



**PEMANFAATAN BIOMASSA LIGNOSELULOSA
KULIT KACANG TANAH (*Arachis hypogaea L.*)
UNTUK PRODUKSI BIOETANOL MELALUI
HIDROLISIS ASAM**

Skripsi
disajikan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains
Program Studi Kimia

oleh
Lina Lathifa
4311413041
UNNES
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
2017**

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa skripsi ini bebas plagiat, dan apabila di kemudian hari terbukti terdapat plagiat dalam skripsi ini, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan peraturan perundang-undangan.

Semarang, 30 Januari 2017



Lina Lathifa
4311413041

UNNES
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

PERSETUJUAN PEMBIMBING

Skripsi ini telah disetujui oleh pembimbing untuk diajukan ke Sidang Panitia Ujian Skripsi Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang.

Semarang, 30 Januari 2017

Pembimbing I,



Agung Tri Prasetya, S.Si, M.Si
NIP. 196904041994021001

Pembimbing II,



Dr. Sri Mursiti, M.Si.
NIP. 196709131999032001



UNNES
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul

Pemanfaatan Biomassa Lignoselulosa Kulit Kacang Tanah (*Arachis Hypogaea L.*) untuk Produksi Bioetanol Melalui Hidrolisis Asam

disusun oleh :

Nama : Lina Lathifa

NIM : 4311413041

telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Skripsi FMIPA UNNES pada tanggal 8 Februari 2017.

Panitia:



Prof. Dr. Zaenuri, S.E., M.Si., Akt
1964112231988031001

Sekretaris

Dr. Nanik Wijayati, M.Si.
196910231996032002

Ketua Penguji

Dr. Nanik Wijayati, M.Si.
196910231996032002

Anggota Penguji/
Pembimbing I

Agung Tri Prasetya, S.Si., M.Si
196904041994021001

Anggota Penguji/
Pembimbing II

Dr. Sri Mursiti, M.Si.
196709131999032001

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

Motto:

- *“Sesungguhnya jika kamu bersyukur, pasti Kami akan menambah (nikmat) kepadamu, dan jika kamu mengingkari (nikmat-Ku), maka sesungguhnya azabku sangat pedih” (QS. Ibrahim:7)*

- *Ilmu ada tiga tahapan
Jika seseorang memasuki tahapan yang pertama dia akan sombong
Jika dia memasuki tahap kedua dia akan tawadhu' (rendah hati)
Jika dia memasuki tahapan yang ketiga, dia akan merasa disinya tidak ada apa-apanya
-Umar bin Khattab-*

- *Orang yang terlalu memikirkan akibat dari suatu keputusan atau tindakan, sampai kapanpun dia tidak akan pernah menjadi orang yang berani. -Ali bin Abi Thalib-*

UNNES

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

Bapak Sunardi dan ibu Sri Achirwati tercinta

Adikku tersayang Nisa Usakinnah

Sahabat dan teman seperjuangan Kimia 2013

Almamater, Jurusan Kimia Universitas Negeri Semarang

Negara Indonesia

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, nikmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pemanfaatan Biomassa Lignoselulosa Kulit Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* L.) untuk Produksi Bioetanol Melalui Hidrolisis Asam”. Selama menyusun skripsi ini, penulis telah banyak menerima dukungan, bantuan, kerjasama dan sumbangan pemikiran dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Rektor Universitas Negeri Semarang
2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang
3. Ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang
4. Ketua Program Studi Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang
5. Agung Tri Prasetya, S.Si, M.Si sebagai Pembimbing I yang senantiasa memberikan bimbingan, ilmu, motivasi dan arahan dalam penyusunan skripsi
6. Dr. Sri Mursiti, M.Si sebagai Pembimbing II yang senantiasa memberikan bimbingan, ilmu, motivasi dan arahan dalam penyusunan skripsi
7. Dr. Nanik Wijayati, M.Si sebagai Penguji yang telah memberikan saran, ilmu dan arahan kepada penulis dalam penyelesaian skripsi
8. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Kimia yang telah memberikan bekal ilmu dalam penyusunan skripsi
9. Kepala Laboratorium Kimia Universitas Negeri Semarang yang telah memberikan ijin untuk melakukan penelitian di Laboratorium Kimia
10. Teknisi dan laboran di Laboratorium Kimia yang telah memberikan ijin dan membantu penulis dalam pelaksanaan penelitian di Laboratorium Kimia
11. Teknisi di Laboratorium Instrumen Jurusan Fisika Universitas Negeri Semarang
12. Teknisi di Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro

13. Laboran di Laboratorium Pengujian Chem-Mix Jogjakarta
14. Seluruh pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini

Semoga skripsi ini dapat memberi manfaat dan kontribusi dalam perkembangan ilmu pengetahuan.

Semarang, 30 Januari 2016

Penulis



ABSTRAK

Lathifa, L. 2017. *Pemanfaatan Biomassa Lignoselulosa Kulit Kacang Tanah (Arachis hypogaea L.) untuk Produksi Bioetanol Melalui Hidrolisis Asam*. Skripsi, Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang. Pembimbing Agung Tri Prasetya, S.Si, M.Si., Dr. Sri Mursiti, M.Si.

Kata kunci: lignoselulosa, kulit kacang tanah, hidrolisis asam, bioetanol

Tingginya pemanfaatan minyak bumi mengakibatkan semakin menipisnya persediaan minyak bumi yang berdampak pada kenaikan harga bahan bakar minyak sementara jumlah pengguna semakin meningkat. Untuk memenuhi kebutuhan bahan bakar minyak perlu adanya sumber energi alternatif yang salah satunya adalah bioetanol. Bioetanol dapat diproduksi dari bahan berlignoselulosa seperti kulit kacang tanah (*Arachis hypogaea L.*) Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi asam sulfat dan waktu optimum dari proses hidrolisis kulit kacang tanah yang dapat menghasilkan kadar glukosa tertinggi serta mengetahui filtrat yang dihasilkan dari proses hidrolisis ketika difermentasi menghasilkan bioetanol. Kulit kacang tanah di haluskan hingga ukuran 100 mesh kemudian didelignifikasi menggunakan NaOH 2,5% untuk menghilangkan lignin. Selanjutnya serbuk kulit kacang tanah dihidrolisis dengan dengan katalis asam sulfat pada konsentrasi 0,5; 1; dan 2% selama variasi waktu (15, 30, 60, 90, dan 120 menit). Penentuan kadar dilakukan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Filtrat hasil hidrolisis difermentasi dengan ragi roti *S. cerevisiae* selama 7 hari, dan didestilasi untuk memisahkan air dan etanol. Filtrat hasil fermentasi dianalisis sifat fisik dan kimia serta dianalisis menggunakan instrumen FT-IR, GC dan GC-MS untuk mengetahui bahwa proses fermentasi menghasilkan etanol. Hasil analisis menunjukkan bahwa kondisi optimum diperoleh pada hidrolisis dengan katalis asam sulfat konsentrasi 0,5% selama 60 menit yang menghasilkan kadar glukosa sebesar 3102,53 ppm. Hasil analisis sifat fisik dan kimia serta instrumen FT-IR, GC dan GC-MS yang dibandingkan dengan hasil analisis etanol *pro analysis* diketahui bahwa fermentasi hasil hidrolisis kulit kacang tanah menghasilkan senyawa etanol dengan kadar etanol 39,97%.

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

ABSTRACT

Lathifa, Lina. 2017. Utilization of Lignocellulosic Biomass from Groundnut Shell (*Arachis hypogaea L.*) to Produce Bioethanol by Acid Hydrolysis. Thesis, Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Semarang State University. Main Supervisor Agung Tri Prasetya, S.Si, M.Si. and Supervising Companion Dr. Sri Mursiti, M.Si.

Keywords: lignocellulosic, groundnut shell, acid hydrolysis, bioethanol

The high utilization of petroleum resulted in the depletion of oil supplies which impacted to fuel prices while the number of users increases. To fulfilling the needs of fuel, it should find alternative renewable energy sources like bioethanol. Bioethanol can produced from material such as lignocellulosic biomass like groundnut shell (*Arachis hypogaea L.*) This study aims to determine the concentration of sulfuric acid and the optimum time of groundnut shell hydrolysis process that can produce the highest glucose levels and knowing the filtrate resulting from the hydrolysis process will produce bioethanol when it is fermented. Groundnut shell (*Arachis hypogaea L.*) pulverized to 100 mesh size then delignification using 2.5% NaOH to remove lignin. Groundnut shell powder hydrolyzed with sulfuric acid catalyst in concentrations 0.5, 1, and 2% during the variation of time (15, 30, 60, 90, and 120 minutes). Determinating glucose level of hydrolysis results were analysis using UV-Vis Spectrophotometer. The filtrate hydrolysis fermented with yeast *S. cerevisiae* for 7 days, and distilled to separate water and ethanol. The filtrate is fermented analyzed the physical and chemical properties and analyzed using FT-IR, GC and GC-MS instruments in order to determine that the process of fermentation contain ethanol compound. The analysis showed that the optimum conditions obtained on hydrolysis with sulfuric acid catalyst concentration of 0.5% for 60 minutes which resulted in glucose levels at 3102.53 ppm. The results of the analysis of physical and chemical properties as well as the FT-IR, GC and GC-MS instruments were compared with the results of analysis of ethanol pro analyst is known that fermentation hydrolysis groundnut shell produce ethanol compounds with a purity reached 39,97%.

