

POTENSI TANAMAN PANDAN LAUT (*Pandanus tectorius*) DAN LIMBAH INDUSTRI GANDUM KOTA CILEGON SEBAGAI BAHAN BAKU SINTESIS BIOETANOL

The Potency of Sea Pandanus (Pandanus tectorius) and Wheat Industries Waste in Cilegon as Raw Material for Bioethanol Synthesis

Agus Malik Ibrahim, Agrin Febrian Pradana, Gagas Priyosakti, Miftahul Arifin, Tuti Alawiyah, & Perlansyah

Program Studi Kimia, Sekolah Tinggi Analis Kimia Cilegon
Jl. Lingkar Selatan KM 1,7 Serang 42616
E-mail : sezhomalik@gmail.com

Diterima 2 Oktober 2019, direvisi 20 Januari 2020, disetujui 21 Februari 2020

ABSTRACT

The minimum requirement of bioethanol utilization (E100) as a mixture of fuel oil is required as much as 20%, of the total needs in January 2025 as stated in the Regulation of the Minister of Energy and Mineral Resources number 12 in 2015. Indonesia is a country that has many potential raw materials for the development of bioethanol as renewable energy, such as sea pandanus plants (Pandanus tectorius) and food industry wastes such as the wheat industry. Sea pandanus plants are commonly found throughout the Indonesian archipelago and are available endemically. While wheat industrial waste is available in industrial areas such as in Banten Province, which has so far not been utilized as a source of biofuels. The purpose of this research is to get bioethanol product from new sources based on natural materials and industrial waste. The stages of research began with raw materials preparation, proximate analysis, gelatinization, liquefaction, pre-saccharification, fermentation, distillation process, and quantitative analysis using instruments. The results showed that the sea pandanus leaf had the potential for bioethanol synthesis with the highest amount of recovery and efficiency were 309 mL and 0.62 mL/g respectively, whereas based on the results of gas chromatography (GC) analysis, the bioethanol product which had the highest purity was from wheat bran waste with a purity level of 97.64%.

Keywords: Biofuel, natural resources, bran, pollard, Saccharomyces cerevisiae, fermentation

ABSTRAK

Pemanfaatan bioetanol (E100) sebagai campuran bahan bakar minyak dipersyaratkan minimal sebanyak 20% terhadap kebutuhan total pada Januari 2025 seperti yang tertuang dalam Peraturan Menteri Energi dan Sumber Daya Mineral Nomor 12 Tahun 2015. Indonesia adalah negara yang memiliki banyak potensi bahan baku baru untuk pengembangan bioetanol sebagai energi terbarukan, salah satunya tanaman pandan laut (*Pandanus tectorius*) dan limbah industri pangan seperti industri gandum. Tanaman pandan laut banyak dijumpai di seluruh kepulauan Indonesia dan tersedia secara endemik, sedangkan limbah industri gandum tersedia di daerah industri seperti Provinsi Banten, yang selama ini belum termanfaatkan menjadi sumber bahan bakar nabati. Tujuan penelitian ini adalah mensintesis bioetanol dari daun pandan laut (*Pandanus tectorius*) dan limbah industri gandum. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam meningkatkan pengetahuan yang diperlukan dalam merencanakan pembuatan bioetanol. Tahapan penelitian dimulai dari proses preparasi bahan baku, uji proksimat, gelatinisasi dan likuifikasi, pra-sakarifikasi, fermentasi, destilasi dan analisis kuantitatif menggunakan instrumen. Hasil penelitian menunjukkan daun pandan laut memiliki potensi untuk

sintesis bioetanol dengan jumlah rendemen dan efisiensi tertinggi (309 mL dan 0,62 mL/g), sedangkan berdasarkan hasil analisis *gas chromatography* (GC), bioetanol yang memiliki kadar kemurnian tertinggi adalah dari limbah kulit ari biji gandum (*bran*) dengan kadar kemurnian 97,64%.

Kata kunci: *Biofuel*, sumber daya alam, *bran*, *pollard*, *Saccharomyces cerevisiae*, fermentasi

I. PENDAHULUAN

Persediaan bahan bakar minyak berbasis fosil yang tidak terbarukan semakin menipis, sehingga diperlukan bahan bakar komplementer atau pengganti yang bersifat terbarukan. Salah satu bahan bakar nabati yang saat ini sedang digalakkan penggunaannya adalah bioetanol. Bioetanol adalah etanol (C_2H_5OH) yang diproduksi dari biomassa yang mengandung komponen pati, gula, atau selulosa, dan juga dari limbah biomassa. Bioetanol diproduksi dengan teknologi biokimia melalui proses hidrolisis dan fermentasi bahan baku, kemudian etanol yang dihasilkan dipisahkan kandungan airnya dengan proses destilasi dan dehidrasi (Hidayati et al., 2016). Penelitian sebelumnya mengenai sintesis bioetanol dari biomassa menghasilkan kadar kemurnian etanol yang masih relatif rendah. Hasil kadar bioetanol pada penelitian-penelitian sebelumnya sangat bervariasi mulai dari nilai di bawah 1% hingga di atas 80% karena sangat bergantung pada jenis dan karakteristik bahan yang digunakan.

Indonesia adalah negara berkembang yang memiliki banyak potensi bahan baku untuk pengembangan bioetanol sebagai energi terbarukan. Wujud dukungan pemerintah Indonesia dalam pengembangan bahan bakar berbasis *biofuel* tertuang dalam Peraturan Menteri Energi dan Sumber Daya Mineral nomor 12 tahun 2015. Kewajiban minimal pemanfaatan bioetanol (E100) sebagai campuran bahan bakar minyak dipersyaratkan sebanyak 20% terhadap kebutuhan total pada Januari 2015 (ESDM, 2015).

Potensi sumber daya tanaman pandan laut dan limbah gandum di Indonesia belum diketahui dan belum pernah dilaporkan, tetapi tanaman pandan laut (*Pandanus tectorius*) banyak dijumpai di seluruh kepulauan Indonesia dan tersedia secara endemik, sedangkan limbah industri gandum tersedia di daerah industri seperti di Provinsi Banten. *Pandanus tectorius*

adalah salah satu spesies pandan yang diakui sebagai spesies kompleks yang sangat bervariasi dan tersebar luas di daerah pesisir pantai Asia Tenggara. Buah pandan laut telah dilaporkan memiliki kandungan lignoselulosa berdasarkan tiga tingkat kematangan, yaitu belum matang, matang, dan lewat matang. Kandungan lignoselulosa pada bagian endosperm buah yang matang adalah hemiselulosa (26,5%), selulosa (16,5%), dan lignin (24,2%) (Abduh et al., 2017). Telah dilaporkan bahwa bagian mesokarp dari pandan kaya dengan karbohidrat (74%), protein (10%), dan β-karoten (1,6 µg/g). Bijinya dilaporkan memiliki kandungan karbohidrat yang lebih rendah (25%) tetapi proteinnya lebih tinggi (15,4%), β-karoten (4,4 µg/g), dan juga mengandung lemak yang cukup besar (48,5%) (Kogoya et al., 2014).

