

instiper 10

skripsi_22202_setelah semhas

 September 19th, 2024

 Cek Plagiat

 INSTIPER

Document Details

Submission ID

trn:oid::1:3013184416

Submission Date

Sep 19, 2024, 11:50 AM GMT+7

Download Date

Sep 19, 2024, 11:54 AM GMT+7

File Name

SKRIPSI_Muhammad_Fikry_Sa_ban_1.docx

File Size

1.1 MB

56 Pages

9,972 Words

61,717 Characters

23% Overall Similarity

The combined total of all matches, including overlapping sources, for each database.

Filtered from the Report

- ▶ Bibliography
- ▶ Quoted Text
- ▶ Cited Text
- ▶ Small Matches (less than 8 words)

Top Sources

- 23%  Internet sources
- 7%  Publications
- 6%  Submitted works (Student Papers)

Integrity Flags

1 Integrity Flag for Review

-  **Replaced Characters**
48 suspect characters on 7 pages
Letters are swapped with similar characters from another alphabet.

Our system's algorithms look deeply at a document for any inconsistencies that would set it apart from a normal submission. If we notice something strange, we flag it for you to review.

A Flag is not necessarily an indicator of a problem. However, we'd recommend you focus your attention there for further review.

Top Sources

- 23% Internet sources
- 7% Publications
- 6% Submitted works (Student Papers)

Top Sources

The sources with the highest number of matches within the submission. Overlapping sources will not be displayed.

1	Internet	
jurnal.instiperjogja.ac.id		2%
2	Internet	
media.neliti.com		2%
3	Internet	
docplayer.info		1%
4	Internet	
ejournal3.undip.ac.id		1%
5	Internet	
eprints.instiperjogja.ac.id		1%
6	Internet	
www.scribd.com		1%
7	Internet	
id.123dok.com		1%
8	Internet	
www.ejournal.upnjatim.ac.id		1%
9	Internet	
www.coursehero.com		1%
10	Internet	
pdfcoffee.com		1%
11	Internet	
es.scribd.com		1%

12	Internet	ejournal.unib.ac.id	1%
13	Internet	123dok.com	1%
14	Internet	docobook.com	1%
15	Internet	etd.unsyiah.ac.id	0%
16	Internet	pt.scribd.com	0%
17	Internet	eprints.umpo.ac.id	0%
18	Internet	repository.ub.ac.id	0%
19	Internet	gooddoctor.id	0%
20	Internet	www.adywater.com	0%
21	Internet	repository.unhas.ac.id	0%
22	Internet	ejournal.undip.ac.id	0%
23	Internet	repository.unand.ac.id	0%
24	Internet	eprints.ulm.ac.id	0%
25	Internet	prin.or.id	0%

26	Internet	repository.unfari.ac.id	0%
27	Internet	jurnal.unipasby.ac.id	0%
28	Internet	adoc.pub	0%
29	Internet	ejournal.uniramalang.ac.id	0%
30	Internet	infokimiawan13o1b-04.blogspot.com	0%
31	Internet	dinamika.unram.ac.id	0%
32	Internet	emmakhairaniharahap.blogspot.com	0%
33	Internet	ejournal.forda-mof.org	0%
34	Internet	www.slideshare.net	0%
35	Internet	nanopdf.com	0%
36	Internet	www.diptero.or.id	0%
37	Student papers	Universitas Islam Indonesia	0%
38	Internet	digilib.uin-suka.ac.id	0%
39	Internet	ejournal.bappeda.jatengprov.go.id	0%

40	Internet	eprints.undip.ac.id	0%
41	Internet	eprints.unm.ac.id	0%
42	Internet	repository.uksw.edu	0%
43	Internet	repository.unsri.ac.id	0%
44	Internet	radartulungagung.co.id	0%
45	Internet	repository.umsu.ac.id	0%
46	Internet	repository.ung.ac.id	0%
47	Internet	repository.unitomo.ac.id	0%
48	Publication	Ainezzahira Ainezzahira, Hafiza Dwi Multri, Warsono El Kiyat, Nursyawal Nacing. "...	0%
49	Publication	Pieter A Koroh, Cyska Lumenta. "Pakan suspensi daging kekerangan bagi pertum...	0%
50	Internet	amartakarya.co.id	0%
51	Internet	lipi.go.id	0%
52	Internet	mafiadoc.com	0%
53	Internet	repository.its.ac.id	0%

54	Internet	repository.unpas.ac.id	0%
55	Internet	repository.usm.ac.id	0%
56	Internet	www.researchgate.net	0%
57	Publication	Betari Claudia Mondong, Rieny Sulistijowati. "Formulasi Dan Karakteristik Cookie..."	0%
58	Internet	digilib.unila.ac.id	0%
59	Internet	doaj.org	0%
60	Internet	roniberutu.blogspot.com	0%
61	Internet	tonimpa.wordpress.com	0%
62	Internet	www.hits.co.id	0%
63	Publication	Ifmalinda Ifmalinda, Weni Harjuniati, Andasuryani Andasuryani. "Kajian Suhu Pe..."	0%
64	Publication	Krisna Septiningrum, Ikhwan Pramuaji. "APLIKASI ENZIM DI INDUSTRI PULP DAN ..."	0%
65	Publication	Michelle Nattaya Narerat Nuraini, Mustika Nindiya Mutma'innah, Devi Tridayanti...	0%
66	Publication	Sayuti Sayuti. "PENGARUH BAHAN KEMASAN DAN LAMA INKUBASI TERHADAP KU..."	0%
67	Publication	Wiwin Sumarni, Sri Mulyani Sabang, Ratman Ratman. "Pengaruh Ekstrak Daun Ke..."	0%

68	Internet	dewey.petra.ac.id	0%
69	Internet	edoc.pub	0%
70	Internet	eprints.uns.ac.id	0%
71	Internet	id.scribd.com	0%
72	Internet	ilmuthp.wordpress.com	0%
73	Internet	repository.unja.ac.id	0%
74	Internet	www.neliti.com	0%

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Dalam menghadapi perubahan iklim global dan krisis energi, pencarian solusi alternatif dan berkelanjutan untuk memenuhi kebutuhan energi menjadi semakin mendesak. Salah satu solusi yang menjanjikan adalah pengembangan bioetanol sebagai bahan bakar nabati. Bioetanol, yang diperoleh dari bahan baku biomassa seperti umbi-umbian, memiliki potensi besar sebagai bahan bakar ramah lingkungan yang dapat mengurangi emisi karbon. Salah satu umbi yang dapat dimanfaatkan untuk bahan baku pembuatan bioetanol yaitu iles – iles.

Iles-iles (*Amorphophallus muelleri B*) merupakan salah satu sumber daya alam yang berpotensi sebagai bahan baku untuk produksi bioetanol. Umbi tersebut kaya akan pati sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Saputra, *et al.* (2023) melaporkan bahwa kadar pati dalam tepung iles-iles dapat mencapai hingga 6,77% dari berat basah, yang dapat diubah menjadi gula sederhana melalui proses hidrolisis enzimatis menggunakan enzim glukoamilase (Saputra *et al.*, 2015).

Konsentrasi enzim glukoamilase berpengaruh signifikan terhadap jumlah bioetanol yang dihasilkan karena enzim ini memainkan peran penting dalam proses sakarifikasi, yaitu konversi pati menjadi glukosa. Glukoamilase menghidrolisis ikatan glikosidik dalam molekul pati, menghasilkan glukosa yang kemudian difermentasi oleh ragi menjadi etanol. Konsentrasi enzim yang lebih tinggi biasanya meningkatkan laju reaksi hidrolisis, menghasilkan lebih

banyak glukosa, dan pada akhirnya meningkatkan produksi bioetanol. Namun, ada batas optimal, terlalu banyak enzim mungkin tidak efisien secara ekonomi dan bisa menyebabkan penurunan aktivitas enzimatik karena saturasi substrat atau penghambatan oleh produk reaksi.

Selain penggunaan enzim, lama inkubasi sakarifikasi juga memainkan peran penting dalam proses konversi pati menjadi gula sederhana. Lama inkubasi juga sangat berpengaruh. Waktu yang cukup diperlukan untuk memastikan enzim dapat berinteraksi dengan substrat dan menyelesaikan proses hidrolisis. Inkubasi yang terlalu singkat dapat menyebabkan sakarifikasi yang tidak lengkap, sehingga pati tidak sepenuhnya diubah menjadi glukosa, mengurangi efisiensi fermentasi dan hasil akhir bioetanol. Sebaliknya, inkubasi yang terlalu lama dapat menyebabkan penurunan aktivitas enzim akibat denaturasi atau penurunan stabilitas enzim, serta memungkinkan kontaminasi mikroba yang tidak diinginkan yang dapat mengonsumsi glukosa, sehingga mengurangi hasil bioetanol.

Konsentrasi enzim dan lama inkubasi sangat penting untuk meningkatkan efisiensi produksi bioetanol. Kondisi optimal sakarifikasi menghasilkan peningkatan signifikan dalam produksi bioetanol, menunjukkan pentingnya pengendalian parameter proses.

Dengan memahami secara mendalam pengaruh enzim glukoamilase dan lama inkubasi terhadap kualitas bioetanol, diharapkan penelitian ini dapat memberikan kontribusi penting dalam pengembangan proses produksi

bioetanol yang efisien dan berkelanjutan dari sumber daya alam yang berpotensi ini. Selain itu, penelitian ini juga dapat memberikan wawasan yang berharga dalam upaya meningkatkan ketersediaan energi terbarukan yang ramah lingkungan.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun masalah yang akan dibahas dalam penelitian ini adalah:

1. Bagaimana pengaruh enzim glukoamilase terhadap kualitas bioetanol yang dihasilkan dari ilses-iles?
2. Bagaimana pengaruh lama inkubasi sakarifikasi terhadap kualitas bioetanol yang dihasilkan?
3. Apakah ada interaksi antara enzim glukoamilase dan lama inkubasi dalam meningkatkan kualitas bioetanol?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk ;

1. Menentukan pengaruh konsentrasi enzim glukoamilase terhadap kualitas bioetanol yang dihasilkan dari ilses-iles.
2. Menentukan pengaruh lama inkubasi terhadap kualitas bioetanol yang dihasilkan.
3. Menentukan konsentrasi enzim glukoamilase dan lama inkubasi yang menghasilkan produk bioetanol yang sesuai dengan SNI

1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dari penelitian ini adalah :

1. Mengoptimalkan produksi bioetanol dari illes-iles melalui pemilihan konsentrasi enzim glukoamilase yang tepat dan lama inkubasi yang optimal.
2. Menyediakan alternatif sumber energi terbarukan yang lebih ramah lingkungan dan berkelanjutan.
3. Mendukung pengembangan teknologi produksi bioetanol yang lebih efisien dan ekonomis, serta memberikan nilai tambah bagi tanaman illes-iles sebagai bahan baku bioetanol.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Iles - Iles

Iles - Iles merupakan tumbuhan monokotil yang umbinya dapat dikonsumsi. Iles-iles memiliki berbagai kerabat dengan karakter yang hampir mirip, seperti acung (*A. variabilis*), suweg (*A. companulatus*), dan konjak atau konyaku (*A. konjac*). Tanaman berbatang lunak, tidak membentuk kayu, dan dapat tumbuh semusim atau dua musim atau sebagai tanaman tahunan. Iles-iles sering kali dikacaukan dengan suweg karena penampilan dan manfaatnya hampir sama. Ada dua ciri yang membedakan iles-iles dengan suweg; pertama, adanya bintik hitam di atas permukaan daun yang disebut bulbil. Kedua, ketika umbi dibelah, bagian dalam iles-iles berwarna oranye, sedangkan umbi suweg berwarna putih (Supriati, 2016).