UNNES
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PERNYATAAN	ii
PERSETUJUAN PEMBIMBING	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
MOTTO DAN PERSEMBAHAN	v
PRAKATA	vi
ABSTAK	viii
ABSTACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB	
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
2. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Kacang Tanah (<i>Arachis Hypogea L.</i>)	7
2.1.1 Klasifikasi	7
2.1.2 Morfologi	7
2.2 Komponen dan Struktur Lignoselulosa	8
2.2.1 Selulosa	9
2.2.1 Hemiselulosa	10
2.2.3 Lignin	11
2.3 Pretreatment (Delignifikasi)	12
2.4 Hidrolisis	14
2.5 Metode DNS (<i>Dinitrosalicylic Acid</i>)	16
2.6 Fermentasi	17
2.7 Bioetanol	19
2.8 Destilasi	20
2.9 Kromatografi Gas (GC)	22
2.10 Kromatografi Gas Spektroskopi Massa (GC-MS)	26
2.11 Fourier Transform Infra-Red (FT-IR)	27
2.12 Penelitian Terkait	39
3. METODE PENELITIAN	33
3.1 Lokasi Penelitian	33

3.2	Sampel	33
3.3	Variabel Penelitian	33
3.3.1	Variabel bebas	33
3.3.2	Variabel terikat	34
3.3.3	Variabel terkendali	34
3.4	Alat dan Bahan	34
3.4.1	Alat	34
3.4.2	Bahan	35
3.5	Prosedur Penelitian	36
3.5.1	Pembuatan larutan	36
3.5.2	Persiapan bahan baku	37
3.5.3	Proses <i>pretreatment</i> (delignifikasi)	37
3.5.4	Analisis kadar lignoselulosa	38
3.5.5	Hidrolisis kulit kacang tanah dengan asam sulfat	39
3.5.6	Penentuan kadar glukosa dengan metode DNS	39
3.5.7	Proses Fermentasi	40
3.5.8	Proses destilasi	41
3.5.9	Uji karakteristik bioetanol	41
4.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	43
4.1	Tahap Perlakuan Awal	43
4.1.1	Persiapan sampel kulit kacang tanah	43
4.1.2	Delignifikasi	44
4.1.3	Analisis kandungan lignin dan selulosa kulit kacang tanah.....	46
4.2	Proses Hidrolisis Asam	47
4.2.1	Penentuan konsentrasi katalis asam sulfat dan waktu hidrolisis optimum	48
4.3	Proses Produksi Bioetanol	51
4.4	Analisis Karakteristik Bioetanol	53
4.5.1	Uji kualitatif adanya bioetanol dengan $K_2Cr_2O_7$	53
4.5.2	Analisis gugus fungsi bioetanol dengan FT-IR	54
4.5.3	Uji GC bioetanol kulit kacang tanah	55
4.5.4	Uji GC-MS bioetanol kulit kacang tanah	56
4.5.7	Sifat fisik dan kimia bioetanol kulit kacang tanah	58
4.5.8	Proses konversi lignoselulosa menjadi bioetanol	59
5.	PENUTUP	60
5.1	Simpulan	60
5.2	Saran	60
	DAFTAR PUSTAKA	62
	LAMPIRAN	67

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Komposisi kimia kulit kacang tanah	8
2.2 Komposisi beberapa bahan lignoselulosa	9
2.3 Sifat fisik etanol	20
3.1 Komposisi larutan standar glukosa	39
4.1 Hasil analisis kandungan selulosa dan lignin kulit kacang tanah sebelum dan sesudah hidrolisis	47
4.2 Bilangan gelombang spektrum IR bietanol kulit kacang tanah	55
4.3 Perbandingan sifat fisik dan kimia bioetanol kulit kacang tanah dan etanol p.a	58



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Struktur selulosa	10
2.2 Struktur hemiselulosa	10
2.3 Struktur lignin	11
2.4 Skema <i>pretreatment</i> bahan lignoselulosa	13
2.5 Mekanisme reaksi hidrolisis selulosa oleh asam	16
2.5 Mekanisme reduksi glukosa oleh asam 3,5-dinitrosalisilat	17
4.1 Mekanisme pemutusan ikatan antara lignin dan selulosa oleh NaOH.....	45
4.2 Mekanisme reaksi hidrolisis selulosa dengan katalis asam	48
4.3 Kadar glukosa hasil hidrolisis dengan variasi konsentrasi H ₂ SO ₄ dan waktu hidrolisis	49
4.4 Skema fermentasi etanol oleh ragi	52
4.5 Perbandingan spektrum FT-IR bioetanol kulit kacang tanah dan etanol <i>p.a</i>	54
4.6 Kromatogram GC bioetanol kulit kacang tanah dan etanol <i>p.a</i>	56
4.7 Spektrum massa komponen etanol	57
4.8 Fragmentasi spektrum massa etanol	57
4.9 Spektrum massa komponen heksana	58
4.10 Reaksi lengkap konversi bahan lignoselulosa menjadi bioetanol	59

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema kerja penelitian	66
2. Hasil analisis lignin dan selulosa	75
3. Kurva standar glukosa	76
4. Perhitungan kadar glukosa filtrat hasil hidrolisis	77
5. Hasil analisis bioetanol dengan FT-IR	81
6. Hasil analisis bioetanol dengan GC	82
7. Hasil analisis bioetanol dengan GC-MS	84
8. Dokumentasi penelitian	85



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 LATAR BELAKANG

Tingginya pemanfaatan minyak bumi sebagai sumber bahan bakar utama di dunia memicu munculnya berbagai permasalahan yaitu semakin menipisnya persediaan minyak bumi di alam yang menyebabkan penurunan produksi minyak. Hal tersebut akhirnya berdampak pada kenaikan harga minyak bumi yang semakin melambung tinggi sedangkan jumlah pengguna bahan bakar minyak dari tahun ke tahun semakin meningkat. Pemerintah telah mengeluarkan Peraturan Presiden Republik Indonesia Nomor 5 Tahun 2006 tentang Kebijakan Energi Nasional untuk mengembangkan sumber energi alternatif sebagai pengganti bahan bakar minyak (Prihandana, 2007). Kebijakan energi nasional menargetkan pada tahun 2000-2025 sebesar 5% kebutuhan energi nasional harus dapat dipenuhi melalui pemanfaatan biofuel sebagai energi baru (Fuadi, *et al.*, 2015). Salah satu energi terbarukan berupa biofuel adalah bioetanol.

Bioetanol merupakan senyawa alkohol yang diperoleh melalui proses fermentasi biomassa dengan bantuan mikroorganisme. Bioetanol diperoleh melalui fermentasi menggunakan khamir *S. cerevisiae* yang mampu mengkonversi gula pereduksi seperti glukosa menjadi etanol (Juara, 2011). Bioetanol dapat diproduksi dari bahan yang mengandung lignoselulosa. Biomassa lignoselulosa merupakan bahan baku ideal untuk memproduksi bioetanol karena ketersediaannya yang melimpah dan tidak digunakan sebagai bahan pangan

sehingga penggunaannya sebagai sumber energi tidak mengganggu pasokan bahan pangan. Penelitian konversi biomassa lignoselulosa sebagai bioetanol telah banyak dilakukan. Selama ini, biomassa lignoselulosa yang banyak diteliti sebagai bahan baku bioetanol adalah tongkol jagung, ampas tebu, jerami dan tandan kosong kelapa sawit.

Kulit kacang merupakan salah satu biomassa lignoselulosa. Menurut Susanti (2009) kulit kacang tanah mengandung serat selulosa sebesar 63,5%. Berdasarkan data BPS pada tahun 2012, jumlah kacang tanah yang dipasok ke industri kacang tanah di Kabupaten Pati adalah 212.949,72 ton. Jika 30% dari kacang tanah berupa kulit, maka dengan produksi tersebut akan dihasilkan limbah kulit kacang tanah sekitar 63.884,92 ton. (Asngad, *et al.*, 2016). Dengan jumlah yang melimpah serta kadar selulosa yang tinggi, kulit kacang berpotensi untuk dimanfaatkan menjadi bahan baku bioetanol.

Proses konversi bahan lignoselulosa menjadi etanol terdiri atas tiga tahap, yaitu perlakuan pendahuluan (*pretreatment*), hidrolisis selulosa menjadi gula sederhana dan fermentasi gula menjadi etanol (Hermiati, *et al.*, 2010). Perlakuan pendahuluan yang umum dilakukan adalah secara mekanis dengan memperkecil ukuran serta secara kimia menggunakan larutan basa seperti NaOH. NaOH dipilih karena larutan ini cukup efektif dalam meningkatkan hasil hidrolisis dan relatif lebih murah dibandingkan dengan reagen kimia lainnya. Larutan NaOH dengan konsentrasi rendah mampu mendegradasi lignin yang membungkus selulosa dengan menyerang dan merusak struktur lignin bagian kristalin dan amorf, melarutkan lignin dan hemiselulosa serta menyebabkan pengembangan struktur selulosa (Gunam, *et al.*, 2010). Berdasarkan penelitian Ashgar (2016)

delignifikasi rumput gajah (*Saccharum spontaneum*) menggunakan NaOH mampu mendegradasi lignin hingga 74% dan meningkatkan perolehan selulosa hingga 81,2%.

Tahap penting dalam pembuatan bioetanol sebelum proses fermentasi adalah hidrolisis. Hidrolisis asam dan hidrolisis enzimatis merupakan dua metode utama yang banyak digunakan khususnya untuk bahan-bahan lignoselulosa. Hidrolisa selulosa secara enzimatis memberi *yield* etanol sedikit lebih tinggi dibandingkan dengan metode hidrolisa asam. Namun dibanding hidrolisis enzim, hidrolisis asam lebih sederhana tanpa melalui beberapa tahapan perlakuan khusus, memerlukan waktu proses yang lebih singkat, teknologi yang lebih sederhana, pengaturan kondisi proses yang lebih mudah, serta biaya yang lebih murah.

Hidrolisis asam encer merupakan metode hidrolisis yang banyak dikembangkan dan diteliti saat ini. Dibanding dengan penggunaan asam pekat, penggunaan asam encer lebih menguntungkan karena dapat menghindari terjadinya dekomposisi glukosa dan kebutuhan alkali untuk penetralan produk akhir lebih sedikit (Lisin, *et al.*, 2015). Asam yang sering digunakan dalam hidrolisis adalah HCl dan H₂SO₄. Dibanding HCl, H₂SO₄ lebih banyak digunakan karena dapat menghidrolisis sebagian besar gula dengan konversi hingga 75-90%. Reaktivitas hidrolisis H₂SO₄ lebih lemah daripada HCl sehingga dapat menurunkan resiko degradasi glukosa menjadi turunan furfuraldehid pada proses hidrolisis. Berdasarkan penelitian Sari (2009) pada konsentrasi katalis 0,5 N hidrolisis pati sagu dengan H₂SO₄ menghasilkan total gula lebih tinggi yaitu 148,02 g/L dibanding dengan HCl sebesar 142,95%.

Proses yang paling penting dalam produksi bioetanol adalah fermentasi. Mikroorganisme yang dipakai dalam proses fermentasi adalah *S. cerevisiae* yang bersifat fakultatif anaerobik. *S. cerevisiae* sering dipakai dalam fermentasi etanol karena menghasilkan etanol yang tinggi, toleran terhadap kadar etanol tinggi (12-18% volume) dan mampu hidup pada suhu tinggi yaitu 4-32°C (Sari, *et al.*, 2012).

Pada penelitian ini akan dilakukan produksi bioetanol dengan bahan baku biomassa berlignoselulosa kulit kacang (*Arachis hypogea L*). *Pretreatment* terhadap bahan baku kulit kacang dilakukan secara fisika dengan memperkecil ukuran kulit kacang menjadi serbuk sehingga diharapkan juga akan mengurangi kristalinitas selulosa. Selain itu, dilakukan *pretreatment* secara kimia yaitu delignifikasi dengan menggunakan larutan NaOH untuk mendegradasi lignin yang terkandung dalam kulit kacang tanah. Hidrolisis selulosa menjadi gula dilakukan dengan katalis H_2SO_4 dengan berbagai variasi konsentrasi asam dan waktu hidrolisis untuk mengetahui konsentrasi katalis asam dan waktu optimum hidrolisis yang dapat menghasilkan hidrolisat dengan kadar glukosa tertinggi. Fermentasi hidrolisat kulit kacang tanah menjadi bioetanol dilakukan dengan menambahkan ragi roti *S. cerevisiae*.

