

PENGARUH WAKTU FERMENTASI DAN KONSENTRASI ENZIM TERHADAP KADAR BIOETANOL DALAM PROSES FERMENTASI NASI AKING SEBAGAI SUBSTRAT ORGANIK

Roosdiana Muin^{*)} Italiana Hakim, Ahmad Febriyansyah

*Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Sriwijaya

Jl. Raya Palembang-Prabumulih Km.32 Indralaya Ogan Ilir 30662

Email : dian56@yahoo.co.id

Abstrak

Ketergantungan masyarakat terhadap minyak bumi menempati proporsi terbesar dalam pemakaiannya sebagai sumber energi penduduk. Bioetanol merupakan bahan bakar dari minyak nabati yang memiliki sifat menyerupai minyak premium. Nasi aking merupakan limbah yang banyak mengandung karbohidrat. Kandungan karbohidrat pada nasi aking sangat berpotensi sebagai sumber bahan bakar nabati ramah lingkungan yang dapat dikembangkan sebagai energi bahan bakar alternatif. Pada penelitian ini dilakukan pembuatan bioetanol dengan bahan baku nasi aking. Variabel yang dikaji adalah konsentrasi enzim (4,6,8,10,12 gr) untuk menentukan konsentrasi enzim terbaik. Didapatkan konsentrasi enzim terbaik adalah 8 gr setelah proses fermentasi selama 24 jam. Selanjutnya dilakukan pengamatan waktu fermentasi (24,48,72,96, 120,144,168,192,216 jam) untuk menentukan waktu fermentasi terbaik dengan melihat kadar bioetanol dihasilkan. Dari penelitian didapatkan waktu fermentasi terbaik adalah 168 jam dengan kadar bioetanol dihasilkan 26,464% melalui analisa *Gas Chromatography* dengan nilai kalor 190,9833 kkal/kg.

Kata Kunci : Bioetanol, Nasi Aking, Konsentrasi Enzim

Abstract

People's dependence on petroleum occupy the largest proportion in its use as an energy source. Bioethanol is a fuel from vegetable oils that have properties resembling a premium oil. Parched rice is waste containing carbohydrates. The content of carbohydrates in parched rice is very potential as a source of environmentally friendly biofuels that can be developed as an alternative fuel energy. In this research, the raw material for bioethanol production is parched rice. The variables studied were concentration of the enzyme (4,6,8,10,12 gr) to determine the best enzyme concentration. The best enzyme concentration is obtained 8gr after fermentation for 24 hours. Furthermore, the observation of the fermentation time (24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 hours) to determine the best fermentation time by looking at the levels of bioethanol produced. From research shows the best fermentation time is 168 hours with levels of 26,464% of bioethanol produced by Gas Chromatography analysis with calorific value of 190.9833 kcal / kg.

Keywords: Bioethanol, Parched rice, Enzym concentration

1. PENDAHULUAN

Kebutuhan masyarakat akan minyak bumi menempati proporsi terbesar dalam pemakaiannya sebagai sumber energi. Dalam hal penghematan energi, penggunaan bahan bakar premium pun harus bisa diminimalisir agar pasokan energi bahan bakar dari fosil ini dapat bertahan lebih lama. Oleh karena itu, saat ini sedang dilakukan pengembangan penelitian untuk membuat energi bahan bakar alternatif yang ramah lingkungan. Seiring dengan dinaikkannya harga BBM, pemerintah maupun peneliti harus bekerjasama dalam hal menciptakan energi alternatif yang ramah lingkungan serta ekonomis sehingga nantinya

dapat digunakan sebagai pengganti bahan bakar fosil. Dengan cara ini diharapkan masyarakat akan beralih menggunakan energi alternatif karena lebih ramah lingkungan dan ekonomis.

Bioetanol merupakan salah satu jenis biofuel (bahan bakar cair dari pengolahan tumbuhan) di samping Biodiesel. Bioetanol adalah etanol yang dihasilkan dari fermentasi glukosa yang dilanjutkan dengan proses pemurnian. Bioetanol merupakan bahan bakar dari minyak nabati yang memiliki sifat menyerupai minyak premium. Untuk pengganti premium, terdapat alternatif gasohol yang merupakan campuran antara bensin dan

bioetanol. Bioetanol dapat dibuat dari bahan-bahan bergula atau berpati seperti singkong atau ubi kayu, tebu, nira, sorgum, nira nipah, ubi jalar, ganyong dan lain-lain. Kandungan karbohidrat pada nasi aking cukup tinggi sehingga sangat berpotensi sebagai bahan baku pembuatan bioetanol. Namun nasi aking biasanya hanya dimanfaatkan sebagai campuran pakan ternak. Penggunaan nasi aking sebagai bahan baku dalam pembuatan bioetanol dapat menjadi alternatif terbaru untuk menghasilkan bioetanol, karena nasi aking merupakan limbah yang mudah ditemukan dan belum dikembangkan secara optimal. Dengan dasar itulah, kami mencoba mengkombinasikan teori dan hasil penelitian-penelitian sebelumnya untuk membuat sebuah penelitian produk baru yaitu pembuatan bioetanol yang ramah lingkungan dari nasi aking. Dalam penelitian ini akan digunakan bakteri *Saccharomyces cerevisiae* sebagai bakteri yang terdapat pada ragi roti.

Tujuan dari penelitian ini adalah menentukan jumlah konsentrasi enzim

1.1. Kandungan Nasi Aking

Nasi aking adalah istilah yang umum digunakan untuk menyebut makanan yang berasal dari nasi sisa yang tidak termakan. Umumnya nasi aking memiliki tampilan fisik berwarna agak kecoklatan, struktur kering, ditumbuhi jamur serta memiliki bau yang kurang sedap. Bau kurang sedap pada nasi aking akibat perkembangan jamur.

Berdasarkan hasil penelitian Loppatanon, dkk (2012), didapatkan komposisi kimia yang terdapat dalam tepung nasi aking adalah Karbohidrat 83,19% (b/b), Amilose 29,70% (b/b), Lemak 0,40% (b/b), Protein 3,36% (b/b), Serat 0,11% (b/b) dan air 12,37% (b/b). Kandungan karbohidrat yang cukup besar dalam nasi aking ini dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku dalam pembuatan bioetanol dengan cara mengkonversi karbohidrat pada nasi aking menjadi alkohol melalui proses fermentasi.

