

**PENGARUH WAKTU DAN KADAR *Saccharomyces cerevisiae*  
TERHADAP PRODUKSI ETANOL DARI SERABUT KELAPA  
PADA PROSES SAKARIFIKASI DAN FERMENTASI SIMULTAN  
DENGAN ENZIM SELULASE**



**SKRIPSI**

Oleh :

**FEKI DESFRAN ZELY**  
**A1F010022**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN KIMIA  
JURUSAN MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN  
UNIVERSITAS BENGKULU  
2014**

**PENGARUH WAKTU DAN KADAR *Saccharomyces cerevisiae*  
TERHADAP PRODUKSI ETANOL DARI SERABUT KELAPA PADA  
PROSES SAKARIFIKASI DAN FERMENTASI SIMULTAN DENGAN  
ENZIM SELULASE**



**SKRIPSI**

**Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Memperoleh Gelar Strata I  
Pada Program Studi Pendidikan Kimia  
Fakultas Keguruan Dan Ilmu Pendidikan  
Universitas Bengkulu**

**Oleh :**

**FEKI DESFRAN ZELY  
A1F010022**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN KIMIA  
JURUSAN MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN  
UNIVERSITAS BENGKULU  
2014**

**PENGARUH WAKTU DAN KADAR *Saccharomyces cerevisiae*  
TERHADAP PRODUKSI ETANOL DARI SERABUT KELAPA PADA  
PROSES SAKARIFIKASI DAN FERMENTASI SIMULTAN DENGAN  
ENZIM SELULASE**

**SKRIPSI**

Oleh :

**FEKI DESFRAN ZELY**  
**A1F010022**

Disahkan Oleh :

**FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN**

**Dekan FKIP**

**Ketua Jurusan PMIPA**



**Prof. Dr. Rambat Nur Sasongko, M.Pd**  
**NIP. 19611207 198601 1 001**

**Dra. Diah Arvulina, M.A., Ph.D**  
**NIP. 19620718 198702 2 001**

**PENGARUH WAKTU DAN KADAR *Saccharomyces cerevisiae*  
TERHADAP PRODUKSI ETANOL DARI SERABUT KELAPA PADA  
PROSES SAKARIFIKASI DAN FERMENTASI SIMULTAN DENGAN  
ENZIM SELULASE**

**SKRIPSI**

Oleh :

**FEKI DESFRAN ZELY**

**A1F010022**

Telah Dipertahankan di Depan Tim Penguji Program Studi Pendidikan Kimia  
Jurusan Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan

**Hari/tanggal : Rabu/ 5 Maret 2014**  
**Pukul : 14.00-16.00 WIB**  
**Tempat : Ruang Prodi Pend. Kimia Dekanat FKIP Unib**

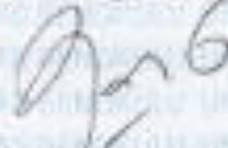
**Skripsi ini telah diperiksa dan disetujui oleh Dosen Pembimbing:**

**Pembimbing Utama**



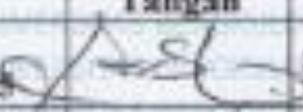
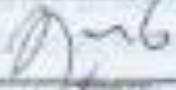
**Dr. Sumpono, M.Si**  
**NIP. 19600825 198703 1 005**

**Pembimbing Pendamping**



**I Nyoman Candra, M.Sc**  
**NIP. 19830729 200604 1 001**

**Skripsi ini telah diperiksa dan disetujui oleh Tim Penguji:**

Penguji	Nama Dosen	Tanda Tangan	Tanggal
Penguji I	Dr. Sumpono, M.Si NIP. 19600825 198703 1 005		21 Maret '14
Penguji II	I Nyoman Candra, M.Sc NIP. 19830729 200604 1 001		7 Maret '14
Penguji III	Dewi Handayani, M.Si NIP. 19821226 200501 2 002		20 Maret '14
Penguji IV	Wiwit, M.Si NIP. 19820512 200812 2 002		20 Maret '14

## Motto dan Persembahan

### Motto

**"Bersyukur untuk apa yang telah terjadi dan berusaha untuk apa yang akan terjadi" (Amal)**

### Persembahan

**Alhamdulillah ya allah... sesungguhnya, aku tidak akan bisa berbuat apapun kecuali atas izin Engkau. Ya allah .. jadikanlah aku sebagai hamba-Mu yang selalu bersyukur pada-Mu. Dengan kerendahan hati kupersembahkan karya ini untuk:**

- **Kedua orang tuaku yang tidak henti-hentinya memberikan semangat, kasih sayang, nasihat dan doa sehingga ananda dapat menyelesaikan cita-cita ini**
- **Kedua pembimbing skripsiku Bapak Sumpono dan Bapak I Nyoman Chandra yang telah memberikan waktu, ilmu, masukan dan perhatian**
- **Someone special yang telah memberi support, doa, dan motivasi. Kebersamaan adalah kesuksesan**
- **Pak hendri (Dosen Pertanian), mas yono (Laboran Agronomi) yang telah membantu dan memberi masukan**
- **Arsela, aang, feri, ronald yang telah menyediakan tempat untuk begadang, nemenin begadang dan memberikan support**
- **Sahabatku anak-anak kechepul**
- **Adek-adek 11, 12 dan 13**
- **Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu**
- **Agama, negara, dan almamaterku**

## PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Feki Desfran Zely

NPM : A1F010022

Program Studi : Pendidikan Kimia

Fakultas : Keguruan dan Ilmu Pendidikan

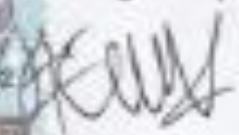
Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi ini merupakan hasil karya ilmiah yang disusun berdasarkan prosedur penelitian/pengembangan yang penulis lakukan sendiri dan bukan merupakan duplikasi skripsi/karya ilmiah orang lain. Pendapat atau temuan orang lain yang terdapat dalam skripsi ini dikutip atau dirujuk berdasarkan kode ilmiah.

Demikian pernyataan keaslian skripsi ini penulis buat agar dapat dipergunakan sebagai mana mestinya.

Bengkulu, Februari 2014

Yang Menyatakan



  
Feki Desfran Zely  
A1F010022

**PENGARUH WAKTU DAN KADAR *Saccharomyces cerevisiae*  
TERHADAP PRODUKSI ETANOL DARI SERABUT KELAPA PADA  
PROSES SAKARIFIKASI DAN FERMENTASI SIMULTAN DENGAN  
ENZIM SELULASE**

**Feki Desfran Zely\*, I Nyoman Chandara, Sumpono**  
Program Studi Pendidikan Kimia  
Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan  
Universitas Bengkulu

**ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh waktu dan kadar *Saccharomyces cerevisiae* terhadap produksi etanol dari serabut kelapa pada proses sakarifikasi dan fermentasi simultan. Serabut kelapa terlebih dahulu didelignifikasi menggunakan larutan NaOH 1%. Selanjutnya disakarifikasi menggunakan jamur *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* serta fermentasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*. Etanol yang diperoleh diukur kadarnya menggunakan metode berat jenis. Kadar etanol yang dihasilkan dengan variasi waktu 3 hari, 4 hari, 5 hari, 6 hari dan 7 hari masing-masing adalah 4,01%, 4,28%, 4,55%, 4,84% dan 5,25%. Sedangkan kadar etanol yang dihasilkan waktu fermentasi 7 hari dengan variasi kadar *Saccharomyces cerevisiae* 1%, 5%, 10%, 15 % dan 20% (b/b) masing-masing adalah 4,09%, 4,97%, 5,40%, 7,87% dan 5,51%. Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa waktu fermentasi dan kadar *Saccharomyces cerevisiae* memiliki pengaruh terhadap kadar etanol yang dihasilkan. Kadar etanol tertinggi pada waktu fermentasi 7 hari dan kadar *Saccharomyces cerevisiae* 15% yaitu 7,87%.