Gambar 1. Tanaman dan Umbi Iles – Iles

Sumber : agrokomplekskita.com

Umbi iles-iles kaya akan karbohidrat, terutama dalam bentuk pati, yang dapat mencapai 60-80% dari berat keringnya (Budiastra, 2023). Pati ini terdiri dari rantai panjang glukosa yang dapat dihidrolisis menjadi gula

2 sederhana seperti glukosa, yang kemudian dapat difermentasi menjadi etanol (Nur'aini *et al.*, 2021). Salah satu komponen utama dalam iles-iles adalah glukomanan, sebuah polisakarida yang sangat bermanfaat dalam berbagai aplikasi industri dan kesehatan. Glukomanan dalam iles-iles memiliki kemampuan menyerap air dan membentuk gel, yang menjadikannya berguna dalam industri pangan sebagai pengental, pengemulsi, dan penstabil (Hosiana *et al.*, 2023).

60 Umbi iles-iles mengandung protein dalam jumlah yang lebih sedikit dibandingkan dengan karbohidrat, biasanya berkisar antara 1-5% dari berat keringnya (Budiastra, 2023). Protein ini penting karena dapat mempengaruhi tekstur dan sifat fisik lainnya dari umbi tersebut. Kandungan lemak dalam iles-iles sangat rendah, umumnya kurang dari 1% dari berat kering. Meskipun jumlahnya kecil, lemak yang terdapat dalam iles-iles terutama terdiri dari asam lemak esensial yang penting untuk kesehatan (Tanjung, 2022).

36 Umbi iles-iles mengandung berbagai mineral penting seperti kalsium, fosfor, kalium, dan magnesium (Budiastra, 2023). Mineral-mineral ini berperan dalam berbagai fungsi biokimia dan fisiologis dalam tubuh manusia dan juga penting untuk kesehatan tanah dan pertumbuhan tanaman. Meskipun bukan sumber utama vitamin, iles-iles mengandung beberapa vitamin dalam jumlah kecil, termasuk vitamin C dan beberapa vitamin B kompleks. Vitamin-vitamin ini penting untuk menjaga kesehatan dan fungsi tubuh yang optimal (Tanjung, 2022).

44

Selain glukomanan, iles-iles juga mengandung serat tidak larut yang penting untuk kesehatan pencernaan. Serat membantu dalam memperlancar proses pencernaan dan mencegah berbagai masalah pencernaan seperti sembelit. Sebagian besar umbi iles-iles terdiri dari air, yang menyumbang sekitar 70-85% dari berat segarnya (Budiastra, 2023). Kandungan air yang tinggi membuat umbi ini mudah rusak dan memerlukan penanganan yang baik untuk penyimpanan dan pengolahan lebih lanjut. Iles-iles juga mengandung senyawa fenolik dan antioksidan yang memiliki berbagai manfaat kesehatan, termasuk aktivitas anti-inflamasi, anti-bakteri, dan anti-virus (Budiastra, 2023). Senyawa ini juga dapat berperan dalam memperpanjang umur simpan produk olahan iles-iles (Hosiana *et al.*, 2023).

3

Tabel 1. Komposisi Kimia Umbi Iles – Iles Segar dan Tepung Iles - Iles

Analisis kadar	Kandungan dalam 100 g (bobot basah)	
	Umbi segar (%)	Tepung (%)
Air	83,3	6,8
Glukomanan	3,58	64,98
Pati	7,65	10,24
Ptotein	0,92	3,42
Lemak	0,02	-
Serat berat	2,5	5,9
Kalsium oksalat	0,19	-
Abu	1,22	7,88
Logam berat (Cu)	0,09	0,13

Sumber : (Arifin, 2001)

2.2 Tepung Iles - Iles

16

Tepung iles-iles, yang berasal dari umbi tanaman *Amorphophallus muelleri*, telah menarik perhatian sebagai bahan baku potensial untuk produksi bioetanol. Hal ini disebabkan oleh tingginya kandungan karbohidrat kompleks, terutama glukomanan, yang dapat diubah menjadi gula sederhana melalui proses hidrolisis. Penggunaan tepung iles-iles dalam produksi bioetanol menawarkan peluang diversifikasi bahan baku yang lebih berkelanjutan dibandingkan dengan sumber konvensional seperti jagung dan tebu (Kusmiyati, 1970).

28

Iles-iles (*Amorphophallus muelleri*) adalah tanaman umbi-umbian yang dikenal memiliki kandungan karbohidrat tinggi, khususnya glukomanan. Kandungan ini menjadikan iles-iles sebagai bahan baku potensial dalam produksi bioetanol. Penggunaan iles-iles sebagai sumber bioetanol memberikan alternatif terhadap bahan baku konvensional seperti jagung dan tebu, serta mendukung diversifikasi energi terbarukan (Sulistiawan & Nurdiansyah, 2022). Iles-iles memiliki kandungan glukomanan yang tinggi, mencapai sekitar 60% dari berat keringnya. Kandungan karbohidrat yang tinggi ini sangat ideal untuk fermentasi menjadi etanol. Penelitian menunjukkan bahwa proses hidrolisis enzimatis pada iles-iles dapat menghasilkan glukosa yang cukup untuk diubah menjadi etanol melalui fermentasi oleh *Saccharomyces cerevisiae* (Kusmiyati & Arifin, 2010).

Keunggulan utama penggunaan tepung iles-iles sebagai bahan baku bioetanol meliputi ketersediaan yang melimpah di Indonesia, kemampuan

tumbuh di lahan marginal, dan siklus tanam yang singkat. Namun, tantangan utama yang dihadapi adalah biaya tinggi untuk enzim hidrolisis dan kebutuhan teknologi pra-pengolahan yang efektif untuk meningkatkan efisiensi konversi (Kusmiyati, 1970).

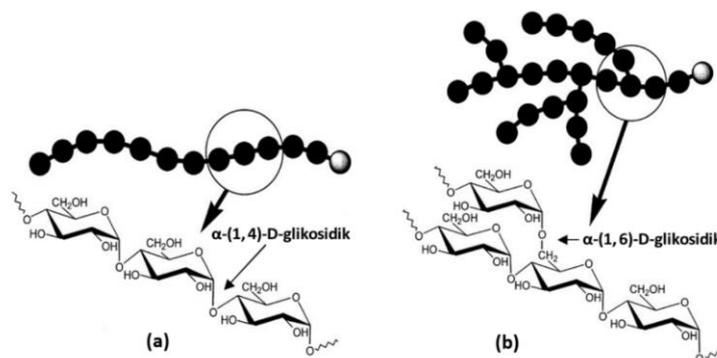
7 Tepung umbi iles-iles dianalisis komposisi kimianya yang meliputi kadar air, kadar abu, selulosa, hemiselulosa, pati dan lignin, hasilnya ditampilkan pada **Tabel 1**. Umbi iles-iles memiliki kandungan pati yang cukup signifikan, yaitu sebesar 7,65% pada umbi segar dan meningkat menjadi 10,24% pada tepung iles-iles. Kandungan pati ini dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku dalam produksi bioetanol, karena pati dapat diubah menjadi gula melalui proses hidrolisis dan kemudian difermentasi menjadi etanol. Pemanfaatan pati dari umbi iles-iles untuk bioetanol berpotensi menjadi sumber energi terbarukan yang ramah lingkungan, mengurangi ketergantungan pada bahan bakar fosil, serta memberikan nilai tambah pada tanaman yang mungkin kurang dimanfaatkan secara optimal.

7 Bioetanol dari pati iles-iles dapat menjadi alternatif energi yang berkelanjutan. Untuk pati langsung dapat dihidrolisis menjadi glukosa yang dapat dikonversi menjadi etanol, sedangkan selulosa dan hemiselulosa sulit dipecah menjadi glukosa dengan enzim α dan β amilase. Untuk mengubah selulosa dan hemiselulosa yang tinggi pada umbi iles-iles dilakukan dengan penambahan mikroba *F. Oxyfarum* (Kusmiyati & Arifin, 2010).

2.3 Pati

Pati berfungsi sebagai cadangan energi yang dapat dihidrolisis menjadi glukosa saat tanaman membutuhkan energi untuk pertumbuhan, perkecambahan, atau aktivitas metabolik lainnya. Dalam tubuh manusia, pati dicerna oleh enzim amilase dalam mulut dan usus menjadi glukosa, yang kemudian diserap sebagai sumber energi (Alam *et al.*, 2022).

Pati adalah karbohidrat kompleks yang merupakan polimer glukosa, terdiri dari dua komponen utama yaitu amilosa dan amilopektin. Pati adalah salah satu jenis polisakarida yang tersusun dari dua jenis molekul, yaitu amilosa (rantai lurus) dan amilopektin (rantai bercabang). Pati berfungsi sebagai bentuk penyimpanan energi pada tumbuhan dan dapat ditemukan dalam berbagai sumber pangan, seperti biji-bijian, umbi-umbian, dan sayuran. Dalam bentuk aslinya, pati biasanya terdapat dalam bentuk butiran kecil yang tidak larut dalam air pada suhu ruangan, berwarna putih, dan tidak berbau (Herawati, 2010). Berikut adalah gambar struktur molekul pati yang tersusun dari struktur utama :



Gambar 2. Struktur amilosa (a) dan amilopektin (b)
sumber : (Dumitriu, 2004)

11 Pati memiliki struktur yang terdiri dari rantai lurus (amilosa) dan rantai bercabang (amilopektin). Perbandingan antara amilosa dan amilopektin mempengaruhi sifat fisik pati, seperti kelarutan dan derajat gelatinisasi. Pati dengan kandungan amilopektin yang lebih tinggi cenderung lebih lengket dan menyerap lebih sedikit air, sedangkan pati dengan amilosa yang lebih tinggi bersifat kering dan lebih mudah menyerap air. Karbohidrat, yang terdiri dari pati, glukomanan, serat kasar, dan gula bebas, adalah bagian dari penyusun umbi iles-iles (Afifah *et al.*, 2014).

2.4 Bioetanol

9 Bioetanol merupakan bahan bakar cair yang dapat diproduksi dari gula, karbohidrat, dan biomassa yang mengandung lignoselulosa. Bioetanol dapat digunakan sebagai bahan bakar alternatif untuk transportasi, *liquid natural gas* (LNG), *compressed natural gas* (CNG), dan *liquified petroleum gas* (LPG). Bioetanol dapat digunakan untuk bahan bakar campuran di mesin bensin karena memiliki angka oktan tinggi, mudah diupkan, kecepatan nyala lebih tinggi dibanding bensin. Campuran bioetanol dan bensin paling populer dikenal sebagai E85 yang mengandung 85% bioetanol dan 15% bensin. 22 Diantara negara yang sudah menggunakan bioetanol yaitu Brazil (menggunakan campuran 24% etanol dan 76% bensin). Di Amerika Serikat, bioetanol (10% volume) ditambahkan ke bensin, yang dikenal sebagai gasohol E10 (Kusmiyati & Shitophyta, 2014).

42 Bioetanol memiliki beberapa keunggulan utama sebagai bahan bakar, di antaranya adalah sifatnya yang terbarukan dan lebih ramah lingkungan

42 dibandingkan bahan bakar fosil. Selain itu, penggunaan bioetanol dapat mengurangi emisi gas rumah kaca. Penelitian oleh Prasetyo *et al.* (2018) menunjukkan bahwa campuran bioetanol dengan bensin dapat meningkatkan kualitas pembakaran dan mengurangi emisi karbon monoksida serta hidrokarbon yang tidak terbakar sempurna (Prasetyo *et al.*, 2019).

64 Pengembangan teknologi baru sangat penting untuk meningkatkan efisiensi produksi bioetanol di Indonesia. Salah satu teknologi yang sedang dikembangkan adalah penggunaan enzim untuk memecah lignoselulosa menjadi gula sederhana yang dapat difermentasi. Selain itu, penelitian juga fokus pada rekayasa genetika mikroorganisme untuk meningkatkan kemampuan fermentasi. Menurut Hidayat (2013), inovasi-inovasi ini dapat mengurangi biaya produksi dan meningkatkan hasil bioetanol (Hidayat, 2013).