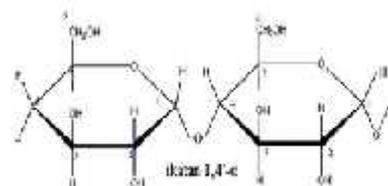
dalam air akan tetapi larut dalam pelarut dari bahan organik seperti butanol (Sahlan B. E., 2007 dalam Mifta Nur Rahmat, 2011). Dalam pembuatan bioethanol, pati dalam nasi aking harus disederhanakan terlebih dahulu melalui proses hidrolisis menjadi gula sederhana agar kemudian dapat diuraikan menjadi alkohol dalam proses fermentasi.

Saccharomyces cerevisiae yang efektif dalam proses fermentasi limbah nasi aking menjadi etanol dan menentukan waktu fermentasi yang optimal untuk menghasilkan kadar etanol tertinggi dari limbah sisa nasi. Manfaat dari tugas penelitian ini adalah untuk memberikan informasi kepada pembaca mengenai cara yang lebih efektif untuk mengolah limbah nasi aking menjadi etanol sebagai energi alternatif.

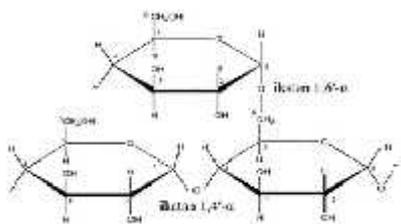
Ruang Lingkup dalam penelitian ini adalah sampel yang digunakan dalam penelitian ini merupakan limbah nasi aking sisa yang berasal dari limbah kosan dan rumah tangga di sekitar kampus Unsri Inderalaya. Variabel yang akan diteliti dalam penelitian ini adalah konsentrasi enzim 4gr ; 6gr; 8gr ; 10gr dan 12gr dari berat sampel) dalam fermentasi limbah nasi sisa menjadi etanol, dengan lama waktu fermentasi (24 jam; 48 jam; 72 jam; 96 jam; 120 jam; 144 jam; 168 jam; 192 jam; 216 jam) Variabel yang diteliti, dianalisis berdasarkan pengukuran densitas, pH, kadar etanol dan nilai kalor yang dihasilkan oleh masing-masing sampel.

Menurut Mifta Nur Rahmat (2011), karbohidrat dapat dibagi menurut panjang rantai karbonnya menjadi monosakarida, disakarida dan polisakarida. Pati merupakan polisakarida nutrient yang banyak terkandung dalam tumbuhan sebagai cadangan makanan. Kandungan pati pada biji beras berkisar antara 50-60%. Pati terdiri dari dua polisakarida yang berbeda yaitu amilosa dan amilopektin.

Amilosa adalah komponen dari pati yang mempunyai bentuk rantai lurus dan mudah larut di dalam air. Umumnya amilosa menyusun pati 17 – 21%, yang terdiri atas satuan glukosa kemudian bergabung melalui ikatan $-(1,4)$ D-glukosa. Amilopektin adalah komponen pati yang memiliki rantai cabang yang terdiri dari satuan glukosa kemudian bergabung melalui ikatan $-(1,4)$ D-glukosa dan $-(1,6)$ D-glukosa. Tidak seperti amilosa, amilopektin tidak larut di



Gambar 1. Struktur Amilosa



Gambar 2. Struktur Amilopektin

1.2. Bioetanol Sebagai Sumber Energi Alternatif

Bioetanol merupakan etanol (C_2H_5OH) yang dapat diproduksi melalui proses fermentasi gula dari sumber karbohidrat menggunakan bantuan mikroorganisme. Pada proses produksinya, bahan baku yang mengandung gula bisa langsung difermentasikan menjadi bioetanol. Sedangkan untuk bahan baku yang mengandung pati, harus dilakukan proses hidrolisis terlebih dahulu untuk mengubah pati menjadi gula baru kemudian dapat difermentasikan menjadi bioetanol. Hidrolisis yang dilakukan dapat berupa hidrolisis asam maupun hidrolisis enzimatik. Setelah di fermentasi bioetanol dimurnikan dengan cara destilasi atau evaporasi.

Bioetanol memiliki sifat-sifat yang mirip terhadap petroleum sehingga sering dijadikan campuran petroleum. Bioetanol berwarna bening, tidak memiliki nilai toksisitas yang tinggi, dapat terurai secara biologis dan memiliki emisi CO_2 yang rendah saat terbakar sehingga tidak mencemari lingkungan. Kandungan oksigen dalam etanol mampu mengoksidasi bahan bakar sehingga dapat terbakar lebih sempurna. Hal ini dapat meningkatkan nilai oktan dalam bensin dan mengurangi gas buang. Gasohol adalah campuran antara bioetanol dan bensin dengan porsi bioetanol sampai dengan 25% yang dapat langsung digunakan pada mesin mobil bensin tanpa perlu memodifikasi mesin. Hasil pengujian kinerja mesin mobil bensin menggunakan gasohol menunjukkan gasohol E-10 (10% bioetanol) dan gasohol E-20 (20% bioetanol) menunjukkan kinerja mesin yang lebih baik dari premium dan setara dengan pertamax (Sri Komarayati dan Gusmailina, 2010).

Menurut I Gede Wiratmaja (2010) ada beberapa jenis bioetanol dan cara penggunaan bioetanol untuk campuran gasoline. Yang pertama adalah *Hydrous ethanol* (95% volume) yang mengandung sedikit air sehingga dapat digunakan langsung sebagai bahan bakar pengganti bensin pada kendaraan dengan mesin yang sudah dimodifikasi tanpa harus dicampur

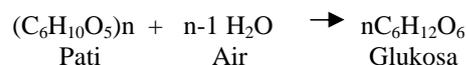
dengan bensin. Yang kedua adalah *Anhydrous ethanol* (atau *dehydrated ethanol*), yaitu bioetanol dengan kemurnian minimal 99%. Bioetanol ini dapat dicampurkan pada gasoline dengan kadar antara 5-85%. Gasoline dengan campuran etanol antara 5-10% dapat langsung digunakan pada mesin tanpa perlu modifikasi. Sedangkan campuran etanol dengan kadar lebih tinggi misalnya 85% (E85) dapat digunakan pada mesin yang sudah dimodifikasi tanki BBM dan sistem injeksinya, mesin ini biasa disebut *flexible fuel vehicle*. Umumnya bioetanol yang digunakan dipasaran dengan kadar bioetanol 10% dan gasoline 90% (E10) atau kadar bioethanol 20% dan gasoline 80% (E20).

