ikatan aril-alkil dan ikatan eter pada lignin mengakibatkan senyawa ini lebih tahan terhadap hidrolisis/degradasi asam tetapi tidak tahan terhadap alkali. Hal ini menyebabkan lignin dapat melindungi selulosa dan senyawa karbohidrat lain pada dinding serat. Lignin tidak dapat diisolasi dari tanaman tanpa mendegradasikan strukturnya. Hal tersebut karena jaringannya berupa ikatan kimia yang sangat kuat dari polimer berberatmolekul tinggi. Lignin mengalami perubahan struktur kimia ketika berada pada kondisi asam dan suhu tinggi, sehingga akan terpecah menjadi partikel yang lebih kecil dan terlepas dari selulosanya (Taherzadeh *et al.*, 2008).

### Proses Perlakuan Awal ( *Pretreatment* )

Pada pembuatan bioetanol berbahan baku lignoselulosa, kandungan lignin menjadi penghambat utama dalam konversi bioetanol. Selulosa dilapisi oleh lignin sehingga sulit untuk dihidrolisis menjadi glukosa. Oleh karena itu, diperlukan perlakuan awal (*pretreatment*) terhadap bahan baku lignoselulosa.



**Gambar 2.** Pretreatment Lignoselulosa  
(sumber: <http://pubs.rsc.org/>)

*Pretreatment* bertujuan untuk memisahkan ikatan antara lignin dan selulosa (delignifikasi), menghilangkan kandungan hemiselulosa dan lignin, merusak struktur kristal selulosa dan meningkatkan porositas bahan. Adanya kerusakan struktur kristal tersebut mengakibatkan selulosa mudah terurai menjadi glukosa. Selanjutnya senyawa gula tersebut akan difermentasi oleh *mikroorganisme* menjadi etanol (Prawitwong *et al.* 2012).

**Tabel 3. Metode Pretreatment**

| Metode                    | Contoh                                                                            |
|---------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Autohydrolysis</i>     | <i>Carbondioxide explosion dansuper critical</i>                                  |
| Mekanik Panas             | Penggungtingan, penggilingan, penggerusan dan <i>extruder</i>                     |
| Perlakuan Asam            | Penggunaan Asam sulfat dan Asam klorida pekat, Asam sulfat dan Asam klorida encer |
| Perlakuan Alkali          | Penggunaan Ammonia, Natrium hidroksida, alkali Hidrogen peroksida                 |
| Perlakuan Larutan Organik | Penggunaan Butanol, etanol, metanol dan <i>phenol</i>                             |

Sumber : Sun and Cheng, 2002

### Delignifikasi Menggunakan NaOH

Natrium hidroksida (NaOH) atau sodium hidroksida adalah sejenis basa logam kaustik yang berasal dari oksida basa Natrium oksida yang mengandung air. Natrium hidroksida telah dipelajari secara intensif selama beberapa tahun dan menunjukkan gangguan terhadap struktur lignin biomassa (Zhao *et al.*, 2008 dalam Latika *et al.*, 2012). Sebagian besar senyawa yang digunakan untuk *alkaline pretreatment* (delignifikasi alkalin) adalah NaOH dan  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ . Ion  $\text{OH}^-$  dari NaOH akan memutuskan ikatan-ikatan dari struktur dasar lignin sedangkan ion  $\text{Na}^+$  akan berikatan dengan lignin

membentuk natrium fenolat. Garam fenolat ini bersifat mudah larut. Lignin yang terlarut ditandai dengan warna hitam pada larutan yang disebut lindi hitam (*blackliquor*). Berdasarkan hal tersebut, larutan NaOH mampu memisahkan lignin dari selulosa. (Enari, 1983, Marsden dan Grey, 1986, Gunam dan Antara 1999 dalam Fitiani 2013).

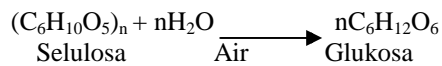
Delignifikasi bahan lignoselulosa menggunakan NaOH diteliti oleh Kristina dkk (2012) melakukan proses delignifikasi terhadap tandan kosong kelapa sawit menggunakan NaOH 1% ; 1,5 % ; 2 % ; 2,5 % dan 3% pada suhu 121°C. Kadar glukosa paling besar dicapai dengan delignifikasi 3 %. Iqbal (2010) dalam Fitriani (2013) melakukan delignifikasi jerami padi dengan kondisi optimum konsentrasi NaOH 10 % dan suhu 100°C. Pada penelitian Jayanudin dkk. (2010) proses delignifikasi 20 gram serat daun nanas dilakukan dengan variasi konsentrasi NaOH 0,1 ; 0,2 ; dan 0,3 N pada suhu 100°C selama 1 jam.

### Hidrolisis

Hidrolisis merupakan reaksi yang terjadi antara air dengan zat lain dan menghasilkan satu zat baru atau lebih. Reaksi ini juga merupakan dekomposisi larutan oleh air. Proses hidrolisis akan melibatkan peruraian senyawa lain atau pengionan molekul air (Pudjantama, 2002 dalam Retno, 2011).