1.2 RUMUSAN MASALAH

Berdasarkan latar belakang diatas, dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

1. Berapa konsentrasi optimum katalis H_2SO_4 pada proses hidrolisis kulit kacang tanah yang dapat menghasilkan filtrat hidrolisis dengan kadar glukosa paling tinggi?

2. Berapa waktu hidrolisis optimum kulit kacang tanah yang dapat menghasilkan filtrat hidrolisis dengan kadar glukosa paling tinggi?
3. Bagaimana karakteristik bioetanol yang dihasilkan dari fermentasi filtrat hidrolisis kulit kacang tanah?

1.3 TUJUAN PENELITIAN

Tujuan penelitian ini adalah

1. Mengetahui konsentrasi optimum katalis asam sulfat pada proses hidrolisis kulit kacang tanah yang dapat menghasilkan filtrat hidrolisis dengan kadar glukosa paling tinggi.
2. Mengetahui waktu optimum pada proses hidrolisis kulit kacang tanah yang dapat menghasilkan filtrat hidrolisis dengan kadar glukosa paling tinggi.
3. Mengetahui karakteristik bioetanol yang dihasilkan dari fermentasi filtrat hidrolisis kulit kacang tanah.

1.4 MANFAAT PENELITIAN

Manfaat yang ingin diperoleh dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagi Pengembangan IPTEK
 - a. Memberi informasi mengenai konsentrasi katalis asam dan waktu optimum pada proses hidrolisis kulit kacang tanah untuk menghasilkan filtrat hidrolisis dengan glukosa paling tinggi.
 - b. Memberi informasi mengenai kadar etanol yang dihasilkan dari fermentasi filtrat hidrolisis kulit kacang tanah.

c. Memberi informasi tentang karakteristik bioetanol yang dihasilkan dari fermentasi filtrat hidrolisis kulit kacang tanah.

2. Bagi Masyarakat

a. Memberi alternatif energi yang ramah lingkungan sebagai pengganti bahan bakar minyak.

3. Bagi Peneliti Lain

a. Mendorong peneliti lain untuk meneliti lebih lanjut potensi kulit kacang tanah sebagai bahan baku bioetanol.

b. Mendorong peneliti lain untuk meneliti kondisi optimum yang dapat menghasilkan kadar bioetanol kulit kacang tanah yang tinggi.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kacang Tanah (*Arachis hypogaea L.*)

2.1.1 Klasifikasi

Tanaman kacang tanah (*Arachis hypogaea L.*) yang ditanam di Indonesia sebetulnya bukanlah tanaman asli, melainkan tanaman yang berasal dari benua Amerika, tepatnya dari daerah Brazilia (Amerika Selatan). Tanaman kacang tanah (*Arachis hypogaea L.*) diperkirakan masuk ke Indonesia antara tahun 1521-1529. Penanaman kacang tanah di Indonesia baru dimulai pada awal abad ke-18. Kacang tanah yang ditanam adalah varietas tipe menjalar (Wijaya, 2011). Dalam dunia tumbuhan, tanaman kacang tanah diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Subdivisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledonae
Famili : Papilionaceae
Genus : *Arachis*
Spesies : *Arachis hypogaea L.*

2.2.2 Morfologi

Menurut Marzuki (2007), akar kacang tanah serabut dengan batang tidak berkayu dan berbulu halus. Batang kacang tanah ada yang tumbuh tegak dan menjalar. Kacang tanah berdaun majemuk bersirip genap. Daunnya terdiri atas

empat anak daun dengan tangkai daun agak panjang. Helaian anak daun dengan tangkai daun agak panjang. Helaian anak daun ini bertugas mendapatkan cahaya matahari sebanyak-banyaknya. Bunga keluar pada ketiak daun. Setiap bunga seolah-olah bertangkai panjang berwarna putih. Tangkai ini sebenarnya bukan tangkai bunga, tetapi tabung kelopak. Mahkota bunga (*corolla*) berwarna kuning. Bendera mahkota bunganya bergaris-garis merah pada pangkalnya. Umur bunganya hanya satu hari, mekar di pagi hari dan layu pada sore hari. Bunga kacang tanah dapat melakukan penyerbukan sendiri dan bersifat geotropis positif. Penyerbukan terjadi sebelum bunganya mekar.

Kacang tanah terdiri atas kulit (*hull*) 21-29%, daging biji (*kernel*) 69-72,40% dan lembaga (*germ*) 3,10-3,60% (Ketaren, 1986). Kulit kacang tanah dapat digunakan sebagai bahan bakar, bahan pembenah tanah, bahan campuran pembuatan papan *hardboard*, dan masih cukup baik dipakai sebagai campuran pakan ternak. Komposisi kimia kulit kacang tanah disajikan pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Komposisi kimia kulit kacang tanah

Komponen	%
Air	9,5
Abu	3,6
Protein	8,4
Selulosa	63,5
Lignin	13,2
Lemak	1,8

Sumber : (Susanti, 2009)

2.2 Komponen dan Struktur Lignoselulosa

Bahan lignoselulosa merupakan biomassa yang berasal dari tanaman dengan komonen utama selulosa, hemisolulosa, dan lignin. Ketiganya membentuk suatu ikatan kimia yang kompleks yang menjadi bahan dasar sel tumbuhan (Hermiati *et*

al., 2010). Secara umum, komposisi bahan lignoselulosa adalah selulosa (30-50% berat), hemiselulosa (20-35% berat) dan lignin (10-25% berat) (Schacht, *et al.*, 2008). Komposisi beberapa bahan lignoselulosa disajikan dalam Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Komposisi beberapa bahan lignoselulosa

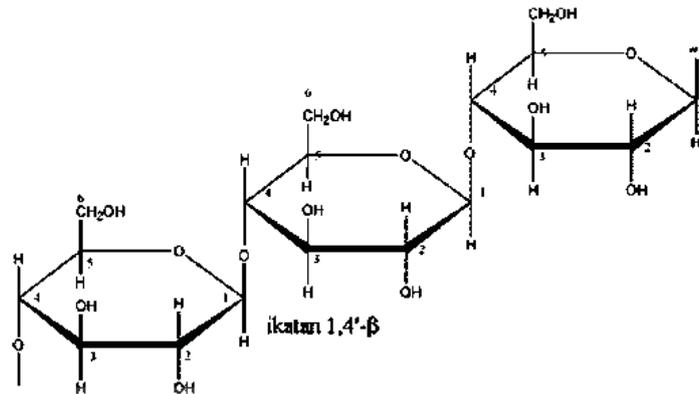
Jenis bahan	Selulosa (%)	Hemiselulosa (%)	Lignin (%)
Tongkol jagung	45	35	15
Kulit kacang	25-30	25-30	30-40
Jerami gandum	30	50	15
Ampas tebu	50	25	25
Tandan kosong kelapa sawit	41, 30-46, 50	25, 30-33, 80	27, 60-32, 50

Sumber : Hermiati *et al.* (2010)

2.2.1 Selulosa

Selulosa adalah polimer glukosa yang berbentuk rantai linier dan dihubungkan oleh ikatan β -(1,4) glikosidik. Struktur yang linier menyebabkan selulosa bersifat kristalin dan tidak mudah larut. Selulosa tidak mudah didegradasi secara kimia maupun mekanis. Di alam, biasanya selulosa berasosiasi dengan polisakarida lain seperti hemiselulosa atau lignin membentuk kerangka utama dinding sel tumbuhan (Holtzapfel, 2003).

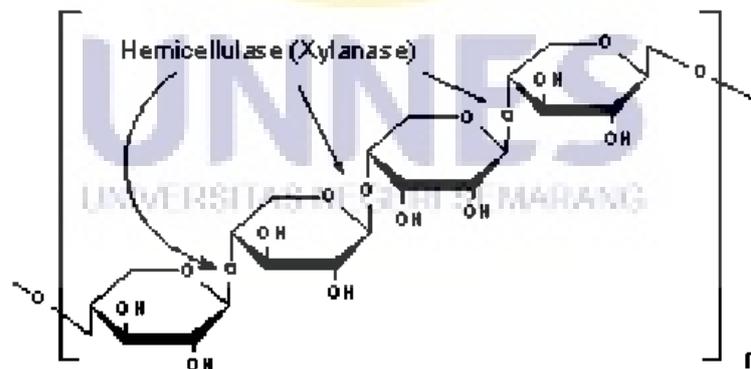
Rantai selulosa terdiri dari satuan glukosa anhidrida yang saling berikatan melalui atom karbon pertama dan keempat. Ikatan yang terjadi adalah ikatan β -1,4-glikosidik. Secara alamiah molekul-molekul selulosa tersusun dalam bentuk fibril-fibril yang terdiri dari beberapa molekul selulosa yang dihubungkan ikatan glikosidik. Fibril-fibril ini membentuk struktur kristal yang dibungkus oleh lignin. Komposisi kimia yang demikian membuat kebanyakan bahan yang mengandung selulosa bersifat kuat dan keras (Fan *et al.*, 1982). Struktur selulosa disajikan dalam Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Struktur selulosa (Habibah, 2015)

2.2.2 Hemiselulosa

Hemiselulosa merupakan salah satu penyusun dinding sel tumbuhan selain selulosa dan lignin yang terdiri dari kumpulan beberapa unit gula atau disebut heteropolisakarida. hemiselulosa dikelompokkan berdasarkan residu gula utama sebagai penyusunnya seperti xylan, mannan, galaktan dan glukosa. Hemiselulosa terikat dengan polisakarida, protein dan lignin (Fuadi, *et al.*, 2015). Struktur hemiselulosa disajikan dalam Gambar 2.2.



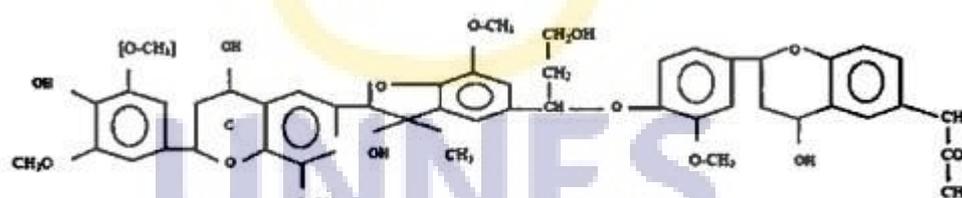
Gambar 2.2 Struktur hemiselulosa (Habibah, 2015)

Hemiselulosa relatif mudah dihidrolisis oleh asam menjadi komponen-komponen monomer hemiselulosa yang terdiri dari D-glukosa, D-manosa, D-

galaktosa, D-xilosa, L-arabinosa, dan sejumlah kecil L-mannosa disamping menjadi asam D-glukuronat, asam 4-O-metil-D-glukuronat dan asam D-galakturonat. Kebanyakan hemiselulosa mempunyai derajat polimerisasi hanya 200 (Sjostrom, 1998). Hemiselulosa mempunyai rantai polimer yang pendek dan tak berbentuk, oleh karena itu sebagian besar dapat larut dalam air.