1.3. Hidrolisis Asam

Hidrolisis asam dilakukan dengan menggunakan asam-asam organik seperti H_2SO_4 , HNO_3 , dan HCl . Pemotongan rantai pati yang dilakukan oleh asam lebih tidak teratur jika dibandingkan dari hasil pemotongan rantai pati yang dilakukan oleh enzim. Hasil pemotongan yang dilakukan oleh asam adalah campuran maltosa, dekstrin dan glukosa, sementara enzim akan bekerja secara spesifik sehingga hasil hidrolisis bisa dikendalikan (Assegaf, 2009).

Hidrolisis asam menghasilkan proses yang lebih murah tapi produk yang dihasilkan tidak sebaik pada hidrolisis enzimatik yang memakan biaya jauh lebih mahal. Namun pada hidrolisis asam, proses hidrolisis dapat berlangsung dalam waktu beberapa menit saja sedangkan proses hidrolisis enzimatik memerlukan waktu beberapa hari.

Jika pati dipanaskan dengan asam maka molekul-molekulnya akan terurai menjadi gula yang lebih sederhana (glukosa) secara umum reaksi hidrolisa dapat dituliskan:



Hidrolisis dengan asam, diperlukan suhu yang tinggi. Semakin lama hidrolisis asam maka pemecahan secara acak molekul pati dan gula pereduksi yang dihasilkan akan semakin banyak (Judoamidjojo, dkk., 1992).

Penambahan asam dalam proses hidrolisis adalah sebagai katalis untuk mempercepat reaksi pemutusan rantai polisakarida menjadi glukosa karena proses hidrolisis alami menggunakan air berlangsung lambat dan dalam waktu yang sangat lama. Penambahan asam klorida (HCl) dalam proses hidrolisis asam akan menghasilkan pati dengan struktur yang renggang sehingga saat proses pengeringan air lebih mudah menguap. Hal ini secara tidak

langsung dapat meningkatkan konversi etanol yang dihasilkan. Pati dengan struktur yang rapat akan lebih banyak mengikat air.

Proses hidrolisis berlangsung saat suspensi pati dipanaskan dalam air dengan suhu gelatinasi air. Suhu awal gelatinasi terjadi saat mulai terjadi pembekuan granula pati. Saat suhu naik ditambahkan asam encer sebagai katalis. Selama proses pemanasan, granula pati akan mengembang dan terjadi penekanan antar granula sehingga viskositasnya meningkat. Prinsip dasar hidrolisis adalah untuk memotong ikatan -1,4-glukosida dan ikatan -1,6-glukosida dari amilopektin sehingga menghasilkan pati yang ukurannya lebih kecil (glukosa)

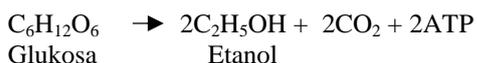
1.4. Fermentasi

Setelah dilakukan pemecahan molekul pati menjadi gula sederhana, selanjutnya dilakukan tahap fermentasi untuk mengkonversi gula menjadi etanol (alkohol) dengan bantuan mikroorganisme berupa *yeast*, ragi atau khamir. Proses fermentasi bertujuan untuk merubah senyawa yang kompleks menjadi sederhana. Berdasarkan kebutuhan oksigen, fermentasi dapat dibedakan menjadi dua, diantaranya (Afrianti, 2005) :

a. Fermentasi aerob adalah fermentasi yang prosesnya memerlukan oksigen karena dengan adanya oksigen maka mikroba dapat mencerna glukosa menghasilkan air, CO₂ dan sejumlah energi.

b. Fermentasi anaerob adalah fermentasi yang tidak membutuhkan adanya oksigen karena beberapa mikroba dapat mencerna bahan energi tanpa adanya oksigen. Sehingga hanya sebagian dari bahan energi yang dipecah. Mikroorganisme yang melakukan fermentasi ini adalah yeast, beberapa jenis kapang dan bakteri.

Fermentasi pati menjadi etanol termasuk dalam proses fermentasi alkoholik karena hasil utamanya berupa alkohol. Dalam proses fermentasi secara anaerob, terjadi perubahan senyawa gula oleh mikroorganisme menjadi alkohol, gas CO₂ dan energi. Dapat dinyatakan dalam persamaan reaksi sebagai berikut:



Menurut Winarno *dkk*, (1984), Proses fermentasi alkoholik dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain :

1. Jenis Bahan atau Substrat

Substrat merupakan sumber energi bagi mikroba. Substrat inilah yang nantinya akan

dipecah menjadi senyawa-senyawa sederhana dalam proses fermentasi.

2. Oksigen

Pada umumnya proses fermentasi alkoholik berlangsung pada kondisi anaerob atau tanpa oksigen. Namun ada mikroba tertentu yang dapat berkembang dalam kondisi aerob maupun anaerob seperti khamir *Saccharomyces cerevisiae*.

3. Waktu Fermentasi

Umumnya waktu yang digunakan untuk proses fermentasi adalah sekitar 1 sampai 6 hari. Tergantung dari jumlah mikroba yang digunakan, kondisi operasi dan konsentrasi substrat. Adanya gangguan pada kondisi operasi seperti pH dan kandungan oksigen dapat menghambat proses fermentasi

4. Konsentrasi Starter

Susanto dan Saneto (1994), jumlah ragi yang dipakai adalah 0,5% dari volume substrat yang akan difermentasikan. Pemberian ragi tidak boleh terlalu banyak namun juga tidak boleh terlalu sedikit karena bila jumlah ragi yang dipakai terlalu sedikit maka proses fermentasi akan berlangsung lama, sedangkan jika ragi yang dipakai terlalu banyak maka keaktifan khamir akan berkurang karena pada awal proses alkohol yang terbentuk sangat banyak sehingga fermentasinya lebih lama dan banyak glukosa yang belum terkonversi. Sedangkan untuk struktur kultur murni digunakan sebanyak 10⁸ cfu/g atau sama dengan 0,3% ragi.

5. Temperatur

Umumnya ragi dapat berkembang baik pada suhu ruangan yaitu sekitar 25-30°C dalam proses fermentasi.

6. pH (Keasaman)

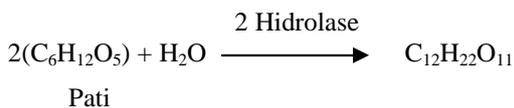
Untuk proses fermentasi alkohol ragi, pH optimum adalah 4 – 5. Jika pH terlalu asam atau terlalu basa mikroba yang digunakan tidak dapat tumbuh optimal atau bahkan mati sehingga proses fermentasi terganggu.

