

Pengaruh Perlakuan Awal terhadap Karakteristik Bioetanol dari Limbah Kulit Singkong Karet (*Manihot glaziovii*)

*The Effect of Pretreatment on Bioethanol Characteristics from Rubber Cassava Peel Waste (*Manihot glaziovii*)*

Reni Yuniarti*, Arysca Wisnu Satria, Wandha Wiandini, Nabhila Zaezarini, Feerzet Achmad, Fauzi Yusupan

Program Studi Teknik Kimia, Institut Teknologi Sumatera, Lampung, 35365, Indonesia

*Email: reni.yuniarti@tk.itera.ac.id

Article history:

Diterima : 20 Juli 2023
Direvisi : 9 Oktober 2023
Disetujui : 15 November 2023
Mulai online : 23 Maret 2024

E-ISSN: 2337-4888

How to cite:

Reni Yuniarti, Arysca Wisnu Satria, Wandha Wiandini, Nabhila Zaezarini, Feerzet Achmad, Fauzi Yusupan. (2024). Pengaruh Perlakuan Awal terhadap Karakteristik Bioetanol dari Limbah Kulit Singkong Karet (*Manihot glaziovii*). Jurnal Teknik Kimia USU, 13(1), 1-8.

ABSTRAK

Limbah kulit singkong karet (*Manihot glaziovii*) memiliki kandungan karbohidrat yang tinggi, sehingga layak dikonversi menjadi bioetanol. Secara umum, proses pembuatan bioetanol terdiri dari empat proses, yaitu perlakuan awal, hidrolisis, fermentasi, dan pemurnian. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan perlakuan yang paling tepat, sehingga memperoleh bioetanol dengan karakteristik terbaik dari kulit singkong karet menggunakan tiga variasi perlakuan, yaitu proses perlakuan awal dengan variasi rasio pelarutan natrium hidroksida (NaOH) 0,5 M sebesar 1:10; 1:12,5; dan 1:15 (b/v), proses hidrolisis dengan variasi konsentrasi asam sulfat (H₂SO₄) sebesar 0,15 N; 0,30 N; dan 0,45 N, dan proses fermentasi dengan variasi waktu fermentasi selama 3 hari, 7 hari, dan 9 hari. Berdasarkan hasil penelitian, kadar glukosa tertinggi adalah 0,91% dengan variasi pelarutan NaOH 0,5 M 1:15 (b/v) pada proses perlakuan awal dan variasi konsentrasi H₂SO₄ 0,30 N pada proses hidrolisis, sedangkan hasil kadar etanol tertinggi sebesar 68,05% pada waktu fermentasi 7 hari.

Kata kunci: bioetanol, kulit singkong karet, perlakuan awal, hidrolisis, fermentasi

ABSTRACT

Rubber cassava peel waste (*Manihot glaziovii*) has a high carbohydrate content, so it is feasible to convert it into bioethanol. In general, bioethanol production consists of four steps, pretreatment, hydrolysis, fermentation, and purification. The purpose of this study was to determine the suitable treatment for obtaining bioethanol with the finest characteristics from rubber cassava peel using three treatment variations, the pretreatment process with variations in the dissolving ratio of sodium hydroxide (NaOH) 0.5 M of 1:10; 1:12.5; and 1:15 (w/v), the hydrolysis process with various concentrations of sulfuric acid (H₂SO₄) of 0.15 N; 0.30 N; and 0.45 N, and the fermentation process with variations in the fermentation time for 3 days, 7 days, and 9 days. Based on the research results, the highest glucose content was 0.91%, with variations in dissolving NaOH 0.5 M 1:15 (w/v) in the pretreatment process and variations in the concentration of 0.30 N H₂SO₄ in the hydrolysis process, while the highest ethanol content was 68.05% at a fermentation time of 7 days.

Keyword: bioethanol, rubber cassava peel, pretreatment, hydrolysis, fermentation



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International.
<https://doi.org/10.32734/jtk.v13i1.13174>

1. Pendahuluan

Pertambahan populasi manusia sekarang ini merupakan salah satu penyebab meningkatnya kebutuhan energi bagi kehidupan sehari-hari. Ketergantungan terhadap energi fosil di Indonesia, terutama minyak bumi, untuk memenuhi kebutuhan energi masih terbilang tinggi, sementara itu jumlah cadangan energi tidak terbarukan ini semakin terbatas dan diperkirakan akan habis dalam 13 tahun mendatang [1]. Selain itu, penggunaan energi fosil secara terus menerus dapat menimbulkan pencemaran lingkungan [2]. Solusi untuk menyelesaikan masalah tersebut adalah dengan upaya pemanfaatan sumber energi alternatif terbarukan untuk dijadikan sebagai bahan bakar, salah satunya seperti bioetanol [1, 2]. Salah satu keuntungan penggunaan bioetanol adalah mengurangi emisi polusi dari 80% - 90% hingga menjadi 40% - 60% [3].

Produsen bioetanol terbesar saat ini adalah negara Amerika Serikat dan Brasil yang memiliki jumlah produksi masing-masing sebesar 62,2% dan 15,5% dari total produksi dunia dengan menggunakan tebu dan biji jagung sebagai bahan baku utamanya [4]. Selain tebu dan biji jagung, bioetanol dapat dihasilkan dari proses pengolahan biomassa lignoselulosa yang terdiri dari hemiselulosa, selulosa, dan lignin. Ketiga polisakarida ini akan dihidrolisis menjadi gula, kemudian dilakukan fermentasi menggunakan enzim oleh mikroorganisme spesifik menjadi etanol [2, 4].

