

## Pengaruh Pemberian Enzim Amilase terhadap Kadar Bioetanol dari Limbah Sagu Padat

Muhammad Luqman Hakim, Endah Dwi Hastuti, Sarjana Parman  
Laboratorium Biologi Struktur dan Fungsi Tumbuhan, Jurusan Biologi  
Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro  
Jalan Prof. H. Sudarto, SH Tembalang Telp/Fax (024) 76480923

### ABSTRAK

Industri pengolahan pati sagu di desa Plajan menyisakan limbah padat yang mencemari lingkungan. Limbah sagu padat masih mengandung karbohidrat  $\pm 84.7\%$  yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan dasar pembuatan bioetanol. Pemberian enzim amilase pada penelitian ini bertujuan untuk mengoptimalkan proses hidrolisis amilum menjadi glukosa sehingga dapat meningkatkan kadar bioetanol. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian enzim amilase dengan volume yang berbeda terhadap kadar bioetanol. Metode penelitian ini meliputi hidrolisis, fermentasi dan destilasi. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat perlakuan. Perlakuan tersebut adalah A = 0 ml -amilase dan 0 ml glucoamilase (Kontrol), B = 2 ml -amilase dan 2 ml glucoamilase, C = 4 ml -amilase dan 4 ml glucoamilase, D = 6 ml -amilase dan 6 ml glucoamilase tiga ulangan. Parameter yang diamati yaitu kadar glukosa, kadar bioetanol, dan volume bioetanol. Analisis data dengan Analisis Varians (ANOVA), dilanjutkan dengan uji Duncan's Multiple Test (DMRT). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian enzim amilase mampu meningkatkan kadar bioetanol sampai pada volume tertentu. Volume enzim yang paling efektif menghasilkan kadar bioetanol paling tinggi adalah kisaran volume 2 ml -amilase dan 2 ml glucoamilase sampai dengan 4 ml -amilase dan 4 ml glucoamilase dengan kadar bioetanol 63,33% sampai dengan 69,00% dengan sekali proses destilasi dengan suhu destilasi antara 70-90°C.

Kata Kunci : Amilase, bioetanol, limbah sagu padat.

### ABSTRACT

Sago starch processing industry in the village Plajan leaving solid waste that pollute the environment. Solid sago waste still contains carbohydrates  $\pm 84.7\%$ , which can be used as a base material for bioethanol production. Giving amylase enzyme in this study aims to optimize the starch hydrolysis process into glucose so as to increase the levels of bioethanol. The purpose of this study was to determine the effect of amylase enzyme with different volumes on levels of bioethanol. The research methods include hydrolysis, fermentation and distillation. The study design used was completely randomized design (CRD) with four treatments. Such treatment is A = 0 ml of -amylase and glucoamylase 0 ml (control), B = 2 ml -amylase and 2 ml of glucoamylase, C = 4 ml of -amylase and glucoamylase 4 ml, D = 6 ml of -amylase and 6 ml glucoamylase three replications. Parameters observed that

glucose levels, levels of ethanol, and the volume of bioethanol. Analysis of the data by Analysis of Variance (ANOVA), followed by Duncan's Multiple Test Test (DMRT). These results indicate that administration of amylase enzyme is able to increase levels of ethanol until a certain volume. The most effective enzyme volume to produce the highest levels of bioethanol is the range of volume 2 ml  $\alpha$ -amylase and 2 ml glucoamylase to 4 ml of  $\alpha$ -amylase and 4 ml glucoamylase of ethanol grading 63.33% to 69.00% with a distillation process the distillation temperature between 70-90°C.

Keywords: Amylase, bioethanol, sago solid waste.

## PENDAHULUAN

Produksi total minyak Indonesia turun dari 1,245 juta barrel per hari di tahun 2003 menjadi 1,183 juta barrel per hari di tahun 2004, sementara itu konsumsi dalam negeri meningkat dari 1,143 juta barrel per hari di tahun yang sama menjadi 1,223 juta barrel per hari pada tahun 2004. Jika keadaan ini terus dibiarkan dan Indonesia hanya mengandalkan sumber fosil untuk memenuhi kebutuhan energi, maka krisis ataupun kelangkaan energi di Indonesia beberapa tahun mendatang tidak dapat dihindari. Kebutuhan energi di Indonesia yang tinggi memicu dilakukannya eksplorasi besar-besaran terhadap sumber energi fosil seperti minyak bumi, gas, batu bara dan lain sebagainya (Kotarumalos, 2008). Selain jumlahnya yang sangat terbatas dan tidak dapat diperbarui, kekurangan energi fosil lainnya adalah tingginya pencemaran udara yang dihasilkan. Pencemaran udara di Indonesia kurang lebih 70% disebabkan oleh emisi kendaraan berbahan bakar fosil (Sulistyo, dkk. 2009).