1.5. *Saccharomyces Cerevisiae*

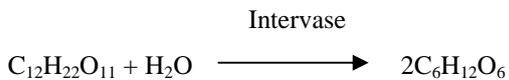
Saccharomyces cerevisiae memiliki daya konversi gula menjadi etanol yang sangat tinggi, sehingga sering digunakan dalam fermentasi alkohol. *Saccharomyces cerevisiae* memerlukan suhu 30°C dan pH 4,0 - 5,5 agar dapat tumbuh dengan baik, (Sassner, 2008). Menurut Gaur (2006), tingginya gula pada substrat dan sebagai produk akhir dapat menjadi penghambat pada proses metabolisme khamir yang menyebabkan kecepatan produksi etanol terbatas. Konsentrasi optimal gula pada substrat yang digunakan adalah sebesar 16-24% brix. Apabila konsentrasi substrat lebih dari itu maka tekanan

osmotik akan meningkat dan mengurangi efisiensi proses fermentasi.

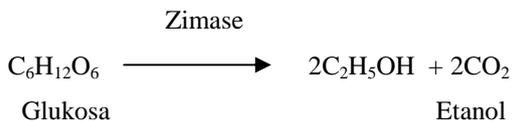
Saccharomyces cerevisiae bersifat fermentatif kuat dan dapat hidup dalam kondisi aerob maupun anaerob (anaerob fakultatif), memiliki sifat yang stabil dan seragam, memiliki pertumbuhan yang cepat dalam proses fermentasi sehingga proses fermentasi dapat berlangsung dengan cepat pula serta mampu memproduksi alkohol dalam jumlah banyak. Alkohol (etanol) yang dihasilkan dapat digunakan sebagai bahan pelarut selain air dan bahan baku utama dalam laboratorium dan industri kimia (Buckle dkk, 1987). *Saccharomyces sp* melakukan fermentasi terhadap gula jauh lebih cepat pada keadaan anaerobik, akan tetapi mengalami pertumbuhan lebih baik pada keadaan aerobik sehingga jumlahnya bertambah banyak. Secara singkat proses fermentasi alkohol (etanol) dapat ditulis sebagai berikut (Fardiaz, 1992)



Disakarida



Glukosa



Etanol dan CO₂ yang terbentuk dapat menghambat proses fermentasi. Proses fermentasi akan berhenti saat konsentrasi etanol yang terbentuk sekitar 12–15 %. Hal ini terjadi karena sel hidup khamir hanya toleran terhadap etanol pada konsentrasi tertentu sehingga saat konsentrasi etanol sudah melebihi batas toleransi khamir maka pertumbuhan khamir akan terhambat dan menghentikan proses fermentasi. Masalah ini dapat diatasi dengan melakukan daur ulang khamir atau dengan menggunakan teknologi fermentasi kontinu.

1.6. Destilasi

Setelah proses fermentasi, alkohol yang terbentuk harus memasuki tahap pemurnian untuk mendapatkan etanol dengan tingkat kemurnian tinggi. Salah satu proses pemurnian etanol adalah destilasi. Destilasi adalah proses

pemisahan campuran dua senyawa atau lebih dalam fase homogen berdasarkan titik didih atau titik cairnya.

Proses destilasi berlangsung dalam dua tahap yaitu pemanasan dan pendinginan. Saat dipanaskan, zat yang memiliki titik didih lebih rendah akan menguap. Uap tersebut bergerak menuju kondenser yaitu pendingin. Proses pendinginan terjadi karena air yang dialirkan kedalam dinding (bagian luar kondenser), sehingga terjadi pertukaran panas antara uap yang panas dengan air yang memiliki suhu lebih rendah, maka uap yang dihasilkan akan kembali cair. Proses ini berjalan terus menerus dan hingga dapat memisahkan seluruh senyawa-senyawa yang ada dalam campuran homogen tersebut.

Proses pemurnian dengan cara destilasi memiliki kelebihan yakni produk yang dihasilkan memiliki kemurnian yang tinggi, dan dapat memisahkan berdasarkan perbedaan titik didih. Namun kekurangannya adalah proses ini susah diterapkan pada campuran yang memiliki perbedaan titik didih yang rendah, adanya azeotrop juga dapat menghambat proses destilasi, selain itu biaya instalasi peralatan pada skala besar cukup mahal.

Etanol memiliki titik didih 78°C sedangkan air memiliki titik didih 100 °C. Selisih titik didih antara kedua campuran memungkinkan proses pemisahan dengan cara destilasi. Menurut Wahyudi Raditya Ardi (2009) Nilai rata-rata kadar etanol larutan sisa destilasi pada suhu 78°C dan 85°C cenderung mengalami penurunan seiring dengan semakin lamanya waktu destilasi. Hal ini disebabkan karena semakin tinggi suhu dan lama waktu destilasi yang digunakan, maka semakin banyak etanol yang menguap dan akan menurunkan kadar etanol di dalam larutan yang tersisa di dalam labu destilasi. Sehingga kandungan etanol yang dihasilkan semakin tinggi.

1.7. Kromatografi Gas

Kromatografi merupakan suatu cara pemisahan dalam analisis kimia. Di dalam kromatografi diperlukan dua fase yang tidak bercampur, yakni fase gerak dan fase diam. Fase gerak berupa gas pembawa atau cairan. Sedangkan Fase diam berupa zat padat yang biasanya ditempatkan dalam suatu kolom atau bisa juga berupa cairan yang terserap (teradsorpsi).

Campuran zat yang akan dipisahkan komponen-komponennya dimasukkan ke dalam kolom yang mengandung fase diam. Dibantu oleh fase gerak, komponen campuran itu akan dibawa bergerak melewati fase diam dalam

kolom. Perbedaan afinitas atau interaksi antara komponen campuran itu dengan ke dua fase, menyebabkan komponen itu akan bergerak dengan kecepatan yang berbeda melalui kolom. Akibatnya terdapat perbedaan kecepatan (*differential migration*), komponen itu terpisah satu sama lain.

