

Pengaruh Waktu Inokulasi Inokulum dalam Pembuatan Bioetanol dari Limbah Srabut Buah Sawit Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*

Firmanto*, Adrianto Ahmad**, Sri Rezeki Muria**

*Alumni Teknik Kimia Universitas Riau **Jurusan Teknik Kimia Universitas Riau
Kampus Binawidya Km 12,5 Simpang Baru Panam, Pekanbaru 28293
siregarfirmanto@gmail.com

ABSTRACT

*Bioethanol is produced with raw materials containing starch plant or carbohydrates (rice, maize, tubers, etc.) and cellulosic materials (wood, agricultural waste), conducted through the conversion of carbohydrates into sugar (glucose) with the fermentation process by microorganisms. Bioethanol can be made as solvents, perfume ingredients, flavourings, food dyes and medications, even can be made as alternative fuels. Bioethanol production is done by the hidrolisis and fermentation or frequently called to SHF process (Separated Hydrolysis and Fermentation). Cellulose and hemiscellulose to be used is sourced from palm fiber waste. The goal of this study is to obtain the effect of time of inoculation inoculum and also get the optimum concentration of bioethanol in the manufacture of bioethanol from palm fruits fiber waste. Stages of the purification process starts from pretreatment, delignification with ash extract TKS and purification with hydrogen Peroxide (H_2O_2). After the purification process, the next stage is hidrolisis process with sulfur acid (H_2SO_4 2M). Hidrolisis was done at a temperature of $100^\circ C$ and a reaction time about 3 hours to get the initial glucose. The effect of inoculum time to be done in this study by the variaion of time 24, 48, 60 and 72 hours. Number of cells for the inoculum will be analyzed with spectrophotometer by observing optical density (OD). Fermentation process will take place during 4,5 days (108 hours) by the variation of time 12, 24, 48, 72, 96 and 108 hours with the help of *Saccharomyces cerevisiae*. The result showed that the best time of inoculum occurred at 60 hours with OD 0,882 with time of fermentation at 96 hours which got the concentration of bioethanol 6 v/v (47,34 gr/L).*

Keywords: *bioethanol, fermentation, hidrolisis, inoculum, palm fiber, Saccharomyces cerevisiae*

I. Pendahuluan

Kebutuhan masyarakat Indonesia akan bahan bakar minyak (BBM) sangat tinggi. Namun kenyataannya, produksi minyak bumi akan turun setiap tahunnya. Dalam mengatasi masalah itu, banyaknya terobosan baru untuk mencari energi yang nantinya dapat menggantikan BBM. Salah satu bahan alternatif yang sudah tidak asing lagi ditelinga ialah bioetanol yang sifatnya ramah lingkungan dan *renewable*. Bioetanol memiliki kandungan oksigen yang lebih tinggi (35%) sehingga terbakar sempurna, bernilai oktan lebih tinggi (118) serta mengandung emisi gas CO rendah 19-25% yang membuat sifatnya lebih ramah lingkungan (Ida, 2011). Bioetanol

yang dihasilkan dari biomassa seperti jerami, pelepah sawit, tandan kosong sawit dan sebagainya (yang mengandung karbohidrat, pati, glukosa) melalui proses fermentasi.

Dari sisi sumber daya alam Indonesia, negara kita termasuk suatu negara penghasil buah sawit terbesar di dunia, bahkan provinsi Riau menjadi salah satu provinsi di Indonesia yang sebagian besar lahannya ditumbuhi pohon sawit dengan luas lahan 1,61 juta hektar (Dinas Perkebunan Riau, 2010). Seiring semakin luasnya lahan perkebunan, maka semakin banyaknya industri pengolahan sawit yang mengakibatkan jumlah limbah yang dihasilkan juga besar. Limbah yang

biasanya dihasilkan adalah pelepah, TKS, serabut, batang, dan sebagainya. Limbah yang paling besar jumlahnya dalam industri adalah serabut sawit. Serabut memiliki komposisi kimia yang disajikan dalam Tabel 1.1

Tabel 1.1 Komposisi Kimia Limbah Padat Sawit (Padil, 2009)

Parameter	Hasil Uji Limbah Sawit(%)			
	Serabut	TKS	Pelepah	Batang
Lignin	29,02	19,41	19,87	17,74
Selulosa-a	27,49	34,26	34,89	35,92
Hemiselulosa	31,13	25,65	27,14	26,05

Dari parameter yang ada bahwa selulosa dapat dikonversi dengan hidrolisis asam sulfat menjadi glukosa yang akan dimanfaatkan oleh mikroorganismenya untuk dijadikan bioetanol.

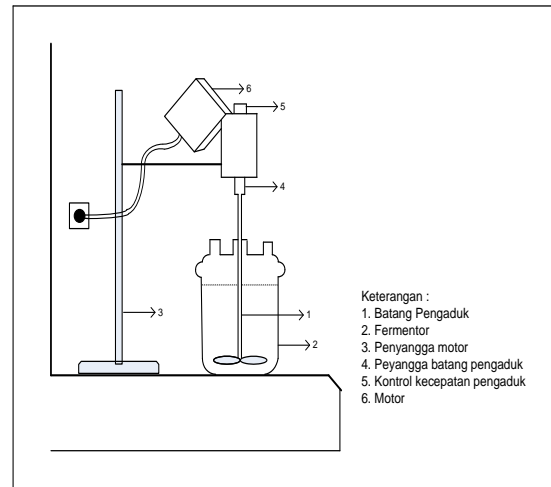
Pemanfaatan serabut sawit selama ini masih belum optimal. Serabut sawit hanya dijadikan sebagai pakan ternak, umpan, pembakaran unggas, pupuk kompos yang pemanfaatannya belum cukup optimal. Serabut sawit berpotensi dimanfaatkan kembali sebagai bioetanol yang lebih bermanfaat bagi masyarakat maupun industri. Tujuan yang ingin dicapai dari penelitian ini adalah untuk menentukan pengaruh waktu inokulasi inokulum dan juga mendapatkan konsentrasi optimum etanol dalam pembuatan bioetanol dari limbah serabut buah sawit.