Industri pengolahan pati sagu di desa Plajan, Kecamatan Pakis Aji, Jepara menyisakan limbah padat yang mencemari lingkungan. Limbah sagu padat masih mengandung karbohidrat  $\pm$  84.7% yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan dasar pembuatan bioetanol. Selain kandungan karbohidratnya yang tinggi, kelebihan penggunaan sagu sebagai bahan dasar bioetanol adalah tanamannya mudah dibudidayakan. Tanaman sagu dapat tumbuh dimana tanaman lainnya tidak dapat tumbuh, tidak memerlukan pupuk dan sedikit sekali memerlukan perawatan. Pohon sagu dapat tumbuh dengan cepat, dalam setahun tingginya bertambah lebih dari 1,5 meter pada kondisi yang optimal (McClatchey et al., 2004).

Penelitian bioetanol sebelumnya menggunakan limbah sagu serat dengan sampel basah, setengah basah dan kering menghasilkan kadar etanol yang masih rendah yaitu berkisar 4-6%. Hal ini dikarenakan, kandungan karbohidrat pada limbah serat hanya 47,84% (lebih rendah dibanding limbah padat yang mencapai 84,7% karbohidrat). Disamping itu, sampel tidak melalui tahap hidrolisis terlebih dahulu serta proses destilasi yang kurang terkontrol (Prihastanti, 2011). Sementara itu dalam penelitian ini, akan digunakan limbah sagu padat, dimana limbah ini adalah limbah dengan kandungan karbohidrat paling tinggi pada limbah sagu. Limbah sagu padat diproses melalui 3 tahapan utama pembuatan bioetanol yaitu hidrolisis, fermentasi, dan destilasi.

Proses hidrolisis dilakukan secara fisik dan ensimatik. Secara fisik, limbah padat akan digiling dan direbus air panas. Secara ensimatik, limbah padat akan diurai dengan enzim. Enzim yang digunakan untuk mengoptimasi produk bioetanol adalah enzim  $\alpha$ -amilase dan glucoamilase. Enzim  $\alpha$ -amilase berperan untuk mengurai pati limbah sagu padat, sedangkan enzim glucoamilase berperan untuk menghasilkan gula pereduksi (Rosita, 2008). Selanjutnya, gula pereduksi (glukosa) akan difermentasi oleh fermipan *Saccharomyces cerevisiae* untuk mendapatkan alkohol. Alkohol hasil fermentasi akan dimurnikan menjadi bioetanol dalam proses destilasi. Proses destilasi dilakukan dengan alat destilasi sederhana yang terkontrol. Diharapkan melalui penelitian ini akan didapatkan informasi volume enzim berapa yang paling efektif untuk menghasilkan bioetanol dengan kadar yang tinggi.

## BAHAN DAN METODE

### Waktu dan tempat

Penelitian ini dilakukan di laboratorium energi CV. Nurudina Mulya Kendal selama 3 bulan, dari bulan Januari sampai dengan bulan Maret 2015.

### Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah limbah sagu yang diambil dari salah satu industri pembuatan tepung sagu di Desa Plajan, Kecamatan Pakis Aji, Kabupaten Jepara, aquadest, ragi roti (fermipan), urea, NPK, enzim -amilase, dan enzim glukoamilase.

Alat yang digunakan adalah fermentor, gelas ukur, batang pengaduk, termometer, neraca digital, pemanas, panci, destilator, pompa akuarium.

### Cara kerja

#### Pengambilan Limbah

Limbah padat sagu segar diambil dari salah satu industri sagu di Desa Plajan, Jepara. Limbah dimasukkan kedalam karung plastik. Limbah dibawa ke CV. Nurudina Mulya Kendal dengan menggunakan sepeda motor.