Salah satu contoh biomassa lignoselulosa adalah singkong. Namun, penggunaan singkong sebagai bahan baku produksi bioetanol dinilai kurang efektif karena umbi singkong merupakan sumber pangan penting, terutama di negara-negara tropis sebagai penghasil singkong seperti Indonesia. Adanya peningkatan produksi bioetanol menggunakan umbi singkong berakibat pada kenaikan harga pangan [5], sehingga penggunaan limbah kulit singkong sebagai alternatif sumber bahan baku bioetanol dinilai lebih efektif dan ekonomis. Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah limbah kulit singkong karet (*Manihot glaziovii*) karena kulit singkong mengandung banyak pati (36,58%), 10,38% hemiselulosa, 43,63% selulosa, dan 7,65% lignin [6]. Selain dari kandungannya, pemanfaatan limbah kulit singkong sebagai bahan baku produksi bioetanol dinilai dapat mengurangi pencemaran lingkungan yang terjadi karena sebanyak 14 juta ton limbah kulit singkong terbuang sia-sia sepanjang tahun [4].

Tahapan proses produksi bioetanol tergantung pada jenis bahan baku yang digunakan. Bahan baku yang memiliki kadar gula tinggi akan difermentasi secara langsung menjadi alkohol, sedangkan bahan baku dengan kadar pati yang tinggi harus melalui serangkaian tahapan proses, yaitu perlakuan awal, hidrolisis, fermentasi, dan pemurnian. Pemanfaatan limbah kulit singkong karet (*Manihot glaziovii*) menjadi bioetanol sangat jarang ditemui, namun beberapa penelitian terdahulu lebih berfokus menggunakan umbi singkong karet sebagai bahan baku bioetanol. Bioetanol yang dihasilkan dari umbi singkong karet melalui proses hidrolisis enzimatis dan fermentasi selama 168 jam memiliki kadar etanol sebesar 94% [7]. Jika dilanjutkan dengan proses pemurnian menggunakan zeolit alam, maka kadar etanol yang dihasilkan dapat mencapai 99,73% [8]. Selain itu, terdapat juga beberapa penelitian yang berfokus membahas pemanfaatan kulit singkong sebagai bahan baku bioetanol. Kadar etanol yang dihasilkan dari kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz) melalui proses hidrolisis dengan natrium hidroksida (NaOH) 1 M selama 5 hari dan fermentasi adalah 60,2% [9]. Pada bioetanol dengan memanfaatkan kulit singkong (*Manihot esculenta*) melalui proses hidrolisis asam dan fermentasi dengan menggunakan 30% kapang selama 5 hari menghasilkan kadar etanol sebesar 8,09% [10]. Kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz) yang diolah melalui proses delignifikasi dengan NaOH 10% serta dilanjutkan dengan proses hidrolisis menggunakan asam klorida (HCl) 15% menghasilkan kadar glukosa sebesar 9,9% dan kadar etanol tertinggi sebesar 6% pada proses fermentasi selama 8 hari [2].

Kombinasi perlakuan awal (proses delignifikasi) yang dilanjutkan dengan proses hidrolisis asam dan fermentasi merupakan salah satu cara untuk meningkatkan kadar etanol yang diperoleh dari biomassa lignoselulosa dengan kadar lignin tinggi. Adanya perlakuan awal dengan penambahan larutan NaOH mampu mereduksi hemiselulosa dan lignin, serta dapat menyebabkan pembesaran struktur selulosa, sehingga selulosa yang terikat pada jaringan dapat dibebaskan dan dapat terdegradasi dengan mudah saat proses hidrolisis, kemudian dilanjutkan dengan proses hidrolisis menggunakan asam. Hidrolisis asam dipilih karena waktu yang diperlukan dalam memecahkan polisakarida menjadi monomer gula penyusunnya relatif singkat dan glukosa yang dihasilkan cukup tinggi dibandingkan dengan proses enzimatis, sedangkan pada proses fermentasi mampu mengonversi glukosa menjadi etanol dengan bantuan mikroorganisme. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menentukan perlakuan yang paling tepat untuk memperoleh etanol dengan karakteristik terbaik dari limbah kulit singkong karet dengan tiga variasi perlakuan, yaitu proses perlakuan awal dengan variasi perbandingan pelarutan NaOH 0,5 M sebesar 1:10; 1:12,5; dan 1:15 (b/v), proses hidrolisis dengan variasi konsentrasi asam sulfat (H₂SO₄) sebesar 0,15 N; 0,30 N; dan 0,45 N, serta proses fermentasi dengan variasi waktu fermentasi selama 3 hari, 7 hari, dan 9 hari.