Menurut Badger (2002), proses hidrolisis bahan lignoselulosa dibagi menjadi 2, yaitu hidrolisis secara kimiawi dan hidrolisis secara enzimatis. Hidrolisis kimiawi salah satunya adalah hidrolisis asam. Pada hidrolisis asam, bahan lignoselulosa dipaparkan dengan asam dengan kondisi suhu, tekanan dan waktu tertentu. Proses hidrolisis akan mengubah polimer selulosa dan hemiselulosa menjadi monomer gula. Asam sulfat ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), Asam klorida (HCl) dan Asam perklorat ( $\text{HClO}_4$ ) adalah beberapa contoh asam yang sering digunakan pada proses hidrolisis. Dari ketiga asam tersebut, asam sulfat yang paling banyak digunakan sebagai bahan hidrolisis asam. (Taherzadeh *et al.*, 2008).

Proses hidrolisis asam pada bahan selulosa dilakukan menggunakan asam encer pada kondisi suhu dan tekanan tinggi, selain itu dapat juga menggunakan asam kuat tetapi dengan kondisi suhu dan tekanan rendah. Hidrolisis yang menggunakan suhu tinggi berlangsung pada suhu 160-240 °C dan hidrolisis suhu rendah berlangsung pada 80-140 °C. Reaksi total hidrolisis selulosa secara asam adalah sebagai berikut

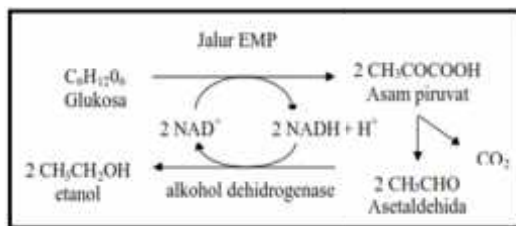


Penelitian hidrolisis sebelumnya telah dilakukan Sukowati (2014) menghidrolisis sampel kulit pisang menggunakan Asam sulfat untuk memproduksi bioetanol. Asam sulfat divariasikan pada konsentrasi 0 ; 0,25 ; 0,05 ; 0,075 dan 1 M dan proses hidrolisis berlangsung pada suhu 121 °C. Kadar gula tertinggi dihasilkan pada konsentrasi asam sulfat 0,05 M.

### Fermentasi

Fermentasi merupakan proses konversi senyawa kompleks (bahan-bahan karbohidrat) menjadi senyawa yang lebih sederhana oleh bantuan mikroba. Menurut Leni Herliani Afrianti (2004) dalam Hasanah (2008) fermentasi berdasarkan kebutuhan  $O_2$ , dapat dibedakan menjadi dua, yaitu fermentasi secara *aerob* dan fermentasi secara *anaerob*. Fermentasi *aerob* (proses respirasi) adalah proses asimilasi bahan-bahan yang disertai dengan pengambilan oksigen. Contoh : fermentasi Asam asetat, Asam nitrat, dan sebagainya. Fermentasi *anaerob* adalah fermentasi yang tidak membutuhkan adanya oksigen. Biasanya dalam fermentasi ini menggunakan mikroba *yeast*, jamur dan bakteri.

Pada proses fermentasi anaerob mula-mula glukosa dipecah menjadi asam piruvat yang melalui lintasan *Embden Meyerhoff Parnas* (EMP). Setelah itu terjadidekarboksilasi dehidra asam piruvat menjadi asetaldehida. Asetaldehida tereduksimenjadi etanol yaitu menerima elektron hasil oksidasi asam gliseraldehida 3-phosphat. Melalui proses fermentasi anaerob ini 90% glukosa akan dirubahmenjadi etanol dan  $CO_2$  (Ansori, R., 1989 dalam Hasanah, 2008).



**Gambar 3.** Tahap Pembentukan Etanol dari Glukosa (Fardiaz, S., 1992 dalam Hasanah, 2008)

Reaksi pada diatas asetaldehida bertindak sebagai penerima hidrogen dalam fermentasi, di mana hasil reduksinya oleh  $NADH_2$  menghasilkan etanol, dan NAD yang teoksidasi kemudian dapat digunakan lagi untuk menangkap hidrogen (Fardiaz, S., 1992 dalam Hasanah, 2008).

Faktor-faktor yang mempengaruhi fermentasi antara lain (Desroir, 1988 dan Prescott, 1959 dalam Fatimah 2013):

a. Subtrat

Pada proses fermentasi secara umum, subtrat yang dapat dijadikan sebagai bahan untuk pembuatan etanol adalah subtrat yang mengandung bahan organik seperti pati dan glukosa (Presscott and Dunn, 1959 dalam Retno 2011).

b. Nutrisi (zat gizi)

Mikroba fermentasi *Saccharomyces cerevisiae* membutuhkan sumber karbon, nitrogen, dan mineral dalam pertumbuhannya. Mineral-mineral tersebut dapat berupa fosfat, kalium dan sulfur.

c. Suhu

Suhu optimum bagi pertumbuhan mikroba dan aktivitasnya adalah 25 – 35 °C . Suhu memegang peranan penting, karena secara langsung dapat mempengaruhi aktivitas mikroba dan secara tidak langsung akan mempengaruhi kadar bioetanol yang dihasilkan.

d. Waktu Fermentasi

Waktu mempengaruhi pertumbuhan mikroba fermentasi jenis *Saccharomyces cerevisiae*. Proses fermentasi yang terlalu cepat akan menyebabkan alkohol yang dihasilkan sedikit karena mikroba dalam masa pertumbuhan, proses fermentasi yang terlalu lama berakibat mikroba akan mati.

e. Keasaman (pH)

Dalam proses fermentasi, mikroba fermentasi *Saccharomyces cerevisiae* akan tumbuh jika berada pada lingkungan pH antara 2,0-8,6. Laju fermentasi gula akan intensif jika berada pada pH 3,5-6,0 (Goebol, 1987 dalam Wiratmaja 2011).

