

**PENGARUH PENAMBAHAN NaOH-NH<sub>4</sub>OH UNTUK PRODUKSI  
BIOETANOL DARI AMPAS TEBU DENGAN METODE  
*SIMULTANEOUS SACCHARIFICATION FERMENTATION (SSF)***

**Skripsi Sarjana**

**Oleh**

**MELYSA PUTRI  
BP : 0910413123**



**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS ANDALAS  
PADANG  
2013**

**PENGARUH PENAMBAHAN NaOH-NH<sub>4</sub>OH UNTUK PRODUKSI  
BIOETANOL DARI AMPAS TEBU DENGAN METODE  
*SIMULTANEOUS SACCHARIFICATION FERMENTATION (SSF)***

Oleh

**MELYSA PUTRI  
BP : 0910413123**



Skripsi diajukan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains  
pada Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Andalas

**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS ANDALAS  
PADANG  
2013  
HALAMAN PENGESAHAN**

**Pengaruh Penambahan NaOH-NH<sub>4</sub>OH Untuk Produksi Bioetanol Dari Ampas Tebu Dengan Metode *Simultaneous Saccharification Fermentation (SSF)*,** skripsi oleh MELYSA PUTRI (BP 0910413123) sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (Strata 1) pada Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas, dan telah diuji pada tanggal: 08 Oktober 2013.

Disetujui oleh:

Pembimbing I

**Marniati Salim, MS.**

NIP. 195604061983032001

Pembimbing II

**Elida Mardiah, MS.**

NIP.195607121983032002

Mengetahui:  
Ketua Prodi Kimia

**Dr. Adlis Santoni**  
NIP.196212031988111002

## **HALAMAN PERNYATAAN**

Dengan ini saya menyatakan bahwa Skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Padang, 10 Oktober 2013

Melysa Putri

*Syukur Alhamdulillah ku ucapkan atas Rahmat dan Karunia-NYA kepada Sang Khaliq pemilik alam semesta beserta seluruh isinya ALLAH SWT beserta junjungan kita yakni Baginda Rasulullah Muhammad SAW.*

*Ku persembahkan sebuah karya sederhana ini yang dapat mempersatukan asa dalam satu jiwa yang tak pernah lelah untuk mencerahkan kasih sayang melalui setiap untaian doa-doanya dan pengorbanan yang tiada tara di setiap air matanya, untukmu Ibunda Tercinta Elyzar serta sosok panutan dalam keluarga yang selalu memberikan nasihat yang bermakna dalam setiap perkataannya dan curahan keringat yang selalu dia alirkan demi keluarga kecilnya, untukmu Ayahanda Tersayang Syafril.*

*Terima kasih ku ucapkan untuk teman-temanku yang membantu dalam penggerjaan penelitian, ichsan, nasrul, cicy, ima, dilla, uun, siska, adek, yola, bang ruri, sarah, fifi, uchi, dan dedy. Untuk teman-temanku norra, cya, leha, dan ibam. Terima kasih ku ucapkan kepada keluarga besarku sekaligus teman seperjuanganku “MCR 09” yang tak dapat ku sebutkan namanya satu per satu yang telah banyak memberikan dukungan, motivasi dan arti dari sebuah kekeluargaan.*

*“Learn from yesterday  
Live for today  
Hope for tomorrow “*

## INTISARI

### Pengaruh Penambahan NaOH-NH<sub>4</sub>OH Untuk Produksi Bioetanol Dari Ampas Tebu Dengan Metode *Simultaneous Saccharification Fermentation* (SSF)

Oleh :

Melysa Putri (0910413123)  
Dibimbing oleh Marniati Salim, MS. dan Elida Mardiah, MS.