Alat kromatografi gas terdiri atas bagian-bagian peralatan, yaitu:

- 1) Alat pengatur tekanan (*regulator*) yang digunakan sebagai pengatur tekanan gas yang digunakan.
- 2) Tangki gas pembawa. Gas yang digunakan seperti hidrogen, helium, dan nitrogen.
- 3) *Injection port* merupakan tempat untuk memasukkan cuplikan menggunakan cara penyuntikan. Waktu injeksinya pun harus singkat, suhu yang digunakan lebih tinggi dari *boiling point* dan volume cuplikannya berkisar 1-20 μL .
- 4) Oven yang digunakan untuk memanaskan kolom sesuai dengan titik didih cuplikan serta tingkat pemisahan yang diinginkan.
- 5) Kolom merupakan tempat terjadinya proses pemisahan komponen cuplikan.
- 6) *Recorder* merupakan alat berfungsi untuk mencatat isyarat listrik.
- 7) Detektor berfungsi untuk mendeteksi komponen yang akan keluar dari kolom. kemudian mengirimkan isyarat listrik tersebut ke alat pencatat (*recorder*). Terdapat jenis detektor kromatografi gas yaitu, *Thermal Conductivity Detector*, *Flame Ionisation Detector*, dan *Electron Capture Detector*.

2. METODELOGI

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Februari s/d Mei 2015 di Laboratorium Jurusan Teknik Kimia Universitas Sriwijaya, Inderalaya.

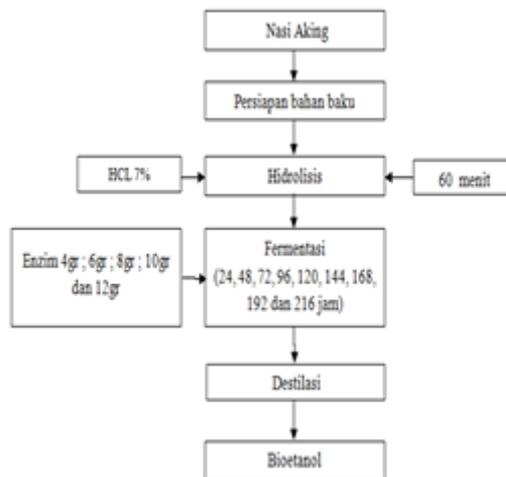
2.1. Rancangan Penelitian

Hidrolisis bahan dengan menggunakan aquadest dengan perbandingan nasi aking dan aquades adalah 1:3. Proses hidrolisis menggunakan katalis asam HCl 7%. Pelaksanaan fermentasi menggunakan enzim *Saccharomyces cerevisiae*. Rancangan percobaan yang terdapat dalam penelitian ini akan dilaksanakan tiga kali (triplo) untuk penentuan konsentrasi enzim terbaik dan dua kali pengulangan (duplo) untuk penentuan waktu fermentasi terbaik.

2.1.1. Variabel -Variabel Penelitian

Adapun beberapa variabel yang menjadi fokus pada penelitian ini adalah:

- 1) Konsentrasi zat penghidrolisis dan berat sampel sebagai variabel tetap.
- 2) Konsentrasi enzim dan waktu fermentasi sebagai variabel bebas.



Gambar 3. Diagram Alir Proses

2.1.2. Persiapan Bahan Baku

- 1) Nasi aking seberat 500 gr dihaluskan dengan blender lalu dicuci hingga bersih.
- 2) Masukkan nasi aking dan aquadest dengan perbandingan 1: 3 dalam panci, dan panaskan diatas hotplate dengan temperatur 150°C, pengadukan dengan magnetik stirer 150 rpm selama 1 jam hingga sampel menjadi bubur nasi.

2.2. Deskripsi Proses

2.2.1. Hidrolisis

- 1) Tambahkan HCl dengan konsentrasi 7% kedalam sampel yang telah menjadi bubur nasi hingga pH 2.
- 2) Kemudian larutan sampel dikukus selama 1 jam dengan temperatur 95-97°C.
- 3) Sampel dikondisikan hingga pH 5 menggunakan larutan NaOH untuk persiapan fermentasi.
- 4) Setelah temperatur sampel 30°C, sampel diambil sebanyak 400ml lalu dimasukkan dalam labu erlemeyer untuk difermentasi dengan variasi konsentrasi enzim.

2.2.2. Fermentasi

- 1) Untuk menentukan konsentrasi enzim terbaik, tuangkan masing-masing 400mL sampel ke dalam 5 labu erlemeyer yang sudah disterilkan.
- 2) Masukkan enzim dengan konsentrasi 4gr ; 6gr ; 8gr ; 10gr dan 12gr ke dalam labu erlemeyer yang telah disterilkan.

- 3) Dilakukan pengamatan kandungan bioetanol hasil fermentasi masing-masing konsentrasi selama 24 jam.
- 4) Hasil fermentasi dimurnikan dengan proses evaporasi. Dengan analisa densitas didapatkan konsentrasi enzim terbaik untuk proses fermentasi.
- 5) Kemudian ulangi langkah awal persiapan bahan baku. Untuk membuat 9 sampel, menggunakan 900gr nasi aking.
- 6) Lakukan fermentasi kembali menggunakan konsentrasi enzim terbaik dengan variasi waktu fermentasi selama 24 jam, 48 jam, 72 jam, 96 jam, 120 jam, 144 jam, 168 jam, 192 jam dan 216 jam untuk menentukan waktu fermentasi terbaik.
- 7) Hasil fermentasi dimurnikan dengan proses evaporasi. Dengan analisa kandungan etanol didapatkan waktu fermentasi terbaik.

2.2.3. Destilasi

- 1) Larutan fermentasi dimasukan dalam labu sampel untuk destilasi dan dipanaskan dalam *waterbath* dengan temperatur 78°C.
- 2) Proses destilasi dilakukan selama 20 menit.
- 3) Destilat (bioetanol) yang dihasilkan disimpan di dalam botol yang tertutup rapat dan disimpan pada suhu kamar.
- 4) Bioetanol diukur densitasnya dengan menggunakan piknometer, di hitung pH nya menggunakan pH meter dan dianalisa kandungan bioetanolnya menggunakan metode *Gas Cromatography (GC)*.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

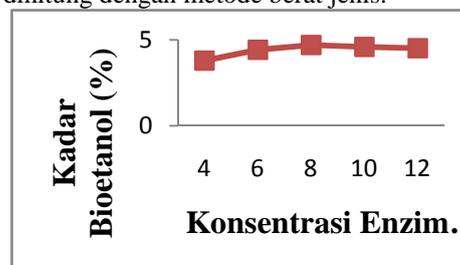
3.1. Pengaruh Hidrolisis Terhadap Peningkatan Kadar Glukosa

Proses hidrolisis menggunakan asam HCl dengan konsentrasi 7% dan waktu hidrolisis selama 60 menit dengan temperature 95-97°C. Setelah dilakukan analisa, didapatkan kandungan glukosa pada nasi aking setelah di hidrolisis adalah sebesar 52,255%