### *Saccharomyces cerevisiae*

*Saccharomyces cerevisiae* mampu memfermentasi glukosa, galaktosa, sukrosa dan rafinosa (Kunkee dan Mardon, 1970 dalam Wiratmaja 2011). *Saccharomyces cerevisiae* merupakan jenis khamir dalam ragi yang dapat mengubah gula menjadi produk lain berupa alkohol (etanol). Mikroba tersebut menghasilkan enzim *invertase* dan *zimase*. Fungsi enzim *invertase* adalah memecah polisakarida dan sukrosa yang belum mengalami proses hidrolisis menjadi glukosa (monosakarida). Melalui proses fermentasi fungsi enzim *zimase* adalah mengkonversi glukosa (monosakarida) menjadi produk alkohol (etanol) (Judoamidjojo, 1990 dalam Zely, 2014).

Fermentasi glukosa yang menghasilkan bioetanol dapat dilakukan oleh mikroba *Saccharomyces cerevisiae* dalam kondisi tertutup Sari(2009).

### Destilasi Bioetanol

Destilasi merupakan pemisahan campuran cairan (saling melarut) berdasarkan perbedaan tekanan uap atau titik didih dari setiap komponen dalam campuran. Distilasi dilakukan menggunakan sumber tenaga berupa panas untuk memisahkan komponen-komponen dalam campuran (Henley dkk., 1981 dalam Hargono, 2013). Etanol yang memiliki kadar kurang dari 10% (v/v) dapat dimurnikan dari campurannya dengan proses distilasi (campuran dipanaskan pada suhu 78°C) (Hargono, 2013).

### Bioetanol

Etanol (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH) atau etil alkohol adalah senyawa golongan alkohol dan merupakan senyawa organik yang terdiri dari unsur oksigen, karbon dan hidrogen. Etanol dapat diproduksi dari bahan baku nabati dengan proses fermentasi atau disebut dengan bioetanol. Bahan baku nabati tersebut dapat berupa glukosa, pati dan serat selulosa (Martin dkk, 1983 dan Hambali dkk, 2007 dalam Fitriani 2009).

**Tabel 4. Sifat Fisik Etanol**

| Sifat-sifat Fisika Etanol | Keterangan               |
|---------------------------|--------------------------|
| Berat Molekul             | 46,07 gr/grmol           |
| Titik Lebur               | -112 °C                  |
| Titik Didih               | 78,4 °C                  |
| Indeks Bias               | 0,7893 gr/ml             |
| Viskositas 20°C           | 1,36143 cP               |
| Panas Penguapan           | 1,17 cP                  |
| Warna Cairan              | Tidak berwarna           |
| Kelarutan                 | Larut dalam air dan eter |
| Aroma                     | Memiliki aroma yang khas |

Sumber : Perry's Chemical Engineers Handbook, McGraw Hill Book Company 7 th Edition, 1999

Fungsi etanol dalam kehidupan umumnya digunakan sebagai bahan anti septik, zat pelarut, bahan baku pembuatan senyawa eter maupun minuman keras. Pada aplikasi penggunaannya etanol cukup aman terhadap manusia dan lingkungan (Sutardi, dkk, 1994 dalam Wiratmaja, 2010).

## 2. METODOLOGI PENELITIAN

### Variabel

Variabel tetap pada penelitian ini yaitu berat sampel dan temperatur proses. Variabel bebas pada penelitian yaitu konsentrasi Natrium hidroksida saat proses delignifikasi (0,2 N; 0,4 N ; 0,6 N; 0,8 N) dan waktu fermentasi (1, 2, 3, 4 dan 5 hari).

### Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan adalah daun nanas, larutan Natrium hidroksida, aquades, larutan Asam sulfat 2% dan fermipan.

### Alat Penelitian

Pisau *cutter*, baskom kecil, blender, beker *glass* 1000 mL, gelas ukur 10 ml, dan 25 ml., erlenmeyer 1000 ml, labu ukur 100 mL, 200 mL, dan 500 mL, labu leher tiga, *hot plate*, termometer, kondensor tabung lurus dan labu didih

### Prosedur Penelitian

#### Persiapan dan Analisis Bahan Baku

Biomassa berupa daun nanas yang diperoleh dari perkebunan nanas Desa Sukajadi Kecamatan Sungai Rotan Kabupaten Muara Enim dilakukan pencucian dengan air sampai bersih. Daun nanas dijemur di bawah sinar matahari hingga warna daun kekuningan. Hal ini dilakukan agar air yang terkandung didalam daun berkurang.

