

**PRODUKSI GULA REDUKSI SEBAGAI BAHAN BAKU BIOETANOL DARI UMBI
TALAS BENENG DENGAN METODE HIDROLISIS DAN ULTRASONIKASI SECARA
SIMULTAN**

(Skripsi)

Oleh
Tiurma Debora Simatupang



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2016**

ABSTRAK

PRODUKSI GULA REDUKSI SEBAGAI BAHAN BAKU BIOETANOL DARI UMBI TALAS BENENG DENGAN METODE HIDROLISIS DAN ULTRASONIKASI SECARA SIMULTAN

Oleh

TIURMA DEBORA SIMATUPANG

Penelitian ini dilakukan untuk memberikan kajian informasi mengenai produksi gula reduksi dari umbi talas beneng melalui hidrolisis asam di bawah pengaruh ultrasonikasi pada frekuensi tetap sebesar 40 kHz dan pada pH dan waktu yang bervariasi. Kadar gula reduksi dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Kadar gula reduksi tertinggi (577,5 mg/L) dihasilkan pada kondisi hidrolisis suhu tetap 70 °C, pH 1 selama 30 menit. Hidrolisat optimum difermentasi dengan dua agen fermentasi yaitu *Saccharomyces cerevisiae* dan kulit kayu raru dan bioetanol dianalisis dengan *gas chromatography flame ionization detector* (GC-FID). Kedua agen fermentasi mampu menghasilkan bioetanol dengan kadar etanol sebesar 0,0357% menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* dan 0,0511% menggunakan kulit kayu raru.

Kata kunci : talas beneng, pati, hidrolisis, fermentasi, *Saccharomyces cerevisiae*, kulit kayu raru, bioetanol.

ABSTRACT

PRODUCTION OF REDUCING SUGAR AS BIOETHANOL RAW MATERIAL OF BENENG TARO TUBER UNDER SIMULTANEOUS HYDROLYSIS AND ULTRASONICATION

By

TIURMA DEBORA SIMATUPANG

This research was conducted to investigate the production of reducing sugar from beneng taro tuber by simultaneous acid hydrolysis and ultrasonication with a fixed frequency of 40 kHz at different pHs and times. The quantity of reducing sugar produced as determined using UV-Vis Spectrophotometer. The highest concentration of reducing sugars (577.5 mg /L) was produced from hydrolysis conditions of 70 °C, pH 1 for 30 minutes. Fermentations of the hydrolizates were carried out using *Saccharomyces cerevisiae* and bark of raru tree and the bioethanol produced as analysed using gas chromatography flame ionization detector (GC-FID). Both agents were able to produce bioethanol with the concentration of 0.0357% using *Saccharomyces cerevisiae* and 0.0511% using bark of raru tree.

Keywords : beneng taro, starch, hydrolysis, fermentation, *Saccharomyces cerevisiae*, bark of raru tree, bioethanol.

**PRODUKSI GULA REDUKSI SEBAGAI BAHAN BAKU BIOETANOL DARI UMBI
TALAS BENENG DENGAN METODE HIDROLISIS DAN ULTRASONIKASI SECARA
SIMULTAN**

Oleh
Tiurma Debora Simatupang

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar
Sarjana Sains

pada

Jurusan Kimia

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2016

Judul Skripsi

**: PRODUKSI GULA REDUKSI SEBAGAI BAHAN
BAKU BIOETANOL DARI UMBI TALAS
BENENG DENGAN METODE HIDROLISIS DAN
ULTRASONIKASI SECARA SIMULTAN**

Nama Mahasiswa

: Tiurma Debora Simatupang

Nomor Pokok Mahasiswa : 1217011064

Jurusan

: Kimia

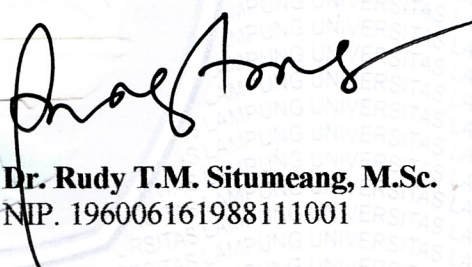
Fakultas

: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI

1 Komisi Pembimbing


Prof. Wasinton Simanjuntak, Ph.D.
NIP. 195907061988111001


Dr. Rudy T.M. Situmeang, M.Sc.
NIP. 196006161988111001

2. Ketua Jurusan Kimia FMIPA


Dr. Suripto Dwi Yuwono, M.T.
NIP 197407052000031001 

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

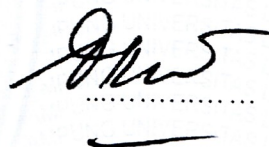
Pembimbing I : **Prof. Wasinton Simanjuntak, Ph.D.**



Pembimbing II : **Dr. Rudy T.M. Situmeang, M.Sc.**



Penguji
Bukan Pembimbing: **Dr. Supto Dwi Yuwono, M.T.**



2. Dekan Fakultas MIPA



Prof. Warsito, S.Si., DEA., Ph.D.
NIP 197102121995121001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 27 Juni 2016

RIWAYAT HIDUP



Nama lengkap penulis, yaitu Tiurma Debora Simatupang, lahir dengan golongan darah B, di Kotabumi, Lampung Utara pada tanggal 30 Agustus 1994 dari pasangan Bapak B. Simatupang (Alm) dan Ibu Tiraya Lumban Gaol S.Pd. Kini penulis beralamat di Jalan Pulau Panggung Raya No. 69 Perumnas Way Kandis, Kec.Tanjung Seneng, Kab. Bandar Lampung.

Riwayat pendidikan penulis yaitu pada tahun 2007 lulus dari Sekolah Dasar di SD Negeri 2 Perumnas Way Kandis, kemudian melanjutkan pendidikan di SMP Xaverius 4 Way Halim Bandar Lampung dan lulus pada tahun 2009. Pada tahun 2012 lulus dari SMA Negeri 9 Bandar Lampung dan melanjutkan ke Universitas Lampung pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Jurusan Kimia melalui jalur undangan.

Semasa kuliah penulis pernah aktif dalam organisasi kemahasiswaan yaitu Himpunan Mahasiswa Kimia (HIMAKI) Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam sebagai anggota Biro Penerbitan pada periode 2013-2014 dan pada periode 2014-2015 penulis beralih menjadi anggota Bidang Kaderisasi dan Pengembangan Organisasi. Tidak hanya organisasi intrakampus namun organisasi

di luar kampus dijalani penulis sebagai anggota Seksi Pembinaan Siswa di Persekutuan Mahasiswa Antar Universitas (PERKANTAS) Lampung pada periode 204-2015 dan menjadi ketua di Tim Pembimbing Siswa pada periode 2015-2016.

Di sela-sela perkuliahan penulis pernah menjadi asisten Praktikum Kimia Dasar untuk mahasiswa Fakultas Pertanian Jurusan Teknologi Hasil Pertanian pada tahun 2016.

MOTTO

Matius 6:34

Sebab itu janganlah kamu kuatir akan hari besok, karena hari besok mempunyai kesusahannya sendiri. Kesusahan sehari cukuplah untuk sehari."

Ecclesiastes 3:11a

He has made everything beautiful in its time.

Psalms 46:5

God is within her, she will not fall; God will help her at break of day.

Luke 1:37

For with God nothing shall be impossible.

*Hidup Cuma Sekali Syukuri Berkat yang Diberikan Tuhan
dan Jadilah Berkat Itu sendiri*

Puji dan syukur kepada **Tuhan Yesus Kristus** atas berkat dan anugerah-Nya dalam tiap jalan hidupku terutama dalam penyelesaian karya tulis ini. Kupersembahkan Karya Tulis ini kepada:

Bapak dan Ibu terbaikku yang telah diciptakan Tuhan untuk mendidik, mendukung, membawaku ke dalam doa dan mengasihiku

Abang dan Kakak Ipar ku tersayang yang memberikan kegembiraan, motivasi dan didikan yang membangun kehidupanku jadi lebih baik

Adik laki-laki bungsuku yang paling kusayangi dan yang telah memberikan canda serta tawa dan kejahilan di hari-hariku

Keluarga Besarku

Pasangan hidupku yang akan dipertemukan oleh Tuhan kelak

Almamater tercinta Universitas Lampung

SANWACANA

Puji dan syukur kepada Tuhan Yesus Kristus atas berkat dan anugerah-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Produksi Gula Reduksi sebagai Bahan Baku Bioetanol dari Umbi Talas Beneng dengan Metode Hidrolisis dan Ultrasonikasi secara Simultan**”. Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains di Universitas Lampung.

Skripsi ini dapat diselesaikan oleh penulis tidak terlepas dari berkat bantuan dan arahan dari berbagai macam pihak. Penulis menghaturkan terimakasih kepada :

1. Bapak Prof. Wasinton Simanjuntak, Ph. D. selaku pembimbing utama dan pembimbing akademik yang telah memberikan bimbingan, nasihat, saran, solusi, serta motivasi yang sangat berarti bagi penulis.
2. Bapak Dr. Rudy TM Situmeang, M.Sc. selaku pembimbing kedua yang telah memberikan bimbingan, saran, kritik, motivasi, dan nasihat yang telah diberikan pada penulis dalam penyelesaian skripsi ini.
3. Bapak Dr. Eng Suropto Dwi Yuwono, M.T. selaku pembahas atas segala arahan, kritik dan saran, nasihat dan motivasi yang diberikan kepada penulis.

4. Bapak Prof. Warsito, S.Si., DEA, Ph.D. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
5. Bapak Dr. Eng Suripto Dwi Yuwono, M.T. selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
6. Seluruh staf pengajar dan karyawan Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
7. Kedua orang tuaku tercinta, Bapak B. Simatupang (Alm.) dan Ibu Tiraya Lumban Gaol, S.Pd. atas segala kebaikan, didikan, kasih sayang, doa, motivasi, nasihat dan perhatian yang sangat berharga bagi penulis.
8. Abang ku Daniel Simatupang dan kakak iparku Dynasti Stefani R. Nainggolan dan adik bungsuku Baginda Mulana Simatupang yang selalu memotivasiku.
9. Teman sekerjaku yang sangat menyukai BTS dan hal-hal korea, Fenti Visiamah, terimakasih untuk kerjasama yang baik dan bantuan, dukungan dan motivasi yang selama ini diberikan.
10. Teman-teman terkeceku Maria Christina Pasaribu, Jeniffer Mentari Togatorop, Mary Septarika Rajagukguk, Ruliana Juni Anita, Eva Monica Sinaga, Jenny Jessica Sidabalok, dan Bethania Claudya Sinaga atas segala bantuan, dan motivasinya.
11. Teman-teman sepelayananku di TPS PERKANTAS, Kak Esteria Situmorang, Eva Monica Sinaga, Bang Ramos, Ernest, Dian, Toper, Kak Gilang, Holan, Indah, Tami, Enjel yang telah mendoakan dan memotivasi.

12. Pemimpin Kelompok Kecil Ku Kak Evi, adik kelompok kecil ku Pilothy, Daniela, Elisha dan Laras yang selalu memberikan semangat dan doa.
13. Teman-teman seangkatan 2012, Adi, Adit, Adam, Ajeng cibol, Ana, Welda, Arif Gembrot, Arya Bieber, Atem, Imani, Ningrum, Debby, Derry, Dewi, Diani, Opung Edi, Eka, Elsa, Erlita alay, Febita, Feby Bison, Ferdinan nampak, Fifi, Handri, Iin, Indry, Intan, Ismi Nenek, Jean, Wherean, Maripul, Meta, Rijal, Murni Racun, Nila, Dona, Radius, Riandra, Rifki, Rio, Putri Korea, Ruwai Molly, Ais, Imah IGers, Pian, Kamto Bedul, Susi, Dela, Syatira, Tazkiya, Reno, Tiara, Triik, Ulfatun, Wiwin, Yepi, Yunsi, dan Ubay.
14. Rekan-rekan Laboratorium Kimia Fisik, Fenti Visiamah, Ruliana Juni Anita, Ferdinand H Simangunsong, Endah Pratiwi S.Si (Mba Gegek), Mba Faradila Syani S.Si, Kak Hanif Amrulloh ZA S.Si, Gesa Gustami, Yudha Satria, Antonius Wendy, Yunitri Sianturi, Veronica Netty, dan Hermayana Simamora.
15. Teman-teman seangkatan di POMMIPA, Debjov, Ana, Hendire, Yeftanus, Rut, Tika, Nike, Olin, Naomi, Maria, Aknes, Jenipak, dan Juni, terimakasih untuk kebersamaan dan bantuan di masa-masa kuliah.
16. Abang-abang di POMMIPA Bang Ivan (GURU), Bang Ramos, Bang Lucky, Bang Ventus, Bang Togu, Bang Benny, Bang Panda, Bang Abe dan lain-lain terimakasih untuk kesempatan bertemu, nasehat, bantuan dan doa dan dalam persaudaraan di POMMIPA.

17. Kakak-kakak di POMMIPA Kak Eva, Kak Tata, Kak Lewi, Kak Fani, Kak Meta, Kak Tiur, Kak Marlina, Kak Maria Barus, Kak Delvi, Kak Leni, Kak Melani, Kak Nova, Kak Santi, Kak Evi Sijabat, Kak Marta, Kak Rini, dan yang lainnya, terimakasih untuk kebersamaanya di dalam POMMIPA.
18. Pengurus PERKANTAS Mba Ana, Kak Flo, Mba Susi, Kak Frank dan lain-lain, terimakasih atas doa dan dukungan yang diberikan.
19. Saudara Simatupang di Unila Kak Adel, Kak Adelina, Kak Ochi, Kak Kulan, Kak Poppy, Bang Saut, Bang Holong, Bang Binsar, Arion, Alek, Dini, Lian, dan lain-lain terimakasih untuk kesempatan bertemu sebagai saudara 1 opung.
20. Semua pihak yang telah membantu penulis semasa kuliah, penelitian, hingga penulisan skripsi ini.

Semoga setiap kebaikan yang telah diberikan dibalas oleh Tuhan Yang Maha Esa. Penulis sangat menyadari bahwa skripsi ini masih banyak terdapat kekurangan, namun penulis berharap skripsi ini memberi manfaat bagi diri penulis maupun bagi pembaca.