II. Metode Penelitian

2.1 Alat yang Digunakan

Alat - alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah bioreaktor (2L), autoclave, motor pengaduk, spektrofotometer, labu didih leher 3, shaker, vortex mixer, water bath, rotary evaporator, oven, mantel pemanas, kondensor, tabung reaksi, alkoholmeter, termometer, pH meter. Rangkaian alat

untuk proses fermentasi dapat dilihat pada Gambar 2.1



Gambar 2.1 Rangkaian Alat Fermentasi

2.2 Bahan yang Digunakan

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah serabut sawit, abu TKS ukuran 100 mesh, hidrogen peroksida (H_2O_2 3%), *Saccharomyces cerevisiae*, akuades, H_2SO_4 2M dan pekat (96%), Antron, glukosa anhidrat, KH_2PO_4 , $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, $(NH_4)_2SO_4$.

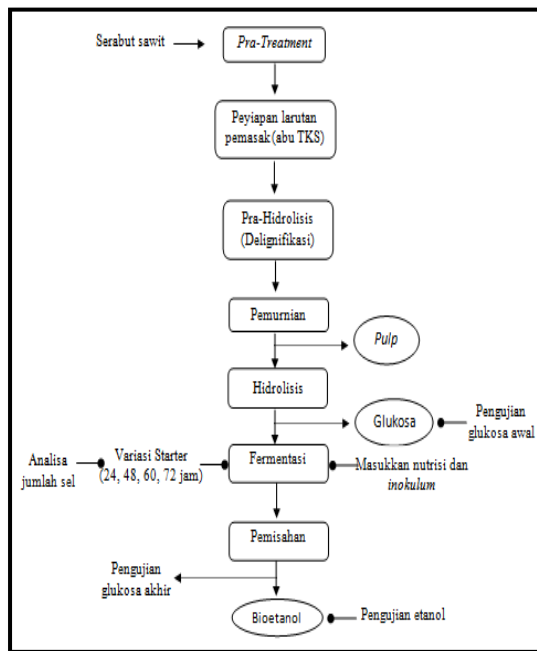
2.3 Variabel Penelitian

Variabel tetap pada penelitian ini adalah ukuran serabut sawit 0,2-0,5 cm, ukuran abu TKS 1:4 (Padil, 2011), pengadukan 200 rpm (Jenova, 2011), volume fermentasi 2L, waktu fermentasi selama 108 jam (4,5 hari), kondisi operasi (konsentrasi hidrogen peroksida, asam sulfat, nutrisi, yeast, nisbah larutan padatan, pH dan suhu). Sampel diambil dalam waktu 12, 24, 48, 72, 96 dan 108 jam. Variabel berubah pada penelitian ini adalah waktu inokulasi inokulum yaitu 24; 48; 60; dan 72 jam.

2.4 Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan ini merupakan tahapan prosedural dalam melakukan penelitian. Tahapan proses dimulai dari perlakuan awal (*pra-treatment*), delignifikasi dan pemurnian, hidrolisis, dan fermentasi. Dilakukan juga tahapan analisa, seperti analisa jumlah sel, analisa

glukosa dan analisa etanol menggunakan alkoholmeter. Berikut adalah rangkaian kegiatan yang disajikan dalam bentuk bagan proses.



Gambar 2.2 Prosedur Penelitian dalam Pembuatan Bioetanol

2.5 Prosedur Penelitian

2.5.1 Pra-Treatment

Serabut sawit dibersihkan dari material yang mengikat atau menempel seperti pasir, abu, daun-daun kering, kemudian dicuci bersih. Kemudian, keringkan bahan selama 2 hari sampai serabut benar-benar kering dan lakukan pengecilan ukuran dengan cara menggunting menjadi ukuran yang lebih kecil (0,2 – 0,5 cm). Lalu keringkan bahan untuk mencapai kadar air <10% di dalam oven dengan suhu 70°C pada interval waktu pengeringan 10 menit.

2.5.2 Penyiapan Larutan Pemasak

Larutan pemasak yang digunakan untuk pemurnian tahap awal dari serabut sawit adalah ekstrak abu TKS. Abu TKS didapat dari hasil pembakaran tandan kosong sawit dalam *incenerator* pada pabrik CPO. Untuk memperoleh larutan pemasak dilakukan beberapa tahapan. Pada tahap awal abu TKS disaring menggunakan saringan berukuran 100

mesh. Abu yang tersaring kemudian ditambahkan air dengan perbandingan massa abu dan air 1 : 4. Larutan diaduk selama 15 menit, selanjutnya didiamkan selama 48 jam hingga semua abu terendapkan. Larutan hasil ekstrak diperoleh dengan memisahkan endapan abu dari larutan, kemudian larutan tersebut disiapkan sebagai larutan pemasak (Padil, 2011). Proses pembuatan larutan ekstrak abu TKS akan menghasilkan larutan ekstrak abu TKS dengan pH 13.