2.2.3 Lignin

Lignin adalah bagian utama dari dinding sel tanaman yang merupakan polimer terbanyak setelah selulosa. Tidak seperti selulosa dan hemiselulosa, meskipun tersusun atas karbon, hidrogen dan oksigen, lignin bukanlah karbohidrat. Lignin adalah heteropolimer yang kompleks dengan berat molekul tinggi. Lignin tersusun dari tiga jenis unit fenilpropana yang berbeda yaitu *p*-kumaril, koniferil, dan sinapil alkohol (Girisuta., *et al.*, 2007). Struktur lignin disajikan pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3 Struktur lignin (Habibah, 2015)

Lignin adalah polimer berkadar fenolik tinggi, berwarna kecoklatan, dan relatif mudah teroksidasi. Lignin relatif stabil terhadap aksi kebanyakan larutan asam mineral, tetapi larut dalam larutan basa panas dan larutan ion bisulfit panas. Lignin mempunyai titik pelunakan dan titik leleh yang rendah, lignin kayu

berdaun jarum melunak pada 80-90°C (basah) dan 120°C (kering) dan meleleh pada 140-150°C.

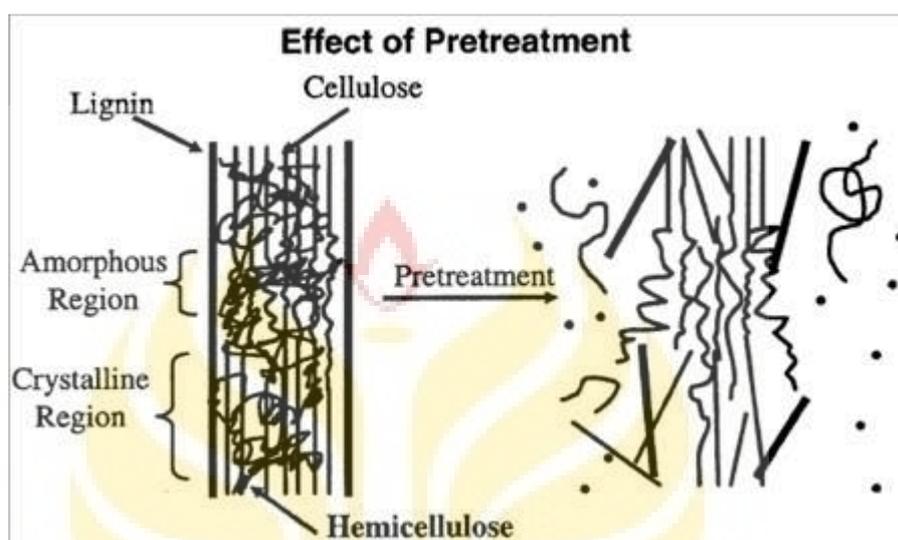
2.3 *Pretreatment* (Delignifikasi)

Proses *pretreatment* dan hidrolisis merupakan tahapan yang paling penting yang dapat mempengaruhi perolehan *yield* etanol. Proses *pretreatment* dilakukan untuk mengkondisikan bahan-bahan lignoselulosa baik dari segi struktur dan ukuran. Perlakuan pendahuluan dapat dilakukan secara fisika, fisika-kimia, kimia, biologis maupun kombinasi cara-cara tersebut (Sun & Cheng, 2002).

- 1) Perlakuan pendahuluan secara fisika antara lain berupa pencacahan secara mekanik, penggilingan dan penepungan untuk memperkecil ukuran bahan dan mengurangi kristalinitas selulosa.
- 2) Perlakuan pendahuluan secara fisiko kimia antara lain adalah *steam explosion*, *ammonia fiber explosion* (AFEX), dan *CO₂ explosion*. Pada metode ini partikel biomassa dipaparkan pada suhu dan tekanan tinggi, kemudian tekanannya diturunkan secara cepat sehingga bahan mengalami dekompresi eksplosif.
- 3) Perlakuan pendahuluan secara kimia, diantaranya adalah ozonolisis, hidrolisis asam, hidrolisis alkali, dan delignifikasi oksidatif.
- 4) Perlakuan secara biologis. Pada metode ini digunakan mikroorganisme jamur pelapuk coklat, jamur pelapuk putih dan jamur pelunak untuk mendegradasi lignin dan hemiselulosa yang ada dalam bahan lignoselulosa.

Pada produksi bioetanol dari bahan lignoselulosa yang digunakan adalah selulosanya sehingga lignin harus dihilangkan. Senyawa pengikat berupa lignin

menyebabkan bahan-bahan lingselulosa sulit dihidrolisa (Iranmahboob, *et al.*, 2002). Lignin sangat kuat melindungi selulosa dan juga dapat menghambat pertumbuhan mikroba dalam proses fermentasi. Skema pretreatment bahan lingselulosa disajikan pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Skema *pretreatment* bahan lingselulosa (Osvaldo, *et al.*, 2012)

Proses penghilangan lignin dari serat-serat selulosa disebut delignifikasi atau *pulping*. Delignifikasi yang umum dilakukan adalah dengan menggunakan larutan NaOH dengan konsentrasi rendah. Larutan NaOH dengan konsentrasi rendah mampu mendegradasi lignin yang membungkus selulosa dengan menyerang dan merusak struktur lignin bagian kristalin dan amorf, melarutkan lignin dan hemiselulosa serta menyebabkan pengembangan struktur selulosa (Gunam, *et al.*, 2010). Berdasarkan penelitian Ashgar (2016) delignifikasi rumput gajah (*Sachharum spontaneum*) menggunakan larutan NaOH konsentrasi 2,5% mampu mendegradasi lignin sebesar 74 % dan meningkatkan kadar selulosa hingga 81, 2%.

2.4 Hidrolisis

Hidrolisis merupakan proses pemecahan gula kompleks menjadi gula sederhana. Pada proses hidrolisis, selulosa diubah menjadi selobiosa atau sukrosa dan selanjutnya menjadi gula-gula sederhana seperti glukosa. Hasil hidrolisis komponen hemiselulosa adalah campuran gula-gula sederhana seperti glukosa, galaktosa, xylosa, dan arabinosa (Schacht, *et al.*, 2008).

Hidrolisis asam dan hidrolisis enzimatis merupakan dua metode utama yang banyak digunakan khususnya untuk bahan-bahan lignoselulosa. Hidrolisa selulosa secara enzimatis memberi *yield* etanol sedikit lebih tinggi dibandingkan dengan metode hidrolisa asam. Dibanding hidrolisis enzim, hidrolisis asam lebih sederhana tanpa melalui beberapa tahapan perlakuan khusus, memerlukan waktu proses yang lebih singkat, teknologi yang lebih sederhana, pengaturan kondisi proses yang lebih mudah, serta biaya yang lebih murah.

Pada hidrolisis asam, asam sulfat merupakan asam yang banyak diteliti dan dimanfaatkan untuk hidrolisis asam. Dibanding dengan asam klorida, reaktivitas asam sulfat lebih rendah sehingga kemungkinan degradasi glukosa menjadi senyawa-senyawa turunan furfuraldehid lebih kecil. Asam kuat dengan reaktivitas tinggi akan menyebabkan degradasi gula hasil hidrolisis. Berdasarkan penelitian Sari (2009) pada konsentrasi katalis 0,5 N hidrolisis pati sagu dengan H_2SO_4 menghasilkan total gula lebih tinggi yaitu 148,02 g/L dibanding dengan HCl sebesar 142,95%.

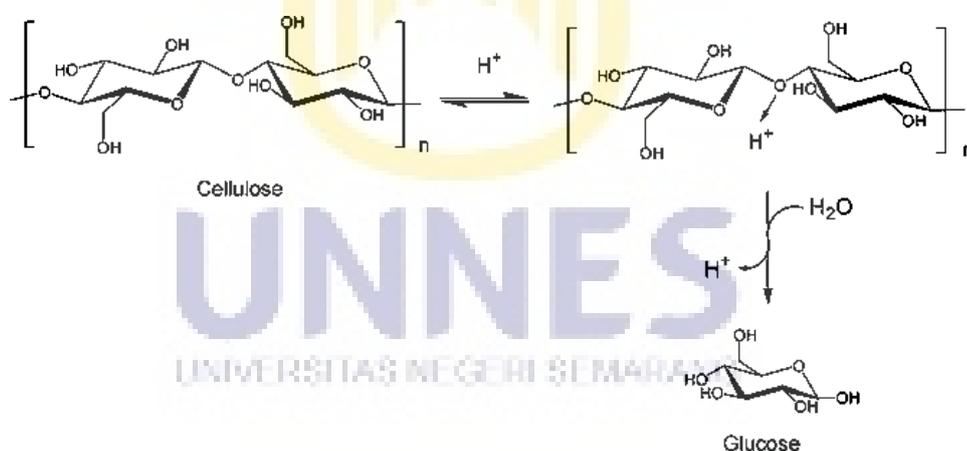
Hidrolisis asam pekat merupakan teknik yang sudah dikembangkan cukup lama. Hidrolisis asam pekat menghasilkan gula yang tinggi (90% dari hasil

teoritik) dibandingkan dengan hidrolisis asam encer, dan dengan demikian akan menghasilkan etanol yang lebih tinggi dan dapat dilakukan pada suhu rendah. Namun jika konsentrasi asam yang digunakan sangat tinggi (30-70%) akan mengakibatkan korosi pada peralatan sehingga membutuhkan peralatan metal yang dibuat secara khusus dan mahal, sehingga hidrolisis asam pekat membutuhkan investasi dan pemeliharaan yang tinggi. *Recovery* asam juga membutuhkan energi yang besar. Disisi lain, jika menggunakan asam sulfat pekat, dibutuhkan proses netralisasi yang menghasilkan limbah gypsum/ kapur yang sangat banyak (Tahezadeh & Karimi, 2008).

Hidrolisis asam encer juga dikenal dengan hidrolisis asam dua tahap (*two acid hydrolysis*) dan merupakan metode hidrolisis yang banyak dikembangkan dan diteliti saat ini. Hidrolisis asam memiliki beberapa keuntungan yaitu harganya lebih murah, lebih cepat dalam menghidrolisis, mudah didapat jika dibandingkan dengan hidrolisis enzim (Tahezadeh & Karimi, 2008). Penggunaan asam encer pada proses hidrolisis dilakukan pada temperatur dan tekanan tinggi dengan waktu reaksi yang singkat. Penggunaan asam encer untuk menghidrolisis selulosa mampu mencapai konversi reaksi sampai 50%. Keuntungan utama hidrolisis asam encer adalah tidak diperlukannya *recovery* asam dan tidak adanya kehilangan asam dalam proses (Iranmahboob, *et al.*, 2002). Berdasarkan penelitian Sari (2012) hidrolisis kertas koran bekas dengan asam sulfat pada konsentrasi 2% dengan suhu 140°C selama 150 menit mampu menghasilkan bioetanol dengan kadar 4,484%. Sementara menurut penelitian Sukowati (2014) hidrolisis kulit pisang dengan konsentraasi katalis asam sulfat 0,05 M pada suhu 121°C selama

15 menit mampu menghasilkan filtrat hidrolisis dengan kadar glukosa 11,26 mg/100 mL.