Daun nanas dicacah menggunakan *cutter* dengan jarak pemotongan ± 0,5 cm. Kemudian dijadikan serbuk dengan menggunakan *blender*. Hal ini dilakukan agar luas permukaan reaksi proses menjadi besar. Serbuk daun nanas ditimbang sebanyak 3 gram dan dilakukan analisis lignin dengan metode *Kappa*. Selain itu dilakukan juga metode *Chesson* untuk analisis kandungan selulosa bahan baku daun nanas.

#### Delignifikasi Bahan Baku

50 gram daun nanas yang telah dihaluskan dimasukkan dalam erlenmeyer yang berukuran 1000 ml dan ditambahkan 500 ml larutan NaOH dengan konsentrasi 0,2 N. Perbandingan rasio (w/v) daun nanas : NaOH = 1 : 10. Kemudian campuran ini dipanaskan selama 1 jam pada suhu 100°C. Setelah proses selesai, hasil yang diperoleh disaring dan dicuci dengan *aquades* hingga pH netral (dites dengan kertas lakmus biru). Hal ini dilakukan agar tidak ada larutan NaOH yang tersisa sehingga mengganggu proses hidrolisis. Sebanyak 3 gram daun nanas ditimbang dan dianalisis kadar *lignin* sampel akhir dengan menggunakan metode *Kappa*. Selain itu dilakukan juga metode *Chesson* untuk analisis kandungan

selulosa bahan baku daun nanas setelah delignifikasi. Diulangi pada penambahan 500 ml larutan NaOH dengan variasi konsentrasi 0,4 N; 0,6 N; dan 0,8 N.

#### *Pembuatan Glukosa dengan Proses Hidrolisis*

30 gram serbuk daun nanas yang telah melalui tahap pretreatment dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang berukuran 1000 ml dan dicampurkan dengan 300 mL larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2% dengan perbandingan solid dan liquid 1: 10. Selanjutnya masing – masing erlenmeyer dimasukkan kedalam *autoclaves* selama 90 menit dan temperatur 121°C. Setelah itu masing-masing larutan hasil hidrolisis disaring kembali dan dilakukan pengaturan pH dengan menambahkan larutan NaOH hingga pH larutan hasil hidrolisis menjadi 4. Analisis glukosa hasil hidrolisis menggunakan metode *Luff-Schoorl*.

#### *Pembuatan Bioetanol dengan Proses Fermentasi*

Erlenmeyer yang berukuran 1000 ml disterilisasi dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit agar tidak ada mikroba lain karena kesterilan akan mempengaruhi fermentasi. Larutan hasil hidrolisis dimasukkan ke dalam *autoclave*. Ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*) sebanyak 12.5 gram dan urea sebanyak 1.25 gram dicampur dengan larutan hasil hidrolisis didalam erlenmeyer. Ragi roti berfungsi sebagai agen fermentasi dan urea berfungsi sebagai nutrisi bagi ragi roti. Masing - masing erlenmeyer ditutup rapat dengan aluminium foil agar tidak ada kontaminan yang mengganggu fermentasi. Fermentasi dilakukan pada masing – masing erlenmeyer selama 24 jam. Diulangi dengan waktu fermentasi 48, 72, 96, dan 120 jam.

#### *Pemurnian Bioetanol dengan Proses Destilasi*

1 set peralatan destilasi disiapkan. Lalu dirangkai dan dihidupkan peralatan destilasi dengan baik. Hasil fermentasi yang telah disaring dimasukkan ke dalam labu didih, kemudian labu tersebut dipasang pada alat destilasi dan dilakukan pengaturan temperatur destilasi pada 79-80°C. Proses destilasi dilakukan selama 1-1,5 jam sampai bioetanol tidak menetes lagi. Destilat (bioetanol) yang dihasilkan disimpan di dalam botol yang ditutup rapat. Hasil bioetanol dilakukan pengukuran densitas menggunakan piknometer dan analisis konsentrasi dengan *Gas Chromatograph*.