2. Metode

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah mesin *disc mill* FFC15, ayakan no.50 mesh *stainless steel*, neraca analitik merk Starco, *magnetic stirrer hotplate* model 79-1, oven listrik, *beaker glass*, erlenmeyer, labu ukur, botol *schoot*, gelas ukur, corong, pipet tetes, batang pengaduk, kertas saring, mortar dan alu, pH universal, botol sampel, rangkaian alat distilasi sederhana, rangkaian alat titrasi, dan spektrofotometer UV-Vis *Thermo Scientific Genesys 150*. Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit singkong karet (*Manihot glaziovii*) yang diperoleh dari Desa Karang Anyar, Kecamatan Wonosobo, Kabupaten Tanggamus, Provinsi Lampung. Selain itu, bahan pendukung dalam penelitian ini meliputi asam sulfat pro analisis (H_2SO_4 p.a), natrium hidroksida pro analisis (NaOH p.a), ragi (*Saccharomyces cerevisiae*), *aquadest*, larutan *Luff-Schoorl*, kalium iodida pro analisis (KI p.a), natrium tiosulfat pro analisis ($Na_2S_2O_3$ p.a), indikator amilum 1%, kalium dikromat pro analisis ($K_2Cr_2O_7$ p.a), dan etanol pro analisis (p.a).

Persiapan Bahan Baku

Sebanyak 4 kg kulit singkong karet dicuci hingga bersih menggunakan air mengalir dan dikeringkan pada temperatur 150 °C selama 2 jam. Selanjutnya, kulit singkong karet yang telah kering digiling dan diayak dengan ayakan 50 mesh.

Proses Perlakuan Awal

Kulit singkong karet yang telah diayak dimasukkan ke dalam botol *schoot* dan ditambahkan larutan natrium hidroksida (NaOH) 0,5 M dengan variasi perbandingan pelarutan 1:10; 1:12,5; dan 1:15 (b/v). Campuran tersebut dipanaskan pada temperatur 121 °C selama 60 menit. Kemudian, larutan hasil hidrolisis disaring menggunakan kertas saring. Residu hasil penyaringan dicuci dengan *aquadest* hingga diperoleh pH netral [6]. Kemudian, residu dikeringkan menggunakan oven pada temperatur 120 °C selama 3 jam.

Proses Hidrolisis

Residu halus hasil proses perlakuan awal dimasukkan ke dalam botol *schoot* dan ditambahkan larutan asam sulfat (H_2SO_4) 1:50 (b/v) dengan variasi konsentrasi 0,15 N; 0,30 N; dan 0,45 N. Selanjutnya, larutan dipanaskan pada temperatur 120 °C selama 60 menit menggunakan oven. Filtrat yang terbentuk disaring dengan kertas saring dan dilakukan pengujian kadar glukosa menggunakan metode *Luff-Schoorl* [11].

Proses Fermentasi

Larutan NaOH 6 M ditambahkan ke dalam filtrat hasil hidrolisis hingga mencapai pH 4,5 [2]. Kemudian, sebanyak 5 g ragi ditambahkan ke dalam filtrat hasil hidrolisis dan didiamkan selama 3 hari, 7 hari, dan 9 hari menggunakan erlenmeyer.

Proses Distilasi

Larutan yang telah difermentasi selanjutnya disaring antara gel dan filtratnya. Filtrat dimasukkan ke dalam labu distilasi sederhana untuk dimurnikan. Uap yang dihasilkan didinginkan dengan kondensor, sehingga produk yang murni tertampung dalam wadah pemisah. Proses distilasi dilakukan dengan temperatur 80 °C [10]. Hasil distilasi dihitung kadar etanolnya menggunakan spektrofotometer UV-Vis *Thermoscientific Genesys 150*.

Pengukuran Kadar Glukosa

Analisis kadar glukosa dilakukan menggunakan metode *Luff-Schoorl* berdasarkan SNI 01-2891-1992 [12]. Sebanyak 1 mL filtrat hasil proses hidrolisis dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dicampurkan dengan 25 mL larutan *Luff-Schoorl*, kemudian larutan tersebut ditambahkan dengan 15 mL *aquadest* dan 3 tetes natrium hidroksida (NaOH) 30% dan dipanaskan di atas *hot plate* hingga mendidih selama 5 menit. Campuran didinginkan dengan air mengalir dan ditambahkan 25 mL asam sulfat (H_2SO_4) 25% dan 15 mL larutan kalium iodida (KI) 20% secara perlahan. Larutan dititrasi dengan natrium tiosulfat ($Na_2S_2O_3$) 0,1 N hingga berwarna kuning muda, lalu larutan tersebut ditambahkan indikator amilum 1%, sehingga larutan berwarna biru tua dan proses titrasi dilanjutkan hingga warna biru tua hilang [11]. Kadar glukosa dapat dihitung menggunakan Persamaan (1) dan Persamaan (2).

$$W_1 = \frac{(B - A) \times N Na_2S_2O_3}{0,1} \quad (1)$$

$$\text{Kadar Glukosa (\%)} = \frac{W_1 \times fp}{W} \times 100\% \quad (2)$$

Keterangan: W_1 adalah glukosa yang terkandung untuk mL $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ yang dipergunakan (mg) dari tabel penetapan gula menurut Luff-Schoorl, B adalah volumen titrasi blanko (mL), A adalah volume titrasi larutan sampel (mL), N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ adalah normalitas larutan penitrasi (N), 0,1 adalah normalitas $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ pada tabel Luff-Schoorl, W adalah massa sampel (mg), dan fp adalah faktor pengenceran.