2.5.3 Pra-Hidrolisis (Delignifikasi)

Delignifikasi bertujuan untuk mengurangi kadar lignin yang ada dalam bahan, yang notabene lignin merupakan struktur yang dapat mengganggu dalam proses hidrolisa untuk mendapatkan glukosa. Proses ini dilakukan dengan memasak serabut sawit sebanyak 100 gram dengan abu TKS yang telah dipersiapkan dengan ratio 1:10 selama 1,5 jam pada suhu 100°C. Setelah waktu operasi selesai, bahan dibilas dengan akuades hangat (suhu sekitar 50-60 °C). Serabut dibilas dengan akuades hangat sampai air cucian tidak berwarna coklat pekat. Hasilnya berupa serat yang masih kasar dan dikeringkan serta disimpan pada desikator untuk memperoleh total bahan baku yang cukup untuk tahapan proses berikutnya (Harpendi, 2013).

2.5.4 Proses Pemurnian

Proses ini bertujuan untuk menghilangkan lignin yang masih ada atau meningkatkan kadar selulosa. Hasil padatan dari delignifikasi dimasak kembali dengan larutan H₂O₂ 3% selama 1 jam dengan suhu 50-60 °C dengan ratio 1:5, karena bila diatas suhu itu akan memperbanyak komposisi lignin (Padil, 2011). Hasil yang telah diperoleh dari pemurnian kemudian dikeringkan. Hasil dari proses ini berupa *pulp* kasar yang akan dihidrolisa.

2.5.5 Proses Hidrolisis

Proses berikutnya adalah proses hidrolisis yang bertujuan untuk mendapatkan glukosa dari selulosa dan

hemiselulosa menggunakan asam sulfat (H_2SO_4 2 M) (Kardono, 2010) dengan ratio 1: 40. Padatan hasil pemurnian sebanyak \pm 100 gram dimasak menggunakan H_2SO_4 2M dalam volume 2L. Masukkan kedalam labu hidrolisis dan proses dilakukan pada suhu $100^\circ C$ selama kurang lebih 3 jam. Saring larutan hasil hidrolisis dan filtrat diambil untuk dianalisis kadar glukosa awal dengan spektrofotometer (Siswati, 2010).

2.5.6 Proses Inokulum

Proses penyiapan inokulum dilakukan dengan mensterilisasikan bahan nutrisi terlebih dahulu seperti; $(NH_4)_2PO_4$ 0,02 gram, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,02 gram, KH_2PO_4 0,02 gram, dan substrat glukosa hasil hidrolisis dengan konsentrasi 10% dari total volume fermentasi 2 L. Kemudian Sterilkan dalam autoklaf pada suhu $121^\circ C$ selama 15 menit. Dinginkan hingga suhu ruang, lalu masukkan *yeast* 0,2 gram, kemudian inokulasi dengan mengambil 10% dari total volume hasil hidrolisa yang akan difermentasikan dengan variabel waktu inokulasinya ialah 24, 48, 60, dan 72 jam dengan kondisi suhu ruangan (Salmi, 2012).

2.5.7 Persiapan Medium Fermentasi

Proses dimulai dengan memasukkan nutrisi-nutrisi seperti $(NH_4)_2PO_4$ 0,18 gram, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,18 gram, KH_2PO_4 0,18 gram, dan substrat glukosa sebanyak 1,8 L ke dalam bioreaktor 2 L, dan dilakukan proses sterilisasi dengan autoklaf pada kondisi yang sama sebelumnya. Setelah itu didinginkan hingga mencapai suhu ruang, yang merupakan kondisi suhu *yeast* untuk dapat hidup.

2.5.8 Proses Fermentasi

Tahap fermentasi bertujuan untuk mendapatkan bioetanol dengan bantuan *yeast*. Bila sudah sesuai dengan kondisi suhunya dan pH sekitar 4,5 pada medium fermentasi. maka inokulum yang telah dipersiapkan sebelumnya dimasukkan ke dalam reaktor yang sesuai dengan variasi

waktunya. Lalu merangkai alat fermentasi sesuai dengan Gambar 2.1 di atas, pada kecepatan pengadukan 200 rpm dengan menggunakan jenis pengaduk turbin dalam kondisi anaerob, dan waktu pengambilan setiap sampel ialah 12, 24, 48, 72, 96, dan 108 jam pada suhu kamar. Sampel diambil sebanyak 150 ml dengan menggunakan pipet volum. Kemudian hasil dipanaskan di *waterbath* untuk menghentikan reaksi yang terjadi di dalamnya agar mikroorganisme mati. Lalu sebanyak 10 ml diambil untuk pengujian glukosa akhir, dan sisanya dilakukan untuk pemisahan dalam *rotary vakum evaporator*.

2.5.9 Proses Pemisahan

Rotary vakum evaporator adalah instrumen yang menggunakan prinsip destilasi (pemisahan). Prinsip utama *rotary evaporator* yaitu terletak pada penurunan tekanan sehingga pelarut dapat menguap pada suhu di bawah titik dididahnya. Proses ini dilakukan dengan memasukkan sampel kedalam labu sampel sebanyak 130 ml dan diatur suhunya $70^\circ C$. Lalu setelah labu pengumpul terisi kurang lebih 100 ml, hasil lalu diuji dengan alkoholmeter untuk menentukan konsentrasi etanol yang dihasilkan (Sutari, 2013).