#### Hidrolisis

Proses hidrolisis dimulai dengan memasak 4 liter air bersama 2 kg limbah padat sagu hingga mendidih. Setelah mendidih pemanasan dihentikan. Ketika suhu berada pada 60°C, hidrolisis dilanjutkan dengan menambahkan enzim -amilase dan glukoamilase hasil biakan dari laboratorium UGM dengan volume yang berbeda-beda secara perlahan sambil diaduk. Perlakuan dalam penelitian ini adalah:

A = 0 ml -amilase dan 0 ml glukoamilase  
(kontrol)

B = 2 ml -amilase dan 2 ml glukoamilase

C = 4 ml -amilase dan 4 ml glukoamilase

D = 6 ml -amilase dan 6 ml glukoamilase

#### Fermentasi

Proses fermentasi dilakukan ketika suhu dalam fermentor 32-40°C. Fermentasi dilakukan dengan menambahkan ragi *Saccharomyces cerevisiae* masing-masing sebanyak 10 g. Cara memasukkan ragi:

Sebelum dimasukkan ragi perlu dicairkan dengan air hangat 40°C (ragi dimasukkan kedalam air hangat 100 cc dan diaduk sehingga cair dan dibiarkan sekitar 10 menit).

Kedalam fermentor masing-masing ditambahkan urea 20 g dan NPK 5 g. Kemudian diaduk. Fermentasi dilakukan selama 66 jam (Sergio & Dwikurniawan, 2011). Selama proses fermentasi perlu dilakukan pengecekan pH dengan pH meter dan pengecekan temperatur dengan termometer (diusahakan temperatur tidak lebih dari 35°C dan pH 4,5 s/d 5).

#### Setting Destilator

Kompor pemanas, tabung vakum, selang uap, reflux dan tabung pengembunan dihubungkan hingga rapat. Tabung reflux dan tabung pengembunan diisi air sampai penuh. Kabel pompa akuarium dinyalakan dengan menghubungkan kabel dengan terminal listrik.

#### Destilasi

Setelah 66 jam fermentasi, larutan dimasukkan kedalam tabung vakum. Larutan dipanaskan hingga temperatur penguapan 79-80°C dan uap dimasukkan ke destilator sehingga terjadi proses destilasi yang akan memisahkan etanol dan air. Selama proses destilasi, temperatur dijaga pada 79°C sehingga etanol yang keluar mencapai 95 % , jika etanol yang keluar < 95 % perlu dilakukan reflux atau didestilasi lagi.

#### Parameter Penelitian

Parameter yang diamati yaitu kadar glukosa, kadar bioetanol, dan volume bioetanol.

#### Disain Penelitian

Disain penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap faktor tunggal dengan empat perlakuan dan tiga ulangan.

#### Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan uji ANOVA dan jika ada pengaruh nyata perlakuan dilanjutkan uji Duncan dengan taraf kepercayaan 95%.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

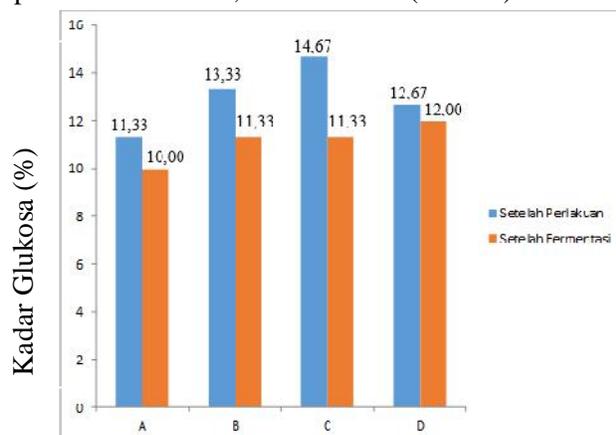
### 4.1 Kadar Glukosa

#### A. Hidrolisis

Pengambilan data kadar glukosa dilakukan pada saat setelah perlakuan dan setelah fermentasi. Diantara keduanya (setelah perlakuan dan setelah fermentasi) akan dihitung besar penurunannya. Hasil anova menunjukkan bahwa pemberian volume enzim  $\alpha$ -amilase dan glucoamilase yang berbeda tidak berpengaruh nyata terhadap kadar glukosa setelah perlakuan (Lampiran 1).

