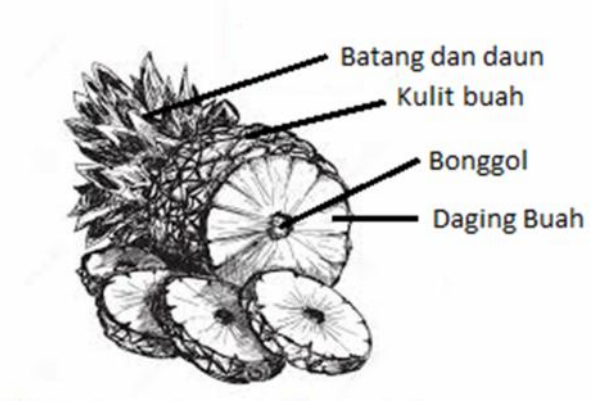
II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Ampas Jus Industri Nanas

Nanas merupakan tanaman buah berupa semak yang memiliki nama ilmiah *Ananas comosus*. Dalam bahasa Inggris disebut *pineapple* dan orang-orang Spanyol menyebutnya *pina*. Penanaman nanas di dunia berpusat di negara-negara Brazil, Hawaii, Afrika Selatan, Kenya, Pantai Gading, Mexico dan Puerte Rico. Di Asia tanaman nanas ditanam di negara-negara Thailand, Filipina, Malaysia dan Indonesia yang terdapat di daerah Sumatera Utara, Jawa Timur, Riau, Sumatera Selatan dan Jawa Barat (Kementrian Pertanian, 2000). Menurut Informasi Komoditas Holtikultura (2013), Provinsi Lampung merupakan sentra produksi nenas terbesar di Indonesia. Produksi nanas di Provinsi Lampung pada tahun 2013 mencapai 722.620 ton (Badan Pusat Statistik, 2014). Kabupaten dengan produksi nenas terbesar ialah Kab. Lampung Tengah dengan produksi 50.420 ton atau 99,78% dari total produksi nenas Provinsi Lampung. Tingginya produksi nanas di Lampung Tengah sejalan adanya agroindustri pengolahan nanas terbesar di dunia yang mampu memproduksi nanas kaleng hingga 200.000 ton per tahun (Gatra News, 2015).

Semakin tinggi produksi nanas kaleng maka semakin tinggi pula produksi limbahnya. Salah satu limbah dari pabrik penghasil nanas kaleng ialah ampas jus nanas. Ampas jus nanas merupakan hasil ektraksi (jus) dari limbah

padat pabrik pengalengan nanas yang berupa kulit dan bonggol nanas. Pada pabrik pengalengan nanas hanya daging buah yang dimanfaatkan dari keseluruhan buah nanas. Buah nanas secara keseluruhan terdiri dari batang, kulit, daging buah dan bonggol nanas (Gambar 1).

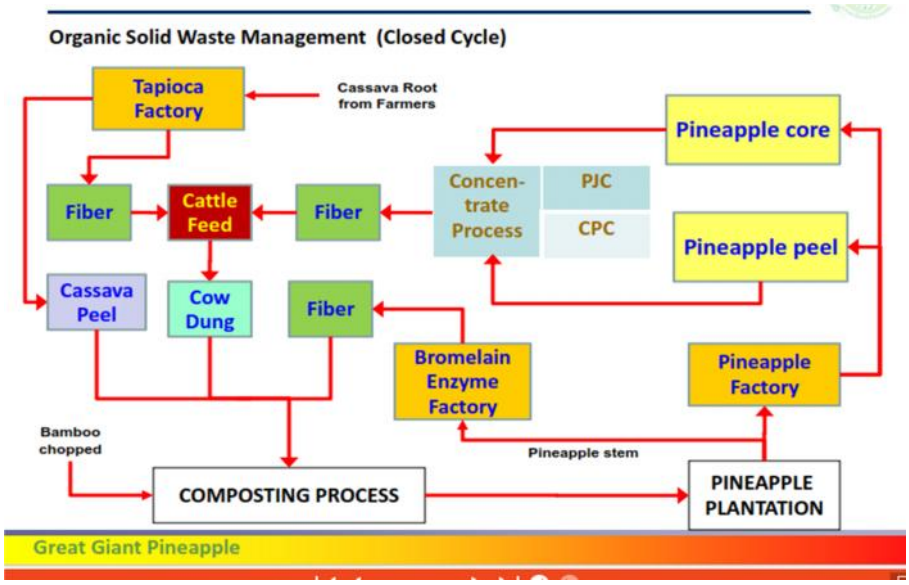


Gambar 1. Bagian – bagian buah nanas
Sumber: http:// freecoloringpages.co.uk/pineapples&psig/1445530152178747

Pada industri pengalengan nanas, mahkota, kulit dan hati dipisahkan dan bentuk akhirnya berupa selindir yang berlubang di bagian tengah, yang kemudian dipotong dalam berbagai bentuk. Daging nanas diawetkan dengan dilarutkan dalam larutan gula kemudian diolah menjadi nanas kaleng. Mahkota nanas diekstrak sebagai bahan baku enzim bromelin dan batang dan daun digunakan untuk pembibitan. Kulit dan bonggol nanas diekstrak menjadi jus nanas. Ampas dari jus nanas pada suatu industri pengolahan nanas di Provinsi Lampung mencapai 4 ton/hari (Rusydi, 2013).

Komponen ampas jus terdiri dari serat yang terdapat pada kulit dan bonggol nanas. Kulit dan bonggol nanas merupakan limbah dari pabrik nanas pada industri pengolahan nanas. Limbah industri pengolahan nanas dibedakan menjadi dua yaitu ampas hasil ekstraksi mahkota nanas menjadi enzim bromelin

dan ampas hasil proses konsentrat nanas atau dapat disebut jus dari kulit dan bonggol nanas. Serat dari ampas pabrik produksi bromelin digunakan sebagai bahan baku proses pengomposan bersama kotoran sapi dan kulit singkong. Sedangkan, serat dari ampas dari proses produksi jus dari kulit dan banggol nanas digunakan sebagai pakan ternak (Gambar 2).