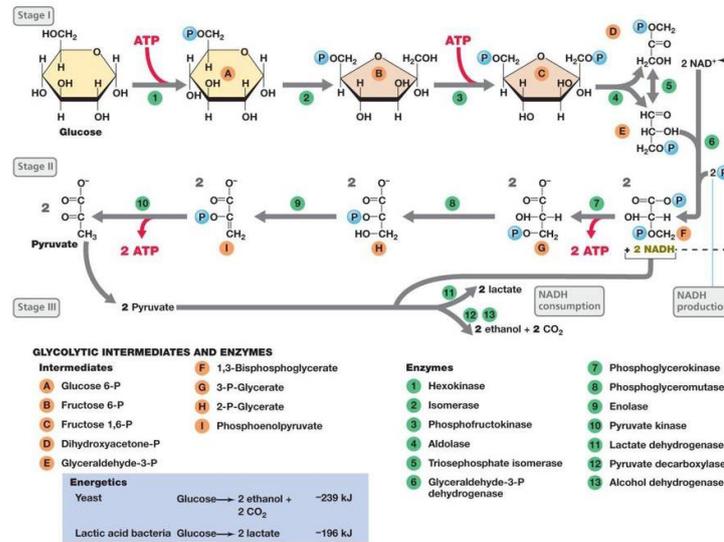
23 Pada penelitian Putri *et al.* (2013), yang menyatakan pada pengaruh lama sakarifikasi terhadap konsentrasi glukosa dimana untuk 0,6 gram ampas tebu, variasi waktu sakarifikasi diterapkan selama 30, 45, 60, 75, 90, 105, dan 120 menit. Tujuan dari variasi ini adalah untuk menentukan waktu terbaik bagi enzim untuk menghidrolisis selulosa sehingga menghasilkan konsentrasi glukosa yang paling tinggi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa waktu terbaik untuk proses sakarifikasi adalah pada menit ke-60 (Putri *et al.*, 2013).

40 Dalam penelitian Kusmiyati *et al.* (2014), yang memanfaatkan umbi iles-iles sebagai bahan baku bioetanol untuk bahan bakar alternatif di pedesaan mendapatkan hasil konsentrasi enzim glucoamylase yang paling optimum

berdasarkan kadar glukosa yang dihasilkan adalah pada konsentrasi 2 % v/v (Kusmiyati *et al.*, 2014). Menurut Supriati (2016), Iles-iles memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai bahan baku bioetanol karena menghasilkan bioetanol yang mendekati ubi kayu. Kadar etanol dari iles-iles adalah 83,36 g/L, 80,34 g/L, 61,56 g/L, dan 58,46 g/L. Hasil fermentasi menunjukkan bahwa pH optimum 5,5 menghasilkan etanol sebesar 60,85 g/L untuk ubi kayu dan 52,61 g/L untuk iles-iles (Supriati, 2016). Khaira *et al.* (2015) dalam penelitiannya mendapatkan hasil Semakin banyak enzim yang ditambahkan maka kadar bioetanol yang dihasilkan semakin besar karena semakin banyak glukosa yang dikonversi menjadi bioetanol, sedangkan pengaruh waktu fermentasi, dari penelitian diperoleh waktu fermentasi dengan kadar alkohol tertinggi yang dihasilkan adalah 72 jam karena waktu terbaik *Saccharomyces cerevisiae* bekerja mengubah glukosa menjadi bioetanol adalah 72 jam (Khaira *et al.*, 2015).

2.5 Fermentasi

Fermentasi bioetanol merupakan proses biokimia yang mengubah bahan organik menjadi bioetanol melalui aktivitas mikroorganisme, terutama ragi (*Saccharomyces cerevisiae*). Proses ini telah menjadi fokus penelitian dan industri karena potensinya sebagai sumber energi terbarukan yang ramah lingkungan. Fermentasi bioetanol melibatkan konversi gula sederhana menjadi etanol dan karbon dioksida oleh mikroorganisme. Berikut adalah gambar proses fermentasi dari glukosa menjadi alkohol:



Gambar 3. Fermentasi Alkohol

Sumber : (Madigan et al., 2012)

Proses Fermentasi etanol dari glukosa dimulai dengan glikolisis, di mana glukosa dipecah menjadi dua molekul piruvat, menghasilkan dua molekul ATP dan dua molekul NADH. Energi dalam bentuk ATP ini digunakan oleh sel, sementara NADH membawa elektron berenergi tinggi. Setelah glikolisis, piruvat diubah menjadi asetaldehida melalui pelepasan karbon dioksida. Asetaldehida ini kemudian direduksi menjadi etanol dalam reaksi yang juga meregenerasi NAD⁺ dari NADH. Proses regenerasi NAD⁺ sangat penting karena memungkinkan glikolisis untuk terus beroperasi, sehingga sel tetap dapat menghasilkan ATP meskipun dalam kondisi anaerobik, yaitu tanpa kehadiran oksigen (Handayani et al., 2016).

Pada kondisi anaerob, ragi memetabolisme glukosa menjadi etanol dan karbon dioksida melalui jalur glikolisis dan fermentasi alkohol. Mikroorganisme utama yang digunakan dalam fermentasi bioetanol adalah ragi *Saccharomyces cerevisiae*, yang memiliki kemampuan untuk mengubah

16

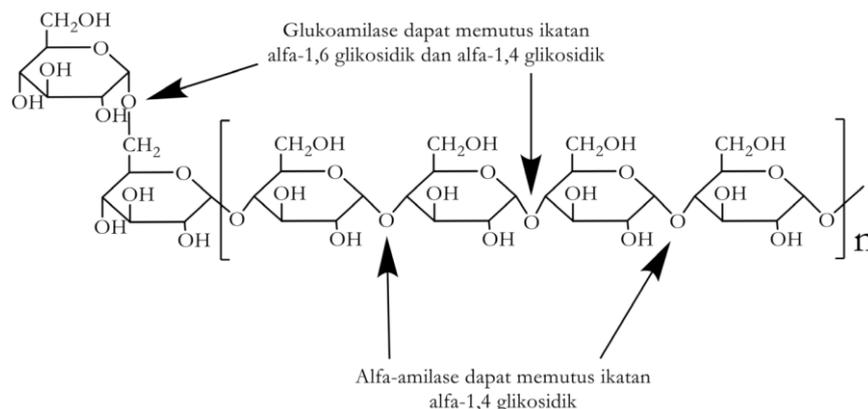
glukosa menjadi etanol dan karbon dioksida dengan efisien (Utama & Al-Baarri, 2013). Selain itu, beberapa studi juga mengeksplorasi penggunaan bakteri seperti *Zymomonas mobilis* yang memiliki kemampuan fermentasi yang lebih cepat dan efisien terhadap gula pentosa, yang sering kali sulit diakses oleh ragi (Fachrial *et al.*, 2022).

Proses fermentasi dimulai dengan persiapan biomassa, yang kemudian dihidrolisis menjadi gula sederhana menggunakan enzim. Gula ini kemudian difermentasi oleh mikroorganisme menjadi etanol dan CO₂. Langkah-langkah ini sering kali memerlukan pengaturan kondisi fermentasi seperti suhu, pH, dan konsentrasi nutrisi untuk mendukung aktivitas mikroorganisme yang optimal (Rahmawati, 2010). Beberapa faktor kunci yang mempengaruhi efisiensi fermentasi bioetanol meliputi komposisi substrat biomassa, jenis mikroorganisme yang digunakan, dan kondisi fermentasi. Komposisi biomassa yang berbeda dapat menghasilkan kadar gula yang bervariasi, yang mempengaruhi yield etanol secara keseluruhan (Riyanti, 2009). Selain itu, variasi genetik dalam mikroorganisme juga dapat mempengaruhi kapasitas mereka untuk mentoleransi stres fermentasi dan memaksimalkan produksi etanol. Pada kondisi anaerob, bakteri seperti *Lactobacillus* mengubah glukosa menjadi asam laktat. Proses ini melibatkan glikolisis, di mana glukosa dipecah menjadi asam piruvat, dan kemudian asam piruvat diubah menjadi asam laktat dengan bantuan enzim laktat dehidrogenase. Asam laktat adalah produk akhir dari fermentasi ini, yang memiliki pH rendah dan berperan penting dalam proses fermentasi makanan seperti yogurt dan kefir.

3

2.6 Enzim Glukoamilase

Hidrolisis pati adalah proses pemecahan molekul amilum menjadi bagian-bagian penyusun amilum yang lebih sederhana seperti dekstrin, isomaltosa, maltosa dan glukosa. Hidrolisa enzim dilakukan menggunakan bantuan enzim α -amilase dan enzim glukoamilase (*amiloglukosidase*). Proses hidrolisis secara enzimatik terbagi menjadi dua proses yaitu liquifikasi dan sakarifikasi. Liquifikasi merupakan proses mengubah pati menjadi gula seperti maltose dan dekstrin. Sedangkan sakarifikasi adalah proses mengubah maltosa menjadi gula sederhana (glukosa). Aktivitas enzim sangat dipengaruhi oleh suhu dan pH lingkungannya, umumnya setiap enzim mempunyai kisaran suhu dan pH optimum yang berbeda-beda (Sutrisno, 2015). Berikut adalah proses lukuifikasi oleh enzim a-amilase dan proses sakarifikasi oleh enzim glukoamilase :



Gambar 4. Mekanisme kerja enzim amilase dan glukoamilase

Sumber : (Malik Ibrahim et al., 2020)

Proses di atas menggambarkan dua tahap penting dalam penguraian pati menjadi glukosa. Pada tahap pertama, hidrolisis pati dilakukan oleh enzim

amilase yang disebut likuifikasi, di mana rantai panjang molekul pati ($C_6H_{10}O_5$) dipecah dengan penambahan air (H_2O), menghasilkan maltosa ($C_{12}H_{22}O_{11}$). Ini adalah tahap awal di mana pati, sebagai karbohidrat kompleks, diubah menjadi bentuk yang lebih sederhana. Amilosa dengan rantai lurus (molekul tanpa cabang) dapat dipecah secara acak oleh enzim amilase, tetapi amilopektin dengan rantai bercabang lebih sulit dipecah oleh enzim amilase, sehingga enzim glukoamilase harus membantu memecah amilopektin (Yunianta *et al.*, 2010).

21 Pada tahap kedua, maltosa mengalami sakarifikasi dengan bantuan enzim glukoamilase. Amilopektin memiliki rantai bercabang yang lebih kompleks dan mengandung ikatan α -1,6-glikosida di titik cabang. Oleh karena itu, α -amilase memiliki kesulitan memecah ikatan ini, sehingga pemecahan amilopektin oleh α -amilase tidak efektif. Untuk membantu proses hidrolisis pati yang lebih efektif, enzim glukoamilase digunakan. Enzim glukoamilase dapat memecah rantai amilopektin dengan lebih efektif, terutama pada titik cabang, menghasilkan maltosa dan glukosa. Dalam reaksi ini, maltosa dihidrolisis lagi dengan air (H_2O), menghasilkan dua molekul glukosa ($C_6H_{12}O_6$) (Yunianta *et al.*, 2010).

53 Enzim glukoamilase merupakan salah satu enzim yang berperan penting
51 dalam proses produksi bioetanol. Enzim ini mengkatalisis hidrolisis ikatan α -1,4 glikosidik pada pati untuk menghasilkan glukosa. Glukosa kemudian difermentasi oleh mikroorganisme seperti ragi untuk menghasilkan etanol. Enzim glukoamilase berfungsi memecah molekul pati menjadi glukosa

21 melalui proses hidrolisis. Penelitian oleh Rahmawati *et al.* (2018) menyebutkan bahwa glukoamilase memainkan peran kunci dalam memecah ikatan α -1,4 dan α -1,6 glikosidik pada pati, sehingga menghasilkan glukosa yang dapat difermentasi oleh mikroorganisme untuk menghasilkan etanol. Efisiensi enzim ini sangat menentukan jumlah glukosa yang dihasilkan dalam proses hidrolisis (Rahmawati, 2018).

