PRODUKSI BIOETANOL DARI LIMBAH JERAMI PADI BERBANTUKAN ENZIM SELULASE TERIMOBILISASI DARI LIMBAH BAGLOG JAMUR TIRAM

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
gelar Sarjana Sains (S.Si.) pada Program Studi Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia
Yogyakarta

Diajukan oleh:

RIFQI NOVALINO RIKSAWAN

No. Mahasiswa: 17612100

PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
2021

PRODUKSI BIOETANOL DARI LIMBAH JERAMI PADI BERBANTUKAN ENZIM SELULASE TERIMOBILISASI DARI LIMBAH BAGLOG JAMUR TIRAM

SKRIPSI

yang diajukan oleh:

RIFQI NOVALINO RIKSAWAN
No. Mahasiswa : 17612100

telah dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Prodi Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia

Tanggal: 9 Maret 2021

Dewan Penguji	Tanda Tangan
1. Dr. Tatang Shabur Julianto, S.Si., M.Si.	.....
2. Dr. Habibi Hidayat, S.Pd., M.Si.	.....
3. Amri Setyawati, S.Si., M.Sc.	.....

Mengetahui,
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia

Prof. Riyanto, S.Pd., M.Si., Ph.D.
NIK : 006120101

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama	: Rifqi Novalino Riksawan
NIM	: 17612100
Program Studi	: Kimia
Fakultas	: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi saya dengan judul Poduksi Bioetanol dari Limbah Jerami Padi Berbantukan Enzim Selulase Terimobilisasi dari Limbah Baglog Jamur Tiram bersifat asli dan tidak berisi material yang telah diterbitkan sebelumnya kecuali referensi yang disebutkan didalam skripsi ini. Apabila terdapat kontribusi dari penulis lain, maka penulis tersebut secara eksplisit telah disebutkan didalam skripsi ini. Apabila kemudian hari ditemukan ketidaksesuaian dengan pernyataan ini, maka saya bersedia dituntut dan di proses sesuai dengan ketentuan yang berlaku.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan sesungguhnya dan penuh tanggung jawab.

Yogyakarta, 9 Maret 2021

Yang Menyatakan,



Rifqi Novalino Riksawan
NIM. 17612100

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr.Wb.

Puji syukur senantiasa penulis panjatkan atas kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga proposal skripsi yang berjudul **"Produksi Bioetanol dari Limbah Jerami Padi Berbantukan Enzim Selulase Terimobilisasi dari Limbah Baglog Jamur Tiram"** ini dapat terselesaikan tepat waktu. Shalawat serta salam semoga senantiasa tercurahkan kepada junjungan Nabi Muhammad SAW yang dinantikan syafa'atnya di yaumil akhir nanti.

Proposal skripsi ini tidak dapat terselesaikan tanpa adanya bantuan dari berbagai pihak, baik berupa material maupun non material, pada kesempatan ini penulis ucapkan terimakasih kepada:

1. Bapak Fathul Wahid, S.T., M.Sc., Ph.D. selaku Rektor Universitas Islam Indonesia.
2. Bapak Prof. Riyanto, S.Pd., M.Si., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
3. Ibu Prof. Dr. Is Fatimah, S.Si, M.Si. selaku Ketua Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
4. Bapak Dr. Dwiarso Rubiyanto, S.Si., M.Si. selaku Ketua Prodi Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
5. Bapak Dr. Tatang Shabur Julianto, S.Si, M.Si. selaku Dosen Pembimbing Skripsi yang senantiasa meluangkan waktu untuk membimbing, mengarahkan, dan menerima keluh kesah penulis selama melakukan perencanaan, penelitiaan hingga terselesaikannya proposal skripsi ini.
6. Seluruh Dosen Kimia, staf pengajar, laboran, dan karyawan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
7. Kedua Orang Tua saya yang tanpa henti senantiasa mendoakan dan

memberikan semangat baik moril maupun materiil. Semoga Allah senantiasa menjaga Kedua Orang Tua saya dalam lindungan dan Keberkahan-Nya.

8. Seluruh rekan-rekan, sahabat saya, dan teman-teman yang senantiasa membantu, yang tidak dapat saya tuliskan namanya satu per satu, semoga Allah memudahkan jalan kita semua dalam meniti karir kesuksesan.
9. Dan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya, kepada keluarga besar Laboratorium Mahasiswa UII dan Asrama The Cave Putra atas dukungan dan arahan hingga saya dapat menjadi lebih baik.

Penulis menyadari bahwa proposal skripsi ini jauh dari kata sempurna, baik dari segi penyusunan maupun penyajian yang disebabkan keterbatasan pengalaman dan pengetahuan penulis. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan guna peningkatan kualitas penulis yang akan datang. Semoga proposal skripsi ini dapat bermanfaat terkhusus bagi penulis dan pembaca.

Wassalamu'alaikum Wr.Wb.

Yogyakarta, 4 Maret 2021

Penulis

PRODUKSI BIOETANOL DARI LIMBAH JERAMI PADI BERBANTUKAN ENZIM SELULASE TERIMOBILISASI DARI LIMBAH BAGLOG JAMUR TIRAM

RIFQI NOVALINO RIKSAWAN
No. Mahasiswa : 17612100

INTISARI

Penelitian tentang imobilisasi enzim selulase dari limbah baglog jamur tiram sebagai katalis produksi bioetanol dari limbah jerami padi telah dilakukan di Laboratorium Riset Kimia Universitas Islam Indonesia. Jerami merupakan limbah hasil pertanian yang memiliki kandungan selulosa sehingga dapat dimanfaatkan untuk pembuatan energi alternatif seperti bioetanol. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik enzim selulase terimobilisasi, kadar bioetanol yang dihasilkan serta mengetahui pengaruh waktu hidrolisis dan waktu fermentasi terhadap kadar bioetanol yang dihasilkan. Teknik imobilisasi ekstrak enzim dilakukan secara *entrapment* dimana dilakukan penambahan larutan natrium alginat 3,5% pada ekstrak enzim. Enzim selulase terimobilisasi memiliki gugus fungsi seperti O-H, C=O asam karboksilat, C-H alkana, dan C-O asam karboksilat. Kemudian memiliki morfologi permukaan yang kasar serta memiliki sedikit pori. Dilakukan hidrolisis jerami padi dengan metode SHF (*Separated Hydrolysis and Fermentation*) oleh ekstrak enzim selulase terimobilisasi sehingga kandungan selulosa pada jerami akan terhidrolisis menjadi glukosa dan dapat dilakukan proses fermentasi dengan bantuan ragi *Saccharomyces cerevisisae*. Variabel yang digunakan yaitu waktu hidrolisis dan waktu fermentasi. Variasi waktu hidrolisis dilakukan selama 6, 12, dan 24 jam sedangkan waktu fermentasi dilakukan 5, 7, dan 9 hari. Pada penelitian ini dihasilkan bioetanol yang diketahui dengan analisis GC dimana waktu retensi pada tiap sampel yaitu 3,158; 3,153; 3,155; 3,153; dan 3,150 dengan waktu retensi standar etanol 1% yaitu 3,062. Kemudian kadar bioetanol tertinggi yaitu 8,56% yang didapatkan dari variasi waktu hidrolisis 24 jam dan fermentasi 9 hari.

Kata Kunci : *Bioetanol, Imobilisasi, Baglog Jamur Tiram, Jerami Padi, Separated Hydrolysis and Fermentation*

PRODUCTION OF BIOETHANOL FROM RICE STRAW WASTE ASSISTED BY IMMOBILIZED CELLULASE ENZYME FROM BAGLOG OYSTER MUSHROOM WASTE

RIFQI NOVALINO RIKSAWAN
Student Number : 17612100

ABSTRACT

Research on the immobilization of cellulase enzymes from baglog waste of oyster mushrooms as a catalyst for bioethanol production from rice straw waste have done at the Chemical Research Laboratory of the Universitas Islam Indonesia. Straw is agricultural waste that contains cellulose so that it can be used for making alternative energy such as bioethanol. This study aims to determine the characteristics of immobilized cellulase enzymes, levels of bioethanol produced and to determine the effect of hydrolysis time and fermentation time on the levels of bioethanol produced. The immobilization technique of the enzyme extract was done by entrapment where the addition of 3.5% sodium alginate solution was done in the enzyme extract. Immobilized cellulase enzymes have functional groups such as O-H, C-H alkanes, C=O and C-O carboxylic acids. Then it has a rough surface morphology and has few pores. Hydrolysis of rice straw was done using the SHF (Separated Hydrolysis and Fermentation) method by immobilized cellulase enzyme extract so that the cellulose content in the straw would be hydrolyzed into glucose and fermentation process could be done with the help of *Saccharomyces cerevisisae* yeast. The variation of hydrolysis time was carried out for 6, 12, and 24 hours while the fermentation time was carried out for 5, 7, and 9 days. In this study, bioethanol was produced which was known by GC analysis where the retention time for each sample was 3.158; 3,153; 3,155; 3,153; and 3,150 with a standard retention time of 1% ethanol that is 3.062. Then the highest bioethanol content is 8.56% which is obtained from the variation of 24 hours hydrolysis time and 9 days fermentation.

Keywords : *Bioethanol, Immobilization, Oyster Mushrooms Baglog, Rice Straw, Separated Hydrolysis and Fermentation*

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL ..... **i**
HALAMAN PENGESAHAN ..... **ii**
KATA PENGANTAR ..... **iv**
INTISARI ..... **vi**
ABSTRACT ..... **vii**
DAFTAR ISI ..... **viii**
DAFTAR GAMBAR ..... **x**
DAFTAR TABEL ..... **xii**
BAB I PENDAHULUAN **1**
1.1 Latar Belakang **1**
1.2 Rumusan Masalah **5**
1.3 Tujuan Penelitian **6**
1.4 Manfaat Penelitian **6**
BAB II TINJAUAN PUSTAKA **7**
2.1 Produksi Bioetanol **7**
2.2 Konversi Bioetanol dari Selulosa Berbantukan Enzim Selulase **8**
2.3 Imobilisasi Enzim Selulase **9**
BAB III DASAR TEORI **12**
3.1 Bioetanol **12**
3.2 Jerami Padi **14**
3.3 Baglog Jamur Tiram **15**
3.4 Selulosa **17**
3.5 Enzim Selulase **18**
3.6 Imobilisasi Enzim **18**
3.7 Separated Hydrolysis and Fermentation **20**
3.8 Natrium Alginat **21**
3.9 Fourier-Transform Infrared Spectroscopy Universal Attenuated Total Reflectance **21**
3.10 Scanning Electron Microscope **22**
3.11 Kromatografi Gas **23**
3.12 Spektrofotometer *UV-Visible* **24**
3.13 Gas Chromatography-Mass Spectrometer **26**
BAB IV METODE PENELITIAN **28**
4.1 Alat **28**

4.2 Bahan 28
4.3 Cara Kerja 28
4.3.1 Preparasi ekstrak enzim selulase dari baglog jamur tiram dengan larutan dapar asetat pH 5 28
4.3.2 Imobilisasi ekstrak baglog jamur tiram 29
4.3.3 Karakterisasi dengan FTIR 29
4.3.4 Karakterisasi dengan SEM 29
4.3.5 Preparasi Jerami Padi 29
4.3.6 Produksi bioetanol dengan metode SHF 30
4.3.7 Pembuatan pereaksi asam dikromat (Jones) 30
4.3.8 Penentuan kualitatif bioetanol 30
4.3.9 Penentuan konsentrasi bioetanol 31
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN 32
5.1 Preparasi Ekstrak Enzim Selulase dari Baglog Jamur Tiram 32
5.2 Imobilisasi Ekstrak Enzim Selulase Baglog Jamur Tiram 33
5.3 Karakterisasi Ekstrak Enzim Selulase Terimobilisasi dengan FTIR 35
5.4 Karakterisasi Ekstrak Enzim Selulase Terimobilisasi dengan SEM 37
5.5 Preparasi Jerami Padi 38
5.6 Proses SHF 38
5.7 Penentuan Kualitatif Bioetanol dengan Kromatografi Gas 41
5.8 Penentuan Kualitatif Sampel dengan *GC-MS* 45
5.9 Penentuan Konsentrasi Bioetanol 46
5.9.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (λ max) 46
5.9.2 Penentuan Kurva Standar 48
5.9.3 Perhitungan Konsentrasi Bioetanol Sampel 48
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN 53
6.1 Kesimpulan 53
6.2 Saran 53
DAFTAR PUSTAKA 54
LAMPIRAN 60

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Struktur bioetanol 13
Gambar 2. Jerami Padi 15
Gambar 3. Baglog jamur tiram 17
Gambar 4. Struktur selulosa 17
Gambar 6. Teknik imobilisasi enzim *entrapment* 19
Gambar 7. Proses pemecahan selulosa 20
Gambar 8. Struktur Natrium alginat 21
Gambar 9. Prinsip kerja FTIR UATR 23
Gambar 10. Prinsip kerja SEM 24
Gambar 11. Prinsip kerja kromatografi gas 25
Gambar 12. Prinsip kerja spektrofotometer *UV-Vis* 27
Gambar 13. Prinsip kerja *GC-MS* 28
Gambar 14. Proses ekstraksi enzim selulase dari baglog jamur tiram 33
Gambar 15. Proses aktivasi enzim selulase 34
Gambar 16. Ekstrak enzim selulase dengan penambahan alginat 34
Gambar 17. Enzim selulase terimobilisasi dalam kalsium klorida 35
Gambar 18. Enzim selulase terimobilisasi 35
Gambar 19. Spektra IR Ekstrak enzim selulase, Natrium alginat sebelum, dan setelah imobilisasi 36
Gambar 20. Morfologi natrium alginat sebelum imobilisasi (A) dan natrium alginat setelah imobilisasi (B) 37
Gambar 21. Reaksi biokimia fermentasi 40
Gambar 22. Proses fermentasi 41
Gambar 23. Kromatogram standar etanol 1% 41
Gambar 24. Kromatogram sampel variasi waktu hidrolisis 6 jam 43
Gambar 25. Kromatogram sampel variasi waktu hidrolisis 12 jam 43
Gambar 26. Kromatogram sampel variasi waktu fermentasi 5 hari 44
Gambar 27. Kromatogram sampel variasi waktu fermentasi 7 hari 44
Gambar 28. Kromatogram sampel variasi waktu fermentasi 9 hari 44
Gambar 29. Hasil analisis GC-MS 45
Gambar 30. Grafik panjang gelombang maksimum reagen dikromat 47
Gambar 31. Grafik absorbansi vs konsentrasi larutan standar etanol 48

Gambar 32. Grafik konsentrasi bioetanol variasi waktu hidrolisis 49
Gambar 33. Grafik konsentrasi bioetanol variasi waktu fermentasi 51

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Imobilisasi enzim selulase.....9
Tabel 2. Sifat – sifat fisika etanol.....13
Tabel 3. Komposisi jerami padi kering 15
Tabel 4. Kelebihan dan kekurangan imobilisasi enzim.....19
Tabel 5. Interpretasi data spektra IR 36
Tabel 6. Data waktu retensi sampel variasi waktu hidrolisis 42
Tabel 7. Data waktu retensi sampel variasi waktu fermentasi 42
Tabel 8. Hasil analisis GC-MS.....46
Tabel 9. Konsentrasi bioetanol variasi waktu hidrolisis.....49
Tabel 10. Konsentrasi bioetanol variasi waktu fermentasi.....50

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perkembangan dunia industri di Indonesia terus mengalami pertumbuhan sesuai dengan adanya kemajuan teknologi dan informasi. Salah satu industri yang berkembang di Indonesia yaitu adalah industri migas. Industri migas yang produk utamanya terdiri dari gas bumi dan minyak bumi merupakan salah satu bidang industri yang masih menjadi komoditas utama sebagai penghasil devisa maupun pemasok kebutuhan energi dalam negeri (Biro Riset LM FEUI, 2017). Indonesia merupakan negara penghasil minyak bumi terbesar ke-24 dengan hasil sebesar 825.000 barel perhari. Data British Petroleum juga menunjukkan bahwa penggunaan minyak bumi di dunia yaitu sebesar 4620 MTOE atau sekitar 34,2% dari keseluruhan sumber energi lain. Peningkatan kebutuhan minyak bumi di Indonesia tidak diimbangi dengan produksi minyak bumi yang dibuktikan dengan penurunan produksi minyak bumi sejak tahun 2008 (*BP Statistical Review*, 2018). Pada tahun 2013 produksi minyak bumi di Indonesia sebesar 882 ribu barel perhari, sedangkan konsumsi minyak bumi bisa mencapai 1623 ribu barel perhari. Hingga saat ini, minyak bumi masih menjadi sumber pasokan utama energi di Indonesia. Total kebutuhan energi nasional sejak tahun 2005 sebesar 764 juta setara barel minyak (SBM) dan meningkat tiap tahun, sekitar lebih dari 50% dipenuhi dari sektor minyak bumi, selebihnya kebutuhan energi dipenuhi dengan gas, batubara, air, dan panas bumi (Apryana dkk., 2016). Saat ini diperlukan alternatif untuk mengurangi penggunaan bahan bakar fosil di Indonesia maupun di dunia, salah satunya yaitu dengan dilakukan kombinasi antara bahan bakar kendaraan dan bahan bakar terbarukan. Pengembangan ini dilakukan untuk mereduksi ketergantungan terhadap bahan bakar kendaraan secara bertahap, sehingga dapat dialihkan

sepenuhnya pada penggunaan bahan bakar terbarukan di masa depan. Berbagai bahan bakar terbarukan yang dapat dipadukan dengan bahan bakar kendaraan, salah satunya adalah etanol.

Etanol merupakan cairan volatil yang mudah terbakar, tak berwarna, dan merupakan alkohol rantai tunggal. Etanol dapat digunakan sebagai bahan bakar, obat-obatan, aditif makanan atau minuman, pelarut parfum, maupun pelarut dalam reaksi kimia. Etanol sebagai bahan bakar dapat dicampur langsung dengan bensin, direaksikan dengan iso-butilena untuk membentuk aditif bahan bakar teroksigenasi etil tert-butil eter (ETBE), atau dibakar langsung sebagai bahan bakar murni. Perpaduan antara etanol atau ETBE dengan bensin dapat membuat kinerja mesin lebih baik dan secara substansial dapat mengurangi emisi karbon monoksida (Wyman, 2016). Namun produksi etanol sintetis di dunia terus meningkat sejak tahun 2015 dimana jumlah produksi 25.770 miliar liter yang kemudian menjadi 29.030 miliar liter pada tahun 2019 (*Renewable Fuels Association*, 2019). Berdasarkan permasalahan tersebut, diperlukan etanol yang diproduksi dari biomassa terbarukan yang disebut bioetanol.