Hasil penelitian selanjutnya adalah rerata kadar glukosa setelah fermentasi. Hasil anova menunjukkan bahwa pemberian volume enzim  $\alpha$ -amilase dan glucoamilase yang berbeda tidak berpengaruh nyata terhadap kadar glukosa setelah fermentasi (Lampiran 2).

Berdasarkan gambar 4.1, pemberian enzim amilase tidak memberikan perbedaan yang nyata antara A (kontrol) dengan perlakuan B, C, dan D terhadap kadar glukosa setelah perlakuan dan setelah fermentasi. Meskipun tidak ada perbedaan yang nyata, ada kecenderungan kadar glukosa setelah perlakuan paling tinggi dihasilkan oleh perlakuan C, diikuti perlakuan B dan D, kemudian A (kontrol). Begitu juga dengan kadar glukosa setelah fermentasi, ada kecenderungan paling tinggi dihasilkan oleh perlakuan D, diikuti perlakuan C dan B, kemudian A (kontrol).



Gambar 4.1. Histogram rerata kadar glukosa setelah perlakuan enzim amylase dan setelah fermentasi pada limbah sagu padat.

Perlakuan C menghasilkan kadar glukosa setelah perlakuan paling tinggi diantara perlakuan

lainnya dikarenakan komposisi enzim 4 ml  $\alpha$ -amilase dan 4 ml glucoamilase merupakan komposisi yang tepat untuk mengubah pati (amilum) limbah sagu padat 2 kg menjadi molekul yang lebih sederhana yaitu glukosa.

Peningkatan volume enzim mampu meningkatkan kadar glukosa setelah perlakuan hanya sampai pada volume 4 ml  $\alpha$ -amilase dan 4 ml glucoamilase (perlakuan C). Pada perlakuan D terjadi penurunan kadar glukosa, dikarenakan semakin banyak volume enzim yang diberikan, kadar glukosa yang dihasilkan belum tentu semakin tinggi. Pemberian volume enzim yang berlebih menyebabkan kerja enzim tidak maksimal. Hal ini sesuai dengan pernyataan Kurniawan (2005) bahwa sebaiknya pemberian volume enzim tidak diberikan secara berlebih karena enzim tidak akan bekerja secara maksimal.

Proses pemberian enzim amilase pada limbah sagu padat ini dinamakan hidrolisis. Proses hidrolisis adalah proses pengubahan pati menjadi glukosa. Dalam penelitian ini, proses hidrolisis dilakukan secara fisik dan ensimatik. Secara fisik, limbah sagu direbus hingga mendidih dan diaduk. Sedangkan hidrolisis secara ensimatik, digunakan enzim  $\alpha$ -amilase dan glucoamilase. Kelebihan hidrolisis secara fisik dan ensimatik dibanding dengan hidrolisis secara kimiawi adalah lebih ramah lingkungan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Anindyawati (2009), bahwa dibandingkan proses secara kimia, hidrolisis secara ensimatik dan fisik lebih menguntungkan karena ramah lingkungan.

Menurut Nevez et al. (2006), mikroorganisme dalam fermentasi bioetanol seperti *Saccharomyces cerevisiae* yang kekurangan enzim amilolitik, tidak memungkinkan untuk mengubah pati menjadi etanol secara langsung, sehingga perlu dilakukan konversi pati menjadi gula terlebih dahulu melalui tahap hidrolisis yaitu liquifikasi untuk memecah pati menjadi dekstrin dan sakarifikasi untuk memecah dekstrin menjadi gula sederhana dengan bantuan enzim.

Nevez et al. (2006) menambahkan, ada 2 macam enzim yang digunakan dalam proses hidrolisis pati limbah sagu padat menjadi glukosa yaitu  $\alpha$ -amilase untuk proses liquifikasi dan glucoamilase untuk sakarifikasi. Kedua enzim

tersebut bisa digunakan pada proses pembuatan etanol komersial yang berasal dari tanaman.