Enzim glukoamilase memiliki peran yang sangat penting dalam produksi bioetanol, terutama dalam proses hidrolisis pati menjadi glukosa. Penggunaan enzim ini dapat meningkatkan efisiensi dan yield produksi bioetanol, serta meningkatkan kualitas produk akhir. Pengembangan dan inovasi dalam penggunaan enzim glukoamilase, termasuk optimasi kondisi dan immobilisasi enzim, dapat lebih lanjut meningkatkan efektivitas dan keberlanjutan produksi bioetanol. Enzim glukoamilase berperan penting dalam proses hidrolisis pati menjadi glukosa. Glukoamilase memecah ikatan glikosidik pada pati secara bertahap hingga menghasilkan glukosa sebagai produk akhir. Proses hidrolisis yang efisien sangat bergantung pada aktivitas enzim ini. Menurut studi oleh Kusmiyati *et al.* (2011), penggunaan enzim glukoamilase dapat meningkatkan kadar gula pereduksi yang dihasilkan dari hidrolisis pati *iles-iles*, yang pada akhirnya meningkatkan hasil bioetanol (Kusmiyati & Utomo, 2011). Penggunaan enzim glukoamilase yang efisien dapat meningkatkan efisiensi konversi pati *iles-iles* menjadi bioetanol. Menurut penelitian oleh Kusmiyati & Arifin (2010), optimasi penggunaan enzim ini dapat meningkatkan produksi

bioetanol hingga 40% dibandingkan metode konvensional tanpa optimasi enzim (Kusmiyati & Arifin, 2010).

2.7 Sakarifikasi

2 Sakarifikasi adalah proses penguraian pati menjadi gula sederhana seperti glukosa menggunakan enzim. Dalam konteks produksi bioetanol dari iles-iles (*Amorphophallus sp.*), waktu sakarifikasi merupakan faktor penting yang mempengaruhi efisiensi konversi pati menjadi glukosa, yang selanjutnya akan difermentasi menjadi etanol. Optimalisasi lama sakarifikasi sangat penting untuk memaksimalkan hasil bioetanol. Lama waktu sakarifikasi merupakan variabel kritis yang mempengaruhi produksi glukosa dari pati iles-iles. Penelitian yang dipublikasikan dalam *Biotechnology for Biofuels* menunjukkan bahwa peningkatan waktu sakarifikasi meningkatkan produksi glukosa hingga titik tertentu, setelah itu peningkatan waktu tidak lagi signifikan karena hampir semua pati telah terhidrolisis (Kusmiyati & Utomo, 2011).

Optimalisasi waktu sakarifikasi diperlukan untuk mencapai keseimbangan antara waktu proses dan hasil glukosa maksimal. Penelitian oleh Kusmiyati & Arifin (2010), menemukan bahwa waktu sakarifikasi optimal untuk hidrolisis pati iles-iles menggunakan enzim glucoamilase adalah sekitar 48 jam pada suhu 60°C. Waktu ini memberikan produksi glukosa tertinggi sebelum aktivitas enzim menurun (Kusmiyati & Arifin, 2010).

Lama sakarifikasi yang optimal tidak hanya meningkatkan produksi glukosa tetapi juga efisiensi fermentasi etanol. optimasi waktu sakarifikasi dapat meningkatkan produksi bioetanol hingga 30% dibandingkan dengan sakarifikasi yang tidak dioptimalkan. Studi ini menunjukkan bahwa waktu sakarifikasi yang terlalu singkat atau terlalu lama dapat menurunkan efisiensi keseluruhan proses (Kusmiyati & Arifin, 2010).

2.8 Bahan pendukung pembuatan bioetanol

52 Dalam pembuatan bioetanol yaitu perlakuannya mencampurkan bahan tepung iles iles, aquadest, urea, NPK, asam asetat dan ragi tape secara bertahap. Tujuan ditambahkan pupuk urea dan NPK yaitu sebagai nutrisi untuk pertumbuhan mikroba. Lalu ditambahkan asam asetat yang memiliki fungsi yaitu untuk menurunkan pH hingga 4,5 atau 5. Dan terakhir ditambahkan *yeast* atau ragi yaitu sebagai mikroorganisme dalam proses fermentasi untuk mengubah glukosa menjadi alkohol (etanol) dan CO₂. Pada tahap destilasi juga digunakan bahan berupa pelumas yang berfungsi untuk merapatkan dan menutup antara *rotating flask* dan motor agar pada proses destilasi, uap alkohol yang dihasilkan tidak keluar dari alat evaporator, selain itu fungsi lain dari pelumas yaitu saat melepaskan *rotating flask* dari motor tidak memerlukan tenaga yang besar dan mengurangi resiko kerusakan pada alat.

2.9 SNI Bioetanol

Standar Nasional Indonesia (SNI) merupakan standar yang ditetapkan oleh Badan Standardisasi Nasional (BSN) di Indonesia, mencakup berbagai bidang termasuk produk bioetanol. Spesifikasi bioetanol untuk bahan bakar telah ditetapkan dalam SNI 7390:2012, yang mencakup berbagai parameter penting seperti kandungan air, kadar alkohol, dan kemurnian yang harus dipenuhi oleh produk bioetanol agar dapat digunakan sebagai bahan bakar. Tabel berikut merangkum spesifikasi tersebut secara rinci:

Tabel 2. Spesifikasi Bioetanol untuk Bahan Bakar (SNI 7390:2012)

Sifat	Unit, min/maks	Spesifikasi
Kemurnian etanol	%, min	99,5
Air	%, maks	0,5
Metanol	%, maks	0,5
Aseton dan butanon	%, maks	0,01 dan 0,1
Aldehida	%, maks	0,02
Asam	%, maks	0,005

Sumber : Badan Standardisasi Nasional, 2012

SNI bioetanol terdenaturasi adalah standar yang diterbitkan oleh Badan Standardisasi Nasional (BSN) yang menetapkan kriteria dan persyaratan untuk bioetanol yang digunakan sebagai bahan bakar atau aplikasi non-konsumsi lainnya. Standar ini bertujuan untuk memastikan bahwa bioetanol yang diproduksi dan diperdagangkan di Indonesia memenuhi persyaratan mutu tertentu, serta aman dan efektif untuk penggunaannya. Selain itu, standar ini juga membantu mencegah penyalahgunaan bioetanol sebagai minuman beralkohol. Berikut adalah beberapa spesifikasi utama yang diatur oleh SNI:

Tabel 3. Bioetanol Terdenaturasi (SNI DT 27-0001-2006)

Sifat	Unit, min/maks	Spesifikasi
Kemurnian etanol	%, min	94,5
Air	%, maks	1
Metanol	mg/l, maks	300
Denaturan	%, min	2
	%, maks	5
Tembaga (Cu)	mg/Kg, maks	0,1
Keasaman sebagai CH ₃ COOH	mg/l, maks	30
Tampakan		Jernih dan terang, tidak ada endapan dan kotoran
ion klorida (Cl ⁻)	mg/l, maks	40
Belerang (Sulfur)	mg/l, maks	50
Getah	mg/100mL	5,0
pH		6,5-9,0
Berat Jenis	g/ml	0,7936 - 7961 (15°C) 0,7871 - 0,7896 (25°C)

(Sumber : Badan Standarisasi Nasional, 2006)

SNI EN 1276:2019 adalah standar yang mengatur tentang "Metode Uji Aktivitas Bakterisida dari Produk Desinfektan dan Antiseptik." Standar ini khususnya digunakan untuk mengevaluasi efektivitas produk antiseptik dan desinfektan terhadap bakteri. Berikut beberapa standar yang digunakan pada SNI tersebut:

Tabel 4. Standar Desinfektan dan Antiseptik (SNI EN 1276:2019)

Sifat	Unit, min/maks	Spesifikasi
alkohol	% v/v, min	70
Kekeruhan dan Warna	-	Jernih dan transparan
kerapatan	g/cm ³	0,875
Aktivitas Bakterisidal	log, min	5
	%, min	99,99
Air dan pengotor	% v/v, maks	30
pH	-	7,0-8,0

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan di laboratoium Institut Pertanian STIPER Yogyakarta dengan penelitian \pm 2 bulan (15 Juli 2024 – 22 Agustus 2024).

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah berupa keranjang, pisau, timbangan analitik, 1 set *distillatory (rotary vacum evaporator, dlab RE100-S)*, *magnetic stirrer*, piknometer, pipet tetes, corong, gelas ukur, buret, klem, mortar dan alu, botol plastik, gelas beker, erlenmeyer, selang, pH meter, termometer, *alcohol meter*, botol bensin bekas, refraktometer brix, TBA *seal tape* dan spatula.

3.2.2 Bahan

Bahan yang di gunakan pada penelitian ini yaitu tepung iles - iles, enzim amilase, enzim glukoamilase, ragi tape, urea, NPK, asam asetat, NaOH 0,1 N dan aquadest

3.3 Metode Penelitian

Rancangan percobaan dalam penelitian ini menggunakan rancangan blok lengkap (RBL) 3x3 yang terdiri dari dua faktor yaitu variasi enzim glukoamilase yang digunakan dan faktor yang kedua yaitu lama waktu inkubasi sakarifikasi. Taraf faktor variasi enzim glukoamilase yang digunakan

2 yaitu 1,5 %, 2 % dan 2,5% serta taraf faktor lama waktu inkubasi sakarifikasi 11 30 menit, 45 menit dan 60 menit. Dari kedua faktor didapatkan $3 \times 3 = 9$ yang masing - masing dilakukan pengulangan sebanyak 2 kali sehingga didapatkan $3 \times 3 \times 2 = 18$ sampel. Tata letak dan urutan eksperimen adalah sebagai berikut;

Tabel 4. Tata Letak Urutan Eksperimental (TLUE)

Blok 1			Blok 2		
G1S1 ¹	G2S3 ²	G2S2 ³	G3S3 ¹⁰	G3S1 ¹¹	G1S3 ¹²
G3S3 ⁴	G1S2 ⁵	G3S1 ⁶	G3S2 ¹³	G2S3 ¹⁴	G1S2 ¹⁵
G3S2 ⁷	G2S1 ⁸	G1S3 ⁹	G2S1 ¹⁶	G2S2 ¹⁷	G1S1 ¹⁸

KETERANGAN :

1,2,3..18 = Urutan ekperimental

G dan S = Faktor pengaruh

Blok 1 dan 2 = jumlah pengulangan

Taraf faktor I : Variasi penambahan enzim gluukoamilase

15 G1 : 1,5%

G2 : 2%

G3 : 2,5%

Taraf Faktor II : Lama waktu inkubasi sakarifikasi

S1 : 30 menit

S2 : 45 menit

S3 : 60 menit

3.4 Prosedur Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Pembuatan Tepung iles-iles

Perlakuan awal diperlukan dalam pembuatan tepung iles - iles dengan cara mengupas seluruh kulit umbi iles - iles. Cuci iles - iles dan potong tipis-tipis. Cuci bersih yang telah di potong tipis hingga tidak ada getah dan lendir yang tersisa, selanjutnya iles - iles diletakkan di loyang dan dijemur dibawah sinar matahari sampai kering. Setelah kering iles - iles digiling menjadi tepung kemudian di ayak menggunakan ayakan 80 mesh.