**Kata kunci:** Serabut kelapa, *Saccharomyces Cerevisiae*, Sakarifikasi dan Fermentasi Simultan

\*Korespondensi penulis : [fekidesfranz@gmail.com](mailto:fekidesfranz@gmail.com)

**EFFECT OF TIME AND CONTENT OF *Saccharomyces cerevisiae* TO PRODUCE  
ETHANOL FROM COIR WITH PROCESS SIMULTANEOUS  
SACCHARIFICATION AND FERMENTATION OF CELLULASE ENZYME**

**Feki Desfran Zely\*, I Nyoman Chandra, Sumpono**  
Chemistry Education Program  
Faculty of Teacher Training and Education  
University of Bengkulu

**ABSTRACT**

This study aims to determine the effect of time and the content of *Saccharomyces cerevisiae* to produce ethanol from coir with simultaneous saccharification and fermentation process. The delignification of coir was done using NaOH 1% . Saccharification process was done by adding *Trichoderma reesei* and *Aspergillus niger*. While the process of fermentation was done using *Saccharomyces cerevisiae*. Ethanol obtained was measured using specific gravity method. Levels of ethanol produced by variations in 3 days, 4 days, 5 days, 6 days and 7 days, respectively 4,01%, 4,28%, 4,55%, 4,84% and 5,25%. While the levels of ethanol produced by fermentation time 7 days *Saccharomyces cerevisiae* variation levels 1%, 5%, 10%, 15% and 20% (w/w), respectively 4,09%, 4,97%, 5,40%, 7,87% and 5,51 % . From this study it can be concluded that the time and content of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation has an influence on the levels of ethanol production. The highest ethanol level was produced for 7 days and the levels of *Saccharomyces Cerevisiae* 15% produced 7,87% ethanol.

**Keywords:** Coir, delignification, *Saccharomyces cerevisiae*, Simultaneous Saccharification and Fermentation

\*Correspondent author : [fekidesfranz@gmail.com](mailto:fekidesfranz@gmail.com)

## KATA PENGANTAR

Syukur alhamdulillah penulis ucapkan kepada Allah SWT, atas limpahan nikmat dan karunianya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Pengaruh Waktu dan Kadar *Saccharomyces cerevisiae* Terhadap Produksi Etanol Dari Serabut Kelapa Pada Proses Sakarifikasi Dan Fermentasi Simultan Dengan Enzim Selulase”**.

Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat memperoleh gelar sarjana pada Program Studi Pendidikan Kimia Jurusan Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (PMIPA), Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan (FKIP), Universitas Bengkulu.

Penulis skripsi ini tidak lepas dari bantuan beberapa pihak, untuk itu dengan segala hormat dan kerendahan hati penulis menyampaikan rasa terima kasih kepada :

1. Prof. Dr. Rambat Nur Sasongko, M.Pd selaku Dekan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Bengkulu
2. Dra. Diah Aryulina, MA., Ph.D selaku Ketua Jurusan Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Bengkulu
3. Dewi Handayani, M.Si selaku Ketua Program Studi Pendidikan Kimia, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Bengkulu
4. Dr. Sumpono, M.Si dan I Nyoman Chandra, M.Sc selaku dosen pembimbing
5. Bapak dan Ibu Dosen Program Studi Pendidikan Kimia Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Bengkulu
6. Laboran Agronomi dan IHPT, Fakultas Pertanian Universitas Bengkulu
7. Laboratorium 7 Pendidikan Kimia, Fakultas KIP Universitas Bengkulu

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini belum sempurna. Oleh karena itu saran dan kritik yang sifatnya membangun penulis harapkan sebagai masukan bagi penulisan karya-karya ilmiah lainnya dimasa yang akan datang. Akhirnya penulis juga berharap semoga skripsi ini dapat memberikan sumbangan yang bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

Bengkulu, Februari 2014

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>i</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN</b> .....	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>HALAMAN MOTTO DAN PERSEMBAHAN</b> .....	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI</b> .....	<b>v</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>vi</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>vii</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>viii</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>ix</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	
<b>xi</b>	
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xiii</b>
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Ruang Lingkup Penelitian .....	4
1.4 Keaslian Penelitian .....	4
1.5 Tujuan Penelitian.....	5
1.6 Manfaat Penelitian.....	5
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Studi Pustaka .....	6
2.2 Landasan Teori .....	7
2.2.1 Tanaman kelapa .....	7
2.2.2 Bioetanol .....	9
2.2.3 Jamur <i>Trichoderma reesi</i> dan <i>Aspiligilus niger</i> .....	10
2.2.4 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	12
2.2.5 Sakarifikasi dan Fermentasi Simultan.....	13
2.2.6 Destilasi dan Pengukuran Kadar .....	15
2.3 Hipotesis Sementara .....	16
2.4 Kerangka Berfikir.....	17
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b>	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	18
3.2 Alat dan Bahan .....	18

3.2.1	Alat.....	18
3.2.2	Bahan .....	18
3.3	Pelaksanaan Penelitian .....	18
3.3.1	Persiapan Sampel .....	18
3.3.2	Sterilisasi Alat .....	19
3.3.3	Delignifikasi.....	19
3.3.4	Produksi Etanol .....	19
3.3.4.1	Pengaruh Waktu fermentasi.....	19
3.3.4.2	Pengaruh Kadar <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	20
3.3.5	Destilasi.....	20
3.3.6	Pengukuran Kadar Etanol dengan Metode Berat jenis.....	21
3.3.6.1	Pembuatan Larutan Standar Etanol.....	21
3.3.6.2	Pembuatan Kurva Standar.....	21
3.3.6.3	Pengukuran Kadar Etanol Sampel.....	21
3.3.7	Pengukuran pH Sampel.....	22
<b>BAB IV</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1	Delignifikasi .....	23
4.2	Produksi Etanol dengan Sakarifikasi dan Fermentasi Simultan	25
4.3	Pengukuran Kadar Etanol.....	27
4.4	Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Etanol .....	29
4.5	Pengaruh Kadar <i>S.cerevisiae</i> Terhadap Kadar Etanol .....	32
4.6	Pengukuran pH Sampel .....	34
<b>BAB V</b>	<b>PENUTUP</b>	
5.1	Simpulan.....	36
5.2	Saran.....	36
<b>DAFTAR PUSTAKA</b>	.....	37
<b>LAMPIRAN</b>	.....	41

## DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Komposisi Kimia Serabut Kelap.....	8
Tabel 2.	Sifat Fisika dan Kimia Etanol .....	9
Tabel 3.	pH Awal dan Akhir Sampel Etanol.....	34