Bioetanol merupakan alkohol yang dihasilkan dari proses konversi senyawa bahan alam yang mengandung selulosa. Selulosa merupakan rantai panjang glukosa yang merupakan bagian utama dari penyusun dinding sel pada tumbuhan dimana berfungsi untuk memperkuat struktur pada tanaman. Selulosa dapat ditemukan di batang, daun, kulit maupun biji pada buah. Selulosa dapat dikonversi menjadi bioetanol dengan proses fermentasi. Berbagai penelitian tentang konversi selulosa menjadi bioetanol telah dilakukan, salah satunya pada penelitian Arifiyanti dkk (2020) dilakukan pembuatan bioetanol dari bahan dasar biji nangka. Hasil yang didapatkan pada penelitian tersebut yaitu terbentuk kadar bioetanol sebesar 40% dengan fermentasi selama 60 jam. Kemudian pada penelitian Artiyani dan Soedjono (2011) pembuatan bioetanol dilakukan dengan memanfaatkan limbah kulit singkong dan menghasilkan kadar bioetanol sebesar 1,637% dari proses fermentasi selama 96 jam, seangkan pada penelitian yang dilakukan oleh

Wusnah dkk (2019) diketahui bahwa untuk menghasilkan bioetanol sebesar 40% dari kulit pisang kepok dibutuhkan waktu fermentasi selama 7 hari. Berdasarkan hasil dari berbagai penelitian tersebut, sumber selulosa yang diperoleh dari kulit maupun biji buah dapat dikonversi menjadi bioetanol melalui proses fermentasi, selain itu sumber selulosa dapat juga ditemukan pada jerami padi. Jerami padi merupakan bagian batang dan tangkai tanaman padi setelah dipanen butir bijinya. Berdasarkan studi yang dilakukan Pratiwi dkk (2016), jerami padi memiliki kandungan berupa 37,71% selulosa; 21,99% hemiselulosa; dan 16,62% lignin, sehingga jerami padi sangat berpotensi digunakan sebagai biomassa dalam produksi bioetanol.

Metode *Separated Hydrolysis and Fermentation (SHF)* merupakan salah satu metode untuk mengonversi selulosa menjadi bioetanol. Metode SHF memiliki kelebihan karena proses fermentasi yang dilakukan lebih cepat dari metode SSF sehingga dapat meningkatkan efisiensi waktu produksi (Suttikul dkk, 2016). Namun metode SHF juga memiliki kelemahan yaitu dimana terdapat proses hidrolisis yang sedikit rumit dan penggunaan temperatur yang tinggi. Pada penelitian yang dilakukan Puspitasari dkk (2018) diketahui bahwa untuk menghasilkan kadar bioetanol sebesar 4% dibutuhkan waktu fermentasi selama 5 hari. Permasalahan tersebut membuat proses konversi kurang efisien, sehingga diperlukan alternatif yang dapat mempercepat proses fermentasi yaitu dengan katalis. Katalis yang digunakan pada proses fermentasi yaitu berupa enzim. Fungsi dari enzim yaitu untuk menurunkan energi aktivasi yang terjadi ketika proses reaksi hidrolisis dan sakarifikasi, sehingga proses reaksi akan berjalan lebih cepat. Enzim yang digunakan untuk mengonversi substrat selulosa yaitu enzim selulase.

Enzim selulase merupakan suatu enzim multikomponen yang terdiri dari 3 enzim berbeda yaitu endoselulase, selobiohidrolase dan ß-glukosidase. Enzim selulase memiliki peran utama pada proses konversi biokimia selulosa menjadi gula terlarut. Pada umumnya enzim selulase diaplikasikan dalam berbagai bidang yaitu makanan, proses pembuatan bir dan anggur, pertanian, tekstil, deterjen, pakan ternak, industri pulp dan kertas, serta pada bidang

riset dan pengembangan (Viet dkk, 2013). Enzim selulase diproduksi secara alami dari berbagai sumber salah satunya yaitu oleh baglog jamur tiram. Jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) merupakan salah satu jenis jamur yang popular saat ini karena banyak dibudidayakan sebagai salah satu bahan pangan. Saat ini semakin banyak pelaku usaha budidaya jamur tiram dan secara tidak langsung juga menimbulkan masalah baru akibat limbah baglog jamur tiram (Rosmiza dkk, 2016). Limbah baglog jamur tiram dapat mencemari lingkungan karena dapat ditumbuhi oleh jamur liar yang berdampak merugikan pada lingkungan serta dapat menimbulkan aroma yang tidak sedap (Sugianto dkk, 2020). Limbah baglog jamur mengandung mikroorganisme selulolitik yang dapat menghasilkan enzim selulase sehingga dapat menonversi selulosa. Menurut studi yang dilakukan Kamelia dkk (2018) pada limbah baglog jamur tiram berupa serbuk gergaji kayu pohon karet, bentuk bakteri dominan yang dihasilkan yaitu *coccus* positif. Namun penggunaan enzim selulase dari limbah baglog jamur tiram secara *one flow production* akan mengurangi efisiensi waktu akibat proses isolasi enzim yang dilakukan, sehingga diperlukan proses imobilisasi enzim selulase untuk melokalisir enzim selulase yang telah digunakan dalam proses SHF supaya dapat digunakan secara berkelanjutan.

Imobilisasi enzim selulase dapat meningkatkan efisiensi waktu dan biaya untuk memproduksi bioetanol. Beberapa penelitian telah dilakukan proses imobilisasi enzim selulase, pada penelitian Kumar dkk (2018) dilakukan imobilisasi enzim selulase menggunakan nanopartikel besi oksida, silikon oksida, magnesium oksida, seng oksida, dan perak oksida dengan dua metode berbeda yaitu secara adsorpsi fisika dan kopling kovalen. Hasil dari penelitian tersebut menunjukkan bahwa nanopartikel besi oksida memiliki efisiensi terbaik yaitu dapat melakukan imobilisasi enzim sebesar 60-80%. Kemudian pada penelitian lain yang dilakukan oleh Li dkk (2019) menunjukkan bahwa natrium alginat dapat digunakan sebagai media imobilisasi enzim selulase. Konsep pada penelitian tersebut yaitu dimana selulosa akan terperangkap dalam natrium alginat dan aktivitas enzim dapat

diketahui dengan memberikan substrat berupa CMC (*carboxymethyl cellulase*). Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa natrium alginat dapat melakukan imobilisasi enzim selulase dengan efisiensi sebesar 57,2% dari penambahan 3,5mg/mL natrium alginat. Tingkat efisiensi imobilisasi enzim menggunakan natrium alginat lebih rendah apabila dibandingkan menggunakan nanopartikel, namun imobilisasi dengan natrium alginat memiliki keuntungan lain yaitu bahan yang mudah didapatkan, biaya yang relatif terjangkau, serta metode imobilisasi yang lebih sederhana dibandingkan dengan menggunakan nanopartikel, oleh sebab itu imobilisasi menggunakan natrium alginat masih menjadi pilihan utama sebagai media imobilisasi enzim selulase.

Pada penelitian ini akan dilakukan imobilisasi enzim selulase dari limbah baglog jamur tiram yang telah digunakan sebagai katalis untuk pembuatan bioetanol dari limbah jerami padi. Pada studi ini diharapkan terjadi proses reaksi antara enzim selulase terimobilisasi dengan jerami padi sehingga dapat dihasilkan glukosa. Optimasi waktu hidrolisis selulosa serta waktu fermentasi diharapkan dapat menghasilkan kadar bioetanol dengan tingkat kemurnian tinggi. Berdasarkan hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi salah satu alternatif pengembangan energi dan dapat diaplikasikan secara nyata dalam skala industri energi khususnya bioetanol.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, dapat dirumuskan suatu rumusan masalah sebagai berikut.

1. Bagaimana teknik imobilisasi dan hasil karakterisasi enzim selulase terimobilisasi?
2. Bagaimana kadar bioetanol yang dihasilkan dari proses SHF enzim selulase terimobilisasi?
3. Bagaimana pengaruh waktu hidrolisis dan waktu fermentasi untuk dihasilkan bioetanol dengan kadar yang tinggi?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan masalah tersebut, dilakukan penelitian yang bertujuan untuk

1. Untuk mengetahui teknik imobilisasi dan hasil karakterisasi dari enzim selulase terimobilisasi.
2. Untuk mengetahui kadar bioetanol yang dihasilkan dari proses SHF enzim selulase terimobilisasi.
3. Untuk mengetahui pengaruh waktu hidrolisis dan waktu fermentasi sehingga dihasilkan bioetanol dengan kadar yang tinggi.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah

1. Memperoleh pengetahuan tentang imobilisasi enzim selulase.
2. Memperoleh hasil kadar bioetanol yang optimal dalam proses fermentasi bioetanol.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Produksi Bioetanol

Bioetanol secara umum dapat diproduksi dari suatu bahan alam yang mengandung monosakarida seperti glukosa ataupun polisakarida seperti selulosa. Produksi bioetanol dapat dilakukan dengan berbagai teknik salah satunya yaitu fermentasi. Fermentasi merupakan salah satu teknik yang dipelajari dalam ilmu bioteknologi dan dapat diaplikasikan sebagai teknik pengolahan pangan maupun untuk menghasilkan energi. Konsep fermentasi didasarkan pada penguraian senyawa organik serta pengubahan substrat menjadi produk-produk yang dikehendaki, salah satunya adalah energi. Reaksi fermentasi terjadi dengan pembentukan laktat dari piruvat yang disertai dengan transfer elektron dari NADH menjadi NAD^+ (Pack, 2007).

Pada penelitian yang dilakukan Tropea dkk (2014) menunjukkan bahwa bioetanol dihasilkan dari limbah kulit nanas dengan tiga teknik fermentasi sekaligus yaitu fermentasi langsung, SHF (*Separated Hydrolysis and Fermentation*), dan SSF (*Simultaneous Saccharification and Fermentation*) dimana dihasilkan kadar etanol tertinggi 3,9% dengan waktu fermentasi selama 30 jam. Kemudian pada penelitian yang dilakukan Li dkk (2016) bioetanol diproduksi dari rumput laut melalui metode SHF dengan hasil kadar etanol tertinggi yaitu 31,4% dengan lama waktu fermentasi 3 hari. Bioetanol juga dapat diproduksi dari bagas tebu seperti yang dilakukan pada penelitian Dussán dkk (2019) dimana metode yang digunakan yaitu SHF dengan hasil kadar etanol 34% dengan waktu fermentasi selama 48 jam. Berdasarkan hasil penelitian-penelitian tersebut telah terbukti bahwa fermentasi dapat mengonversi monosakarida maupun polisakarida menjadi bioetanol dengan presentase kadar bioetanol yang dihasilkan cukup baik.

2.2 Konversi Bioetanol dari Selulosa Berbantukan Enzim Selulase

Pada penelitian yang dilakukan Belal (2013) menunjukkan bahwa jerami padi yang mengandung selulosa dapat dikonversi menjadi bioetanol dengan proses hidrolisis dan fermentasi. Enzim selulase dapat diisolasi dari limbah bahan alam seperti baglog jamur tiram (Julianto dkk, 2019). Enzim selulase bertindak sebagai katalis pada proses fermentasi sehingga akan bereaksi dengan substrat selulosa sehingga selulosa akan lebih cepat terpecah menjadi monosakarida dimana akan meningkatkan efisiensi waktu fermentasi menjadi lebih singkat. Berdasarkan penelitian Suttikul dkk (2016) metode yang memungkinkan dalam penelitian ini yaitu metode SHF (*Separated Hydrolysis and Fermentation*) dimana proses hidrolisis dan fermentasi dijalankan secara terpisah sehingga akan meningkatkan efisiensi produk serta membutuhkan waktu fermentasi yang relatif singkat dimana diharapkan dapat menghasilkan bioetanol dengan kadar yang tinggi.

2.3 Imobilisasi Enzim Selulase

Tabel 1. Imobilisasi enzim selulase

No	Peneliti	Imobilisasi enzim	Metode
1	Li dkk (2019)	Selulase	*Carbon nanotubes* dan Natrium Alginat
2	Poorakbar dkk (2018)	Selulase	Material magnetik Au mesopori nanopartikel cangkang inti Si
3	Kumar dkk (2018)	Selulase	Material nanopartikel Besi oksida (Fe_2O_3)
4	Qi dan Wan (2018)	Selulase	Material komposit metal organik (Fe_3O_4@UIO-66-NH_2)
5	Tsai and Meyer (2014)	Selulase	Kalsium alginat
6	Mubarak dkk (2014)	Selulase	*Multiwall carbon nanotube (MWCNTs)*
7	Khoshnevisan dkk (2011)	Selulase	Material nanopartikel superparamagnetik (Fe_3O_4)

Poorakbar dkk (2018) melakukan penelitian tentang imobilisasi enzim selulase dengan menggunakan material magnetik Au mesopori nanopartikel cangkang inti Si. Pada penelitian tersebut dilakukan uji aktivitas enzim selulase

terimobilisasi dan didapatkan hasil dimana enzim selulase yang terimobilisasi lebih tahan akan perubahan temperatur maupun pH, kemudian tingkat stabilitas enzim selulase yang diimobilisasi meningkat sebesar 57%, selain itu juga enzim terimobilisasi dapat digunakan kembali hingga 5 siklus. Kemudian pada penelitian Kumar dkk (2018) digunakan nanopartikel Fe_2O_3 dimana hasil yang didapatkan yaitu enzim selulase terimobilisasi dapat digunakan kembali selama 2 siklus dan dapat menghasilkan etanol dari proses sakarifikasi jerami. Lalu pada penelitian yang dilakukan Khoshnevisan dkk (2011) juga menggunakan nanopartikel besi oksida yaitu Fe_3O_4 dimana hasil yang didapatkan adalah enzim selulase terimobilisasi dengan ikatan ionik dimana enzim terimobilisasi ini memiliki ketahanan terhadap pH yang lebih tinggi.

Pada penelitian Qi dan Wan (2018) dilakukan modifikasi dari besi oksida dengan membuat material komposit logam-organik untuk mengimobilisasi enzim selulase. Hasil yang didapatkan dari penelitian tersebut adalah enzim selulase berhasil terimobilisasi secara kovalen pada permukaan material komposit tersebut, kemudian enzim selulase terimobilisasi dapat digunakan hingga 5 siklus, selain itu enzim selulase terimobilisasi juga memiliki kinerja hidrolisis yang lebih baik daripada enzim selulase bebas sehingga dapat meningkatkan efektivitas dan efisiensi yang tinggi ketika diaplikasikan dalam dunia industri. Pada penelitian Mubarak dkk (2014) dilakukan imobilisasi enzim selulase menggunakan *Multiwall carbon nanotube (MWCNTs)* dimana hasil yang didapatkan adalah enzim selulase telah terimobilisasi dengan cara adsorpsi fisik, kemudian enzim selulase terimobilisasi tersebut dapat digunakan kembali hingga 6 siklus berturut – turut. Penelitian - penelitian yang telah disebutkan sebelumnya merupakan berbasis material komposit dan nanopartikel dimana diperlukan metode sintesis matriks yang rumit.

Pada penelitian Tsai dan Meyer (2014) imobilisasi enzim dilakukan dengan menggunakan kalsium alginat. Hasil yang didapatkan dari penelitian tersebut adalah enzim selulase berhasil terjerat ke dalam kisi yang dimiliki oleh kalsium alginat. Kemudian Li dkk (2019) melakukan pengembangan pada penelitiannya yaitu dengan menggunakan kombinasi *Multiwall carbon nanotube (MWCNTs)*

dengan natrium alginat dimana hasil yang didapatkan pada penelitian tersebut adalah enzim selulase terimobilisasi memiliki toleransi termal yang baik daripada enzim selulase bebas, selain itu enzim selulase terimobilisasi dapat digunakan kembali sebanyak 7 siklus dengan mempertahankan hasil hidrolisis sebesar 67,9 – 71,5 %.

BAB III

DASAR TEORI

3.1 Bioetanol

Bioetanol merupakan alkohol yang dihasilkan dari proses konversi dari bahan alam dengan proses fermentasi yang dibantu oleh bakteri *Saccharomyces cerevisiae* sehingga menjadi energi yang terbarukan (*sustainable*) yaitu berupa etanol hayati. Bioetanol memiliki berbagai manfaat yang positif terutama pada bidang medis. Bioetanol dapat dihasilkan dari biomassa yang mengandung monosakarida maupun polisakarida. Beberapa bahan alam yang dapat digunakan sebagai bahan utama produksi etanol yaitu

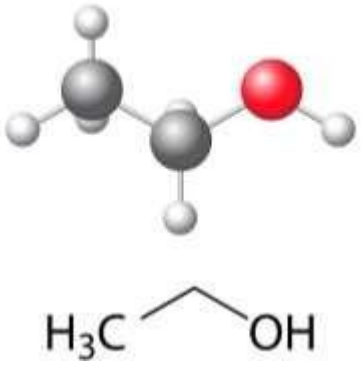
1. Bahan bergula berupa tetes tebu, nira tebu, nira kelapa, nira aren, dll.
2. Bahan berpati berupa singkong, ubi jalar, ubi kayu, dll.
3. Bahan berselulosa berupa jerami padi, serbuk gergaji, tongkol jagung, dll.

Bioetanol memiliki sifat yang sama dengan etanol yaitu mudah menguap, mudah terbakar, dan tak berwarna, oleh karena itu alkohol jenis etanol paling sering dijadikan sebagai bahan bakar. (Puspitasari dkk, 2018). Berikut merupakan sifat-sifat fisika dari bioetanol yang dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Sifat – sifat fisika etanol

Sifat – sifat	Keterangan
Berat molekul	46,07 g/mol
Titik lebur	-112˚C
Titik didih	78,4˚C
Densitas	0,7893 g/mL
Indeks bias	1,36143 cP
Viskositas 20˚C	1,17 cP
Panas penguapan	200,6 kkal/g
Warna cairan	Tidak berwarna
Kelarutan	Larut dalam air dan eter
Aroma	Memiliki aroma khas

Penggunaan bioetanol sebagai bahan bakar tergantung dari tingkat kemurniannya. Bioetanol dengan kemurnian 95-99% dapat digunakan sebagai bahan subtitusi bensin, sedangkan kemurnian 40% dapat digunakan sebagai subtitusi minyak tanah (kerosin) (Jayus dkk, 2017).



Gambar 1. Struktur bioetanol

3.2 Jerami Padi

Jerami padi adalah limbah hasil pertanian yang berupa batang dan daun dari tanaman padi yang telah diambil bijinya. Berdasarkan data Badan Pusat Statistik (2014), di Indonesia produksi padi pada tahun 2014 sebesar 70,83 juta ton gabah kering giling (GKG), sementara produksi jerami padi dapat mencapai 50% dari produksi gabah kering panen atau sekitar 35,46 juta ton. Akan tetapi jerami padi tersebut belum dimanfaatkan secara optimal (Nata dkk, 2014). Jerami padi baru dimanfaatkan sebagai pakan ternak, alas atau lantai kandang (Yanuartono, 2019). Bagian dari jerami padi terdiri dari :

1. Batang (lidi jerami)

   Bagian batang jerami kurang lebih sebesar lidi kelapa dengan rongga udara memanjang di dalamnya.

2. Ranting jerami

   Ranting jerami adalah tempat dimana butiran menempel. Ranting jerami ini lebih kecil, seperti rambut yang bercabang – cabang meskipun demikian ranting jerami mempunyai tekstur yang kasar dan kuat.

3. Selongsong jerami

   Selongsong jerami adalah pangkal daun pada jerami yang membungkus batang atau lidi jerami (Trusbus, 2005).