Limbah industri gandum yang umumnya dikenal adalah limbah biji gandum dengan proporsi 2–3%, dedak gandum (*pollard*) dengan proporsi 13–17%, lembaga biji (*germ*) dengan proporsi 10–15%, dan limbah kulit luar gandum (*bran*) dengan proporsi 5–10%. Gandum merupakan tanaman “purba” yang lebih dulu dibudidayakan oleh manusia daripada padi dan jagung dan kini menjadi makanan pokok bagi penduduk di lebih dari 40 negara. Sebagaimana halnya padi dan jagung, gandum termasuk famili *Poaceae* (*Gramineae*). Protein biji gandum terkonsentrasi pada bagian *germ* sekitar 23%, sedangkan lemak relatif tinggi sekitar 10%, walaupun proporsi dari biji utuh gandum hanya 2–3%. Proporsi endosperm pada biji utuh gandum 80–85%, tidak mengandung lemak, protein hanya 7%. Pada bagian ini kadar karbohidrat biji gandum sekitar 79%. Bagian dedak dengan proporsi 13–17% mengandung protein 16%, lemak 3%, dan karbohidrat sekitar 63% (Sumarno & Mejaya, 2016).

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan spesifik untuk mendapatkan bioetanol dari bahan baku baru berbasis bahan alam (tanaman pandan laut) dan limbah industri pangan

(limbah industri gandum). Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam meningkatkan pengetahuan yang diperlukan dalam merencanakan pembuatan bioetanol berbasis tumbuhan dan limbah industri pangan.

II. BAHAN DAN METODE

A. Bahan dan Alat

Bahan baku tanaman pandan laut (*Pandanus tectorius*) berasal dari daerah pesisir pantai kota Cilegon dan Kabupaten Serang. Limbah industri gandum diperoleh dari industri pengolahan gandum yang berada di Kota Cilegon dan Kabupaten Serang. Bahan lain adalah enzim alfa amilase, enzim glukoamilase, *Saccharomyces cereviceae*, dan akuades. Peralatan yang digunakan meliputi timbangan analitik, oven/pemanas, peralatan gelas, perangkat soxhlet, *moisture analyzer*, dan perangkat destilasi. Analisis kadar gula menggunakan instrumen refraktometer. Analisis kuantitatif bioetanol menggunakan instrumen *gas chromatography* (GC) merk Shimadzu. Penelitian dilaksanakan mulai bulan Desember 2018 hingga Agustus 2019 di Sekolah Tinggi Analis Kimia Cilegon.

B. Persiapan Bahan Baku dan Analisis Proksimat

Setiap jenis bahan baku diuji secara proksimat untuk mengetahui kadar metabolit primer pada setiap bahan. Analisis proksimat berupa uji kadar air menggunakan instrumen halogen *moisture analyzer*, kadar abu menggunakan metode gravimetri, kadar lemak menggunakan metode soxhlet, kadar protein menggunakan metode Kjeldahl, dan kadar karbohidrat menggunakan metode perhitungan *carbohydrate by difference*.

Prosedur pengujian kadar air berdasarkan metode AOAC tahun 2005 (Olagbemide & Ogunnusi, 2015). Instrumen *moisture analyzer* dihidupkan dan ditera. Sampel sebanyak 5 g ditempatkan dalam cawan aluminium di dalam instrumen, suhu pemanasan diatur pada 105 °C, kemudian ditutup dan ditunggu hingga hasil analisis kadar air ditampilkan.

Prosedur pengujian kadar abu menggunakan metode AOAC tahun 2005 (Olagbemide & Ogunnusi, 2015). Wadah dimasukkan ke dalam oven pada suhu 100° C selama kurang lebih satu jam, lalu ditimbang dan dicatat beratnya. Sampel ditimbang sebanyak 2 g lalu dipanaskan dalam tanur dengan suhu 550 °C selama delapan jam hingga diperoleh abu. Wadah didinginkan kemudian ditimbang. Kadar abu sampel dihitung dengan rumus persentase selisih berat sebelum dan sesudah pemanasan.

Prosedur pengujian kadar lemak menggunakan metode Pearson tahun 1976 (Olagbemide & Ogunnusi, 2015). Sampel dihaluskan dan diambil sebanyak 2 g. Labu ekstraksi ditimbang berat kosongnya dan dipasang pada alat destilasi soxhlet dengan pelarut n-heksana selama empat jam. Residu dalam labu ekstraksi diaduk dan ekstraksi dilanjutkan kembali selama dua jam dengan pelarut yang sama. Pelarut n-heksana yang telah mengandung ekstrak lemak diuapkan dengan pemanas air hingga agak pekat. Pengeringan diteruskan di dalam oven pada suhu 100° C hingga berat konstan. Kadar lemak dihitung menggunakan rumus persentase selisih berat labu sebelum dan setelah proses ekstraksi soxhlet.

Prosedur pengujian kadar protein menggunakan metode Pearson tahun 1976 (Olagbemide & Ogunnusi, 2015). Sampel dimasukkan ke dalam labu Kjeldahl lalu ditambahkan katalis K_2SO_4 sebanyak 1 g dan larutan H_2SO_4 pekat sebanyak 10 mL dan diDestruksi dalam lemari asam hingga cairan tidak berwarna. Sampel kemudian diangkat dan didinginkan. Setelah dingin, sampel dimasukkan ke dalam labu destilasi dan ditambahkan akuades sebanyak 50 mL, tiga tetes indikator PP dan larutan NaOH 40% hingga basa (warna biru pada kertas laksus), dan ditambahkan batu didih secukupnya. Larutan HCl 0,1 N sebanyak 10 mL dan dua tetes indikator metal merah dimasukkan ke dalam gelas piala sebagai penampung. Sampel didestilasi hingga menghasilkan filtrat sebanyak 50 mL. Filtrat tersebut dititrasi dengan larutan NaOH 0,1 N hingga berwarna kuning. Kadar protein didapat dengan menghitung nilai % N dan dikalikan faktor konversi 6,25.

C. Gelatinisasi dan Likuifaksi

Preparasi bahan dimulai dengan setiap jenis bahan baku dicuci dengan air bersih, dihaluskan, dan diperas menggunakan kain kasa ukuran 300 mesh sebanyak dua kali untuk diambil airnya yang mengandung pati. Air hasil perasan diendapkan selama 3 hari sehingga pati akan mengendap di dasar wadah. Pati yang telah terbentuk dipisahkan dari air, kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari, disaring, dan diayak sehingga diperoleh pati yang homogen.

Sebanyak 500 g pati dari setiap jenis bahan, masing-masing dicampur dengan 2,3 L aquades kemudian dipanaskan selama 30 menit pada suhu 75 °C di dalam panci disertai dengan pengadukan. Larutan pati yang semula encer akan berubah wujudnya menjadi seperti bubur kental. Bubur pati ditambahkan enzim α -amilase dengan volume enzim sebanyak 3 mL. Campuran dipanaskan selama 30 menit dan suhu dijaga 80–90 °C dengan pengadukan (Hargono & Suryanto, 2015).