Skema reaksi hidrolisis dengan asam yaitu proton dari asam akan berinteraksi secara cepat dengan ikatan glikosidik oksigen pada dua unit gula sehingga akan membentuk asam konjugasi. Keberadaan asam konjugasi menyebabkan konformasi tidak stabil sehingga terjadi pemutusan ikatan C-O dan membebaskan asam konjugasi pada konformasi yang tidak stabil. Keberadaan air pada sistem akan menyebabkan OH⁻ dari air akan berikatan dengan ion karbanium sehingga membebaskan gula dan proton. Proton yang terbentuk akan berinteraksi secara cepat dengan ikatan glikosidik oksigen pada dua unit gula yang lain. Proses tersebut berlangsung secara kontinyu sampai semua molekul selulosa terhidrolisis menjadi glukosa (Xiang, 2003). Mekanisme reaksi hidrolisis selulosa oleh asam disajikan pada Gambar 2.5.

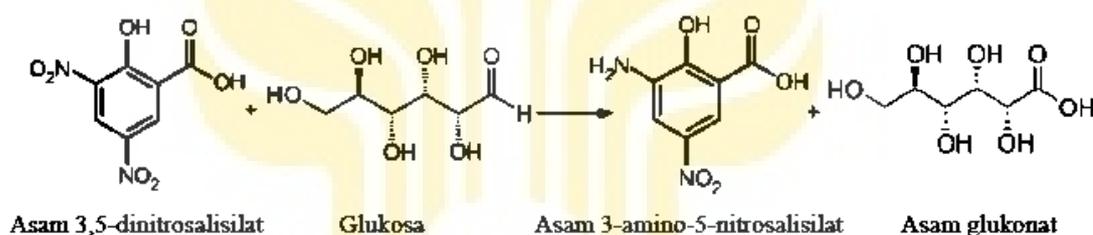


Gambar 2.5 Mekanisme reaksi hidrolisis selulosa oleh asam (Xiang, 2003)

2.5 Metode DNS (*Dinitrosalicylic Acid*)

Penentuan kadar glukosa dapat dilakukan salah satunya dengan menggunakan metode DNS (*Dinitrosalicylic Acid*). Metode ini digunakan untuk mengukur gula pereduksi dengan teknik kolorimetri. Teknik ini hanya dapat

mendeteksi satu gula pereduksi, misalnya glukosa. Glukosa memiliki gugus aldehida, sehingga dapat dioksidasi menjadi gugus karboksil. Gugus aldehida yang dimiliki oleh glukosa akan dioksidasi oleh asam 3,5-dinitrosalisilat menjadi gugus karboksil dan menghasilkan asam 3-amino-5-nitrosalisilat pada kondisi basa dengan suhu 90-100 °C (Bintang, 2010). Adanya NaOH dalam metode ini menyebabkan larutan bersifat basa, dalam larutan basa inilah glukosa dapat teroksidasi menjadi asam glukonat, sehingga asam 3,5-dinitrosalisilat akan tereduksi menjadi asam 3-amino-5-nitrosalisilat yang berwarna merah dan menyerap cahaya pada $\lambda=575$ nm. Mekanisme reaksi reduksi glukosa oleh asam 3,5-dinitrosalisilat disajikan pada Gambar 2.6.

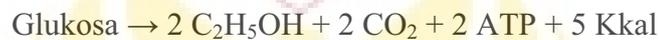


Gambar 2.6 Mekanisme reduksi glukosa oleh asam 3,5-dinitrosalisilat (Habibah, 2015)

Penentuan kadar glukosa dengan Metode DNS menggunakan reagen asam dinitrosalisilat berwarna kuning jingga yang terdiri atas asam 3,5-dinitrosalisilat, *rochelle salt*, fenol, bisulfit dan alkali. Penambahan *Rochelle salt* atau Kalium Natrium Tartrat untuk melindungi reagen dari hilangnya oksigen, Fenol untuk menguatkan warna, Bisulfit untuk menjaga warna tetap stabil dan alkali untuk mereduksi glukosa (Miller, 1959)

2.6 Fermentasi

Fermentasi merupakan proses perubahan dari glukosa menjadi etanol. Peruraian dari kompleks menjadi sederhana dengan bantuan mikroorganisme sehingga menghasilkan energi. Mikroorganisme yang dipakai umumnya adalah khamir. Produk metabolit utama adalah etanol, CO₂ dan air, sedangkan beberapa produk lain dihasilkan dalam jumlah sedikit (Sari, *et al.*, 2012). Secara sederhana proses fermentasi etanol dari bahan baku yang mengandung gula, dapat digambarkan dengan reaksi sebagai berikut:



Berdasarkan reaksi diatas, 70% energi bebas yang dihasilkan dibebaskan sebagai panas dan secara teoritis 100% karbohidrat diubah menjadi 51% etanol dan 48,9% menjadi CO₂. Pada proses fermentasi, glukosa dapat diubah secara anaerobik menjadi alkohol oleh bermacam-macam mikroorganisme. Beberapa jenis khamir yang dapat digunakan dalam proses fermentasi etanol adalah *S. cerevisiae*, *S. uvarum*, *Svhisosaccharomyces sp* dan *Kluyveromyces sp*. Secara umum khamir dapat tumbuh dan memproduksi etanol secara efisien pada pH 3,5-6,0 dan suhu 28-35°C. Laju awal produksi etanol dengan menggunakan khamir akan meningkat pada suhu yang lebih tinggi, namun produktifitas keseluruhan menurun karena adanya pengaruh peningkatan etanol yang dihasilkan. Khamir yang sering digunakan dalam proses fermentasi etanol adalah *S. cerevisiae*. Khamir ini bersifat fluktuatif anaerobik, tumbuh baik pada suhu 30°C dan pH 4,0-4,5 (Habibah, 2015)

S. cerevisiae sering dipakai pada fermentasi etanol karena menghasilkan etanol yang tinggi. Khamir ini mampu hidup pada suhu tinggi, toleran terhadap kadar etanol yang tinggi, tetap stabil selama kondisi fermentasi dan juga dapat bertahan hidup pada pH yang rendah. *S. cerevisiae* juga dapat toleran terhadap alkohol yang cukup tinggi dan tetap aktif melakukan fermentasi pada suhu 4-32 °C (Sari, *et al.*, 2012)

2.7 Bioetanol

Bioetanol (C₂H₅OH) adalah cairan biokimia pada proses fermentasi gula dari sumber karbohidrat yang menggunakan bantuan mikroorganisme. Bioetanol merupakan salah satu jenis biofuel (bahan bakar cair dari pengolahan tumbuhan) di samping biodiesel. Bioetanol adalah etanol yang dihasilkan dari fermentasi glukosa yang dilanjutkan dengan proses destilasi. Proses destilasi dapat menghasilkan etanol dengan kadar 95%. Jika digunakan sebagai bahan bakar (biofuel) perlu dimurnikan lagi hingga kadarnya mencapai 99% yang lazim disebut *Fuel Grade Ethanol* (FEG).

Etanol dikategorikan dalam dua kelompok utama, yaitu:

1. Etanol 95-96% disebut dengan “etanol berhidrat”, yang dibagi dalam:
 - a. *Technical/raw spirit grade*, digunakan untuk bahan bakar spiritus, minuman, desinfektan, dan pelarut.
 - b. *Industrial Grade*, digunakan untuk bahan baku industri dan pelarut.
 - c. *Portable grade*, untuk minuman berkualitas tinggi.
2. Etanol > 99,5% digunakan untuk bahan bakar. Jika dimurnikan lebih lanjut akan dapat digunakan untuk keperluan farmasi dan pelarut laboratorium

analisis. Etanol ini disebut dengan *anhydrous ethanol* (etanol anhidrat) atau etanol kering, yakni bebas air atau hanya mengandung air minimal (Prihandana, 2007). Sifat fisik dari etanol berdasarkan SNI 06-3565-1994 disajikan dalam Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Sifat fisik etanol

Parameter	Etanol
Rumus Kimia	C ₂ H ₅ OH
Berat Molekul	46
Densitas (g/mL)	0,7851
Titik Didih (°C)	78,4
Titik Nyala (°C)	13
Titik Beku (°C)	-112,4
Indeks Bias	1,3633
Panas Evaporasi (cal/g)	204
Viskositas pada 20° (Poise)	0,0122

Sumber: Badan Standar Nasional

Tahap inti proses pembuatan bioetanol adalah fermentasi gula baik yang berupa glukosa, fruktosa maupun sukrosa oleh *yeast* atau ragi terutama *Saccharomyces cerevisiae* dan bakteri *Z. Mobilis*. Pada proses ini gula dikonversi menjadi etanol dan gas karbondioksida. Secara umum proses pembuatan bioetanol meliputi tiga tahapan yaitu, persiapan bahan baku, fermentasi dan pemurnian. Pada tahap persiapan, bahan baku berupa padatan terlebih dahulu harus dikonversi menjadi larutan gula yang kemudian difermentasi menjadi etanol sedangkan bahan-bahan yang sudah berada dalam bentuk larutan seperti molase dapat langsung difermentasi (Arnata, 2009).

2.8 Destilasi

Kadar etanol hasil fermentasi tidak dapat mencapai level diatas 18 hingga 21% sebab kadar etanol tersebut bersifat *toxic* terhadap ragi yang memproduksi etanol tersebut sehingga untuk memperoleh etanol dengan kadar yang lebih tinggi perlu dilakukan destilasi. Destilasi adalah proses pemanasan yang memisahkan etanol dan beberapa komponen cair lain dari substrat fermentasi sehingga diperoleh kadar etanol yang lebih tinggi (Afrianti, 2004). Tujuan proses destilasi adalah untuk memisahkan etanol dari campuran etanol-air. Titik didih etanol adalah 78 °C dan titik didih air adalah 100 °C sehingga dengan pemanasan pada suhu 78 °C dengan metode destilasi maka etanol dapat dipisahkan dari campuran etanol-air. Etanol anhidrat (95-100%) dapat diperoleh dengan menggunakan destilasi azeotrop ditambah senyawa benzena.