Gambar 2. Manejemen pengolahan limbah pada industri pengalengan nanas
Sumber: balittanah.litbang.pertanian.go.id/dokumentasi/Materi/Raker/BBSDLP /5202013/ PT. GGP-SustainabilityforBlueEcomomic

Menurut Setyarto (2010), ampas jus nanas hanya sedikit sekali yang digunakan sebagai campuran pakan karena berprotein rendah namun tinggi akan serat kasar. Kadar protein dalam ampas hanya sebesar 4,93% sedangkan kadar serat kasar mencapai 33,25%. Penggunaan ampas proses ekstraksi konsentrat jus menjadi pakan ternak hanya sebesar 15% dari jumlah keseluruhan (Prima, 2012).

Ampas jus nanas mengandung lignoselulosa. Kulit dan bonggol nanas yang diekstrak menjadi jus nanas mempunyai kandungan lignoselulosa yang terdiri dari selulosa, hemiselulosa dan lignin. Penelitian - penelitian sebelumnya

menganalisa kandungan lignoselulosa pada kulit dan bonggol nanas terdapat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan lignoselulosa kulit dan bonggol Nanas

	Kulit (Chaokaur *et al*., 2009)	Bonggol (Pardo *et al*., 2014)
Selulosa	23,39%	28,53%
Hemiselulosa	42,72%	24,53%
Lignin	4,03%	5,78 %

Ampas jus nanas yang keluar dari pabrik mempunyai kadar air mencapai 70% (Setiyarto, 2011). Kadar air yang cukup tinggi ini dikarenakan pada proses ekstraksi kulit dan bonggol nanas dilakukan penambahan air untuk mendorong ampas keluar pabrik. Oleh karena itu, untuk mencegah pembusukan yang cepat oleh mikroba saat penyimpanan, pengeringan perlu dilakukan. Ampas jus nanas yang telah kering dapat diberi perlakuan awal untuk produksi bioetanol generasi kedua (Gambar 3).

Gambar 3. Ampas jus industri nanas siap diberi perlakuan awal

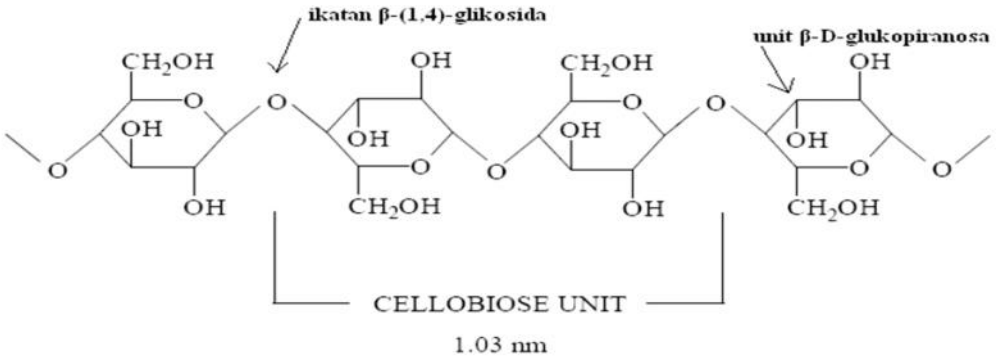
2.2. Perlakuan Awal (*Pretreatment*)

Proses perlakuan awal merupakan proses untuk memurnikan selulosa dan hemiselulosa pada produksi bioetanol generasi kedua. Perlakuan awal dilakukan untuk mempersiapkan selulosa dan hemiselulosa yang akan dihidrolisis menjadi gula sederhana. Selulosa dan hemiselulosa pada suatu bahan biasanya masih terikat kompleks dengan lignin pada struktur lignoselulosa. Struktur lignoselulosa merupakan struktur yang amat rapat dari selulosa, hemiselulosa dan lignin sehingga pada kondisi biasa bersifat inert dan tidak bisa diterobos ataupun ditembus oleh air maupun enzim (Soerawidjaja, 2007). Oleh karena itu, proses perlakuan awal ini bertujuan untuk mempersiapkan bahan agar dapat dihidrolisis oleh enzim dan difermentasi oleh mikroorganisme yang bebas dari lignin (Mosier *et al*., 2005). Tanpa adanya proses ini gula yang dihasilkan dari proses hidrolisis kurang dari 20%, sedangkan dengan adanya perlakuan awal gula yang dihasilkan dapat mencapai 90% atau lebih (Oktaviani, 2008).

Lignoselulosa adalah karbohidrat kompleks yang terdiri dari selulosa, hemiselulosa dan lignin. Ketiganya membentuk suatu ikatan kimia kompleks yang menjadi bahan dasar dinding sel tumbuhan. Kandungan ketiga senyawa utama dalam bahan lignoselulosa berbeda-beda, bergantung pada sumbernya.

Selulosa terdiri atas unit-unit anhidroglukopiranosa yang bersambung membentuk rantai molekul linear. Oleh karena itu selulosa bisa dinyatakan sebagai polimer linear glukan dengan struktur rantai yang seragam yaitu glukosa. Dua unit rantai glukosa dalam selulosa disebut unit selebiosa (Gambar 4). Unit-unit terikat dalam ikatan 1-4 β glikosidik. Dua unit glukosa yang berdekatan bersatu dengan mengeliminasi satu molekul air di antara gugus