III. Hasil dan Pembahasan

3.1 Proses Hidrolisis Secara Kimiawi

Hidrolisis dilakukan menggunakan bahan kimia yaitu asam sulfat untuk memperoleh glukosa yang akan dijadikan sebagai sumber substrat dalam media fermentasi yang mampu diubah menjadi bioetanol oleh mikroorganisme dengan kondisi yang sesuai. Hasil hidrolisis serabut berupa larutan glukosa yang dianalisa konsentrasinya menggunakan reagen antron dengan alat spektrofotometer melalui sinar tampak yaitu dengan pengukuran absorbansi glukosa pada $\lambda = 545$ nm yang telah ditentukan sebelumnya. Hasil konsentrasi

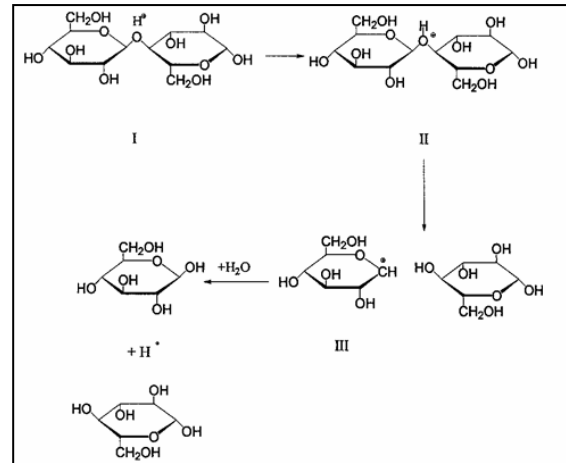
glukosa awal proses hidrolisis dapat dilihat pada tabel di bawah ini.

Tabel 3.1 Konsentrasi Glukosa Awal Serabut Sawit

Variasi Inokulasi (Jam)	Konsentrasi Glukosa (gr/L)	Konsentrasi Glukosa Rata-rata (gr/L)
24	94,540	
48	93,520	
60	95,561	93,954
72	92,193	

Serabut sawit dari hasil proses delignifikasi dan pemurnian selanjutnya dilakukan proses hidrolisis untuk mengubah selulosa menjadi glukosa dengan bantuan asam sulfat dengan konsentrasi 2M dan lamanya waktu hidrolisa yaitu 3 jam dengan temperatur proses 100°C (Fitirani, 2013).

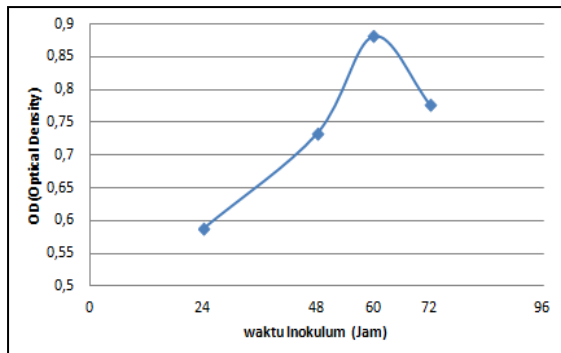
Glukosa yang diperoleh merupakan hasil reaksi yang terjadi antara asam sulfat dengan selulosa. Mekanisme yang terjadi yaitu proton dari asam akan berinteraksi secara cepat dengan ikatan glikosidik oksigen pada dua unit gula sehingga akan membentuk asam konjugasi. Keberadaan asam konjugasi menyebabkan 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 berikatan dengan ion karbonium sehingga membebaskan gula dan proton. Proton yang terbentuk akan berinteraksi secara cepat dengan ikatan glikosidik oksigen pada dua unit gula yang lain. Proses tersebut terjadi secara kontinu sampai semua molekul selulosa terhidrolisis menjadi glukosa (Minarni, 2013). Reaksi umum yang terjadi seperti reaksi yang ada di bawah ini.



Gambar 3.1 Mekanisme Reaksi Hidrolisis Selulosa Pada Serabut Sawit

3.2 Pengaruh Waktu Inokulasi Terhadap Pertumbuhan Sel Inokulum

Pertumbuhan dapat diamati dari meningkatnya jumlah sel atau massa sel. Pada umumnya mikroorganisme akan memperbanyak diri dengan cara pembelahan biner, yaitu pembelahan satu sel menjadi dua sel baru. Pertumbuhan sel dapat diukur dengan bertambahnya jumlah sel. Waktu yang dibutuhkan untuk penggandaan tergantung pada kecepatan pertumbuhannya. Kecepatan pertumbuhan merupakan perubahan jumlah atau massa sel per unit waktu. Analisa ini dilakukan untuk pengukuran kuantitatif populasi mikroorganisme yang terdapat di dalam *yeast* inokulum dengan melihat nilai OD (*Optical Density*). Prinsip kerja dari spektrofotometer adalah analisis turbidometri, yaitu menganalisis konsentrasi suatu zat berdasarkan tingkat kekeruhannya yang dibandingkan dengan larutan blanko. Larutan blanko merupakan larutan pembanding yang tidak mengandung bahan yang akan di analisa. Analisis dilakukan dengan mengambil data absorbansi dengan panjang gelombang yang digunakan yaitu 600 nm (Rouhollah, 2007). Panjang gelombang ini digunakan untuk menganalisis konsentrasi sel. Setelah dilakukan pengujian, diperoleh nilai OD untuk *yeast* inokulum *Saccaromyces cerevisiae* pada gambar dibawah ini:

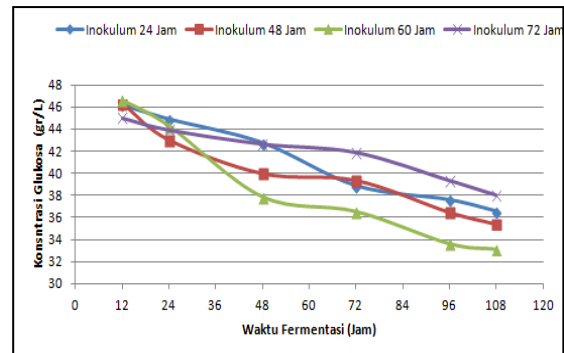


Gambar 3.2 Nilai OD Terhadap Waktu Inokulasi

Pada Gambar 3.2 di atas menunjukkan bahwa pengaruh waktu inokulum sangat berperan dalam pertumbuhan sel mikroorganismenya dan akan lebih memudahkan dalam percepatan fase lag atau fase adaptasinya. Hasil dari analisa jumlah sel dapat dilihat dari nilai OD (*Optical Density*) dari sisi kekeruhan larutannya. Nilai OD yang paling tertinggi terjadi pada waktu inokulum 60 jam dengan nilai OD nya 0,882 meyakini bahwa jumlah sel atau pertumbuhan sel terjadi paling banyak pada variasi ini. Hal ini juga akan berpengaruh pada hasil etanol yang akan diperoleh pada proses fermentasi. Nilai ini memenuhi syarat nilai OD untuk proses fermentasi yang berkisar antara 0,1-0,8 (Rouhollah, 2007).

3.3 Pengaruh Waktu Inokulasi Terhadap Konsentrasi Glukosa

Pada penelitian ini serabut sawit digunakan sebagai substrat atau medium fermentasi dan *Saccharomyces cerevisiae* adalah mikroorganisme yang digunakan untuk mengubah glukosa menjadi bioetanol. Konsentrasi sisa glukosa reduksi di dalam media menunjukkan bahwa pengaruh lama fermentasi dan konsentrasi glukosa reduksi awal berpengaruh nyata terhadap konsentrasi sisa glukosa reduksi pada akhir fermentasi. Gambar 4.3 di bawah ini menunjukkan konsentrasi glukosa akhir hasil fermentasi.



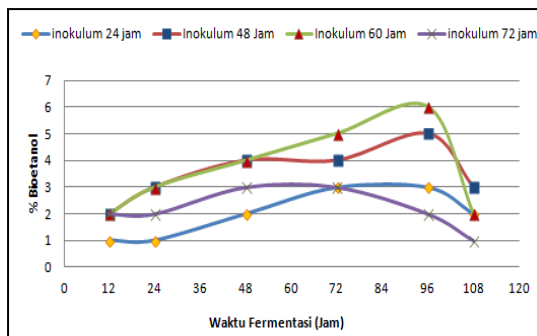
Gambar 3.3 Hubungan Konsentrasi Glukosa Terhadap Waktu Inokulasi Fermentasi

Dari gambar 4.3 dapat dilihat bahwa konsentrasi glukosa akhir mengalami penurunan seiring dengan lamanya waktu fermentasi. Hal ini menunjukkan bahwa selulosa yang sudah diubah menjadi glukosa dikonversi oleh *Saccharomyces cerevisiae* menjadi bioetanol. Aktivitas mikroorganisme tersebut membuktikan bahwa *Saccharomyces cerevisiae* yang mengubah selulosa menjadi glukosa bekerja dengan baik. Hal ini juga menunjukkan bahwa aktivitas pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* berjalan dengan baik, mulai dari fase adaptasi, pertumbuhan hingga kematian. Terlihat pada gambar diatas pada hari ke 4 atau fermentasi ke 96 jam, jumlah glukosa yang terkonversi lebih banyak yang menyebabkan fase pertumbuhan untuk memecah glukosa secara besar-besaran terjadi pada waktu ini. Sedangkan pada waktu ke 108 jam glukosa sisa terkonversi sudah mulai sedikit, karena fase kematian sel sudah terjadi pada waktu ini dan sel tidak dapat mengubah glukosa lebih banyak lagi.

Dari Gambar 4.3 terlihat bahwa glukosa akhir memiliki konsentrasi yang bervariasi. Adanya variasi konsentrasi glukosa akhir pada akhir fermentasi kemungkinan disebabkan adanya variasi konsentrasi glukosa awal. Aktivitas mikroorganisme selama fermentasi yang memecah polisakarida menjadi gula-gula sederhana yang menyebabkan variasi konsentrasi glukosa akhir (Wignyanto, 2011).

3.4 Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Bioetanol Yang Dihasilkan

Bioetanol yang dihasilkan dari proses SHF membutuhkan waktu fermentasi yang bervariasi. Waktu fermentasi adalah waktu yang dibutuhkan mikroorganisme (*S.cerevisiae*) untuk mengubah glukosa menjadi bioetanol. Selama proses fermentasi, waktu fermentasi adalah bagian yang memiliki peranan penting untuk mendukung akan pengaruh konsentrasi bioetanol yang dihasilkan. Pengaruh waktu fermentasi terhadap konsentrasi bioetanol yang dihasilkan dapat dilihat pada Gambar 3.4



Gambar 3.4 Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Konsentrasi Bioetanol