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

**Tabel 5. Analisis Densitas dan Kadar Bioetanol terhadap Sampel**

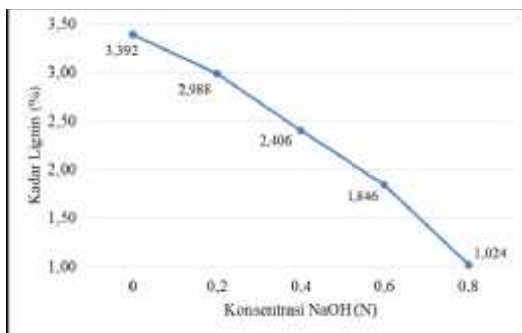
| Konsentrasi NaOH | Waktu Fermentasi | Densitas (gr/ml) | % Kadar Bioetanol (v/v) |
|------------------|------------------|------------------|-------------------------|
| 0,2 N            | 1 hari           | 0,99973          | 0,1837                  |
|                  | 2 hari           | 0,99819          | 1,1833                  |
|                  | 3 hari           | 0,99715          | 1,8886                  |
|                  | 4 hari           | 0,99773          | 1,4833                  |
|                  | 5 hari           | 0,99835          | 1,0896                  |
| 0,4 N            | 1 hari           | 0,99941          | 0,4161                  |
|                  | 2 hari           | 0,99807          | 1,2536                  |
|                  | 3 hari           | 0,99692          | 2,0527                  |
|                  | 4 hari           | 0,99717          | 1,8744                  |
|                  | 5 hari           | 0,99807          | 1,2536                  |
| 0,6 N            | 1 hari           | 0,99846          | 1,0192                  |
|                  | 2 hari           | 0,99710          | 1,9296                  |
|                  | 3 hari           | 0,99645          | 2,3808                  |
|                  | 4 hari           | 0,99672          | 2,1894                  |
|                  | 5 hari           | 0,99790          | 1,3691                  |
| 0,8 N            | 1 hari           | 0,99795          | 1,3281                  |
|                  | 2 hari           | 0,99659          | 2,2851                  |
|                  | 3 hari           | 0,99526          | 3,2129                  |
|                  | 4 hari           | 0,99606          | 2,6543                  |
|                  | 5 hari           | 0,99657          | 2,2988                  |

#### **Pengaruh Konsentrasi NaOH dalam Delignifikasi**

Proses delignifikasi pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan variabel tetap berupa jenis larutan NaOH, suhu 100 °C, dan waktu 1 jam. Variabel bebas yang digunakan berupa konsentrasi larutan NaOH yaitu 0,2 N; 0,4 N; 0,6 N dan 0,8 N. Metode Kappa berdasarkan SNI 0494:2008 dilakukan untuk menganalisis kadar sisa lignin pada sampel.

**Tabel 6. Analisis Komposisi Selulosa dan Lignin Daun Nanas Sebelum dan Sesudah Pretreatment**

| Kondisi Sampel           | Kadar selulosa (% w/w) | Kadar Lignin (% w/w) | Pengurangan Lignin (%) |
|--------------------------|------------------------|----------------------|------------------------|
| Sebelum delignifikasi    | 28,00                  | 3,392                | 0                      |
| Delignifikasi NaOH 0,2 N | 49,04                  | 2,988                | 11,910                 |
| Delignifikasi NaOH 0,4 N | 33,62                  | 2,406                | 29,068                 |
| Delignifikasi NaOH 0,6 N | 59,43                  | 1,846                | 45,578                 |
| Delignifikasi NaOH 0,8 N | 62,71                  | 1,024                | 69,811                 |



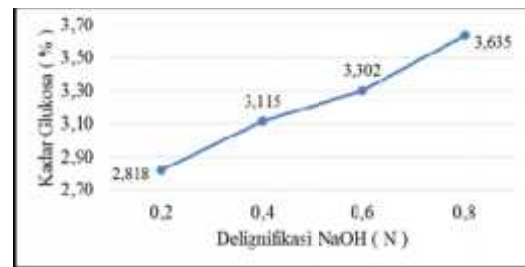
**Gambar 4.** Pengaruh Konsentrasi NaOH terhadap Kadar Lignin

Pada Tabel 6 menunjukkan kadar lignin serbuk daun nanas sebelum dan sesudah delignifikasi. Pada tabel dapat dilihat bahwa kadar lignin semakin rendah dengan meningkatnya konsentrasi NaOH. Hal ini ditunjukkan juga pada gambar 4.1. Kadar lignin paling rendah terjadi pada sampel dengan delignifikasi NaOH 0,8 N yaitu 1,024 % dengan pengurangan sebesar 69,811 %. Hal ini terjadi karena semakin besar konsentrasi NaOH, semakin banyak molekul NaOH yang merusak struktur lignin sehingga pengurangan kadar lignin semakin besar. delignifikasi NaOH 0,8 N yaitu sebesar 62,71 %. Menurut Sahare et al. (2012) dalam Mardina dkk. (2013), selulosa akan lebih reaktif untuk proses selanjutnya apabila kandungan lignin pada proses delignifikasi berkurang sekitar 10% – 15% dari kadar awalnya. Pengurangan kadar lignin yang semakin besar menyebabkan semakin banyak selulosa yang reaktif untuk proses hidrolisis. Pada tabel 6 dapat dilihat bahwa selulosa yang paling banyak ada pada sampel. Perbedaan sebelum dan sesudah delignifikasi juga dapat dilihat dari bentuk fisik serbuk daun nanas. Sebelum delignifikasi, serbuk daun nanas

berwarna coklat sementara sesudah delignifikasi berwarna coklat cerah

#### **Pengaruh Konsentrasi NaOH Delignifikasi Terhadap Proses Hidrolisis**

Proses hidrolisis pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan variabel tetap berupa jenis larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, suhu 121 °C, dan waktu 1,5 jam. Pada tahapan ini tidak terdapat variabel bebas. Metode *Luff-Schoorl* dilakukan untuk menganalisis kadar glukosa pada sampel.