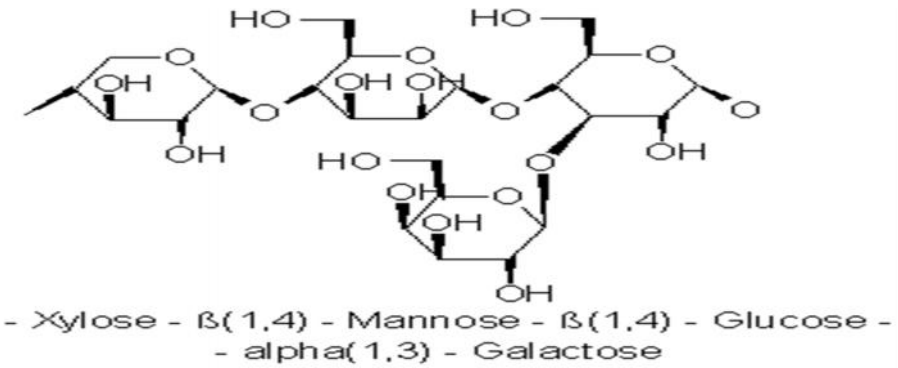
hidroksil mereka pada karbon 1 dan karbon 4. Kedudukan β dari gugus OH pada C1 memutar melalui sumbu C1-C4 cincin piranosa. Unit ulang dari rantai selulosa adalah unit selobiosa dengan panjang 1,03 nm. Walaupun terdapat gugus OH yang sama pada kedua ujungnya, namun gugus-gugus tersebut menunjukan perilaku yang berbeda. Gugus OH pada sumbu C1 adalah gugus hidrat aldehida yang diturunkan dari pembentukan cincin melalui ikatan hemiasetal intramolekul. Itulah sebabnya gugus OH pada akhir sumbu C1 mempunyai sifat pereduksi, sedangkan gugus OH pada akhir sumbu C4 pada rantai selulosa adalah hidroksil alkoholat sehingga bukan pereduksi.



Gambar 4. Struktur selulosa (Octaviani, 2008)

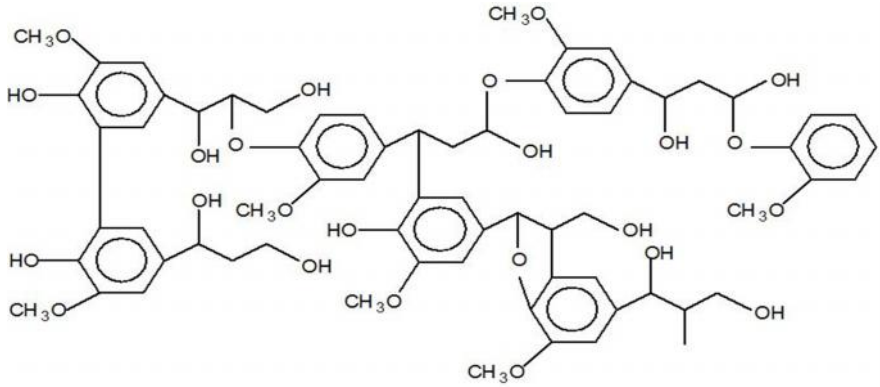
Hemiselulosa merupakan istilah umum bagi polisakarida yang larut dalam alkali. Hemiselulosa sangat dekat asosiasinya dengan selulosa dalam dinding sel tanaman (Fengel dan Wegener, 1984). Lima gula netral, yaitu glukosa, mannosa, dan galaktosa (heksosan) serta xilosa dan arabinosa (pentosan) merupakan konstituen utama hemiselulosa (Gambar 5). Berbeda dari selulosa yang merupakan homopolisakarida dengan monomer glukosa dan derajat polimerisasi yang tinggi (10.000–14.000 unit), rantai utama hemiselulosa dapat terdiri atas hanya satu jenis monomer (homopolimer), seperti xilan, atau terdiri

atas dua jenis atau lebih monomer (heteropolimer), seperti glukomannan. Rantai molekul hemiselulosa pun lebih pendek daripada selulosa.



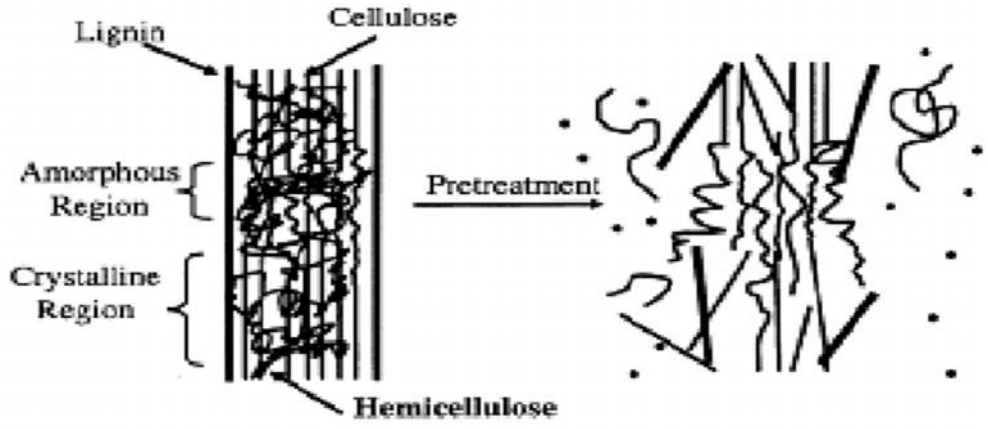
Gambar 5. Stuktur Hemiselulosa
(https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/6/69/Hemicellulose.png)

Lignin adalah polimer tri-dimensional fenilpropanoid yang dihubungkan dengan beberapa ikatan berbeda antara karbon-ke-karbon dan beberapa ikatan lain antara unit phenylprophane yang tidak mudah dihirolisis (Gambar 6). Lignin ditemukan sebagai bagian integral dari dinding sel tanaman, terbenam di dalam polimer matrik dari selulosa dan hemiselulosa. Struktur lignoselulosa yang kompleks ini sangat mempersulit proses fermentasi serat menjadi etanol oleh mikroorganisme sehingga diperlukan perlakuan awal terhadap bahan baku untuk menghilangkan komponen lignin yang melindungi serat selulosa dan hemiselulosa (Hermiati dkk., 2010).