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Bagian-bagian Buah Kelapa .....	8
Gambar 2.	Perbandingan Sampel Sebelum dan Setelah Delignifikasi.....	23
Gambar 3.	Mekanisme Pemutusan Ikatan Antara Lignin dan Selulosa.....	24
Gambar 4.	Mekanisme Hidrolisis Selelusa Secara Enzimatik.....	26
Gambar 5.	Mekanisme Fermentasi Etanol .....	27
Gambar 6.	Kurva Larutan Standar Etanol .....	28
Gambar 7.	Grafik Hubungan Lama Fermentasi dengan Kadar Etanol.....	30
Gambar 8.	Kurva Pertumbuhan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	31
Gambar 9.	Grafik Hubungan Kadar <i>S.cerevisiae</i> dengan Kadar Etanol .....	33

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Berat Sampel Setelah Delignifikasi .....	40
Lampiran 2. Pembuatan Kurva Larutan Standar Etanol .....	42
Lampiran 3. Hasil Pengukuran Berat Sampel dan Perhitungan Kadar Etanol Sampel Pengaruh Waktu Fermentasi .....	44
Lampiran 4. Grafik Hubungan Waktu Fermentasi dan Kadar Etanol .....	46
Lampiran 5. Hasil Pengukuran Berat Sampel dan Perhitungan Kadar Etanol Pampel Pengaruh Kadar <i>S. cerevisia</i> .....	47
Lampiran 6. Grafik Hubungan Kadar <i>S. cerevisiae</i> dan Kadar Etanol .....	50
Lampiran 7. Perhitungan Standar Deviasi dan Koefisien Varian .....	51
Lampiran 8. pH Sebelum dan Setelah Fermentasi .....	53
Lampiran 9. Uji Statistik Anova One Way .....	54
Lampiran 10. Dokumentasi Penelitian .....	60
Lampiran 11. Daftar Riwayat Hidup .....	63

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Kebutuhan bahan bakar saat ini semakin meningkat sementara ketersediaan bahan bakar fosil terus berkurang. Sejauh ini, energi yang dominan digunakan berasal dari gas alam, minyak bumi dan batu bara. Akibat semakin menipisnya cadangan sumber-sumber energi yang tidak dapat diperbaharui ini maka sekarang permintaan bahan bakar yang dihasilkan dari sumber daya terbarukan meningkat dalam beberapa tahun terakhir. Sumber energi terbarukan adalah sumber energi yang dihasilkan dari sumber daya energi yang berkelanjutan jika dikelola dengan baik (Nurdyastuti, 2006).

Penelitian mengenai energi terbarukan terus dikembangkan, bahkan menjadi salah satu program pemerintah untuk mengurangi ketergantungan terhadap bahan bakar minyak yang ketersediaanya terus berkurang. Saat ini produk energi alternatif yang berpeluang untuk dikembangkan adalah bioethanol dan biodiesel. Bioetanol memiliki beberapa kelebihan dibandingkan energi alternatif lainnya. Etanol memiliki kandungan oksigen yang tinggi sehingga terbakar lebih sempurna, bernilai oktan lebih tinggi, dan ramah lingkungan (Handayani, 2007 dalam Kusnadi, 2009).

Bioetanol adalah sumber energi terbarukan yang sangat berpotensi untuk dikembangkan di Indonesia. Bioetanol merupakan etanol hasil fermentasi gula, pati-patian atau biomassa lignoselulosa. Bahan dasar yang dapat digunakan antara lain; ubi kayu, ubi jalar, jagung dan sagu (Nurdyastuti, 2006).

Serabut kelapa merupakan limbah dari perkebunan dan perdagangan buah kelapa yang diketahui mengandung senyawa lignin sebesar 40% ,selulosa sebesar 44,4% dan hemiselulosa 15% (Wildan, 2010). Selama ini

limbah sabut kelapa di Indonesia terutama provinsi Bengkulu belum dimanfaatkan secara optimal. Kandungan selulosa pada serabut kelapa dapat dimanfaatkan untuk memproduksi glukosa dan selanjutnya dikonversi menjadi bioetanol.

Agustryanto (2012) menjelaskan bahan tanaman yang mengandung selulosa akan mengakibatkan proses penggulaanya menjadi lebih sulit karena dalam tanaman tersebut mengandung lignin. Lignin merupakan “semen“ yang mengikat fibril-fibril selulosa dan memberikan stabilitas pada kayu (Stevens, 2007). Maka sabut kelapa perlu dilakukan proses delignifikasi untuk mendegradasi lignin dari struktur selulosa, salah satu caranya adalah dengan menggunakan katalis kimia berupa NaOH (Safaria, 2013).

Selulosa yang didapatkan selanjutnya harus disakarifikasi terlebih dahulu untuk menghasilkan monosakarida yang selanjutnya dikonversi menjadi etanol. Salah satu metode untuk konvsersi karbohidrat menjadi etanol yaitu sakarifikasi dan fermentasi simultan. Kelebihan metode ini ialah dapat meningkatkan kecepatan hidrolisis dengan konversi gula, mengurangi kebutuhan enzim, meningkatkan rendemen produk, dapat mengurangi kebutuhan sterilisasi karena glukosa langsung dikonversi menjadi etanol,serta waktu proses lebih pendek (Hermiarti, 2050).

Sakarifikasi ialah proses perubahan polisakarida menjadi glukosa. Salah satu prosesnya menggunakan enzim selulase. Enzim selulase diperoleh dari campuran enzim endoglukanase, eksoglukanase, dan  $\beta$ -glukosidase. Selulase dapat dihasilkan oleh jamur, bakteri maupun tumbuhan. Jamur berfilamen seperti *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* adalah penghasil enzim selulase (Ul-haq, 2005).

*Trichoderma reesei* menghasilkan endoglukanase dan eksoglukanase sampai 80% tetapi  $\beta$ -glukosidasenya lebih rendah sehingga produk utama hidrolisisnya bukan glukosa melainkan selobiosa (Ahmed dan Vermette, 2008). *Aspergillus niger* menghasilkan  $\beta$ -glukosidase tinggi akan tetapi endo-

$\beta$ -1, 4-glukanase dan ekso- $\beta$ -1,4 glukanasenya rendah (Juhasz, 2003). Oleh karena itu perlu adanya penambahan  $\beta$ -glukosidase dari luar untuk mempercepat konversi selobiosa menjadi glukosa dengan cara mengkombinasikan enzim selulase dari *T.reesei* dan *A.niger*.

Fermentasi atau konversi glukosa menjadi etanol menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*. Yeast ini merupakan mikroorganisme yeast yang memiliki kemampuan menghidrolisis polisakarida menjadi monosakarida dan selanjutnya mengubah monosakarida menjadi etanol dan karbondioksida. *Saccharomyces cerevisiae* juga tahan terhadap alkohol dari hasil fermentasi yang cukup tinggi (12-18% v/v), tahan terhadap kadar gula yang tinggi dan tetap aktif melakukan fermentasi pada suhu 4-32°C. Kadar etanol hasil sakarifikasi dan fermentasi simultan dipengaruhi banyak faktor diantaranya yaitu waktu fermentasi dan kadar *Saccharomyces cerevisiae*. Retno (2011) melakukan penelitian berjudul pembuatan bioetanol dari kulit pisang dengan memvariasikan waktu fermentasi dan kadar yeast. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin lama fermentasi dihasilkan etanol banyak sampai pada waktu tertentu dan penambahan yeast memberikan kadar etanol tertinggi sampai pada kadar tertentu.