D. Pra-sakarifikasi

Setelah proses likuifaksi selesai, larutan didinginkan hingga suhu 60 °C. Kemudian dilanjutkan dengan proses pra-sakarifikasi dengan penambahan enzim gluko-amilase dengan volume enzim sebanyak 3 mL pada masing masing jenis bahan baku. Proses ini berlangsung selama 1,5 jam pada suhu 60–62 °C. Selama proses likuifaksi dan pra-sakarifikasi pH diatur dalam range 4–5 dengan menggunakan larutan HCl 0,1 N dan larutan NaOH 0,1 N.

Larutan kemudian didinginkan selama 24 jam hingga mencapai suhu ruangan. Hasil dari proses pra-sakarifikasi kemudian diuji kadar gula menggunakan refraktometer (Hargono & Suryanto, 2015).

Refraktometer merupakan alat untuk mengukur indeks bias cairan atau padatan dalam cairan dengan presentase padatan 0–95%. Cara kerja refraktometer didasarkan pada hukum Snellius yaitu sudut kritis yang dibentuk oleh cahaya yang datang akan menghasilkan kadar zat yang dianalisis. Satuan skala pembacaan adalah %brix (Misto & Mulyono, 2017).

E. Fermentasi

Ragi *Saccharomyces cerevisiae* ditambahkan ke dalam larutan substrat masing-masing jenis bahan baku dengan massa ragi sebanyak 20 g. Masing-masing campuran ditambahkan nutrien berupa NPK dan urea sebanyak 7 g/L. Proses fermentasi dilakukan pada suhu 25–30 °C selama enam hari dengan kisaran pH 4–5. Proses berlangsung secara anaerob. Hasil proses fermentasi disaring menggunakan kain saring untuk memisahkan endapan dengan larutan etanol-air (Hargono & Suryanto, 2015).

F. Destilasi dan Analisis

Bioetanol hasil fermentasi dimurnikan dengan cara destilasi. Campuran etanol-air hasil fermentasi didestilasi pada suhu 80 °C selama 2–3 jam (Hanum et al., 2013). Bioetanol yang telah dimurnikan dianalisis secara kuantitatif menggunakan instrumen *gas chromatography* (GC)



Gambar 1. Buah dan daun pandan laut
Figure 1. Fruit and leaf of sea pandanus



Gambar 2. Limbah *bran* dan *pollard* gandum
Figure 2. Bran and pollard waste

Shimadzu. Gas helium digunakan sebagai gas eluen dan rentang suhu yang digunakan untuk analisis dimulai dari 50°C sampai 150°C, dengan kenaikan suhu setiap 5°C.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Karakteristik dan Hasil Analisis Proksimat Bahan Baku

Daun pandan laut berbentuk pita, kaku, hijau kebiruan dan berlilin, bertulang daun sejajar, dengan duri tempel pada tepi daun dan sisi bawah ibu tulang daun, berujung meruncing.

Buah pandan laut merupakan buah majemuk (terdiri dari banyak buah tunggal), sangat bervariasi dalam bentuk, ukuran, dan warnanya (Prasaja et al., 2015). Bentuk buah dan daun pandan laut ditampilkan pada Gambar 1.

Limbah gandum berupa sisa material yang terbentuk dari pemrosesan biji gandum di industri. Bentuk fisik bahan *bran* dan *pollard* ditampilkan pada Gambar 2.

Analisis proksimat dilakukan untuk mengetahui kadar metabolit primer dan sebagai uji penegasan bahwa bahan-bahan tersebut memiliki kadar karbohidrat yang dominan.

Tabel 1. Hasil uji proksimat tanaman pandan laut dan limbah industri gandum
Table 1. Results of proximate analysis of sea pandanus and wheat industry waste

Parameter Uji (Parameters)	Percentase (Percentage, %)				Rata-rata (Average, %)	Standar Deviasi (Standard Deviation)
	Daun Pandan Laut (Sea <i>Pandanus Leaves</i>)	Daging Buah Pandan Laut (Sea <i>Pandanus Fruits</i>)	Bran	Pollard		
Kadar protein (Protein content)	6,21	4,43	12,65	14,03	9,33	4,72
Kadar abu (Ash content)	4,74	5,81	4,59	3,50	4,66	0,95
Kadar air (Water content)	10,53	10,19	11,17	11,61	10,88	0,64
Kadar lemak (Lipid content)	8,56	7,73	3,50	2,95	5,69	2,87
Kadar karbohidrat (Carbohydrate content)	69,96	71,84	68,09	67,91	69,45	1,84
Total	100	100	100	100		

Tabel 2. Perbandingan efisiensi rendemen pati
Table 2. Efficiency comparison of starch yield

Bahan (Materials)	Daun Pandan Laut (Sea Pandanus Leaves)	Buah Pandan Laut (Sea Pandanus Fruits)	Bran	Pollard
Jumlah bahan baku awal (Raw material quantity, kg)	14	4	1	1
Jumlah pati (Amount of starch, g)	499	496	492	499
Efisiensi berdasarkan rendemen pati dan berat bahan baku awal (Efficiency based on starch yield and raw material weight, g/kg)	36	124	492	499

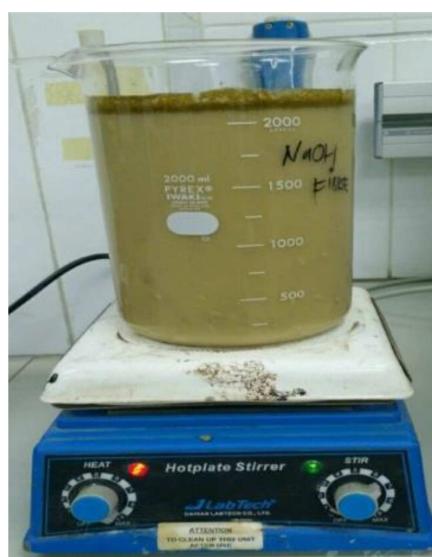
Hal tersebut sebagai syarat untuk mendapatkan senyawa-senyawa golongan gula, yang nantinya pada proses fermentasi akan diubah menjadi etanol. Kadar karbohidrat memang menjadi yang paling dominan untuk semua jenis bahan. Kadar karbohidrat yang relatif rendah akan menghasilkan rendemen bioetanol yang rendah pula, karena monosakarida hasil pemecahan polisakarida juga semakin sedikit, sehingga senyawa substrat yang terlibat dalam proses fermentasi juga sedikit (Sumarno & Mejaya, 2016).