Gambar 6. Struktur Lignin (Coelho-Moreira *et al.*, 2013)

Mekanisme perlakuan awal untuk bahan berlignoselulosa dilakukan dengan proses delignifikasi (Gambar 7). Proses delignifikasi menyebabkan terputusnya rantai polimer yang panjang menjadi rantai polimer yang lebih pendek, meningkatkan daerah amorf (menurunkan derajat kristalinitas) dan memisahkan bagian lignin dari selulosa. Perlakuan yang efisien harus dapat membebaskan struktur kristal dengan memperluas daerah amorfnya serta membebaskan juga lapisan ligninnya.



Gambar 7. Skema Perlakuan Awal Bahan Berlignoselulosa (Mosier, *et al*., 2005; Octaviani, 2008)

Perlakuan awal yang biasa digunakan adalah kombinasi dari teknik secara kimia dan fisik. Sebagai langkah awal proses, bahan berlignoselulosa diberi perlakuan fisik untuk mengecilkan ukuran hingga kurang dari 3 mm (Brown, 2003). Perlakuan fisik berupa pemanasan juga dilakukan untuk mempercepat reaksi dari perlakuan kombinasi dengan bahan kimia. Secara kimia, perendaman menggunakan NaOH dilakukan untuk menyerang dan merusak struktur lignin serta bagian kristalin dan amorf pada selulosa, memisahkan sebagian lignin dan hemiselulosa serta menyebabkan penggembungan struktur selulosa. Selain itu, penggunaan perlakuan awal basa akan menyebabkan selulosa membengkak sampai batas-batas tertentu tergantung pada jenis dan konsentrasi basa, serta suhu. Konsentrasi basa yang semakin tinggi menyebabkan gugus-gugus –OH akan lebih mudah dimasuki air, sehingga antar ruang molekul-molekul selulosa akan mengandung air (Achmadi, 1990).

2.3. Hidrolisis Holoselulosa

Hidrolisis adalah suatu reaksi yang dilakukan untuk memecah rantai panjang holoselulosa. Hidrolisis berasal dari kata hidro yang berarti air dan lisis yang berarti pemecahan. Menurut Xiang (2003), reaksi hidrolisis dimulai dari proton yang berasal dari zat penghidrolisis yang akan berinteraksi secara cepat dengan ikatan glikosidik holoselulosa dengan oksigen pada dua unit gula sehingga akan membentuk asam konjugasi. Keberadaan asam konjugasi menyebabkan konformasi tidak stabil sehingga terjadi pemutusan ikatan C-O dan membebaskan asam konjugasi pada konformasi yang tidak stabil. Air yang terdapat pada sistem akan menyebabkan OH- dari air berikatan dengan ion karbonium sehingga

membebaskan gula dan proton. Proton yang terbentuk akan berinteraksi secara cepat dengan ikatan glikosidik oksigen pada dua unit gula yang lain. Proses tersebut terjadi secara kontinyu sampai semua molekul selulosa terahidrolisis menjadi glukosa. Hidrolisis sempurna selulosa menghasilkan glukosa, sedangkan hemiselulosa menghasilkan beberapa monomer gula pentosa (C5) dan heksosa (C6) (Septiyani, 2011).

Proses hidrolisis dalam produksi bioetanol dapat dilakukan secara kimia dan enzimatis. Hidrolisis kimia yaitu pemecahan rantai holoselulosa menggunakan bahan – baham kimia seperti asam kuat. Sedangkan hidrolisis enzimatis yaitu pemecahan rantai holoselulosa dengan mereaksikan holoselulosa dengan enzim selulase. Meskipun prinsip kedua metode hidrolisis sama – sama memecah holoselulosa menjadi gula sederhana, hidrolisis asam dan enzimatis memiliki mekanisme yang berbeda. Mekanisme hidrolisis asam adalah dengan memecah ikatan selulosa secara acak, sehingga dapat menghasilkan produk selain glukosa, yaitu senyawa furan, fenolik, dan asam asetat yang tidak diharapkan terbentuk pada tahap ini karena akan menghambat proses fermentasi. Hidrolisis menggunakan asam juga dapat memicu degradasi glukosa sehingga rendemen glukosa dan etanol menurun (Howard *et al.,* 2003). Oleh karena itu, proses hidrolisis yang banyak digunakan saat ini adalah hidrolisis secara enzimatis. Hidrolisis secara enzimatis juga lebih ramah lingkungan karena menggunakan enzim yang bersifat organik daripada asam yang bersifat anorganik dan membahayakan kesehatan.

Hidrolisis enzimatis dilakukan dengan menggunakan enzim selulase. Enzim selulase adalah enzim yang secara spesifik dapat memecah ikatan beta

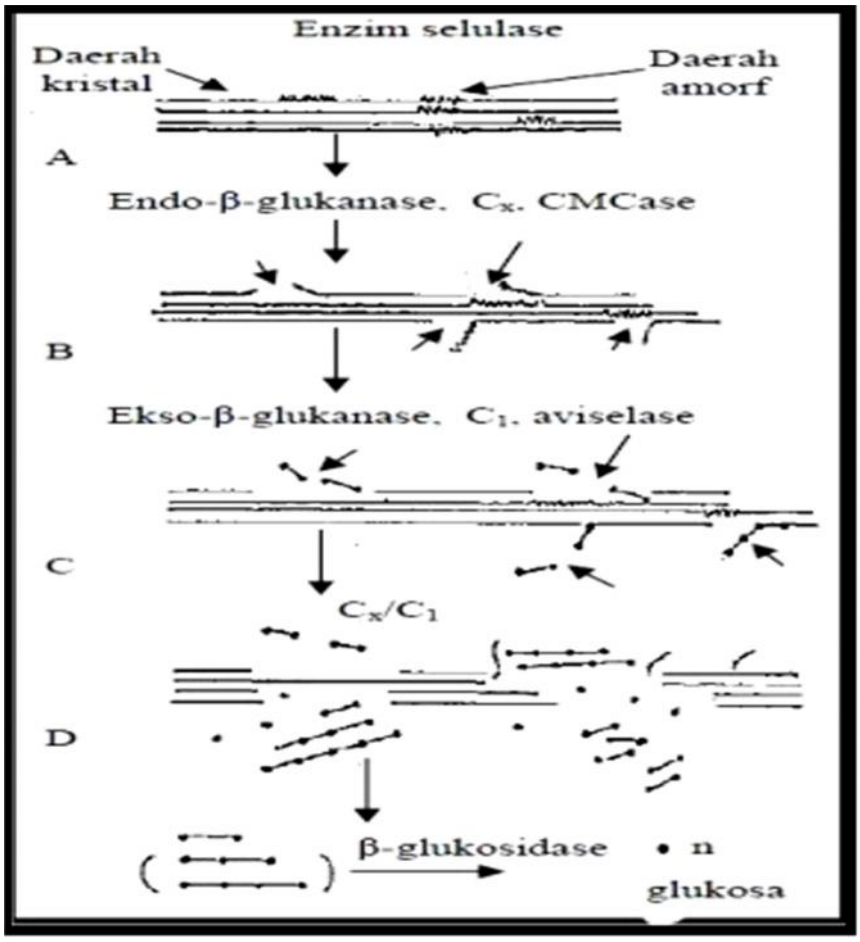
glikosidik pada selulosa. Struktur selulosa yang rigit dan resisten terhadap aksi individual selulase dapat dikonversi oleh subgrup enzim selulase yang bekerja secara sinergis. Menurut Nugraha (2006), kerja sinergis antar sub grup tersebut terdiri dari:

1. Endo-β-1,4-Dglukanase yang memecah ikatan internal glikosidik yang berada diantara rantai glukan yang runtuh
2. Ekso-β-1,4-Dglukanase atai Ekso-β-1,4-D-selebiohidrase yang memecah dimer selebiosa dari rantai glukan dan melepaskannya kedalam larutan
3. β-glukosidase yang menyempurnakan hidrolisis selulosa menjadi glukosa dan memecah selebiosa menjadi monomer glukosa.

Mekanisme kerja enzim selulase dilakukan oleh kerja sinergis tiga enzim yang terdapat pada enzim selulosa. Endoglukanase, eksoglukanase, dan cellobiase (β-glukosidase) bekerja secara berurutan dalam memecah selulosa (Gambar 8.). Tahap pertama enzim endoglukonase menyerang daerah amorf dari selulosa secara acak dan membentuk makin banyak ujung-ujung non-pereduksi yang memudahkan kerja eksoglukonase. Enzim eksoglukonase selanjutnya menghidrolisis daerah kristal dari selulosa dengan membebaskan dua unit glukosa (selubiosa). Kerja sinergis kedua enzim ini menghasilkan unit-unit sakarida yang lebih kecil yang selanjutnya dihidrolisis oleh cellobiase (β-glukosidase) menghasilkan glukosa (Nugraha 2006). Mekanisme kerja enzim ini bergantung faktor – faktor yang mempengaruhinya. Kondisi awal substrat seperti kadar selulosa, hemiselulosa dan lignin serta kondisi proses hidrolisis (suhu, pH, waktu hidrolisis) merupakan faktor yang sangan berpengaruh (Sun dan Cheng, 2002). Semakin amorf substrat awal dan kondisi hidrolisis yang sesuai dengan kerja

enzim akan memaksimalkan mekanisme kerja enzim. Kerja enzim yang maksimal akan menghasilkan *yield* tinggi.

1.



Gambar 8. Mekanisme kerja enzim selulase dalam hidrolisis selulosa (Nugraha, 2006).

Secara teoritis reaksi hidrolisis selulase menjadi glukosa adalah sebagai berikut:

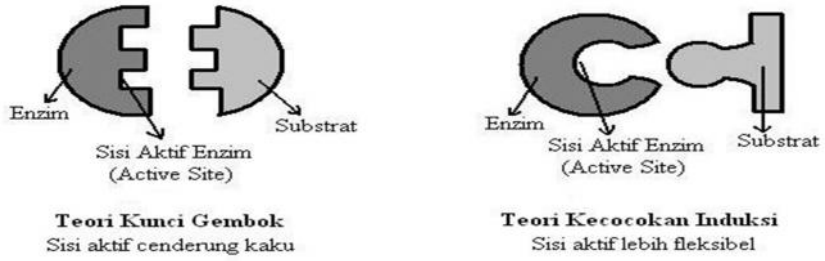
$$(C_6H_{10}O_5)n + nH_2O \xrightarrow{Selulase} n\ C_6H_{12}O_6$$

Sedangkan reaksi parsial selulosa menjadi selebiosa dan hidrolisis selebiosa menjadi glukosa adalah sebagai berikut:

$$(C_6H_{10}O_5)n + n/2\ H_2O \xrightarrow{enzim\ selulase} n/2(C_{12}H_{22}O_{11})$$

$$n/2C_{12}H_{22}O_{11} + n/2H_2O \xrightarrow{\textit{enzim selobiase}} nC_6H_{12}O_6$$

Mekanisme kerja enzim berlangsung spesifik antara enzim dan substrat. Terdapat dua teori mekanisme enzim dan substrat yaitu teori *lock and key* atau kunci dan gembok dan teori *induce fit* atau kekecocokan enzim (Gambar 9).