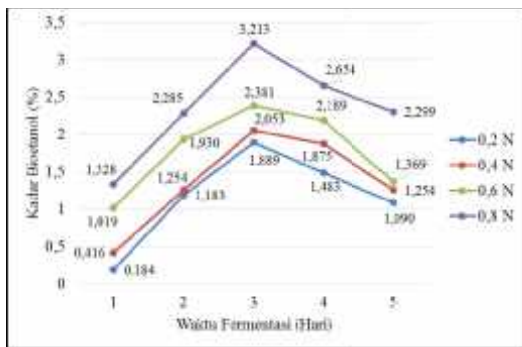
**Gambar 5.** Hasil Analisis Kadar Glukosa terhadap Konsentrasi Delignifikasi NaOH

Gambar 5 menunjukkan konsentrasi delignifikasi NaOH terhadap hasil analisis kadar glukosa. Semakin besar konsentrasi NaOH ketika proses delignifikasi semakin besar pula kadar glukosa yang dihasilkan. Kadar glukosa paling besar terjadi pada sampel dengan delignifikasi NaOH 0,8 N, yaitu 3,635 %. Hal ini terjadi karena pada sampel dengan delignifikasi NaOH 0,8 N terjadinya pengurangan lignin paling besar mengakibatkan kadar lignin yang tersisa pada sampel paling sedikit. Kadar lignin yang semakin sedikit mengakibatkan semakin mudah ion H<sup>+</sup> dari molekul asam sulfat menguraikan selulosa menjadi radikal bebas berupa asam konjugasi. Hal ini menyebabkan semakin banyak asam konjugasi yang terbentuk dan selanjutnya bereaksi dengan molekul OH<sup>-</sup> dari air membentuk glukosa.

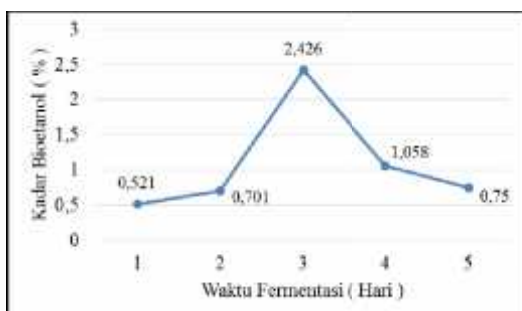
#### **Pengaruh Waktu Fermentasi terhadap Kadar Bioetanol**

Proses fermentasi pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan variabel tetap berupa inokulum *Saccharomyces Cerevisiae* (ragi roti), massa nutrisi inokulum, dan pH 4. Variabel bebas yang digunakan berupa waktu fermentasi selama 1, 2, 3, 4, dan 5 hari. Metode densitas dilakukan untuk menganalisis kadar bioetanol dan metode *Gas Chromatography* dilakukan untuk menganalisis secara akurat 5 sampel optimal menghasilkan bioetanol.



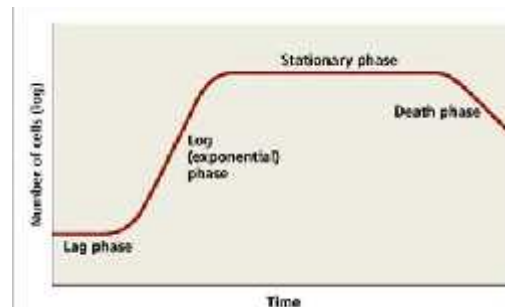


**Gambar 6.** Hasil Analisis *Density* Pengaruh Waktu Fermentasi terhadap Kadar Bioetanol



**Gambar 7.** Hasil Analisis *Gas Chromatography* terhadap 5 sampel Optimal

Gambar 6 menunjukkan waktu fermentasi terhadap hasil analisis kadar bioetanol. Pada Gambar 6, semakin lama waktu fermentasi dari hari pertama sampai ketiga, kadar bioetanol yang dihasilkan semakin besar, namun hari keempat sampai kelima, terjadi penurunan kadar bioetanol. Hal ini menunjukkan waktu optimal fermentasi adalah 3 hari dengan konsentrasi delignifikasi NaOH 0,8 N. Selain itu, pada sampel dengan delignifikasi NaOH 0,8 N menghasilkan glukosa dengan kadar tertinggi sehingga mengakibatkan juga bioetanol yang dihasilkan paling tinggi. Kadar bioetanol yang dihasilkan pada sampel dengan delignifikasi 0,8 N adalah 3,213 %. Berdasarkan hal tersebut, 5 sampel delignifikasi 0,8 N dilakukan pengujian *gas chromatography* untuk dilakukan pengujian kadar bioetanol secara akurat. Hasil analisis *gas chromatography* dapat dilihat pada gambar 7. Pada gambar 7 dapat dilihat kadar bioetanol paling tinggi adalah 2,426 % pada kondisi waktu fermentasi selama 3 hari.



**Gambar 8.** Fasa Pertumbuhan Bakteri (sumber <http://devbio.biology.gatech.edu>)

Lama fermentasi berkaitan dengan pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae*. Pertumbuhan tersebut dibagi menjadi 4 fase (Gambar 8) yaitu : fase pertumbuhan, fase adaptasi/*lag phase* (masa adaptasi dengan lingkungan dan belum tumbuh), fase tumbuh cepat/*log phase* (pertumbuhan yang cepat ditandai dengan pemecahan gula besar-besaran untuk memenuhi kebutuhan pertumbuhan bakteri), fase stasioner (jumlah bakteri hidup sama dengan bakteri mati) dan fase kematian (bakteri mati dalam jumlah banyak).