Dari Gambar 4.4 dapat dilihat bahwa semakin lama waktu fermentasi maka semakin tinggi konsentrasi bioetanol yang dihasilkan. Jika bioetanol yang terkandung di dalam substrat tinggi, maka bioetanol bisa bersifat racun untuk *Saccharomyces cerevisiae*. Oleh karena itu dibutuhkan waktu fermentasi yang tepat untuk proses fermentasi bioetanol agar didapatkan konsentrasi bioetanol yang tinggi (Nuryanti, 2014). Pada penelitian ini dilakukannya fermentasi selama 108 jam (4,5 hari) dengan waktu pengambilan sampel sebanyak 6 kali yaitu 12, 24, 48, 72, 96 dan 108 jam pada variasi inokulum dengan tujuan untuk mengetahui dan memperoleh data pengaruh waktu fermentasi terhadap kadar bioetanol yang dihasilkan serta waktu fermentasi optimum serabut sawit dengan proses SHF dengan bantuan *Saccharomyces cerevisiae*. Pada

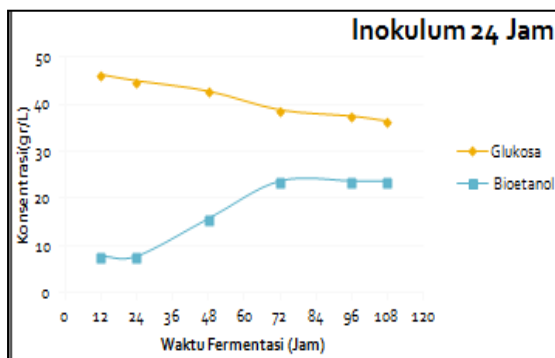
penelitian ini, waktu fermentasi optimum terjadi pada waktu inokulasi 60 jam dengan waktu fermentasi 96 jam atau pada hari ke 4 mendapatkan konsentrasi 6 % (v/v). Pada waktu fermentasi ke 108 jam pada variasi inokulasi 48, 60 dan 72 jam konsentrasi bioetanol mengalami penurunan, karena produk terkonversi menjadi asam organik yang disebabkan oleh kontaminasi mikroorganisme yang tidak diinginkan (Jenova, 2011) dan juga setelah kondisi optimum tercapai dan proses fermentasi tetap dilanjutkan maka etanol yang dihasilkan cenderung mengalami penurunan, hal ini disebabkan karena glukosa yang terkonversi menjadi produk oleh mikroorganisme semakin sedikit dan mendekati habis sehingga mikroba kehabisan nutrisi untuk bertahan hidup dan mengalami fase kematian. Kemungkinan lainnya akumulasi produk bioetanol yang dapat menghambat pertumbuhan *yeast*. Bioetanol dapat bersifat racun terhadap mikroorganisme, sehingga dengan terbentuknya produk berupa bioetanol akan mengakibatkan produktivitas menurun (Amalia, 2014).

Menurut Minarni (2013) menyatakan bahwa lama fermentasi yang paling optimal untuk proses pembuatan bioetanol adalah 4 hari. Jika fermentasi dilakukan lebih dari 4 hari, justru kadar alkoholnya dapat berkurang. Berkurangnya kadar etanol disebabkan karena alkohol telah terkonversi menjadi senyawa lain misalnya ester. Menurut Kunaeph (2008) semakin lama waktu fermentasi maka jumlah mikroorganisme semakin menurun dan akan menuju fase kematian karena alkohol yang dihasilkan semakin banyak dan nutrient yang ada sebagai makanan mikroba semakin menurun. Penimbunan berkonsentrasi tinggi hasil metabolisme *Saccharomyces cerevisiae* ini menghambat pertumbuhan dan menyebabkan kematian pada sel *Saccharomyces cerevisiae* (Wignyanto, 2001). Menurut Elevri (2006), penurunan etanol pada glukosa berlebih atau konsentrasi glukosa terlalu tinggi atau konsentrasi media terlalu pekat

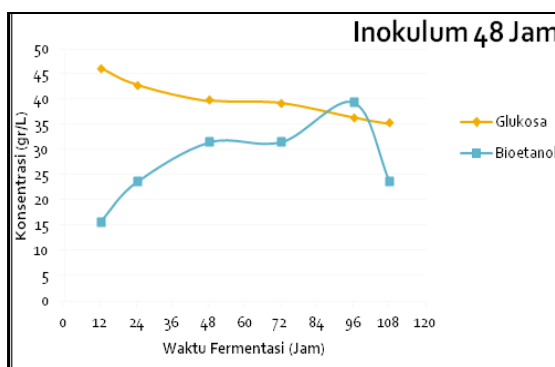
berakibat mengganggu metabolisme sehingga menghambat pembelahan sel selanjutnya dan berpengaruh terhadap etanol yang dihasilkan dan juga sebagai efek inhibisi substrat dan produk yang akan mengurangi jumlah oksigen terlarut (Judoamidjoyo, 1990).

3.5 Hubungan Konsentrasi Glukosa Terhadap Bioetanol

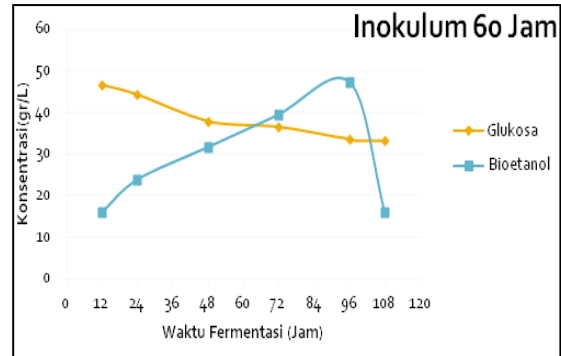
Konsentrasi glukosa sisa berelasi dengan konsentrasi bioetanol yang diperoleh. Hasil glukosa akan membawa pengaruh terhadap bioetanol, yang mana akan di gambarkan atau dijelaskan melalui Gambar 3.5 di bawah ini, yang menunjukkan adanya hubungan antara konsentrasi glukosa dan konsentrasi bioetanol terhadap waktu fermentasi.