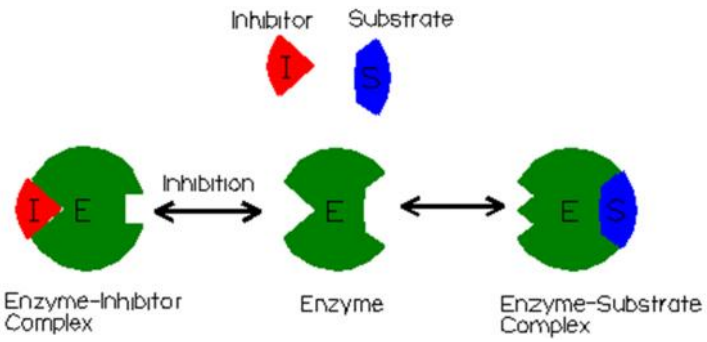


Gambar 9. Teori Mekanisme Kerja Enzim
Sumber: http:// www.chem-istry.org/materi_kimia/kimia.../struktur

Menurut hipotesis *lock and key* Fisher, sisi aktif enzim mempunyai struktur yang kokoh dan struktur enzim tidak berubah selama terjadi pengikatan berlangsung atau dengan kata lain enzim dan substrat mempunyai hubungan komplemen atau saling melengkapi seperti kunci dan gembok. Sedangkan menurut hipotesis *induce fit* Koshland, sisi aktif enzim dapat menyesuaikan dengan substrat yaitu kestabilan masa transisi antara enzim-substrat tersebut menjadi faktor utama sebuah enzim dapat bekerja pada suatu substrat.

Hubungan antara kerja enzim dam substrat ini sangat dipengaruhi oleh lingkungan kerja seperti suhu, pH dan adanya inhibitor, kualitas dan konsentrasi substrat (Taherzadeh dan Karimi, 2007). Inhibitor merupakan suatu zat kimia tertentu yang dapat menghambat aktivitas enzim (Gambar 10). Pada umumnya cara kerja inhibitor adalah dengan menyerang sisi aktif enzim sehingga enzim

tidak dapat berikatan dengan substrat sehingga fungsi katalitiknya terganggu (Winarno, 1989).



Gambar 10. Inhibitor enzim
Sumber: https://cdn.goconqr.com/uploads/image/96388/Enzyme_Inhibition.gif

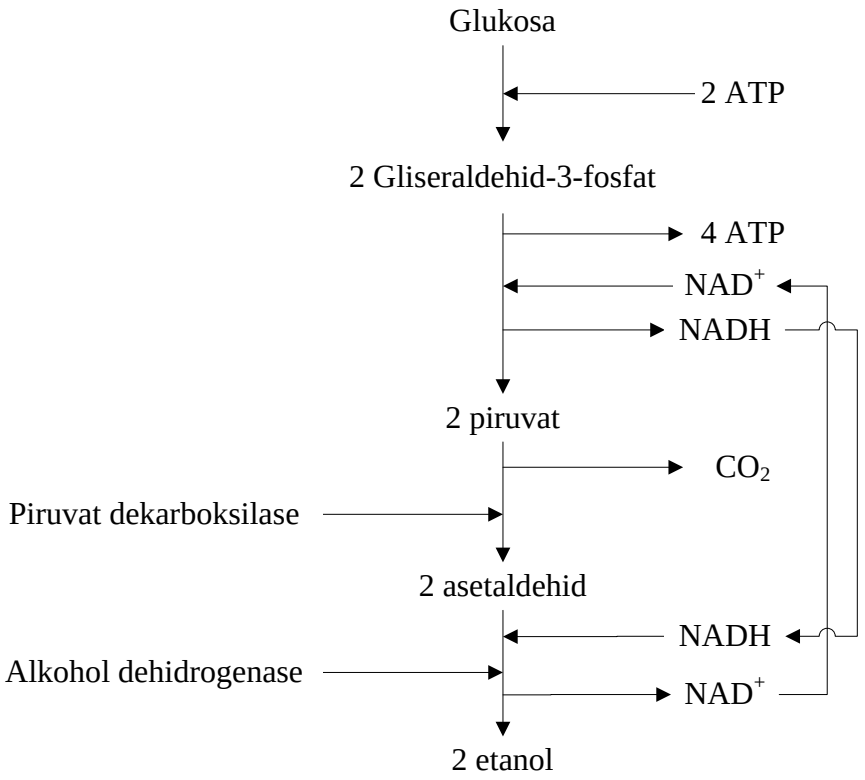
2.4. Fermentasi Gula Reduksi

Proses fermentasi adalah tahap menghasilkan bioethanol dari gula sederhana yang didapatkan dari proses hidrolisis. Menurut Gervais (2008) proses fermentasi terjadi melalui serangkaian reaksi biokimiawi yang mengubah bahan kering menjadi energi (panas), molekul air (H_2O) dan CO_2. Perubahan dapat terjadi karena pertumbuhan mikroorganisme, proses dekomposisi substrat dan perubahan kadar air. Fermentasi gula reduksi termasuk dalam dekomposisi substrat yang dilakakukan oleh mikroba seperti khamir atau bakteri. Khamir memproduksi etanol dan CO_2 melalui dua reaksi yang berurutan yaitu:

1. Proses dekarboksilasi piruvat menjadi asetaldehid dan CO_2 dengan katalis piruvat dekarboksilase (enzim ini tidak ada di binatang). Proses dekarboksilasi merupakan reaksi yang tidak reversibel, membutuhkan ion Mg^{2+} dan koenzim tiamin pirofosfat. Reaksi berlangsung melalui beberapa senyawa antara yang terikat secara kovalen pada koenzim.

2. Reduksi asetaldehid menjadi etanol oleh NADH dengan dikatalisis oleh alkohol dehidrogenase, dengan demikian pembentukan NAD^+ akan digunakan di dalam proses reaksi GADPH glikolisis (Voet *et al.*, 2006).

Proses konversi gula reduksi menjadi etanol secara skematik disajikan pada Gambar 11.



Gambar 11. Proses konversi glukosa menjadi etanol (Voet *et al.* 2006).

Khamir yang sangat potensial untuk fermentasi etanol adalah *Saccharomyces cereviseae*. Khamir ini memiliki daya konversi glukosa menjadi etanol sangat tinggi, metabolismenya sudah diketahui, metabolit utama berupa etanol, CO2, dan air dan sedikit menghasilkan metabolit lainnya. Kondisi fermentasi harus disesuaikan dengan kondisi optimum dari pertumbuhan khamir ini agar fermentasi berjalan optimal. Kondisi optimum pertumbuhan

Saccharomyces cereviseae ialah sedikit aerob, pH 4,0 - 4,5, suhu 30^0C dan kadar gula 10 – 18% (Mutia, 2011).