Pengukuran Kadar Etanol menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Analisis kadar etanol dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis *Thermo Scientific Genesys 150* dengan pereaksi kalium dikromat ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) dalam suasana asam. Prosedur kerja analisis kadar etanol dilakukan dalam beberapa tahap, yaitu:

a) Pembuatan larutan pereaksi

Larutan pereaksi kalium dikromat dibuat dengan pengenceran 56 mL H_2SO_4 6 N sampai batas volume 100 mL, kemudian larutan tersebut ditambahkan 0,2942 g padatan $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ dan diencerkan hingga batas volume 200 mL. Larutan pereaksi terbentuk berwarna jingga [13].

b) Analisis sampel

Sebanyak 0,5 mL etanol hasil distilasi diambil dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer, lalu 15 mL *aquadest* dan 12,5 mL larutan pereaksi ditambahkan ke dalamnya dan dihomogenkan. Sebanyak 10 mL larutan yang dihasilkan diambil dan ditempatkan dalam labu ukur 25 mL. Setelah itu, larutan dipanaskan pada temperatur 62,5 °C selama 20 menit. Setelah didinginkan pada temperatur ruang, larutan ditambahkan *aquadest* ke dalam labu ukur sampai batas volume 25 mL dan dihomogenkan. Sebanyak 5 mL larutan dipipet ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2,5 mL *aquadest*. Selanjutnya, campuran dianalisis dengan spektrofotometer *Thermo Scientific Genesys 150* pada panjang gelombang 595 nm - 610 nm [14]. Panjang gelombang optimum diperoleh sebesar 601 nm.

c) Pembuatan kurva baku

Kurva baku dibuat dengan konsentrasi etanol standar 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, dan 6%. Etanol standar dipipet masing-masing sebanyak 0,1 mL, 0,2 mL, 0,3 mL, 0,4 mL, 0,5 mL, dan 0,6 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan masing-masingnya 9,9 mL, 9,8 mL, 9,7 mL, 9,6 mL, 9,5 mL, dan 9,4 mL *aquadest*. 12,5 mL larutan pereaksi kemudian ditambahkan ke dalam masing-masing tabung reaksi. Prosedur yang dilakukan selanjutnya sama dengan penetapan sampel.

3. Hasil

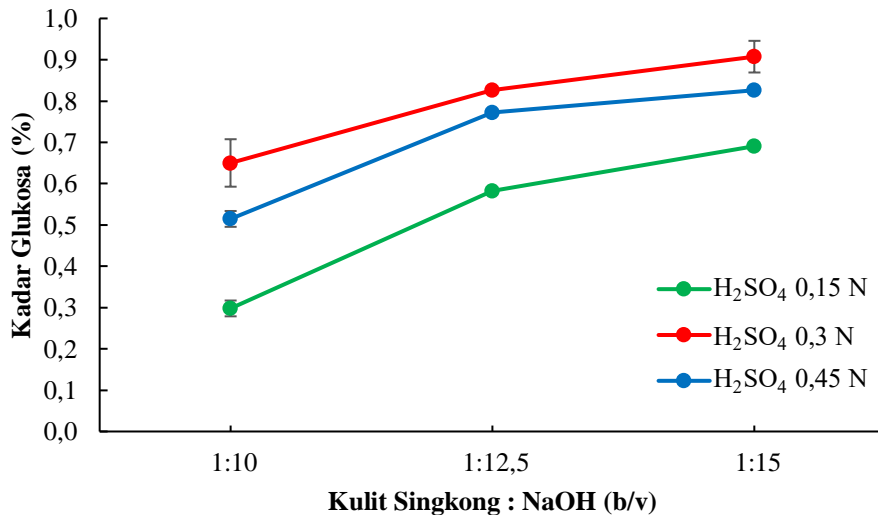
Pengaruh Rasio Pelarutan Kulit Singkong Karet pada Proses Perlakuan Awal terhadap Kadar Glukosa

Proses perlakuan awal merupakan tahapan yang dapat mempengaruhi produksi glukosa sebagai bahan baku produksi bioetanol. Tujuan dari proses perlakuan awal pada biomassa lignoselulosa adalah penguraian matriks selulosa-hemiselulosa, pengurangan derajat kristalinitas selulosa dan peningkatan fraksi amorf selulosa, hidrolisis hemiselulosa, pelepasan dan degradasi parsial lignin, serta peningkatan porositas biomassa [6, 15]. Maharani dkk (2018) mengungkapkan bahwa pemakaian larutan alkali, seperti NaOH, dilakukan untuk menghilangkan lignin yang dapat menghambat proses hidrolisis selulosa oleh mikroba [16].

Hasil pelarutan kulit singkong karet dengan natrium hidroksida (NaOH) 0,5 M pada Gambar 1 memperlihatkan bahwa kadar glukosa meningkat seiring dengan banyaknya volume pelarut NaOH yang terlibat. Perbandingan pelarutan kulit singkong karet dengan NaOH 0,5 M terbaik dalam proses perlakuan awal berada pada variasi 1:15 (b/v). Hal ini terjadi karena proses perlakuan awal diikuti dengan perlakuan panas, sehingga semakin besar volume pelarutan NaOH mengakibatkan semakin luasnya perpindahan panas pada proses perlakuan awal yang terjadi [16]. Akibatnya, panas menjalar ke seluruh bahan dan pelarut NaOH. Semakin besar perpindahan panas yang terjadi menyebabkan lignin terdegradasi secara sempurna. Pemanasan sampai temperatur tinggi (diatas 180 °C) mengakibatkan lebih banyak lagi selulosa yang terdegradasi. Hal ini terjadi karena pada temperatur tersebut, lignin larut sempurna dan NaOH yang tersisa akan mendegradasi selulosa. Di sisi lain, lignin tidak terurai pada temperatur rendah, sehingga selulosa tetap terlindungi [17]. Oleh karena itu, dibutuhkan perbandingan pelarutan bahan serta temperatur pemanasan yang tepat pada proses perlakuan awal agar lignin dapat terurai secara sempurna.