Berdasarkan uraian diatas perlu dilakukan penelitian “Pengaruh Waktu dan Kadar *Saccharomyces Cerevisiae* Terhadap Produksi Etanol Dari Serabut Kelapa Pada Proses Sakarifikasi Dan Fermentasi Simultan Dengan Enzim Selulase”.

## 1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh waktu terhadap produksi etanol dari serabut kelapa pada proses sakarifikasi dan fermentasi simultan?
2. Bagaimana pengaruh kadar *Saccharomyces cerevisiae* terhadap produksi etanol dari serabut kelapa pada proses sakarifikasi dan fermentasi simultan?

3. Berapa kadar optimum *Saccharomyces cerevisiae* terhadap produksi etanol dari serabut kelapa pada proses sakarifikasi dan fermentasi simultan?

### **1.3 Ruang Lingkup Penelitian**

1. Bahan organik berselulosa yang digunakan yaitu serabut kelapa yang sudah dijemur dan dipotong kecil-kecil
2. Proses delignifikasi menggunakan larutan NaOH 1% pada suhu 100°C.
3. Proses hidrolisis menggunakan campuran jamur *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei* dengan perbandingan (1:2% b/b).
4. Waktu yang digunakan pada proses sakarifikasi dan fermentasi simultan yaitu 3 hari, 4 hari, 5 hari, 6 hari dan 7 hari.
5. Fermentasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* dengan variasi kadar 1, 5, 10, 15, 20 (% b/b).
6. Pengukuran kadar etanol menggunakan metode berat jenis.

### **1.4 Keaslian Penelitian**

Penelitian tentang pengaruh waktu dan kadar *Saccharomyces cerevisiae* terhadap produksi etanol dari serabut kelapa pada proses sakarifikasi dan fermentasi simultan dengan enzim selulase belum pernah dilakukan dan belum ditemukan publikasi ilmiahnya.

### **1.5 Tujuan Penelitian**

Adapun tujuan dari penelitian ini ialah sebagai berikut :

1. Untuk mengetahui bagaimana pengaruh waktu terhadap produksi etanol dari serabut kelapa pada proses sakarifikasi dan fermentasi simultan .
2. Untuk mengetahui bagaimana pengaruh kadar *saccharomyces cerevisiae* terhadap produksi etanol dari serabut kelapa pada proses sakarifikasi dan fermentasi simultan

3. Untuk mengetahui kadar optimum *Saccharomyces cerevisiae* terhadap produksi etanol dari serabut kelapa pada proses sakarifikasi dan fermentasi simultan.

#### **1.6 Manfaat Penelitian**

Manfaat dari penelitian ini adalah dapat menambah wawasan dan memberi informasi untuk peneliti dan pembaca tentang proses pengolahan serabut kelapa menjadi etanol dan mengetahui kadar optimum *Saccharomyces cerevisiae* terhadap produksi etanol dari serabut kelapa pada proses sakarifikasi dan fermentasi simultan dengan enzim selulase.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Studi Pustaka

Serabut kelapa tersusun atas lignin, selulosa, hemiselulosa, pektin serta zat ekstraaktif lainnya. Kandungan selulosa yang terdapat pada serabut kelapa ini dapat dimanfaatkan untuk memproduksi glukosa melalui proses hidrolisis. Agustriyanto (2012) menjelaskan kandungan selulosa pada serabut kelapa dapat dihidrolisis secara enzimatik yang terlebih dahulu dilakukan perlakuan awal. Perlakuan awal tersebut yaitu proses delignifikasi agar proses hidrolisis tidak terhambat sehingga selulosa dapat dihidrolisis menjadi glukosa.

Safaria (2013) menjelaskan selulosa yang terdapat pada serabut kelapa dapat dimanfaatkan untuk memproduksi glukosa dengan proses hidrolisis. Hidrolisis dilakukan dengan menggunakan proses hidrolisis dengan enzimatik. Enzim yang digunakan yaitu enzim selulase yang diperoleh dari campuran enzim endoglukanase, eksoglukanase, dan  $\beta$ -glukosidase yang dapat dihasilkan oleh jamur berfilamen seperti *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger*. *Trichoderma reesei* menghasilkan endoglukanase dan eksoglukanase sampai 80% tetapi  $\beta$ -glukosidasenya lebih rendah sehingga produk utama hidrolisisnya bukan glukosa melainkan selobiosa. *Aspergillus niger* menghasilkan  $\beta$ -glukosidase tinggi akan tetapi endo- $\beta$ -1, 4-glukanase dan ekso- $\beta$ -1,4 glukanasenya rendah. Oleh karena itu perlu adanya penambahan  $\beta$ -glukosidase dari luar untuk mempercepat konversi selobiosa menjadi glukosa dengan cara mengkombinasikan enzim selulase dari *T.reesei* dan *A.niger*.

Salah satu metode untuk konversi karbohidrat menjadi etanol yaitu sakarifikasi dan fermentasi simultan. Kelebihan metode ini ialah dapat meningkatkan kecepatan hidrolisis dengan konversi gula, mengurangi

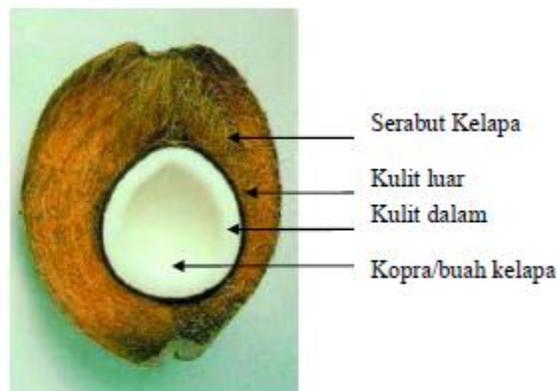
kebutuhan enzim, meningkatkan rendemen produk, dapat mengurangi kebutuhan sterilisasi karena glukosa langsung dikonversi menjadi etanol, serta waktu proses lebih pendek (Hermiarti, 2005). Samsuri (2007) melaporkan, dengan menggunakan metode sakarifikasi dan fermentasi simultan kadar etanol yang dihasilkan dari bagas residu padat pengolahan tebu lebih besar dibandingkan dengan metode terpisah.

## **2.2 Landasan Teori**

### **2.2.1 Tanaman kelapa**

Tanaman kelapa merupakan tanaman perkebunan atau industri berupa pohon batang lurus dari famili palmae. Tanaman kelapa tanaman serbaguna atau tanaman yang mempunyai nilai ekonomi yang tinggi. Seluruh bagian dapat dimanfaatkan untuk kepentingan manusia (Anonim, 2013). Tanaman kelapa terdiri atas akar, batang, daun dan buah. Buah kelapa itu terdiri atas kulit luar buah, serabut kelapa, tempurung, daging buah/kopra seta air kelapa.