Molekul-molekul pati dari limbah sagu akan dipecah menjadi molekul-molekul yang lebih sederhana, yaitu molekul glukosa sebagai unit terkecil. Pati (amilum) dari limbah sagu merupakan substansi yang terlebih dahulu harus diubah menjadi molekul lebih sederhana (glukosa) agar dapat diserap oleh sel mikroorganisme *S. cerevisiae* sebagai nutrisi untuk pertumbuhannya saat proses fermentasi. Jadi proses hidrolisis ini tujuan utamanya adalah untuk menyediakan glukosa untuk proses fermentasi. Hal ini sesuai pernyataan Black (2005), bahwa enzim -amilase dan glucoamilase berperan untuk memecah molekul-molekul pati menjadi molekul-molekul yang lebih sederhana (glukosa). Semakin banyak glukosa yang diperoleh dari proses hidrolisis ini, besar harapan akan memperoleh kadar bioetanol yang tinggi. Karena proses fermentasi akan mengubah glukosa yang terbentuk dari proses hidrolisis menjadi alkohol (Nurdyastuti, 2008).

#### B. Fermentasi

Rerata kadar glukosa setelah fermentasi paling tinggi ditunjukkan oleh perlakuan D yaitu sebesar 12,00. Perlakuan D memperlihatkan proses fermentasi oleh *S. cerevisiae* yang tidak optimal. Hal ini dikarenakan, kadar glukosa yang tersedia dari hasil pemberian volume enzim amilase perlakuan D sebesar 12,67 (paling rendah diantara perlakuan lainnya), setelah fermentasi kadar glukosa menjadi 12,00 sehingga dapat dikatakan bahwa proses fermentasi perlakuan D tidak optimal.

Proses fermentasi yang paling optimal ditunjukkan oleh perlakuan C. Hal ini dikarenakan, kadar glukosa yang tersedia dari hasil pemberian volume enzim amilase perlakuan C sebesar 14,67 (paling tinggi diantara perlakuan lainnya), setelah fermentasi rerata kadar glukosa menjadi 11,33, sehingga dapat dikatakan bahwa proses fermentasi perlakuan C paling optimal (Gambar 4.1)

Tabel 4.1. Besar penurunan kadar glukosa setelah perlakuan volume enzim amilase dan setelah fermentasi pada limbah sagu padat.

Perlakuan	Besar Penurunan Kadar Glukosa (%)
A (Kontrol)	1,33
B	2,00
C	3,33
D	0,66

\*Angka-angka yang diikuti huruf yang sama tidak menunjukkan perbedaan yang nyata berdasarkan uji Duncan pada taraf kepercayaan 95%.

Hasil anova menunjukkan bahwa pemberian volume enzim -amilase dan glucoamilase yang berbeda tidak berpengaruh nyata terhadap besar penurunan kadar glukosa antara setelah fermentasi dan setelah perlakuan ( $p>0.05$ ) (Lampiran 3). Dari tabel 4.1, dapat diketahui bahwa telah terjadi penurunan kadar glukosa antara setelah perlakuan enzim amilase dengan setelah fermentasi dengan hasil yang berbeda-beda. Besar penurunan paling tinggi adalah perlakuan C dengan besar penurunan kadar glukosa 3,33%, diikuti perlakuan B sebesar 2,00%, diikuti perlakuan A (kontrol) sebesar 1,33%, dan diikuti perlakuan D sebesar 0,66%.

Penurunan kadar glukosa paling tinggi ditunjukkan oleh perlakuan C. Hal ini dikarenakan proses fermentasi yang berjalan optimal. Glukosa akan dimanfaatkan oleh *S. cerevisiae* untuk tumbuh dan berkembang. Semakin tinggi kadar glukosa setelah perlakuan, maka pertumbuhan *S. cerevisiae* semakin optimal. Semakin optimal pertumbuhan *S. cerevisiae*, maka semakin banyak glukosa yang dikonsumsi sehingga kadar glukosa setelah fermentasi akan menurun. Semakin menurun kadar glukosa setelah fermentasi, besar harapan akan semakin tinggi

Penurunan glukosa ini terjadi karena adanya penggunaan glukosa oleh *S. cerevisiae* untuk mempertahankan hidup. *S. cerevisiae* memerlukan energi diantaranya ATP (adenosin triphosphat) dan untuk mendapatkannya maka *S. cerevisiae* mengkonsumsi gula yang dapat berupa glukosa serta gula sederhana lainnya. Glukosa digunakan khamir untuk dua hal yaitu untuk tumbuh dan berkembangbiak, sebagian lagi akan

dikonversi menjadi produk metabolit seperti alkohol.