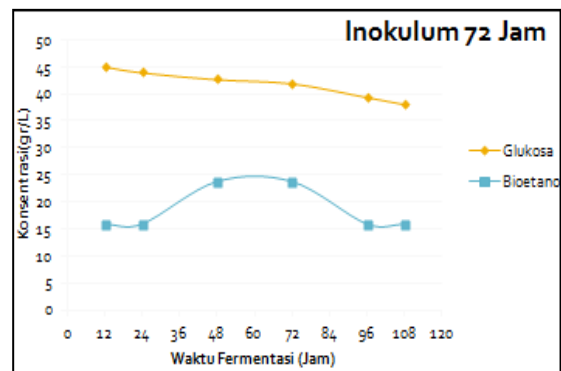
(a)



(b)



(c)



(d)

Gambar 3.5 Hubungan Konsentrasi Glukosa Sisa dan Bioetanol Terhadap Waktu Fermentasi

Gambar di atas menunjukkan bahwa seiring berjalan waktu fermentasi, konsentrasi glukosa sisa akan mengalami penurunan dikarenakan efektifitas mikroorganisme dalam mendegradasi substrat semakin meningkat yang menyebabkan terjadinya penurunan konsentrasi glukosa, sebaliknya konsentrasi bioetanol yang dihasilkan semakin meningkat karena akibat degradasi mikroorganisme terhadap substrat untuk dijadikan produk bioetanol (Jenova, 2011).

Berdasarkan gambar di atas juga, pengaruh variasi inokulum terhadap hubungan konsentrasi glukosa dan konsentrasi bioetanol begitu mempengaruhi. Variasi inokulum yang paling optimal dalam degradasi substrat dan menghasilkan konsentrasi bioetanol yang terbaik terjadi pada waktu inokulum 60 jam diperoleh 33,64 gr/L untuk glukosa sisa dan 47,34 gr/L untuk konsentrasi

bioetanolnya. Dibanding waktu inokulum 24 jam, 48 jam dan 72 jam memperoleh glukosa sisa yaitu 37,57 gr/L, 36,50 gr/L dan 39 gr/L. Glukosa yang dihasilkan pada waktu inokulum 60 jam lebih rendah dibanding yang lainnya, dikarenakan saat itu proses pemecahan glukosa lebih banyak dibanding waktu inokulum lainnya dalam memproduksi bioetanol. Begitu juga dengan hasil dari konsentrasi bioetanol yang diperoleh saat sudah dipisahkan dari *rotary evaporator* akan saling berhubungan, karena diharapkan saat terjadi pemecahan glukosa yang besar akan mendapatkan konsentrasi bioetanol yang lebih tinggi, karena konsentrasi bioetanol dipengaruhi oleh 3 faktor utama yaitu inokulum, substrat, dan waktu fermentasi (Amalia, 2014).

IV. KESIMPULAN DAN SARAN

4.1 Kesimpulan

Pengaruh waktu inokulum pada waktu 60 hari memberikan hasil yang terbaik terhadap jumlah sel dengan OD 0,882 yang membuat hasil bioetanol dari glukosa hasil hidrolisis serabut sawit menghasilkan konsentrasi etanol paling tinggi yaitu 6 v/v (47,34 mg/ml) waktu fermentasi 96 jam.

4.2 Saran

Penelitian ini masih menghasilkan nilai etanol yang masih terbilang kecil, diharapkan untuk proses perlakuan awal saat pencacahan adanya alat yang dapat menghaluskan serabut seperti tepung, supaya saat proses hidrolisis bahan larut untuk menghasilkan glukosa. Hal itu akan membawa dampak pada hasil fermentasi agar mencapai nilai etanol semaksimal mungkin.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada bapak Prof. Dr. Adrianto Ahmad, MT dan Ibu Sri Rezeki Mulia, ST., M.Sc selaku pembimbing penelitian yang telah mengarahkan dan membimbing penulis

selama penelitian ini. Terima kasih kepada kedua orang tua dan keluarga yang telah memberikan dukungan dan motivasi selama ini. Terima kasih kepada rekan-rekan Teknik Kimia Angkatan 2010 yang telah banyak membantu penulis dalam skripsi ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Amalia, Y., 2014, Pembuatan Bioetanol Dari Limbah Padat Sagu Menggunakan Enzim Selulase Dan *Yeast Saccharomyces Cerevisiae* Dengan Proses *Simultaneous Sacharification And Fermentation* (Ssf) Dengan Variasi Konsentrasi Substrat Dan Volume Inokulum, *Skripsi*, Universitas Riau, Pekanbaru
- Dinas Perkebunan Riau, 2010, Perkebunan Sawit Di Riau, <http://perkebunan-sawit-di-riau>, Viewed: 26 Oktober 2012
- Fardiaz, 1986, Mikrobiologi Pangan I, Gramedia Pustaka Utama, Jakarta
- Fitriani, 2013, Produksi Bioetanol Tongkol Jagung (*Zea Mays*) dari Hasil Proses Delignifikasi, MIPA KIMIA, Universitas Tadulaku
- Harpendi, R, 2013, Proses Bleaching Pelepah Sawit dengan Variasi pH dan Konsentrasi H₂O₂ Sebagai Bahan Baku Nitroselulosa, Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Riau, Kampus Bina Widya, Pekanbaru
- Hosokawa, J. Matsuo, R.Kamishima, H.Dhamatsu, I. Bin Husin, M. Bin Miswan dan O.Ramli, R.O., 1989, *Chemithermomechanical Pulping of Oil Palm*
- Jenova, F., Chairul dan Hafidawati, 2011, Fermentasi Nira Nipah (*Nypa Fruticans Wurmb*) Menjadi Bioetanol Menggunakan Khamir *Pichia Stipitis* Dalam Bioflo 2000 Fermentor, Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Riau, Kampus Bina Widya, Pekanbaru