Buah kelapa mengandung sekitar 65% berat kernel (bagian tempurung, daging buah, dan air) dan 35% serabut kelapa. Sabut kelapa terdiri atas serbuk serabut dan serat serbuk kelapa. Di beberapa daerah di Indonesia serabut kelapa tersebut merupakan produk samping dari industri kopra. Dimana serabut kelapa tersebut dibuang atau digunakan sebagai bahan bakar memasak tradisional (Wildan, 2010). Berikut ini gambar dari bagian-bagian buah kelapa:



**Gambar 1.**Bagian buah kelapa

Serabut kelapa dapat dibagi menjadi dua jenis yaitu serabut yang berwarna putih dan serabut yang berwarna coklat . Serabut yang berwarna putih diperoleh dari buah kelapa yang belum matang, sedangkan yang berwarna coklat didapat dari buah kelapa yang sudah matang (Van, 2007).

**Tabel 1.**Komposisi kimia serabut kelapa

Komposisi	Jumlah ( % berat kering )
Selulosa	44,44
Hemiselulosa	0,25
Pektin	3
Lignin	40,4
Zat ekstrakaktif	2,2

(Agustriyanto, 2012)

Dari tabel diatas diketahui bahwa serabut kelapa tersusun atas lignin, selulase, hemiselulase, pektin serta zat ekstraaktif lainnya. Kandungan selulosa yang terdapat pada serabut kelapa ini dapat dimanfaatkan untuk memproduksi glukosa melalui proses hidrolisis, baik secara kimia maupun enzimatik. Secara enzimatik dapat menggunakan enzim selulase yang diperoleh dari campuran jamur *Trichoderma reseei* dan *Aspergillus niger* (Safaria, 2013).

### 2.2.2 Bioetanol

Bioetanol adalah sumber energi terbarukan yang sangat berpotensi untuk dikembangkan di Indonesia. Bioetanol merupakan etanol hasil fermentasi gula, pati-patian atau biomassa lignoselulosa. Bahan dasar yang dapat digunakan antara lain; ubi kayu, ubi jalar, jagung dan sagu (Nurdyastuti, 2006). Pembuatan bioetanol dapat dilakukan melalui proses fermentasi. Bahan baku pembuatan bioetanol terdiri dari bahan-bahan yang mengandung karbohidrat, glukosa dan selulosa (Retno, 2011).

Etanol senyawa yang sering digunakan dalam industri kimia antara lain sebagai pelarut (40%), untuk membuat asetaldehid (36%), eter, glikol eter, etil asetat dan kloral (9%). Kebutuhan akan etanol semakin bertambah seiring dengan menipisnya persediaan bahan bakar minyak bumi. Negara yang secara luas telah menggunakan etanol sebagai bahan bakar adalah Brasil. Negara tersebut memproduksi etanol dari tetes tebu dengan proses fermentasi. Beberapa komoditas pertanian yang mengandung karbohidrat seperti gula sederhana, pati dan selulosa (seperti rumput, kayu pohon, jerami) merupakan sumber energi penting untuk fermentasi etanol. Sumber karbohidrat tersebut dapat diperoleh dari kultivasi tanaman sumber energi, tanaman potensial yang tumbuh secara alami, maupun limbah hasil pertanian (Surayya, 2008).

Etanol kependekan dari etil-alkohol ( $C_2H_5OH$ ), bentuknya berupa cairan tak berwarna dan mempunyai bau khas yang menusuk hidung, dan mudah menguap, larut dalam air dan eter. Berikut sifat fisik etanol.

**Tabel 2.**Sifat fisik etanol

Properties	Nilai
Massa molekul relatif	46,07 g/mol
Titik beku	-114,1 °C
Titik didih normal	78,32 °C
Densitas	0,7893 g/mol
Kelarutan dalam air	Sangat larut
Kalor penguapan 78,32 °C	200,6 kal/g
Viskositas pada suhu kamar	1,17 Cp

(Sari, 2009 Dalam Muryanto, 2012)

Secara umum teknologi produksi bioetanol berbahan dasar pati mencakup 3 (tiga) rangkaian proses (Nurdyastuti, 2006), yaitu: persiapan bahan baku (hidrolisis), fermentasi, destilasi dan pemurnian. Pada tahap hidrolisis terjadi perubahan pati menjadi glukosa yang melibatkan *starter* enzim atau asam. Tahap fermentasi merupakan konversi glukosa, menjadi etanol. Sedangkan tahap destilasi dan pemurnian dilakukan untuk meningkatkan kadar etanol yang dihasilkan.

### **2.2.3 Jamur *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger***

Jamur adalah jenis tumbuhan yang tidak berdaun dan tidak berbuah, berkembang biak dengan spora, biasanya berbentuk payung, tumbuh di daerah berair atau lembab atau batang busuk. Jamur adalah tubuh buah yang tampak di permukaan media tumbuh dari sekelompok fungi (*Basidiomycota*) yang berbentuk seperti payung, terdiri dari bagian yang tegak (batang) dan bagian yang mendatar atau membulat. Beberapa jamur aman dimakan manusia bahkan beberapa dianggap berkhasiat obat, dan beberapa yang lain beracun. Contoh jamur yang bisa dimakan : jamur merang (*Volvariella volvacea*), jamur tiram (*Pleurotus*), jamur kuping (*Auricularia polytricha*), jamur kancing atau *champignon* (*Agaricus campestris*), dan jamur *shiitake* (*Lentinus edulis*) (Anonim, 2010).

*Aspergillus niger* merupakan salah satu spesies yang paling umum dan mudah diidentifikasi dari genus *Aspergillus*, *Aspergillus niger* dapat tumbuh dengan cepat, dapat tumbuh pada suhu 35°C-37°C (optimum), 6°C-8°C (minimum), 45°C-47°C (maksimum) dan memerlukan oksigen yang cukup. *Aspergillus niger* memiliki bulu dasar berwarna putih atau kuning dengan lapisan konidiospora tebal berwarna coklat gelap sampai hitam.

*Aspergillus niger* merupakan salah satu jamur berfilamen yang dapat memproduksi enzim selulase. Enzim selulase diperoleh dari campuran enzim endoglukanase, eksoglukanase, dan  $\beta$ -glukosidase (Ul-Haq, 2005).

*Aspergillus niger* menghasilkan  $\beta$ -glukosidase tinggi akan tetapi endo- $\beta$ -1, 4-glukanase dan ekso- $\beta$ -1,4 glukanasanya rendah (Juhasz, 2003).

*Trichoderma reesei* tergolong jamur yang banyak terdapat pada lapisan olah yang mengandung banyak lahan organik. Jamur *Trichoderma* dapat berkembang biak dengan baik pada kondisi tanah yang asam, netral maupun alkalin, akan sangat baik pada kondisi asam karena persaingannya dengan bakteri dan actinomycetes sangat terbatas. Selanjutnya jamur *Trichoderma* memiliki kemampuan untuk dapat menghancurkan selulosa, zat pati, lignin, gum dan senyawa-senyawa organik yang mudah larut seperti protein dan gula (Soepardi, 1983).

*Trichoderma reesei* jamur berfilamen yang dapat menghasilkan endoglukanase dan eksoglukanase sampai 80% tetapi  $\beta$ -glukosidasenya lebih rendah sehingga produk utama hidrolisisnya bukan glukosa melainkan selobiosa (Safaria, 2013).