Ampas tebu dapat digunakan sebagai bahan dasar dalam pembuatan bioetanol dan selulosa dalam ampas tebu harus dilepaskan terlebih dahulu dari lignin dengan menggunakan metode *pretreatment*. *Pretreatment* dilakukan dengan menggunakan campuran NaOH 2% dengan konsentrasi NH<sub>4</sub>OH yang divariasikan dari 2% sampai 10%. Variasi perbandingan padatan (ampas tebu) : cairan (NaOH-NH<sub>4</sub>OH) *pretreatment* adalah 1:10, 1:15, dan 1:20. Kondisi *pretreatment* memberikan pengurangan berat sampel yang optimum adalah pada konsentrasi NaOH 2% dan NH<sub>4</sub>OH 2% dengan perbandingan 1:20. Hasil sakarifikasi ampas tebu dengan menggunakan ekstrak kasar enzim selulase dari *Trichoderma viride* strain T1 sk terhadap substrat murni CMC menunjukkan aktivitas enzim sebesar 0,188 unit. Sakarifikasi juga dilakukan terhadap variasi jumlah substrat ampas tebu 0,1 g s/d 1 g dan variasi lama sakarifikasi dari 30 s/d 120 menit. Konsentrasi glukosa maksimum adalah 1528,57 µg/mL yang diperoleh pada 0,6 g substrat ampas tebu dengan lama sakarifikasi 60 menit. Bioetanol yang diperoleh dengan metode SSF selama 84 jam dengan 30 mL inokulum *Saccharomyces cerevisiae* dan 10 mL ekstrak kasar enzim selulase ditentukan dengan menggunakan kromatografi gas, adalah sebesar 0,4278 mL dengan persen area 14,26%.

**Kata kunci :** *ampas tebu, pretreatment, Simultaneous Saccharification Fermentation (SSF)*

## **ABSTRACT**

### **The Effect of Addition NaOH-NH<sub>4</sub>OH For Bioethanol Production from Sugarcane by Simultaneous Sacharification Fermentation Methods (SSF)**

**By :**

**Melysa Putri  
Marniati Salim, MS.\* dan Elida Mardiah, MS.\*\*  
Advisor I\* Advisor II\*\***

Bagasse can be used as a basic ingredient in the manufacture of bio-ethanol and cellulose in bagasse first should be released from lignin by using pretreatment method. Pretreatment was done by using a mixture of 2% NaOH with NH<sub>4</sub>OH concentrations that varied from 2% to 10%. The solids ratio variation (bagasse): liquid (NaOH-NH<sub>4</sub>OH) pretreatment was 1:10, 1:15, and 1:20. Pretreatment condition which provided the optimum sample weight reduction was at concentration of 2% NaOH and 2% NH<sub>4</sub>OH with a ratio of 1:20. The results of bagasse saccharification using cellulase enzyme crude extract of Trichoderma viride strain T1 sk against CMC pure substrates showed enzyme activity of 16.9841 units. Saccharification was also done to the variation of the amount of bagasse substrate 0,1g to 1 g and the variations of the time of saccharification from 30 min to 120 min. The maximum glucose concentration was 1528.57 µg/mL which obtained at 0.6 g substrate of bagasse with a long of saccharification 60 minutes. Bio-ethanol obtained by the method of SSF for 84 hours with 30 mL inoculum of *Saccharomyces cerevisiae* and 10 mL of crude extract of the enzyme cellulase was determined by using gas chromatography, is equal to 0,4278 mL with 14.26% percent area.

**Keywords** : bagasse, pretreatment, Simultaneous Saccharification Fermentation (SSF)

## **UCAPAN TERIMA KASIH**

Syukur Alhamdulillah penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala karunia dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi dengan judul “Pengaruh Penambahan NaOH-NH<sub>4</sub>OH Untuk Produksi Bioetanol Dari Ampas Tebu Dengan Metode *Simultaneous Sacharification Fermentation (SSF)*”. Dalam penyusunan skripsi ini penulis banyak mendapat bimbingan, arahan, nasihat, bantuan serta dorongan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu Marniati Salim, MS selaku pembimbing I yang telah memberikan petunjuk, bimbingan dan arahan dalam pelaksanaan penelitian dan penyusunan skripsi ini.
2. Ibu Elida Mardiah, MS selaku pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, pengarahan dan dukungan dalam pelaksanaan penelitian dan penyusunan skripsi ini.
3. Bapak Dr. Adlis Santoni selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Andalas Padang dan dosen pembimbing akademik.
4. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Kimia FMIPA Universitas Andalas yang telah memberikan ilmu dan bimbingan dalam perkuliahan.
5. Analis laboratorium dan rekan kerja di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia.
6. Orang tua dan teman-teman kimia angkatan 2009 serta semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu yang telah bersedia membantu selama penelitian dan penulisan makalah hasil penelitian ini.

Penulis menyadari bahwa kesempurnaan sepenuhnya hanyalah milik-Nya.

Oleh karena itu kritik dan saran yang bersifat membangun sangat diperlukan.

Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi semua pihak.