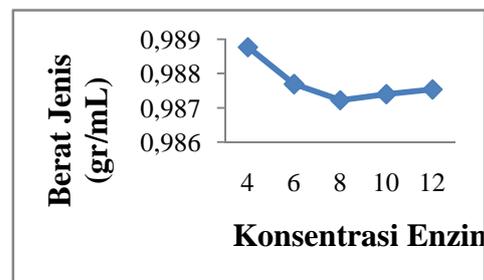
Judoamidjojo (1992) mengatakan bahwa, semakin lama waktu hidrolisis maka akan terjadi peningkatan kadar glukosa yang menunjukan bahwa proses hidrolisis telah memecah molekul pati secara acak menjadi glukosa. Setelah hidrolisis, terjadi perubahan wujud sampel dari bubur nasi kental menjadi bubur nasi encer. Glukosa yang sederhana ini, kemudian akan dikonversikan menjadi bioetanol oleh enzim *Saccaromyces cerevisiae* melalui proses fermentasi.

3.2. Pengaruh Konsentrasi Enzim Terhadap Berat Jenis dan Kadar Etanol

Pada penelitian ini, dilakukan fermentasi selama 24 jam dengan variasi konsentrasi enzim (4gr, 6gr, 8gr, 10gr, dan 12gr) untuk menentukan konsentrasi enzim terbaik dengan melihat pengaruh masing-masing konsentrasi terhadap kadar etanol pada sample yang dihitung dengan metode berat jenis.



Gambar 4. Hubungan Kadar Etanol Setelah Fermentasi dengan Variasi Konsentrasi Enzim



Gambar 5. Hubungan Berat Jenis Bioetanol Setelah Fermentasi dengan Variasi Konsentrasi Enzim

Gambar 4. merupakan grafik data kuantitatif yang menunjukkan hubungan kadar etanol (%) yang dihasilkan dengan variasi konsentrasi enzim (gram) dalam waktu fermentasi yang sama yaitu selama 24 jam. Sedangkan grafik 4.2. menunjukkan hubungan antara berat jenis (gr/cm^3) dengan konsentrasi enzim (gram) dalam waktu fermentasi yang sama pula yaitu 24 jam.

Berdasarkan data pada gambar 4., kadar etanol yang dihasilkan terus meningkat pada sampel 4 gram, 6 gram dan 8 gram lalu mengalami penurunan pada konsentrasi enzim 10 gram dan 12 gram. Hijri dkk (2013) mengatakan dalam penelitiannya, bahwa proses fermentasi menggunakan bantuan mikroorganisme yang proses kerjanya dipengaruhi oleh banyak faktor (salah Inhibisi yang berupa jamur di dalam masa fermentasi berlangsung merupakan salah satunya).

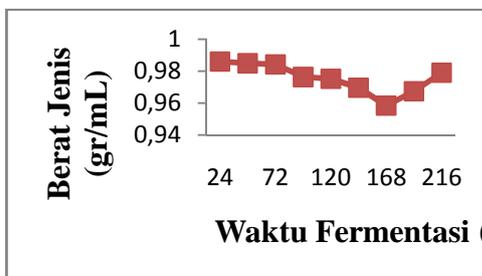
Menurut Susanto dan Saneto (1994), dalam proses fermentasi, konsentrasi enzim yang

terlalu sedikit akan menyebabkan waktu fermentasi berjalan lambat. Sedangkan konsentrasi enzim yang terlalu tinggi dapat menyebabkan terlalu banyak alkohol yang terkonversi saat awal proses dan banyak glukosa yang belum terkonversi. Hal ini menyebabkan keaktifan enzim terhambat dan proses fermentasi menjadi lebih lama.

Berdasarkan gambar 5, kadar etanol berbanding terbalik dengan berat jenis bioetanol yang dihasilkan. Hal ini karena berat jenis bioetanol pada kondisi standar adalah $0,789 \text{ gr/cm}^3$ sedangkan berat jenis air adalah 1 gr/cm^3 sehingga semakin besar berat jenis bioetanol yang dihasilkan berarti semakin banyak kandungan air dalam produk tersebut. Banyaknya kandungan air dalam bioetanol menyebabkan penurunan kadar kemurnian bioetanol.

3.3. Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Berat Jenis Bioetanol

Pada penelitian ini, dilakukan fermentasi dengan konsentrasi ragi terbaik yang telah dilakukan di atas yaitu 8 gram, dengan variasi waktu fermentasi (24 jam, 48 jam, 72 jam, 96 jam, 120 jam, 144 jam, 168 jam, 192 jam, dan 216 jam) untuk menentukan waktu fermentasi terbaik dengan melihat pengaruh masing-masing waktu terhadap kadar etanol pada sampel yang dihitung dengan metode berat jenis.



Gambar 6. Hubungan Berat Jenis Bioetanol Setelah Fermentasi dengan Variasi Waktu Fermentasi

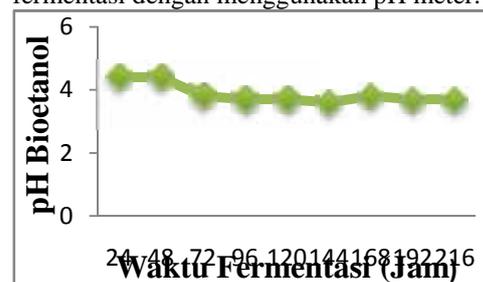
Gambar 6. merupakan grafik berdasarkan data yang menunjukkan hubungan antara berat jenis dari etanol yang dihasilkan dengan waktu fermentasi. Berdasarkan data pada gambar 6, berat jenis terendah ditunjukkan pada waktu fermentasi 168 jam. Hal ini menunjukkan bahwa kadar etanol pada waktu fermentasi 168 jam adalah yang paling tinggi. Karena kadar etanol berbanding terbalik dengan berat jenis bioetanol yang dihasilkan.

Karena bahan yang digunakan dalam penelitian ini berupa polisakarida (Pati dan

selulosa) maka fermentasi yang dilakukan membutuhkan waktu lebih lama untuk mengubah polisakarida menjadi glukosa sehingga akan diubah menjadi etanol. Berat jenis bioetanol terus menurun dari waktu fermentasi 24 jam hingga waktu fermentasi 168 jam. Hal ini disebabkan karena masih terdapat substrat glukosa sehingga mikroorganisme yang terdapat dalam sampel terus ditunjang kehidupannya. Sedangkan berat jenis bioetanol meningkat pada waktu fermentasi 192 jam dan seterusnya. Hal ini menunjukkan penurunan kadar etanol dalam produk. Pada fase ini proses fermentasi diindikasikan memasuki fase pertumbuhan lambat karena glukosa yang akan dikonversi oleh enzim sudah semakin berkurang sehingga terjadi penurunan kadar etanol yang dihasilkan.