- Jati, 2011, Pembuatan Kertas dari Serabut Sawit, <http://ments/pembuatan-kertas-dari-serabut-sawit.html>, [viewed: 22 Oktober 2012]
- Kardono, L.B.S., 2010, Teknologi Pembuatan Etanol Berbasis Lignoselulosa Tumbuhan Tropis Untuk Produksi Biogasoline, LIPI, Serpong
- Kasnawati, Penggunaan Limbah Sabut Kelapa Sawit Sebagai Bahan Untuk Mengolah Limbah Cair, ILTEK, Vol.6, No.12, 891-893, Oktober 2011
- Kavanagh, Kevin, 2005, *Fungi Biology and Applications*, John Willey & Sons Ltd, England.
- Kunaeph, U, 2008, Pengaruh lama konsentrasi dan konsentrasi glukosa terhadap aktivitas antibakteri, polifenol total dan mutu kimia kefir susu kacang merah, <http://pdfsearchpro.com/pengaruhlamafermentasidankonsentrasi-glukosaterhadap.html>, diakses pada 7 Juni 2014.
- Lembaga Riset Perkebunan Indonesia, 2007, Warta penelitian dan pengembangan penelitian Vol. 29 No.2, Bogor
- Minarni, N., B. Ismuyanto., dan Sutrisno, 2013, Pembuatan Bioetanol Dengan Bantuan *Saccharomyces Cerevisiae* Dari Glukosa Hasil Hidrolisis Biji Durian (*Durio Zhibetinus*), Vol. 1, No. 1, pp. 36-42 *Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang.*
- Padil dan Yelmida A. 2009. *Produksi Nitroselulosa Sebagai Bahan Baku Propelan yang Berbasis Limbah Padat Sawit*. Laporan Penelitian Hibah Penelitian Stranas Batch II. Universitas Riau; Pekanbaru
- Padil, Yelmida dan M. Candra, 2011, Optimasi Hidrolisis Tandan Kosong Sawit Dengan Ekstrak Abu Tks Menggunakan Rancangan Percobaan Response Surface Method, Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Riau, Kampus Bina Widya, Pekanbaru
- Rouhollah, H., I. Nahvi, G. Emtiaz, dan S. Abednivar, 2007, Mixed sugar fermentation by *Pichia stipitis*, *Sacharomyces cerevisiaea*, and an isolated xylosefermenting *Kluyveromyces marxianus* and their cocultures, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran
- Salmi, H., 2012, Pengaruh Konsentrasi Substrat Terhadap Produksi Bioetanol Dari Reject Pulp Dengan Proses Sakarifikasi KO-Fermentasi Serentak (SKFS), Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Riau, Kampus Bina Widya, Pekanbaru
- Samsuri 2007, pemanfaatan sellulosa bagas untuk produksi etanol melalui sakarifikasi dan fermentasi serentak dengan enzim xylanase, Fakultas Teknik Universitas Indonesia, Depok
- Saragih, 2013, Pembuatan Nitroselulosa Dari Selulosa Hasil Pemurnian Pelepah Sawit Dengan Hidrogen Peroksida (H₂O₂) Sebagai Bahan Baku Propelan, Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Riau, Kampus Bina Widya, Pekanbaru
- Sari, I.M., Noverita dan Yulneriwarni, 2008, Pemanfaatan Jerami Padi dan Alang-Alang dalam Fermentasi Etanol Menggunakan Kapang *Trichoderma viride* dan Khamir *Saccharomyces cerevisiae*, Fakultas Biologi Universitas Nasional, Jakarta
- Siswati, N.D., M. Yatim, dan R. Hidayanto, 2010, Bioetanol Dari Limbah Kulit Kopi Dengan Proses Fermentasi, Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Jawa Timur

- Sutari, D., 2013, Prinsip Kerja *Rotary Evaporator*, [http:// rotary evaporator.htm](http://rotaryevaporator.htm), [viewed : 10 Mei 2014]
- Wahyudi, B., 2002, Pembuatan Etanol Dari Serabut Buah Siwalan Dengan Proses Hidrolisis Fermentasi, UPN Veteran, Jawa Timur
- Wignyanto, 2001, Pengaruh Konsentrasi Gula Reduksi Sari Hati Nanas Dan Inokulum *Saccharomyces cerevisiae* Pada Fermentasi Etanol, fakultas MIPA, Universitas Brawijaya, malang
- Zulfieni, W.Y., 2011, Proses *Cooking* Pelepah Sawit Menggunakan Larutan Pemasak dari Ekstrak Abu TKS untuk Meningkatkan Kadar *a*-Selulosa , Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Riau, Kampus Bina Widya, Pekanbaru