Ada beberapa macam jenis-jenis salah satunya adalah destilasi bertingkat (fraksinasi). Salah satu campuran yang dipisahkan dengan cara ini adalah etanol dan air. Titik didih air dan etanol masing-masing adalah 78°C dan 100°C. Larutan dipanaskan pada suhu sekitar 78°C hingga mendidih dan menguap. Uap yang ada dalam labu terdiri dari uap etanol bercampur dengan sedikit uap air, kemudian campuran uap tersebut naik ke kolom fraksinasi dan menyentuh plat paling bawah. Dalam kolom fraksinasi terjadi pengembunan dan sebagian tetesan-tetesan air turun kembali kedalam labu, sedangkan etanol yang titik didihnya lebih rendah mendidih kembali, akibatnya terbentuk uap etanol yang lebih murni dan naik ke plat berikutnya. Peristiwa berikut terus berulang sampai pada plat terakhir, sehingga dihasilkan uap etanol yang lebih murni. Akhirnya uap etanol masuk ke dalam kondensor dan mengembang menjadi tetes-tetes etanol yang ditampung dalam satu wadah. Jika semua alkohol didestilasi keluar, maka suhu yang terbaca

pada termometer segera naik menuju 100°C . Hal ini menandakan bahwa uap air telah naik ke kondensor dan segera menetes. Tetesan ini dapat ditampung di dalam wadah yang lain.

2.9 Kromatografi Gas (GC)

Kromatografi gas merupakan metode yang dinamis untuk pemisahan senyawa-senyawa organik yang mudah menguap dan senyawa-senyawa gas anorganik dalam suatu campuran. Sampel yang mudah menguap (dan stabil terhadap panas) akan bermigrasi melalui kolom yang mengandung fase diam dengan suatu kecepatan yang tergantung pada rasio distribusinya. Pada umumnya solut akan terelusi berdasarkan pada peningkatan titik didihnya dan afinitasnya terhadap fasa diam. Fasa gerak yang berupa gas akan mengelusi solut dari ujung kolom lalu menghantarkannya ke detektor (Gandjar & Rohman, 2007; McNair & Miller, 1998; Wittowski & Matissek, 1990). Kromatografi gas dapat digunakan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif. Analisis kualitatif dilakukan dengan cara membandingkan waktu retensi dari komponen yang kita analisis dengan waktu retensi zat baku pembanding (standar) pada kondisi analisis yang sama. Analisis kuantitatif dilakukan dengan cara perhitungan relatif tinggi atau luas puncak kromatogram komponen yang dianalisis terhadap zat baku pembanding (standar) yang dianalisis (McNair & Miller, 1998; Johnson & Stevenson, 1991)

Perlengkapan dasar suatu alat kromatografi gas terdiri atas:

- a. Tabung silinder gas pembawa (*carrier gas*)
- b. Pengatur aliran (*flow rate*) dan pengukur tekanan (*pressure regulator*)

- c. Tempat injeksi sampel (*injection port*)
- d. Kolom
- e. Detektor
- f. Amplifier
- g. Pencatat/perekam (*recorder*)
- h. Oven dengan termostat untuk tempat injeksi (gerbang suntik), kolom dan detektor

Sistem kromatografi gas terdiri atas:

- a. Gas Pembawa (*Carrier gas*)

Tangki gas bertekanan tinggi berlaku sebagai sumber gas pembawa. Suatu pengatur tekanan digunakan untuk menjamin tekanan yang seragam pada kolom sehingga diperoleh laju aliran gas yang tetap. Gas yang bisa dipakai adalah hidrogen, argon, helium dan nitrogen. Gas pembawa harus memiliki sifat *inert*, untuk mencegah interaksi dengan cuplikan atau pelarut; koefisien difusi sampel pada gas tersebut rendah; murni dan mudah didapat; murah; serta cocok untuk detektor yang digunakan (McNair & Miller, 1998)

- b. Kolom

Kolom dapat terbuat dari logam (tembaga, baja tahan karat, atau aluminium) atau gelas yang berbentuk lurus, U, atau spiral. Kolom pada kromatografi gas dikelompokkan menjadi dua kelompok utama, yaitu kolom kemas (*packed column*) dan kolom kapiler (*capillary column*). Kolom kemas terdiri atas fasa cair yang tersebar pada permukaan penyangga (*support*) yang *inert* yang terdapat dalam tabung yang relatif besar, panjang antara 1-10 meter dengan diameter dalam antara 3-10 mm atau sampai lebih dari 10 cm bagi

kolom preparatif. Kolom kapiler (*capillary column*) panjangnya dapat mencapai 10-50 meter dengan diameter 0,2-1,2 mm. Fasa diam pada kolom kapiler dilapiskan pada dinding kolom atau bahkan dapat bercampur dengan sedikit penyangga yang *inert* yang sangat halus untuk memperbesar luas permukaan sangat efektif (Gandjar & Rohman, 2007)

c. Suhu

Dalam sistem kromatografi diperlukan sekali untuk memiliki tiga pengendali suhu yang berlainan:

1) Suhu gerbang suntik

Gerbang suntik harus cukup panas untuk menguapkan cuplikan sedemikian cepat sehingga tidak menghilangkan efisiensi yang disebabkan oleh cara penyuntikan. Sebaliknya, suhu gerbang suntik harus cukup rendah untuk mencegah peruraian akibat panas.

2) Suhu kolom

Suhu kolom harus cukup tinggi sehingga analisis dapat diselesaikan dalam waktu yang layak dan harus cukup rendah sehingga pemisahan yang dikehendaki tercapai. Pada suhu yang lebih tinggi, waktu retensi menurun. Suhu yang lebih rendah memerlukan waktu analisis yang lebih lama, tetapi koefisien partisi dalam fase diam semakin tinggi sehingga resolusinya lebih.

Isotermal menyatakan analisis kromatografi yang dapat dilakukan pada suatu suhu yang konstat. Suhu terprogram dijelaskan sebagai kenaikan suhu kolom yang linier terhadap waktu. Untuk senyawa yang rentang titik didihnya lebar tidak dapat digunakan suhu rendah, maka suhu perlu diprogram.

3) Suhu detektor

Pengaruh suhu pada detektor sangat bergantung pada jenis detektor yang digunakan. Tetapi, secara umum dapat dikatakan bahwa detektor dan sambungan antara kolom dan detektor harus cukup panas sehingga cuplikan dan/atau fase diam tidak mengembun. Pelebaran puncak dan menghilangnya puncak komponen merupakan ciri khas terjadinya pengembunan. Suhu minimum untuk detektor ionisasi nyala adalah 125°C (McNair & Miller, 1998)

d. Detektor

Detektor digunakan untuk memunculkan sinyal listrik hasil elusi gas pembawa dari kolom. Detektor dibedakan menjadi detektor yang destruktif dan nondestruktif. Pada detektor destruktif proses deteksi berkaitan dengan destruksi komponen tersebut di dalam detektor, oleh sebab itu setelah melintasi detektor komponen sampel sudah tidak utuh lagi (Soeryadi, 1997).

Dalam kromatografi gas dikenal beberapa macam detektor yang lazim digunakan dan setiap detektor mempunyai karakteristik dalam selektivitas, linearitas, sensitivitas atau kemampuan mendeteksi pada jumlah terkecil (*limit detection*)

1) Detektor ionisasi nyala (*Flame Ionization Detector/FID*) bersifat destruktif, dapat mendeteksi hampir semua senyawa organik, batas linearitas 10^6 g, dan batas terkecil pendeteksian 10^{-10} g.

2) Detektor tangkap elektron (*Electron Capture Detector/ECD*) bersifat destruktif, selektif terhadap senyawa yang mempunyai unsur-unsur elektronegatif seperti halogen, batas linearitas 10^3 g, dan batas terkecil pendeteksian 10^{-13} g.

3) Detektor daya hantar panas (*Thermal Conductivity Detector/TCD*) bersifat nondestruktif, tidak selektif (bersifat umum), batas linearitas 10^5 g, dan jumlah terkecil yang masih dapat terdeteksi sampai 5×10^{-9} g.

(Gandjar & Rohman, 2007; McNair & Miller, 1998).

e. Rekorder/Perekam

Kromatografi gas modern menggunakan komputer yang dilengkapi dengan perangkat lunaknya (*software*) untuk digitalisasi signal detektor; memfasilitasi pengaturan parameter instrument; menampilkan kromatogram; merekam data kalibrasi, retensi, serta perhitungan-perhitungan dengan statistik; dan menyimpan data parameter analisis untuk analisis senyawa tertentu (McNair & Miller, 1998)

2.10 Kromatografi Gas Spektrofotometri Massa (GC-MS)

Kromatografi gas spektroskopi massa adalah adalah teknik analisis yang menggabungkan dua metode analisis yaitu kromatografi gas dan spektroskopi massa. Kromatografi gas merupakan metode analisis dimana sampel terpisahkan secara fisik menjadi bentuk molekul-molekul yang lebih kecil (hasil pemisahan dapat dilihat berupa kromatogram). Sedangkan spektroskopi massa adalah metode analisis dimana sampel yang akan dianalisis diubah menjadi ion-ionnya, dan massa dari ion-ion tersebut dapat diukur (hasil deteksi dapat dilihat berupa spektrum massa).

Pada GC hanya terjadi pemisahan untuk mendapatkan komponen yang diinginkan, sedangkan bila dilengkapi dengan MS (berfungsi sebagai deketktor)

akan dapat mengidentifikasi komponen tersebut, karena bisa mendapat spektrum bobot molekul pada suatu komponen yang dapat dibandingkan langsung dengan *Library (reference)* pada *software*. Sampel-sampel yang dapat dianalisis menggunakan GC-MS harus memenuhi beberapa syarat, diantaranya adalah dapat diuapkan hingga suhu 400°C, secara termal stabil (tidak terdekomposisi pada suhu 400°C, sampel-sampel lainnya dapat dianalisis setelah melalui tahapan preparasi khusus.

Pemisahan komponen senyawa dalam GC-MS terjadi di dalam kolom (kapiler) GC dengan melibatkan dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam adalah zat yang ada di dalam kolom, sedangkan fase gerak adalah gas pembawa (helium maupun Hidrogen dengan kemurnian tinggi yaitu $\pm 99,995\%$). Proses pemisahan dapat terjadi karena terdapat perbedaan kecepatan alir dari tiap molekul di dalam kolom. Perbedaan tersebut dapat disebabkan oleh perbedaan afinitas antar molekul dengan fase diam yang ada di dalam kolom. Selanjutnya komponen-komponen yang telah dipisahkan tersebut masuk ke dalam ruang MS yang berfungsi sebagai detektor secara instrumentasi, MS adalah detektor bagi GC (Hermanto, 2008)

2.11 *Fourier Transform Infra-Red (FT-IR)*

Spektrofotometri *infra red* atau infra merah merupakan suatu metode yang mengamati interaksi molekul dengan radiasi elektromagnetik yang berda pada daerah panjang gelombang 0,75-1000 μm atau pada bilangan gelombang 13000-10 cm^{-1} . Dibandingkan dengan panjang gelombang sinar ultraviolet dan tampak,

panjang gelombang infra merah lebih panjang dan dengan demikian energinya lebih rendah. Energi sinar infra merah berkaitan dengan energi vibrasi molekul.