#### **2.2.4Yeast *Saccharomyces ceriviseae***

Ragi/khamir merupakan mikroba bersel tunggal yang berukuran 5-20 mikron. Khamir sejati tergolong eukariot yang secara morfologi hanyamembentuk blastospora berbentuk bulat lonjong, silindris, oval atau bulattelur yang dipengaruhi oleh strainnya (Heru, 2011). Menurut Judoamidjojo (1990), dalam ragi terdapat banyak jenis khamir, tetapi hanya satu spesies yang dikenal dapat mengkonversi gula menjadi etanol yang sangat tinggi yaitu *Saccaromyces cereviceae*. Jenis ini menghasilkan enzim *zimase* dan *invertase*. Fungsi enzim *invertase* adalah untuk memecah sukrosa ataupun polisakarida (pati) yang belum terhidrolisis untuk diubah menjadi monosakarida (glukosa). Sedangkan enzim *zimase* selanjutnya mengubah monosakarida menjadi etanol dengan proses fermentasi.

*Saccharomyces cerevisiae* berkembang biak dengan membelah diri melalui "*budding cell*". Reproduksiya dapat dipengaruhi oleh keadaan

lingkungan serta jumlah nutrisi yang tersedia bagi pertumbuhan sel .

Taksonomi *Saccharomyces cerevisiae* adalah sebagai berikut :

Super Kingdom	: Eukaryota
Phylum	: Fungi
Subphylum	: Ascomycota
Class	: Saccharomycetes
Order	: Saccharomycetales
Family	: Saccharomycetaceae
Genus	: Saccharomyces
Species	: <i>Saccharomyces cerevisiae</i>

*Saccharomyces cerevisiae* dapat berkembang biak dalam gula sederhana seperti glukosa, maupun gula kompleks disakarida yaitu sukrosa. Khamir ini merupakan mikroba yang umum digunakan dalam fermentasi yang banyak terdapat dalam ragi pasar (Dwidjoseputro dalam Surnanti E, 2004).

Khamir mempunyai keadaan lingkungan tempat hidup yang spesifik. Kisaran suhu optimal untuk kebanyakan khamir sama dengan kapang, yaitu pada 25-30<sup>0</sup>C. Khamir lebih menyukai tumbuh pada keadaan asam, yaitu pada pH 4-5, dan tidak dapat tumbuh dengan baik pada medium alkali, kecuali jika telah beradaptasi. Khamir tumbuh dengan 21 baik pada kondisi aerobik, tetapi yang bersifat fermentatif dapat tumbuh secara anaerobik meskipun lambat. *Saccharomyces cerevisiae* merupakan organisme fakultatif anaerob yang dapat menggunakan baik sistem aerob maupun anaerob untuk memperoleh energi dari pemecahan glukosa. *Saccharomyces cerevisiae* dapat menghasilkan alkohol dalam jumlah yang besar (Elevri & Putra, 2006).

### 2.2.5 Sakarifikasi dan Fermentasi Simultan

Pada tahap sakarifikasi, selulosa diubah menjadi selobiosa dan selanjutnya menjadi gula-gula seperti glukosa (Hermiati, 2010). Sakarifikasi sama halnya dengan hidrolisis. Hidrolisis selulosa dapat dilakukan secara

kimia maupun enzimatik yang bersumber dari jamur berfilamen seperti *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* (Safaria, 2013).

Enzim memiliki kemampuan mengaktifkan senyawa lain secara spesifik dan dapat meningkatkan kecepatan reaksi kimia. Enzim memiliki ukuran yang sangat besar apabila dibandingkan dengan substrat gugus fungsional targetnya. Beberapa enzim hanya terdiri dari polipeptida dan tidak mengandung gugus kimiawi selain asam amino (Samsuri, 2007).

Sakarifikasi enzimatik memiliki beberapa keuntungan dibandingkan dengan hidrolisis asam, diantaranya dapat menimbulkan korosi pada alat, serta mengurangi kehilangan energi pada bahan bakar produksi (Sum dan Chang, 2002 Dalam Hermiati, 2010). Selain itu sakarifikasi menggunakan asam bersifat tidak spesifik, dan dapat menghasilkan produk samping selain gula seperti furan, fenolik dan asam asetat. Produk samping kalau tidak dihilangkan akan menghambat proses selanjutnya yaitu fermentasi (Chandel, 2007 dalam Hermiarti, 2010).

Enzim yang digunakan untuk menghidrolisis selulosa dari serabut kelapa yaitu enzim selulase. Enzim selulase diperoleh dari campuran enzim endoglukanase, eksoglukanase dan  $\beta$ -glukosidase. Selulase dapat dihasilkan oleh jamur, bakteri maupun tumbuhan. Jamur berfilamen seperti *Trichoderma* dan *Aspergillus* adalah penghasil enzim selulase (Safaria, 2013).

*Trichoderma reesei* menghasilkan endoglukanase dan eksoglukanase sampai 80% tetapi  $\beta$ -glukosidasenya lebih rendah sehingga produk utama hidrolisisnya bukan glukosa melainkan selobiosa (Ahmed dan Vermette, 2008). *Aspergillus niger* menghasilkan  $\beta$ -glukosidase tinggi akan tetapi endo- $\beta$ -1, 4-glukanase dan ekso- $\beta$ -1,4 glukanasenya rendah (Juhasz, 2003). Oleh karena itu perlu adanya penambahan  $\beta$ -glukosidase dari luar untuk mempercepat konversi selobiosa menjadi glukosa dengan cara mengkombinasikan enzim selulase dari *T.reesei* dan *A.niger* (Safaria, 2013).

Proses selanjutnya setelah sakarifikasi yaitu fermentasi. Istilah fermentasi klasik yaitu upaya penguraian senyawa-senyawa organik kompleks dengan bantuan mikroorganisme pada kondisi anaerob untuk menghasilkan produk. Sedangkan fermentasi modern yaitu upaya perubahan substrat dengan bantuan mikroorganisme dalam kondisi terkontrol sehingga menghasilkan bahan yang lebih berguna (Pujaningsih, 2005).

Fermentasi akan merubah satu molekul glukosa menjadi dua etanol dan dua molekul karbondioksida. Hasil fermentasi biasanya hanya terbentuk larutan etanol encer, karena sel-sel yeast akan mati pada kadar etanol yang pekat. Untuk mendapatkan kadar etanol yang tinggi, larutan tersebut harus didistilasi (Fessenden dan Fessenden, 1990).

Fermentasi oleh *Sacharomyces cereviseae* dapat menghasilkan etanol 8-12% dan biasa disebut cairan *beer*. Keadaan lingkungan optimal untuk fermentasi oleh *Sacharomyces cereviseae* adalah pada suhu 25- 30<sup>0</sup>C dengan pH 4-5. Pada awal fermentasi masih diperlukan oksigen untuk pertumbuhan dan perkembangan, tetapi kemudian tidak dibutuhkan lagi karena kondisi proses yang diperlukan adalah anaerob (Retno, 2006). Bahan-bahan yang mengandung monosakarida langsung dapat difermentasikan, akan tetapi disakarida, polisakarida harus disakarifikasi terlebih dahulu menjadi komponen yang lebih sederhana. Oleh karena itu agar proses fermentasi berjalan optimal maka bahan-bahan harus mengalami perlakuan pendahuluan sebelum ke proses fermentasi (Samsuri, 2007).