Hasil uji proksimat keempat jenis bahan baku yang digunakan pada penelitian disajikan pada Tabel 1. Nilai kadar air yang didapat relatif tidak terlalu besar dan tidak berbeda jauh antara keempat jenis bahan. Kadar air tertinggi didapat pada *pollard* (11,61%) dan yang terendah pada daging buah pandan laut (10,19%). Kadar

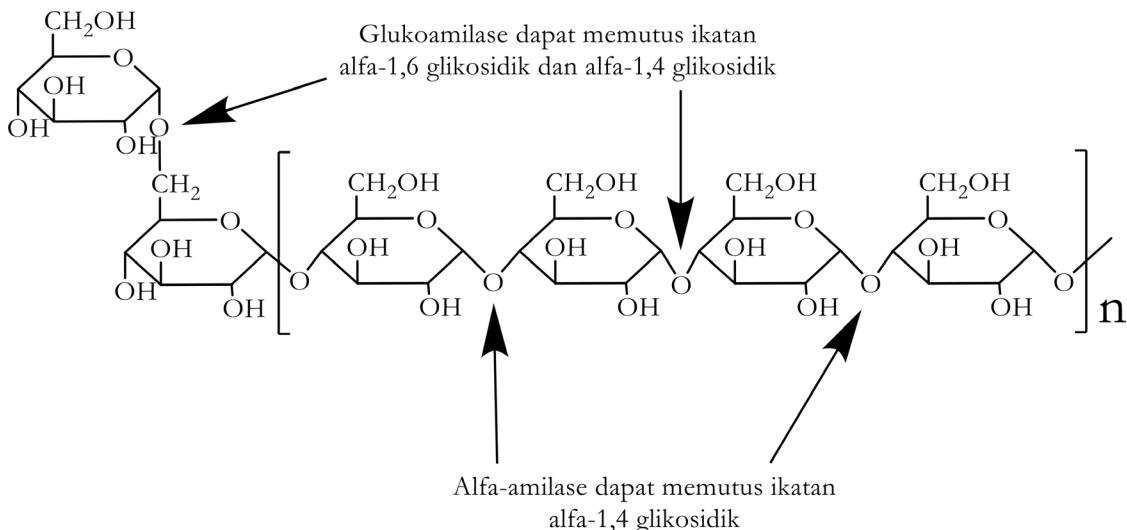
abu tertinggi diperoleh pada buah pandan laut (5,81%) dan yang terendah pada gandum *pollard* (3,50%).

Berdasarkan nilai standar deviasi yang didapat, hasil pengujian kadar protein memiliki nilai standar deviasi yang tinggi dikarenakan rentang data atau variasi yang didapat cukup besar. Data terkecil pada kadar protein adalah 4,43% sedangkan yang tertinggi 14,03%. Data hasil pengujian kadar lemak, kadar abu, dan kadar air relatif memiliki rentang data yang lebih sempit sehingga nilai standar deviasi yang didapat rendah.

Jumlah pati yang ditargetkan untuk setiap bahan baku adalah 500 g dan jumlah bahan baku menyesuaikan kebutuhan tersebut. Sehingga jumlah bahan baku harus ditambahkan jika belum diperoleh jumlah yang mendekati 500 g pati. Berdasarkan hasil preparasi pati, nilai efisiensi rendemen pati terbaik didapat pada



Gambar 3. Hasil proses hidrolisis pati
Figure 3. Results of starch hydrolysis process



Gambar 4. Skema pemutusan ikatan glikosidik oleh enzim α -amilase dan glukoamilase
Figure 4. Scheme of chemical bond breaking by α -amylase and glucoamylase enzyme

bran dan pollard, sedangkan daun pandan laut dan daging buah pandan laut membutuhkan jumlah bahan baku yang jauh lebih banyak untuk mendapatkan jumlah mendekati 500 g pati. Rendemen pati yang didapat dari hasil preparasi bahan baku disajikan pada Tabel 2.

B. Mekanisme Reaksi Hidrolisis Pati

Pemrosesan khusus untuk buah pandan laut hanya memanfaatkan daging buahnya saja sementara bijinya tidak digunakan karena teksturnya sangat keras dan sulit untuk diolah. Diperoleh data bahwa dari berat total 32,5 kg buah pandan laut, berat bijinya mencapai 28,5 kg, dan berat daging buah 4 kg dapat menghasilkan pati seberat 1 kg. Jumlah yang relatif sedikit namun dimanfaatkan sebaik mungkin, karena buah pandan laut ini berbuah sekali dalam setahun.

Secara garis besar, tahap hidrolisis pati adalah gelatinisasi, likuifikasi, dan sakarifikasi. Prinsip hidrolisis pati adalah pemutusan rantai polimer pati menjadi unit-unit monosakarida yaitu glukosa ($C_6H_{12}O_6$). Gelatinisasi yaitu pemecahan pati yang berbentuk granular menjadi suspensi yang *viscous*.

Granular pati membengkak akibat peningkatan volume oleh air dan tidak dapat kembali lagi ke kondisi semula. Pemutusan ikatan pada karbohidrat menjadi glukosa dapat menggunakan beberapa metode hidrolisis diantaranya metode kimiawi (hidrolisis asam) atau enzimatik (Usmana et al., 2012). Hidrolisis

secara enzimatis lebih menguntungkan dibandingkan hidrolisis asam, karena prosesnya lebih spesifik, kondisi prosesnya dapat dikontrol, biaya pemurnian lebih murah, dan kerusakan warna dapat diminimalkan (Rahmayanti, 2010). Hasil hidrolisis pati pada buah pandan disajikan pada Gambar 3.

Enzim α -amilase berperan mengubah polisakarida menjadi monosakarida dengan cara memotong ikatan α -1,4 glikosidik pada molekul pati (karbohidrat) sehingga terbentuk molekul-molekul karbohidrat yang lebih pendek. Suhu optimum enzim α -amilase yaitu sekitar 80–90 °C. Hasil dari pemotongan enzim ini antara lain maltosa, maltotriosa, dan glukosa, sedangkan mekanisme reaksi pada enzim glukoamilase selain memotong ikatan α -1,4 glikosidik, enzim ini juga dapat memecah ikatan α -1,6 meskipun dengan frekuensi yang lebih rendah. Suhu optimum enzim glukoamilase berkisar 60–62 °C dan pH optimum 4–5, dengan hasil utama pemecahannya adalah glukosa. Glukoamilase adalah salah satu enzim kelas 15 yang berperan dalam proses sakarifikasi pati (Saini et al. 2017). Skema pemutusan ikatan glikosidik oleh enzim α -amilase dan glukoamilase ditampilkan pada Gambar 4.

Proses hidrolisis dipengaruhi beberapa faktor, antara lain jumlah kandungan karbohidrat pada bahan baku, pH operasi atau konsentrasi asam yang digunakan, waktu hidrolisis, suhu hidrolisis, dan katalisator (Sari & Ernawati, 2017). Selama



Gambar 5. Analisis kadar gula menggunakan refraktometer
Figure 5. Sugar content analysis by refractometer

proses gelatinisasi, likuifikasi sampai proses sakarifikasi, perlu dilakukan pengadukan. Hal ini bertujuan untuk meningkatkan difusi sehingga transfer material menjadi meningkat dari permukaan partikel ke *bulk solution* (Hidayati et al., 2016).

C. Kadar Gula Hasil Hidrolisis Pati dan Mekanisme Reaksi Fermentasi

Kadar gula hasil proses hidrolisis pati dianalisis menggunakan instrumen refraktometer untuk melihat konsentrasi glukosa yang didapatkan, yang merupakan substrat untuk fermentasi alkohol. Proses analisis kadar gula menggunakan refraktometer disajikan pada Gambar 5.