Menurut Assegaf (2009), *S. cerevisiae* menggunakan glukosa selama proses fermentasi, glukosa akan dipecah menjadi etanol sehingga jumlahnya akan semakin berkurang. Semakin lama fermentasi maka semakin banyak gula yang dapat digunakan oleh *S. cerevisiae*. Adanya penurunan kadar glukosa antara sebelum dan setelah fermentasi membuktikan berhasilnya proses fermentasi.

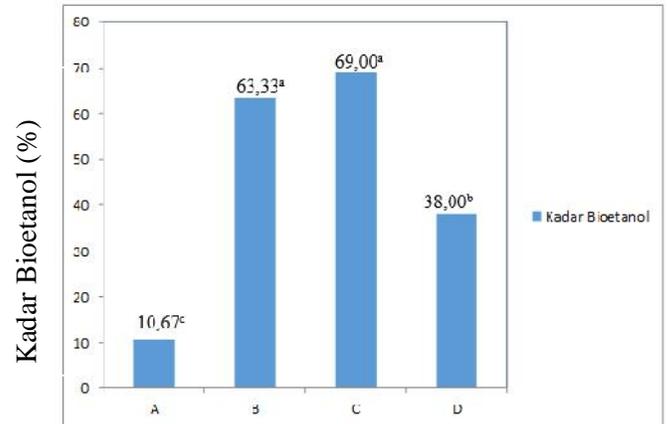
Proses fermentasi dilakukan selama 66 jam atau kurang lebih 3 hari, hal ini sesuai penelitian Sergio dan Dwikurniawan (2011) yang memproduksi bioetanol dengan lama proses fermentasi 66 jam dan menghasilkan kadar etanol 99.7%. Fermentasi dilakukan maksimal 3 hari karena menurut Ingrid (2003), jumlah sel kapang yang hidup paling tinggi terdapat pada lama fermentasi 3 hari dan semakin lama fermentasi aktivitas kapang semakin menurun.

#### 4.2 Kadar Bioetanol

Hasil anova menunjukkan bahwa pemberian volume enzim -amilase dan glucoamilase yang berbeda berpengaruh nyata terhadap kadar bioetanol (Lampiran 4).

Berdasarkan hasil uji lanjut gambar 4.2, terdapat perbedaan yang nyata antara kontrol (A) dengan perlakuan B, C dan D. Perlakuan C dengan B menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan dan keduanya berbeda nyata dengan D.

Besarnya kadar bioetanol seiring dengan besarnya kadar glukosa yang dihasilkan dari perlakuan pemberian volume enzim amilase dan penurunan kadar glukosa setelah fermentasi. Kadar bioetanol paling optimal dihasilkan oleh perlakuan C, hal ini dikarenakan kadar glukosa yang dihasilkan perlakuan C juga paling tinggi diantara perlakuan lainnya. Glukosa yang tinggi menyediakan sumber energi dan rangka karbon untuk pertumbuhan *S. cerevisiae* yang selanjutnya diikuti produksi bioetanol yang tinggi. Hal ini juga didukung oleh besarnya penurunan kadar glukosa (Tabel 4.1).



Gambar 4.2. Histogram kadar bioetanol setelah perlakuan volume enzim Amilase pada limbah sagu padat.

Semakin tinggi kadar glukosa saat hidrolisis maka semakin tinggi pula kadar bioetanol yang dihasilkan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Fessenden (1997) bahwa satu molekul glukosa akan terbentuk dua molekul etanol dan karbondioksida. Menurut Desrosier (1989), semakin banyak jumlah glukosa dalam suatu bahan, maka semakin banyak gula yang akan diubah menjadi alkohol dengan konsentrasi yang tinggi. Azizah, dkk. (2012) menambahkan, bahwa semakin optimal fermentasi, maka alkohol yang dihasilkan juga optimal.

Penurunan kadar glukosa adalah indikator bahwa telah terjadi perubahan glukosa menjadi alkohol oleh *S. cerevisiae*. Semakin tinggi penurunan kadar glukosa, maka semakin tinggi pula alkohol yang dihasilkan. Hal ini sesuai pernyataan Anita (2012), bahwa glukosa digunakan sebagai sumber nutrisi untuk pertumbuhan khamir dan pembentukan alkohol sebagai produk fermentasi, semakin besar jumlah pengurangan glukosa maka alkohol yang terbentuk pun juga akan semakin tinggi.