Pada proses produksi bioetanol dikenal dua metode fermentasi. Metode pertama ialah fermentasi yang dilakukan terpisah dengan hidrolisis atau disebut *separated hydrolysis and fermentation* (SHF). Metode ini merupakan metode konvensional yang sudah banyak digunakan dalam produksi bioetanol generasi pertama. Fermentasi dilakukan setelah proses hidrolisis dihentikan. Pada proses SHF, satu molekul glukosa menghasilkan dua molekul etanol dan dua molekul karbon dioksida (CO2) :

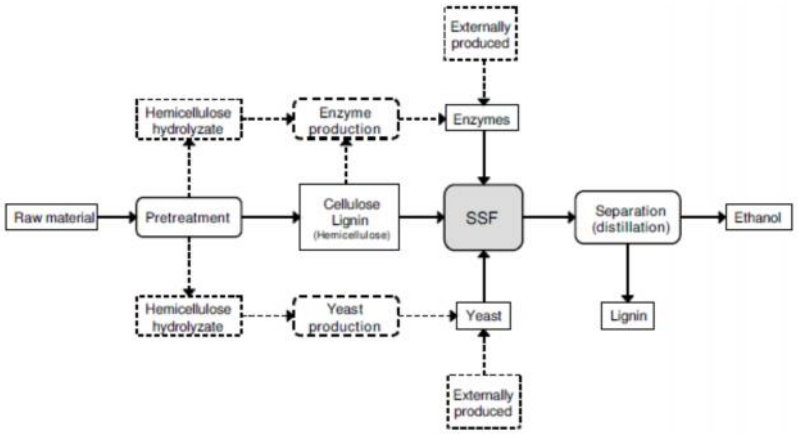
$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2C_2H_5OH + 2CO_2$$

Etanol dan CO2 yang terbentuk dari proses fermentasi ini dapat menghambat proses fermentasi (*end-product inhibition).* Hal ini banyak terjadi pada metode fermentasi terpisah. Oleh kerena itu, metode fermentasi yang dapat meminimalisasi peran inhibitor tersebut diperlukan karena mikroorganisme yang mengkonversi glukosa menjadi etanol tidak tahan terhadap senyawa alkohol pada konsentrasi tertentu. Metode kedua ialah fermentasi dilakukan bersamaan atau secara serentak dengan hidrolisis atau disebut *simultaneous saccharification and fermentation* (SSF).

SSF dianggap memecahkan masalah yang terdapat pada metode SHF dengan tahapan hidrolisis dan fermentasi secara terpisah yaitu mencegah adanya inhibisi kerja enzim hidrolisis oleh produk glukosa dan sellobiose. Fermentasi serentak atau dikenal dengan metode SSF pertama kali dikenalkan oleh Takagi *et al*., (1977) yang merupakan kombinasi antara hidrolisis menggunakan enzim selulase dan khamir *Saccharomyces cereviseae* untuk fermentasi gula menjadi

etanol secara simultan. Teknik SSF yang berkembang sekarang adalah dengan menggabungkan dua mikroorganisme menghasil enzim selulase yaitu *Aspergilus niger* dan penghasil etanol seperti *Saccharomyces cereviseae*.

Proses SSF hampir sama dengan proses SHF, hanya dalam proses SSF hidrolisis dan fermentasi dilakukan dalam satu reaktor secara bersamaan (Gambar 12). Proses SSF dilakukan dalam modus *batch* dengan beberapa penambahan subtrat padat atau dalam modus *fed-batch* dengan konsentarsi produk akhir lebih tinggi. Faktor yang mempengaruhi kinerja dalam proses SSF adalah kondisi selama proses seperti jumlah padatan tidak larut dan konsentrasi komponen penghambat pada media SSF (Hoyer *et al.*, 2010)



Gambar 12. Tahapan proses pembuatan etanol dengan metode SSF (Olofsson, *et al*., 2008).

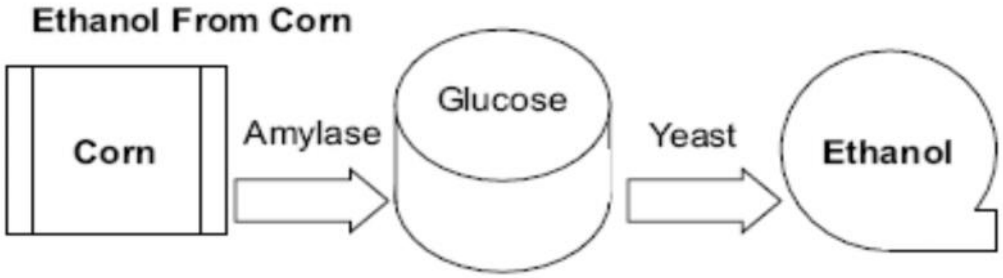
Metode SSF menghasilkan rendemen bioetanol yang lebih tinggi dengan penggunaan enzim lebih sedikit (Chandel *et al*., 2010). Keuntungan utama SSF adalah laju hidrolisis dapat meningkat oleh konversi gula, enzim yang digunakan dalam jumlah kecil, hasil yang tinggi dari produk diperoleh, kondisi proses tidak harus terlalu steril karena glukosa hilang sejalan dengan produksi bioetanol;

waktu proses yang singkat, dan volume bioreaktor yang lebih rendah (Buruiana *et al.*, 2013). Penggunaan metode SSF ini meningkatkan efisiensi penggunaan peralatan dan investasi biaya produksi dapat ditekan sebesar 20% (Wingren *et al.*, 2003).