Hasil analisis kadar gula sebelum proses fermentasi didapatkan bahwa bahan yang memiliki nilai rata-rata kadar gula tertinggi adalah bahan *bran* sebesar 7,35% brix, sedangkan yang terendah adalah daun pandan laut yaitu sebesar 2,74% brix. Secara umum untuk keempat jenis bahan, perbedaan ini disebabkan efektivitas enzim α -amilase dan glukoamilase dalam menghidrolisis pati dari bahan-bahan dasar tersebut. Semakin tinggi nilai kadar gula, maka

potensi keberhasilan fermentasi alkohol semakin besar, dengan kata lain potensi didapatkannya rendemen bioetanol dengan jumlah relatif banyak dan tingkat kemurnian yang tinggi juga semakin besar. Hasil analisis kadar gula secara lengkap menggunakan refraktometer disajikan pada Tabel 3.

Proses selanjutnya setelah didapatkan hasil analisis kadar gula yaitu fermentasi. Proses fermentasi pada penelitian ini disajikan pada Gambar 6.

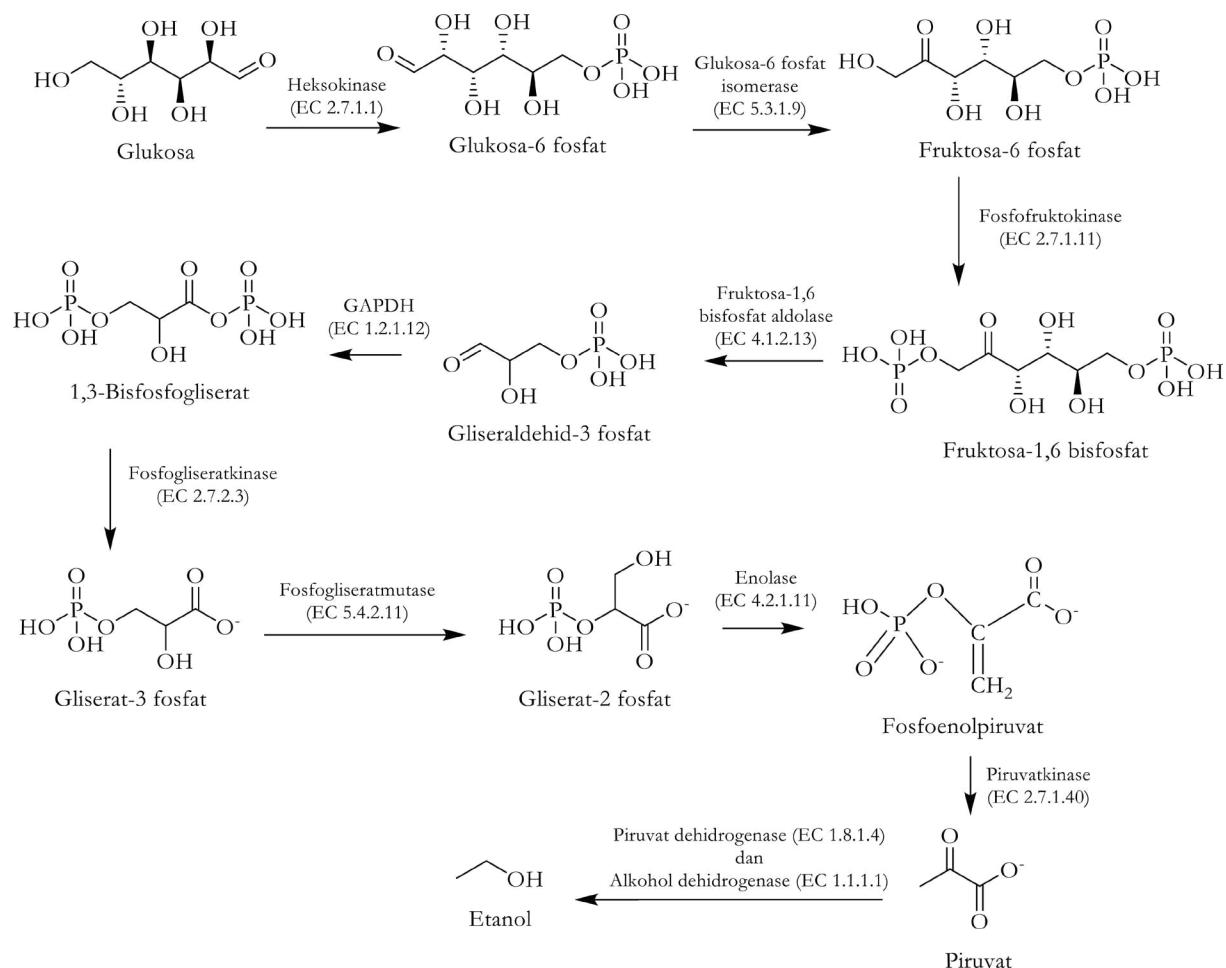


Gambar 6. Proses fermentasi
Figure 6. Fermentation process

Tabel 3. Hasil analisis kadar gula menggunakan refraktometer

Table 3. Results of sugar analysis by refractometer

Sampel (Samples)	Brix (%)			
	Daun Pandan Laut (<i>Sea Pandanus Leaves</i>)	Buah Pandan Laut (<i>Sea Pandanus Fruits</i>)	Bran	Pollard
Data 1	2,8	3,0	7,6	5,9
Data 2	2,7	3,6	7,1	6,1
Rata-rata (<i>Average</i>)	2,7	3,3	7,3	6,0



Gambar 7. Mekanisme reaksi fermentasi glukosa melalui jalur Embden-Meyerhof-Parnas
Figure 7. Reaction mechanism of glucose fermentation by Embden-Meyerhof-Parnas pathway

Sumber (Source): (Bayle et al., 2015)

Fermentasi dilakukan selama enam hari karena *Saccharomyces cerevisiae* memiliki keterbatasan untuk hidup pada kadar alkohol tertentu. Hal tersebut bertujuan agar diperoleh kadar etanol tinggi dan produksi gas tinggi tetapi tidak mengganggu pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae*, yang dapat tumbuh pada kondisi pH 5–6 (Azizah et al., 2012). Hasil proses fermentasi adalah campuran etanol dan air. Proses destilasi setelah fermentasi selesai dilakukan bertujuan memisahkan air dan bioetanol yang masih tercampur. Bioetanol yang menjadi uap akibat pemanasan pada suhu sesuai titik didihnya akan mengalami pengembunan setelah melewati saluran pendingin/kondensor dan ditampung di labu erlenmeyer. Meskipun suhu proses destilasi dijaga sebaik mungkin, pada praktiknya ada senyawa-senyawa lain yang memiliki titik didih yang berdekatan

dengan etanol yang ikut menguap dan terbawa bersama etanol, menyebabkan tingkat kemurnian etanol berkurang.