3.4.2 Pembuatan Bioetanol

Mengacu pada TLUE, unit eksperimental pertama adalah G1S1, dilakukan sebagai berikut :

Siapkan bahan yang mengandung tepung iles - iles sebanyak 100 gram. Tambahkan air dengan perbandingan 1:6 (100 gram tepung + 600 ml air), aduk dan panaskan pada suhu 80-90°C (proses gelatinisasi) selama 15-30 menit sampai terbentuk gel (mengental). Tambahkan enzim alfa amilase sebanyak 1,5% dari berat tepung (1,5 gram), lalu diaduk dengan magnetic stirrer kecepatan 200-300 rpm dan suhu 80-90°C selama 60 menit. Selanjutnya suhu diturunkan 60 °C dan dilakukan penambahan enzim glucoamilase (likuififikasi) dengan variasi penambahan G1=1,5% (1,5 gram), dari berat tepung awal, lalu diinkubasi sakarifikasi dengan variasi lama waktu inkubasi S1=30

menit, sambil dilakukan pengadukan secara periodik hingga terjadi perubahan bentuk pada bubur tersebut membentuk 2 lapisan, yaitu: cairan dan endapan bubur (padatan). Dilakukan pendinginan hingga suhu 30-37°C. Tambahkan urea 5% (5 gram) dari jumlah tepung. Tambahkan NPK sebanyak 1% (1 gram) dari jumlah tepung. Gerus urea dan NPK hingga halus kemudian ditambahkan ke dalam larutan fermentasi dan diaduk merata. Dilakukan penyesuaian pH menjadi 4,5-5 dengan menambahkan asam asetat. Tambahkan ragi tape sebanyak 5% (5 gram) dari berat tepung yang sudah dilarutkan dalam sedikit air hangat. Larutan dimasukkan ke dalam reaktor ukuran 1 Liter lalu di rangkai sehingga membentuk rangkaian seperti pada **Gambar 2**. Fermentasi dilakukan selama 3 hari (72 jam) pada suhu kamar dengan ditutup rapat (anaerob). Setelah unit perlakuan pertama selesai, dilanjutkan dengan perlakuan yang lain sesuai dengan TLUE. Amati perubahan yang terjadi pada media dan pada erlenmeyer yang berisi air setiap hari. Setelah fermentasi berjalan 3 hari, maka cairan fermentasi diukur kadar alkoholnya kemudian dimasukkan ke dalam *rotary evaporator* yang suhunya diatur antara 79-81°C selama 20-25 menit. Pada suhu ini maka etanol akan menguap dan melewati kondensor sehingga yang tadinya dalam bentuk uap berubah dalam bentuk cairan. Setelah destilasi dilakukan pengukuran kadar alkohol menggunakan *alcoholmeter*. Setelah itu dilakukan destilasi kedua untuk memaksimalkan kadar alkohol yang didapatkan. Lakukan pengecekan

kadar alkohol yang dihasilkan. Selanjutnya dilakukan analisis pada sampel bioetanol yang didapatkan. Setelah blok I selesai, dilanjutkan dengan blok II dengan unit perlakuan sesuai dengan TLUE.



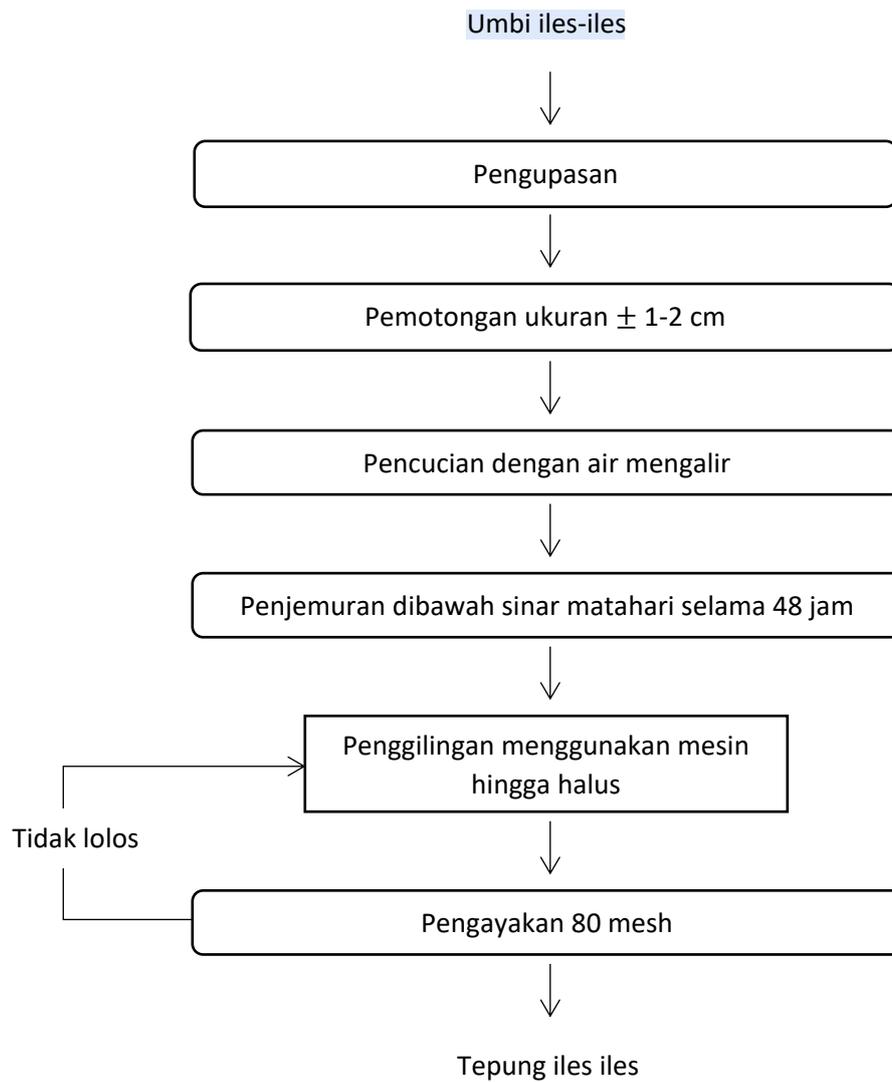
Gambar 5. Rangkaian botol fermentasi Larutan pembuatan Bioetanol
(Sumber : foto pribadi)

3.4.3 Analisis Data

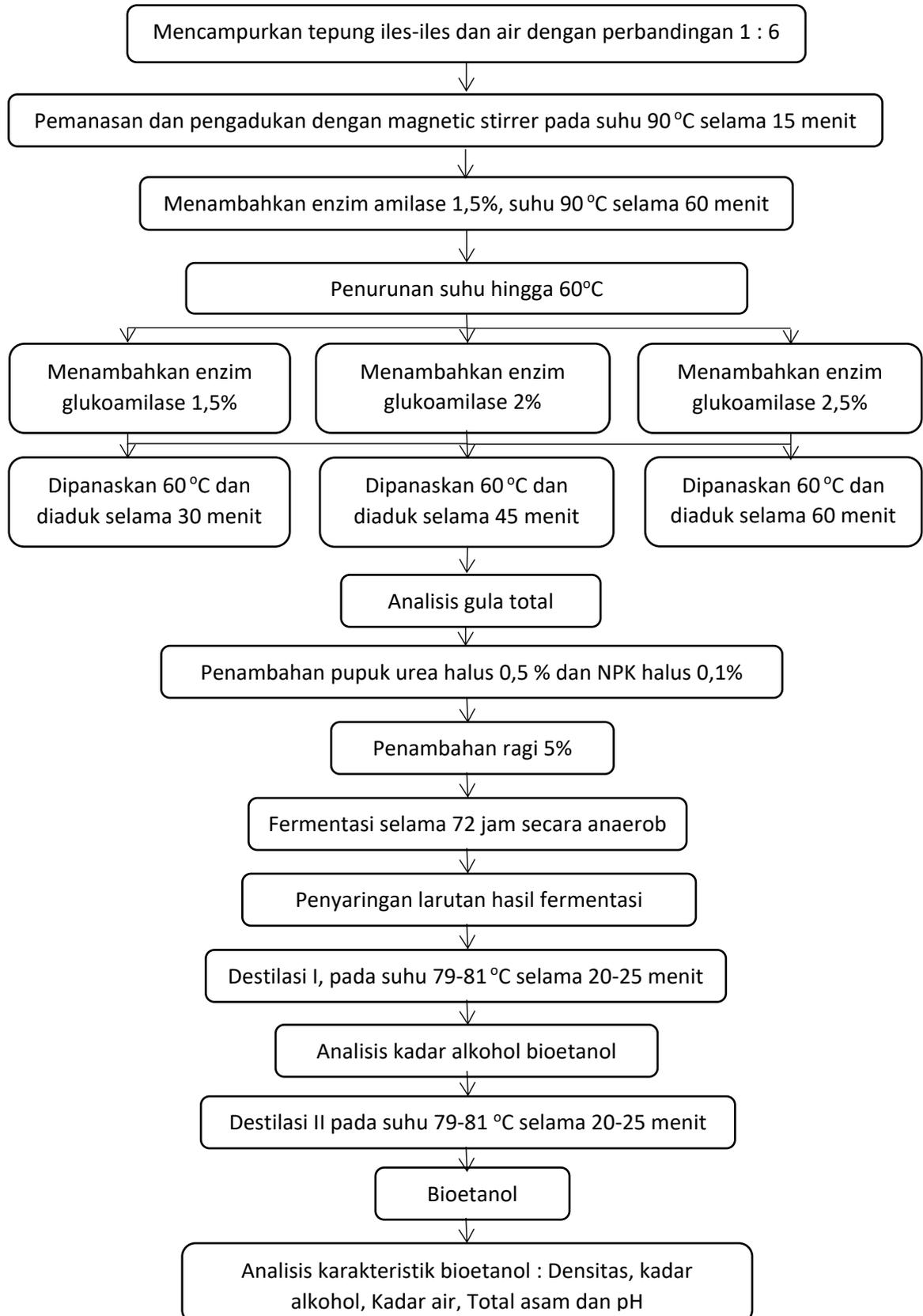
Data yang diamati yaitu ada analisis fisik dan analisis kimia dimana untuk analisis fisik diamati yaitu densitas (Sulaiman *et al.*, 2021) dan untuk analisis kimia diamati kadar air (Sulaiman *et al.*, 2021), kadar alkohol (Satria, 2013), total asam (Satria, 2013), pH (Satria, 2013) dan kadar gula total metode refraktometri (Karnia, *et al.*, 2019).

3.4.4 Diagram Alir

1. Pembuatan tepung iles - iles



2. Diagram Alir Pembuatan Bioetanol



BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

Untuk mengetahui pengaruh konsentrasi enzim glukoamilase dan lama inkubasi sakarifikasi terhadap karakteristik bioetanol dari tepung umbi iles-iles, telah dilakukan analisis sifat fisik yaitu densitas, sedangkan analisis sifat kimia yaitu uji pH, uji kadar alkohol, uji kadar gula total, total asam, dan uji kadar air.