Salah satu metode untuk konversi karbohidrat menjadi etanol yaitu sakarifikasi dan fermentasi simultan. Kelebihan metode ini ialah dapat meningkatkan kecepatan hidrolisis dengan konversi gula, mengurangi kebutuhan enzim, meningkatkan rendemen produk, dapat mengurangi kebutuhan sterilisasi karena glukosa langsung dikonversi menjadi etanol, serta waktu proses lebih pendek (Hemiarti, 2010).

Pada metode terdahulu, proses sakarifikasi dan fermentasi dilakukan secara terpisah. Sedangkan metode terbaru adalah proses sakarifikasi dan fermentasi simultan. SSF ini dilakukan dalam satu wadah yang sama dan kontinu. Sakarifikasi bertujuan memecah polisakarida menjadi monosakarida sehingga dapat langsung difermentasi oleh yeast. Keuntungan lainnya kerja enzim selulase tidak terhambat oleh produk sakarifikasi seperti selobiosa dan glukosa dan dapat mengurangi biaya produksi (Sum dan Cheng, 2002 dalam Hermiarti, 2010).

### **2.2.7 DESTILASI DAN PENGUKURAN KADAR ETANOL**

Menurut Nurdyastuti (2006), untuk meningkatkan kemurnian bioetanol hasil fermentasi, maka harus melalui proses destilasi. Prinsip kerja destilasi adalah dengan mempertimbangkan titik didih masing-masing larutan. Titik didih etanol murni adalah  $78^{\circ}\text{C}$  sedangkan air adalah  $100^{\circ}\text{C}$  (kondisi standar). Pemanasan larutan pada suhu  $78\text{-}100^{\circ}\text{C}$  akan mengakibatkan sebagian besar etanol menguap, dan melalui unit kondensasi akan bisa menghasilkan etanol dengan konsentrasi lebih tinggi.

Untuk mengetahui kadar etanol yang dihasilkan dari proses destilasi, maka perlu dianalisa atau diukur kadarnya. Salah satu metode pengukuran kadar etanol yaitu metode berat jenis (piknometer). Berat jenis untuk penggunaan praktis lebih sering didefinisikan sebagai perbandingan massa dari suatu zat terhadap massa sejumlah volume air yang sama pada suhu  $4^{\circ}\text{C}$  atau temperatur lain yang tertentu. Notasi berikut sering ditemukan dalam pembacaan berat jenis:  $25^{\circ}/25^{\circ}$ ,  $25^{\circ}/4^{\circ}$ , dan  $4^{\circ}/4^{\circ}$ . Angka yang pertama menunjukkan temperatur udara saat zat ditimbang, angka yang berikutnya menunjukkan temperatur air yang digunakan (Mardoni, 2007).

Menurut Surraya (2008) pengukuran kadar etanol hasil fermentasi dari bahan berpati dapat dilakukan menggunakan metode berat jenis yang merupakan metode konvensional. Pengukuran ini dilakukan dengan Etanol p.a.

sebanyak 1,0: 2,0: 3,0: dan 4,0 mL diambil dengan mikropipet dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, kemudian 25 ditambahkan akuades hingga volume 100 mL. Replikasi dilakukan sebanyak 3 kali. Piknometer dibersihkan secara hati-hati menggunakan aseton, kemudian dikeringkan dan ditimbang. Piknometer diisi dengan akuades secara hati-hati hingga penuh, kelebihan akuades pada puncak pipa kapiler dibersihkan. Piknometer yang berisi akuades segera ditimbang dan beratnya dicatat. Cara yang sama dilakukan untuk larutan baku etanol. Berat jenis dihitung dengan rumus berikut:

$$\rho = \frac{m}{v}$$

Keterangan :  $\rho$  : Berat Jenis Larutan Standar Etanol ( $\frac{g}{mL}$ )

m : Massa (g)

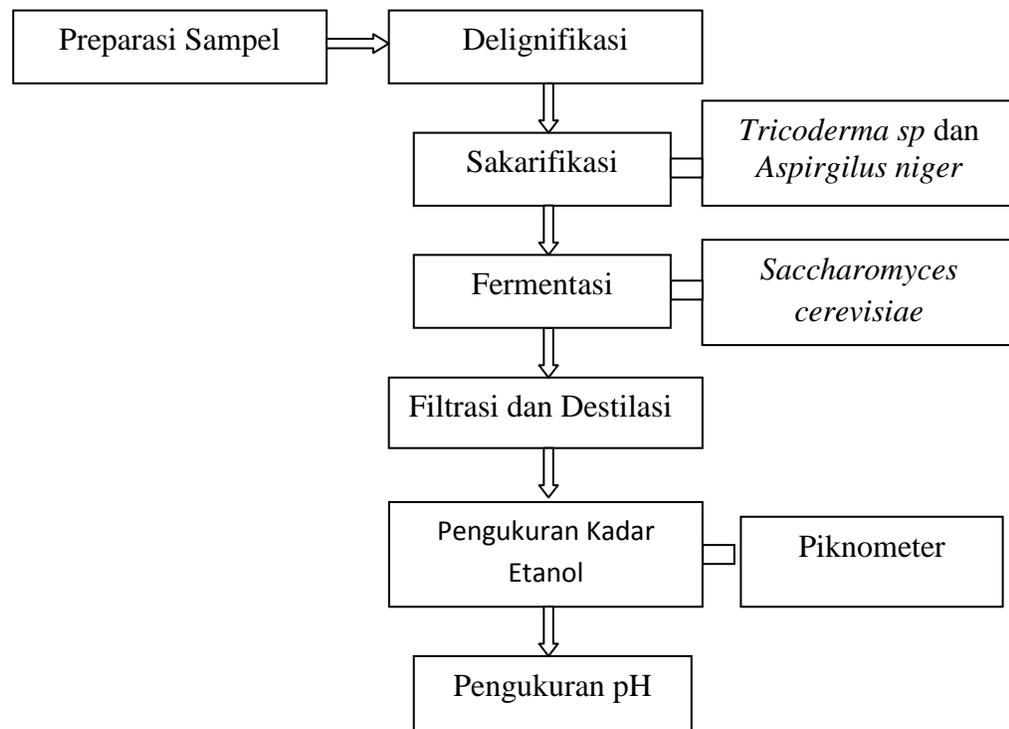
v : Volume Piknometer (mL)

Kadar etanol dihitung menggunakan persamaan kurva baku konversi BJ etanol. Berat jenis larutan etanol semakin kecil, maka kadar etanol di dalam larutan tersebut semakin besar. Hal ini dikarenakan etanol mempunyai berat jenis lebih kecil daripada air sehingga semakin kecil berat jenis larutan berarti jumlah/kadar etanol semakin banyak (Mardoni, 2007)

### 2.2.8 Hipotesis

Dari tinjauan pustaka diatas dapat diketahui bahwa adanya pengaruh lama fermentasi dan kadar *Saccharomyces cerevisiae* terhadap produksi etanol dari serabut kelapa. Produksi bioetanol ini menggunakan jamur *Trichoderma reesei* dan *Aspirgillus niger* untuk menghidrolisis selulosa menjadi glukosa selanjutnya dengan menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* mengubah glukosa menjadi etanol.