Mekanisme reaksi fermentasi glukosa menjadi etanol oleh *Saccharomyces cerevisiae* berjalan melalui jalur Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) (Bayle, Akoka, Remaud, & Robins, 2015). Mekanisme reaksi tersebut memiliki kemiripan dengan mekanisme reaksi yang kita kenal sebagai proses glikolisis, dengan melibatkan enzim-enzim yang bekerja spesifik untuk senyawa-senyawa hasil penguraian glukosa. Glukosa memasuki sebagian besar sel oleh pembawa spesifik yang mengangkutnya dari bagian luar sel ke dalam sitosol. Enzim glikolisis terletak di sitosol, terasosiasi sesama enzim atau terikat secara longgar dengan organel sel yang lain. Skema mekanisme reaksi Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) yang dijalani oleh *Saccharomyces cerevisiae* disajikan pada Gambar 7.

Tabel 4. Perbandingan rendemen bioetanol dan efisiensi dari tanaman pandan laut dan limbah industri gandum**Table 4. Comparison of bioethanol recovery and efficiency of sea pandanus and wheat industry waste**

Bahan (Materials)	Daun Pandan Laut (<i>Sea Pandanus Leaves</i>)	Daging Buah Pandan Laut (<i>Sea Pandanus Fruits</i>)	Bran	Pollard
Kadar karbohidrat bahan (Carbohydrate content in materials, %)	69,9	71,8	68,1	67,9
Jumlah bahan baku awal (Raw material quantity, kg)	14,0	4,0	1,0	1,0
Jumlah pati (Amount of starch, g)	498,5	496,0	491,7	499,2
Kadar glukosa (Glucose content, % brix)	2,7	3,3	7,3	6,0
Hasil destilasi (Distillation yield, mL)	390,0	40,0	80,0	73,0
Kadar etanol berdasarkan GC (Ethanol content based on GC, mL)	79,3	95,0	97,6	37,3
Rendemen bioetanol (Bioethanol recovery, mL*)	309,0	38,0	78,0	27,0
Efisiensi berdasarkan rendemen bioetanol dan jumlah pati (mL/g) (Efficiency based on bioethanol yield and starch amount, mL/g)	0,62	0,08	0,16	0,05

Keterangan (Remarks): *) Rendemen bioetanol akhir dihitung dengan mengalikan volume hasil destilasi dengan persentase kadar etanol hasil analisis *gas chromatography* (GC) (*The final bioethanol recovery is calculated by multiplying the volume of the distillation results by the percentage of ethanol content from the gas chromatography (GC) analysis.*)

Hasil rendemen akhir bioetanol diperoleh setelah hasil fermentasi selesai didestilasi. Rendemen bioetanol akhir dihitung dengan mengalikan volume hasil destilasi dengan persentase kadar etanol hasil analisis *gas chromatography* (GC). Rendemen bioetanol yang didapatkan dari bahan daun pandan laut sebanyak 309 mL, buah pandan laut sebanyak 38 mL, sementara *bran* dan *pollard* masing-masing 78 mL dan 27 mL. Efisiensi hasil rendemen bioetanol dari keempat jenis bahan disajikan pada Tabel 4.

Berdasarkan perbandingan jumlah rendemen dan nilai efisiensi, daun pandan laut adalah yang tertinggi (309 mL dan 0,62 mL/g). Hasil tersebut menunjukkan bahwa sintesis bioetanol dalam penelitian ini, meskipun dari jumlah awal pati yang sama, dipengaruhi kinerja enzim α -amilase dan glukoamilase pada proses hidrolisis pati. Selain hal itu meskipun jumlah ragi dan waktu fermentasi sama, tetapi kinerja *Saccharomyces cerevisiae* ketika proses fermentasi juga ikut menentukan, terlihat dari tidak liniernya kadar glukosa pada bahan

dalam satuan % brix terhadap jumlah rendemen bioetanol. *Bran* memiliki nilai kadar gula tertinggi, tetapi daun pandan laut yang kadar gulanya paling rendah dibandingkan bahan lain menghasilkan rendemen yang paling banyak.

Perbandingan tersebut hanya meninjau dari segi rendemen, sedangkan perbandingan kadar kemurnian bioetanol dibahas berdasarkan hasil uji kuantitatif.

D. Uji Kuantitatif Bioetanol

Perbedaan kadar kemurnian bioetanol dari setiap jenis bahan diakibatkan dari perbedaan kinerja *Saccharomyces cerevisiae* ketika proses fermentasi. Senyawa selain etanol yang merupakan hasil samping mekanisme reaksi fermentasi atau zat pengotor (*impurities*) yang didapat, sebagian besar adalah senyawa-senyawa golongan alkohol (metanol, sekunder butil alkohol, propanol, butanol, pentanol) dan keton (aseton, metil etil keton, dan metil isobutil keton). Senyawa alkohol dan keton tersebut memiliki titik didih yang

Tabel 5. Perbandingan kemurnian bioetanol dari tanaman pandan laut dan limbah industri gandum

Table 5. Comparison of bioethanol purity from sea pandanus and wheat industry waste

Senyawa (Compound)	Konsentrasi (Concentration, %)			
	Daun Pandan Laut (Sea Pandanus Leaves)	Daging Buah Pandan Laut (Sea Pandanus Fruits)	Bran	Pollard
Metanol (methanol)	16,2400	3,1476	0,3265	0,4378
Etanol (ethanol)	79,2700	95,0248	97,6411	37,2803
Etil asetat (ethyl acetate)	-	0,1793	0,1765	0,2919
2-butanol	4,4900	-	-	-
n-propanol	-	0,6010	-	-
i-butanol	-	0,3798	0,0384	39,8125
Aseton (acetone)	-	-	0,2197	19,4572
Metil etil keton (methyl ethyl ketone)	-	-	1,3814	2,7203
Metil isobutil keton (methyl isobutyl ketone)	-	0,1156	0,2164	-
Krisin (chrysine)	-	0,3709	-	-
Total	100	100	100	100

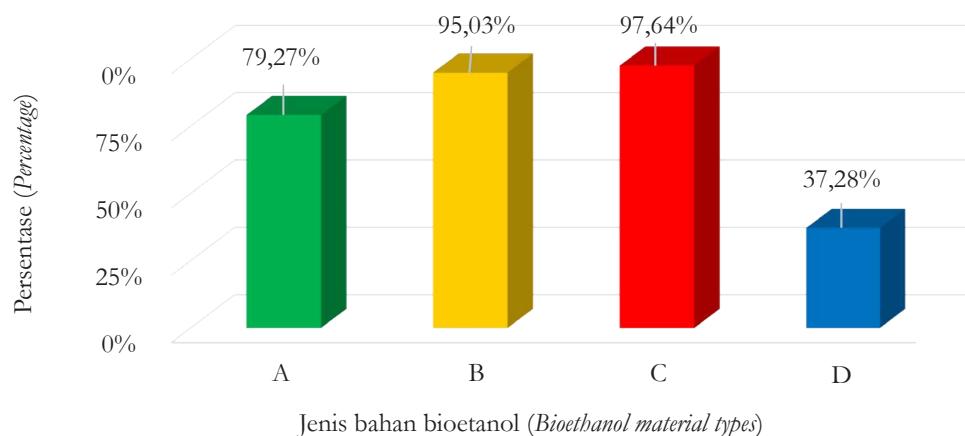
berdekatan dengan titik didih etanol, sehingga besar kemungkinan untuk ikut terbawa sebagai destilat. Senyawa golongan asetat seperti etil asetat juga dimungkinkan terbentuk jika kondisi fermentasi tidak sepenuhnya anaerob atau masih terdapat sedikit oksigen (Bayle et al., 2015).