Bandar Lampung, Juni 2016

Penulis

Tiurma Debora Simatupang

DAFTAR ISI

Halaman

LEMBAR PENGESAHAN	i
DAFTAR ISI	ii
DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR GAMBAR	v
 I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Tujuan Penelitian	6
C. Manfaat Penelitian	6
 II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Bioetanol	7
B. Bahan Baku Bioetanol	9
1. Pati	10
2. Talas Beneng	12
C. Pengolahan Bioetanol	14
1. Hidrolisis Pati	15
2. Gula Reduksi	18
3. Analisis Gula Reduksi	18
4. Fermentasi	22
5. Ultrasonikasi	24
6. Analisis Morfologi Tepung Talas dengan <i>Scanning Electron</i> <i>Microscopy</i> (SEM)	26
7. Analisis Bioetanol	27
 III. METODELOGI PENELITIAN	
A. Tempat dan Waktu Penelitian	29
B. Alat dan Bahan	29
C. Prosedur Penelitian	30
1. Preparasi Tepung Umbi Talas	30
2. Penentuan Kadar Pati	30

3. Hidrolisis Umbi Talas Beneng	31
3.1. Pengaruh Ultrasonikasi terhadap Pati	31
3.2. Penentuan pH Optimum	32
3.3. Penentuan Waktu Optimum	32
3.4. Hidrolisis pada Kondisi Optimum	32
4. Analisis Kadar Gula Reduksi	33
4.1. Analisis Kualitatif	33
4.2. Analisis Kuantitatif	33
4.2.1. Pembuatan Reagen DNS	33
4.2.2. Pembuatan Kurva Standar	34
4.2.3. Penentuan Gula Reduksi dalam Sampel	35
5. Fermentasi Alkohol	35
5.1. Fermentasi Alkohol dengan <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	35
5.2. Fermentasi Alkohol dengan Serbuk Kulit Kayu Raru	36
5.3. Fermentasi Air Nira menjadi Alkohol menggunakan Serbuk Kayu Raru	37
6. Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Bioetanol	37
6.1. Analisis Kualitatif Bioetanol dengan $K_2Cr_2O_7$	37
6.2. Analisis Kadar Bioetanol dengan GC-FID	38

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Preparasi Tepung Talas Beneng	40
B. Analisis Kadar Pati dalam Tepung Talas Beneng	42
C. Pengaruh Ultrasonikasi terhadap Morfologi Tepung Talas Beneng	44
D. Pembuatan Kurva Standar Glukosa	46
E. Pengaruh Tingkat Keasaman (pH) dan Waktu Hidrolisis terhadap Kadar Gula Reduksi	48
1. Pengaruh Tingkat Keasaman (pH)	49
2. Pengaruh Waktu Hidrolisis	51
F. Hidrolisis pada Kondisi Optimum	54
G. Fermentasi Alkohol	54
1. Persiapan Agen Fermentasi	55
2. Fermentasi Hidrolisat	56
H. Analisis Kualitatif Bioetanol dengan $K_2Cr_2O_7$	57
I. Analisis Kuantitatif Bioetanol dengan GC-FID	58

V. SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan	63
B. Saran	

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Sifat fisik dan kimia bioetanol	7
2. Komposisi kimia tepung umbi talas beneng	14

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur pati (a) amilosa (b) amilopektin	11
2. Talas beneng	13
3. Reaksi larutan Fehling dan glukosa	19
4. Reaksi DNS dengan gula reduksi	20
5. Diagram rentang gelombang ultrasonik	24
6. Umbi talas beneng (a), umbi talas telah dikupas (b), umbi talas direndam dalam air kapur (c), umbi talas setelah dikeringkan (d), dan tepung umbi talas beneng (e).	41
7. Spektrum panjang gelombang maksimum pati standar	42
8. Kurva standar pati	43
9. Mikrograf sampel tepung talas beneng yang belum diultrasonikasi (a dan b) sesudah dilultrasonikasi selama 90 menit (c dan d)	45
10. Spektrum panjang gelombang maksimum dari kompleks warna asam 3-amino, 5-nitrosalisilat (ANS)	47
11. Kurva standar glukosa	48
12. Uji kualitatif gula reduksi menggunakan reagen fehling sebagai kontrol negatif (a), kontrol positif (b), dan pada pH berbeda yaitu pH = 1 (c), 2 (d), 3 (e), dan 4 (f)	49
13. Pengaruh pH hidrolisis terhadap produksi gula reduksi sampel	50

14. Uji kualitatif gula reduksi menggunakan reagen fehling sebagai kontrol negatif (a), kontrol positif (b) dan pada pH 1 dengan waktu berbeda yaitu 30 (c), 60 (d), 90 (e) dan 120 menit (f)	52
15. Pengaruh waktu hidrolisis terhadap produksi gula reduksi sampel	53
16. Kulit kayu raru (a) dan serbuk kulit kayu raru (b)	55
17. Hasil fermentasi menggunakan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (a), serbuk kulit kayu raru (b) dan air nira kelapa dan kayu raru (c)	56
18. Hasil oksidasi $K_2Cr_2O_7$ dengan sampel etanol sebagai kontrol positif (a), kontrol negatif (b), fermentasi dengan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (c), fermentasi dengan kayu raru (d), dan air nira yang difermentasi dengan kayu raru (e)	57
19. Kromatogram etanol standar dengan waktu retensi 4,854 menit	58
20. Kurva standar etanol untuk penentuan kadar etanol sampel	59
21. Kromatogram sampel yang difermentasi dengan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (a) dan kulit kayu raru (b)	60
22. Kromatogram hasil fermentasi air nira dengan kulit kayu raru	61

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Bahan bakar fosil saat ini semakin menipis ketersediaannya di alam. Hal ini berbanding terbalik dengan jumlah kendaraan yang meningkat pesat seiring bertambahnya jumlah penduduk serta industrialisasi yang membutuhkan energi dalam jumlah sangat besar. Upaya yang dikembangkan untuk mengatasi krisis bahan bakar fosil saat ini adalah dengan mengupayakan bahan bakar alternatif dan terbarukan yang dihasilkan dari biomassa.

Salah satu energi terbarukan berbasis biomassa yang telah diaplikasikan adalah bioetanol. Bioetanol dapat diaplikasikan dalam bentuk bauran dengan minyak bensin, misalnya 10% etanol dicampur dengan 90% bensin (gasohol E10) atau digunakan 100% (E100) sebagai bahan bakar. Etanol absolut memiliki angka oktan (ON) 117, sedangkan premium hanya 87 – 88. Gasohol E10 secara proporsional memiliki ON 92 atau setara dengan pertamax. Pada komposisi ini bioetanol dikenal sebagai *octan enhancer* (aditif) yang paling ramah lingkungan dan di negara-negara maju telah menggeser penggunaan *Tetra Ethyl Lead* (TEL) maupun *Methyl Tertiary Butyl Ether* (MTBE) (Hambali dkk., 2007). Bioetanol juga berfungsi sebagai *octan booster* yang artinya bioetanol mampu menaikkan nilai oktan serta meningkatkan efisiensi kerja mesin kendaraan. Fungsi lain dari

bioetanol adalah sebagai *oxygenating agent* yaitu sebagai bahan yang menyempurnakan pembakaran bahan bakar pada mesin (Prihandana, 2008).

Bahan baku yang digunakan untuk produksi bioetanol adalah bahan baku yang mengandung pati. Industri bioetanol berbahan baku pati di Indonesia memiliki potensi yang sangat besar karena didukung oleh ketersediaan bahan baku yang melimpah. Pati disimpan sebagai cadangan makanan bagi tumbuh-tumbuhan antara lain di dalam biji buah (padi, jagung, gandum, jemawut, sorgum), di dalam umbi (ubi kayu, ubi jalar, talas, ganyong, kentang) dan pada batang (aren dan sagu). Selain tanaman yang sudah umum digunakan sebagai sumber pati untuk industri bioetanol, di Indonesia sebenarnya terdapat tanaman lain yang sangat berpotensi karena memiliki kandungan pati yang cukup tinggi, yakni talas.

Talas merupakan tanaman sekulen yaitu tanaman yang umbinya banyak mengandung air (Rukmana, 1998). Umbi talas mengandung pati yang mudah dicerna kira-kira sebanyak 18,2% sukrosa serta gula reduksinya 1,42% dan karbohidrat sebesar 23,7%. Kadar karbohidrat yang tinggi menunjukkan bahwa umbi talas berpotensi untuk dijadikan sebagai bahan baku penghasil bioetanol. Keuntungan lainnya adalah umbi talas tidak mengandung selulosa maupun lignin, sehingga secara prinsip akan lebih mudah dihidrolisis untuk menghasilkan gula reduksi.

Berbagai macam tanaman talas mudah ditemukan di Indonesia seperti talas sutera, talas taro, talas bogor, talas semir, talas ketan hitam, talas timpul, talas balitung, talas sente atau bira dan talas beneng. Pada penelitian ini jenis talas yang digunakan sebagai bahan baku bioetanol adalah talas beneng. Karakterisasi

yang dilakukan oleh LIPI untuk mengklasifikasi talas ini menghasilkan nama latin talas beneng *Xanthosoma undipes* K. Koch. Talas ini memiliki umbi yang dapat mencapai berat 20 kilogram dalam umur 2 tahun. Pengolahan talas jenis ini masih cenderung konvensional dan tidak dikomersialkan (BPTP Banten, 2011).

Kadar pati di dalam talas beneng mencapai 75% dan kadar air yang terkandung relatif rendah, sehingga saat dijadikan tepung dapat mencegah pertumbuhan kapang (Apriani dkk, 2011). Tanaman talas beneng akan sangat menguntungkan apabila dapat diubah menjadi suatu produk yang bernilai guna tinggi yaitu dengan diproses menjadi etanol. Tahapan pembuatan bioetanol ada empat tahap yang dilakukan yaitu tahap persiapan bahan baku, hidrolisa, fermentasi, dan pemurnian. Pada hakekatnya fermentasi melibatkan dua tahapan utama yakni hidrolisis pati (karbohidrat) menjadi gula pereduksi dan pengubahan gula reduksi menjadi bioetanol secara fermentasi.

Pada proses hidrolisis, pati diubah menjadi monomer-monomer penyusunnya yaitu glukosa, baik dengan bantuan enzim, katalis asam ataupun dengan katalis basa. Pada hidrolisis secara enzimatik, enzim akan memutuskan ikatan α -1,4 dan ikatan α -1,6 sehingga pati berubah menjadi monomer penyusunnya yaitu glukosa. Hidrolisis asam dan basa umumnya dilakukan pada keadaan suhu yang lebih besar dari 100 °C. Faktor yang menentukan kuantitas dan kualitas glukosa yang dihasilkan di dalam hidrolisis asam sangat dipengaruhi oleh konsentrasi, suhu reaksi, dan waktu reaksi. Pada hidrolisis dengan basa pun dipengaruhi hal yang sama seperti pada hidrolisis asam.

Untuk meningkatkan produk bioetanol perlu dilakukan metode praperlakuan secara kimia ataupun secara fisika. Beberapa metode menggabungkan keduanya (Hsu, 1996). Praperlakuan secara fisika dapat dilakukan untuk memperkecil ukuran sampel dengan menggunakan alat *extruder*, pisau pabrik, palu pabrik dan ketam. Praperlakuan secara kimia yaitu dengan menggunakan bahan kimia dengan pengaturan pH, suhu, serta konsentrasi (McMillan, 1994).

Praperlakuan yang digunakan untuk menghasilkan gula reduksi lebih maksimal yaitu dengan metode air panas (*hot water pretreatment*), ledakan tekanan uap (*pressured steam blast*), iradiasi gelombang mikrowave (*microwave irradiation*), serta ultrasonikasi. Ultrasonikasi diketahui mampu meningkatkan reaktivitas kimia dari makromolekul melalui efek kavitasi, yang mana efek tersebut dapat menyebabkan molekul lebih mudah untuk diproses lebih lanjut. Ultrasonikasi merupakan metode alternatif konvensional yang menjanjikan untuk praperlakuan hidrolisis (Simanjuntak *et al.*, 2014).

Praperlakuan ultrasonikasi relatif murah, sederhana dan hemat energi dan telah menjadi teknologi yang digunakan untuk memodifikasi senyawa penting seperti pati. Ultrasonikasi merupakan metode pemberian energi ultrasonik untuk mengagitasi partikel dengan tujuan mempercepat pelarutan molekul dengan memutuskan interaksi intermolekularnya. Ultrasonikasi dapat menonaktifkan enzim dan bakteri dengan cara menghancurkan membran sel keduanya oleh efek kavitasi yang ditimbulkan dan pembentukan radikal bebas. Kavitasi adalah pembentukan lubang yang berisi gas atau uap yang terbentuk ketika tekanan

berkurang, dan lubang akan hancur saat tekanan kembali naik (Freudig *et al.*, 2003).

Lubang atau pori yang terbentuk pada pati oleh efek kavitasi dapat meningkatkan luas permukaannya, sehingga meningkatkan efisiensi proses hidrolisis. Dengan demikian ultrasonikasi diharapkan mampu menghidrolisis sampel secara simultan dan dapat menaikkan konsentrasi produksi gula pereduksi (Simanjuntak *et.al.*, 2014). Di dalam penelitian Nitayavardhana *et al.*, diungkapkan bahwa dengan perlakuan ultrasonikasi, gula reduksi yang dihasilkan dari bubur sari singkong meningkat sebesar 180%.

Selanjutnya pada tahap fermentasi umumnya digunakan mikroorganisme *Saccharomyces cerevisiae* untuk mengubah gula reduksi menjadi etil alkohol, namun dapat juga digunakan kulit kayu raru untuk fermentasi alkohol. Kulit batang kayu raru ini biasanya digunakan oleh masyarakat sebagai campuran minuman tuak (minuman tradisional Batak) untuk mengawetkan dan meningkatkan kadar alkohol dari nira aren. Kulit batang kayu raru juga digunakan untuk fermentasi bir dan brem (Gunawan, 2012). Kandungan di dalam kulit kayu raru yang dapat menghidrolisis pati yakni bakteri endofit. Mikroba endofit dapat diisolasi dari akar, batang dan daun suatu tumbuhan (Strobel, 2003).

B. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari dilakukannya penelitian ini diantaranya yaitu :

1. Mempelajari hidrolisis pati umbi talas beneng secara simultan dengan metode ultrasonikasi untuk menghasilkan gula reduksi.
2. Menentukan jumlah gula pereduksi dari talas beneng yang telah diberi perlakuan ultrasonikasi.
3. Mempelajari potensi kulit kayu raru sebagai agen fermentasi alternatif.

C. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan menjadi bahan referensi pada bidang bioteknologi dalam pemanfaatan talas beneng sebagai bahan baku bioetanol.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Bioetanol

Bioetanol adalah etanol yang diproduksi melalui proses fermentasi yang berbeda dengan etanol yang diproduksi secara sintesis dari sumber petrokimia. Bioetanol dapat dijadikan bahan bakar cair pada mesin, baik dalam keadaan murni atau campuran. Sifat fisik dan kimia dari bioetanol dapat dilihat pada Tabel 1 berikut ini.

Tabel 1. Sifat fisik dan kimia bioetanol

Keterangan	Nilai
Rumus Molekul	C_2H_5OH
Massa Molekular	46,07 g/mol
Kenampakan	Tidak berwarna (pada $-117^{\circ}C$ dan $78^{\circ}C$)
Massa Jenis	0,789 Kg/L
Titik Didih	$78,5^{\circ}C$ ($173^{\circ}F$)
Titik Beku	$-117^{\circ}C$
<i>Flash Point</i>	$12,8^{\circ}C$
Suhu Pembakaran	$425^{\circ}C$
Tekanan Uap (pada $38^{\circ}C$)	50 mmHg
Keasaman (<i>pKa</i>)	15,9
Viskositas	1,200 mPa.s ($20^{\circ}C$)
Bilangan Oktan	99

Etanol memiliki nilai oktan yang tinggi, sehingga ketika mesin menggunakan bioetanol dapat dihasilkan perbandingan kompresi yang tinggi dan menaikkan jumlah energi yang dikeluarkan suatu mesin. Nilai oktan yang tinggi dari etanol

ini menaikkan resistensi mesin terhadap ketukan mesin, namun mesin yang menggunakan etanol murni hanya digunakan sebesar 10-20% lebih rendah daripada petrol. Bioetanol juga dapat digunakan dalam bentuk gel etanol, bahan bakar listrik, sel bahan bakar, dan pada sistem energi *co-generation*. Bioetanol sangat bermanfaat digunakan karena merupakan bahan bakar yang dapat diperbaharui dan tidak memberikan efek rumah kaca (tidak seperti bahan bakar fosil) (Walker, 2010).

Amerika Serikat telah menjadi produsen bioetanol pada tahun 2014 dengan jumlah 14,300 juta galon AS dan Brasil dengan 6,190 galon AS. Dua negara ini memproduksi 88% etanol dunia, yang total semuanya adalah 24,57 galon AS (93 miliar liter) (International Energy Statistic, 2015). Di Indonesia produksi bioetanol relatif konstan selama tahun 1997-2001 sekitar 159.000 kL per tahun dan meningkat menjadi 174.000 kL pada tahun 2002 (Wahid, 2005). 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.

Etanol dapat diproduksi melalui fermentasi bahan baku biologis yang mengandung gula seperti pati atau selulosa. Bahan baku penghasil etanol yang mengandung gula dan pati telah banyak tersedia, bahan baku ini disebut bahan baku generasi pertama (WWI, 2006). Bioetanol generasi pertama bahan bakunya bersaing dengan bahan pangan dan pakan. Bioetanol generasi kedua menggunakan biomasa limbah agroindustri seperti ampas tebu, tandan kosong kelapa sawit, jerami, dan kertas bekas sebagai bahan baku bioetanol (Arifin,

2009). Meskipun bahan baku keduanya berpotensi namun pati tetap paling banyak digunakan selain karena jumlahnya yang melimpah juga mudah dihidrolisis dibanding selulosa.

Dalam memilih bahan baku untuk menghasilkan etanol bergantung pada ketersediannya dan penggunaannya serta perlu melihat segi ekonomisnya untuk dapat memenuhi kebutuhan bahan bakar dunia (Nikolić *et al.*, 2010).

B. Bahan Baku Bioetanol

Bioetanol dapat dihasilkan dari dua jenis karbohidrat yaitu pati dan selulosa, pati masih merupakan bahan baku utama, karena karbohidrat ini lebih mudah dihidrolisis dibanding selulosa. Dilihat dari segi ketersediaan, jumlah pati sangat tinggi karena dihasilkan oleh berbagai tanaman dengan produktifitas tinggi dan usia panen yang relatif singkat. Bahan-bahan pangan yang mengandung pati atau karbohidrat seperti ubi kayu, jagung, aren, nipah, sorgum, molase dan tebu dapat dijadikan bahan baku pembuatan bioetanol (Prihandana, 2007).

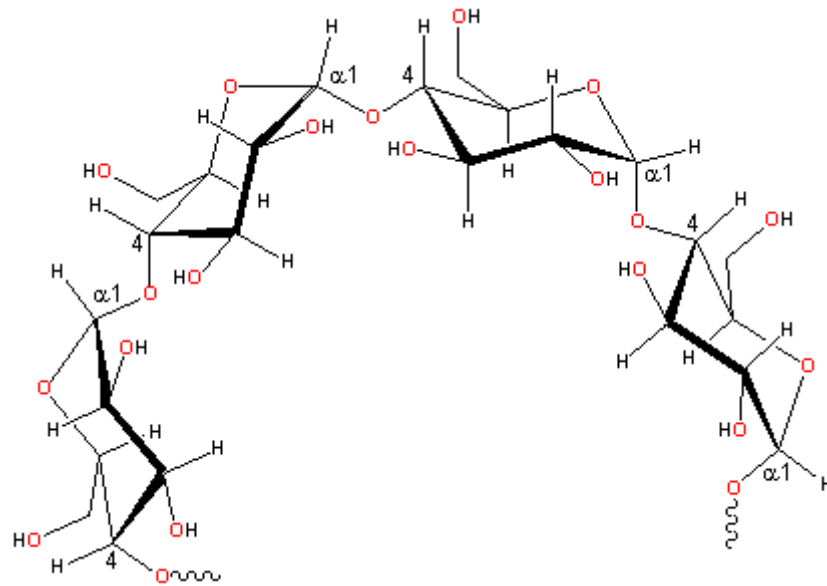
1. Pati

Pati adalah jenis karbohidrat yang terdiri dari monomer-monomer glukosa, dan terdiri atas amilosa dan amilopektin. Amilosa merupakan bagian polimer linier dengan ikatan α -(1 $\rightarrow$ 4) unit glukosa. Derajat polimerisasi amilosa berkisar antara 500–6.000 unit glukosa, bergantung pada sumbernya. Amilopektin merupakan polimer α -(1 $\rightarrow$ 4) unit glukosa dengan rantai samping α -(1 $\rightarrow$ 6) unit glukosa. Dalam suatu molekul pati, ikatan α -(1 $\rightarrow$ 6) unit glukosa ini jumlahnya

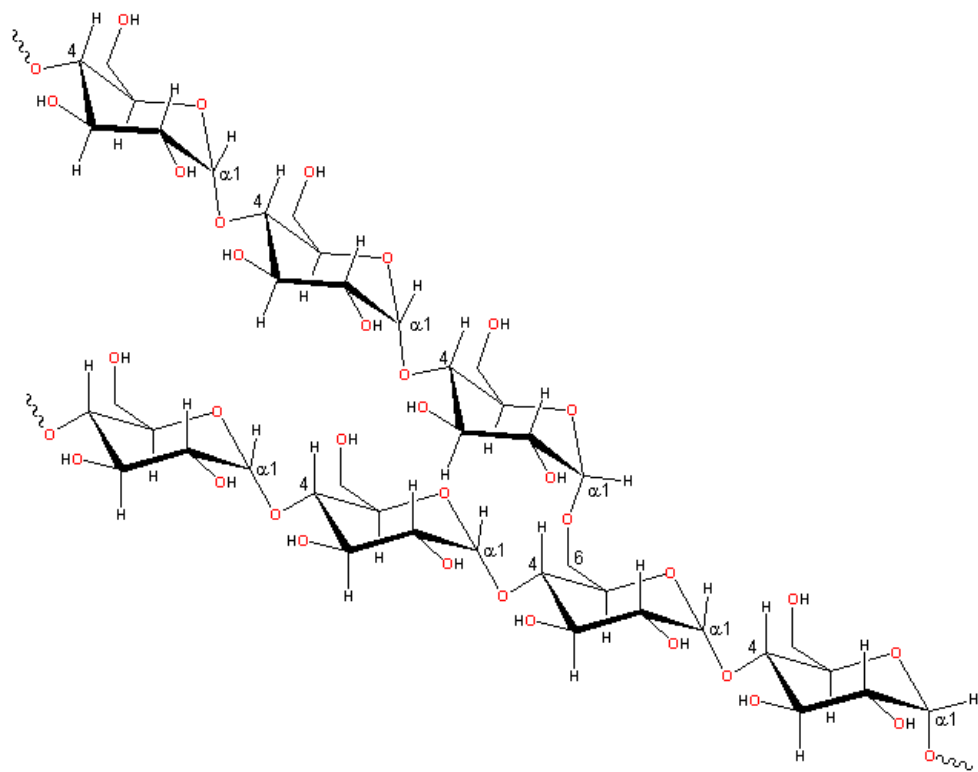
sangat sedikit, berkisar antara 4–5%. Namun, jumlah molekul dengan rantai yang bercabang, yaitu amilopektin, sangat banyak dengan derajat polimerisasi $10^5 - 3 \times 10^6$ unit glukosa (Jacobs and Delcour, 1998).

Amilopektin terdapat dalam jumlah yang lebih besar dibanding amilosa.

Sebagian besar pati mengandung antara 15% dan 35% amilosa. Rantai-rantai amilosa dan amilopektin tersusun dalam bentuk semi kristal, yang menyebabkan tidak larut dalam air dan memperlambat pencernaannya oleh amilase pankreas. Bila dipanaskan dengan air, struktur kristal rusak dan rantai polisakarida akan mengambil posisi acak. Hal ini yang menyebabkan mengembang dan memadat (gelatinasi). Cabang-cabang dalam amilopektin dapat menyebabkan pembentukan gel yang cukup stabil. Proses pemasakan pati di samping menyebabkan pembentukan gel juga dapat memecah sel, sehingga memudahkan pencernaannya. Dalam proses pencernaan, semua bentuk pati dihidrolisis menjadi glukosa (Almatsier, 2004). Di dalam Gambar 1 terlihat struktur dari pati amilosa dan amilopektin.



(a)



(b)

Gambar 1. Struktur pati (a) amilosa (b) amilopektin

2. Talas Beneng

Tanaman umbi-umbian merupakan sumber karbohidrat yang penting sebagai penghasil energi di daerah tropis dan subtropis (Liu *et al.*, 2006). Umbi talas merupakan bahan pangan yang rendah lemak, bebas gluten dan mudah dicerna. Umumnya umbi tanaman talas berpotensi sebagai sumber karbohidrat yang cukup tinggi yaitu sebesar 23,79 gram per 100 gram talas mentah (Direktorat Gizi Departemen Kesehatan, 1972). Umbi talas juga mengandung lemak, vitamin dan mineral dalam jumlah yang rendah.

Sangat menguntungkan apabila dapat mengubah talas menjadi suatu produk yang mempunyai nilai guna yaitu dengan diproses menjadi etanol dengan cara yang sangat sederhana. Talas dengan kandungan glukosa yang cukup dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan bioetanol.

Ada berbagai jenis talas yang tumbuh di daratan Indonesia diantaranya yaitu talas sutera, talas taro, talas bogor, talas semir, talas ketan hitam, talas timpul, talas balitung, talas sente atau bira dan talas banten atau beneng. Talas beneng memiliki karakteristik yang berbeda dengan talas dari daerah lainnya. Talas ini memiliki batang yang besar dan panjang serta pada bagian akarnya terdapat umbi-umbi kecil (kimpul) yang bergerombol. Panjangnya dapat mencapai 120 cm dengan berat 42 kilogram dan ukuran lingkaran luar 50 cm. Umbi itu dihasilkan dari pohon setinggi 2-2,5 m dengan daun raksasa sebesar 1 meter (BPTP Banten; 2011). Pada Gambar 2 ditunjukkan kenampakan fisik dari tanaman talas beneng



Gambar 2. Talas beneng

Karakterisasi yang dilakukan oleh LIPI untuk mengklasifikasi talas ini menghasilkan nama latin talas beneng *Xanthosoma undipes* K. Koch dan dengan data taksonomi sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Liliopsida (berkeping satu / monokotil)
Sub Kelas	: Arecidae
Ordo	: Arales
Famili	: <i>Araceae</i>
Genus	: <i>Xanthosoma</i>
Spesies	: <i>Xanthosoma undipes</i>

Empat jenis tepung talas yang berasal dari talas hijau, mentega, beneng dan semir yang diteliti oleh Apriani dkk (2011) menunjukkan bahwa jenis talas beneng mengandung pati dengan jumlah sebesar 75,62%. Dan pada analisis kadar amilopektin dan amilosa menunjukkan bahwa keempat jenis talas di atas memiliki kadar amilosa sebesar 12,26 sampai dengan 18,60% sementara kadar amilopektin berkisar 64,56 sampai dengan 70,24%. Tepung talas beneng memiliki kandungan amilosa yang paling rendah. Sebaliknya, talas beneng memiliki kandungan amilopektin tertinggi. Pada Tabel 2 ditunjukkan komposisi kimia dari tepung umbi talas beneng.