Jerami padi mengandung lignoselulosa yang terdiri dari selulosa 29,78%, hemiselulosa 25,58% dan lignin 7,83%, dimana selulosa dan hemiselulosa merupakan polimer gula yang dapat dihidrolisis menjadi monomer gula (gula hidrolisat). Umumnya industri lebih tertarik menggunakan bahan baku ligneselulosa karena lebih murah. Oleh karena itu, banyak penelitian yang mengkonversi bahan lignoselulosa menjadi gula hidrolisat yang selanjutnya dapat dijadikan berbagai macam produk (Galbe dan Zacchi, 2002). Komposisi jerami kering dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Komposisi Jerami Padi Kering

Senyawa	Komposisi Jerami Kering
Air (%)	12
Protein (%)	6,8
Lemak (%)	2,3
Karbohidrat (%)	74
Kalsium (mg/100 gram)	0,32
Fosfor (mg/100 gram)	0,17



Gambar 2. Jerami Padi

3.3 Baglog Jamur Tiram

Jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) merupakan salah satu jenis jamur yang populer saat ini karena banyak dibudidayakan sebagai salah satu bahan pangan. Jamur tiram memiliki tubuh buah yang hampir serupa dengan cangkang tiram. Tubuh buah jamur ini memiliki tudung (*pileus*) dan tangkai (*stipe/stalk*). Jamur tidak memiliki klorofil sehingga tidak dapat memproduksi makanan sendiri

sehingga jamur biasa dikatakan sebagai organisme saprofit. Klasifikasi jamur tiram menurut Darnetty (2006) adalah :

Kingdom : *Fungi*
Divisio : *Amastigomycota*
Sub Divisio : *Basidiomycotina*
Kelas : *Basidiomycetes*
Ordo : *Agricales*
Famili : *Agricaceae*
Genus : *Pleurotus*
Spesies : *Pleurotus ostreatus*

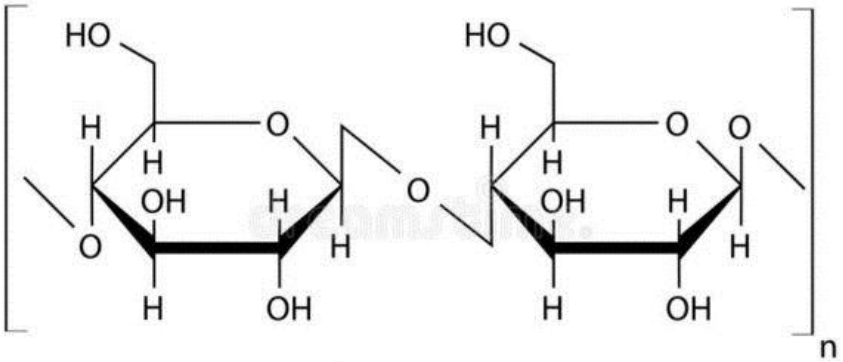
Saat ini semakin banyak pelaku usaha budidaya jamur tiram dan secara tidak langsung juga menimbulkan masalah baru akibat limbah baglog jamur tiram (Rosmiza dkk, 2016). Limbah baglog jamur tiram dapat mencemari lingkungan karena dapat ditumbuhi oleh jamur liar yang berdampak merugikan pada lingkungan serta dapat menimbulkan aroma yang tidak sedap (Sugianto dkk, 2020). Limbah baglog jamur terdiri dari komposisi serbuk gergaji 68,5%, dedak halus 13,5%, gypsum ($CaSO_4$) 0,5%, kapur ($CaCO_3$) 3,5%, TSP 0,5%, pupuk kandang 13,5%, dan air (Kamelia dkk, 2018). Limbah baglog jamur memiliki miselium yang dapat menghasilkan enzim selulase sehingga dapat mengonversi selulosa. Miselium memiliki kemampuan untuk menyerap nutrisi. Selain itu, miselium dapat berinteraksi dengan substrat sehingga dapat menghasilkan enzim selulase (Kalmiş dkk, 2008).



Gambar 3. Baglog Jamur Tiram

3.4 Selulosa

Selulosa merupakan senyawa kimia yang bertindak sebagai material struktur dinding sel pada tanaman. Selulosa adalah senyawa polisakarida dimana dihubungkan melalui ikatan β-1,4 glikosidik. Selulosa memiliki rumus kimia yaitu $(C_6H_{10}O_5)_n$ dimana n sebagai derajat polimerisasi. Nilai n berada pada rentang antara 1000 – 1500 yang bergantung pada proses isolasi, pengolahan, dan pemurnian selulosa (Galbe dan Zachi, 2002).



Gambar 4. Struktur Selulosa

3.5 Enzim Selulase

Enzim selulase merupakan suatu enzim multikomponen yang terdiri dari tiga enzim berbeda yaitu endoselulase, selobiohidrolase dan ß-glukosidase. Enzim selulase memiliki peran utama pada proses konversi biokimia selulosa menjadi gula terlarut. Pada umumnya enzim selulase diaplikasikan dalam berbagai bidang yaitu makanan, proses pembuatan bir dan anggur, pertanian, tekstil, deterjen, pakan ternak, industri pulp dan kertas, serta pada bidang riset dan pengembangan (Viet dkk, 2013).

3.6 Imobilisasi Enzim

Imobilisasi enzim merupakan teknik penempatan enzim dalam suatu matriks tertentu sehingga kestabilannya meningkat dan dapat mempertahankan aktivitas katalitiknya serta dapat digunakan secara kontinu. Imobilisasi enzim merupakan salah satu teknik yang mudah dan efektif untuk mengatasi permasalahan penggunaan enzim pada industri katalis seperti penggunaan kembali, selektivitas, dan stabilitas enzim (Mateo dkk, 2007).

Teknik imobilisasi enzim terbagi menjadi tiga yaitu

1. *Carrier-binding*

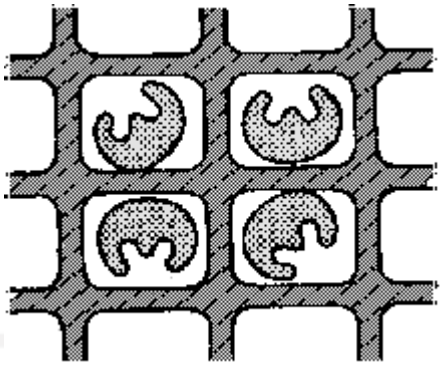
   Pada teknik *carrier-binding* terdapat tiga jenis ikatan yaitu adsorpsi fisik dimana enzim akan diikatkan pada suatu matriks yang tidak larut dalam air, lalu ikatan ionik dimana terjadi antara matriks tidak larut air dengan enzim dan mengandung residu penukar ion, serta ikatan kovalen yang kuat terjadi antara matriks tidak larut air dengan enzim.

2. *Cross-linking*

   Pada teknik *cross-linking* dimana pada teknik ini terjadi ikatan melintang intermolekuler antara molekul enzim dengan pereaksi bifungsional atau multifungsional, pada teknik ini pereaksi yang umum digunakan adalah glutaraldehid.

3. *Entrapment*

   Pada teknik *entrapment* yaitu enzim terlokalisasi dalam kisi matriks atau mikrokapsul (membran semipermiabel).



Gambar 6. Teknik imobilisasi enzim *entrapment*

Selain itu imobilisasi enzim juga memiliki berbagai keuntungan lain, begitu juga memiliki beberapa kekurangan pada metode ini. Berikut beberapa kelebihan dan kekurangan dari imobilisasi enzim dapat dilihat pada Tabel 4.

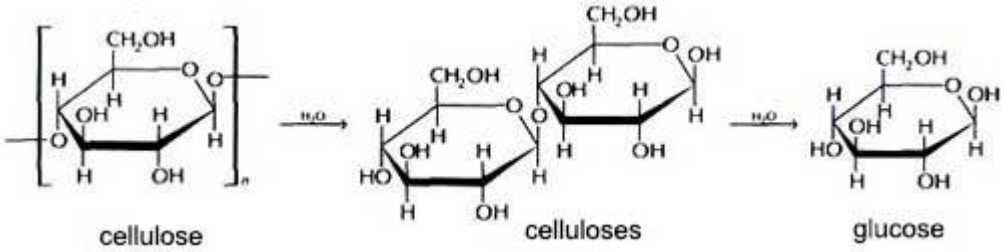
Tabel 4. Kelebihan dan kekurangan imobilisasi enzim

Kelebihan	Kekurangan
1. Dapat digunakan berulang 2. Hemat biaya 3. Pemisahan produk lebih mudah 4. Penghentian proses lebih mudah (filtrasi) 5. Produk tidak terkontaminasi enzim 6. Pengontrolan enzim lebih mudah	1. Biaya matriks relatif tinggi 2. Terjadi perubahan karakteristik enzim 3. Pembatasan transfer massa

3.7 Separated Hydrolysis and Fermentation

Metode *Separated Hydrolysis and Fermentation* atau biasa disebut SHF merupakan salah satu metode yang digunakan dalam proses fermentasi. Metode ini terdiri dari dua teknik yaitu hidrolisis dan fermentasi yang dilakukan secara terpisah. Hidrolisis merupakan proses pemecahan rantai polisakarida menjadi monosakarida. Hidrolisis dapat dilakukan dengan cara asam maupun enzimatik. Pada proses hidrolisis terjadi reaksi yaitu

$$(C_6H_{10}O_5)_n + \text{enzim selulase} \longrightarrow C_6H_{12}O_6$$



Gambar 7. Proses pemecahan selulosa

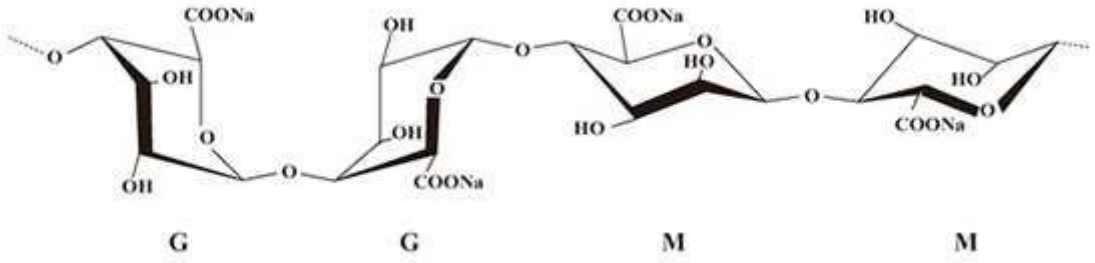
Fermentasi merupakan proses konversi monosakarida menjadi etanol. Pada proses ini terdapat bantuan dari ragi yang mengandung jasad renik berupa *Saccharomyces cerevisiae* yang melakukan aktivitas enzimatik sehingga dapat mengubah substrat yaitu glukosa menjadi etanol dan karbondioksida. Reaksi yang terjadi pada proses fermentasi yaitu (Mailool dkk, 2013)

$$C_6H_{12}O_6 + \textit{Saccharomyces cerevisiae} \longrightarrow 2C_2H_5OH + 2CO_2$$

Metode SHF memiliki kelebihan karena proses fermentasi dapat dilakukan dalam waktu yang lebih singkat dari metode SSF (Suttikul dkk, 2016). Namun metode SSF juga memiliki kelemahan yaitu dimana proses hidrolisis yang rumit serta penggunaan temperatur yang tinggi.

3.8 Natrium Alginat

Alginat merupakan polimer linier organik polisakarida yang terdiri dari monomer α-L asam guluronat (G) dan β-D asam manuronat (M). Alginat dapat diekstrak dari rumput laut coklat (Jayanudin dkk, 2014). Alginat memiliki sifat koloid, berbentuk gel, dan hidrofilik sehingga dapat digunakan sebagai pengemulsi, pengental, dan *stabilizer* di industri. Selain itu alginat juga memiliki sifat inert, tahan terhadap perubahan pH dan temperatur, serta bersifat tidak larut sehingga dapat dimanfaatkan untuk teknik imobilisasi pada proses fermentasi. Berdasarkan penelitian Göksungur dan Zorlu (2001) membuktikan bahwa alginat merupakan matriks imobilisasi enzim yang efisien, mudah digunakan dan dimodifikasi, serta tidak bersifat toksik.



Gambar 8. Struktur natrium alginat

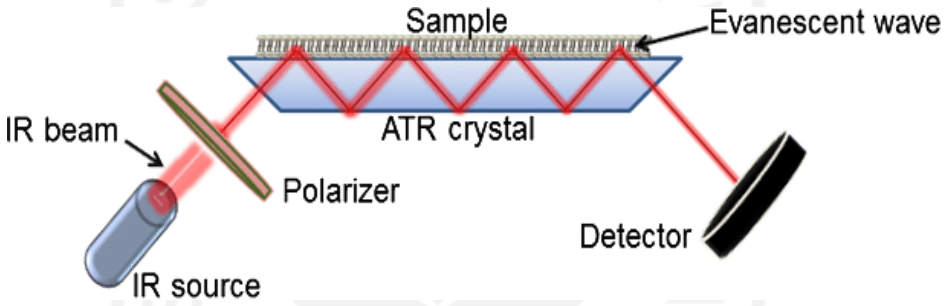
Nama IUPAC : Natrium 3,4,5,6-tetrahidroksioksane-2-karboksilat
Rumus kimia : $C_6H_9NaO_7$
Massa molekul : 10.000-600.000 g/mol
Densitas : 1,601 g/cm^3
(PubChem, 2020)

3.9 Fourier-Transform Infrared Spectroscopy Universal Attenuated Total Reflectance

Fourier-Transform Infrared Spectroscopy atau yang biasa dikenal dengan FT-IR merupakan salah satu bagian dari ilmu spektroskopi yang digunakan untuk menentukan gugus fungsi dari suatu senyawa (Giwangkara, 2006). Universal Attenuated Total Reflectance (UATR) merupakan suatu kelengkapan

tambahan pada FTIR yang digunakan sebagai teknik preparasi sehingga sampel berupa padat, cair, ataupun gel dapat di analisis secara langsung (Carolina dkk., 2020).

Prinsip kerja dari FTIR UATR yaitu dengan cara sinar IR diarahkan menuju kristal optik padat dengan indeks bias yang tinggi pada sudut tertentu. Reflektansi internal tersebut kemudian mengenai gelombang *evanescent* sehingga sinar IR dapat mencapai permukaan sampel dan kemudian sinar IR hasil pantulan tersebut akan dibaca oleh detektor sehingga dapat menghasilkan spektra IR (Perkin Elmer, 2005).

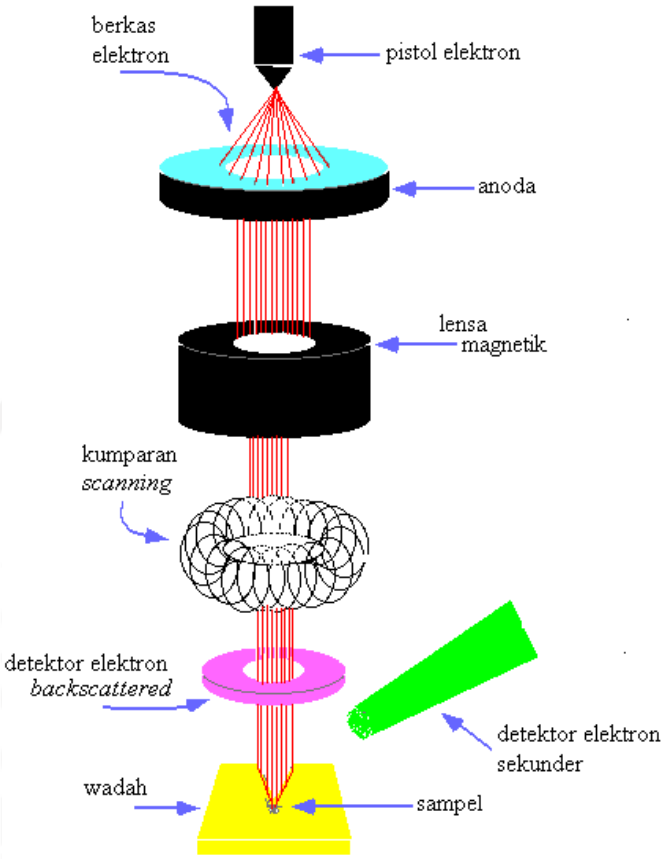


Gambar 9. Prinsip Kerja FTIR UATR

3.10 Scanning Electron Microscope

Scanning Electron Microscope (SEM) merupakan jenis mikroskop elektron yang dapat mengetahui morfologi permukaan, distribusi pertumbuhan kristal, serta perubahan yang terjadi setelah kondisi preparasi pada suatu sampel senyawa hasil sintesis (Choudhary dan Priyanka, 2017).

Prinsip kerja dari SEM yaitu dengan cara suatu sampel yang ditembak oleh elektron dengan energi tinggi secara kontinu yang dipercepat oleh kumparan elektromagnetik yang terhubung dengan tabung katoda sehingga akan dihasilkan suatu informasi mengenai morfologi permukaan suatu senyawa yang di analisis (Kannan dkk., 2019).



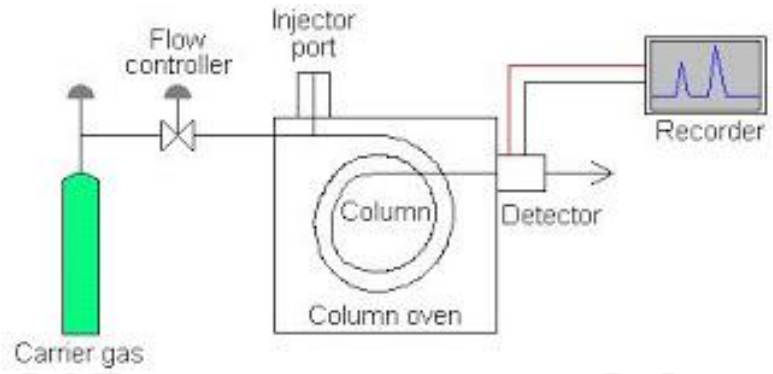
Gambar 10. Prinsip Kerja SEM

3.11 Kromatografi Gas

Kromatografi gas merupakan teknik pemisahan komponen-komponen volatil dalam suatu sampel berdasarkan perbedaan distribusi komponen-komponen tersebut ke dalam dua fasa, yaitu fasa gerak berupa gas dan fasa diam bisa cairan atau padatan (Yazid, 2005). Kromatografi gas dapat digunakan untuk penentuan suatu senyawa secara kualitatif maupun kuantitatif. Pada penentuan secara kualitatif dilakukan dengan cara membandingkan waktu retensi sampel dengan senyawa standar, sedangkan pada penentuan secara kuantitatif dapat dilakukan dengan cara membuat kurva standar (McNair, 1988).

Prinsip kerja kromatografi gas yaitu dengan proses pemanasan pada gerbang injektor sehingga sampel yang diinjeksikan dapat menguap dengan cepat. Kemudian uap dibawa oleh gas pembawa menuju kolom. Pada kolom ini terjadi proses pemisahan komponen-komponen pada sampel berdasarkan interaksi

antara komponen sampel dengan fasa diam (McNair, 1988).