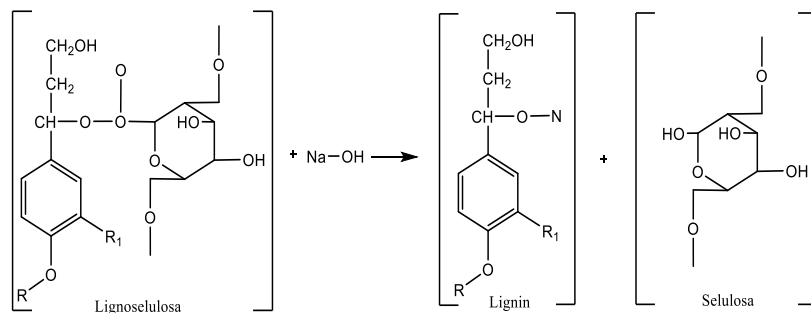
Lignin merupakan polimer fenolik yang terdapat pada dinding sel tumbuhan dan berikatan kuat dengan selulosa, sehingga membentuk lignoselulosa. NaOH akan memudahkan ikatan senyawa lignin terputus. Partikel NaOH akan menembus ke dalam bahan dengan merusak struktur lignin [17, 18] dan lignin ikut larut

bersama larutan basa. Perlakuan awal dengan NaOH menghasilkan pembentukan garam fenol yang larut dalam air. Pembentukan garam fenolik akan memutuskan ikatan antara selulosa dan lignin, sehingga diperoleh selulosa dalam keadaan bebas lignin [16].



Gambar 1. Pengaruh rasio pelarutan kulit singkong karet dengan NaOH (b/v) terhadap kadar glukosa (%)

Proses perlakuan awal menggunakan NaOH dilakukan untuk mempersiapkan perombakan selulosa pada proses selanjutnya. Lignin yang telah meninggalkan lignoselulosa akan mempermudah perombakan selulosa menjadi monomer gula penyusunnya, sehingga kadar glukosa yang dihasilkan akan lebih tinggi. NaOH bereaksi dengan zat reaktif seperti lignin yang bersifat fenolik. Lignin adalah suatu polimer berat molekul tinggi yang terdiri dari unit alkilfenol metoksilat dan dianggap sebagai sumber yang kaya akan fenol bermuatan negatif. Reaksi pertukaran kation antara Na⁺ dan lignin mengakibatkan lepasnya lignin dari ikatan lignoselulosa serta pemutusan ikatan hemiselulosa, sehingga selulosa juga ikut terlepas [16, 20]. Mekanisme reaksi yang terjadi pada proses perlakuan awal menggunakan NaOH disajikan dalam Gambar 2.



Gambar 2. Mekanisme pemutusan ikatan lignoselulosa dengan menggunakan NaOH [21]

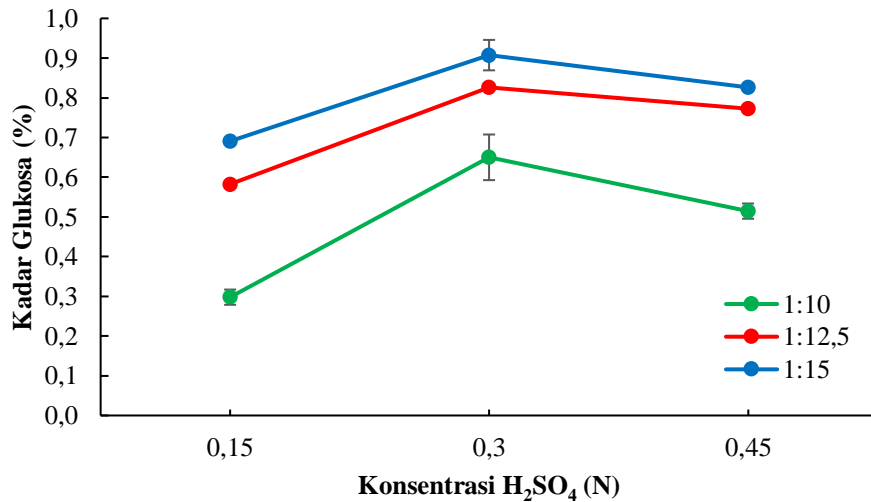
Pengaruh Konsentrasi Asam Sulfat (H₂SO₄) pada Proses Hidrolisis terhadap Kadar Glukosa

Pada proses hidrolisis, residu pati hasil proses perlakuan awal ditambahkan dengan larutan asam pada temperatur 120 °C agar proses hidrolisis dapat terjadi [11]. Filtrat yang dihasilkan pada proses hidrolisis kemudian diukur kadar glukosanya. Konsentrasi asam sulfat (H₂SO₄) pada proses hidrolisis dapat mempengaruhi kadar glukosa yang dihasilkan, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3.