Tabel 2. Komposisi kimia tepung umbi talas beneng

Komposisi Kimia	Tepung Talas Beneng (%bb)
Air	4,29
Abu	3,43
Pati	75,62
Lemak	1,12
Protein	6,29
Karbohidrat	84,88
Serat Kasar	2,99
Serat Pangan	7,19

Sumber : Apriani dkk (2011)

C. Pengolahan Bioetanol

Umumnya, proses pembuatan bioetanol terjadi dalam tiga tahap. Tahap pertama adalah persiapan bahan baku, yang berupa proses hidrolisa pati menjadi glukosa.

Tahap kedua berupa proses fermentasi, merubah glukosa menjadi etanol dan CO₂, sedangkan tahap ketiga yaitu pemurnian hasil dengan cara distilasi.

Pada penelitian ini proses produksi bioetanol ini dilakukan dua tahapan saja yaitu hidrolisa pati dan fermentasi. Pada perlakuan ini digunakan teknologi hidrolisa enzim, karena enzim lebih spesifik terhadap substrat dibandingkan dengan hidrolisis asam (Crueger and Crueger, 1982).

1. Hidrolisis Pati

Hidrolisis adalah suatu reaksi antara reaktan dan air agar suatu senyawa pecah terurai menjadi penyusunnya. Pada reaksi hidrolisis pati dengan air, air akan menyerang pati pada ikatan α -1,4 glukosida menghasilkan dextrin, sirup atau glukosa tergantung pada derajat pemecahan rantai polisakarida dalam pati. Reaksi yang berlangsung merupakan reaksi orde satu jika digunakan air yang berlebih, sehingga perubahan reaktan dapat diabaikan. Jalannya reaksi hidrolisis pati ini berlangsung sangat lambat sehingga diperlukan bantuan katalisator untuk memperbesar kereaktifan air. Katalisator ini bisa berupa asam maupun enzim (Endah dkk, 2009).

Hidrolisis pati dapat dilakukan dengan cara hidrolisis asam, kombinasi asam dengan enzim, dan kombinasi enzim dengan enzim. Kondisi untuk melakukan reaksi hidrolisis ialah pada suhu 120-160 °C. Pada hidrolisis asam, asam yang digunakan akan memecah molekul pati secara acak dan gula yang dihasilkan adalah gula pereduksi. Hidrolisis asam yang dikombinasikan dengan enzim akan mencapai nilai dekstrosa yang dikehendaki yaitu sebesar 62% setelah dinetralkan,

dijernihkan dan dihidrolisis dengan enzim oleh mikroorganisme tertentu (Judoamidjojo, 1990).

Katalisator asam yang biasa digunakan adalah asam klorida, asam nitrat dan asam sulfat. Dalam industri umumnya digunakan asam klorida sebagai katalisator.

Pemilihan ini didasarkan bahwa garam yang terbentuk setelah penetralan hasil merupakan garam yang tidak berbahaya yaitu garam dapur. Faktor-faktor yang berpengaruh pada reaksi hidrolisa pati adalah ; suhu reaksi, waktu reaksi, pencampuran pereaksi, konsentrasi katalisator, dan kadar suspensi (Endah dkk, 2009).

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengetahui kondisi optimum dalam melakukan hidrolisis pati. Pada hidrolisis tepung gandum kondisi optimum dicapai pada suhu 95 °C dan pada pH 3 selama 10 menit dengan asam yang digunakan adalah asam klorida encer, dengan konversi sebesar 42% (Barnali *et.al.*, 2008). Penelitian El-Tayeb, *et al* (2012) tentang perbandingan tiga jenis asam yaitu asam klorida, asam posfat dan asam sulfat terhadap produksi gula reduksi dari limbah pengolahan gula bit (*sugar beet*) menunjukkan bahwa secara umum, asam sulfat bekerja lebih efektif dibandingkan dua jenis asam lainnya.

Pati dengan kandungan amilosa yang tinggi menunjukkan reaktifitas yang rendah terhadap hidrolisis asam, sedangkan pati dengan kadar amilosa yang rendah lebih mudah terhidrolisis (Jayakody dan Hoover, 2002; Nakazawa dan Wang, 2003; Vasanthan and Bhatt, 1996). Dengan demikian, talas beneng dengan kadar amilosa yang rendah akan lebih mudah dihidrolisis pada penelitian ini.

Hidrolisis secara enzimatis lebih sering digunakan karena lebih ramah lingkungan dibandingkan dengan katalis asam (Khairani, 2007). Hidrolisis enzimatis dapat berlangsung pada temperatur rendah dan menghasilkan perolehan glukosa mencapai 70% (de Vrije *et al.*, 2002). Jenis enzim yang digunakan bergantung pada substrat yang ada. Apabila substrat pati maka enzim yang digunakan adalah enzim α -amilase. Enzim α -amilase akan bekerja memutuskan ikatan α -1,4-D-glikosidik pada pati, baik amilosa maupun amilopektin menjadi glukosa (Purba, 2001). Mikroorganisme penghasil enzim α -amilase diantaranya adalah *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus species*, *Rhizopus oligosporus* dan *Aspergillus oryzae* (Bemiller dan Whistler, 2009).

Hidrolisis enzimatis memiliki beberapa kelemahan antara lain adalah membutuhkan waktu yang lebih lama, dan kerja enzim dihambat oleh produk. Harga enzim saat ini lebih mahal daripada asam sulfat, namun demikian pengembangan terus dilakukan untuk menurunkan biaya dan meningkatkan efisiensi hidrolisis maupun fermentasi (Isroi, 2008).

Produksi bioetanol dari pati dapat dioptimalkan dengan meningkatkan gula pereduksi yang dihasilkan dari proses hidrolisis melalui beberapa metode praperlakuan. Optimalisasi gula pereduksi menjadi hal penting untuk diperhatikan, sebab semakin banyak jumlahnya maka etanol yang dihasilkan pada tahap fermentasi akan lebih banyak.

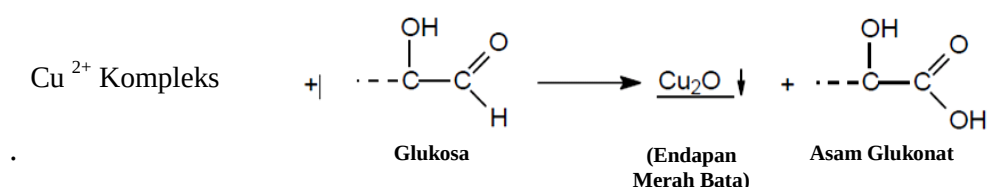
2. Gula Reduksi

Beberapa jenis karbohidrat bersifat mampu mereduksi logam tertentu dalam larutan basa disebabkan oleh gugus aldehyd dan gugus keton yang bebas di dalam strukturnya. Gula reduksi merupakan golongan gula yang dapat mereduksi senyawa-senyawa penerima elektron, contohnya yaitu glukosa dan fruktosa. Semua monosakarida (glukosa, fruktosa, galaktosa) dan disakarida (laktosa, maltosa), kecuali sukrosa dan pati (polisakarida), termasuk sebagai gula pereduksi (Lehninger, 1982). Karena sifat reduktor ini, maka dapat digunakan untuk keperluan identifikasi karbohidrat maupun analisis kuantitatif. Sifat ini tampak pada reaksi reduksi ion-ion logam misalnya ion Cu^{2+} dan ion Ag^+ yang terdapat pada pereaksi-pereaksi tertentu (Poedjadi, 2006).

3. Analisis Gula Reduksi

Dalam menganalisis gula reduksi dapat dilakukan dengan dua metode yaitu metode kualitatif dan kuantitatif. Metode analisis kualitatif suatu karbohidrat umumnya didasarkan atas reaksi- reaksi warna yang dipengaruhi oleh produk penguraian gula dalam asam-asam kuat dengan berbagai senyawa organik, sifat mereduksi dari gugus karbonil dan sifat oksidasi berasal dari gugus hidroksil yang berdekatan. Hasil reaksi dengan asam-asam kuat seperti asam sulfat, hidroklorat dan fosfat pada karbohidrat adalah pembentukan produk yang berwarna (Andarwulan *et al.*, 2011). Metode analisis kualitatif karbohidrat umumnya adalah uji Molish, uji Seliwanof, uji Antrone, uji Fenol (Andarwulan *et al.*, 2011), uji Fehling, uji Barfoed, uji Tollens dan uji Benedict (Matthews *et al.*, 2000).

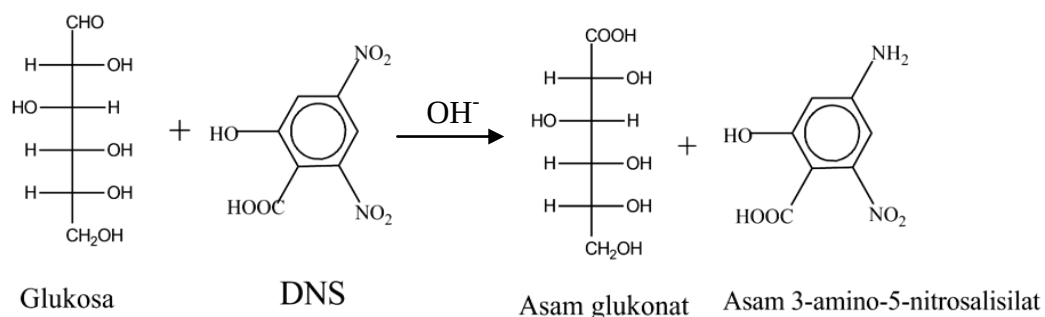
Metode analisis kualitatif gula reduksi yang digunakan pada penelitian ini adalah uji Fehling. Larutan uji Fehling berwarna biru tua, bersifat basa dan digunakan untuk menguji adanya gugus aldehyd atau senyawa lain yang mengandung gugus fungsi aldehyd. Larutan uji Fehling terdiri dari campuran kupri sulfat (CuSO_4), Na-K-tartrat dan NaOH. Saat gula reduksi dan larutan Fehling dipanaskan bersamaan akan terbentuk endapan Cu_2O yang berwarna hijau, kuning-oranye atau merah bergantung dari macam gula reduksinya (Sudarmaji, 1984). Reaksi yang terjadi antara gula reduksi dengan larutan Fehling dapat dilihat di Gambar 3. berikut ini



Gambar 3. Reaksi larutan Fehling dan glukosa

Pada analisis kuantitatif karbohidrat dapat dilakukan dengan cara kimiawi, cara fisik, cara enzimatik atau biokimiawi dan cara kromatografi (Sudarmaji, 1984). Penentuan gula pereduksi selama ini dilakukan dengan metode pengukuran konvensional seperti metode *Osmometri*, *Polarimetri*, dan *Refraktrometri* maupun berdasarkan reaksi gugus fungsional dari senyawa karbohidrat (seperti metode *Luff-Schoorl*, *Seliwanoff*, *Nelson-Somogyi* dan lain-lain). Namun hasil analisis kadar gula pereduksi total dari metode konvensional ini tidak dapat menentukan gula pereduksi secara individual (Ratnayani *et al.*, 2008).

Metode analitik yang telah digunakan untuk menentukan kadar gula reduksi yaitu deteksi kolorimetri yang didasarkan pada reaksi oksidasi dari gugus karbonil dan kemudian dianalisis serapannya dengan pada gelombang UV-Vis. Beberapa metode kolorimetri yang digunakan untuk menganalisis kadar gula reduksi yaitu asam fenol-belerang, asam antron-belerang, asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS), reagen kalium besi heksasianat (*Prussian blue*), dan Nelson-Somogyi (*molybdenum blue*) (Deng dan Tabataba, 1994). Gambar 4 ini menunjukkan reaksi antara DNS dan gula reduksi.



Gambar 4. Reaksi DNS dengan gula reduksi

Reagen asam dinitrosalisilat mengandung asam dinitrosalisilat, garam Rochelle, fenol, sodium bisulfat, dan sodium hidroksida. Garam Rochelle akan mencegah reagen dari oksigen terlarut, fenol digunakan untuk menaikkan jumlah warna yang dihasilkan, dan bisulfit untuk menstabilkan warna karena adanya fenol. Alkali dibutuhkan untuk mereduksi glukosa (Miller, 1995).

Gula reduksi dapat diuji dengan metode DNS (dinitrosalisilat) dengan glukosa sebagai larutan standar. DNS akan bereaksi dengan gugus karbonil bebas dari gula reduksi pada kondisi basa, dan membentuk asam 3-amino-5-nitrosalisilat, yaitu sebuah senyawa aromatik dengan panjang gelombang maksimum 540 nm,

kemudian kadar gula reduksi dianalisis secara kuantitatif dengan spektrofotometer UV-Vis (Kim *et al.*, 2010).

Analisis dengan spektrofotometer UV-Vis secara umum didasarkan pada pembentukan warna yang dihasilkan antara analit dengan reagen yang digunakan. Dengan menggunakan pereaksi warna, alat menjadi lebih peka dan menaikkan sensitivitas sehingga batas deteksinya menjadi rendah. Prinsip kerja spektrofotometer UV-Vis didasarkan pada Hukum Lambert Beer yang menyatakan hubungan antara absorbansi cahaya dengan konsentrasi analit (Darchriyanus, 2004). Panjang gelombang sinar ultraviolet yaitu pada panjang gelombang antara 200-400 nm, dan sinar tampak mempunyai panjang gelombang 400-750 nm. Hukum Lambert Beer dinyatakan pada persamaan berikut.

$$A = -\log T = \log \frac{I_0}{I_t} = \epsilon b c$$

Keterangan :

A = absorbansi (energi radiasi yang diserap oleh molekul)

T = transmittan (energi radiasi yang dilewatkan)

I_0 = intensitas cahaya masuk

I_t = intensitas cahaya yang diteruskan oleh sampel

ϵ = absorbtivitas molar ($L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)

b = ketebalan sel (cm)

c = konsentrasi analit (mol L^{-1})

Pada penentuan kadar analit pada sampel diperlukan suatu persamaan regresi linear dan kurva kalibrasi pada panjang gelombang tertentu. Persamaan regresi linear dapat diperoleh dari kurva kalibrasi yang berisi hubungan antara absorbansi dan larutan baku pada konsentrasi tertentu. Panjang gelombang yang digunakan

adalah panjang gelombang yang memiliki absorbansi maksimum dari suatu larutan baku pada konsentrasi tertentu (Rohman, 2007).