Padang, 10 Oktober 2013

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN.....	i
HALAMAN PERNYATAAN.....	ii
INTISARI .....	iv
ABSTRACT .....	v
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1                  Latar Belakang.....	
1	
1.2                  Rumusan Masalah.....	3
1.3                  Tujuan Penelitian.....	3
1.4                  Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	5
2.1                  Tebu.....	5
2.2 <i>Pretreatment</i> Lignoselulosa.....	6
2.3                  Uji Kualitatif Lignin.....	7
2.4                  Prod uksi Bioetanol .....	8
2.5                  Selul osa .....	11
2.6                  Meto de SSF .....	11
BAB III METODOLOGI PENELITIAN .....	14
3.1                  Tempat Penelitian.....	14
3.2                  Bahan Kimia, Peralatan, dan Instrumentasi.....	14
3.3                  Pembuatan Reagen.....	15
3.3.1              Larutan NaOH 5% .....	15
3.3.2              Larutan NH <sub>4</sub> OH 2%.....	15
3.3.3              Reagen Nelson.....	15
3.3.4              Reagen Fosfomolibdat.....	15
3.3.5              Buffer Natrium Asetat 0,2 M pH 5,0.....	15
3.3.6              Buffer Sitrat pH 5,0 .....	16
3.4                  Pembuatan Medium.....	16
3.4.1              Medium PDA.....	16
3.4.2              Medium Produksi Enzim .....	16
3.4.3              Medium YPD.....	17
3.5 <i>Pretreatment</i> Sampel.....	17
3.6                  Uji Kualitatif Lignin .....	17
Produksi dan Penqujian Aktivitas Enzim Selulase.....	18

3.7.1	Peremajaan Jamur <i>Trichoderma viride</i> .....	18
3.7.2	Produksi Enzim Selulase .....	18
3.7.3	Pembuatan Kurva Standar Glukosa .....	18
3.7.4	Penentuan Aktifitas Enzim dengan Substrat CMC .....	18
3.8	Sakarifikasi Enzimatik Ampas Tebu .....	19
3.8.1	Variasi Jumlah Substrat Ampas Tebu.....	19
3.8.2	Variasi Lama Sakarifikasi Ampas Tebu .....	19
3.9		Prod
	uksi Bioetanol dengan Metode SSF .....	20
3.9.1		Isola
	si dan Pemurnian <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	20
3.9.2		Persi
	apan Inokulum <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	20
3.9.3		Prod
	uksi Bioetanol .....	20
3.10	Penentuan Konsentrasi Etanol .....	21
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	22
4.1	<i>Pretreatment</i> Sampel.....	22
4.2	Uji Kualitatif Lignin .....	24
4.3	Produksi dan Aktivitas Enzim Selulase Terhadap Substrat CMC....	25
4.4	Pengaruh Variasi Jumlah Ampas Tebu Terhadap Konsentrasi Glukosa .....	27
4.5	Pengaruh Lama Sakarifikasi Terhadap Konsentrasi Glukosa.....	28
4.6	Isolasi dan Pemurnian <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	28
4.7	Produksi Bioetanol.....	29
V.	KESIMPULAN DAN SARAN.....	31
5.1	Kesimpulan.....	31
5.2	Saran .....	31
	DAFTAR PUSTAKA.....	32
	LAMPIRAN.....	36
	BIODATA PENULIS.....	48

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Skema <i>pretreatment</i> terhadap biomassa lignoselulosa .....	7
Gambar 2. Mekanisme reaksi pemutusan lignin dengan selulosa .....	8
Gambar 3. Struktur selulosa .....	11
Gambar 4. Skema reaksi dalam proses SSF .....	12
Gambar 5. Pengaruh konsentrasi NH <sub>4</sub> OH terhadap persentase pengurangan berat ampas tebu.....	22
Gambar 6. Sebelum dan sesudah perendaman.....	23
Gambar 7. Uji lignin.....	25
Gambar 8. Biakan <i>Trichoderma viride</i> strain T1 sk.....	26
Gambar 9. Pengaruh jumlah ampas tebu terhadap konsentrasi glukosa dihasilkan .....	27
Gambar 10.Pengaruh lama sakarifikasi terhadap konsentrasi glukosa yang dihasilkan.....	28
Gambar 11.Biakan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	29