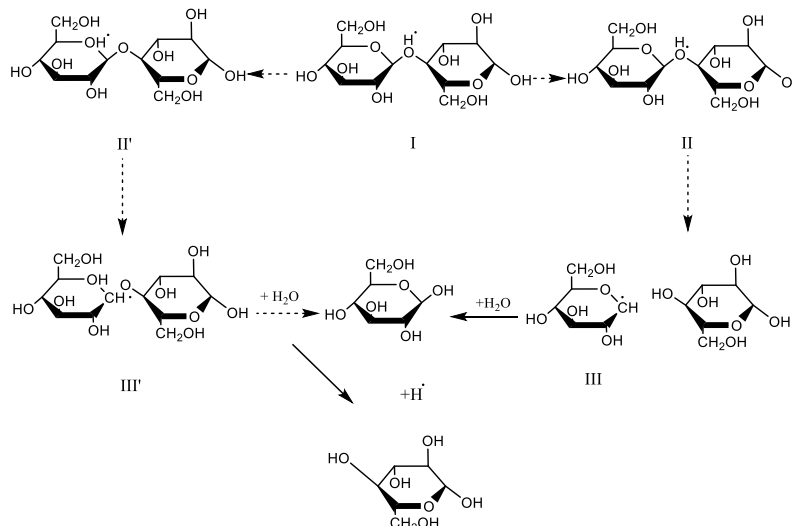
Gambar 3 memperlihatkan bahwa kadar glukosa tertinggi pada setiap variasi perlakuan awal berada pada konsentrasi H₂SO₄ 0,30 N. Hal ini terjadi karena keterlibatan konsentrasi katalis yang lebih tinggi, sehingga lebih banyak ion H⁺ yang dapat memutuskan ikatan glikosida pada pati. Namun, jika konsentrasi katalis yang digunakan terlalu tinggi, maka glukosa dan senyawa gula lainnya akan terdegradasi menjadi senyawa hidroksimetilfurfural (HMF). Dalam proses hidrolisis lebih lanjut, furfural membentuk senyawa asam formiat yang akan menjadi penghambat [11], sehingga dibutuhkan konsentrasi katalis yang optimum pada proses hidrolisis agar konversi selulosa pada pati dapat berlangsung secara maksimal.

Larutan H₂SO₄ digunakan pada proses hidrolisis karena merupakan senyawa asam kuat dan ketika dilarutkan dalam air, cenderung memberikan proton, sehingga asam akan berubah menjadi basa konjugasi.

Selain itu, H_2SO_4 merupakan katalisator yang mempercepat proses reaksi. Mekanisme reaksi hidrolisis menggunakan H_2SO_4 diawali dengan adanya donor H^+ . Donor H^+ secara cepat berasosiasi dengan oksigen glikosidik yang mengikat dua gugus gula untuk membentuk asam konjugasi. Pemutusan ikatan C-O dan pemutusan asam konjugasi membentuk ion karbonium siklik. Setelah penambahan air dengan cepat, gula bebas dan proton dilepaskan. Proton yang dilepaskan secara cepat berinteraksi dengan oksigen glikosidik yang mengikat dua gugus gula. Proses ini berlanjut sampai molekul selulosa dihidrolisis menjadi molekul glukosa [22]. Mekanisme reaksi yang terjadi pada proses hidrolisis menggunakan H_2SO_4 ditampilkan pada Gambar 4.



Gambar 3. Pengaruh konsentrasi H_2SO_4 (N) pada proses hidrolisis terhadap kadar glukosa (%)



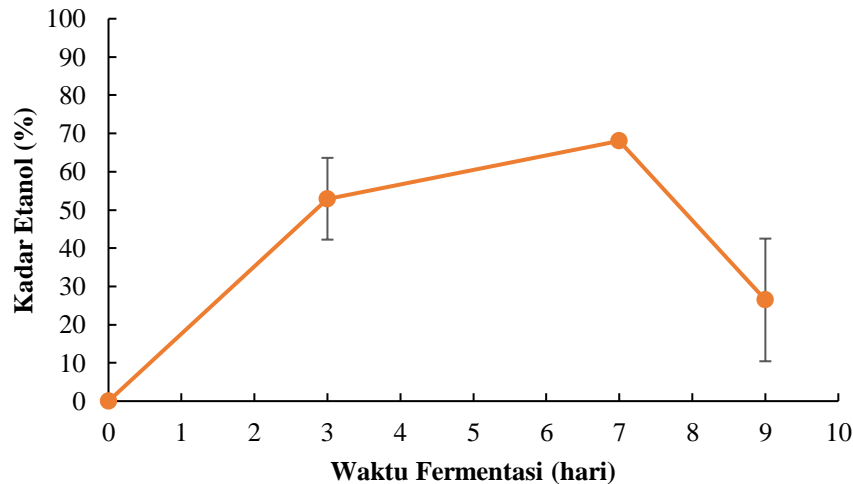
Gambar 4. Mekanisme hidrolisis selulosa dengan asam [22]

Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Kadar Etanol

Proses fermentasi yang dilakukan pada penelitian ini merupakan *scale up* dari proses perlakuan awal menggunakan natrium hidroksida ($NaOH$) 0,5 M dengan perbandingan pelarutan kulit singkong karet 1:15 (b/v) dan hidrolisis menggunakan asam sulfat (H_2SO_4) dengan konsentrasi 0,30 N yang sebelumnya telah dilakukan. Tujuan dari proses fermentasi adalah mengonversi glukosa menjadi etanol atau yang sering disebut dengan bioetanol (alkohol) dengan bantuan mikroorganisme. Pada proses fermentasi, filtrat hasil hidrolisis diatur keadaan pH-nya hingga 4,5 untuk mencapai keadaan optimum pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* [2]. Setelah itu, larutan ditambahkan ragi dan didiamkan selama beberapa waktu. Waktu yang diperlukan saat proses fermentasi sangat berpengaruh terhadap kadar etanol yang dihasilkan seperti yang ditunjukkan pada Gambar 5.