4. Fermentasi

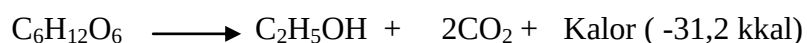
Terdapat tiga metode dalam pembuatan alkohol (etanol dan metanol) yaitu hidrasi alkena yang diperoleh dari reaksi *cracking petroleum*, proses oxo dari alkena, karbon monoksida dan hidrogen, dan fermentasi karbohidrat (Riswiyanto, 2009). Bioetanol dapat dihasilkan melalui proses fermentasi gula dari sumber karbohidrat (pati) menggunakan bantuan mikroorganisme.

Fermentasi adalah proses terjadinya dekomposisi gula menjadi alkohol dan karbondioksida. Fermentasi telah dimanfaatkan untuk membuat bir, roti, anggur, bahan kimia dan lain-lain. Fermentasi didefinisikan sebagai perombakan produk fermentasi yang stabil, contoh produk fermentasi oleh mikroorganisme yang dapat dimanfaatkan meliputi etil alkohol, asam laktat, asam asetat, gliserol, butilen, glikol, aseton, butanol dan asam butirat (Tarigan, 1988).

Pada fermentasi, ragi yang digunakan untuk fermentasi adalah ragi tape. Ragi tape merupakan inokulan yang mengandung kapang dan khamir *Amylomyces rouxii*, *Rhizopus oryzae*, *Endomycopsis burtonii*, *Mucor sp.*, *Candida utilis*, *Saccharomycopsis fibuligera*, *Sacharomyces cerevisiae*, dan beberapa bakteri *Pediococcus sp* dan *Baksil sp* (Sudarmadji dkk, 1989). Kusnadi dkk (2009) mengungkapkan bahwa ragi mengandung enzim zimase yang bertindak sebagai katalis untuk mengubah sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa. Fruktosa dan

glukosa kemudian bereaksi dengan enzim invertase yang mengubahnya menjadi alkohol (etanol) dan karbon dioksida.

Secara umum, bakteri fermentasi diklasifikasikan berdasarkan toleransinya terhadap oksigen. Bakteri yang membutuhkan oksigen disebut aerobik dan yang tidak membutuhkan oksigen disebut anaerobik. Bakteri yang awalnya saja menggunakan oksigen namun untuk seterusnya tidak bergantung sama sekali terhadap oksigen disebut organisme fakultatif. Ragi yang digunakan untuk menghasilkan etanol merupakan contoh dari jenis organisme anaerob fakultatif ini. Pengubahan glukosa menjadi etanol terdiri dari reaksi kimia dengan urutan yang kompleks yang secara sederhana dapat diringkas menjadi reaksi berikut (Koop *et al*, 1982).



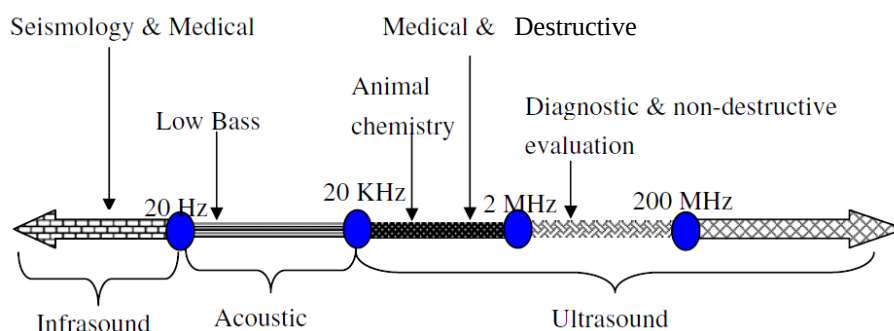
Ragi yang digunakan pada produksi etanol adalah anggota dari genus *Saccharomyces*. Ragi ini dipengaruhi oleh variabel-variabel yang berpotensi mempengaruhi produksi etanol. Pada fermentasi, pH dan temperatur adalah variabel yang paling berpengaruh. *Saccharomyces* bekerja sangat efektif pada pH antara 3.0 dan 5.0 serta pada temperatur antara 80 °F (27 °C) dan 90 °F (35 °C). Lamanya waktu untuk mengubah gula reduksi menjadi etanol bergantung pada jumlah ragi yang digunakan per jumlah gula (Koop *et al*, 1982).

Agen fermentasi yang dapat digunakan selain *Sacharomyces cerevisiae* adalah kulit kayu raru. Raru merupakan sebutan untuk kelompok jenis kulit kayu yang ditambahkan pada nira aren yang bertujuan untuk meningkatkan cita rasa dan

kadar alkohol minuman. Kulit batang kayu raru ini biasanya digunakan oleh masyarakat sebagai campuran minuman tuak (minuman tradisional Batak) dan juga digunakan untuk fermentasi bir dan brem. Pada penelitian yang dilakukan Hildebrand (1954), disebutkan bahwa ada beberapa jenis kayu yang digolongkan sebagai kayu raru, antara lain *Shorea maxwelliana* King, *Vatica songa* V.S.I dari famili Dipterocarpaceae dan *Garcinia* sp. dari famili Guttifera. Penelitian Pasaribu dkk, (2007), menemukan bahwa salah satu kulit kayu raru yang berasal dari Kabupaten Tapanuli Tengah diidentifikasi sebagai *Cotylelobium melanoxyylon* Pierre.

5. Ultrasonikasi

Ultrasonik adalah gelombang suara atau getaran yang memiliki frekuensi vibrasi suara sangat tinggi, berada di atas batas kemampuan pendengaran manusia yaitu kira-kira di atas 20 kHz. Diagram rentang gelombang ultrasonik dengan beberapa aplikasinya pada frekuensi yang berbeda disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. Diagram rentang gelombang ultrasonik

Berdasarkan frekuensinya, gelombang ultrasonik terbagi menjadi tiga yaitu power ultrasonikasi (20-100 kHz), ultrasonikasi dengan frekuensi tinggi (100 kHz- 1 MHz) dan ultrasonik diagnostik (1–500 MHz) (Pilli *et al.*, 2011).

Hanya jenis power ultrasonikasi yang secara energi cukup untuk digunakan untuk praperlakuan biomassa, namun sonikasi dengan intensitas rendah berpotensi untuk meningkatkan konversi gula menjadi etanol pada tahap fermentasi.

Gelombang ultrasonik pada perkembangannya dapat digunakan untuk menghasilkan gelembung dengan tujuan untuk menghasilkan berbagai efek yang salah satunya untuk mempercepat reaksi kimia. Gelembung tersebut tercipta ketika diterapkan pada sebuah objek (cairan homogen) sebagai akibat efek dari gelombang akustik yang menghasilkan kavitasi atau yang lebih dikenal dengan kavitasi akustik (Ariyandi dkk, 2007).

Fenomena kavitasi akustik menyebabkan kenaikan suhu dan tekanan lokal dalam cairan (Wardiyati, 2004). Ultrasonikasi pada cairan dipengaruhi oleh beberapa parameter seperti frekuensi, tekanan, suhu, viskositas, dan konsentrasi suatu sampel (Wardiyati, 2004).

Ultrasonikasi merupakan teknologi yang telah banyak digunakan di bidang kimia khususnya kimia karbohidrat. Efek dari ultrasonik pada pati berbeda-beda bergantung pada konsentrasi pati, karakteristik dari gas yang terlarut, viskositas, suhu reaksi, dan ukuran molekul pati. Sejumlah penelitian menunjukkan bahwa ketika konsentrasi pati meningkat, maka efisiensi ultrasonik menurun (Montalbo-lomboy, 2008).

Ultrasonikasi menghasilkan fragmen-fragmen molekul dan telah diteliti bahwa gelombang ultrasonik memotong pada rantai tengah polimer. Ultrasonikasi mampu mendegradasi makropolimer seperti pati dan mampu mendegradasi molekul yang lebih besar. Kavitasi pada pati akan memutuskan ikatan antara molekul-molekul yang berikatan dan menjadikannya molekul yang lebih kecil (Isono *et al.*, 1994).

6. Analisis Morfologi Tepung Talas dengan *Scanning Electron Microscopy* (SEM)

Keadaan partikel sampel tepung talas beneng perlu dikarakterisasi dengan alat yang mampu melihat perubahan morfologi yang terjadi setelah dipaparkan gelombang ultrasonik. Alat *Scanning Electron Microscopy* (SEM) adalah mikroskop yang mampu menghasilkan gambar dengan resolusi tinggi melalui pancaran sinar yang timbul akibat eksitasi elektron untuk melihat partikel berukuran mikro atau nanometer. Elektron memiliki resolusi yang lebih tinggi daripada cahaya yaitu bisa mencapai resolusi sampai 0,1 – 0,2 nm, sedangkan cahaya hanya 200 nm. SEM mampu memfoto suatu permukaan dengan perbesaran dari 20–100.000 kali.

Metode karakterisasi ini merupakan cara yang efektif untuk memperoleh gambar permukaan spesimen. Mikroskop ini bekerja dengan memancarkan elektron ke permukaan spesimen dengan energi 1-25 kV. Elektron yang langsung menumbuk spesimen dinamakan elektron primer, sedangkan elektron yang terpantul dari spesimen dinamakan elektron sekunder. Bentuk permukaan spesimen dibentuk

oleh elektron sekunder yang berenergi rendah dilepaskan dari atom-atom yang ada pada permukaan spesimen (Poole and Owens, 2003).

7. Analisis Bioetanol

Analisis bioetanol dapat dilakukan yaitu dengan menggunakan kromatografi gas, HPLC, spektroskopi inframerah dan olfaktometri. Pada penelitian ini digunakan kromatografi gas.

Kromatografi gas (GC) adalah teknik analitis untuk senyawa volatil dan semi-volatil. Banyak analisis etanol dilakukan dengan GC karena pengotor di dalam etanol pada dasarnya bersifat volatil sama halnya dengan sifat etanol tersebut (Onuki *et al.*, 2008).

Kromatografi gas merupakan teknik pemisahan yang mana solut-solut yang mudah menguap (dan stabil terhadap panas) bermigrasi melalui kolom yang mengandung fase diam dengan suatu kecepatan yang tergantung pada rasio distribusinya. Prinsip utama pemisahan dalam kromatografi gas adalah berdasarkan perbedaan laju migrasi masing-masing komponen dalam melalui kolom.

Komponen campuran dapat diidentifikasi dengan menggunakan waktu tambat (waktu retensi) yang khas pada kondisi yang tepat dan pada sampel tertentu.

Waktu retensi (waktu tambat) adalah waktu yang menunjukkan berapa lama suatu senyawa tertahan di dalam kolom. Pemisahan pada kromatografi gas didasarkan

pada titik didih suatu senyawa dikurangi dengan semua interaksi yang mungkin terjadi antara solut dengan fase diam.

Gas-gas yang sering dipakai adalah helium atau argon. Gas tersebut sangat baik, tidak mudah terbakar, tetapi sangat mahal (Sastrohamidjojo, 1985). Gas pembawa dengan tekanan tertentu dialirkan secara konstan melalui kolom yang berisi fase diam. Selanjutnya sampel diinjeksikan kedalam injektor (*Injection Port*) yang suhunya dapat diatur. Komponen-komponen dalam sampel akan segera menjadi uap dan akan dibawa oleh aliran gas pembawa menuju kolom. Komponen-komponen akan teradsorpsi oleh fase diam pada kolom kemudian akan merambat dengan kecepatan berbeda sesuai dengan nilai koefisien distribusi masing-masing komponen sehingga terjadi pemisahan.

Komponen uap yang terpisah kemudian akan menuju ke detektor dan akan menghasilkan sinyal listrik yang besarnya proporsional dengan komponen tersebut. Sinyal dari komponen tersebut lalu diperkuat oleh amplifer dan selanjutnya oleh pencatat (*recorder*) dituliskan sebagai kromatogram berupa puncak (*peak*) (Yazid, 2005).

III. METODELOGI PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari sampai Mei 2016 bertempat di Laboratorium Kimia Fisik, Laboratorium Biomassa, Laboratorium Botani, Universitas Lampung, Laboratorium Kimia Institut Teknologi Bandung dan Laboratorium Jasa Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

B. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan antara lain adalah ultrasonikator Bandelin Sonorex Technic, *water bath* Precistern, neraca analitik Wiggens Houser, spektrofotometer UV-VIS Varian Cary 100, EVO MA 10 Carl Zeiss Scanning Electron Microscopy, *autoclave* Kleinfeld-Germany HV-L25, *laminar air flow*, ESCO AVC4A1, kromatografi gas GC-FID, blender Philips, oven, indikator pH universal, botol film dan alat-alat gelas yang umum digunakan di laboratorium. Bahan yang digunakan adalah umbi talas beneng (umbi primer), HNO_3 5%, glukosa, fenol, $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, DNS, NaOH, akuades, larutan Fehling A dan B, NaOH, Na-K tartarat, Na_2SO_3 , *Saccharomyces cerevisiae*, serbuk kulit kayu raru, air nira, buffer fosfat pH 5, NaCl, kertas saring, kain kasa dan aluminium foil.

C. Prosedur Penelitian

1. Preparasi Tepung Umbi Talas

Preparasi tepung umbi talas dilakukan dengan cara pengupasan, pengirisan, perendaman dalam air kapur semalam, penghalusan (basah), pengeringan dan penghalusan (kering). Penghalusan dilakukan dengan *blender* dan pengeringan dilakukan menggunakan oven selama 2 hari pada suhu 70 °C. Tepung hasil selanjutnya disimpan dalam wadah yang kedap udara untuk menjaga kondisi tepung tetap baik.