Gambar 11. Prinsip kerja kromatografi gas

3.12 Spektrofotometer *UV-Visible*

Spektrofotometer merupakan instrumen analisis yang terdiri dari spektrometer dan fotometer. Spektrometer menghasilkan sinar dari spektrum yang memiliki panjang gelombang tertentu dan fotometer merupakan alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan. Jadi spektrofotometer digunakan untuk mengukur energi secara relatif jika energi tersebut di transmisikan, diemisikan, maupun direfleksikan sebagai fungsi dari panjang gelombang (Khopkar, 2003). Spektrofotometer sinar tampak (*visible*) merupakan pengukuran energi cahaya oleh sistem kimia pada panjang gelombang tertentu. Sinar ultraungu (*ultraviolet*) memiliki panjang gelombang yang berada pada rentang 200-400 nm, dan sinar tampak (*visible*) mempunyai panjang gelombang 400-750 nm. Pengukuran panjang gelombang dan absorbansi analit menggunakan alat spektrofotometer yang melibatkan energi elektronik yang cukup besar pada molekul yang dianalisis, sehingga spektrofotometer *UV-Vis* lebih banyak dipakai untuk analisis kuantitatif dibandingkan dengan kualitatif. Konsenterasi dari analit didalam larutan bisa ditentukan dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan Hukum Lambert- Beer (Day dan Underwood, 2002).

Serapan cahaya oleh suatu molekul direkam sebagai absorbansi. Menurut

Hukum Lambert-Beer absorbansi pada suatu panjang gelombang tertentu di definsikan sebagai :

$$A = \log \frac{I_0}{I}$$

A = Absorbansi

I_0 = Intensitas cahaya masuk

I = Intensitas cahaya keluar

Absorbansi pada suatu senyawa bergantung pada panjang gelombang tertentu dan bertambah dengan banyaknya molekul yang mengalami transisi. Karena hal tersebut, absorbansi bergantung pada struktur elektronik suatu senyawa dan juga pada kepekatan sampel dan panjang sel sampel. Karena itu absorpsi energi itu dinyatakan sebagai absorptivitas molar. Sehingga besarnya absorbansi dinyatakan dengan persamaan :

$$A = \varepsilon\ b\ c \text{ atau } A = a\ b\ c$$

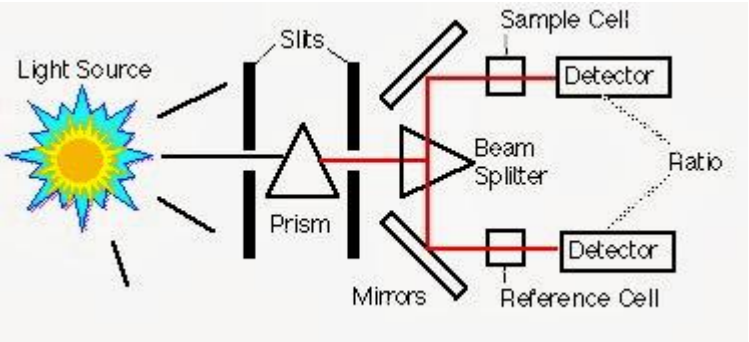
ε = Absorptivitas molar

A = Absorbansi

a = Absortivitas (g/L)

b = Tebal Kuvet (cm)

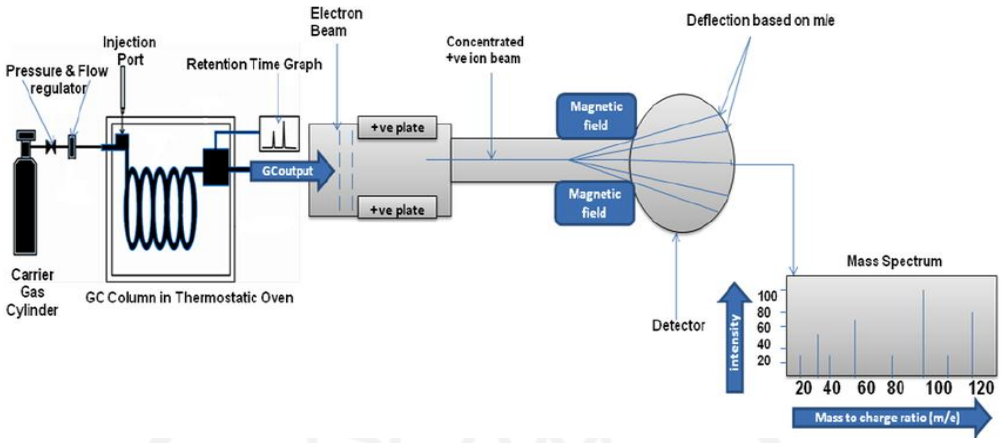
c = Konsentrasi (mg/L) (Fessenden dan Fessenden, 1982)



Gambar 12. Prinsip Kerja Spektrofotometer *UV-Vis*

3.13 Gas Chromatography-Mass Spectrometer

Gas Chromatography-Mass Spectrometer merupakan kombinasi metode analisis antara kromatografi gas dan spektrometer massa. Pada instrumen ini GC bertindak sebagai media pemisahan, sedangkan MS berfungsi sebagai detektor. Detektor dari MS terdiri dari sistem analisis dan sistem ionisasi, dimana Electron Impact Ionization (EI) adalah metode ionisasi yang umum digunakan (Agusta, 2000). Prinsip dari instrumen ini yaitu dimana sampel senyawa volatil diinjeksikan ke dalam injektor kemudian diuapkan. Sampel yang berwujud uap akan dibawa oleh gas pembawa menuju kolom pemisahan. Pada kolom pemisahan terjadi proses interaksi antara fase gerak dengan fase diam. Setiap komponen yang terdapat dalam campuran berinteraksi dengan kecepatan yang berbeda dimana 10 interaksi komponen dengan fase diam dengan waktu yang paling cepat akan keluar pertama dari kolom dan yang paling lambat akan keluar paling akhir (Eaton, 1989). Setelah terpisah, masing-masing komponen akan melalui ruang pengion dan dibombardir dengan elektron sehingga terjadi ionisasi. Fragmen ion yang dihasilkan akan diterima oleh detektor sehingga dihasilkan spektrum massa. Analisis GC-MS memiliki keuntungan berupa waktu analisis yang relatif cepat, serta tingkat ketelitian analisis yang tinggi.



Gambar 13. Prinsip Kerja *GC-MS* (Kumar, 2015)

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Alat

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini adalah neraca analitik, blender, pipet ukur 50 mL, corong Buchner, filter vakum, pengaduk magnetik, pemanas air, instrumen GC (*Gas Chromatography*) *Buck Scientific* 910, GC-MS (*Gas Chromatography-Mass Spectrometer*) *Shimadzu QP 2010 SE*, FTIR-UATR (*Fourier-Transform Infrared Spectroscopy Universal Attenuated Total Reflectance*) *Perkin Elmer*, SEM (*Scanning Electron Microscope*) *Phenom Desktop ProXL*, rangkaian alat distilasi, oven, pipet ukur 5 mL, pipet ukur 10 mL, corong gelas, gelas beker 500 mL, gelas beker 100 mL, gelas beker 50 mL, tabung reaksi, instrumen spektrofotometer *UV-Vis UH5300 Hitachi*, termometer, labu ukur 25 mL, labu leher tiga 250 mL, *waterbath*, dan kondenser.

4.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah limbah baglog jamur tiram, larutan dapar asetat pH 5, jerami padi, akuades, ragi tape merk "DK", larutan dapar asetat pH 3, natrium alginat, kalsium klorida 2%, kertas saring, asam sulfat pekat, kalium dikromat, NaOH 2%.

4.3 Cara Kerja

4.3.1 Preparasi ekstrak enzim selulase dari baglog jamur tiram dengan larutan dapar asetat pH 5

Preparasi ekstrak enzim selulase dari baglog jamur tiram dilakukan dengan menimbang 100 gram baglog jamur tiram dan menambahkan larutan dapar asetat pH 5,5 sebanyak 100 mL. Setelah itu campuran

diblender hingga halus. Kemudian campuran dibiarkan selama 24 jam untuk mendapatkan ekstrak enzim selulase baglog jamur tiram, lalu disaring menggunakan filter vakum.

4.3.2 Imobilisasi ekstrak baglog jamur tiram

Ekstrak baglog jamur tiram diambil sebanyak 100 mL lalu diaduk pada temperatur 40˚C dengan kecepatan pengadukan 200 rpm selama 3 jam. Selama proses pengadukan ditambahkan larutan natrium alginat 3,5% sebanyak 100 mL. Kemudian diambil larutan enzim dan natrium alginat menggunakan *syringe*, lalu diteteskan perlahan ke dalam larutan kalsium klorida 2% sehingga akan terbentuk butiran gumpalan. Setelah itu gumpalan yang terbentuk disaring menggunakan kertas saring.

4.3.3 Karakterisasi dengan FTIR

Proses karakterisasi dilakukan dengan menggunakaan FTIR UATR Perkin Elmer. Sampel yang dikarakterisasi terdapat 3 macam yaitu alginat sebelum imobilisasi, alginat setelah imobilisasi, dan ekstrak enzim selulase.

4.3.4 Karakterisasi dengan SEM

Sampel yang digunakan pada karakterisasi dengan SEM yaitu sampel alginat sebelum imobilisasi dan alginat setelah imobilisasi. Pada sampel alginat setelah imobilisasi diperlukan preparasi tambahan yaitu dengan dilakukan proses pengeringan dengan oven pada temperatur 50˚C selama 4 jam.. Kemudian sampel dilakukan analisis morfologi dengan instrumen SEM.

4.3.5 Preparasi Jerami Padi

Preparasi jerami padi dilakukan dengan cara memotong jerami menjadi bagian kecil dengan panjang 0,5 – 1 cm, selanjutnya jerami dikeringkan pada temperatur 50˚C selama 24 jam lalu diblender hingga

halus. Kemudian dilakukan proses delignifikasi pada jerami dengan cara mengambil 50 gram jerami lalu direndam dengan H_2SO_4 10% sebanyak 250 mL serta dipanaskan pada temperatur 120°C selama 1 jam. Selanjutnya dilakukan filtrasi untuk memisahkan jerami dengan pelarut. Kemudian jerami dibilas menggunakan akuades untuk menetralkan pH, lalu jerami dikeringan pada temperatur 50˚C selama 24 jam.

4.3.6 Produksi bioetanol dengan metode SHF

Produksi bioetanol dengan metode SHF diawali dengan ditimbang sebanyak 4 gram jerami dan 10 gram enzim selulase terimobilisasi, lalu dimasukkan ke dalam labu leher 3 berukuran 250 mL. Kemudian ditambahkan 50 mL larutan dapar asetat pH 3 kemudian dilakukan proses hidrolisis pada temperatur 40˚C selama 6, 12, dan 24 jam. Selanjutnya dilakukan proses menaikkan pH pada hidrolisat dengan penambahan NaOH 2% hingga pH menjadi 4,8. Setelah pH hidrolisat menjadi 4,8 lalu ditambahkan akuades hingga volume larutan menjadi 100 mL. Kemudian ditambahkan 4 gram ragi tape yang mengandung *S. cerevisiae* dan dilanjutkan dengan proses fermentasi selama 5, 7, dan 9 hari.

4.3.7 Pembuatan pereaksi asam dikromat (Jones)

Pembuatan pereaksi asam dikromat (Jones) dilakukan dengan cara ditimbang 7,5 gram kalium dikromat lalu dilarutkan dengan 250 mL H_2SO_4 5 M dalam keadaan dingin dan diaduk hingga homogen.

4.3.8 Penentuan kualitatif bioetanol

Penentuan kualitatif bioetanol dilakukan menggunakan instrumen kromatografi gas dengan optimasi suhu injektor 250˚C, suhu detektor 300˚C, split rasio 20, suhu awal kolom 50˚C yang ditingkatkan bertahap sebesar 10˚C/menit hingga suhu 220˚C. Kemudian untuk analisis GC-

MS dipilih sampel dengan variasi waktu fermentasi 9 hari dan dilakukan preparasi dengan cara sampel bioetanol didistilasi terlebih dahulu pada temperatur 90˚C selama 20 menit.

4.3.9 Penentuan konsentrasi bioetanol

Penentuan kadar bioetanol yang diperoleh digunakan analisis menggunakan spektrofotometer *UV-Vis double beam* dengan menggunakan reagen dikromat (*Jones*). Sebanyak 5 mL sampel ditambah 2 mL reagen dikromat dan dipanaskan selama 5 menit dan dianalisis dengan spektrofotometer *UV-Vis double beam* pada panjang gelombang 580,5 nm.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bioetanol yang dihasilkan dari proses hidrolisis enzim selulase terimobilisasi serta mengetahui optimasi terbaik untuk menghasilkan kadar bioetanol yang tinggi. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Riset Kimia Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia. Penelitian ini dilakukan dengan memanfaatkan bahan dasar utama dari limbah yaitu jerami padi dan baglog jamur tiram. Limbah jerami padi yang didapatkan berasal dari limbah hasil panen pertanian dari seorang warga di desa Widodomartani, sedangkan untuk baglog jamur tiram didapatkan dari Griya Jamur yang berlokasi di Jalan Wates km. 14 Kabupaten Bantul, Yogyakarta. Pada penelitian ini jerami padi dipreparasi dengan proses delignifikasi, sedangkan pada baglog jamur tiram dilakukan proses ekstraksi enzim selulase sehingga kemudian dapat dilakukan imobilisasi enzim. Proses dilanjutkan dengan hidrolisis jerami padi dengan enzim selulase terimobilisasi yang kemudian hidrolisat yang dihasilkan dapat digunakan sebagai bahan fermentasi. Selanjutnya dilakukan proses fermentasi dengan bantuan ragi *Saccharomyces cerevisiae*. Optimasi kondisi reaksi yang meliputi lama waktu hidrolisis serta waktu fermentasi dilakukan agar dapat diperoleh bioetanol dengan tingkat kemurnian yang tinggi.

5.1 Preparasi Ekstrak Enzim Selulase dari Baglog Jamur Tiram

Preparasi ekstrak enzim selulase dari baglog jamur tiram dilakukan dengan menimbang 100 gram baglog jamur tiram yang didapatkan dari tempat budidaya jamur, lalu baglog jamur dicuci menggunakan akuades untuk menghilangkan pengotor yang menempel sehingga dapat meminimalisir tingkat kontaminan dapat mempengaruhi proses ekstraksi enzim selulase. Kemudian baglog jamur

yang telah dicuci ditambahkan larutan dapar asetat pH 5,5 sebanyak 100 mL karena enzim selulase dapat bekerja secara optimal pada pH tersebut, lalu campuran diblender hingga halus.



Gambar 14. Proses ekstraksi enzim selulase dari baglog jamur tiram

Kemudian campuran dibiarkan selama 24 jam untuk mengoptimalkan proses interaksi antara larutan dapar asetat pH 5,5 dengan enzim selulase pada baglog jamur tiram. Selanjutnya campuran disaring menggunakan filter vakum untuk memisahkan antara endapan baglog jamur tiram dengan larutan. Larutan yang didapatkan setelah proses filtrasi vakum yaitu berwarna kuning kecoklatan yang mengandung ekstrak enzim selulase dari baglog jamur tiram. Selanjutnya ekstrak baglog jamur tiram disimpan dalam lemari pendingin untuk menonaktifkan kinerja enzim dan mematikan mikroorganisme.

5.2 Imobilisasi Ekstrak Enzim Selulase Baglog Jamur Tiram

Imobilisasi enzim merupakan teknik penempatan enzim dalam suatu matriks tertentu sehingga kestabilannya terjaga dan dapat mempertahankan aktivitas katalitiknya serta dapat digunakan secara kontinu. Pada penelitian ini digunakan natrium alginat dimana ekstrak enzim selulase ditempatkan pada kisi yang terdapat pada natrium alginat. Pemilihan natrium alginat disebabkan karena senyawa ini mengikat enzim secara *entrapment* sehingga tidak memiliki efek membentuk ikatan kimia baru yang memiliki kelebihan dimana kemurnian enzim dapat terjaga, tingkat fleksibilitas enzim yang baik, ketahanan terhadap

pH dan temperatur yang baik, serta harga matriks yang relatif terjangkau. Imobilisasi ekstrak baglog jamur tiram diawali dengan diambil sebanyak 100 mL lalu diaduk pada temperatur 40˚C dengan kecepatan pengadukan 200 rpm selama 3 jam supaya enzim dapat teraktivasi.



Gambar 15. Proses aktivasi ekstrak enzim selulase

Selama proses pengadukan ditambahkan larutan natrium alginat 3,5% sebanyak 100 mL yang berfungsi sebagai agen pengimobilisasi ekstrak baglog jamur tiram. Kemudian diambil larutan enzim dan natrium alginat menggunakan *syringe*, lalu diteteskan perlahan ke dalam larutan kalsium klorida 2% sehingga akan terbentuk butiran gumpalan. Butiran gumpalan yang terbentuk merupakan interaksi ikatan silang antara ion kalsium dengan alginat sehingga dapat meningkatkan kualitas tekstur dari ekstrak yang terimobilisasi akibat dari efek khelasi yang dimiliki ion kalsium terhadap alginat (Herawati dkk, 2016).

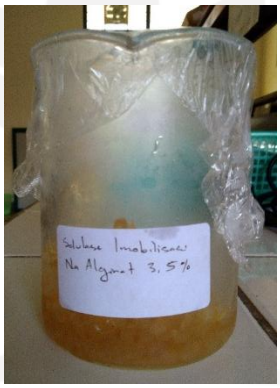


Gambar 16. Ekstrak enzim selulase dengan penambahan alginat



Gambar 17. Enzim selulase terimobilisasi dalam larutan kalsium klorida

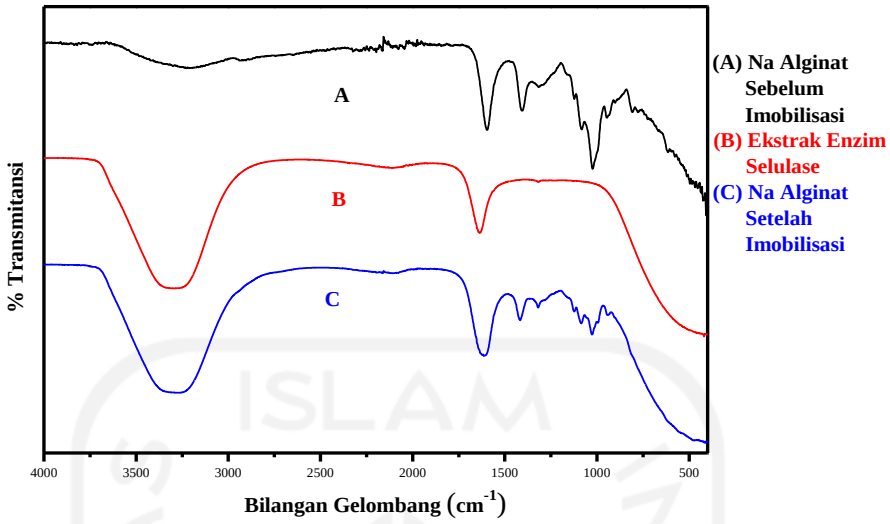
Kemudian dari butir gumpalan yang terbentuk tersebut disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan gumpalan dari larutan kalsium klorida sehingga dapat digunakan dalam proses selanjutnya.