## **DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran 1. Skema Kerja Pretreatment dengan NaOH-NH <sub>4</sub> OH.....	36
Lampiran 2. Skema Kerja Produksi Enzim Selulase .....	37
Lampiran 3. Skema Kerja Penentuan Aktivitas Enzim Selulase dari <i>Trichoderma viride</i> strain T1 sk .....	38
Lampiran 4. Skema Kerja Pembuatan Inokulum.....	39
Lampiran 5. Skema Kerja Produksi Bioetanol Dengan Metode SSF .....	40
Lampiran 6. Tabel Persentase Berat Sampel yang Hilang Pada Proses <i>Pretreatment</i> .....	41
Lampiran 7. Kurva Standar Glukosa .....	42
Lampiran 8. Tabel Konsentrasi Glukosa Pada Variasi Jumlah Ampas Tebu	43
Lampiran 9. Tabel Konsentrasi Glukosa Pada Variasi Lama Sakarifikasi...	44
Lampiran 10. Contoh Perhitungan Aktifitas Enzim dengan substrat CMC....	45
Lampiran 11. Contoh Perhitungan Rendemen.....	46
Lampiran 12. Kromatogram.....	47

## **BAB I. PENDAHULUAN**

### **1.1. Latar Belakang**

Ketahanan energi, penurunan produksi minyak bumi, dan pemanasan global telah menjadi pendorong utama untuk mengembangkan bahan bakar terbarukan yang dapat menggantikan bahan bakar yang berasal dari minyak bumi, seperti bensin dan solar. Pada saat ini, bioetanol merupakan bahan bakar mobil terbarukan yang paling umum digunakan sesuai dengan PP No. 5 tahun 2006 tentang kebijakan energi nasional. Sebagian besar bioetanol dihasilkan dari fermentasi gula atau bahan makanan yang mengandung pati, seperti tebu, jagung, dan gandum [1,2].

Menurut Samsuri (2007), potensi ampas tebu terutama pada industri-industri besar belum banyak dimanfaatkan. Sebanyak 40% ampas tebu tersebut digunakan sebagai bahan bakar oleh pabrik gula, bahan baku untuk kertas, industri jamur, dan lain-lain. Menurut Anwar (2008), ampas tebu memiliki komposisi kimia yang terdiri dari 3,82% abu, 22,09% lignin, 37,65% selulosa, 1,81% sari, 27,97% pentosan, dan 3,01% SiO<sub>2</sub> [3,4].

Berdasarkan penelitian pada tahun 2000, ampas tebu memiliki kandungan selulosa yang paling tinggi diantara bahan lignoselulosa lainnya seperti batang kayu daun lebar, batang kayu daun jarum, daun, tongkol jagung, kulit kacang, jerami gandum, dan tandan kosong kelapa sawit. Kandungan selulosa dalam ampas tebu adalah sebesar 50%, 25% hemiselulosa, dan 25% lignin. Kandungan karbohidrat dalam ampas tebu adalah 42,7% glukan, 21% xilan, dan 0,6% arabinan [5].

Ampas tebu merupakan bahan baku potensial untuk produksi bioetanol. Teknik produksi bioetanol terdiri dari empat jalur, yaitu *pretreatment*, hidrolisis, fermentasi, dan destilasi. *Pretreatment* merupakan langkah utama dalam meningkatkan daya cerna terhadap selulosa dari ampas tebu, sehingga dapat meningkatkan efisiensi proses. Diantara beberapa metode *pretreatment*, yang paling sering digunakan adalah *pretreatment* alkali dan *pretreatment* dengan asam. Namun, *pretreatment* dengan menggunakan asam sulfat atau asam klorida kurang ramah lingkungan karena penggunaan asam dalam proses tersebut disamping membutuhkan biaya yang relatif mahal, asam juga dapat menimbulkan korosif. Sedangkan *pretreatment* alkali memiliki keunggulan yang

cukup besar. *Pretreatment* alkali dapat memberikan efektifitas delignifikasi dan depolimerisasi selulosa, serta biaya dan energi yang dibutuhkan cukup kecil. Alkali yang paling sering digunakan adalah NaOH dan NH<sub>4</sub>OH [3,6].