A. Gula Total ($^{\circ}$ brix) setelah proses sakarifikasi (sebelum fermentasi)

Gula total adalah jumlah keseluruhan gula dalam suatu larutan atau produk. Dalam industri makanan dan minuman, pengukuran gula total sangat penting untuk menjaga kualitas dan konsistensi produk. Satuan *Brix* ($^{\circ}$ Brix) digunakan untuk mengukur konsentrasi gula dalam larutan berair, di mana satu derajat *Brix* setara dengan satu gram sukrosa dalam 100 gram larutan. Berikut Tabel hasil data primer analisis gula total yang didapatkan pada penelitian ini:

Tabel 5. Data primer analisis gula total ($^{\circ}$ brix)

sampel	Blok		Jumlah	Rata - Rata
	I	II		
G1 (1,5%)				
S1 (30 menit)	4,1	4,2	8,3	4,15
S2 (45 menit)	4,2	4,4	8,6	4,30
S3 (60 menit)	4,5	4,7	9,2	4,60
G2 (2%)				
S1 (30 menit)	5,0	5,1	10,1	5,05
S2 (45 menit)	5,3	5,3	10,6	5,30
S3 (60 menit)	5,8	6,0	11,8	5,90
G3 (2,5%)				
S1 (30 menit)	5,3	5,3	10,6	5,30
S2 (45 menit)	5,8	6,0	11,8	5,90
S3 (60 menit)	7,0	6,9	13,9	6,95

Selanjutnya dilakukan uji ANAKA untuk mengetahui pengaruh konsentrasi glukamilase dan lama inkubasi sakarifikasi pada densitas bioetanol. Hasil uji ANAKA dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil ANAKA gula total (°brix)

Sumber Keragaman	db	JK	RK	F. Hitung	F. Tabel	
					5%	1%
G	2	3,001	1,500	240,088**	4,46	8,65
S	2	8,857	4,428	708,622**	4,46	8,65
G x S	4	0,762	0,190	30,488**	3,84	7,01
Blok	1	0,045	0,045			
Error	8	0,050	0,006			
Total	17	12,716	0,748			

Keterangan :

** = berbeda sangat nyata

Dari Tabel 6. diketahui bahwa penambahan glukamilase dan lama inkubasi sakarifikasi berpengaruh sangat nyata terhadap gula total dan ada interaksi antara konsentrasi glukamilase dan lama inkubasi terhadap gula total bioetanol. Selanjutnya dilakukan uji jarak berganda *duncan* untuk mengetahui perbedaan antara perlakuan. Adapun hasil uji jarak berganda *duncan* gula total dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Rerata analisis hasil gula total (°brix)

Perlakuan	G1 (1,5%)	G2 (2,0%)	G3 (2,5%)	Rerata S
S1 (35 m)	4,15±0,07 ^a	5,05±0,07 ^c	5,30±0,01 ^d	4,83±0,03 ^x
S2 (45 m)	4,30±0,14 ^a	5,30±0,01 ^d	5,90±0,07 ^e	5,16±0,03 ^y
S3 (60 m)	4,60±0,14 ^b	5,90±0,14 ^e	6,95±0,07 ^f	5,81±0,03 ^z
Rerata G	4,35±0,03 ^m	5,41±0,03 ⁿ	6,05±0,03 ^o	

Keterangan : Rerata yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan berdasarkan uji jarak berganda *duncan* pada jenjang nyata 5%

65 Berdasarkan tabel rerata analisis hasil gula total tersebut dapat dilihat jika semakin tinggi konsentrasi enzim glukoamilase yang digunakan maka gula total dari larutan sebelum fermentasi semakin tinggi. konsentrasi enzim glukoamilase yang tinggi dalam proses sakarifikasi meningkatkan efisiensi konversi oligosakarida dan maltosa menjadi glukosa, yang mengarah pada peningkatan gula total dalam larutan sebelum fermentasi. Ini membuat lebih banyak glukosa tersedia untuk proses fermentasi berikutnya, yang dapat meningkatkan hasil produk fermentasi yaitu bioetanol. Menurut Schoonees (2004), ini disebabkan enzim glukoamilase memecahkan pati yang belum sempurna oleh enzim α -amilase yang hanya menghasilkan dekstrin dengan rantai panjang selama proses likuifikasi (Schoonees, 2004). Glukoamilase dapat menghidrolisa ikatan 1,4-glukosida dan 1,6-glukosida sehingga glukosa yang dihasilkan semakin banyak (Sukaryo *et al.*, 2013).

14 Waktu sakarifikasi mempengaruhi kadar gula sederhana yang dihasilkan dari proses hidrolisis pati, semakin lama waktu inkubasi sakarifikasi maka gula total pada larutan sebelum fermentasi semakin tinggi. Dengan waktu inkubasi yang lebih lama, proses sakarifikasi dapat berlangsung lebih lama. Enzim glukoamilase akan terus memecah oligosakarida dan maltosa menjadi glukosa, hingga sebagian besar pati telah dikonversi menjadi glukosa. Hal ini sejalan dengan penelitian Ningsih (2017), yang menyatakan semakin lama waktu sakarifikasi, semakin tinggi kadar gula sederhana yang dihasilkan, yang dapat meningkatkan kadar etanol dalam proses fermentasi (Ningsih, 2017). Menurut kartika (2019) dalam penelitiannya, waktu yang tepat dalam proses

30

sakarifikasi sangat penting. Jika waktu sakarifikasi terlalu singkat, maka gula yang dihasilkan belum mencapai konsentrasi maksimal. Sebaliknya, jika waktu yang cukup diberikan, maka gula yang dihasilkan akan lebih tinggi karena proses hidrolisis yang lebih sempurna (Kartika *et al.*, 2019).

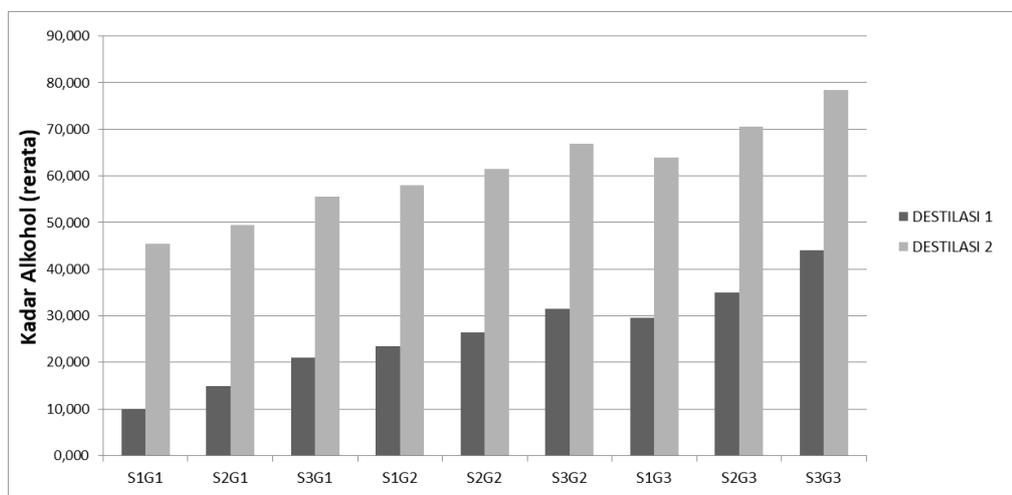
4

Menurut Hakim *et al.* (2015), mengungkapkan semakin banyak volume enzim yang diberikan, kadar glukosa yang dihasilkan belum tentu semakin tinggi. Pemberian volume enzim yang berlebih menyebabkan kerja enzim tidak maksimal (Hakim *et al.*, 2015). Perlakuan dengan faktor terbaik pada penelitian ini yaitu 6,950°Brix dengan variasi konsentrasi enzim glucoamilase 2,5% dan lama inkubasi 60 menit.

B. Kadar alkohol (%volume) bioetanol setelah destilasi ke-2

Kadar alkohol adalah ukuran yang menunjukkan jumlah alkohol dalam minuman atau larutan tertentu. Biasanya, kadar ini dinyatakan dalam persentase berdasarkan volume (ABV - *Alcohol by Volume*): Perbedaan kadar etanol pada destilasi pertama dan kedua dapat dilihat pada **Gambar 3**.

24



Gambar 3. Perbedaan kadar alkohol destilasi pertama dan destilasi kedua

Dalam penelitian ini, kadar alkohol pada sampel yang didapatkan pada destilasi pertama kurang dari 50% yang sangat jauh dari standar kadar alkohol dalam bioetanol bahan bakar yaitu 95%, sehingga dilakukan destilasi kedua agar kadar alkohol yang dihasilkan dapat lebih tinggi dari destilasi sebelumnya. Berikut Tabel hasil data primer analisis kadar alkohol yang didapatkan pada penelitian ini:

Tabel 8. Data primer analisis kadar alkohol (%volume)

sampel	Blok		Jumlah	Rata - Rata
	I	II		
G1 (1,5%)				
S1 (30 menit)	46	45	91	45,5
S2 (45 menit)	49	50	99	49,5
S3 (60 menit)	55	56	111	55,5
G2 (2%)				
S1 (30 menit)	57	59	116	58,0
S2 (45 menit)	62	61	123	61,5
S3 (60 menit)	67	67	134	67,0
G3 (2,5%)				
S1 (30 menit)	64	64	128	64,0
S2 (45 menit)	70	71	141	70,5
S3 (60 menit)	79	78	157	78,5

Selanjutnya dilakukan uji ANAKA untuk mengetahui pengaruh konsentrasi glukamilase dan lama inkubasi sakarifikasi pada kadar alkohol bioetanol. Hasil uji ANAKA dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Hasil ANAKA kadar alkohol (%volume)

Sumber Keragaman	db	JK	RK	F. Hitung	F. Tabel	
					5%	1%
G	2	377,44	188,72	316,00**	4,46	8,65
S	2	1312,11	656,05	1098,51**	4,46	8,65
G x S	4	17,22	4,30	7,20**	3,84	7,01
Blok	1	0,22	0,22			
Eror	8	4,77	0,59			
Total	17	1711,77	100,69			

Keterangan :

** = berbeda sangat nyata

Dari **Tabel 9.** diketahui bahwa penambahan glukoamilase dan lama inkubasi sakarifikasi berpengaruh sangat nyata terhadap kadar alkohol dan ada interaksi antara konsentrasi glukoamilase dan lama inkubasi terhadap kadar alkohol bioetanol. Selanjutnya dilakukan uji jarak berganda *duncan* untuk mengetahui perbedaan antara perlakuan. Adapun hasil uji jarak berganda *duncan* kadar alkohol dapat dilihat pada **Tabel 10.**

Tabel 10. Rerata analisis hasil kadar alkohol (%volume)

Perlakuan	G1 (1,5%)	G2 (2,0%)	G3 (2,5%)	Rerata S
S1 (30 m)	45,50±0,70 ^a	58,00±1,41 ^d	64,00±0,01 ^f	55,83±0,30 ^x
S2 (45 m)	49,50±0,70 ^b	61,50±0,70 ^e	70,50±0,70 ^h	60,50±0,30 ^y
S3 (60 m)	55,50±0,70 ^c	67,00±0,01 ^g	78,50±0,70 ⁱ	67,00±0,30 ^z
Rerata G	50,16±0,30 ^m	62,16±0,30 ⁿ	71,00±0,30 ^o	

Keterangan : Rerata yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan berdasarkan uji jarak berganda *duncan* pada jenjang nyata 5%

Berdasarkan tabel rerata analisis hasil kadar alkohol tersebut dapat dilihat jika semakin tinggi konsentrasi enzim glukoamilase yang digunakan maka kadar alkohol bioetanol semakin tinggi. Hal ini karena glukoamilase berfungsi

memecah pati menjadi glukosa. Semakin tinggi konsentrasi enzim, semakin efisien proses pemecahan pati, sehingga lebih banyak glukosa yang dihasilkan. Glukosa yang dihasilkan kemudian difermentasi oleh ragi menjadi etanol. Dengan lebih banyak glukosa yang tersedia dari hasil konversi yang efisien, potensi produksi etanol bisa meningkat yang pada akhirnya sisa air yang ada pada produk bioetanol semakin rendah. Menurut Hakim *et al* (2015), Semakin tinggi kadar glukosa setelah hidrolisis maka semakin tinggi pula kadar bioetanol yang dihasilkan (Hakim *et al.*, 2015). Penurunan kadar glukosa menunjukkan bahwa *S. cerevisiae* telah mengubah glukosa menjadi alkohol. Semakin tinggi penurunan kadar glukosa, semakin banyak alkohol yang dihasilkan. Menurut Azizah *et al.* (2012) dalam penelitiannya, semakin optimal fermentasi, maka alkohol yang dihasilkan juga optimal (Azizah *et al.*, 2012).