Gambar 18. Enzim selulase terimobilisasi

5.3 Karakterisasi Ekstrak Enzim Selulase Terimobilisasi dengan FTIR

Karakterisasi dilakukan dengan menggunakaan FTIR UATR. Sampel yang dikarakterisasi terdapat 3 macam yaitu alginat sebelum imobilisasi, alginat setelah imobilisasi, dan ekstrak enzim selulase. Pada instrumen FTIR UATR sampel dapat secara langsung dianalisis dengan cara diberi tekanan pada sampel sehingga tidak perlu dilakukan preparasi menggunakan pelet KBr. Kemudian didapatkan spektra IR dari ketiga sampel tersebut yang dapat dilihat pada Gambar 19.



Gambar 19. Spektra IR Ekstrak Enzim Selulase, Natrium Alginat Sebelum dan Sesudah Imobilisasi

Berdasarkan data spektra IR tersebut telah didapatkan bilangan gelombang yang ada pada masing-masing sampel sehingga dapat diketahui gugus fungsi yang dapat dilihat pada Tabel 5.

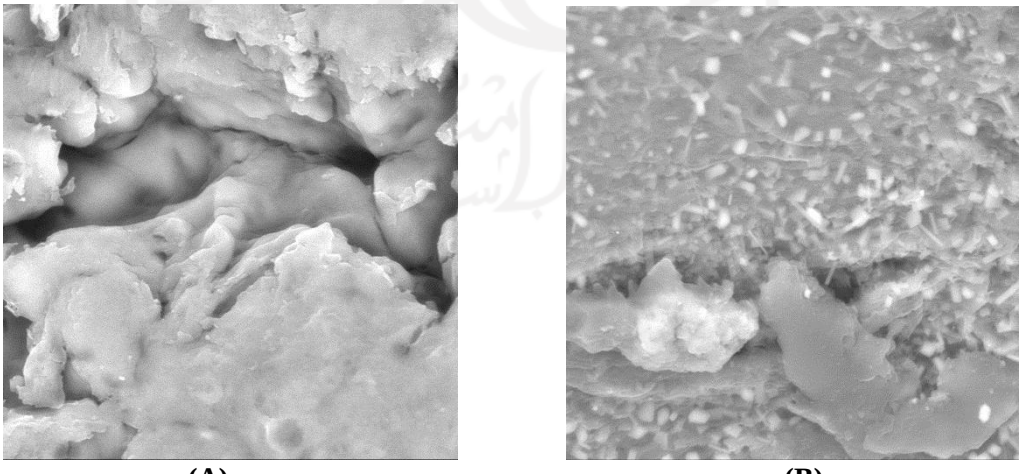
Tabel 5. Interpretasi data spektra IR

Bilangan Gelombang (cm^{-1})			**Gugus Fungsi**	**Rentang Bilangan Gelombang (cm^{-1})** (Skoog dkk., 1998)
Na alginat sebelum imobilisasi	**Na alginat setelah imobilisasi**	**Ekstrak enzim selulase**		
3226,82	3269,16	3307,49	O-H melebar	3200 – 3600
-	1621,60	1634,11	C=O asam karboksilat	1610 – 1680
1595,67	-	-	C=C aromatik	1500 – 1600
1405,08	1417,02	-	C-H alkana	1340 – 1470
1024,37	1026,76	-	C-O asam karboksilat	1050 – 1300

Pada Tabel 5 menunjukkan bahwa terdapat perubahan gugus fungsi maupun pergeseran bilangan gelombang dimana hal tersebut menunjukkan adanya ikatan antara natrium alginat dengan ekstrak enzim selulase. Hal tersebut telah sesuai dengan prinsip imobilisasi enzim dimana ekstrak enzim selulase terikat pada natrium alginat sehingga dapat meningkatkan stabilitas dari enzim tersebut. Kemudian berdasarkan prinsip tersebut dapat diketahui bahwa jenis interaksi antara ekstrak enzim selulase dengan natrium alginat yaitu *entrapment* dimana ikatan yang terjadi hanya bersifat ikatan fisika antara ekstrak enzim selulase pada permukaan maupun pori-pori dari natrium alginat.

5.4 Karakterisasi Ekstrak Enzim Selulase Terimobilisasi dengan SEM

Sampel yang digunakan pada karakterisasi dengan SEM yaitu sampel alginat sebelum imobilisasi dan alginat setelah imobilisasi. Pada sampel alginat setelah imobilisasi dilakukan preparasi tambahan yaitu dengan dilakukan proses pengeringan dengan oven pada temperatur 50˚C selama 4 jam untuk menghilangkan kadar air yang terdapat dalam sampel gel enzim selulase terimobilisasi. Setelah dianalisis menggunakan SEM didapatkan hasil yang dapat dilihat pada Gambar 20.



(A) **(B)**

Gambar 20. Morfologi natrium alginat sebelum imobilisasi **(A)** dan natrium alginat setelah imobilisasi **(B)**

Pada Gambar 20 menunjukkan hasil SEM pada sampel natrium alginat yang telah diperbesar 10 ribu kali. Morfologi pada natrium alginat sebelum imobilisasi memiliki permukaan yang halus serta pori-pori yang cukup luas dan banyak, sedangkan pada natrium alginat setelah imobilisasi memiliki permukaan yang kasar, pori-pori yang telah terisi, serta terdapat bintik putih kecil. Hal ini disebabkan karena pori pada natrium alginat setelah imobilisasi telah berikatan dengan ekstrak enzim selulase dimana bintik putih kecil menunjukkan adanya enzim selulase yang telah terikat pada natrium alginat.

5.5 Preparasi Jerami Padi

Preparasi jerami padi dilakukan dengan cara memotong jerami menjadi bagian kecil dengan panjang 0,5 – 1 cm supaya mempermudah ketika proses delignifikasi dilakukan , selanjutnya jerami dikeringkan pada temperatur 50˚C selama 24 jam untuk menghilangkan kadar air yang tersisa dalam jerami padi lalu jerami diblender untuk menghasilkan jerami padi yang lebih halus sehingga dapat memperluas permukaan sampel jerami padi. Kemudian dilakukan proses delignifikasi pada jerami dengan cara mengambil 50 gram jerami lalu direndam dengan H_2SO_4 1% sebanyak 250 mL serta dipanaskan pada temperatur 120°C selama 1 jam. Selanjutnya dilakukan filtrasi untuk memisahkan jerami dengan pelarut. Kemudian jerami dibilas menggunakan akuades untuk menetralkan pH, lalu jerami dikeringan pada temperatur 50˚C selama 24 jam. Delignifikasi pada jerami padi dilakukan untuk menghilangkan senyawa lignin yang terdapat pada bagian luar jerami supaya selulosa dapat berinteraksi langsung dengan ekstrak enzim terimobilisasi.

5.6 Proses SHF

Pada proses SHF terdiri dari dua jenis proses yaitu hidrolisis dan fermentasi dimana keduanya dilakukan secara terpisah. Hidrolisis merupakan proses pemecahan rantai polisakarida menjadi monosakarida. Hidrolisis dapat dilakukan dengan cara asam maupun enzimatik. Pada proses hidrolisis terjadi reaksi yaitu

$$(C_6H_{10}O_5)_n + \text{enzim selulase} \longrightarrow C_6H_{12}O_6$$

Konversi dari selulosa menjadi glukosa merupakan hasil dari kerja dari subgrup selulase yaitu :

a. Endo-β-1,4-D-glukanase yang memecah ikatan internal glikosidik yang berada diantara rantai glukan yang utuh.
b. Ekso-β-1,4-D-glukanase/ekso-β-1,4-D-selobiohidrolase yang memecah dimer selubiosa dari rantai glukan dan melepaskannya kedalam larutan.
c. β-glukosidase yang menyempurnakan hidrolisis selulosa menjadi glukosa dengan memecah selubiosa menjadi monomer glukosa.

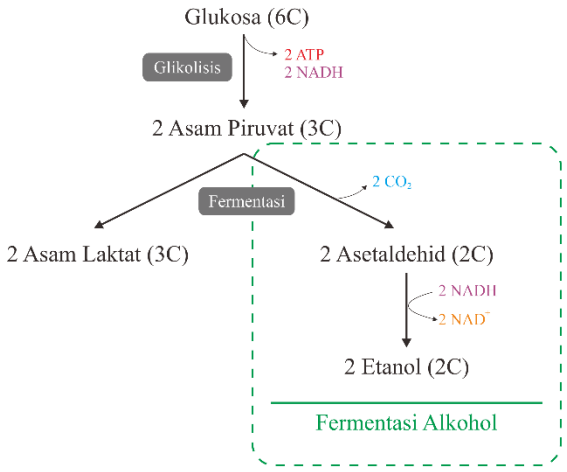
Pada penelitian ini digunakan hidrolisis enzimatik dengan menggunakan ekstrak enzim selulase terimobilisasi dan dilakukan pada suasana asam sehingga dapat mempercepat proses hidrolisis selulosa menjadi glukosa (Yulianto dkk, 2009). Produksi bioetanol dengan metode SHF diawali dengan ditimbang sebanyak 4 gram jerami dan 10 gram enzim selulase terimobilisasi, lalu dimasukkan ke dalam labu leher tiga berukuran 250 mL. Kemudian ditambahkan sebanyak 50 mL larutan dapar asetat pH 3. Larutan dapar asetat pH 3 merupakan asam lemah yang berfungsi sebagai pembawa suasana asam (Li dkk, 2019). Selanjutnya dilakukan proses hidrolisis pada temperatur 40˚C dimana menggunakan variasi waktu hidrolisis selama 6, 12, dan 24 jam dengan masing-masing pengulangan pada tiap variasi sebanyak dua kali (duplo). Pada saat hidrolisis, selulosa pada jerami padi akan berinteraksi dengan ekstrak enzim selulase yang terdapat dalam alginat melalui pori-pori yang ada. Setelah proses hidrolisis, maka hidrolisat dipisahkan kemudian dilakukan proses netralisasi pH untuk menaikkan pH pada hidrolisat dengan menambahan NaOH 2% hingga pH menjadi 4,8. Netralisasi pH berfungsi untuk membuat larutan hidrolisat berada dalam rentang kondisi pH optimum yaitu 4 – 7 sehingga aman untuk digunakan pada proses fermentasi, jika pH terlalu asam maka sel - sel dari khamir mati sehingga menyebabkan kegagalan pada proses fermentasi. Setelah pH hidrolisat

menjadi 4,8 lalu ditambahkan akuades hingga volume larutan menjadi 100 mL.

Pada tahap selanjutnya dilakukan proses fermentasi pada hidrolisat. Fermentasi merupakan proses penguraian glukosa menjadi etanol dan karbondioksida secara anaerob menggunakan sel sel dari mikroba yaitu *Saccharomyces cerevisiae* (Prescott dan Dunn, 1959). Reaksi yang terjadi pada proses fermentasi yaitu

$$C_6H_{12}O_6 + \textit{Saccharomyces cerevisiae} \longrightarrow 2C_2H_5OH + 2CO_2$$

Pada proses tersebut terjadi reaksi biokimia dimana glukosa akan mengalami glikolisis menjadi asam piruvat, kemudian asam piruvat akan membentuk dua jalur fermentasi anaerobik yaitu fermentasi alkohol. Proses reaksi biokimia dapat dilihat pada Gambar 21.



Gambar 21. Reaksi biokimia fermentasi

Proses fermentasi diawali dengan menambahkan 4 gram ragi tape dengan merk “DK”. Penggunaan ragi tape disebabkan karena pada ragi tape mengandung terdapat banyak jenis khamir yang sangat baik untuk proses fermentasi glukosa, namun spesies khamir yang memiliki peran sangat tinggi dalam proses fermentasi adalah *Saccharomyces cerevisiae*. Kemudian

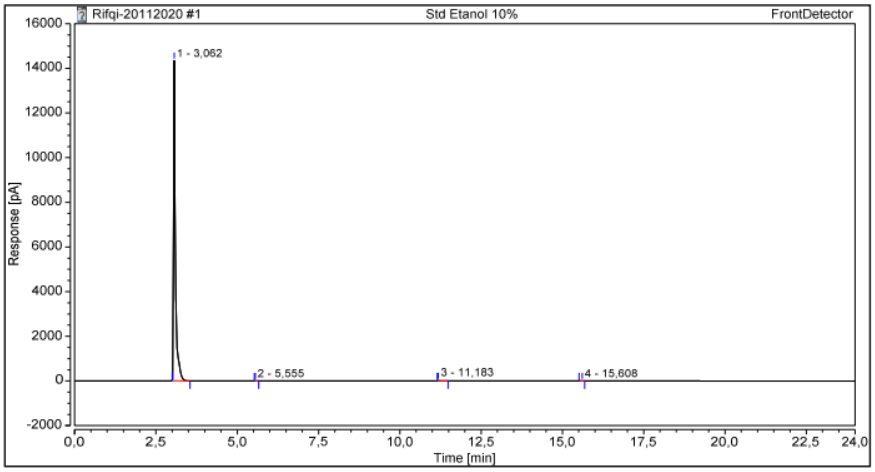
dilanjutkan dengan proses fermentasi dengan variasi waktu selama 5, 7, dan 9 hari serta pengulangan percobaan pada masing-masing variabel sebanyak dua kali (duplo).



Gambar 22. Proses fermentasi

5.7 Penentuan Kualitatif Bioetanol dengan Kromatografi Gas

Sampel hasil fermentasi kemudian dilakukan identifikasi senyawa menggunakan kromatografi gas dengan optimasi suhu injektor 250˚C, suhu detektor 300˚C, split rasio 20, suhu awal kolom 50˚C yang ditingkatkan bertahap sebesar 10˚C/menit hingga suhu 220˚C. Larutan standar yang digunakan adalah standar etanol 1% dan diperoleh waktu retensi sebesar 3, 062.



Gambar 23. Kromatogram standar etanol 10%

Berdasarkan Gambar 23, dapat dilihat bahwa terdapat puncak tajam pada waktu

retensi 3,062 dimana menunjukkan bahwa puncak tersebut adalah etanol. Selanjutnya waktu retensi tersebut digunakan sebagai pembanding untuk analisis sampel sehingga dapat diketahui pada sampel tersebut terdapat etanol atau tidak.

Setelah sampel dianalisis menggunakan kromatografi gas dengan optimasi yang sama pada standar etanol 10%, maka didapatkan data yang dapat dilihat pada Tabel 6 dan Tabel 7.

Tabel 6. Data waktu retensi sampel variasi waktu hidrolisis

Waktu hidrolisis (jam)	Waktu retensi (menit)
6	3,158
12	3,153
24	3,155

Tabel 7. Data waktu retensi sampel variasi waktu fermentasi

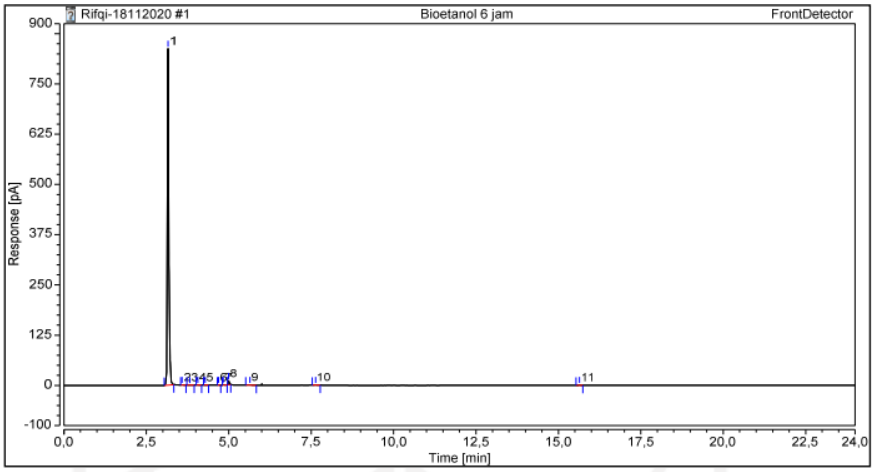
Waktu fermentasi (hari)	Waktu retensi (menit)
5	3,155
7	3,153
9	3,150

Pada perlakuan variasi waktu hidrolisis yang ditunjukkan pada Tabel 6, dapat diketahui bahwa waktu retensi etanol yang didapatkan pada variasi 6, 12, dan 24 jam berturut-turut adalah 3,158 ; 3, 153 ; 3,155 yang kemudian dibandingkan dengan waktu retensi standar etanol 1% sehingga hal ini membuktikan bahwa dalam sampel tersebut terkandung senyawa etanol.

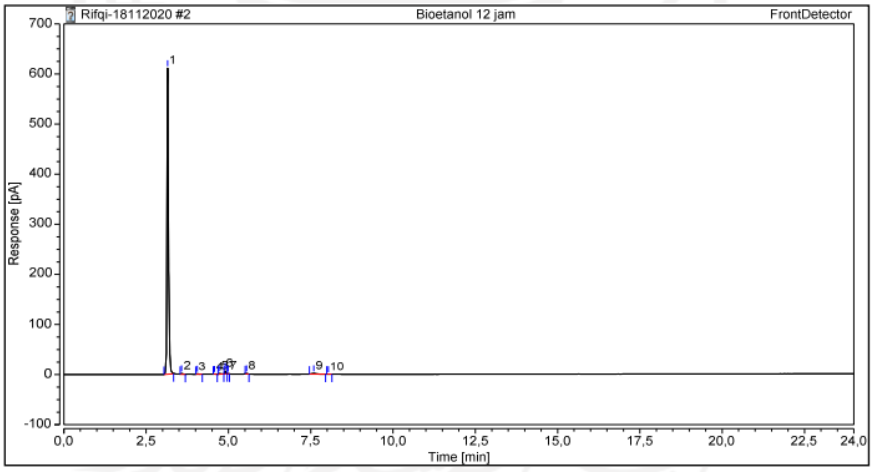
Pada perlakuan variasi waktu fermentasi yang ditunjukkan pada Tabel 7, diketahui data hasil analisis waktu retensi etanol yang didapatkan pada variasi 5, 7, dan 9 hari berturut-turut adalah 3,155 ; 3,153 ; 3,150 sehingga menandakan bahwa pada sampel tersebut juga terkandung senyawa etanol.

Pada hasil analisis kromatografi gas antara standar dengan sampel, terdapat sedikit perbedaan pada waktu retensi yang dihasilkan dimana dapat dilihat pada kromatogram yang dihasilkan pada Gambar 24, Gambar 25, Gambar 26, Gambar

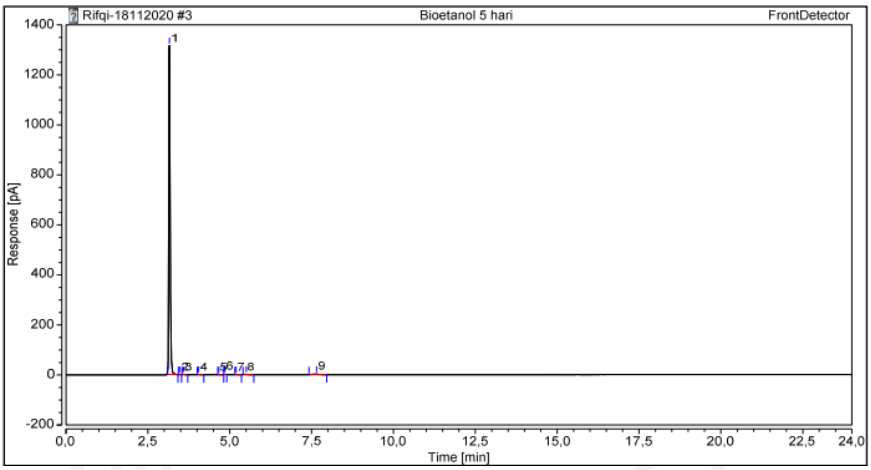
27, dan Gambar 28.