Kadar bioetanol menunjukkan tingkat kemurnian etanol yang dihasilkan. Semakin tinggi kadar bioetanol yang dihasilkan, maka semakin baik kualitas etanolnya. Hal ini sesuai dengan pernyataan Hastuti (2013), bahwa semakin tinggi

kadar bioetanol menunjukkan semakin baik kualitas kemurnian etanol.

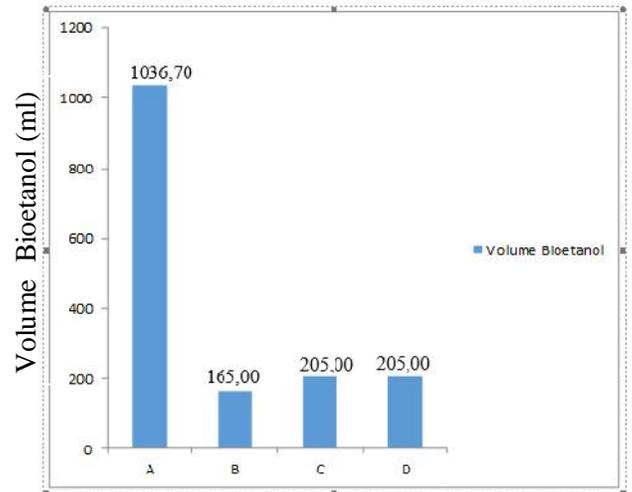
Kualitas bioetanol terbaik dalam penelitian ini dihasilkan oleh perlakuan C dengan rerata kadar bioetanol mencapai 69%. Namun, bioetanol ini belum bisa dimanfaatkan sebagai pengganti bahan bakar karena menurut Prihardana (2008), kadar bioetanol untuk kelas bahan bakar harus diatas 99,5%. Sehingga masih diperlukan adanya penelitian lebih lanjut agar dapat diperoleh bahan bakar dari limbah sagu padat.

#### 4.2 Volume Bioetanol

Hasil anova menunjukkan bahwa pemberian volume enzim -amilase dan glucoamilase yang berbeda tidak berpengaruh terhadap volume bioetanol (Lampiran 5). Data rerata volume bioetanol setelah perlakuan dapat dilihat pada gambar 4.3.

Menurut gambar 4.3, rerata volume bioetanol paling tinggi dihasilkan perlakuan A (kontrol) yaitu sebesar 1036,70, diikuti perlakuan C dan D sebesar 205,00 dan diikuti perlakuan B sebesar 165,00. Pengujian secara statistik tidak menunjukkan perbedaan yang nyata antara perlakuan A, B, C maupun D.

Perlakuan A menghasilkan volume bioetanol paling tinggi hal ini dikarenakan kadar glukosa setelah perlakuan enzim amilase paling rendah (gambar 4.1), sehingga proses fermentasi berjalan kurang optimal. Proses fermentasi yang kurang optimal dapat ditandai salah satunya dengan sedikitnya penurunan kadar glukosa setelah fermentasi (tabel 4.1). Proses fermentasi yang kurang optimal menyebabkan air masih banyak bercampur pada produk bioetanol.



Gambar 4.3. Histogram volume bioetanol setelah perlakuan volume enzim Amilase pada limbah sagu padat.

Volume bioetanol menunjukkan banyaknya etanol yang dihasilkan dari proses destilasi. Namun, tingginya volume bioetanol yang dihasilkan belum tentu menjadi tolak ukur bahwa etanol yang dihasilkan berkadar tinggi.