2.5 Bioetanol

Bioetanol merupakan bentuk energi terbarui yang telah diproduksi di negara maju dan mulai dikembangkan di Indonesia. Produsen bioetanol terbesar di dunia pada tahun 2013 adalah Amerika Serikat dengan jumlah 13,300 juta galon AS dan Brasil dengan 6,267 galon AS. Dua negara ini memproduksi 88% etanol dunia, yang total semuanya adalah 22,95 galon AS (86,9 miliar liter) (Renewable Fuels Association, 2015). Produksi etanol di Indonesia relatif konstan selama tahun 1997-2001 sekitar 159.000 kL per tahun dan meningkat menjadi 174.000 kL pada tahun 2002 (Wahid, 2008). Untuk memenuhi target pemerintah dalam Perpres No.5 tahun 2006, Indonesia membutuhkan 3,08 juta kL bioetanol sebagai konsumsi 15% bahan bakar nabati, sehingga peningkatan produksi bioetanol di Indonesia perlu dilakukan.

Proses produksi bietanol awalnya hanya berupa proses hidrolisis dan fermentasi. Proses fermentasi dilakukan untuk mengubah glukosa menjadi etanol setelah hidrolisis bahan berpati seperti ubi kayu, ubi jalar dan jagung yang disebut bioetanol generasi pertama. Bahan berpati digiling, dipanaskan, dan kemudian ditambah enzim untuk mengubah pati menjadi glukosa yang selanjutnya ditambah khamir untuk mengubah glukosa menjadi etanol (Gambar 13).

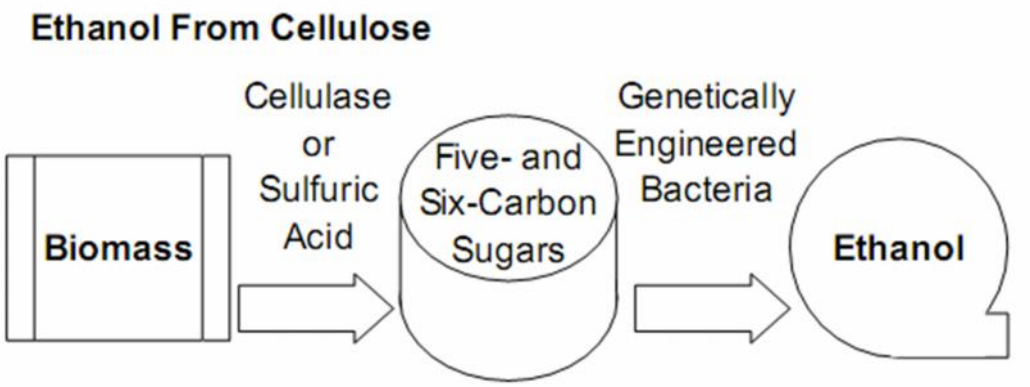


Gambar 13. Tahapan proses bioetanol generasi pertama dari jagung (McCoy, 1998 ; DiPardo, 2007)

Pati pada bahan baku tersebut dihidrolisis menggunakan asam atau enzim amilase untuk memecah ikatan glikosidik sehingga dihasilkan monomer glukosa yang dapat difermentasi menjadi etanol. Bioetanol generasi pertama ini harganya masih relatif tinggi karena bahan yang digunakan bersaing dengan bahan pangan dan pakan (Oddling- Smee, 2007). Bahan baku yang juga merupakan bahan pangan ini memicu polemik yang memerlukan solusi karena bahan berpati tersebut masih digunakan sebagai bahan pangan. Oleh karena itu, generasi kedua dikembangkan dengan memanfaatkan limbah-limbah padat agroindustri yang mengandung lignoselulosa sehingga berpotensi sebagai bahan baku bioetanol.

Bioetanol generasi kedua dikembangkan dengan menggunakan bahan berlignoselulosa yang mengandung selulosa dan hemiselulosa. Kedua polisakarida tersebut kemudian dihidrolisis menjadi monosakarida yang terdiri dari karbon – karbon rantai C6 ataupun C5 kemudian difermentasi dengan mikroba yang dapat memecah monosakarida tersebut (Gambar 14). Proses biokimia utama dalam produksi bioetanol dari bahan lignoselulosa adalah perlakuan awal, hidrolisis, dan fermentasi. Ketiga proses produksi bioetanol ini dilakukan secara terpisah dengan metode *Saccharification Hidrolysis and Fermentation* (SHF). Perkembangan metode selanjutnya adalah dengan

menggabungkan proses hidrolisis dengan fermentasi yang disebut *Simultanous Saccharification and Fermentation* (SSF) atau fermentasi serentak.



Gambar 14. Tahapan proses bioetanol generasi kedua (DiPardo, 2007)

Hasil etanol yang didapatkan setelah fermentasi tidak dapat langsung digunakan sebagai bahan bakar bioetanol. Kadar etanol hasil fermentasi tidak dapat mencapai level diatas 18-21%, sebab etanol dengan kadar tesebut bersifat racun terhadap ragi yang memproduksi etanol tersebut sehingga untuk memperoleh etanol dengan kadar yang lebih tinggi perlu dilakukan destilasi. Destilasi adalah proses pemanasan yang memisahkan etanol dan beberapa komponen cair lain dari substrat fermentasi sehingga diperoleh kadar etanol yang lebih tinggi (Archunan, 2004).

Pada pemurnian etanol, dikenal tiga proses utama yakni evaporasi, destilasi dan dehidrasi. Proses evaporasi adalah pemanasan etanol kasar dengan menggunakan evaporator, suhu pemanasan berkisar 79-100 %, tergantung kadar etanol bahan baku, makin tinggi kadar etanol bahan baku makin rendah suhu pemanasan pada evaporator (Lay, 2009). Proses destilasi bertujuan untuk memisahkan etanol dari campuran etanol-air. Titik didih etanol adalah 78^0C dan titik didih air adalah 100^0C sehingga dengan pemanasan pada suhu 78^0C dengan

metode destilasi maka etanol dapat dipisahkan dari campuran etanol-air. Kadar maksimum etanol yang dapat diperoleh dengan cara destilasi biasa adalah 96% dan bersifat larutan azeotropik. Proses dehidrasi larutan azeotropik untuk meningkatkan kadar bioetanol menjadi 99,5 % merupakan cara yang populer untuk menghasilkan etanol absolut (Tjokoroadikoesoemo, 1986).