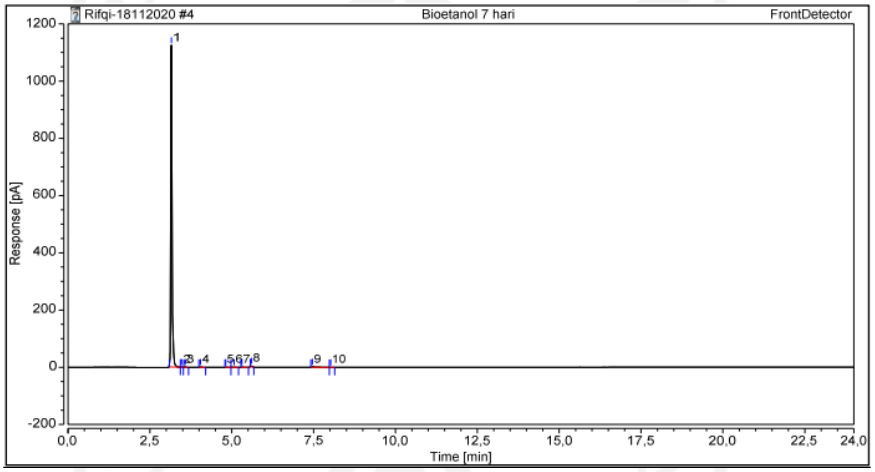
Gambar 24. Kromatogram sampel variasi waktu hidrolisis 6 jam



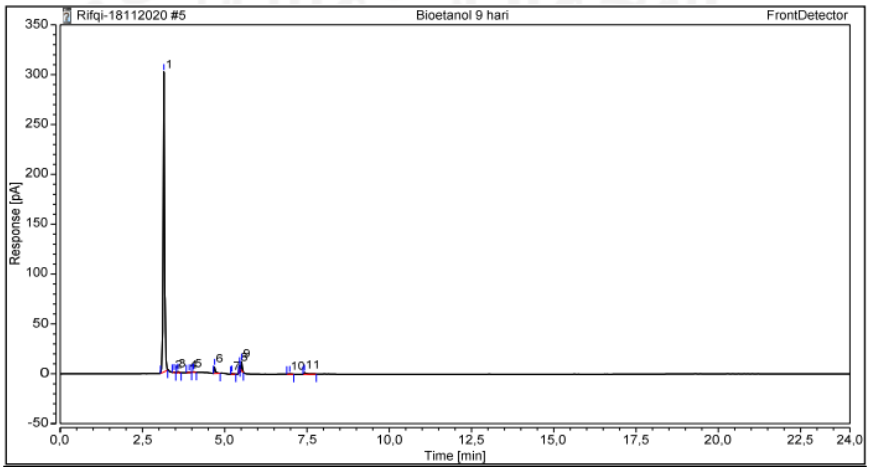
Gambar 25. Kromatogram sampel variasi waktu hidrolisis 12 jam



Gambar 26. Kromatogram sampel variasi waktu fermentasi 5 hari



Gambar 27. Kromatogram sampel variasi waktu fermentasi 7 hari

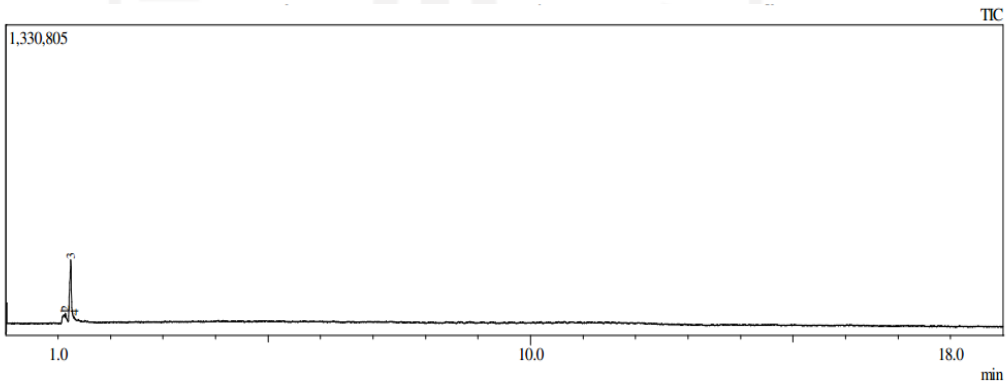


Gambar 28. Kromatogram sampel variasi waktu fermentasi 9 hari

Pada kromatogram yang ditunjukkan oleh Gambar 24, Gambar 25, Gambar 26, Gambar 27, dan Gambar 28 terlihat bahwa terdapat banyak senyawa pengotor yang muncul dimana ditandai dengan banyaknya puncak kecil yang terbentuk. Hal ini disebabkan kandungan etanol dalam sampel yang masih tercampur oleh senyawa pengotor lain sehingga dapat mempengaruhi sifat kepolarannya, maka ketika dilakukan proses analisis, analit sampel akan sedikit tertahan lebih lama di dalam kolom daripada standar etanol 10%.

5.8 Penentuan Kualitatif Sampel dengan *GC-MS*

Pada penentuan kualitatif sampel menggunakan instrumen GC-MS bertujuan untuk mengetahui puncak kecil hasil kromatogram pada GC dimana merupakan senyawa pengotor yang terdapat pada campuran sampel bioetanol. Pada tahap ini terlebih dahulu dilakukan distilasi pada sampel bioetanol pada temperatur 90˚C selama 20 menit untuk memisahkan etanol dari senyawa lainnya yang terdapat pada sampel. Kemudian sampel bukan etanol dari hasil pemisahan dianalisis dengan instrumen GC-MS dan didapatkan hasil yang dapat dilihat pada Gambar 29.



Peak Report TIC

Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area	Area%	Height
1	1.115	1.055	1.130	111149	13.45	34436
2	1.139	1.130	1.190	62854	7.61	41047
3	1.240	1.190	1.295	629325	76.16	264566
4	1.305	1.295	1.345	22974	2.78	16635
				826302	100.00	356684

Gambar 29. Hasil analisis GCMS

Gambar 29 menunjukkan bahwa sampel mengandung beberapa senyawa

pengotor. Hal tersebut dapat berpengaruh pada tingkat efektivitas sampel bioetanol dalam proses pembakaran ketika bioetanol digunakan sebagai sumber bahan bakar. Berikut merupakan senyawa pengotor yang terdapat dalam sampel bioetanol yang disajikan pada Tabel 8.

Tabel 8. Hasil analisis GCMS

Senyawa	Puncak	Waktu retensi (menit)	Komposisi (%)
Azabicyclooctane-2-carboxylic acid	1	1,115	13,45
Propanone	2	1,139	7,61
Acetic acid	3	1,240	76,16
Methylcyclopentane	4	1,305	2,78

Pada Tabel 8 dapat diketahui bahwa terdapat 4 senyawa pengotor yang terdapat dalam sampel. Pada Tabel 8 terdeteksi senyawa asam asetat dengan komposisi 76,16% dimana senyawa tersebut merupakan pelarut utama pembawa suasana asam ketika proses hidrolisis, sehingga menunjukkan komposisi yang paling tinggi.

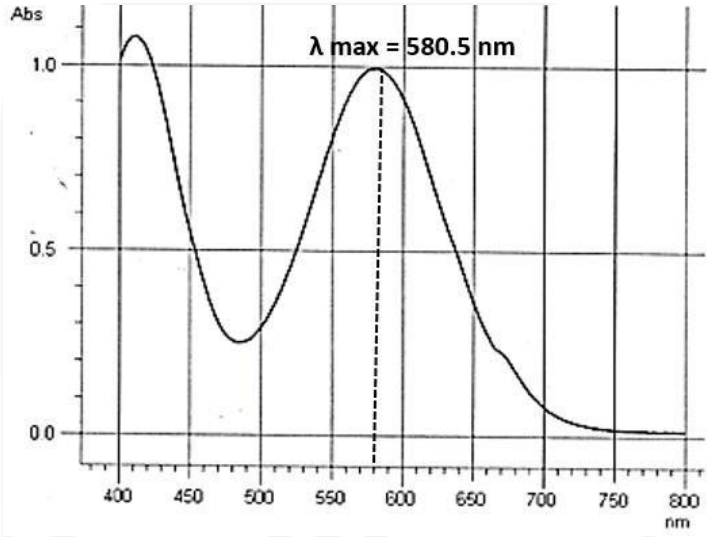
5.9 Penentuan Konsentrasi Bioetanol

5.9.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (λ_{max})

Panjang gelombang maksimum merupakan puncak absorbsi maksimal dari suatu senyawa. Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan untuk meningkatkan sensitivitas pada pengukuran nilai absorbansi. Pengukuran panjang gelombang maksimum dilakukan pada kisaran panjang gelombang 400 – 800 nm karena merupakan kisaran panjang gelombang untuk sinar tampak. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan larutan standar etanol konsentrasi 0,5 % sebanyak 5 mL. Kemudian ditambahkan 2 mL pereaksi dikromat (*Jones*) lalu dipanaskan selama 5 menit. Proses pemanasan berfungsi untuk mempercepat proses oksidasi etanol sehingga akan terjadi perubahan warna

larutan dari jingga menjadi biru kehijauan dimana terbentuk senyawa kromium sulfat. Reaksi yang terjadi yaitu

$$2K_2Cr_2O_7 + 8H_2SO_4 + 2C_2H_5OH \longrightarrow 2K_2SO_4 + 2Cr_2(SO_4)_3 + 3CH_3COOH + H_2O$$

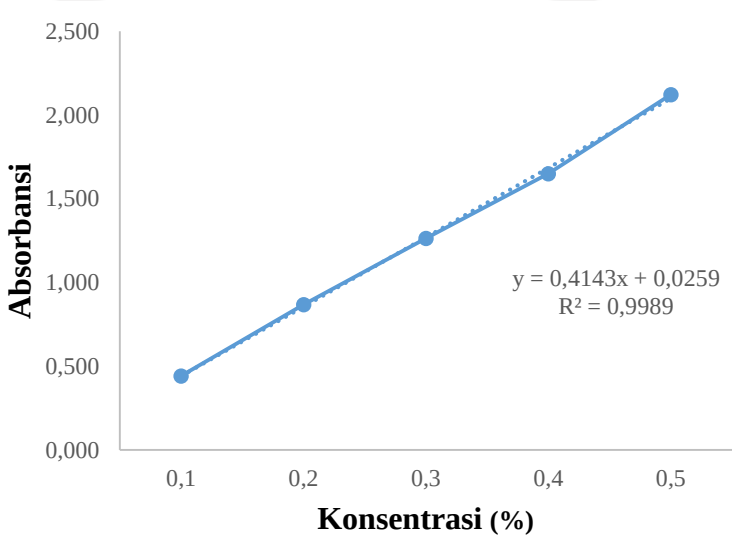


Gambar 30. Grafik Panjang Gelombang Maksimum Kromium sulfat

Pada Gambar 30 ditunjukkan hasil pengukuran panjang gelombang maksimum dari kromium sulfat dimana absorbsi tertinggi terjadi pada panjang gelombang maksimum 580,5 nm. Panjang gelombang 580,5 nm merupakan panjang gelombang warna komplementer (transmisi) dari larutan yang diukur yaitu warna biru kehijauan, dimana warna yang diserap adalah warna kuning yang memiliki kisaran panjang gelombang 580 - 595 nm (Sastrohamidjojo, 2001). Prinsip penggunaan pereaksi dikromat pada analisis kadar bioetanol yaitu dimana semakin tinggi intensitas warna biru kehijauan dimana ditunjukkan oleh kenaikan nilai absorbansi, maka semakin tinggi pula kandungan bioetanol dalam sampel.

5.9.2 Penentuan Kurva Standar

Penentuan konsentrasi bioetanol diawali dengan dibuat kurva kalibrasi dengan larutan standar etanol konsentrasi 0,1 % ; 0,2 % ; 0,3 % ; 0,4 % ; 0,5 % dimana diharapkan konsentrasi dari sampel berada pada rentang tersebut. Pengukuran larutan standar etanol dilakukan pada panjang gelombang maksimum 580,5 nm.



Gambar 31. Grafik absorbansi vs konsentrasi larutan standar etanol

Hasil yang didapatkan dari hasil pengukuran tersebut yaitu diperoleh persamaan regresi linier y = 4,143x + 0,0259 dengan nilai koefisien regresi (R^2) = 0,9989 dimana 4,143 sebagai *slope* dan 0,0259 sebagai *intercept*. Hasil persamaan tersebut telah sesuai dengan hukum Lambert-Beer dimana terdapat korelasi antara konsentrasi larutan dengan nilai absorbansi yang ditunjukkan pada Gambar 31.

5.9.3 Perhitungan Konsentrasi Bioetanol Sampel

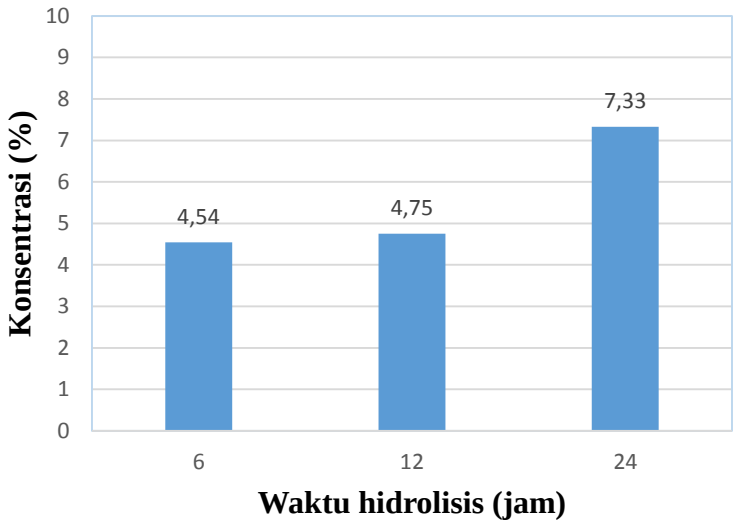
Pada proses penentuan konsentrasi bioetanol dengan spektrofotometer *uv-vis*, sampel terlebih dahulu diencerkan sebanyak 2 kali menggunakan akuades karena jika tanpa pengenceran maka absorbansi sampel tidak masuk dalam rentang absorbansi larutan standar etanol. Pada percobaan variasi waktu

hidrolisis, didapatkan nilai absorbansi dari sampel bioetanol dengan pengenceran 2 kali yang ditunjukkan pada Tabel 9.

Tabel 9. Konsentrasi bioetanol variasi waktu hidrolisis

Sampel (jam)	Absorbansi		Rata-rata Absorbansi	Konsentrasi (%)
6	A1	0,501	0,509	4,55
	A2	0,517		
12	B1	0,523	0,531	4,75
	B2	0,539		
24	C1	0,908	0,805	7,33
	C2	0,702		

Berdasarkan data yang didapatkan pada Tabel 9, selanjutnya dibuat grafik konsentrasi bioetanol variasi waktu hidrolisis.



Gambar 32. Grafik konsentrasi bioetanol variasi waktu hidrolisis

Waktu yang digunakan untuk hidrolisis pada proses SHF dimana dengan variasi 6, 12, dan 24 jam dengan waktu fermentasi yang sama yaitu 5 hari. Berdasarkan Gambar 32 dapat dilihat bahwa konsentrasi bioetanol memiliki

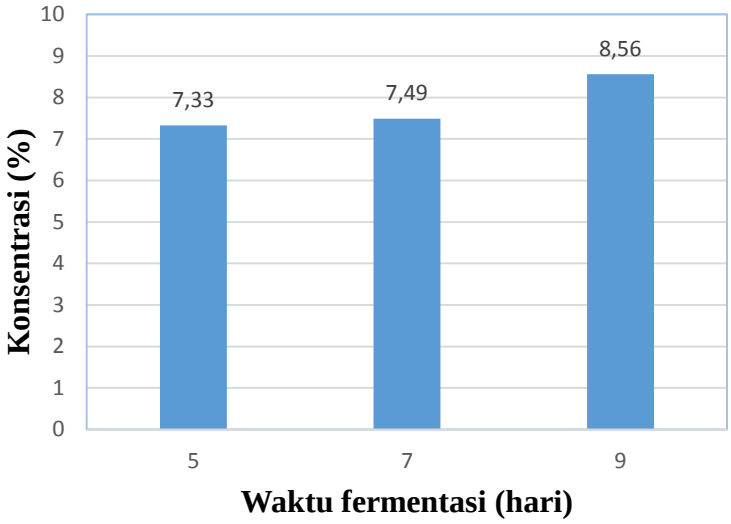
kenaikan yang berbanding lurus dengan waktu hidrolisis. Lama waktu hidrolisis sangat berpengaruh terhadap reaksi biokimia untuk mengonversi selulosa menjadi glukosa, waktu hidrolisis 6 jam memiliki konsentrasi bioetanol paling sedikit yaitu 4,54% , hal ini disebabkan karena interaksi yang terlalu singkat antara selulosa dengan enzim selulase terimobilisasi sehingga menghasilkan glukosa yang sedikit dan ketika di fermentasi maka akan menghasilkan etanol yang sedikit pula. Pada Gambar 33 menunjukkan bahwa waktu hidrolisis 24 jam memiliki konsentrasi bioetanol sebesar 7,33%. Hal ini menunjukkan bahwa waktu hidrolisis 24 jam cukup efektif untuk menghasilkan kadar bioetanol yang baik.

Pada percobaan kedua yaitu variasi waktu fermentasi selama 5, 7, dan 9 hari dengan waktu hidrolisis yang sama yaitu 24 jam. Waktu hidrolisis 24 jam dipilih karena sebelumnya menunjukkan bahwa waktu tersebut cukup efektif untuk menghasilkan kadar etanol yang baik. Hasil pengukuran konsentrasi bioetanol variasi waktu fermentasi dengan spektrofotometer *uv-vis* dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Konsentrasi bioetanol variasi waktu fermentasi

Sampel (hari)	**Absorbansi**		**Rata-rata Absorbansi**	**Konsentrasi (%)**
5	A1	0,908	0,805	7,33
	A2	0,702		
7	B1	0,824	0,822	7,45
	B2	0,820		
9	C1	0,867	0,936	8,56
	C2	1,004		

Berdasarkan data yang didapatkan pada Tabel 10, selanjutnya dibuat grafik konsentrasi bioetanol variasi waktu fermentasi.