Waktu fermentasi juga mempengaruhi jumlah gas CO<sub>2</sub> yang dihasilkan. Semakin lama proses fermentasi maka gas CO<sub>2</sub> yang dihasilkan semakin banyak. Peningkatan produksi gas ini menyebabkan penurunan nilai pH. Kondisi ini menyebabkan pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* terganggu sehingga semakin sedikit bioetanol yang dihasilkan. Menurut Roukas (1994) dalam Azizah dkk. (2012), kisaran pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* adalah pada pH 3,5 -6,5.

#### 4. KESIMPULAN

Semakin tinggi konsentrasi NaOH maka kadar lignin bahan baku semakin rendah dimana konsentrasi 0,8 N NaOH menghasilkan sisa kadar lignin terendah, yaitu 1,024 %. Semakin tinggi konsentrasi NaOH, maka konsentrasi glukosa semakin tinggi dimana konsentrasi 0,8 N NaOH menghasilkan glukosa dengan kadar tertinggi, yaitu 3,635 %) Waktu fermentasi berpengaruh terhadap kadar bioetanol yang dihasilkan dimana waktu optimal fermentasi selama 3 hari menghasilkan kadar etanol optimal, yaitu 3,213 % berdasarkan analisis *density* pada kondisi sampel delignifikasi NaOH 0,8 N

---

## DAFTAR PUSTAKA

- Anindyawati, T. 2009. *Prospek Enzim dan Limbah Lignoselulosa untuk Produksi Bioetanol*. BS 1(44) : 49-56.
- Ariyani, E., E. Kusumo, Supartono. 2013. *Produksi Bioetanol dari Jerami Padi (Oryza sativa L)*. Indonesian Journal of Chemical Science. 2(2): 168-172.
- Azizah, dkk. 2002. *Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Kadar Alkohol, pH dan Produksi Gas pada Proses Fermentasi Bioetanol dari Whey dengan Substitusi Kulit Nanas*. Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan. 2(1) : 72-77.
- Badger, P.C. 2002. *Ethanol from cellulose: A general review*. P 17-21 In: J.Janick and A. Whipkey (eds) *Trenin new crop and new uses*. ASHS Press, Alexandria, VA., USA.
- Brandt, A., J. Gräsvik, J. P. Hallet, T. Welton. 2012. *Deconstruction of lignocellulosic Biomass with Ionic Liquids*. Royal Society of Chemistry. [Online]. (<http://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2013/gc/c2gc36364j>) Diakses 11 April 2015.
- Peraturan Menteri Energi dan Sumber Daya Mineral Tentang Perubahan Peraturan Menteri ESDM Nomor 32 Tahun 2008 Tentang Penyediaan, Pemanfaatan, dan Tata Niaga Bahan Bakar Nabati (biofuel) sebagai Bahan Bakar Lain, PERMEN ESDM. No. 20 Tahun 2014
- Direktorat Jenderal Minyak dan Gas Bumi Konsumsi Penjualan BBM. 2015. *Kementerian Energi dan Sumber Daya Mineral*. [Online]. (<http://statistik.migas.esdm.go.id/index.php?r=konsumsiBbm/index/>). Diakses 15 April 2015)
- Direktorat Jenderal Minyak dan Gas Bumi. *Produksi Migas Indonesia*. 2015. *Kementerian Energi dan Sumber Daya Mineral*. [Online]. (<http://statistik.migas.esdm.go.id/index.php?r=rekapProduksiMigasIndonesia/index/>). Diakses 15 April 2015.
- Fatimah, F. Lia, L. Rahmasari. 2013. *Kinetika Reaksi Fermentasi Alkohol dari Buah Salak*. Jurnal Teknik Kimia. 2(2): 16-20.
- Fazal, Amrin. *Lactobacillus casei ;Expression of genes during the Stationary Phase*. [Online].([http://devbio.biology.gatech.edu/?page\\_id=11247](http://devbio.biology.gatech.edu/?page_id=11247)). Diakses 20 April 2015
- Fitriani, S. Bahri, Nurhaeni, 2013. *Produksi Bioetanol Tongkol Jagung (Zea Mays) dari Hasil Proses Delignifikasi*. Online Journal of Natural Science. 2(3) : 66-74.
- Hargono, N.B.Samodra, N.Z.Firdausi. 2013. *Rancang Bangun Alat Destilasi Pemurnian Bioetanol Grade Teknis Berskala UKM : Kajian Kinerja Alat Tentang Derajat Pemurniannya*. TEKNIK. 3(34) : 0852-1697
- Hasanah, Hafidatul. 2008. *Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kadar Alkohol Tape Ketan Hitam (Oryza sativa L var forma glutinosa) dan Tape Singkong (Manihot utilissima Pohl)*. [Skripsi]. Malang : Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri (UIN) Malang.
- Hidayat, P. 2008. *Pemanfaatan Serat Daun Nanas Sebagai Alternatif Bahan Baku Tekstil*. Teknoin . 13(2) : 31-35.
- Jayanudin. 2009. *Pemutihan Daun Nanas Menggunakan Hidrogen Peroksida*. Jurnal Rekayasa Proses. 1(3): 10-14.
- Jayanudin, dkk. 2010. *Pengaruh Konsentrasi dan Waktu Pemutihan Serat Daun Nanas Menggunakan Hidrogen Peroksida*. Seminar Rekayasa Kimia dan Proses. ISSN : 1411-4216.
- Kardono, Broto. 2010. *Teknologi Pembuatan Etanol Berbasis Lignoselulosa Tumbuhan Tropis untuk Produksi Biogasoline*. 26/SU/Insf-Ristek/IV/10. Bogor : Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI)
- Kristina, E. R. Sari, Novia. 2012. *Alkaline Pretreatment dan Proses Simultan Sakarifikasi-Fermentasi untuk Produksi Etanol dari Tandan Kosong Kelapa Sawit*. Jurnal Teknik Kimia. 3(18) : 34-43.
- Latika et al., 2012. *An Economic and Ecological Perspective of Ethanol Production from Renewable Agro Waste : A review*. AMB Express. 2:65.
- Mardina, P. dkk. 2013. *Pengaruh Proses Delignifikasi pada Proses Produksi Glukosa Glukosa dari Tongkol Jagung dengan Proses Hidrolisis Asam Encer*. Konversi. 2(2). 17-23.
- Muryanto. 2012. *Enkapsulasi Rhizopus oryzae dalam Kalsium-alginat untuk Produksi Bioetanol dari Tandan Kosong Kelapa Sawit dengan Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak*. [Tesis]. Depok: Fakultas Teknik. Universitas Indonesia.
- Perry, J. H. 1984. *Chemical Engineering Handbook*, 6th edition Mc Graw Hill, Inc, New York.
- Prawitwong, P. et. al. 2012. *Efficient Ethanol Production from Separated Parenchyma*