Saat ini telah dikenal berbagai macam gelombang elektromagnetik dengan rentang panjang gelombang tertentu. Spektrum elektromagnetik merupakan kumpulan panjang gelombang dari berbagai panjang gelombang. Berdasarkan pembagian daerah panjang gelombang, sinar infra merah dibagi atas tiga daerah yaitu:

1. Daerah infra merah dekat (0,72-2,6 μm)
2. Daerah infra merah pertengahan (2,5-50 μm)
3. Daerah infra merah jauh (50-1000 μm)

Spektrofotometri infra merah biasanya merupakan spektrofotometer ganda dan terdiri dari 3 bagian utama yaitu sumber radiasi, kisi difraksi (monokromator, dan detektor.

1. *Sumber radiasi*, radiasi infra merah biasanya dihasilkan oleh pemijar *Nernst* dan *Globar*. Pemijar *Globar* merupakan batangan silikon karbida yang dipanasi hingga sekitar 1.200°C, sehingga memancarkan radiasi kontinyu pada daerah 1-40 μm . *Globar* merupakan sumber radiasi yang sangat stabil. Pijar *Nernst* merupakan batang cekung dari Zirkonium dan Yttrium Oksida yang dipanasi hingga sekitar 1.500°C dengan arus listrik sumber ini memancarkan radiasi antara 0,4-20 μm dan kurang stabil jika dibandingkan dengan *globar*, tetapi *globar* memerlukan pendingin air.
2. *Monokromator*, monokromator terdiri dari sistem celah masuk dan celah keluar alat pendispersi yang berupa kisi difraksi atau prisma, dan beberapa cermin untuk memantulkan dan memfokuskan berkas sinar. Bahan yang lazim

digunakan prisma adalah Natrium Klorida, Barium Klorida, Kalium Bromida, Sesium Bromida dan Lithium Fluorida. Prisma Natrium Klorida paling banyak digunakan untuk monokromator infra merah, karena dispersinya tinggi untuk daerah antara 5,0-16 μm , tetapi dispersinya kurang baik untuk daerah antara 1,0-5,0 μm . Kalium Bromida dan Sesium Bromida merupakan bahan prisma yang baik untuk infra merah jauh. Lithium Fluorida merupakan bahan yang baik untuk infra merah dekat. Bahan-bahan tersebut higroskopis, sehingga dapat dirusak oleh uap air. Spektrofotometer infra merah kebanyakan menggunakan kisi difraksi, bukan prisma. Keuntungan kisi difraksi adalah resolusi lebih baik, energi sinar yang hilang lebih sedikit sehingga dapat digunakan lebar celah yang lebih sempit, memberikan *disperse* yang linier dan tahan terhadap uap air. Kekurangan dari kisi difraksi adalah jumlah sinar hamburan lebih banyak dan hasilnya lebih dari satu spektrum dari berbagai orde. Kelemahan tersebut dapat diatasi dengan penggunaan prisma dan filter bersama kisi difraksi (monokromator ganda), sehingga hanya dihasilkan spektrum dari satu orde saja. Hal yang sama juga dapat diperoleh dengan membuat sudut jalur kisi sedemikian rupa sehingga sinar yang didispersikan terpusat hanya pada satu orde saja.

3. *Detektor*. Sebagian besar alat modern menggunakan detektor panas. Detektor fotolistrik tidak dapat digunakan untuk mendeteksi sinar infra merah, karena energi foton infra merah tidak cukup besar untuk membebaskan elektron dari permukaan katoda dari suatu tabung foton. Detektor panas untuk mendeteksi sinar infra merah yaitu termokopel, bolometer dan sel Golay. Ketiga detektor

ini bekerja berdasarkan efek pemanasan yang ditimbulkan oleh sinar infra merah (Sudjadi, 1985)

2.12 Penelitian Terkait

Putri (2015) telah meneliti pembuatan bioetanol dengan bahan baku limbah tandan kelapa melalui hidrolisis asam. Proses delignifikasi tandan kelapa menggunakan larutan NaOH 0,01 M. Hidrolisis dilakukan pada suhu 80-90°C dengan konsentrasi HCl 12% dan fermentasi pada pH 5. Parameter yang diteliti adalah lama waktu hidrolisis dan lama waktu fermentasi. Dari hasil penelitian diperoleh waktu hidrolisis paling baik adalah selama 30 menit dengan glukosa yang dihasilkan sebesar 12,724 ppm dan kadar bioetanol tertinggi dicapai pada waktu fermentasi 7 hari dengan kadar bioetanol 6,66%.

Ariyani (2013) telah meneliti tentang produksi bioetanol dari jerami padi (*Oryza sativa L.*). Jerami padi dihidrolisis dengan HCl pada konsentrasi (7, 14, 21 dan 28%). Proses fermentasi dilakukan dengan berbagai variasi waktu yaitu 5, 7, 9, 11 dan 13 hari. Dari hasil analisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis konsentrasi HCl yang paling optimum pada konsentrasi 21% dengan kadar glukosa sebesar 70,85 ppm. Hasil analisis dengan GC menunjukkan bahwa semakin lama waktu fermentasi maka semakin tinggi kadar etanolnya. Hasil presentase kadar etanol paling maksimum pada fermentasi 13 hari yaitu sebesar 6,41%.

Ramdja (2010) telah meneliti tentang pengaruh waktu, temperatur dan dosis H₂SO₄ pada hidrolisa asam terhadap kadar etanol berbahan baku alang-alang. Jangkauan variabel yang digunakan pada penelitian ini adalah pada waktu

hidrolisa 45-90 menit, temperatur 115-155 °C dan dosis H₂SO₄ 0,75-4%. Kadar etanol yang dihasilkan rata-rata akan semakin tinggi sampai waktu hidrolisa tertentu (waktu optimum) dan setelah waktu hidrolisis optimum dilewati kadar etanol yang dihasilkan semakin menurun. Begitu juga pada parameter temperatur hidrolisis. Dari penelitian dihasilkan kadar etanol tertinggi pada waktu hidrolisa 90 menit, temperatur hidrolisis 130 °C dan dosis H₂SO₄ 0,075%.

Sari (2012) telah meneliti pembuatan bietanol dari koran bekas dengan hidrolisis asam encer. Parameter yang diteliti adalah pengaruh konsentrasi, waktu dan temperatur hidrolisis. Variabel penelitian difokuskan pada proses hidrolisis dan fermentasi dan delignifikasi menggunakan NaOH 1,5% vol. Konsentrasi H₂SO₄ yang digunakan adalah 0,5-2,5% vol, temperatur hidrolisis 100-200 °C, waktu hidrolisis berkisar 30-150 menit, waktu fermentasi 3 hari dan jenis ragi roti dan ragi tape. Hasil penelitian menunjukkan bahwa koran bekas dapat menghasilkan bietanol dengan konsentrasi tertinggi pada konsentrasi H₂SO₄ 2% vol, temperatur hidrolisis 140 °C, waktu hidrolisis 150 menit dan jenis ragi adalah 25% berat dan kadar bioetanol yang dihasilkan 5,22% vol.

Harianja (2015) telah meneliti tentang optimasi jenis dan konsentrasi asam pada hidrolisis selulosa dalam tongkol jagung. Selulosa yang diperoleh didelignifikasi dengan larutan NaOH 10% dengan waktu perendaman 28 jam. Optimasi jenis dan konsentrasi asam pada hidrolisis selulosa dalam tongkol menggunakan asam HNO₃, H₂SO₄ dan HClO₄ dengan variasi konsentrasi 10, 20, 30 dan 40%. Gula reduksi tertinggi diperoleh melalui proses hidrolisis yaitu sebesar 718,71 mg/L (14,36%) menggunakan HClO₄ 30%. Sedangkan hidrolisis

menggunakan H_2SO_4 dengan konsentrasi 30% menghasilkan kadar gula sebesar 565,85 mg/L.

Sukowati (2014) telah meneliti tentang produksi bietanol dari kulit pisang melalui hidrolisis H_2SO_4 . Variasi konsentrasi H_2SO_4 yang digunakan adalah 0; 0,025; 0,050; 0,075 dan 0,100 M dengan waktu hidrolisis 15 dan 30 menit. Fermentasi bioetanol dilakukan dengan temperatur kamar selama 72 jam dengan *S. cerevisiae* dengan variasi konsentrasi 0, 5, 10, dan 15% (w/v). Dari penelitian tersebut dihasilkan kondisi optimum hidrolisis H_2SO_4 dengan konsentrasi 0,050 M pada suhu 121 °C dengan waktu hidrolisis 15 menit yang menghasilkan kadar gula reduksi sebesar 11,26 mg/100 mL. Kondisi optimum pada proses fermentasi adalah pada konsentrasi ragi sebesar 10% (w/v) yang menghasilkan kadar bioetanol sebesar 0,03% (v/v) .

Noviani (2014) telah melakukan penelitian tentang pengolahan limbah serbuk gergaji kayu sengon laut menjadi bietanol menggunakan *S. cerevisiae*. Parameter yang diteliti adalah waktu hidrolisis dan waktu fermentasi. Proses delignifikasi menggunakan larutan NaOH 0,01 M dan proses hidrolisis dilakukan dengan HCl 12% pada suhu 110°C selama variasi waktu hidrolisis 30,60,90 dan 120 menit serta fermentasi menggunakan *S. cerevisiae*. Waktu terbaik pada proses hidrolisis adalah 60 menit dengan glukosa yang dihasilkan sebesar 12,3125 ppm. Kadar bioetanol tertinggi dicapai pada waktu fermentasi 9 hari yaitu sebesar 2,99%.

BAB 5

PENUTUP

5.1 Simpulan

Dari penelitian dan pembahasan yang telah diuraikan dapat disimpulkan bahwa:

1. Konsentrasi optimum katalis asam sulfat pada proses hidrolisis kulit kacang tanah adalah 0,5% yang dapat menghasilkan filtrat hidrolisis dengan kadar glukosa paling tinggi dibanding pada konsentrasi asam sulfat 1% dan 2%.
2. Waktu hidrolisis optimum kulit kacang tanah dilakukan selama 60 menit pada konsentrasi asam sulfat 0,5% dengan kadar glukosa sebesar 3102,53 ppm.
3. Filtrat yang dihasilkan dari proses hidrolisis ketika difermentasi menghasilkan bioetanol yang dibuktikan dengan hasil analisis sifat fisika dan kimia mendekati hasil analisis etanol *pro analysis* dan ketika dianalisis menggunakan instrumen GC, GC-MS dan FT-IR diketahui hasil fermentasi mengandung senyawa etanol dengan kadar etanol 39,97%.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian ini disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut mengenai hal-hal sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian untuk menghilangkan kadar lignin yang tinggi pada kulit kacang sehingga selulosa yang diperoleh bisa lebih tinggi kadarnya.
2. Dilakukan penelitian dengan proses hidrolisis menggunakan enzim selulase untuk memperoleh kadar glukosa yang lebih tinggi
3. Dilakukan proses fermentasi dari filtrat hasil hidrolisis dengan variasi jumlah *nutrient*, jenis ragi, dan waktu fermentasi untuk mendapatkan kadar etanol yang tinggi.