Gambar 33. Grafik konsentrasi bioetanol variasi waktu fermentasi

Pada Gambar 33 dapat diketahui bahwa kenaikan konsentrasi bioetanol berbanding lurus dengan waktu fermentasi. Hal ini dapat dikaitkan dengan pertumbuhan dari *Saccharomyces cerevisiae*. Pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* yang sama dengan mikroorganisme lain dapat digambarkan dengan kurva pertumbuhan dimana menunjukkan masing-masing fase pertumbuhan.

Pada proses fermentasi terdapat empat fase pertumbuhan yang meliputi fase adaptasi (*lag phase*), fase tumbuh cepat *(exponential phase*), fase tumbuh konstan (*stationary phase*), dan fase kematian (*death phase*). Pada fase adaptasi digambarkan dengan garis datar dari posisi nol yang sedikit naik dimana pada fase ini *Saccharomyces cerevisiae* mengalami penyesuaian terhadap lingkungan. Kemudian pada fase tumbuh cepat ditandai dengan kurva grafik yang meningkat dengan tajam dimana pada fase ini *Saccharomyces cerevisiae* mengalami pertumbuhan dengan sangat pesat. Pada fase ini, terjadi pemecahan glukosa secara masif guna memenuhi kebutuhan metabolisme *Saccharomyces cerevisiae* yang menghasilkan metabolit berupa etanol. Selanjutnya pada fase tumbuh konstan, digambarkan dengan garis kurva yang mendatar dimana pada fase ini

pertumbuhan dari *Saccharomyces cerevisiae* telah seimbang dengan yang mati. Kemudian fase terakhir yaitu fase kematian yang digambarkan dengan garis kurva yang menurun secara signifikan dimana pada fase ini *Saccharomyces cerevisiae* mengalami kematian hingga tak tersisa lagi. Pada penelitian ini, fase pertumbuhan ragi *Saccharomyces cerevisiae* hanya dapat dilihat dari fase adaptasi dan fase tumbuh cepat. Pada Gambar 33 dapat diketahui bahwa kondisi terbaik dari proses SHF yaitu dengan waktu hidrolisis 24 jam dan waktu fermentasi 9 hari dimana dihasilkan kadar bioetanol sebesar 8,56%. Berdasarkan hasil yang didapatkan pada penelitian ini menunjukkan bahwa metode SHF untuk enzim selulase terimobilisasi yang digunakan dalam penelitian ini dapat berjalan dengan baik dan berhasil namun memiliki tingkat efektivitas dan efisiensi untuk memproduksi bioetanol yang kurang memuaskan.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Penggunaan teknik imobilisasi enzim *entrapment* dengan matriks natrium alginat serta karakteristik yang baik sebagai matriks pengimobilisasi pada penelitian ini telah terbukti dapat dilakukan dan dapat digunakan sebagai katalis dalam proses hidrolisis jerami padi untuk mengubah selulosa menjadi glukosa.
2. Pada penelitian ini membuktikan bahwa metode SHF dapat menghasilkan bioetanol dari jerami padi yang dihidrolisis dengan ekstrak enzim selulase terimobilisasi sehingga akan terjadi proses konversi dari selulosa menjadi glukosa. Glukosa yang dihasilkan akan difermentasi menggunakan ragi *Saccharomyces cerevisiae* sehingga akan menghasilkan metabolit berupa etanol.
3. Bioetanol yang dihasilkan dari waktu hidrolisis 24 jam serta waktu fermentasi selama 9 hari memiliki kadar yang paling optimal yaitu 8,56%. Pada penelitian ini dapat diketahui bahwa waktu fermentasi berbanding lurus dengan kadar etanol yang dihasilkan.

6.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperlukan percobaan dengan siklus hidrolisis berulang untuk mengetahui kemampuan penggunaan kembali enzim selulase terimobilisasi serta hidrolisat yang dihasilkan.

DAFTAR PUSTAKA

Apryana, A., Bahri, S., dan Zainuddin, H., 2016, Penggunaan Ni/NZA Sebagai Katalis Pada Proses Hidrodeoksigenasi Pirolisis Kulit Pinus (*Pinus merkussi*) Menjadi *Bio-Oil*, 5(6), pp. 1–11.

Arifiyanti, N. A., Aqliyah, D. N. dan Billah, M., 2020, Bioetanol Dari Biji Nangka Dengan Proses Likuifikasi dan Fermentasi Menggunakan *Saccharomyces Cerevisiae*, *ChemPro*, 1(01), pp. 51–55. doi: 10.33005/chempro.v1i01.47.

Artiyani, A., 2011, Bioetanol dari Limbah Kulit Singkong Melalui Proses Hidrolisis dan Fermentasi dengan *Saccharomyces cerevisiae*, *Teknik Manajemen Lingkungan S2*.

Bahri, S. dan Hartono, D., 2019, Jurnal Teknologi Kimia Unimal Proses Pembuatan Bioetanol dari Kulit Pisang Kepok (*Musa acuminata B . C*) secara Fermentasi Abstrak, 1(Mei), pp. 48–56.

Belal, E. B., 2013, Bioethanol production from rice straw residues, *Brazilian Journal of Microbiology*, 44(1), pp. 225–234. doi: 10.1590/S1517-83822013000100033.

Belitz, H. D., 2009, Wine 4th edn, *Food Chemistry 4th edn*, Munich, Germany. doi: 10.1016/B978-0-12-809633-8.13126-7.

Biro Riset LM FEUI (2017), Analisis Industri Minyak Dan Gas Di Indonesia, p. 368.

BP statistical review of world energy London, B. P. C., 2018, '67 th edition Contents is one of the most widely respected', *Statistical Review of World Energy*, p. 40.

Carolina, A., Faria, M., Cl, A., Sanches, B., and Mattos, C., 2020, *FT-IR / UATR and FT-IR transmission quantitative analysis of PBT / PC blends*.

Choudhary, O. P., and Priyanka, 2017, Scanning Electron Microscope: Advantages and Disadvantages in Imaging Components, *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, *6*(5), 1877–1882.

Darnetty. 2006, *Pengantar Mikologi*, Padang: Andalas Universitas Press.

Day, R. A., and Underwood, A. L., 2002, *Analisis Kimia Kualitatif*, Erlangga, Jakarta.

Dussán, K. J., Justo, O. R., Perez, V. H., Garcia, E., Junior, S., & Silva, S. S., 2019, Bioethanol Production From Sugarcane Bagasse Hemicellulose Hydrolysate by Immobilized S . shehatae in a Fluidized Bed Fermenter Under Magnetic Field. *Bioenergy Research*

Fessenden, R.J. and Fessenden, J.S., 1982, *Kimia Organik*, diterjemahkan oleh Pudjaatmakan, A. H., Penerbit Erlangga, Jakarta.

Galbe, M. dan Zacchi, G., 2002, A Review of the Production of Ethanol from Softwood, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 59(6), pp.618-628.

Giwangkara, S. E. G., 2006, *Aplikasi Logika Syarat Fuzzy Pada Analisis Sidik Jari Minyak Bumi menggunakan Spektrofometer Infra Merah Transfomasi Fourier (FTIR),* Skripsi, Sekolah Tinggi Energi dan Mineral.

Göksungur, Y. dan Zorlu, N., 2001, Production of Ethanol from Beet Molasses by Ca- Alginate Immobilized Yeast Cells in a Packed-Bed Bioreactor, *Turkish Journal of Biology*, 25(3), pp. 265–275.

Herawati, D., Lestario, L. N., dan Andini, S., 2016, Pengaruh Konsentrasi Alginat dan CaCl2 terhadap Kadar Antosianin, Aktivitas Antioksidan, dan Karakteristik Sensoris Buah Duwet (*Syzygium cumini Linn*) Restrukturisasi. *Agritech*, *36*(3), 261–269.

Jayanudin, Lestari, A. Z. dan Nurbayanti, F., 2014, Pengaruh Suhu Dan Rasio Pelarut Ekstraksi Terhadap Rendemen Dan Viskositas Natrium Alginat Dari Rumput Laut Cokelat (*Sargassum sp*), 5(1), pp. 51–55.

Jayus, J., Suwasono, S. dan Wijayanti, I., 2017, Produksi Bioetanol Secara SHF Dan SSF Menggunakan *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride* dan *New Aule Instant Dry Yeast* Pada Media Kulit Ubi Kayu, *Jurnal Agroteknologi*, 11(1), p. 61. doi: 10.19184/j-agt.v11i1.5448.

Julianto, T. S., Kurniawan, M. A. dan Arifin, I., 2019, Production of Bioethanol from Rice Straw Assisted by Cellulosic Enzyme Oyster Mushroom Stem Using Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF), *EKSAKTA: Jurnal Ilmu-ilmu MIPA*,

19, pp. 193–199. doi: 10.20885/eksakta.vol19.iss2.art9.

Kalmiş, E., Yaşa, I., dan Kalyoncu, F., 2008, Ligninolytic enzyme activities in mycelium of some wild and commercial mushrooms, *African Journal of Biotechnology*, 7(23), pp. 4314– 4320. doi: 10.5897/AJB08.770.

Kamelia, M., Anggoro, B. S. dan Novitasari, D., 2018, Isolasi dan Seleksi Enzimatis Bakteri Selulolitik Dari Limbah Media Tanam Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*) Berbahan Serbuk Gergaji Kayu Karet (*Hevea brasiliensismuell. Arg*), *Biosfer: Jurnal Tadris Biologi*, 9(2), pp. 225–237. doi: 10.24042/biosfer.v9i2.2382.

Kannan, M., Raja, K., Subramaniam, G., Janavi, G., Marimuthu, S., Haripriya, S., Sharmila, and Moorthy, P. S., 2019, Scanning Electron Microscopy: Principle, Components and Applications, *A Textbook on Fundamentals and Applications of Nanotechnology*, *53*(9), 1689–1699.

Khopkar, S.M, 2003, *Kimia Analitis*, Jakarta : UI-Press, Halaman 419.

Khoshnevisan, K., Bordbar, A., dan Zare, D., 2011, Immobilization of cellulase enzyme on superparamagnetic nanoparticles and determination of its activity and stability', *Chemical Engineering Journal*. Elsevier B.V., 171(2), pp. 669–673. doi: 10.1016/j.cej.2011.04.039.

Kumar, A., Singh, S. dan Nain, L., 2018, Magnetic Nanoparticle Immobilized Cellulase Enzyme for Saccharification of Paddy Straw, *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(04), pp. 881–893. doi: 10.20546/ijcmas.2018.704.095.

Kumar, D., Singh, B., Bauddh, K., dan Korstad, J., 2015, Bio- oil and biodiesel as biofuels derived from microalgal oil and their characterization by using instrumental techniques. 87-96.

Li, L. J., 2019, A study on the enzymatic properties and reuse of cellulase immobilized with carbon nanotubes and sodium alginate, *AMB Express*. Springer Berlin Heidelberg, 9(1). doi: 10.1186/s13568-019-0835-0.

Li, Y., Cui, J., Zhang, G., Liu, Z., Guan, H., Hwang, H., Aker, W. G., and Wang, P., 2016, Optimization study on the hydrogen peroxide pretreatment and production of bioethanol from seaweed Ulva

prolifera biomass. *Bioresource Technology*, *214*, 144–149. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.04.090

Mailool, J. C., Molenaar, R., Tooy, D., dan Longdong, I.A., 2013, Produksi Bioetanol Dari Singkong (*Manihot utilissima*) Dengan Skala Laboratorium, *Cocos*, 2(1), pp. 1–11.

Mateo, C., Palomo, J. M., Fernandez-Lorente, G., Guisan, J. M., dan Fernandez-Lafuente, R., 2007, Improvement of enzyme activity, stability and selectivity via immobilization techniques, *Enzyme and Microbial Technology*, *40*(6), 1451–1463. https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2007.01.018

McNair, H.M., 1988, *Dasar Kromatografi Gas*, Bandung: ITB Press.

Mubarak, N. M., Wong, J.R., Tan, K.W., Sahu, J.N., dan Jayakumara, S.N., 2014, Immobilization of cellulase enzyme on functionalized multiwall carbon nanotubes, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*. Elsevier B.V., 107, pp. 124–131. doi: 10.1016/j.molcatb.2014.06.002.

Nata, I.F., Prayogo, J.H. dan Arianto, T., 2014, Produksi Bioetanol dari Alkali- Pretreatment Jerami Padi dengan Proses *Simultaneous Sacharification and Fermentation* (SSF). *Konversi*, 3(1), pp.10-16.

Pack, P. E., 2007, *CliffsAP Biology. University of Hawaii Press.* ISBN 978-0-470- 09764-9. p 50.

PerkinElmer, 2005, FT-IR Spectroscopy Attenuated Total Reflectance (ATR), *PerkinElmer Life and Analystical Sciences*, 1–5. http://www.utsc.utoronto.ca/~traceslab/ATR_FTIR.

Poorakbar, E., Shafiee, A., Saboury, A.A., 2018, Synthesis of magnetic gold mesoporous silica nanoparticles core shell for cellulase enzyme immobilization: Improvement of enzymatic activity and thermal stability, *Process Biochemistry*, 71(December 2017), pp. 92–100. doi: 10.1016/j.procbio.2018.05.012.

Pratiwi, R., Rahayu, D. dan Barliana, M. I., 2016, Pemanfaatan Selulosa dari Limbah Jerami Padi (Oryza sativa) sebagai Bahan Bioplastik Utilization of Rice Straw Cellulose (Oryza sativa) as Bioplastics, *Ijpst*, 3(3), pp. 83–91.

PubChem, (2004, 16 September), *Ethanol*, Diakses pada 4 Agustus 2020,

dari https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ethanol

PubChem, (2005, 18 September), *Sodium alginate*, Diakses pada 4 Agustus 2020, dari https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Sodium-alginate

Puspitasari, K., Suwandi, dan Bharata, H.A., 2018, Proses Pembuatan Bioetanol dari Jerami Padi dengan Metode SSF Delignifikasi Asam dan Metode SHF, 5(1), pp. 954–958.

Qi, B., Luo, J. dan Wan, Y., 2018, Immobilization of cellulase on a core-shell structured metal-organic framework composites: Better inhibitors tolerance and easier recycling, *Bioresource Technology*. Elsevier, 268(July), pp. 577–582. doi: 10.1016/j.biortech.2018.07.115.

Renewable Fuels Association, (2019, January), *Industry Statistics: 2015 World Fuel Ethanol Production*, Diakses pada 20 Juni 2020, dari https://ethanolrfa.org/

Rosmiza, M., Davies, W., dan Aznie, R.C., 2016, Prospects for Increasing Commercial Mushroom Production in Malaysia: Challenges and Opportunities, *Mediterranean Journal of Social Sciences*, 7(1), pp. 406–415. doi: 10.5901/mjss.2016.v7n1s1p406.

Sastrohamidjojo, H., 2001, *Spektroskopi*, Edisi kedua, Yogyakarta: Liberty.

Sugianto, A., Sholihah, A., Djaelani, A.K., Hartono, P., 2020, Utilization of Bag-Log Waste for Mixture Cultivation of Ear Mushroom (*Auricularia auricula*) and White Oyster (*Pleorotus ostreatus*), 194(FANRes 2019), pp. 99–102. doi: 10.2991/aer.k.200325.020.

Suttikul, S., Srinorakutara, T., Butivate, E., Orasoon, K., 2016, Comparison of SHF and SSF Processes for Ethanol Production from Alkali-Acid Pretreated Sugarcane trash, 21(1), pp. 229–235.

Tropea, A., Wilson, D., Torre, L. G. La, Curto, R. B. Lo, Saugman, P., Troy-Davies, P., Dugo, G., and Waldron, K. W., 2014, Bioethanol Production From Pineapple Wastes. *Journal of Food Research*, *3*(4), 60. https://doi.org/10.5539/jfr.v3n4p60

Trusbus, 2005, *Aneka Hiasan dari Jerami*, Jakarta: Gramedia

Tsai, C. T. dan Meyer, A. S., 2014, Enzymatic cellulose hydrolysis: Enzyme reusability and visualization of β-glucosidase immobilized in calcium alginate, *Molecules*, 19(12), pp. 19390–19406. doi: 10.3390/molecules191219390.

Viet, T. Q., Minh, N.P., Thi, D., dan Dao, A., 2013, Immobilization of Cellulase Enzyme in Calcium Alginate Gel and Its Immobilized Stability, *American Journal of Research Communication*, 1(12), pp. 254–267.

Wyman, C. E. dan N. D. H., 2016, Ethanol, *Alternative Fuels for Transportation*, 24, pp. 129–166. doi: 10.1007/bf02920291.

Yanuartono, Y., Indarjulianto, S., Purnamaningsih, H., Nururrozi, A. dan Raharjo, S., 2019, Fermentasi: Metode untuk Meningkatkan Nilai Nutrisi Jerami Padi. *Jurnal Sains Peternakan Indonesia*, 14(1), pp.49-60.

Yazid, E., 2005, *Kimia Fisika Untuk Paramedis*, Yogyakarta: Penerbit Andi.

Yulianto, M. E., Diyono, I., Hartati, I., Santiko, R., dan Putri, F., 2009, Pengembangan Hidrolisis Enzimatis Biomassa Jerami Padi Untuk Produksi Bioetanol, *Issn 1412-9612*, 66–7.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan

1. **Pembuatan larutan dapar asetat pH 5,5**

   Larutan A: 0,2 M larutan asam asetat (11,55 mL dalam 1000 mL)

   Larutan B: 0,2 M larutan natrium asetat (16,4 gram dalam 1000 mL)

   Untuk membuat larutan dapar asetat pH 5,5 maka 6,8 mL larutan A ditambahkan ditambahkan 43,2 mL larutan B lalu diencerkan 100 mL.

2. **Pembuatan larutan natrium alginat 3,5%**

   Pembuatan larutan natrium alginat 3,5 % dilakukan dengan diambil sebanyak 3,5 gram natrium alginat diencerkan dengan akuades sebanyak 100 mL.

3. **Pembuatan larutan kalsium klorida 2%**

   Pembuatan larutan kalsium klorida 2 % dilakukan dengan diambil sebanyak 2 gram kalsium klorida diencerkan dengan akuades sebanyak 100 mL.

4. **Pembuatan larutan asam sulfat 10%**

   $\mathbf{V_1.M_1 = V_2.M_2}$

   $V_1.96\ \% = 250\ mL.10\ \%$

   $V_1 = 26{,}04\ mL$

   Pembuatan larutan asam sulfat 10% dilakukan dengan diambil sebanyak 26,04 mL asam sulfat pekat (96 %) kemudian diencerkan dengan akuades di dalam labu ukur 250 mL.

5. **Pembuatan larutan natrium hidroksida 2%**

   Pembuatan larutan natrium hidroksida 2% dilakukan dengan cara diambil 2 gram padatan NaOH kemudian diencerkan dengan akuades sebanyak 100 mL.