2. Penentuan Kadar Pati

Analisis kadar pati dari umbi talas beneng dilakukan dengan metode spektrofotometri UV-Vis. Pereaksi yang digunakan adalah larutan iod yang akan memberikan warna biru saat bereaksi dengan sampel, kemudian absorbansi sampel diukur pada panjang gelombang maksimum dari standar pati. Nilai kadar pati dari umbi talas beneng dapat ditentukan dengan memplot hasil dari kurva standar dengan konsentrasi larutan standar. Larutan pati dengan massa 0,03, 0,04, 0,05, dan 0,06 gram dalam 15 mL akuades dijadikan sebagai larutan standar. Keempat larutan tersebut ditambahkan larutan I₂ 1% masing-masing sebanyak 0,5 mL. Larutan dihomogenkan dan diamati adanya warna biru keunguan sebagai indikator positif adanya pati. Setelah beberapa menit warna biru keunguan menghilang dan larutan didekantasi untuk dianalisis panjang gelombang maksimum serta absorbansinya. Absorbansi yang sesuai dengan panjang

gelombang maksimum dari larutan standar akan menghasilkan persamaan regresi linear.

Tepung umbi talas beneng yang telah disiapkan sebanyak 0,06 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian dimasukkan 15 mL akuades dan 0,5 mL larutan I_2 1% dan didiamkan sejenak dan dipisahkan filtrat nya untuk selanjutnya di analisis dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum dari standar pati. Persamaan regresi linear yang diperoleh dari data kurva standar digunakan untuk menghitung kadar pati dalam sampel.

3. Hidrolisis Umbi Talas Beneng

Pada tahap hidrolisis umbi talas beneng ini mengacu pada beberapa hasil penelitian terkait, dimana proses hidrolisis dibawah pengaruh ultrasonikasi, pH, dan waktu yang berbeda. Untuk hidrolisis sebanyak 20 gram tepung umbi talas beneng dilarutkan dalam 250 mL air akuades dalam gelas kimia 500 mL kemudian dihidrolisis pada kondisi, pH, dan waktu yang berbeda dibawah pengaruh ultrasonikasi dengan frekuensi 40 kHz.

3.1. Penentuan Pengaruh Ultrasonikasi terhadap Struktur Pati

Pada penelitian ini akan dilihat morfologi struktur pati dari talas beneng setelah dihidrolisis dibawah pengaruh ultrasonikasi dan pati yang tidak diberi perlakuan apapun menggunakan analisis *Scanning Electron Microscopy* (SEM). Sebanyak 20 gram tepung talas beneng dihidrolisis dengan asam selama 90 menit, kemudian endapan hasil hidrolisis dikeringkan dan digerus untuk selanjutnya dianalisis dengan SEM. Hasil dari analisis SEM diharapkan akan menunjukkan perbedaan

morfologi dari sampel yang diberi perlakuan ultrasonikasi dan sampel pati tanpa perlakuan.

3.2. Penentuan pH Optimum

Dalam penentuan tingkat keasaman (pH) yang optimum, empat buah sampel divariasikan yaitu 1, 2, 3, dan 4 menggunakan larutan HNO_3 5% di bawah keadaan kontrol yaitu pada suhu 70°C dan diultrasonikasi selama 30 menit. Sampel hasil hidrolisis disaring untuk memperoleh filtrat. Kemudian filtrat dianalisis kadar gula reduksinya secara kualitatif dengan metode Fehling dan secara kuantitatif dengan metode DNS. Nilai pH optimum yang diperoleh selanjutnya digunakan dalam penentuan waktu optimum hidrolisis.

3.3. Penentuan Waktu Optimum

Penentuan waktu optimum dilakukan dengan variasi waktu 30, 60, 90, dan 120 menit terhadap empat buah sampel yang telah disiapkan seperti pada tahap sebelumnya. Masing-masing sampel dihidrolisis pada keadaan kontrol yaitu pH optimum dan pada suhu 70°C . Filtrat hasil hidrolisis kemudian dianalisis kadar gula reduksinya sama dengan metode pada 3.2. Waktu optimum dan pH optimum yang telah diperoleh selanjutnya digunakan pada hidrolisis kondisi optimum.

3.4. Hidrolisis pada Kondisi Optimum

Pada tahap ini tingkat keasaman (pH) sampel disesuaikan menjadi pH optimum menggunakan larutan HNO_3 5% dan kemudian dimasukkan ke dalam alat ultrasonikator berisi air dengan suhu 70°C dan diultrasonikasi pada frekuensi

tetap yaitu 40 kHz selama waktu optimum. Hasil hidrolisis kemudian dianalisis kadar gula reduksinya dengan metode yang sama pada 3.2.

4. Analisis Kadar Gula Reduksi

Sampel hasil hidrolisis kemudian dianalisis dengan metode kualitatif dan kuantitatif.

4.1. Analisis Kualitatif

Analisis kualitatif ini sebagai uji pendahuluan untuk memastikan adanya gula reduksi hasil dari hidrolisis. Pada analisis ini digunakan reagen Fehling. Reagen Fehling terdiri dari Fehling A dan Fehling B yang keduanya dicampur dengan masing-masing sebanyak 1 mL ke dalam tabung reaksi. Kemudian filtrat dari hasil hidrolisis sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang sama dan dipanaskan di dalam penangas air pada kondisi mendidih selama 10 menit. Uji positif adanya gula reduksi di dalam sampel akan menghasilkan endapan Cu_2O berwarna merah bata.

4.2. Analisis Kuantitatif

4.2.1. Pembuatan Reagen DNS

Asam 3,5-dinitrosalisilat sebanyak 1 gram dilarutkan dalam 20 mL akuades dalam labu ukur 100 mL, kemudian ditambahkan 1 gram NaOH ; 0,2 gram fenol; 0,05 gram Na_2SO_3 , dan 1 mL Na-K tartarat 40% ke dalam labu ukur serta

dihomogenkan dan dimasukkan akuades sampai batas meniskus dan dihomogenkan kembali.

4.2.2. Pembuatan Kurva Standar

Kurva standar gula reduksi dibuat dengan menggunakan larutan glukosa dalam beberapa konsentrasi dengan tujuan memperoleh persamaan regresi linear.

Larutan glukosa dengan konsentrasi yaitu 200; 400, 600, 800 dan 1.000 mg/L dari larutan stok 10.000 mg/L. Pembuatan larutan standar dilakukan dengan memasukkan 0,5 mL larutan glukosa stok ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 0,5 mL akuades dan 2 mL reagen DNS. Di tabung reaksi yang lainnya disiapkan pula larutan blanko DNS dengan prosedur 2 mL DNS dan 0,5 mL akuades.

Semua tabung reaksi ditutup dengan aluminium *foil* kemudian dimasukkan ke dalam penangas air pada suhu 100 °C selama 10 menit. Kemudian, tabung reaksi didinginkan pada suhu ruang dan ditambahkan 12 mL akuades dan dihomogenkan. Larutan standar diukur letak panjang gelombang maksimumnya dengan larutan *blanko* DNS dalam akuades, menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Setiap larutan diukur absorbansinya dengan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Nilai absorbansi tiap larutan diplot terhadap konsentrasi agar diperoleh kurva standar dan persamaan regresi linear.

4.2.3. Penentuan Gula Reduksi dalam Sampel

Kadar gula reduksi ditentukan dengan cara yang pertama yaitu dengan menyiapkan larutan alikuot 1 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi 2 mL DNS ditambahkan ke dalam tabung berisi sampel dan ditutup dengan aluminium foil. Campuran larutan selanjutnya dipanaskan pada suhu 100 °C selama 5 sampai 10 menit di dalam penangas air. Kemudian sampel didinginkan pada suhu ruangan, kemudian ditambah 12 mL akuades dan dihomogenkan dan absorbansinya diukur pada panjang gelombang maksimum. Konsentrasi gula reduksi dihitung dengan mensubstitusi nilai absorbansi sampel ke dalam persamaan regresi linear yang diperoleh dari kurva standar.

5. Fermentasi Alkohol

5.1. Fermentasi Alkohol dengan *Saccharomyces cerevisiae*

Semua peralatan yang digunakan disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121 °C dan pada tekanan 1 atm selama 2 jam, dan kemudian didinginkan pada suhu ruang dan diberi sinar UV di dalam *laminar air flow*. Sebanyak 0,1 gram *Saccharomyces cerevisiae* dan 10 mL NaCl dicampurkan dan kemudian diinkubasi selama 1 jam agar mikroorganisme dapat berkembang dengan baik setelah dipindahkan dari media awalnya.

Setelah media mikroorganisme disiapkan, selanjutnya sebanyak 100 mL hidrolisat dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 mL dan pH nya diubah menjadi pH 5 oleh penambahan NaOH dan supaya kondisi larutan tetap pada pH 5 maka

ditambahkan larutan penyangga atau *buffer* fosfat 5 mL pH 5,4. Kemudian dikondisikan menjadi semi anaerob (disumbat dengan kapas dan aluminium) dan didiamkan selama 72 jam pada suhu ruang. Kondisi pH saat proses fermentasi akan diukur untuk memastikan terkonversinya gula reduksi menjadi etanol setelah 4 jam difermentasi. Hasil fermentasi disaring dengan kertas saring hingga diperoleh hasil yang jernih dimana pada proses selanjutnya dilakukan analisis kromatografi gas.

5.2. Fermentasi Alkohol dengan Serbuk Kulit Kayu Raru

Proses fermentasi akan berlangsung optimal apabila semua peralatan yang digunakan dalam keadaan steril. Peralatan yang digunakan disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121 °C dan pada tekanan 1 atm selama 2 jam, dan kemudian didinginkan pada suhu ruang dan diberi sinar UV di dalam *laminar air flow*. Sampel hidrolisat sebanyak 100 mL dan 5 mL air nira dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer dan pH disesuaikan menjadi pH 5 dengan ditambahkan NaOH dan kondisi pH dipertahankan dengan menambah buffer fosfat pH 5,4 sebanyak 5 mL. Agen fermentasi, bubuk kayu raru, ditambahkan ke dalam erlenmeyer tersebut sebanyak 5 gram. Kemudian dikondisikan menjadi semi anaerob (disumbat dengan kapas dan aluminium) dan didiamkan selama 72 jam pada suhu ruang. Kondisi pH saat proses fermentasi akan diukur untuk memastikan terkonversinya gula reduksi menjadi etanol setelah 4 jam difermentasi. Hasil fermentasi disaring dengan kertas saring hingga diperoleh hasil yang jernih dimana pada proses selanjutnya dilakukan analisis dengan kromatografi.

5.3. Fermentasi Air Nira menjadi Alkohol menggunakan Serbuk Kayu Raru

Sejumlah air nira akan difermentasi menggunakan serbuk kulit kayu raru yang akan dijadikan sebagai variabel kontrol dari hasil fermentasi alkohol dengan dua agen fermentasi terhadap tepung talas beneng. Air nira sebanyak 100 mL dimasukkan ke dalam erlenmyer, kemudian pH nya diubah menjadi pH 5 oleh penambahan NaOH dan supaya kondisi larutan tetap pada pH 5 maka ditambahkan larutan penyangga atau *buffer* fosfat 5 mL pH 5,4 dan dimasukkan bubuk kayu raru ke dalam erlenmeyer tersebut sebanyak 5 gram. Kemudian dikondisikan menjadi semi anaerob (disumbat dengan kapas dan aluminium) dan didiamkan selama 72 jam pada suhu ruang. Hasil fermentasi disaring dengan kertas saring hingga diperoleh hasil yang jernih dan filtrat dianalisis dengan kromatografi gas.

6. Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Bioetanol

6.1. Analisis Kualitatif Bioetanol dengan $K_2Cr_2O_7$

Keberadaan etanol yang dihasilkan dari sampel yang difermentasi alkohol oleh *Saccharomyces cerevisiae* dan serbuk kulit kayu raru serta air nira yang difermentasi dengan kayu raru dianalisis secara kualitatif dengan menggunakan $K_2Cr_2O_7$ dalam keadaan asam.

Sebanyak 1,47 gram $K_2Cr_2O_7$ dilarutkan dalam labu ukur 100 mL dengan ditambahkan akuades sampai tanda batas maka diperoleh larutan $K_2Cr_2O_7$ 0,05 M. Larutan $K_2Cr_2O_7$ 0,05 M ditambahkan sebanyak 1 ml ke dalam tabung reaksi yang telah berisi H_2SO_4 pekat kemudian dihomogenkan. Setiap hasil

fermentasi baik dengan *Saccharomyces cerevisiae* , kulit kayu raru dan air nira yang difermentasi dengan kulit kayu raru di ambil sebanyak 2 ml dan dimasukkan ke dalam larutan $K_2Cr_2O_7$ yang telah disiapkan. Sampel kemudian dipanaskan dalam penangas mendidih hingga larutan menimbulkan warna hijau yang merupakan indikator positif adanya etanol.

6.2. Analisis Kuantitatif Kadar Bioetanol dengan Kromatografi Gas

Sampel hasil fermentasi dapat dianalisis dengan kromatografi gas untuk mengetahui kadar bioetanol yang dihasilkan pada penelitian ini. Analisis dilakukan di Laboratorium Jasa Kimia, Departemen Kimia, FMIPA Universitas Indonesia.

Secara teori, sampel yang mengandung alkohol dilewatkan pada zona reaksi dalam keadaan tertutup antara tempat sampel dan detektor. Detektor yang digunakan pada analisis kromatografi gas ini *Flame Ionization Detector* yang bekerja spesifik pada sampel yang mudah menguap seperti etanol. Data kromatogram yang dihasilkan dari *Gas Chromatography Flame Ionization Detector* (GC-FID) kemudian dibandingkan dengan data standar waktu retensi etanol yang tersedia.

Kuantifikasi kadar etanol pada sampel dilakukan dengan mensubstitusi luas area sampel ke dalam persamaan regresi linear yang diperoleh dari kurva standar etanol. Kurva standar etanol diperoleh dengan membuat larutan etanol sebesar 0,1, 1, 3, 5, 7, dan 10%. Larutan etanol standar dianalisis dengan GC-FID untuk memperoleh data waktu retensi etanol standar dan luas area masing-masing

standar. Data antara konsentrasi etanol dan luas area larutan standar akan menghasilkan persamaan regresi linear. Setiap sampel hasil fermentasi dianalisis dengan GC-FID dan diperoleh luas area tiap sampel yang disubstitusikan ke dalam persamaan akan menghasilkan nilai kadar bioetanol dari sampel.

V. SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan diperoleh beberapa simpulan sebagai berikut.

1. Produksi gula reduksi dari umbi talas beneng menggunakan metode hidrolisis asam dan ultrasonikasi secara simultan berpotensi untuk dijadikan metode hidrolisis pada talas beneng.
2. Gula reduksi tertinggi diperoleh dari hidrolisat yang dihidrolisis pada pH 1, suhu 70 °C selama 30 menit dengan kadar gula reduksi yang dihasilkan sebesar 577,5 mg/L.
3. Besarnya kadar etanol hidrolisat yang difermentasi dengan kulit kayu raru dan *Saccharomyces cerevisiae* masing-masing sebesar 0,0511% dan 0,0357%, sementara itu air nira yang difermentasi dengan kayu raru menghasilkan etanol dengan kadar 1,365%.
4. Agen fermentasi yang digunakan seperti kulit kayu raru mampu memfermentasi hidrolisat menjadi etanol dengan kadar yang lebih tinggi dibandingkan agen fermentasi *Saccharomyces cerevisiae*.

B. Saran

Berdasarkan penelitian ini, diperlukan beberapa pengembangan lanjutan untuk meningkatkan potensi tepung talas beneng sebagai bahan baku etanol diantaranya sebagai berikut.

1. Talas beneng yang digunakan sebagai bahan baku perlu dikaji umur tanamnya sehingga dapat diperoleh kadar pati yang tinggi untuk menghasilkan gula reduksi yang optimum.
2. Variabel yang dianalisis pada produksi gula reduksi ini hanya mencakup pH dan waktu hidrolisis. Sehingga perlu dilakukan studi lanjutan mengenai pengaruh suhu dan frekuensi ultrasonikasi.
3. Perlu dilakukan studi lanjut mengenai faktor-faktor yang mempengaruhi kadar etanol yang dihasilkan seperti massa agen fermentasi yang ditambahkan , praperlakuan agen fermentasi sebelum ditambahkan pada substrat dan lama waktu fermentasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Almatsier, S. 2004. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. PT. Gramedia Pustaka Umum. Jakarta. hlm. 55-61.
- Andarwulan, N., F. Kusnandar, dan D. Herawati. 2011. *Analisis Pangan*. Dian Rakyat. Jakarta. hlm. 1-42.
- Apriani, Rd., R. N. Setyadjit, dan M. Arpah. 2011. Karakterisasi Empat Jenis Umbi Talas Varian Mentega, Hijau, Semir, dan Beneng serta Tepung yang Dihasilkan dari Keempat Varian Umbi Talas. *J. Sci. Ind. Res.* 1 (1), hlm. 1-11.
- Arifin, Y. 2009. *Biobutanol sebagai Biofuel Generasi Kedua di Indonesia*. http://yalun.wordpress.com/2008/10/01/biobutanol-sebagai-biofuel-generasi-kedua-di-indonesia/?referer=sphere_related_content/. Diakses pada 1 November 2015.
- Ariyandi, N., Sudaryanto, K. Mujamilah, dan Ari. H. 2007. Pembuatan Nanosfer Berbasis Biodegradable Polilaktat (PLA) dengan Metode Sonifikasi. *JUSAMI*. 8 (2), hlm. 182-186.
- BeMiller, J. and R. Whistler. 2009. *Starch: Chemistry And Technology Third Edition*. Academic Press. United States of America. pp. 200-209.
- Balai Pengkajian Teknologi Pertanian (BPTP) Banten. 2011. *Talas Beneng (Xanthosoma undipes K. Koch) asal Juhut Pandeglang Banten*. www.banten.litbang.pertanian.go.id. Diakses pada 4 November 2015.
- Barnali, B., R.K. Basu, and S.N. Ash. 2008. Kinetic Study on Acid Catalytic Hydrolysis using Response Surface Method. *J. Sci. Ind. Res.* 67, pp. 295-298.
- Basedow, A. M. And K. L. Ebert. 1977. *Ultrasonic Degradation of Ploymers in Solution*. 22, pp. 84-145.
- Chiu, Chung-wai and D. Solarek 2009. *Starch : Chemistry and Technology (Third Edition)*. Academic Press. pp. 629-655.

- Crueger, W. and Crueger. 1982. *Biotechnology : A Text Book on Industrial*. Translated by T.D Book. *Science Tech Inc.* pp. 54-55.
- Dachriyanus. 2004. *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektrofotometri*. CV. Trianda Anugrah Pratama. Padang. hlm. 1-2.
- De Vrije, T G.G. de Haas, G.B. Tan, E.R.P. Keijzers, and P.A.M. Claassen. 2002. Pretreatment of Miscanthus for hydrogen production by *Thermotoga elfii*. *Int J Hydrogen Energy*. 27, pp. 1381 – 1390.
- Deng, S.P and M.A. Tabatabai. 1994. *Colorimetric Determination of Reducing Sugars in Soils*. Department of Agromony. Iowa State University. USA. 26 (4), pp. 473-477.
- Direktorat Gizi Departemen Kesehatan. 1972. *Daftar Komposisi Bahan Makanan*. Departemen Kesehatan Indonesia. Jakarta. hlm. 1-56.
- El-Tayeb, T.S., A. A. Abdelhafez, S.H. Ali, and E.M. Ramadan . 2012. Effect of Acid Hydrolysis and Fungal Biotreatment on Agro-Industrial Waters for Obtainment of Free Sugars for Bioethanol Production. *Braz. J. Microbiol.* 43 (4), pp. 1523–1535.
- Elisya, F. 2014. Hidrolisis Pati Umbi Talas Taro di Bawah Pengaruh Ultrasonikasi untuk Menghasilkan Gula Reduksi sebagai Bahan Baku Bioetanol. *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Endah, R., E. Kriswiyanti A, dan A. Nur. 2009. *Bioetanol Fuel Grade Dari Talas (Colocasia esculenta)*. Jurnal Ekuilibrium. Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Sebelas Maret. Surakarta. 8 (1), hlm. 1-6.
- Freudig, B., S.Tesch, and H. Schubert. 2003. *Production of Emulsion in High Pressure Homogenizers Part II : Influence of Cavitation on Droplet Backup*. Engineering Life Science. pp. 266-270.
- Gogate, P.R., V.S. Sutkar, and A.B. Pandit. 2011. Sonochemical Reactors : Important Design and Scale Up Considerations with A Special Emphasis on Heterogeneous Systems. *Chem. Eng. J.* 166, pp. 1066-1082.
- Gunawan, S., dan A.Widjaja. 2012. *Pengembangan Teknologi Bioetanol Generasi 2 Melalui Pemanfaatan Selulosa dan Hemiselulosa dalam Jerami Padi*. Prosiding InSINas. hlm. 1-6.
- Hambali, E., dan Armansyah. 2007. *Teknologi Bioenergi*. Agro Media Pustaka. Jakarta. hlm. 1-51.
- Hartono, R., A. M. Silaban, dan J. K. Purba. 2013. Bioetanol dari Talas Beneng (*Xanthosoma Undipes* K. Koch) dengan proses Fermentasi Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*. *Jurnal Integrasi Proses*. 2, hlm. 8-14.

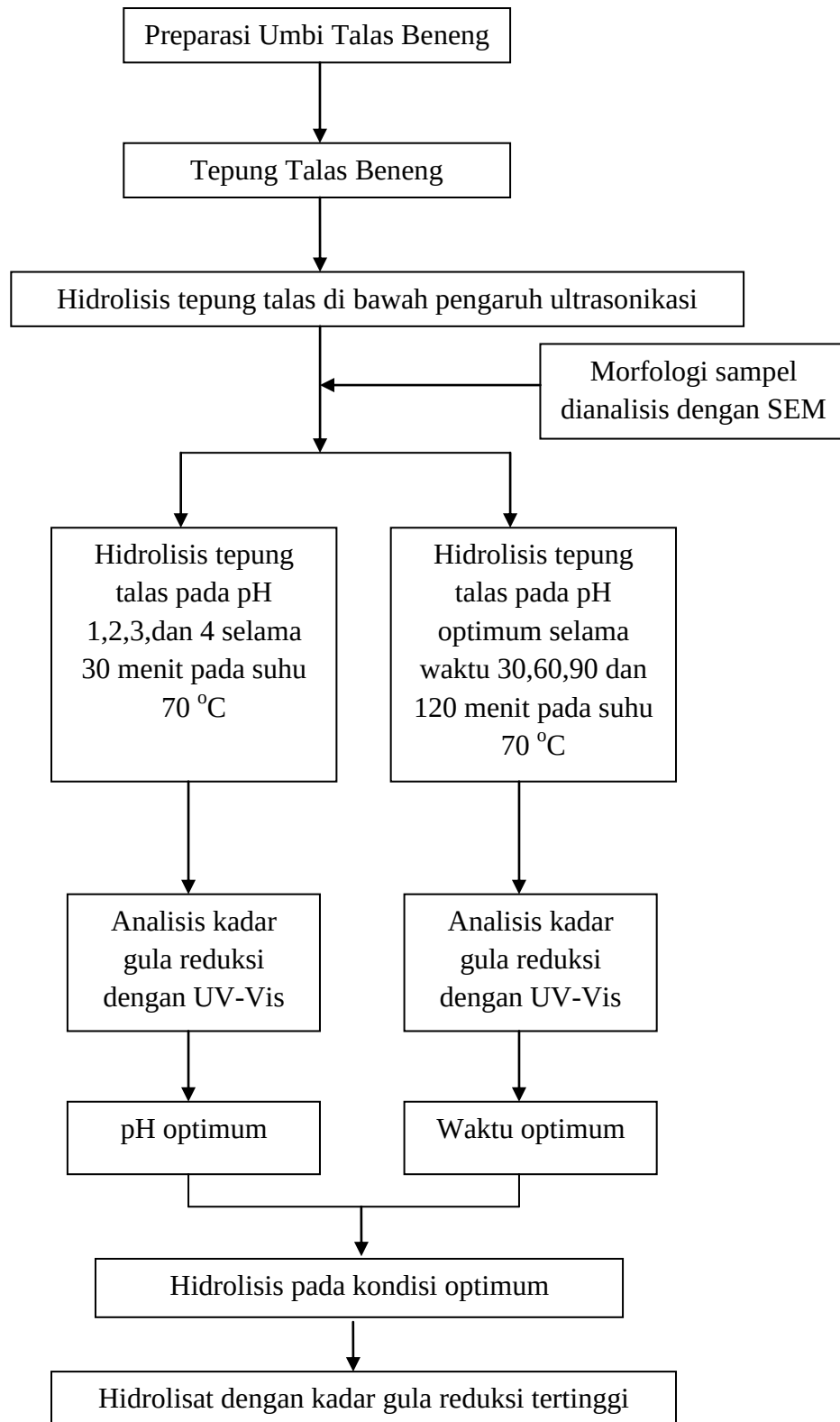
- Hildebrand, F.H. 1954. *Daftar Nama Pohon-pohonan Tapanuli Sumatera Utara*. Laporan Balai Penyelidikan Kehutanan No. 67. Balai Penyelidikan Kehutanan Bogor. Indonesia. hlm. 1-52.
- Hsu, J.C. (1996). *Multiple Comparisons: Theory and Methods*. Chapman & Hall. London. p. 277.
- International Energy Statistic. 2015. *Biofuels Production*. www.afdc.energy.gov . Diakses pada 10 November 2015.
- Isono, Y., T. Kumagai, and T. Watanabe. 1994. Ultrasonic Degradation of Waxy Rice Starch. *Biosci. Biotech. Biochem.* 58, pp. 1799-1802.
- Isroi. 2008. *Potensi Biomassa Lignoselulosa di Indonesia Sebagai Bahan Baku Bioetanol : Tandan Kosong Kelapa Sawit*. <http://isroi.wordpress.com>. Diakses pada 16 November 2015.
- Jacobs, H. and J.A. Delcour. 1998. Hydrothermal Modifications of Granular Starch With Retention of The Granular Structure : Review. *J. Agric. Food Chem.* 46, pp. 2895-2905.
- Jayakody, L. and R. Hoover. 2002. The Effect of Linterization on Cereal Starch Granules. *Food Pers Int.* 35, pp. 665-680.
- Judoamidjojo, M. 1990. *Teknologi Fermentasi*. Penerbit Rajawali Press. Jakarta. hlm. 1-334.
- Khairani, R. 2007. *Tanaman Jagung Sebagai Bahan Bio-fuel*. <http://www.macklin-tmip-unpad.net/Bio-fuel/Jagung/Pati.pdf>. Diakses pada 13 November 2015.
- Kim, J.S., S.C. Park, J.W. Kim, J.C. Park, S.M. Park, and J.S. Lee. 2010. Production of Bioethanol from Lignocellulose: Starch and Perspective in Korea. *Bioresource Technology*. 101 (13), pp. 4801–4805.
- Koop, D.R., E.T. Morgan, G.E. Tarr, and M.J. Coon. 1982. Purification and characterization of a unique isozyme of cytochrome P-450 from liver microsomes of ethanol-treated rabbits. *J. Biol. Chem.* 257, pp. 8472- 8480.
- Kusnadi, A. Syulasmi, dan Y.H. Adisendjaja. 2009. *Pemanfaatan Sampah Organik sebagai Bahan Baku Produksi Bioetanol sebagai Energi Alternatif*. (Laporan Akhir). Universitas Pendidikan Indonesia. hlm. 1-58.
- Liu, Q., E. Donner, Y. Yin, R.L. Huang, and M.Z. Fan. 2006. The Physicochemical Properties and In Vitro Digestibility of Selected Cereals, Tubers and Legumes Grown in China. *Food Chemistry*. 99(3), pp. 470-477.