3.4. Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap pH Bioetanol

Dilakukan analisa pH bioetanol hasil fermentasi variasi waktu untuk melihat perubahan pH yang terjadi pada proses fermentasi dengan menggunakan pH meter.

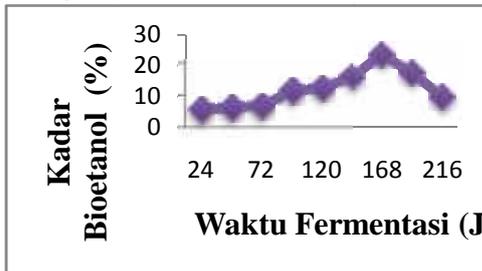


Gambar 7. Hubungan pH Bioetanol Setelah Fermentasi dengan Variasi Waktu Fermentasi

Proses fermentasi dilakukan dengan pH awal 5. Sesuai dengan kondisi optimum enzim *Saccharomyces cerevisiae* yang berkembang baik pada pH 4,5 – 5. Dari gambar 4.4. didapatkan pH bioetanol yang dihasilkan pada waktu fermentasi 24 jam belum jauh berbeda dari pH awal proses fermentasi yaitu pada pH 4,4. Pada waktu fermentasi 72 jam, mulai terjadi penurunan pH menjadi 3,8. Pada waktu fermentasi 96 jam sampai 216 jam pH bioetanol relatif stabil di 3,6 – 3,8.

pH yang dihasilkan cenderung asam karena dalam pembentukan etanol, juga terjadi pembentukan asam asetat sebagai produk sampingnya. Hal ini sesuai dengan penelitian (Hijri dkk, 2013) yang menyatakan bahwa peningkatan pembentukan asam asetat terjadi akibat penggunaan etanol sebagai sumber energi bagi *Saccharomyces cerevisiae* saat proses fermentasi berlangsung.

3.5. Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Etanol dengan Metode Berat Jenis



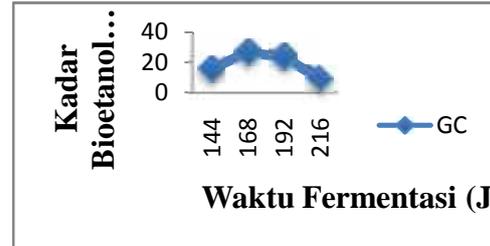
Gambar 8. Hubungan Kadar Etanol (%) Variasi Waktu Fermentasi dengan Metode Berat Jenis

Kadar etanol dapat dihitung dengan melihat nilai berat jenis bioetanol yang didapat dengan metode piknometer. Waktu fermentasi berpengaruh langsung terhadap kadar etanol yang dihasilkan sampel. Dalam proses fermentasi ini, digunakan ragi roti fermipan yang mengandung enzim *S. cerevisiae*. Enzim dalam ragi mengubah glukosa yang ada pada sampel menjadi etanol dan CO₂.

Pada awal waktu fermentasi, kadar etanol yang dihasilkan hanya 5,5224 % hal ini dapat disebabkan karena kadar gula dalam sampel masih terlalu tinggi sehingga proses fermentasi berjalan lambat. Saat suatu mikroba dipindahkan kedalam suatu medium, mikroba harus melakukan adaptasi terhadap lingkungan baru atau biasa disebut sebagai fase adaptasi. Pada fase ini, mikroba mengalami pembelahan yang masih sangat lambat sehingga pada waktu fermentasi 24-48 jam, peningkatan kadar etanol masih rendah. (Fardiaz, 1988).

Pada waktu fermentasi 96 - 168 jam, mikroba sudah memasuki fasa log sehingga terjadi peningkatan kadar etanol secara signifikan. Kadar etanol tertinggi terjadi pada waktu fermentasi 168 jam yaitu sebesar 23,6106 %. Namun memasuki waktu fermentasi 192 jam kadar etanol yang dihasilkan mulai mengalami penurunan. Pada waktu fermentasi 216 jam kadar etanol yang dihasilkan mendekati hasil kadar etanol pada fase awal, hal ini menunjukkan bahwa mikroba mulai mengalami penurunan populasi dan memasuki fasa pertumbuhan lambat. (Fardiaz, 1988).

3.6. Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Bioetanol dengan Metode Gas Chromatography (GC)



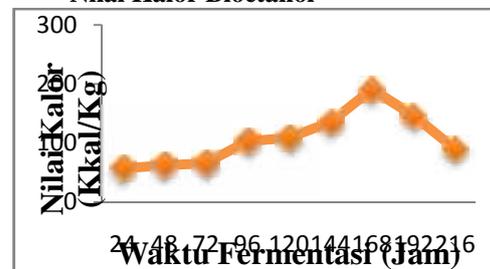
Gambar 9. Hubungan Kadar Etanol (%) Variasi Waktu Fermentasi dengan Metode Gas Chromatography (GC)

Berdasarkan data yang di dapat dari analisa kadar etanol dengan metode berat jenis, diambil empat nilai terbaik untuk dianalisa kadar etanolnya menggunakan metode Gas Chromatography (GC). Sebelum dianalisa menggunakan metode GC, dilakukan preparasi sampel terlebih dahulu untuk menurunkan turbiditas dan mengurangi impuritis yang terikut dalam sampel.

Hasil analisa GC didapatkan nilai kadar etanol tertinggi tetap pada waktu fermentasi 168 jam yaitu sebesar 26,464 %. Nilai ini lebih tinggi dari analisa kadar etanol menggunakan metode berat jenis yaitu sebesar 23,6106 %. Terjadi peningkatan kadar etanol pada analisa menggunakan metode GC karena pada metode ini, sampel yang digunakan lebih murni dan tidak banyak mengandung impuritis.

Namun pada sampel dengan waktu fermentasi 144 jam terjadi penurunan kadar etanol yang telah diukur dengan metode berat jenis yaitu dari 16,2635 % menjadi 15,7 % pada analisa dengan metode GC. Hal ini dapat disebabkan karena pada penyimpanan, tutup wadah sampel tidak tertutup secara sempurna atau kurang kedap sehingga ada uap air yang terikut masuk dalam sampel saat penyimpanan. Bertambahnya kandungan air dalam sampel menurunkan kadar etanol yang terkandung dalam sampel.