Lama inkubasi sakarifikasi sebagai faktor kedua berpengaruh terhadap kadar alkohol pada bioetanol yang dihasilkan. Semakin lama inkubasi sakarifikasi maka semakin tinggi kadar alkohol yang dihasilkan. Hal ini karena enzim glukoamilase akan terus memecah maltosa menjadi glukosa, hingga sebagian besar pati telah dikonversi menjadi glukosa. Glukosa selanjutnya sebagai sumber energi maupun nutrisi oleh bakteri dari ragi tape yang mengkonversi glukosa menjadi etanol selama proses fermentasi. Hal ini sejalan dengan penelitian sandi dan zubaidah (2014), mengungkapkan proses sakarifikasi menggunakan enzim selulase dapat mengkonversi selulosa menjadi glukosa sebagai sumber karbon untuk fermentasi alkohol. Semakin

6 lama waktu inkubasi sakarifikasi, semakin banyak selulosa yang terhidrolisis menjadi glukosa (Sandi & Zubaidah, 2014). Menurut Prasasti & Herdyastuti (2022) sakarifikasi adalah proses konversi polisakarida (seperti pati) menjadi gula sederhana (glukosa) yang dapat difermentasi. Enzim yang terlibat dalam proses ini, seperti α -amilase dan glukoamilase, bekerja lebih efektif seiring waktu, sehingga lebih banyak gula yang tersedia untuk fermentasi (Prasasti & Herdyastuti, 2022).

4 Kadar alkohol dalam bioetanol menunjukkan tingkat kemurnian etanol yang dihasilkan. Semakin tinggi kadar bioetanol yang dihasilkan, maka semakin baik kualitas etanolnya. Kadar alkohol dalam bioetanol juga menunjukkan kemurnian dan kualitas produk akhir. Semakin tinggi kadar alkohol, semakin murni bioetanol tersebut, yang berarti semakin sedikit kandungan air dan kontaminan lain yang dapat mengurangi efisiensi pembakaran. Bioetanol dengan kadar alkohol yang tinggi (di atas 99%) dianggap sebagai kualitas bahan bakar kelas premium karena memiliki nilai kalor yang lebih tinggi dan menghasilkan pembakaran yang lebih bersih, dengan emisi gas rumah kaca yang lebih rendah dibandingkan dengan bensin murni.

18
16
4 Kadar alkohol pada bioetanol terbaik dalam penelitian ini yaitu dengan penambahan enzim glukoamilase sebanyak 2,5 gram dan dengan lama inkubasi sakarifikasi 60 menit yang menghasilkan bioetanol dengan konsentrasi alkohol 79%. Namun, bioetanol ini belum bisa dimanfaatkan sebagai pengganti bahan bakar karena kadar alkohol yang memenuhi standar

SNI 7390:2012 bioetanol sebagai bahan bakar yaitu 99,5%. Penggunaan bioetanol ini lebih sesuai dengan SNI EN 1276:2019 tentang disinfektan kimia dan antiseptik menetapkan kadar alkohol yaitu 70%. Sampel yang memenuhi standar SNI EN 1276:2019 yaitu G3S2 dan G3S3.

C. Kadar air (%volume) bioetanol setelah destilasi ke-2

Kadar air adalah jumlah air yang ada dalam suatu material atau substansi.

Dalam bioetanol, kadar air adalah jumlah air yang ada dalam produk bioetanol, yang harus dikendalikan untuk memastikan kualitas dan efisiensi bahan bakar. Penelitian ini menunjukkan bahwa kadar air dalam bioetanol yang dihasilkan masih tinggi setelah proses destilasi pertama. Berikut Tabel hasil data primer analisis kadar air yang didapatkan pada penelitian ini:

Tabel 11. Data primer analisis kadar air (%volume)

sampel	Blok		Jumlah	Rata - Rata
	I	II		
G1 (1,5%)				
S1 (30 menit)	54	55	109	54,5
S2 (45 menit)	51	51	102	51,0
S3 (60 menit)	45	44	89	44,5
G2 (2%)				
S1 (30 menit)	43	41	84	42,0
S2 (45 menit)	38	39	77	38,5
S3 (60 menit)	33	33	66	33,0
G3 (2,5%)				
S1 (30 menit)	36	36	72	36,0
S2 (45 menit)	30	29	59	29,5
S3 (60 menit)	21	22	43	21,5

Selanjutnya dilakukan uji ANAKA untuk mengetahui pengaruh konsentrasi glukamilase dan lama inkubasi sakarifikasi pada kadar air bioetanol. Hasil uji ANAKA dapat dilihat pada Tabel 12.

Tabel 12. Hasil ANAKA kadar air (%volume)

Sumber Keragaman	db	JK	RK	F. Hitung	F. Tabel	
					5%	1%
G	2	378,77	189,38	340,90 **	4,46	8,65
S	2	1334,11	667,05	1200,70**	4,46	8,65
G x S	4	17,55	4,38	7,90**	3,84	7,01
Blok	1	0,05	0,05			
Error	8	4,44	0,55			
Total	17	1734,94	102,05			

Keterangan :

** = berbeda sangat nyata

Dari Tabel 12. diketahui bahwa penambahan glukamilase dan lama inkubasi sakarifikasi berpengaruh sangat nyata terhadap kadar air dan ada interaksi antara konsentrasi glukamilase dan lama inkubasi terhadap kadar air bioetanol. Selanjutnya dilakukan uji jarak berganda *duncan* untuk mengetahui perbedaan antara perlakuan. Adapun hasil uji jarak berganda *duncan* kadar air dapat dilihat pada Tabel 13.

Tabel 13. Rerata analisis hasil kadar air (%volume)

Perlakuan	G1 (1,5%)	G2 (2,0%)	G3 (2,5%)	Rerata S
S1 (30 m)	54,50±0,70 ⁱ	42,00±1,41 ^f	36,00±0,01 ^d	44,16±0,30 ^x
S2 (45 m)	51,00±0,70 ^h	38,50±0,70 ^e	29,50±0,70 ^b	39,66±0,30 ^y
S3 (60 m)	44,50±0,70 ^g	33,00±0,01 ^c	21,50±0,770 ^a	33,00±0,30 ^z
Rerata G	50,0±0,30 ^m	37,83±0,30 ⁿ	29,00±0,30 ^o	

Keterangan : Rerata yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan berdasarkan uji jarak berganda *duncan* pada jenjang nyata 5%

13 Berdasarkan tabel rerata analisis hasil kadar air tersebut dapat dilihat jika penambahan enzim glucoamilase berpengaruh terhadap kadar air dari bioetanol, semakin tinggi konsentrasi enzim glucoamilase yang digunakan maka kadar air bioetanol semakin rendah. Hal ini karena kadar alkohol bioetanol yang diproduksi meningkat seiring dengan besarnya kadar glukosa dan juga faktor variasi konsentrasi enzim glucoamilase yang ditambahkan.

4 Glukosa yang tinggi menyediakan sumber energi dan rangka karbon untuk pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* yang selanjutnya diikuti produksi bioetanol yang tinggi. Menurut Visca *et al.* (2020) Enzim glucoamilase berfungsi untuk menghidrolisis pati menjadi glukosa. Dengan meningkatnya konsentrasi enzim, proses hidrolisis menjadi lebih efisien, menghasilkan lebih banyak glukosa yang dapat difermentasi oleh ragi, seperti *Saccharomyces cerevisiae*, menjadi etanol. Ketika lebih banyak glukosa tersedia, tingkat fermentasi meningkat, yang pada gilirannya menghasilkan lebih banyak etanol dan mengurangi kadar air dalam campuran (Visca *et al.*, 2020).

29 Lama inkubasi sakarifikasi juga berpengaruh pada dengan kadar air bioetanol yang dihasilkan dimana semakin lama inkubasi sakarifikasi maka semakin rendah kadar air pada bioetanol. Sakarifikasi adalah proses pemecahan pati menjadi gula sederhana seperti glukosa, yang dilakukan oleh enzim amilase atau glucoamilase. Waktu inkubasi sakarifikasi mempengaruhi seberapa lengkap proses konversi pati menjadi gula. Gula yang dihasilkan kemudian dikonversi oleh bakteri *S. cerevisiae* menjadi etanol yang kemudian didestilasi untuk memisahkan antara etanol dengan air dan juga produk

18

samping hasil fermentasi. Destilasi yang dilakukan sebanyak dua kali dengan tujuan mengurangi kadar air yang ada pada produk bioetanol yang dihasilkan. Menurut Nilasari *et al.* (2017) Proses pemanasan yang lebih tinggi dan lama dapat menurunkan kadar air dalam bahan, seperti lempok labu kuning. Hal ini karena pemanasan mempercepat penguapan air, sehingga kadar air menurun dan konsentrasi padatan, termasuk glukosa meningkat (Nilasari *et al.*, 2017)

Kadar air yang tinggi dapat menurunkan kualitas bioetanol dan kadar air yang rendah (misalnya kurang dari 0,25% volume) dapat memungkinkan campuran bensin dan bioetanol tetap dalam satu fasa, yang lebih ideal untuk digunakan sebagai bahan bakar motor (Nurkholis *et al.*, 2020). Salah satu metode untuk mengurangi kadar air dalam bioetanol adalah dengan menggunakan proses dehidrasi, seperti destilasi atau adsorpsi. Pada adsorpsi, menggunakan adsorben seperti bentonit dapat menurunkan kadar air dalam bioetanol. Menurut Atikah (2012) dalam penelitiannya, Hasil terbaik yang diperoleh untuk menurunkan kadar air menggunakan proses adsorpsi yaitu pada waktu proses 110 menit dan berat bentonit 50 gram, dengan kadar air 6,71% dan kadar etanol 93,29% (Atikah, 2019). Standar kadar air pada bioetanol yang ditetapkan pada SNI 7390:2012 yaitu 0,5%. Sementara itu, kadar air yang mendekati standar pada penelitian ini yaitu 21,5% (G3S3) dengan variasi konsentrasi enzim glukoamilase 2,5% dan lama inkubasi 60 menit. pada SNI EN 1276:2019 yang menyatakan standar kadar air pada produk disinfektan dan antiseptik yaitu 30% sehingga bioetanol pada perlakuan G3S2 dan G3S3 telah memenuhi standar.

D. Densitas (g/ml) bioetanol setelah destilasi ke-2

Masa jenis juga dikenal sebagai densitas atau kerapatan merupakan jumlah suatu zat yang terkandung pada suatu volume. Berdasarkan syarat mutu bioetanol dari Badan Standar Nasional, densitas bioetanol berada pada 0,7871-0,7896 gr/ml. Berikut tabel hasil data primer analisis densitas yang didapatkan pada penelitian ini:

Tabel 14. Data primer analisis densitas (g/ml)

sampel	Blok		Jumlah	Rata - Rata
	I	II		
G1 (1,5%)				
S1 (30 menit)	0,883	0,884	1,767	0,884
S2 (45 menit)	0,877	0,875	1,754	0,877
S3 (60 menit)	0,858	0,854	1,713	0,856
G2 (2%)				
S1 (30 menit)	0,842	0,848	1,691	0,845
S2 (45 menit)	0,838	0,840	1,679	0,839
S3 (60 menit)	0,820	0,823	1,644	0,822
G3 (2,5%)				
S1 (30 menit)	0,822	0,825	1,648	0,824
S2 (45 menit)	0,818	0,817	1,636	0,818
S3 (60 menit)	0,808	0,809	1,617	0,809

Selanjutnya dilakukan uji ANAKA untuk mengetahui pengaruh konsentrasi glukamilase dan lama inkubasi sakarifikasi pada densitas bioetanol. Hasil uji ANAKA dapat dilihat pada **Tabel 15**.

Tabel 15. Hasil ANAKA analisis densitas (g/ml)

Sumber Keragaman	db	JK	RK	F. Hitung	F. Tabel	
					5%	1%
G	2	0,001518	0,000859	162,792**	4,46	8,65
S	2	0,009682	0,004891	1027,32**	4,46	8,65
G x S	4	0,000195	0,000024	5,086*	3,84	7,01
Blok	1	0,000004	0,000004			
Error	8	0,000037	0,000005			
Total	17	0,011237	0,000761			

Keterangan :

** = sangat berpengaruh nyata

* = berpengaruh nyata

Dari **Tabel 16**, diketahui bahwa penambahan glukoamilase dan lama inkubasi sakarifikasi berpengaruh sangat nyata terhadap densitas bioetanol dan ada interaksi antara konsentrasi glukoamilase dan lama inkubasi terhadap densitas bioetanol. Selanjutnya dilakukan uji jarak berganda *duncan* untuk mengetahui perbedaan antara perlakuan. Adapun hasil uji jarak berganda *duncan* densitas dapat dilihat pada **Tabel 16**.