Gambar 5 menunjukkan bahwa kadar etanol yang dihasilkan pada 3 hari proses fermentasi sebesar 52,93%. Waktu ini menunjukkan fase lag atau fase adaptif. Fase lag atau fase adaptif adalah tahapan sel mikroba beradaptasi dengan lingkungan baru. Sel mikroba mulai membuat enzim yang menyintesis nutrisi. Pada fase

lag, sel mikroba bertambah besar tanpa penambahan jumlah sel. Pada waktu fermentasi 7 hari menunjukkan kadar etanol tertinggi, yaitu sebesar 68,05%, sehingga dapat dikatakan bahwa variasi waktu fermentasi 7 hari merupakan waktu optimum produksi etanol pada penelitian kali ini. Waktu ini merupakan fase eksponensial bagi *Saccharomyces cerevisiae*. Fase eksponensial adalah fase sel mikroba mulai aktif membelah dan jumlah sel bertambah bergantung pada ketersediaan nutrisi. Mikroba akan menghasilkan nukleotida dan asam amino untuk membentuk protein dan asam nukleat.



Gambar 5. Pengaruh waktu fermentasi (hari) terhadap kadar etanol (%) pada perlakuan awal 1:15 (b/v) dan hidrolisis 0,30 N

Terakhir, pada waktu fermentasi 9 hari, hasil kadar etanol yang diperoleh sebesar 26,46%. Titik ini merupakan fase stasioner ketika pasokan nutrisi dan sumber energi mulai berkurang. Jumlah sel mikroba konstan karena tidak lagi aktif tumbuh. Sel mikroba yang telah mati melepaskan peptida dan asam nukleat yang digunakan oleh sel mikroba hidup sebagai sumber energi. Pada akhir fase stasioner, produksi metabolit sekunder terjadi, sehingga etanol yang merupakan produk metabolit primer hampir tidak dihasilkan. Waktu fermentasi lebih dari 9 hari menunjukkan fase kematian dan dilanjutkan pada fase kematian dipercepat. Pada fase kematian, penurunan jumlah sel mikroba terjadi karena banyak sel mikroba yang telah mati. Sekitar 90% sel mikroba mati dan sisanya masuk ke fase percepatan kematian. Selama fase percepatan kematian, jumlah sel menurun sangat drastis. Hal ini terjadi karena kurangnya nutrisi dan akumulasi zat beracun di dalam sel.

4. Kesimpulan

Limbah kulit singkong karet (*Manihot glaziovii*) memiliki potensi sebagai bahan baku bioetanol serta adanya kombinasi perlakuan awal, hidrolisis, dan fermentasi dapat mempengaruhi karakteristik bioetanol yang dihasilkan. Kadar glukosa akan meningkat seiring dengan banyaknya volume pelarut natrium hidroksida (NaOH) yang terlibat dan kadar glukosa tertinggi pada setiap variasi perlakuan awal berada pada konsentrasi asam sulfat (H_2SO_4) 0,30 N. Kadar glukosa tertinggi yang dihasilkan dalam penelitian ini sebesar 0,91% yang diperoleh dengan variasi pelarutan NaOH 0,5 M 1:15 (b/v) pada proses perlakuan awal dan variasi konsentrasi H_2SO_4 0,30 N pada proses hidrolisis, sedangkan dalam proses fermentasi, waktu optimum yang menghasilkan kadar etanol tertinggi, yaitu waktu fermentasi 7 hari dengan kadar etanol sebesar 68,05%. Untuk penelitian selanjutnya, disarankan untuk menambahkan nutrisi tambahan pada proses fermentasi agar proses pembentukan etanol lebih maksimal.

5. Konflik Kepentingan

Semua penulis tidak memiliki konflik kepentingan (*conflict of interest*) pada publikasi artikel ini.

Daftar Pustaka

- [1] A. F. Sa'adah, A. Fauzi, and B. Juanda, "Peramalan penyediaan dan konsumsi bahan bakar minyak Indonesia dengan model sistem dinamik," *J. Ekon. dan Pembang. Indones.*, vol. 17, no. 2, pp. 118–137, 2017.
- [2] Erna, I. Said, and P. H. Abram, "Bioetanol dari limbah kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz) melalui proses fermentasi," *J. Akad. Kim.*, vol. 5, no. 3, pp. 121–126, 2016.