3.7. Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Nilai Kalor Bioetanol



Gambar 10. Hubungan Nilai Kalor Bioetanol pada Variasi Waktu Fermentasi

Gambar 4.7 menunjukkan data nilai kalor bioetanol yang didapat dari perhitungan *specific*

gravity dan *API gravity* menggunakan data berat jenis yang telah di dapat sebelumnya. Dari data didapatkan nilai kalor tertinggi pada kadar etanol tertinggi yaitu bioetanol dengan waktu fermentasi 168 jam. Kadar bioetanol berbanding lurus dengan nilai kalor bioetanol. Semakin tinggi kadar bioetanol maka semakin mudah bioetanol terbakar. Namun dalam penelitian ini, nilai kalor yang di dapat masih sangat kecil yaitu sebesar 190,9833 kkal/kg. Sedangkan nilai kalor bioetanol dari sampah organik pada umumnya berkisar antara 10.000 – 11.000 kkal/kg. Rendahnya nilai kalor yang dihasilkan dapat disebabkan karena proses pemurnian bioetanol yang belum terlalu baik dan hanya menggunakan *rotary evaporator* sederhana.

3.8. Perbandingan Standar Baku Mutu Bioetanol

Dalam produksi bioetanol, Badan Standar Nasional (BSN) telah menetapkan standar baku mutu umum untuk bioetanol yang diproduksi dari bahan nabati yang dapat dilihat pada tabel berikut

Tabel 1. Syarat Mutu Bioetanol

Parameter	Satuan	Mutu Standar Bio etanol	Bio etanol Nasi Aking g	Ket.
Kadar Etanol	% v/v	Min. 94,1	26,46 4%	Belum sesuai standar
Minyak Fusel	mg/L	Maks. 15	-	-
Aldehid	mg/L	Maks. 30	-	-
Metanol	mg/L	Maks. 30	-	-
Berat Jenis	gr/mL	Maks. 0,8215	0,958 3	Belum sesuai standar
Specific Gravity	gr/mL	Maks. 0,8215	0,960 2	Belum sesuai standar
Nilai Kalor	Kkal/kg	Maks. 5000	190,9 833	Belum sesuai standar
Keasaman (As. Asetat)	mg/L	Maks. 30	-	-
Kasar Air	% b/b	Maks. 2	-	-

Dari pengamatan pada tabel 1. diketahui bahwa bioetanol yang didapat dari hasil penelitian ini belum memenuhi standar baku

mutu. Hal ini dapat disebabkan karena kurang optimalnya proses pemurnian yang dilakukan pada bioetanol hasil fermentasi. Kondisi operasi yang kurang stabil juga dianggap sebagai salah satu faktor penghambat dalam proses hidrolisis maupun fermentasi nasi aking menjadi bioetanol.

4. KESIMPULAN

- 1) Konsentrasi enzim terbaik yang dapat digunakan untuk proses fermentasi nasi aking menjadi bioetanol adalah sebesar 8gr
- 2) Waktu Fermentasi terbaik adalah 168 jam dengan kadar etanol dengan analisa *Gas Chromatography* sebesar 26,464 % dengan nilai kalor sebesar 190,9833 kkal/kg

DAFTAR PUSTAKA

- Afrianti, H. L., 2004, Fermentasi, <http://www.forumsains.com/index.php/topic,783.msg2697.html> diakses 17 November 2014.
- Assegaf, F., 2009. *Prospek Produksi Bioetanol Bonggol Pisang (Musa Paradisiacal) Menggunakan Metode Hidrolisis Asam dan Enzimatis*. Skripsi. Universitas Jenderal Soedirman : Purwokerto.
- Buckle, K.A., dkk, 1987. Ilmu Pangan, Universitas Indonesia (UI. Press) : Jakarta.
- Fardiaz, Srikandi. 1992. *Mikrobiologi Pangan*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Gaur . 2006. *Process Optimization for the Production of Ethanol Via Fermentation*. Dissertation. Department of Biotechnology and Environment Sciences Thapar Institute of engineering and Technology (Deemed University). Patiala 147004. Patiala Punjab India.
- Judoamidjojo, R.M., darwis, dan E.G. Sa'id. 1992. *Teknologi Fermentasi*. Bogor. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Pusat Antar Universitas Bioteknologi Institut Penelitian Bogor.
- Komarayati, Sri dan Gusmailina. 2010. *Prospek Bioetanol sebagai Pengganti Minyak Tanah*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Hasil Hutan. Bogor.
- Lopattananon, N., Thongpin, C. & Sombabsompop, N. 2012. *Bioplastic from Blend of Cassava and Rice Flours: The Effect of Blend Composition*. International Polymer Processing, XXVII, 3, 334 – 340.

- Rahmat, Miftah Nur 2011. *Laporan Praktikum Biokimia Umum*. Universitas Haluoleo : Kedari.
- Rahmadani, Hijri Agista,dkk.2013. *Studi Pemanfaatan Limbah Makanan Sebagai Bahan Penghasil Etanol untuk Biofuel Melalui Proses Hidrolisis pada Kecepatan Pengadukan dan Waktu Fermentasi yang Berbeda*. Jurnal Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik. Universitas Dipenogoro : Semarang.
- Sassner P, CG Martensson, M Galbe, G Zacchi. 2008. *Steam Pretreatment of H2SO4-impregnated Salix for Production of Bioetanol*. *J. Bioresource Technol.*
- Susanto, T dan B, Saneto. 1994. *Teknologi Pengolahan Hasil Pertanian*. Bina Ilmu : Surabaya.
- Taherzadeh, Mohammad J. and Kamiri, Keikhorso. 2007. *Acid-BasedHydrolysid Processes for Ethanol from Lignocellulosic Material*, *BioResources*, Vol.2, no. 3, pp 472-499.
- Winarno F.G. 2004. *Kimia Pangan dan Gizi* . PT Gramedia Pustaka Utama : Jakarta.
- Wiratmaja, I Gede., Kusuma, I Gusti B.W., dan Winaya, I Nyoman S., 2011. *Pembuatan Etanol Generasi Kedua dengan Memanfaatkan Limbah Rumput Laut Eucheuma Cottonii Sebagai Bahan Baku*. *Jurnal Ilmiah Teknik Mesin* Vol. 5 No.1, Teknik Mesin Universitas Udayana : Bali.