- 
- and Vascular Bundle of Oil Palm Trunk*. Bioresource Technology 125(2012):37-42.
- Rahman. 2014. *Uji Aktifitas Infus Daun Nanas terhadap Bakteri Sthaphylococcus Aureus*. [Skripsi]. Lampung : Fakultas Pertanian. Universitas Lampung.
- Retno, D.T., W. Nuri. 2011. 'Pembuatan Bioetanol dari Kulit Pisang'. Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan " Pengembangan Teknologi Kimia untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia. UPN "Veteran", Yogyakarta, E11 : 1-7.
- Sari, K.S.2009. *Pembuatan Bioetanol dari Rumpuk Gajah dengan Distilasi Batch*. Jurnal Teknik Kimia Indonesia. 3(8):94-103
- Sokanandi, A., G.Pari, D. Setiawan & Saepuloh. 2014. *Komponen Kimia Sepuluh Jenis Kayu Kurang dikenal Kemungkinan Penggunaan sebagai Bahan Baku Pembuatan Bioetanol*. Jurnal Penelitian Hasil Hutan. 3(32) :209-220.
- Sukowati, A., Sutikno, S. Rizal. 2014. *Produksi Bioetanol dari Kulit Pisang melalui Hidrolisis Asam Sulfat*. Jurnal Teknologi dan Industri Hasil Pertanian. 3(19): 274-288.
- Sun, Y., J. Cheng. 2002. *Hydrolysis of Lignocellulosic Materials for Ethanol Production* : A review. Bioresource Technology. 83 : 1-11.
- Taherzadeh, M.J., and K. Karimi. 2008. *Pretreatment of Lignocellulosic Waste to Improve Ethanol and Biogas Production* : A review. International Journal of Molecular Sciences. 9 : 1621-1651.
- Wiratmaja,I.G. 2010. *Analisa Unjuk Kerja Motor Bensin Akibat Pemakaian Biogasoline*. Jurnal Ilmiah Teknik Mesin CakraM. 1(4): 16-25.
- Wiratmaja, I.G., I. G. B. W. Kusuma, I. N. S. Winaya. 2011. *Pembuatan Etanol Generasi Kedua dengan Memanfaatkan Limbah Rumpuk Laut Eucheuma Cottonii sebagai Bahan Baku*. Jurnal Ilmiah Teknik Mesin CakraM. 1(5) : 75-84.
- Yuanisa, A., K. Ulum, A.K. Wardani. 2015. *Pretreatment Lignoselulosa Batang Kelapa Sawit Sebagai Langkah Awal Pembuatan Bioetanol Generasi Kedua* : Kajian pustaka. Jurnal Pangan dan Agroindustri. 4 (3) : 1620-1626.
- Zely, Desfran Zely.2014. *Pengaruh Waktu Kadar Saccharomyces cerevisiae terhadap Produksi Bioetanol dari Serabut Kelapa pada Proses Sakarifikasi dan Fermentasi Simultan dengan Enzim Selulase*. 2014. [Skripsi]. Bengkulu : Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan. Universitas Bengkulu