Hasil analisis GC bioetanol dari bahan daun pandan laut, pada puncak pertama muncul senyawa metanol pada waktu retensi 2,035% dan konsentrasi sebesar 16,24%. Pada puncak kedua didapat senyawa etanol pada waktu retensi 2,105% dan konsentrasi 79,27%. Puncak ketiga didapat senyawa sekunder butil alkohol dengan waktu retensi 2,382% dan konsentrasi 4,49%. Hasil analisis bioetanol buah pandan laut menunjukkan bahwa etanol yang dihasilkan dari hasil fermentasi selama enam hari dengan waktu retensi 4,084 menit dan luas area 5065749 menghasilkan konsentrasi etanol sebesar 95,03%. Kandungan zat pengotor lain yaitu metanol 3,15%, propanol 0,42%, iso butil alkohol 0,38%, etil asetat 0,18%, dan lain-lain.

Hasil analisis bioetanol limbah bran gandum pada waktu retensi 4,073 menit dan luas area 3.488.773 menghasilkan konsentrasi etanol sebesar 97,64%. Kandungan zat pengotor lain

yaitu metanol 0,33%, aseton 0,11%, metil-etil-keton 1,38%, dan senyawa lain dengan kadar yang kecil. Hasil analisis limbah pollard gandum pada waktu retensi 4,073 menit dan luas area 3.488.773 menghasilkan konsentrasi etanol sebesar 97,64%. Kandungan zat pengotor lain yaitu metanol 0,33%, aseton 0,11%, metil-etil-keton 1,38%, dan senyawa lain dengan kadar yang kecil. Rangkuman hasil analisis GC bioetanol dari keempat jenis bahan disajikan pada Tabel 5.

Berdasarkan senyawa-senyawa pengotor (*impurities*) yang berhasil dideteksi dari analisis GC, menunjukkan bahwa reaksi enzimatis baik pada proses hidrolisis maupun proses fermentasi yang dijalankan oleh *Saccharomyces cerevisiae* menghasilkan juga produk-produk samping dari tahapan-tahapan mekanisme reaksi yang ditampilkan pada Gambar 4 dan Gambar 7. Senyawa metanol yang terdapat pada seluruh variasi sumber bioetanol dapat berasal dari reaksi oksidasi metana (Markowska & Michalkiewicz, 2009), hal ini dimungkinkan ketika hasil fermentasi menghasilkan metana dan selama proses sintesis berlangsung metana tersebut bereaksi dengan oksigen.



Keterangan (Remarks):

- = daun pandan laut (*Rea pandanus leaves*) (A)
- = limbah bran (*Bran waste*) (C)
- = buah pandan laut (*Sea pandanus fruit*) (B)
- = limbah pollard (*Pollard waste*) (D)

Gambar 8. Perbandingan tingkat kemurnian bioetanol berdasarkan jenis bahan
Figure 8. Comparation of bioethanol purity based on raw material types

Senyawa etil asetat sebagai pengotor dapat terbentuk melalui tahapan yang dimulai dari reaksi glukosa hasil proses hidrolisis dengan enzim heksokinase menghasilkan xylulosa 5-fosfat. Senyawa produk tersebut bereaksi dengan enzim fosfoketolase menghasilkan asetyl fosfat, dan asetyl fosfat selanjutnya bereaksi dengan enzim asetat kinase menghasilkan senyawa golongan asetat (Boumba et al., 2008).

Senyawa aseton sebagai pengotor dapat terbentuk pada proses fermentasi setelah terbentuk senyawa piruvat. Piruvat akan bereaksi dengan enzim piruvat-ferredoksin oksidoreduktase menghasilkan asetyl koenzim-A, yang akan bereaksi dengan enzim asetyl-KoA-asetyltransferase menghasilkan asetoasetil koenzim-A. Senyawa produk tersebut bereaksi dengan enzim asetoasetil-KoA-asetat koenzim A transferase menghasilkan asetoasetat, yang akan bereaksi dengan asetoasetate dekarboksilase menghasilkan aseton. Sedangkan butanol memiliki mekanisme awal yang sama dengan aseton sampai pada tahap terbentuknya asetoasetil koenzim-A, namun selanjutnya bereaksi dengan L(+)-b-hidroksibutiril-KoA dehidrogenase, krotonase dan butiril-KoA dehidrogenase menghasilkan butiril-KoA. Senyawa tersebut akan bereaksi dengan butiraldehid dehidrogenase menghasilkan butiraldehid, yang akan bereaksi dengan butanol dehidrogenase menghasilkan butanol (Boumba et al., 2008).

Senyawa metil etil keton dapat terbentuk sebagai hasil dari reaksi dehidrogenasi 2-butanol (Astashkina et al., 2016). Selain itu pengotor lain yaitu metil isobutil keton dapat terbentuk sebagai hasil reaksi kondensasi aldol dari aseton menghasilkan diaseton alkohol, yang selanjutnya mengalami dehidrasi menjadi metil oksida, kemudian hidrogenasi membentuk metil isobutil keton (Torres et al., 2007).

Kemurnian bioetanol pada penelitian ini jauh lebih tinggi dibandingkan penelitian-penelitian sebelumnya, dengan waktu fermentasi yang sama, yaitu selama enam hari. Penelitian sebelumnya antara lain jerami padi menghasilkan konsentrasi etanol sebesar 0,24% dan kayu pohon dao sebesar 0,98% (Baharuddin et al., 2016). Kulit pisang kepok menghasilkan konsentrasi etanol sebesar 86,22% (Wusnah et al., 2016). Kulit singkong menghasilkan kadar etanol sebesar 5,2% (Erna et al., 2016). Perbandingan tingkat kemurnian bioetanol dari perbedaan jenis bahan yang digunakan di dalam penelitian ini disajikan pada Gambar 8.

IV. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan perbandingan jumlah rendemen dan nilai efisiensi, daun pandan laut adalah bahan yang memiliki potensi untuk sintesis bioetanol dengan jumlah rendemen dan efisiensi tertinggi

(309 mL dan 0,62 mL/g). Kadar kemurnian bioetanol hasil analisis *gas chromatography* (GC) dari limbah *bran* gandum memiliki kadar kemurnian tertinggi sebesar 97,64%. Tingkat kemurnian bioetanol dari daun pandan laut, buah pandan laut, dan limbah *pollard* berturut-turut adalah 79,27%; 95,03%; dan 37,28%. Efisiensi berdasarkan rendemen bioetanol dan jumlah pati dari daun pandan laut, daging buah pandan laut, limbah *bran*, dan limbah *pollard* berturut-turut adalah 0,62 mL/g; 0,08 mL/g; 0,16 mL/g; dan 0,05 mL/g.

B. Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini, maka disarankan agar ada penelitian lanjutan dengan menggunakan metode lain untuk sintesis bioetanol menggunakan bahan-bahan yang sama dengan penelitian ini, agar jumlah rendemen dan kadar kemurnian bioethanol dapat lebih luas dibandingkan. Selain itu juga dapat dilakukan penelitian lanjutan mengenai aplikasi bioetanol dari tanaman pandan laut (*Pandanus tectorius*) dan limbah industri gandum ini. Aplikasi dapat berupa pencampuran bioetanol dengan bahan bakar bensin, kemudian diuji coba pada mesin-mesin kendaraan berbahan bakar bensin.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi (RISTEKDIKTI) atas dana penelitian yang diberikan. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada LLDIKTI Wilayah IV yang memfasilitasi program hibah penelitian dosen pemula (PDP) periode 2018/2019.

KONTRIBUSI PENULIS

Ide, desain, dan rancangan percobaan dilakukan oleh AMI; percobaan dan perlakuan pengujian dilakukan oleh AMI, AFP, GP, MA, TA dan PR; pengumpulan data dan analisis data dilakukan oleh AMI dan AFP; penulisan manuskrip oleh AMI; perbaikan dan finalisasi manuskrip dilakukan oleh AMI.

DAFTAR PUSTAKA

- Abduh, M. Y., Manurung, R., Faustina, A., Affanda, E., & Siregar, I. R. H. (2017). Bioconversion of *Pandanus tectorius* using black soldier fly larvae for the production of edible oil and protein-rich biomass. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 5(1), 803–809.
- Astashkina, A., Kolbysheva, Y., Nikiforova, A., & Bakibayev, A. (2016). Microbiological synthesis of methyl ethyl ketone. *MATEC Web of Conferences*, 85(01022), 1–9. doi: 10.1051/matecconf/20168501022.
- Azizah, N., Al-Baarri, A., & Mulyani, S. (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*, 1(2), 72–77.
- Baharuddin, M., Sappewali, S., Karisma, K., & Fitriyani, J. (2016). Produksi bioetanol dari jerami padi (*Oryza sativa L.*) dan kulit pohon dao (*Dracontiamelon*) melalui proses Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak (SFS). *Chimica et Natura Acta*, 4(1), 1. doi: 10.24198/cna.v4.n1.10441.
- Bayle, K., Akoka, S., Remaud, G. S., & Robins, R. J. (2015). Non-statistical ^{13}C distribution during carbon transfer from glucose to ethanol during fermentation is determined by the catabolic pathway exploited. *Journal of Biological Chemistry*, 290(7), 4118–4128. doi: 10.1074/jbc.M114.621441.
- Boumba, V. A., Ziavrou, K. S., & Vougiouklakis, T. (2008). Biochemical pathways generating post-mortem volatile compounds co-detected during forensic ethanol analyses. *Forensic Science International*, 174, 133–151. doi: 10.1016/j.forsciint.2007.03.018
- Erna, Said, I., & Abram, P. H. (2016). Bioetanol dari limbah kulit singkong (*Manihot esculenta Crantz*) melalui proses fermentasi. *Jurnal Akademika Kimia*, 5(3), 121–126.

- ESDM. (2015). Perubahan ketiga atas peraturan Menteri Energi dan Sumber Daya Mineral Nomor 32 Tahun 2008 tentang penyediaan, pemanfaatan, dan tata niaga bahan bakar nabati (biofuel) sebagai bahan bakar lain. Dalam *Peraturan Menteri Energi dan Sumber Daya Mineral Republik Indonesia Nomor 12 Tahun 2015* (pp. 1–6).
- Hanum, F., Pohan, N., Rambe, M., Primadony, R., & Ulyana, M. (2013). Pengaruh massa ragi dan waktu fermentasi terhadap bioetanol dari biji durian. *Jurnal Teknik Kimia USU*, 2(4), 49–54.
- Hargono, & Suryanto. (2015). Rancang bangun alat distilasi satu tahap untuk memproduksi bioetanol grade teknis. *Jurnal Politeknik Negeri Semarang*, 10(1), 9–14.
- Hidayati, R. N., Qudsi, P., & Wicakso, D. R. (2016). Hidrolisis enzimatis sampah buah-buahan menjadi glukosa sebagai bahan baku bioetanol. *Konversi*, 5(1), 18–21.
- Kogoya, B., Guritno, B., Ariffin, & Suryanto, A. (2014). Bioactive components of pandan's fruits from Jaya Wijaya. *IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology (IOSR-JESTFT)*, 8(8), 1–8.
- Markowska, A., & Michalkiewicz, B. (2009). Biosynthesis of methanol from methane by *Methylosinus trichosporium* OB3b. *Versita Chemical Papers*, 63(2), 105–110. doi: 10.2478/s11696-008-0100-5.
- Misto, & Mulyono, T. (2017). Desain refraktometer prisma untuk pengukuran kadar gula berdasarkan perubahan sudut puncak secara terkomputerisasi. *Prosiding SENSEI 2017*, 1, 203–206.
- Olagbemide, P. T., & Ogunnusi, T. A. (2015). Proximate analysis and chemical composition of cortinarius species. *European Journal of Advanced Research in Biological and Life Sciences*, 3(3), 1–9.
- Prasaja, D., Muhadiono, & Hilwan, I. (2015). Etnobotani pandan (*Pandanaceae*) di Taman Nasional Bukit Duabelas, Jambi. *Berita Biologi*, 14(2), 121–129.
- Rahmayanti, D. (2010). Pemodelan dan optimasi hidrolisa pati menjadi glukosa dengan metode *Artificial Neural Network-Genetic Algorithm (ANN-GA)* [skripsi]. Universitas Diponegoro.
- Saini, R., Saini, H. S., & Dahiya, A. (2017). Amylases: Characteristics and industrial applications. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(4), 1865–1871.
- Sari, N. K., & Ernawati, D. (2017). *Teori dan aplikasi pembuatan bioethanol dari selulose (bambu)*. Surabaya: Jakad Media Publishing.
- Sumarno, & Mejaya, M. J. (2016). Pertanian dan Produksi Gandum di Dunia. Dalam *Gandum: peluang pengembangan di Indonesia* (pp. 1–14). Bogor: Indonesian Agency for Agricultural Research and Development (IAARD) Press.
- Torres, G., Apesteguía, C. R., & Di Cosimo, J. I. (2007). One-step Methyl Isobutyl Ketone (MIBK) synthesis from 2-propanol: catalyst and reaction condition optimization. *Applied Catalysis A: General*, 317(2), 161–170. doi: 10.1016/j.apcata.2006.10.010.
- Usmana, A. S., Rianda, S., & Novia. (2012). Pengaruh volume enzim dan waktu fermentasi terhadap kadar etanol (bahan baku tandan kosong kelapa sawit dengan pretreatment alkali). *Jurnal Saintia Kimia*, 18(2), 17–25.
- Wusnah, Bahri, S., & Hartono, D. (2016). Proses Pembuatan Bioetanol dari kulit pisang kepok (*Musa acuminata* B.C) Secara Fermentasi. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*, 5(1), 57–65.