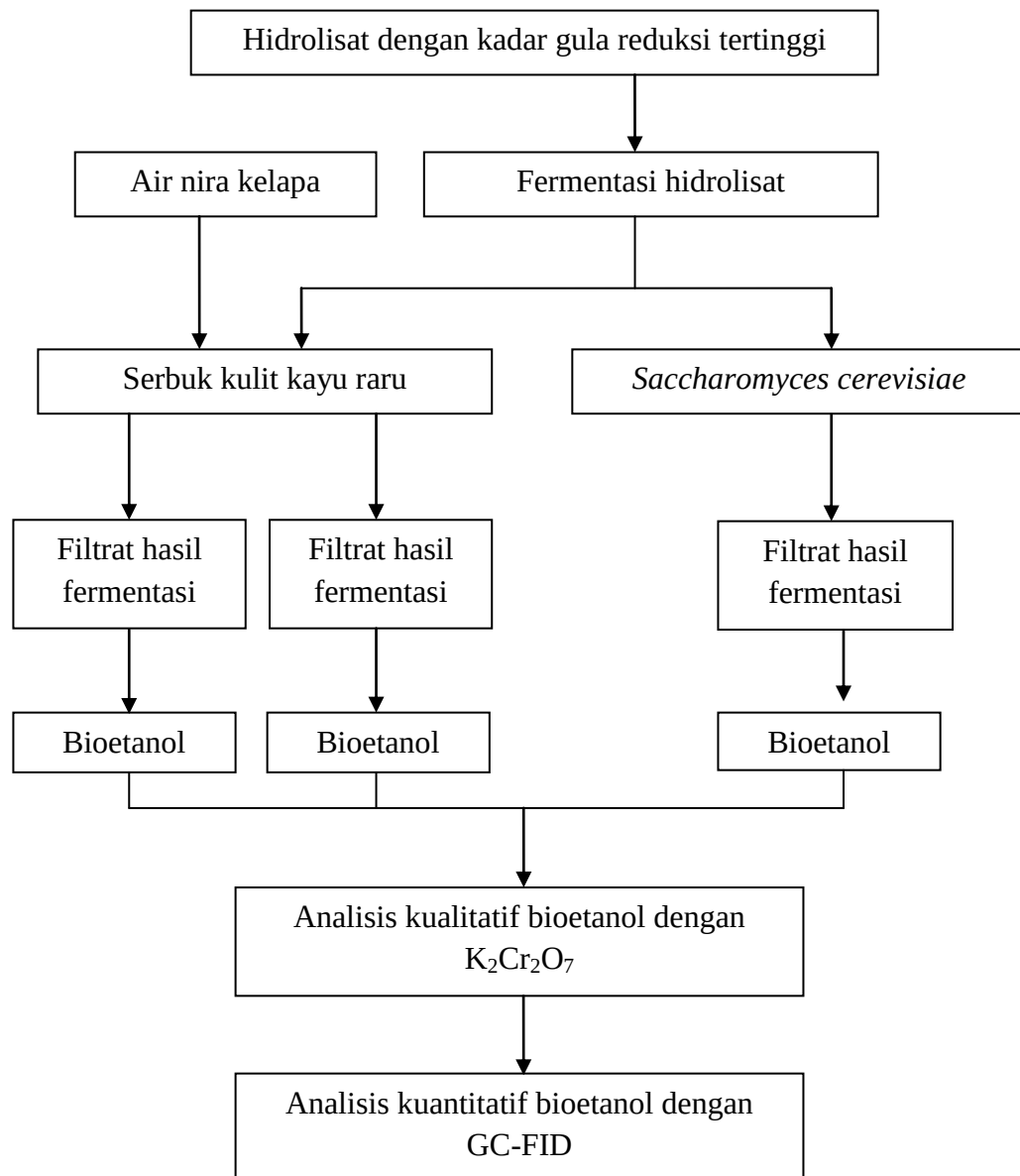
- Lehninger, L. A. 1982. *Dasar-dasar Biokimia Jilid 1*. Erlangga . Jakarta. hlm. 244-246.
- Muchtadi, T.R. dan Sugiyono. 2011. *Ilmu Pengetahuan Bahan Pangan*. PAU. Bogor. hlm. 320-324.
- Matthews, van Holde and Ahern. 2000. *Biochemistry 3rd Edition*. Bengamir/ Cummings. San Fransisco. pp. 278-310.
- McMillan, J.D. 1993. Pretreatment of Lignocellulosic Biomass In : Enzymatic Conversion of Biomass for Fuel Production. *J. Am. Chem. Soc.* 566, pp. 292-323.
- Miller, G.L. 1995. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Quarter Master Research and Engineering Center*. 31 (3), pp. 426–428.
- Montalbo-lomboy, M.T. 2008. *Ultrasonic Pretreatment for Enhanced Saccharification and Fermentation of Ethanol Production from Corn*. (Graduate Theses and Dissertations). Paper 1113. pp. 6-42.
- Nakazawa, Y. and Wang. 2003. Acid Hydrolysis of Native and Annealed Starches and Branch-Structure of Their Naegeli Dextrins. *Carbohydr Res.* 338 (24), pp. 2871–2882.
- Nikolić, S., L. Mojović, M. Rakin, M. Vukašinović –Sekulić, D. Pejin, and J.Pejin. 2010. Improvement of Bioethanol Production from Corn by Ultrasound and Microwave Pretreatments. *Chem. Eng. Trans.* 21, pp. 1327-1331.
- Nitayavardhana, S., S.K. Rakshit, D. Grewell, J.H. van Leeuwen, and S.K. Khanal. 2008. *Biotechnol. Bioeng.* 101 (3), pp. 487–496.
- Olanbiwoninu, A.A., and S.A. Odunfa. 2012. Enhancing the Production of Reducing Sugars from Cassava Peels by Pretreatment Methods. *International Journal of Science and Technology*. 2 (9), pp. 650-657.
- Onuki, S., J.A. Koziel, J. van Leeuwen, W. S. Jenks, D. A. Grewell, and L. Cai. 2008. Ethanol Production, Purification, and Analysis Techniques : A Review. *An ASABE Meeting Presentation Paper Number: 085136*.
- Pasaribu, G.T., F. Boni, dan P. Gustam. 2007. Analisis Komponen Kimia Empat Jenis Kayu Asal Sumatera Utara. *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*. 25 (4), hlm. 327-333.
- Pilli, S., P. Bhunia, S. Yan, R.J. LeBlanc, R.D.Tyogi, R.Y.Surampalli. 2011. Ultrasonic Pretreatment of Sludge : A Review. *Ultrason. Sonochem.* 18, pp. 1-18.

- Poole Jr., C.P. and F.J. Owens. 2003. *Introduction to Nanotechnology*. John Wiley & Sons Inc. pp. 328.
- Prihandana, R. dan R. Hendroko. 2007. *Energi Hijau*. Penerbit Swadaya. Jakarta. hlm. 73-80.
- Prihandana, R. 2008. *Bioetanol Ubi Kayu : Bahan Bakar Masa Depan*. Agromedia Pustaka. Jakarta. hlm. 5-7.
- Ratnayani, K., D. Adhi, dan Gitadewi. 2008. Penentuan Kadar Glukosa dan Fruktosa pada Madu Rndu dan Madu Kelengkeng dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *Jurnal Kimia*. 2(2), hlm. 77-86.
- Rendleman, J.A. 2003. The Reaction of Starch with Iodine Vapor. Determination of Iodide-ion Content of Starch-Iodine Complexes. *Carbohydrate Polymers*. 51, pp 191-202
- Riswiyanto. 2009. *Kimia Organik*. Erlangga. Jakarta. hlm. 442-447.
- Rukmana, R. 1998. *Budidaya Talas*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. hlm. 1-60.
- Rumokoi M. 1990. Manfaat tanaman aren (*Arenga pinnata Merr*). *Buletin Balitka*. 10, hlm. 21-28.
- Sastrohamidjojo, H. 1985. *Kromatografi Edisi I*. Liberty. Yogyakarta. hlm. 65-74.
- Septarini, L. G. R. P. 2013. Hidrolisis Onggok di bawah Pengaruh Ultrasonikasi untuk Menghasilkan Gula Reduksi dan Uji Fermentasinya menjadi Bioetanol. *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Simanjuntak, W., H. Satria., dan N.Utami. 2014. Production Of Reducing Sugar From Cassava Solid Waste by Simultaneous Ultrasonication and Acid Hydrolysis. *Indo. J. Chem.*, 14 (3), pp. 233 – 238.
- Strobel, G. A. 2003. Endophytes as Sources of Bioactive Products. *Microbes Infect.* 5 (6), pp. 535–544.
- Sudarmadji, S. 1984. *Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty. Yogyakarta. hlm. 39-42.
- Sudarmadji. 1989. *Mikrobiologi Pangan*. Proyek Pengembangan Pusat Fasilitas Bersama. Universitas Gadjah Mada. hlm. 28-34.
- Tarigan, J. 1988. *Pengawetan Mikrobiologi*. Depdikbud Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Proyek Pengembangan Lembaga Pendidikan Tenaga Pendidikan. Jakarta.

- Vasanthan, T and R. S. Bhatt. 1996. Enhancement of Resistant Starch (RS3) in Amyl maize, Barley, Field Pea and Lentil Starches. *Starch – Stärke*. 50, pp. 286–291.
- Wahid, La O.M. 2005. *Pemanfaatan Bio-etanol sebagai Bahan Bakar Kendaraan Berbahan Bakar Premium*. Prospek Pengembangan Bio-fuel sebagai Substitusi Bahan Bakar Minyak. Hlm. 63-74.
- Walker, G.M. 2010. *Bioethanol : Science and Technology of Fuel Alcohol*. Ventus Publishing ApS. pp. 31-35.
- Wardiyati, S. 2004. *Pemanfaatan Ultrasonik dalam Bidang Kimia Di dalam : Penguasaan IPTEK Bahan Untuk Meningkatkan Kualitas Produk Nasional*. Prosiding Pertemuan Ilmiah IPTEK Bahan. Serpong. 7 September 2004. P31B Batan. hlm 419-424.
- World Watch Institute (WWI). 2006. *Biofuels for Transportation Global Potential and Implications for Sustainable Agriculture and Energy in the 21st century*. pp. 1-8.
- Yazid, E. 2005. *Kimia Fisika Untuk Paramedis*. Penerbit Andi. Yogyakarta. hlm. 190-192.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram alir penelitian



Lampiran 2. Data absorbansi larutan pati standar untuk membentuk kurva standar pati.

Massa pati (gram)	Absorbansi
0,03	0,232
0,04	0,2092
0,05	0,172
0,06	0,1404

Lampiran 3. Data absorbansi sampel tepung talas beneng yang direaksikan dengan iodine.

Massa pati (gram)	Absorbansi
0,06	0,220

Lampiran 4. Perhitungan kadar pati dalam tepung talas beneng.

Absorbansi sampel dengan massa gram adalah . Nilai absorbansi merupakan nilai y dan nilai x adalah kadar pati (perlu dibagi dengan massa sampel)

Persamaan : $y = -3,12x + 0,328$, dimana

y = absorbansi

x = kadar pati (d disesuaikan dengan massa pati)

$$y = -3,12x + 0,328$$

$$0,220 = -3,12x + 0,328$$

$$0,220 - 0,328 = -3,12x$$

$$-0,108 = -3,12x$$

$$0,0346 = x$$

Kadar pati talas beneng di dalam 0,06 gram sampel adalah sebesar :

$$\text{Kadar pati (\%)} = \frac{0,0346}{0,06} \times 100\% = 57,6\%$$

Lampiran 5. Data absorbansi larutan glukosa untuk membentuk kurva standar glukosa.

Konsentrasi (mg/L)	Absorbansi
200	0,1942
400	0,3759
600	0,5499
800	0,6959
1000	0,8205

Lampiran 6. Data absorbansi dan kadar gula reduksi sampel yang dihidrolisis dengan pH berbeda (waktu 30 menit, 70 °C).

pH	Absorbansi	Kadar Gula Reduksi (mg/L)
1	0,3500	368,75
2	0,2281	216,375
3	0,2398	231
4	0,2956	301

Lampiran 7. Data absorbansi dan kadar gula reduksi sampel yang dihidrolisis dengan pH optimum dan waktu berbeda (pH 1, menit, 70 °C).

Waktu (menit)	Absorbansi	Kadar Gula Reduksi (mg/L)
30	0,5170	577,5
60	0,4830	535
90	0,5062	564
120	0,4202	456,5

Lampiran 8. Perhitungan kadar gula reduksi dalam hidrolisat.

Absorbansi sampel hidrolisat optimum adalah sebesar 0,5170. Nilai absorbansi merupakan nilai y dan nilai x adalah kadar glukosa

Persamaan : $y = 0,0008x + 0,0555$

$$0,5170 = 0,0008x + 0,0555$$

$$0,5170 - 0,0555 = 0,0008x$$

$$0,4615 = 0,0008x$$

$$577,5 = x$$

Jadi, kadar gula reduksi pada kondisi optimum mencapai 577,5 mg/L.

Lampiran 9. Data luas puncak kromatogram etanol standar untuk membentuk kurva standar etanol.

Konsentrasi (%)	Luas Puncak
0,1	270089
1	2685904
3	7251441
5	14845978
7	21891849
10	32218353

Lampiran 10. Data luas puncak kromatogram dan kadar etanol yang dihasilkan dari tahap fermentasi.

Agen Fermentasi	Luas Area	Kadar etanol (%)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	111433	0,0357
Serbuk Kulit Kayu Raru	159549	0,0511
Serbuk Kulit Kayu Raru Dengan Air Nira	4259106	1,365

Lampiran 11. Perhitungan kadar etanol dari tiap hasil fermentasi

Persamaan regresi linear untuk etanol adalah $y = 3120067,83 x$, dimana

y = Luas area kromatogram (Intensitas)

x = Kadar etanol

Kadar etanol dengan agen *Saccharomyces cerevisiae* :

$$\begin{aligned} y &= 3120067,83 x \\ 111.433 &= 3120067,83 x \\ 111433 &= 3120067,83 x \\ 0,0357 &= x \end{aligned}$$

Kadar etanol dengan agen kulit kayu raru :

$$\begin{aligned} y &= 3120067,83 x \\ 159549 &= 3120067,83 x \\ 159549 &= 3120067,83 x \\ 0,0511 &= x \end{aligned}$$

Kadar etanol sampel air nira dengan agen kulit kayu raru :

$$\begin{aligned} y &= 3120067,83 x \\ 4259106 &= 3120067,83 x \\ 4259106 &= 3120067,83 x \\ 1,365 &= x \end{aligned}$$