- [3] K. O. Adiotomre, "Production of bioethanol as an alternative source of fuel using cassava and yam peels as raw materials," *Int. J. Innov. Sci. Eng. Technol. Res.*, vol. 3, no. 2, pp. 28–44, 2015.
- [4] A. Adekunle, V. Orsat, and V. Raghavan, "Lignocellulosic bioethanol: A review and design conceptualization study of production from cassava peels," *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 64, pp. 518–530, 2016.
- [5] A. P. Moshi, S. G. Temu, I. A. Nges, G. Malmo, K. M. M. Hosea, E. Elisante, and B. Mattiasson, "Combined production of bioethanol and biogas from peels of wild cassava *Manihot glaziovii*," *Chem. Eng. J.*, vol. 279, pp. 297–306, 2015.
- [6] P. Widyastuti, "Pengolahan limbah kulit singkong sebagai bahan bioetanol melalui proses fermentasi," *J. Kompetensi Tek.*, vol. 11, no. 1, pp. 41–46, 2019.
- [7] M. A. Hapsari and A. Pramashinta, "Pembuatan bioetanol dari singkong karet (*Manihot glaziovii*) untuk bahan bakar kompor rumah tangga sebagai upaya mempercepat konversi minyak tanah ke bahan bakar nabati," *J. Teknol. Kim. Dan Ind.*, vol. 2, no. 2, pp. 240–245, 2013.
- [8] N. Z. Firdausi, N. B. Samodra, and Hargono, "Pemanfaatan pati singkong karet (*Manihot glaziovii*) untuk produksi bioetanol fuel grade melalui proses distilasi-dehidrasi menggunakan zeolit alam," *J. Teknol. Kim. dan Ind.*, vol. 2, no. 3, pp. 76–81, 2013.
- [9] E. Nuwamanya, L. Chiwona-Karlton, R. S. Kawuki, and Y. Baguma, "Bio-ethanol production from non-food parts of cassava (*Manihot esculenta* Crantz)," *Ambio*, vol. 41, no. 3, pp. 262–270, 2012.
- [10] S. S. Jati and T. Widayatno, "Pengaruh konsentrasi kapang dan lama waktu fermentasi terhadap kadar bioetanol dari limbah kulit singkong (*Manihot esculenta*)," *J. Tek. Kim. USU*, vol. 11, no. 2, pp. 102–109, 2022.
- [11] E. Praputri, E. Sundari, F. Firdaus, and S. Sofyan, "Penggunaan katalis homogen dan heterogen pada proses hidrolisis pati umbi singkong karet menjadi glukosa," *J. Litbang Ind.*, vol. 8, no. 2, p. 105, 2018.
- [12] Badan Standardisasi Nasional, "SNI 01-2891-1992: Cara uji makanan dan minuman," *Standar Nasional Indonesia*. 1992.
- [13] D. Pinata and R. Nawfa, "Uji kualitatif etanol yang diproduksi secara enzimatik menggunakan *Z. Mobilis* permeabel," in *Prosiding Kimia FMIPA, Institut Teknologi Sepuluh Nopember*, 2010, pp. 1–6.
- [14] A. I. Perdana, "Optimasi dan validasi metode analisis kadar alkohol pada produk pangan dengan spektrofotometer UV-Vis," *J. Inov. dan Pengelolaan Lab.*, vol. 2, no. 1, pp. 28–38, 2020.
- [15] C. A. Cardona, O. J. Sanchez, and L. F. Gutierrez, *Process synthesis for fuel ethanol production*, 1st ed. Boca Raton: CRC Press, 2009.
- [16] D. M. Maharani and K. Rosyidin, "Efek pretreatment microwave -NaOH pada tepung gedebog pisang kepok terhadap yield selulosa," *Agritech*, vol. 38, no. 2, pp. 133–139, 2018.
- [17] H. R. Permatasari, F. Gulo, and B. Lesmini, "Pengaruh konsentrasi H_2SO_4 dan NaOH terhadap delignifikasi serbuk bambu (*Gigantochloa apus*)," *J. Penelit. Pendidik. Kim. Kaji. Has. Penelit. Pendidik. Kim.*, vol. 1, no. 2, pp. 131–140, 2014.
- [18] Elwin, M. Lutfi, and Y. Hendrawan, "Analisis pengaruh waktu pretreatment dan konsentrasi NaOH terhadap kandungan selulosa, lignin dan hemiselulosa eceng gondok pada proses pretreatment pembuatan bioetanol," *J. Keteknikan Pertan. Trop. dan Biosist.*, vol. 2, no. 2, pp. 110–116, 2014.
- [19] S. Y. Trisianti, P. R. Sarjono, and N. S. Mulyani, "Aktivitas *fusarium oxysporum* dalam menghidrolisis eceng gondok (*Eichhornia crassipes*) dengan variasi waktu fermentasi," *Chem Info*, vol. 1, no. 1, pp. 265–274, 2013.
- [20] T. Yoshikawa, S. Shinohara, T. Yagi, N. Ryumon, Y. Nakasaka, T. Tago, and T. Masuda, "Production of phenols from lignin-derived slurry liquid using iron oxide catalyst," *Appl. Catal. B Environ.*, vol. 146, pp. 289–297, 2014.
- [21] D. A. Permata, A. Kasim, A. Asben, and Yusniwati, "Delignification of lignocellulosic biomass," *World J. Adv. Res. Rev.*, vol. 12, no. 2, pp. 462–469, 2021.
- [22] Q. Xiang, Y. Y. Lee, P. O. Pettersson, and R. W. Torget, "Heterogeneous aspects of acid hydrolysis of α -cellulose," *Appl. Biochem. Biotechnol.*, vol. 705, pp. 505–514, 2003.