#### KESIMPULAN

- 5.1 Pemberian volume enzim -amilase dan glucoamilase yang berbeda meningkatkan kadar bioetanol sampai pada volume tertentu.
- 5.2 Volume enzim yang paling efektif menghasilkan kadar bioetanol paling tinggi adalah kisaran volume 2 ml -amilase dan 2 ml glucoamilase sampai dengan 4 ml -amilase dan 4 ml glucoamilase dengan kadar bioetanol 63,33 % sampai dengan 69,00 % dengan sekali proses destilasi dengan suhu destilasi antara 70-90°C.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anindyawati, Trisanti. 2009. Prospek Enzim dan Limbah Lignoselulosa untuk Produksi Bioetanol. Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI, Bogor.
- Anita, M. 2012. Fermentasi Biji Nangka untuk Produksi Bioetanol oleh *Saccharomyces cerevisiae*. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya, Malang.
- Assegaf, F. 2009. Prospek Produksi Bioetanol Bonggol Pisang (*Musa Paradisiacal*) Menggunakan Metode Hidrolisis Asam dan Enzimatis. [www.beswandjarum.com](http://www.beswandjarum.com). Tanggal akses: 20/01/2014
- Azizah, N., Mulyani, S., dan Baarri, A. 2012. Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Kadar Alkohol, pH, dan Produksi Gas pada Proses Fermentasi Bioetanol dari Whey dengan Substitusi Kulit Nanas. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. Vol. 1 No. 2.
- Black, J. G. 2005. *Microbiology Principles And Explorations*. John Wiley and Sons, Inc. United States America.
- Desrosier, N. W., 1989. *Teknologi Pengawetan Pangan*. Penerjemah M. Muljohardjo. UI-Press, Jakarta.
- Fessenden, Ralp J dan Joan S. Fessenden. 1997. *Kimia Organik*. Jilid 1 edisi ketiga. Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Hastuti, Endah Dwi. 2013. Pemanfaatan dan Pengolahan Limbah Pertanian Menjadi Bioetanol. Universitas Diponegoro, Semarang.
- Ingrid, 2003. Mycoflora of ragi and some other traditional fermented foods from Indonesia.
- Kotarumalos, Nur Aisyah. 2008. Menuju Ketahanan Energi Indonesia: Belajar dari Negara Lain. Artikel. Peneliti Pusat Penelitian Sumber Daya Regional LIPI: 1-18.
- Kurniawan, Doni W. 2005. Pengaruh Berbagai Tingkat Pemberian Konsentrasi Enzim Papain Pada Pembuatan Kecap Kupang Terhadap Kadar Protein Dan Organoleptik. UMM, Malang.
- McClatchey, W., H. I.Manner and C. R. Elevitch. 2004. *Metroxylon amicarum, M. paulcoxii, M.sagu, M. salomonense, M vitiense, and M. Warburgii (sago palm)*. Version 1.0, November 2004. <http://www.traditionaltree.org> [24 September 2014]
- Nevez, M.A., Toshinori, K., Naoto, and S., Kiwamu, S. 2006. Production of Alcohol by Simultaneous Saccharification and Fermentation of Low-grade Wheat Flour. *Brazilian Archives of Biology and Technology International Journal*. Vol.49, n. 3: pp.481-490
- Nurdyastuti, I .2008. Prospek Pengembangan Biofuel sebagai Substitusi Bahan Bakar Minyak. <http://www.sinar.harapan.com>. 21 November 2014.
- Prihardana, R., Noerwijan, K., Adinurani, P.G., Setyaningsih, D., Setiadi, S., dan Hendroko, R. 2008. Bioetanol Ubi Kayu Bahan Bakar Masa Depan. Cetakan Keempat. Jakarta: PT Agro Media Pustaka. Hal. 25-66, 79-109, 125-128
- Prihastanti, E. 2011. Pengembangan Agroindustri Bioetanol Berbasis Limbah Sagu dengan Metode Fermentasi. FSM UNDIP, Semarang.
- Rosita. 2008. Produksi Etanol dari Onggok Menggunakan Ekstrak Kasar Enzim Alfa amilase, Glukoamilase dan *Saccharomyces cerevisiae*. Tesis. ITB, Bandung.
- Sergio, J. Dan Dwikurniawan, H. 2011. Pembuatan Etanol Absolut dengan Distilasi dan Adsorpsi Menggunakan Molecular Sieve 3A. ITS, Surabaya.
- Sulistyo, B., Sentanuhady, J., dan Susanto, A. 2009. Pemanfaatan Etanol sebagai Octane Improver Bahan Bakar Bensin Pada Sistem Bahan Bakar Injeksi Sepeda Motor 4 Langkah 1 Silinder. *Thermofluid Seminar Nasional 200*. ISBN 979-979-9798-4-0.