Penggunaan NaOH encer dapat meningkatkan luas permukaan internal bahan dengan pembesaran permukaan. Pembesaran permukaan menyebabkan terjadinya penurunan derajat polimerisasi, pemisahan ikatan struktur lignin dan karbohidrat, serta merusak struktur lignin. Semakin berkembangnya teknologi, proses *pretreatment* mengarah pada teknologi yang efektif, hemat energi, dan hemat biaya. Salah satu teknik yang digunakan adalah perendaman dalam larutan ammoniak pada temperatur ruangan. Ammoniak efektif dalam menghilangkan lignin dari biomassa dengan reaksi utama menghidrolisis ikatan eter. Keuntungan dari penggunaan ammoniak adalah mempunyai selektifitas yang tinggi terhadap lignin, mempertahankan karbohidrat dalam bentuk aslinya, memperlihatkan efek pengembungan lignoselulosa yang signifikan, interaksi yang sangat sedikit dengan hemiselulosa, dan sangat volatil. Ammoniak sangat efektif untuk bahan dengan kandungan lignin yang rendah [7,8].

Pada penelitian sebelumnya, pembuatan bioetanol dari tongkol jagung dengan metode SSF. *Pretreatment* dilakukan dengan menggunakan NaOH 1%, NH<sub>4</sub>OH 4% dan 8% dengan variasi konsentrasi cairan *pretreatment* 1% NaOH, 8% NH<sub>4</sub>OH, 1% NaOH + 4% NH<sub>4</sub>OH, dan 1% NaOH + 8% NH<sub>4</sub>OH selama 48 jam. Berdasarkan variasi konsentrasi tersebut, cairan dengan konsentrasi 1% NaOH + 8% NH<sub>4</sub>OH memberikan hasil pengurangan lignin yang lebih baik. Pada proses SSF, enzim selulase yang digunakan adalah selulase murni dengan mikroorganisme *Pichia stipitis* CBS 6054. Produksi bioetanol dengan metode SSF menghasilkan etanol sebesar 36,1 g/L dengan fermentasi selama 72 jam [9].

Produksi bioetanol dengan metode SSF lebih baik daripada metode SHF. Pada metode SSF, hidrolisis selulosa dan fermentasi glukosa dilakukan dalam satu wadah. Fermentasi glukosa menjadi etanol terjadi lebih cepat dan konsentrasi etanol yang dihasilkan juga lebih tinggi daripada dengan metode SHF. Selain itu, dengan menggabungkan proses hidrolisis selulosa dan

fermentasi glukosa dalam wadah yang sama dapat mengurangi jumlah fermentor yang dibutuhkan [10].

Dengan mengamati potensi biomassa lignoselulosa, khususnya ampas tebu sebagai bahan dasar bioetanol, peneliti ingin melakukan “Pengaruh Penambahan NaOH-NH<sub>4</sub>OH Untuk Produksi Bioetanol Dari Ampas Tebu Dengan Metode *Simultaneous Sacharification Fermentation (SSF)*”, dengan variasi konsentrasi NH<sub>4</sub>OH (2% - 10%) pada suhu *pretreatment* 50°C dan jamur *Trichoderma viride* strain T1 sk.

## 1.2. Rumusan Masalah

Bertolak dari latar belakang di atas, peneliti merumuskan beberapa masalah, antara lain:

1. Berapa rasio perbandingan cairan (NaOH-NH<sub>4</sub>OH) : padatan (ampas tebu) dan konsentrasi NaOH : NH<sub>4</sub>OH yang dapat memberikan reaksi hidrolisis yang sempurna.
2. Bagaimana aktivitas enzim selulase yang dihasilkan oleh *Trichoderma viride* strain T1 sk.
3. Bagaimana pemanfaatan ampas tebu dalam pembuatan bioetanol dengan metode SSF.

## 1.3. Tujuan Penelitian

1. Mendapatkan rasio perbandingan cairan (NaOH-NH<sub>4</sub>OH) : padatan (ampas tebu) yang menghasilkan reaksi hidrolisis yang sempurna.
2. Mendapatkan konsentrasi NaOH : NH<sub>4</sub>OH yang terbaik untuk menghidrolisis lignoselulosa.
3. Memproduksi dan menentukan aktivitas enzim selulase dari jamur *Trichoderma viride* strain T1 sk.
4. Memproduksi bioethanol dari ampas tebu dengan menggunakan metoda *Simultaneous Sacharification Fermentation (SSF)*.

#### **1.4. Manfaat Penelitian**

Pada penelitian ini, peneliti mengharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat umumnya dan mahasiswa khususnya bahwa ampas tebu yang diberi perlakuan *pretreatment* dengan campuran NaOH dengan NH<sub>4</sub>OH dapat dimanfaatkan secara maksimal untuk menghasilkan bioetanol sebagai sumber energi alternatif.