DAFTAR PUSTAKA

- Afrianti, H., 2004. *Pengertian Destilasi dari Hasil Fermentasi*. Jakarta: Forum Sains.
- Ariyani, E., E. Kusumo, & Supartono. 2013. Produksi Bioetanol dari Jerami Padi (*Oryza sativa* L). *Indonesian Journal of Chemical Science*, 2(2): 167-172.
- Arnata, I., 2009. *Teknologi Bioproses Pembuatan Bioetanol dari Ubi Kayu Menggunakan Trichoderma viridae, Aspergillus niger dan Saccharomyces cerevisiae*, Bogor: IPB.
- Ashgar, U., M. Nadeem, M. Irfan, Q. Syed, R. Nelofer & M. Iram. 2016. Effect of NaOH on Delignification of *Saccharum spontaneum*. *Environmental Progress & Sustainable Energy*, 35(1): 244-248.
- Asngad, A., I. Siti, & S. Siska. 2016. Pemanfaatan Kulit Kacang dan Bulu Ayam Sebagai Bahan Alternatif Pembuatan Kertas Melalui *Chemical Pulping* dengan Menggunakan NaOH dan CaO. *Bioeksperimen*, 2(1): 25-32.
- Balat, M., H. Balat, & C. Oz., 2008. Progress in Bioethanol Processing. *Progress in Energy and Combustion Science*, 34:551-573.
- Bintang, M., 2010. *Biokimia-Teknik Penelitian*. Jakarta: Erlangga.
- Chimentao, R.J., E. Lorente, F.G. Guirado, F. Medina & F. Lopez. 2014. Hydrolysis of Dilute Acid-pretreated Cellulose Under Mild Hydrothermal Condition. *Carbohydrate Polymer* 111:116-114.
- Datta, A., A. Betterman, & T. K. Kirk. 1981. Identification of Specific Manganese Peroxide Among Lignolytic Enzym Secreted by Phanerochaete Chrysosporium During Wood Decay. *Appl. Environ. Microbial*, 57:1453-1460.
- Fan, L.T., Y.H. Lee & M. M. Gharpuray. 1982. The Nature of Lignocellulosics and Their Pretreatments for Enzymatic Hydrolysis. *Advances in Biochemical Engineering*, 23:157-187.
- Fuadi, A.M., K. Harismah, & A. Setiawan. 2015. *Hidrolisis Enzimatis Kertas Bekas Dengan Variasi Pemanasan Awal*. Surakarta, University Research Colloquium.
- Gandjar, I.G. & A. Rohman. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Girisuta, B., L. Janssen, & H. Heeres. 2007. Kinetic Study on Cellulosa to Levulinic Acid. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 46: 1696-1708.

- Gunam, I.B., Buda & Guna, 2010. Pengaruh Perlakuan Delignifikasi Larutan NaOH dan Konsentrasi Substrat Jerami Padi Terhadap Produksi Enzim Selulase dari *Aspergillus niger* NRRL A-II, 264. *Jurnal Biologi*, XIV: 56-61.
- Habibah, F. 2015. *Produksi Substrat Fermentasi Bioetanol dari Alga Merah Gracilaria verrucosa Melalui Hidrolisis Enzimatik dan Kimia*. Skripsi. Semarang: Jurusan Kimia FMIPA Unnes.
- Harianja, J.W., N. Idiawati. & Rudiyansyah, 2015. Optimasi Jenis dan Konsentrasi Asam Pada Hidrolisis Hidrolisis Selulosa dalam Tongkol Jagung. *JKK*, 4(4): 66-71.
- Hermanto, S. 2008. *Mengenal Lebih Jauh Teknik Analisa Kromatografi dan Spektrofotometri*. Jakarta: Pusat Laboratorium Terpadu UIN Syarif Hidayatullah .
- Hermiati, E., D. Mangunwidjaja, T.C. Sunarti, O. Suparno, & B. Prasetya. 2010. Pemanfaatan Biomassa Lignoselulosa Ampas Tebu untuk Produksi Bioetanol. *Jurnal Litbang Pertanian*, 29(4): 121-130.
- Hernandez, E., A. Garcia, M. Lopez, J. Pulse, J.C. Parajoa & C. Martin. 2013. Dillute Sulphuric Acid Pretreatment and Enzymatic Hydrolysis of *Moringa oleifera* Empty Pods. *Industrial Crops and Products*, 44:227-231.
- Hotzapple, M.T. 2003. Hemicellulosic in Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition. Washington DC: Academic Press.
- Iranmahboob, J.F. Nadim, & S. Monemi. 2002. Optimizing Acid Hydrolisis: A Critical Step For Production of Ethanol From Mixed Wood Chips. *Biomass and Bioenergy*, 22: 401-404.
- Johnson, E.L. & R. Stevenson. 1991. *Dasar Kromatografi Cair*. Bandung: Penerbit ITB.
- Juara, S.R. 2011. *Detoksifikasi Hidrolisat Asam dari Ubi Kayu Dengan Metode Arang Aktif Untuk Produksi Bioetanol*, Bogor: Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor .
- Ketaren, S. 1986. *Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan*. Jakarta: UI Press.
- Lisin, N., G.S. Hutomo, & S. Kadir. 2015. Hidrolisis Selulosa dari *Pod Husk* Kakao Menggunakan Asam Sulfat. *E-Journal Agrotekbis*, 3(4): 482-490.
- Mahendra, V.A. 2014. *Produksi Etanol dari Umbi Suweg (Amorphallus campanulatus BI) Sebagai Sumber Energi Alternatif*. Skripsi. Semarang: Jurusan Kimia FMIPA UNNES.

- Marsden, W.L. & P.P. Gray. 1986. Enzymatic Hydrolysis of Cellulose in Lignocellulosic Materials. *CRC Critical Reviews in Biotechnology*, 3(3): 235-276.
- Marzuki, R. 2007. *Bertanam Kacang Tanah*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- McNair, H.M. & J.M. Miller. 1998. *Basic gas Chromatography*. New York: John Willey & Sons.
- Melwita, E. & E. Kurniadi. 2014. Pengaruh Waktu Hidrolisis dan Konsentrasi H₂SO₄ Pada Pembuatan Asam Oksalat dari Tongkol Jagung. *Teknik Kimia*, 20(2): 55-63.
- Miller, G.L. 1959. Use of Ditiyosalisylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Journal Analytical Chemistry*, 31(3): 426-428.
- Noviani, H., Supartono & K. Siadi. 2014. Pengolahan Limbah Serbuk Gergaji Kayu Sengon Laut Menjadi Bioetanol Menggunakan Saccharomyces cerevisiae. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 3(2): 147-151.
- Oswaldo, Z.S., P. Putra & S.M. Faizal. 2012. Pengaruh Konsentrasi Asam dan Waktu Pada Proses Hidrolisis dan Fermentasi Pembuatan Bioetanol dari Alang-Alang. *Jurnal Teknik Kimia*, 2(18):52-62.
- Palmqvist, E. & B.Hahn-Hagerdal. 2000. Fermentation of Lignocellulosic Hydrolysates II : Inhibitors and Mechanism of Inhibitions. *Bioresource Technology*, 93: 1-10.
- Prihandana. 2007. *Bioetanol Ubi Kayu Bahan Bakar Masa Depan*. Jakarta: Agromedia.
- Putri, E.S. & Supartono, 2015. Pemanfaatan Limbah Tandan Kelapa Untuk Pembuatan Bioetanol Melalui Proses Hidrolisis dan Fermentasi. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 4(3): 178-183.
- Ramdja, F., R.A. Silalahi, & N. Sihombing. 2010. Pengaruh Waktu, Temperatur dan Dosis Asam terhaap Kadar Etanol Berbahan Baku Alang-Alang. *Jurnal Teknik Kimia*, 17(2): 42-54.
- Retno, D. & W. Nuri. 2011. *Pembuatan Bioetanol dari Kulit Pisang*. Yogyakarta: FTI UPN Veteran.
- Safaria, S., N. Idiawati & T.A. Zaharah. 2013. Efektivitas Campuran Enzim Selulase dari *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei* Dalam Menghidrolisis Substrat Sabut Kelapa. *JKK*, 2(1):46-51.
- Sari, F.A. 2009. *Pengaruh Jenis Asam pada Hidrolisis Pati Sagu (Metoxylon sp.) untuk Pembuatan Etanol*. Skripsi. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor.

- Sari, T.I., Maryadi & M. Haviz. 2012. *Pembuatan Bioetanol dari Koran Bekas dengan Hidrolisis Asam Encer (Studi Pengaruh Konsentrasi, Waktu dan Temperatur Hidrolisis)*. Pekanbaru, SNTK TOPI 2012.
- Satioko, T.R., S. Wahyuni. & N.B. Santoso. 2013. Pemanfaatan Bagas Limbah Pabrik Gula Jatibarang Brebes Menjadi Bioetanol. *Indonesian Journal of Chemistry*, 2(3): 207-211.
- Schacht, C., C. Zetzl, & G. Brunner. 2008. From Plant Materials to Ethanol by Means of Supercritical Fluid Technology. *The Journal of Supercritical Fluids*, 46: 299-321.
- Sjostrom, E. 1998. *Kimia Kayu Dasar dan Penggunaan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Soeryadi, I. 1997. Kromatografi. *Warta Insinyur Kimia*, 11(1): 17-19.
- Sudjadi. 1985. *Metode Pemisahan*. Yogyakarta: UGM Press.
- Sun, Y. & J. Cheng. 2002. Hydrolisis of Lignocellulosic Materials for Ethanol Production : A review. *Bioresour*, 86: 1-11.
- Susanti, A. 2009. *Potensi Kulit Kacang Tanah Sebagai Adsorben Zat Warna Reaktif Cibacron Red*. Skripsi. Bogor: FMIPA Institut Pertanian Bogor.
- Taherzadeh, M.J. & K. Karimi. 2008. Pretreatment of Lignocellulosic Waste to Improve Bioethanol and Biogas Production. *Int. J. Mol. Sci*, 9: 1621-1651.
- Xiang. 2003. Heterogenous Aspect of Acid Hydrolysis of α -cellulase Applied. *Biochemistry and Biotechnology*, 107: 1-3.
- Yoon, S.Y., S.H. Han & S.J. Shin. 2014. The Effect of Hemicelluloses and Lignin on Acid Hydrolysis of Cellulose. *Energy*, 30(2014):1-6.
- Wijaya, A. 2011. *Pengaruh Pemupukan dan Pemberian Kapur Terhadap Pertumbuhan dan Daya Hasil Kacang Tanah (Arachis hypogaea L.)*. Skripsi. Bogor: Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor.
- Wittowski, R. & R. Matissek. 1990. *Capillary Gas Chromatography In Food Control and Research*. Pennsylvania: Technomic Publishing.



Proses Hidrolisis



Proses Fermentasi



Uji kalium dikromat

Pengukuran indeks bias