6. Pembuatan pereaksi dikromat (Jones)

Pembuatan pereaksi dikromat dilakukan dengan cara diambil 7,5 gram K_2Cr2O7 lalu dilarutkan dengan larutan H_2SO_4 5 M sebanyak 250 mL dalam keadaan dingin. Dilakukan terlebih dahulu pengenceran H_2SO_4 pekat (96 %) untuk membuat larutan H_2SO_4 5M.

$$M = \frac{\% \cdot \rho \cdot 1000}{Mr} = \frac{96\% \cdot 1{,}84\ g/mL \cdot 1000}{98\ g/mol} = 18{,}02\ M$$

$V_1.M_1 = V_2.M_2$

V_1. 18,02 M = 250 mL.5 M

V_1 = 69,36 mL

Jadi sebanyak 69,36 mL asam sulfat pekat diencerkan dengan akuades pada labu ukur 250 mL.

7. Pembuatan larutan induk etanol 1%

$V_1.M_1 = V_2.M_2$

V_1. 96 % = 100 mL.1 %

V_1 = 1,04 mL

Jadi pembuatan larutan induk etanol 1% dilakukan dengan cara diambil 1, 04 mL etanol pa 96% kemudian diencerkan dengan akuades dalam labu ukur 100 mL.

8. Pembuatan larutan standar etanol

a. Larutan standar etanol 0,1%

$V_1.M_1 = V_2.M_2$

V_1. 1 % = 10 mL.0,1 %

V_1 = 1 mL

Jadi pembuatan larutan standar etanol 0,1 % dilakukan dengan cara diambil 1 mL larutan induk etanol 1 % lalu diencerkan dengan akuades dalam labu ukur 10 mL.

b. Larutan standar etanol 0,2%

$V_1.M_1 = V_2.M_2$

V_1. 1 % = 10 mL.0,2 %

V_1 = 2 mL

Jadi pembuatan larutan standar etanol 0,2 % dilakukan dengan cara diambil 2 mL larutan induk etanol 1 % lalu diencerkan dengan akuades dalam labu ukur 10 mL.

c. Larutan standar etanol 0,3%

$V_1.M_1 = V_2.M_2$

V_1. 1 % = 10 mL.0,3 %

V_1 = 3 mL

Jadi pembuatan larutan standar etanol 0,3 % dilakukan dengan cara diambil 3 mL larutan induk etanol 1 % lalu diencerkan dengan akuades dalam labu ukur 10 mL.

d. Larutan standar etanol 0,4%

$V_1.M_1 = V_2.M_2$

V_1. 1 % = 10 mL.0,4 %

V_1 = 4 mL

Jadi pembuatan larutan standar etanol 0,4 % dilakukan dengan cara diambil 4 mL larutan induk etanol 1 % lalu diencerkan dengan akuades dalam labu ukur 10 mL.

e. Larutan standar etanol 0,5%

$V_1.M_1 = V_2.M_2$

V_1. 1 % = 10 mL.0,5 %

V_1 = 5 mL

Jadi pembuatan larutan standar etanol 0,5 % dilakukan dengan cara diambil 5 mL larutan induk etanol 1 % lalu diencerkan dengan akuades dalam labu ukur 10 mL.

9. Perhitungan konsentrasi bioetanol

a. Variasi waktu hidrolisis

Sampel (jam)		Absorbansi	Rata-rata Absorbansi
6	A1	0,501	0,509
	A2	0,517	
12	B1	0,523	0,531
	B2	0,539	
24	C1	0,908	0,805
	C2	0,702	

Konsentrasi bioetanol dapat dihitung melalui persamaan regresi linier yaitu y = 0,4143x + 0,0259

(1) 6 jam

y = 0,4143x + 0,0259

0,509 = 0,4143x + 0,0259

x = 0,117

CS (Konsentrasi sebenarnya) = x . Fp

CS = 0,117 x 2

CS = 0,233%

$$M = \frac{\% \cdot \rho \cdot 1000}{Mr} = \frac{0{,}233\% \cdot 0{,}78\ g/mL \cdot 1000}{46\ g/mol} = 3{,}954\ M$$

n = M .V

V = Volume pelarut (100 mL akuades)

n = 3,954 M . 0,1 L

n = 0,395 mol

massa bioetanol = n . Mr

massa bioetanol = 0,395 mol . 46 g/mol

massa bioetanol = 18,191 gram

Konsentrasi (%) bioetanol yang dihasilkan dari 4 gram sampel jerami :

$$\text{Konsentrasi (\%) bioetanol} = \frac{\text{massa bioetanol}}{\text{massa sampel}} \times 100\%$$

Konsentrasi (%) bioetanol = $\frac{18{,}191}{4 \text{ gram}}$ x 100% = 4, 548%

Jadi, nilai konsentrasi bioetanol dalam sampel jerami padi yaitu sebesar 4,548 %

(2) 12 jam

y = 0,4143x + 0,0259

0,531 = 0,4143x + 0,0259

x = 0,122

CS (Konsentrasi sebenarnya) = x . Fp

CS = 0,122 x 2

CS = 0,244%

$M = \frac{\% \cdot \rho \cdot 1000}{Mr} = \frac{0{,}244\% \cdot 0{,}78 \text{ g/mL} \cdot 1000}{46 \text{ g/mol}} = 4{,}135 \text{ M}$

n = M .V

V = Volume pelarut (100 mL akuades)

n = 4,135 M . 0,1 L

n = 0,414 mol

massa bioetanol = n . Mr

massa bioetanol = 0,414 mol . 46 g/mol

massa bioetanol = 19,020 gram

Konsentrasi (%) bioetanol yang dihasilkan dari 4 gram sampel jerami :

Konsentrasi (%) bioetanol = $\frac{\text{massa bioetanol}}{\text{massa sampel}}$ x 100%

Konsentrasi (%) bioetanol = $\frac{19{,}020}{4 \text{ gram}}$ x 100% = 4, 755%

Jadi, nilai konsentrasi bioetanol dalam sampel jerami padi yaitu sebesar 4,755 %

(3) 24 jam

y = 0,4143x + 0,0259

0,805 = 0,4143x + 0,0259

x = 0,188

CS (Konsentrasi sebenarnya) = x . Fp

CS = 0,188 x 2

CS = 0,376%

$$M = \frac{\% \cdot \rho \cdot 1000}{Mr} = \frac{0{,}376\% \cdot 0{,}78\ g/mL \cdot 1000}{46\ g/mol} = 6{,}377\ M$$

n = M .V

V = Volume pelarut (100 mL akuades)

n = 6,377 M . 0,1 L

n = 0,638 mol

massa bioetanol = n . Mr

massa bioetanol = 0,638 mol . 46 g/mol

massa bioetanol = 29,336 gram

Konsentrasi (%) bioetanol yang dihasilkan dari 4 gram sampel jerami :

$$\text{Konsentrasi (\%) bioetanol} = \frac{\text{massa bioetanol}}{\text{massa sampel}} \times 100\%$$

$$\text{Konsentrasi (\%) bioetanol} = \frac{29{,}336}{4\ gram} \times 100\% = 7{,}334\%$$

Jadi, nilai konsentrasi bioetanol dalam sampel jerami padi yaitu sebesar 7,334 %

b. Variasi waktu fermentasi

Sampel (hari)		Absorbansi	Rata-rata Absorbansi
5	A1	0,908	0,805
	A2	0,702	
7	B1	0,824	0,822
	B2	0,820	
9	C1	0,867	0,936
	C2	1,004	

Konsentrasi bioetanol dapat dihitung melalui persamaan regresi linier yaitu y = 0,4143x + 0,0259

(1) 5 hari

y = 0,4143x + 0,0259

0,805 = 0,4143x + 0,0259

x = 0,188

CS (Konsentrasi sebenarnya) = x . Fp

CS = 0,188 x 2

CS = 0,376%

$$M = \frac{\% \cdot \rho \cdot 1000}{Mr} = \frac{0{,}376\% \cdot 0{,}78\ g/mL \cdot 1000}{46\ g/mol} = 6{,}377\ M$$

n = M .V

V = Volume pelarut (100 mL akuades)

n = 6,377 M . 0,1 L

n = 0,638 mol

massa bioetanol = n . Mr

massa bioetanol = 0,638 mol . 46 g/mol

massa bioetanol = 29,336 gram

Konsentrasi (%) bioetanol yang dihasilkan dari 4 gram sampel jerami :

$$\text{Konsentrasi (\%) bioetanol} = \frac{\text{massa bioetanol}}{\text{massa sampel}} \times 100\%$$

Konsentrasi (%) bioetanol = $\frac{29{,}336}{4 \text{ gram}}$ x 100% = 7,334%

Jadi, nilai konsentrasi bioetanol dalam sampel jerami padi yaitu sebesar 7,334 %

(2) 7 hari

y = 0,4143x + 0,0259

0,822 = 0,4143x + 0,0259

x = 0,192

CS (Konsentrasi sebenarnya) = x . Fp

CS = 0,192 x 2

CS = 0,384%

M = $\frac{\% \cdot \rho \cdot 1000}{Mr} = \frac{0{,}384\% \cdot 0{,}78 \text{ g/mL} \cdot 1000}{46 \text{ g/mol}}$ = 6,517 M

n = M .V

V = Volume pelarut (100 mL akuades)

n = 6,517 M . 0,1 L

n = 0,652 mol

massa bioetanol = n . Mr

massa bioetanol = 0,652 mol . 46 g/mol

massa bioetanol = 29,976 gram

Konsentrasi (%) bioetanol yang dihasilkan dari 4 gram sampel jerami :

Konsentrasi (%) bioetanol = $\frac{\text{massa bioetanol}}{\text{massa sampel}}$ x 100%

Konsentrasi (%) bioetanol = $\frac{29{,}976}{4 \text{ gram}}$ x 100% = 7,494%

Jadi, nilai konsentrasi bioetanol dalam sampel jerami padi yaitu sebesar 7,494 %

(3) 9 hari

y = 0,4143x + 0,0259

0,936 = 0,4143x + 0,0259

x = 0,219

CS (Konsentrasi sebenarnya) = x . Fp

CS = 0,219 x 2

CS = 0,439%

$$M = \frac{\% \cdot \rho \cdot 1000}{Mr} = \frac{0{,}439\% \cdot 0{,}78\ g/mL \cdot 1000}{46\ g/mol} = 7{,}446\ M$$

n = M .V

V = Volume pelarut (100 mL akuades)

n = 7,446 M . 0,1 L

n = 0,745 mol

massa bioetanol = n . Mr

massa bioetanol = 0,745 mol . 46 g/mol

massa bioetanol = 34,250 gram

Konsentrasi (%) bioetanol yang dihasilkan dari 4 gram sampel jerami :

$$\text{Konsentrasi (\%) bioetanol} = \frac{\text{massa bioetanol}}{\text{massa sampel}} \times 100\%$$

$$\text{Konsentrasi (\%) bioetanol} = \frac{34{,}250}{4\ gram} \times 100\% = 8{,}562\%$$

Jadi, nilai konsentrasi bioetanol dalam sampel jerami padi yaitu sebesar 8,562 %

Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian



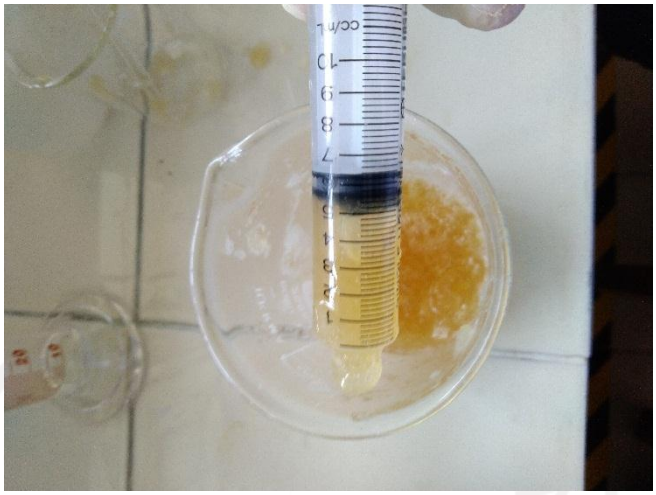
Sampel jerami padi



Ekstrak limbah baglog jamur tiram



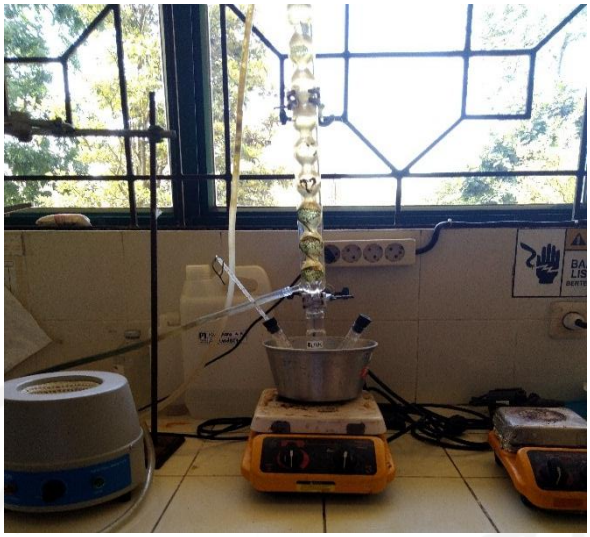
Proses pemanasan ekstrak enzim selulase



Proses imobilisasi enzim selulase



Proses pembentukan butiran gelembung



Proses hidrolisis jerami padi oleh enzim selulase terimobilisasi



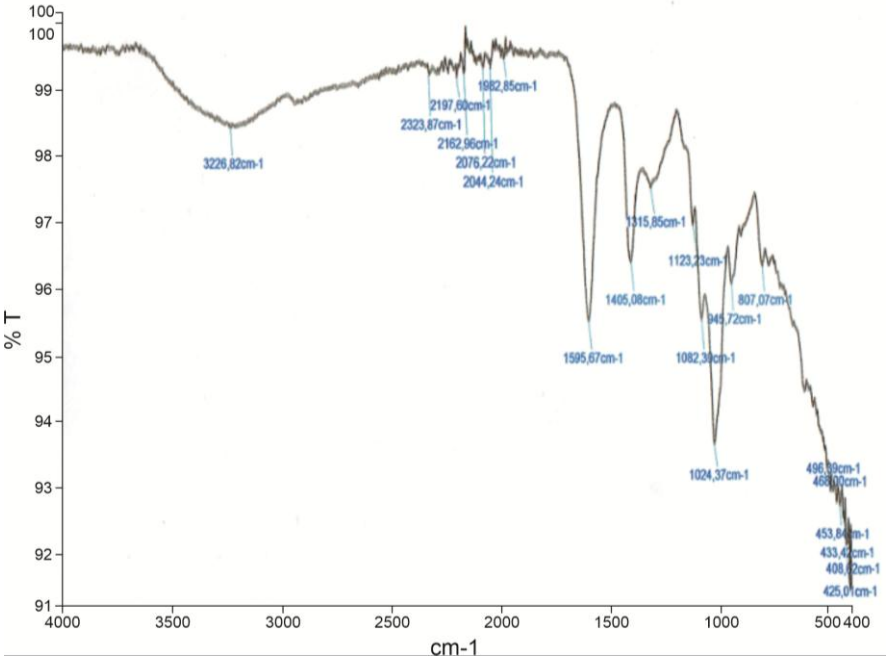
Proses fermentasi



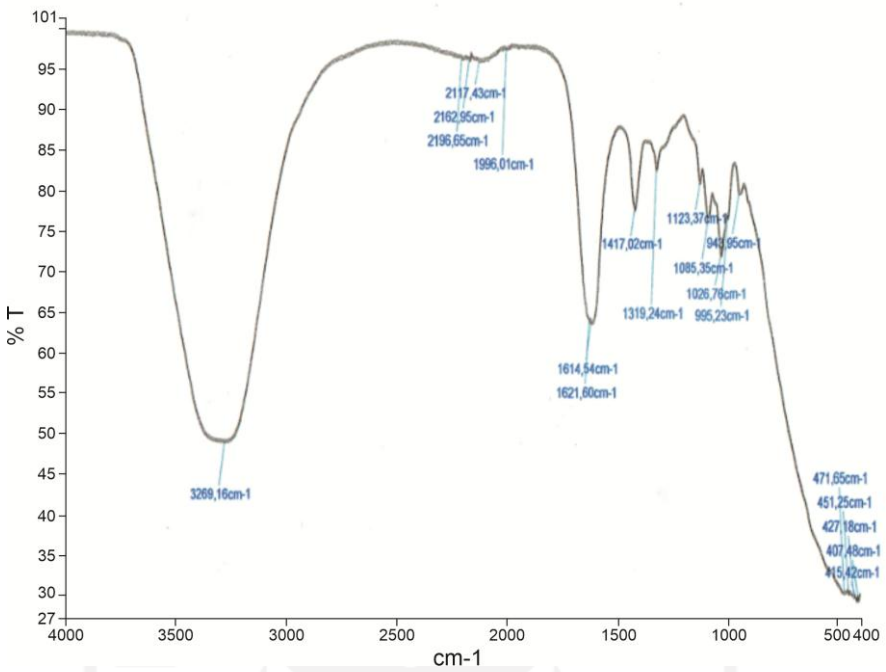
Sampel bioetanol



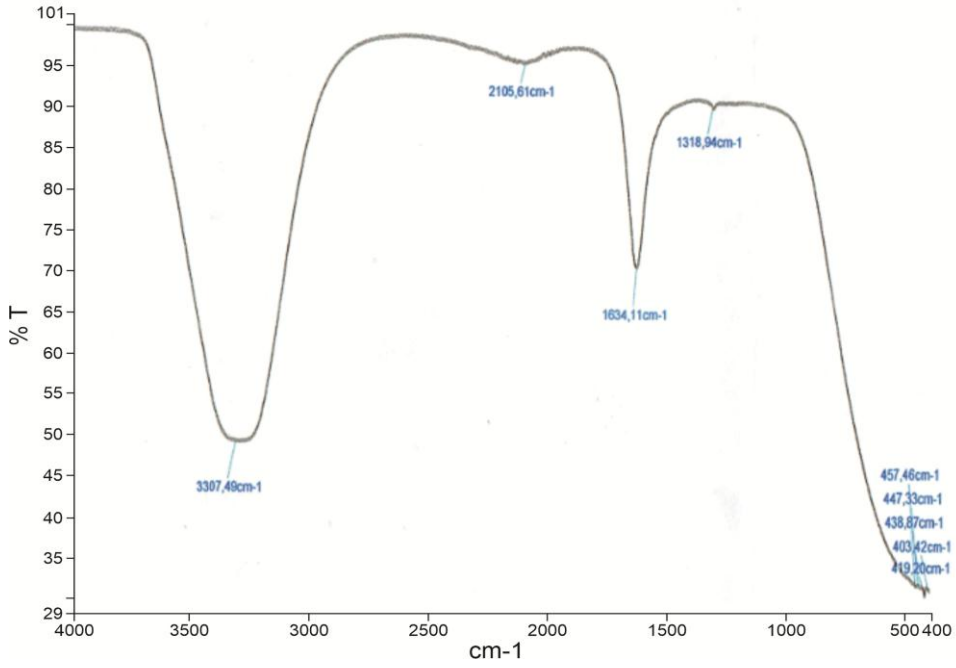
Sampel bioetanol dengan pereaksi dikromat



Spektra IR Natrium Alginat Sebelum Imobilisasi



Spektra IR Natrium Alginat Setelah Imobilisasi



Spektra IR Ekstrak Enzim Selulase