### 2.2.9 Kerangka Berfikir



## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Pendidikan Kimia Ruang 7 GKB III, Laboratorium Ilmu Hama dan Penyakit Tanaman (IHPT), dan Laboratorium Agronomi Universitas Bengkulu pada bulan Desember hingga Januari 2014.

#### **3.2 Alat dan Bahan**

##### **3.2.1 Peralatan Penelitian**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya: Piknometer, autoclave, laminary air flow, sheker, blender, hotplate, gelas kimia, erlenmeyer, pH meter, seperangkat alat destilasi, pengaduk, gelas ukur, kain steril, neraca Ohaus, pisau, vacum filter, oven, pipet tetes, labu ukur, kertas saring, cawan petri serta kaca arloji.

##### **3.2.1 Bahan-bahan Penelitian**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah serabut kelapa, *Thricoderma reesei*, *Aspergillus ninger*, aquades, *Sacchromyces cerevisiae*, NaOH 1M, HCl 1M dan etanol 96%.

#### **3.3 Pelaksanaan Penelitian**

##### **3.3.1 Persiapan Sampel**

1. Serabut kelapa dibersihkan dari kotoran ,kemudian dicacah berukuran kecil.
2. Selanjutnya dikeringkan untuk mengurangi kadar air dengan bantuan sinar matahari.

3. Sampel yang sudah kering diblender untuk memperkecil lagi ukuran sampel.

### **3.3.2 Sterilisasi Alat**

Sebelum digunakan, alat-alat haruslah disterilisasikan dahulu. Tujuan sterilisasi ini adalah untuk membunuh mikroba yang tidak diinginkan yang terdapat pada alat-alat agar tidak mengganggu mekanisme percobaan. Sterilisasi ini dapat dilakukan dengan merebus alat-alat yang akan digunakan dalam percobaan selama kurang lebih 15 menit. Kemudian, alat ditempatkan dalam plastik yang sudah disterilkan.

### **3.3.3 Delignifikasi**

Lignin materi polimer yang rumit, bertindak sebagai matrik untuk mengikat serat-serat selulosa (Oxtoby, 2003). Lignin harus dirusak untuk menghasilkan selulosa. Adapun proses delignifikasi ini menggunakan proses delignifikasi secara kimia yaitu dengan cara menggunakan senyawa NaOH konsentrasi 1% selama satu jam disertai pemanasan pada suhu 100°C (Fatmawati, 2012) disertai pengadukan.

Serabut kelapa 200 gram dimasukkan dalam erlenmeyer 1000 mL ditambahkan larutan NaOH 1% sampai terendam disertai pemanasan pada suhu 100°C dan pengadukan 150 rpm selama satu jam. Selanjutnya ampas disaring dan dicuci menggunakan aquadest. Ampas dikeringkan dalam oven hingga berat konstan.

### **3.3.4 Produksi Etanol**

#### **3.3.4.1 Pengaruh waktu Pada proses Sakarifikasi dan Fermentasi Simultan**

1. Serabut kelapa yang sudah didelignifikasi ditimbang sebanyak 50 gram, lalu ditambahkan aquades sebanyak 150 mL didalam wadah SSF diaduk hingga rata.

2. Ditambahkan 10% *Trichoderma reesei*, 5% *Aspergillus niger* dan *saccharomyces cereviseae* 10%.
3. Selanjutnya diaduk dengan kecepatan 160 rpm dan diukur pH awal 5 dengan menambahkan HCl atau NaOH (Safaria S, 2013).
4. Sakarifikasi dan fermentasi simultan dengan variasi waktu 3 hari, 4 hari, 5 hari, 6 hari dan 7 hari.

#### **3.3.4.2 Pengaruh Kadar *Saccharomyces cerevisiae***

1. Serabut kelapa yang sudah didelignifikasi ditimbang sebanyak 50 gram, lalu ditambahkan aquades sebanyak 150 mL didalam wadah SSF diaduk hingga rata.
2. Ditambahkan 10% *Trichoderma reesei*, 5% *Aspergillus niger* dan *Saccharomyces cerevisiae* divariasikan (1, 5, 10, 15 dan 20% b/b).
3. Selanjutnya diaduk dengan kecepatan 160 rpm dan diukur pH awal 5 dengan menambahkan HCl atau NaOH (Safaria, 2013).
4. Sakarifikasi dan fermentasi simultan pada waktu optimum.

#### **3.3.5. Destilasi**

Destilasi merupakan suatu proses pemisahan dua atau lebih komponen zat cair berdasarkan pada titik didih. Secara sederhana destilasi dilakukan dengan memanaskan/menguapkan zat cair lalu uap tersebut didinginkan kembali supaya jadi cair dengan bantuan kondensor. Destilasi ini digunakan untuk memisahkan etanol dari air, yang mana air dan etanol memiliki titik didih yang berjauhan. Air memiliki titik didih 100°C dan etanol 78°C. Hasil fermentasi yang didapatkan disaring menggunakan vacum filter. Filtrat didestilasi hingga seluruh cairan menguap dan yang tersisa hanyalah residu padat .

### 3.3.6 Pengukuran Kadar Etanol Dengan Metode Berat Jenis

#### 3.3.6.1 Pembuatan larutan standar etanol.

Larutan standar yang dibuat adalah 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 45%, dan 50%. Larutan etanol asal yang digunakan adalah larutan etanol 96%, volume akhir larutan yang dibuat adalah 48 ml. Sehingga untuk membuat larutan-larutan standar tadi, volume etanol dan aquades yang dibutuhkan dicari dengan metode pengenceran.

#### 3.3.6.2 Pembuatan kurva standar

Piknometer dibersihkan secara hati-hati dengan menggunakanaseton, kemudian dikeringkan dan ditimbang. Piknometer diisi dengan akuades secara hati-hati hingga penuh dan termometer dimasukkan.kelebihan akuades pada puncak pipa kapiler dibersihkan. Piknometer yang berisi akuades segera ditimbang dan beratnya dicatat. Cara yang sama dilakukan untuk larutan baku etanol.

Berat jenis dihitung dengan rumus berikut:

$$\rho = \frac{m}{v}$$

Keterangan :  $\rho$  : Berat Jenis Larutan Standar Etanol ( $\frac{g}{mL}$ )

m : Massa (g)

v : Volume Piknometer (mL)

Setelah didapatkan berat jenis masing-masing larutan standar etanol, lalu dibuat kurva standar larutan etanol.

#### 3.3.6.3 Pengukuran Kadar etanol larutan sampel

Pengukuran berat jenis larutan sampel etanol dilakukan dengan prosedur yang sama dengan pengukuran berat jenis larutan

standar/baku. Kadar larutan sampel etanol ditentukan dengan menggunakan persamaan regresi linier.

### **3.3.7 Pengukuran pH Sampel**

Prosedur pengujian pH dilakukan dengan mengukur suhu sampel terlebih dahulu kemudian mengatur suhu pH meter pada suhu terukur. pH meter dinyalakan dan dibiarkan agar stabil selama 15-30 menit. Elektroda dibilas dengan aquades dan dikeringkan dengan tisu. Kemudian elektroda dicelupkan pada sampel sampai diperoleh pembacaan skala yang stabil.