Tabel 16. Rerata analisis hasil densitas (g/ml)

Perlakuan	G1 (1,5%)	G2 (2,0%)	G3 (2,5%)	Rerata S
S1 (30 m)	0,88±0,0006 ^h	0,84±0,0038 ^e	0,82±0,0023 ^c	0,85±0,0010 ^x
S2 (45 m)	0,87±0,0012 ^g	0,83±0,0011 ^d	0,81±0,0003 ^b	0,84±0,0010 ^y
S3 (60 m)	0,85±0,0034 ^f	0,82±0,0021 ^{bc}	0,80±0,0005 ^h	0,82±0,0010 ^z
Rerata G	0,87±0,0010 ^m	0,83±0,0010 ⁿ	0,81±0,0010 ^o	

Keterangan : Rerata yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan berdasarkan uji jarak berganda *duncan* pada jenjang nyata 5%

Bedasarkan tabel rerata analisis hasil densitas tersebut dapat dilihat jika semakin tinggi konsentrasi enzim glukoamilase yang digunakan maka densitas dari bioetanol semakin rendah. Hal ini karena enzim glukoamilase

meningkatkan efisiensi konversi pati menjadi glukosa, yang pada gilirannya dapat meningkatkan produksi etanol selama fermentasi. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Visca *et al.* (2020). menyatakan Semakin tinggi persentase enzim glucoamilase maka semakin rendah nilai densitas (Visca *et al.*, 2020). Selain itu, dalam penelitian yang dilakukan Tira *et al.* (2014), menyatakan densitas dipengaruhi oleh kadar bioetanol yang dihasilkan sedangkan kadar bioetanol dipengaruhi oleh proses destilasi yang dilakukan secara berulang (Tira *et al.*, 2014). Dalam penelitian ini, untuk setiap sampel dilakukan destilasi ulang dengan tujuan untuk menaikkan kadar alkohol dan menurunkan kadar air pada bioetanol yang diproduksi.

Densitas bioetanol juga dipengaruhi oleh waktu sakarifikasi, makin lama waktu inkubasi sakarifikasi maka densitas pada bioetanol yang dihasilkan semakin rendah. Waktu sakarifikasi yang lama mempengaruhi pemecahan pati yang kemudian diubah menjadi glukosa dapat dapat diubah menjadi etanol melalui fermentasi sehingga dapat menghasilkan bioetanol dengan kadar yang alkohol yang tinggi mengakibatkan densitas dari bioetanol yang dihasilkan rendah. Menurut Ningsih (2017), Semakin lama waktu sakarifikasi, semakin tinggi kadar gula sederhana yang dihasilkan, yang dapat meningkatkan kadar etanol dalam proses fermentasi (Ningsih, 2017).

Dalam penelitian ini, interaksi antara konsentrasi enzim glucoamilase dan lama inkubasi sakarifikasi berpengaruh terhadap densitas bioetanol. Semakin tinggi konsentrasi enzim glucoamilase dan semakin lama inkubasi sakarifikasi maka semakin rendah densitas pada bioetanol. Pada penelitian ini

25 juga dilakukan destilasi dengan 2 kali ulangan untuk memaksimalkan kadar alkohol pada bioetanol yang didapatkan. Menurut Susilo *et al.* (2018) dengan melakukan destilasi kedua, kadar alkohol dapat meningkat secara signifikan. Misalnya, dalam penelitian, kadar alkohol dapat meningkat dari 18% pada tahap evaporasi menjadi 51,99% setelah destilasi pertama, dan terus meningkat hingga mencapai 91,33% setelah beberapa kali distilasi (Susilo *et al.*, 2018). Menurut penelitian Visca *et al.* (2020), Dengan meningkatnya jumlah alkohol maka densitas campuran alkohol-air akan semakin rendah (Visca *et al.*, 2020). Densitas bioetanol yang lebih besar akan meningkatkan konsumsi bahan bakar karena bioetanol yang lebih padat memerlukan lebih banyak volume untuk mencapai energi yang sama (Sulaiman *et al.*, 2021).

Densitas bioetanol yang lebih besar akan menghasilkan titik nyala dan titik bakar yang lebih tinggi. Hal ini berarti bahwa bioetanol dengan densitas yang lebih tinggi lebih sulit menguap dan memiliki sifat yang lebih stabil dalam kondisi operasional (Tira *et al.*, 2014). Standar densitas pada bioetanol terdenaturasi untuk bahan bakar ditetapkan pada SNI DT 27-0001-2006 yaitu 0,7871-0,7896 g/ml. Sementara itu, densitas yang mendekati standar pada penelitian ini yaitu 0,809 g/ml (G3S3) dengan variasi konsentrasi enzim glukoamilase 2,5% dan lama inkubasi 60 menit. Pada SNI EN 1276:2019 tentang disinfektan kimia dan antiseptik menetapkan kadar densitas minimal yaitu 0,865 - 0,875 g/cm³ sehingga sebagian besar bioetanol yang dibuat memenuhi standar. Sampel yang memenuhi standar SNI EN 1276:2019 yaitu G1S3, G2S1, G2S2, G3S3, G3S1, G3S2 dan G3S3.

E. Total asam (v/v sebagai asam asetat) pada bioetanol setelah destilasi ke-2

Total asam adalah jumlah keseluruhan asam yang ada dalam sebuah larutan, termasuk asam bebas dan yang terikat sebagai garam atau ester. Pengukuran total asam sering dilakukan di industri makanan dan minuman untuk menentukan keasaman produk seperti jus, anggur, dan produk fermentasi lainnya. Pengukuran ini biasanya dilakukan dengan titrasi, di mana larutan basa dengan konsentrasi tertentu (seperti NaOH) ditambahkan sampai mencapai titik akhir reaksi yang ditandai oleh perubahan warna indikator. Berikut Tabel hasil data primer analisis total asam yang didapatkan pada penelitian ini:

Tabel 17. Data primer analisis total asam (v/v sebagai asam asetat)

sampel	Blok		Jumlah	Rata - Rata
	I	II		
G1 (1,5%)				
S1 (30 menit)	0,030	0,037	0,068	0,034
S2 (45 menit)	0,030	0,030	0,060	0,030
S3 (60 menit)	0,022	0,022	0,045	0,023
G2 (2%)				
S1 (30 menit)	0,030	0,022	0,053	0,026
S2 (45 menit)	0,022	0,015	0,038	0,019
S3 (60 menit)	0,015	0,015	0,030	0,015
G3 (2,5%)				
S1 (30 menit)	0,015	0,015	0,030	0,015
S2 (45 menit)	0,007	0,007	0,015	0,008
S3 (60 menit)	0,007	0,007	0,015	0,008

Selanjutnya dilakukan uji ANAKA untuk mengetahui pengaruh konsentrasi glukamilase dan lama inkubasi sakarifikasi pada total asam bioetanol. Hasil uji ANAKA dapat dilihat pada Tabel 18.

Tabel 18. Hasil ANAKA total asam (v/v sebagai asam asetat)

Sumber Keragaman	db	JK	RK	F. Hitung	F. Tabel	
					5%	1%
G	2	0,000306	0,000153	15,0769**	4,46	8,65
S	2	0,001056	0,000528	52,0000**	4,46	8,65
G x S	4	0,000031	0,000008	0,7692 ^{TN}	3,84	7,01
Blok	1	0,000003	0,000003			
Erör	8	0,000081	0,000010			
Total	17	0,001478	0,000087			

Keterangan :

** = berbeda sangat nyata

TN = tidak berbeda nyata

Dari **Tabel 18**, diketahui bahwa penambahan gluoamilase dan lama inkubasi sakarifikasi berpengaruh sangat nyata terhadap total asam, namun tidak ada interaksi antara konsentrasi gluoamilase dan lama inkubasi terhadap total asam bioetanol. Selanjutnya dilakukan uji jarak berganda *duncan* untuk mengetahui perbedaan antara perlakuan. Adapun hasil uji jarak berganda *duncan* total asam dapat dilihat pada **Tabel 19**.

Tabel 19. Rerata analisis hasil total asam (%)

Perlakuan	G1 (1,5%)	G2 (2,0%)	G3 (2,5%)	Rerata S
S1 (30 m)	0,033±0,005	0,026±0,005	0,015±0,001	0,025±0,001 ^y
S2 (45 m)	0,030±0,001	0,018±0,005	0,007±0,001	0,018±0,001 ^x
S3 (60 m)	0,022±0,001	0,015±0,001	0,007±0,001	0,015±0,001 ^x
Rerata G	0,028±0,001 ^o	0,020±0,001 ⁿ	0,010±0,001 ^m	

Keterangan : Rerata yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan berdasarkan uji jarak berganda *duncan* pada jenjang nyata 5%

Bedasarkan tabel rerata analisis hasil total asam tersebut dapat dilihat jika semakin tinggi konsentrasi enzim gluoamilase yang digunakan maka total asam bioetanol semakin rendah. Hal ini karena enzim gluoamilase secara mempengaruhi total asam pada bioetanol karena konsentrasi enzim

3
glukoamilase yang tinggi dapat menghidrolisis pati lebih optimal sehingga menghasilkan glukosa sebagai sumber nutrisi bagi bakteri *Saccharomyces cerevisiae* yang lebih banyak, yang kemudian difermentasi sehingga menghasilkan kadar etanol yang tinggi. Hal ini sejalan dengan pernyataan Laily *et al.* (2019) peningkatan kadar alkohol sering kali disertai dengan perubahan pH. Kadar alkohol yang tinggi dapat menyebabkan pH produk menjadi lebih tinggi, yang berkontribusi pada penurunan total asam. Sebagai contoh, wine dengan kadar alkohol yang lebih tinggi biasanya memiliki pH yang lebih tinggi, yang menunjukkan bahwa total asamnya lebih rendah (Laily *et al.*, 2019).

Lama inkubasi sakarifikasi juga berpengaruh terhadap total asam pada bioetanol. Semakin lama inkubasi sakarifikasi maka angka asam semakin rendah. Hal ini karena waktu inkubasi sakarifikasi yang lama memberikan waktu bagi enzim glukoamilase memecah polisakarida, sehingga glukosa meningkat seiring dengan berjalannya proses sakarifikasi yang dapat meningkatkan kadar etanol yang dihasilkan setelah proses fermentasi. Menurut Trissanthi & Susanto (2016), semakin lama waktu pemanasan, proses hidrolisis dapat meningkat, yang berpotensi meningkatkan kadar gula reduksi dan gula total. Namun, dalam beberapa kasus, total asam dapat menurun akibat kerusakan senyawa selama pemanasan yang berkepanjangan (Trissanthi & Susanto, 2016)

12
Menurut Maryana & Silsia (2020), adanya asam tersebut karena pada proses fermentasi, selain menghasilkan bioetanol juga dihasilkan asam-asam

organik sebagai produk samping seperti asam malat, asam tartarat, asam sitrat, asam laktat, asam asetat, asam butirat dan asam propionate (Maryana & Silsia, 2020). Total asam yang dihasilkan dalam proses fermentasi bioetanol biasanya terkait dengan aktivitas mikroorganisme lain seperti *Acetobacter aceti* yang mengubah alkohol menjadi asam asetat. Dalam penelitian ini dilakukan 2 hingga 3 kali pengulangan destilasi pada sampel dengan tujuan menghasilkan bioetanol dengan kadar air yang sedikit. Namun selain menurunkan kadar air, destilasi yang dilakukan juga menurunkan total asam pada bioetanol seperti yang dinyatakan oleh Utama *et al.* (2013) yaitu destilasi akan memisahkan etanol dengan komponen-komponen yang lain sehingga komponen yang bersifat asam akan hilang (Utama & Al-Baarri, 2013).

Angka total asam (Total Acid Number, TAN) pada bahan bakar dapat memiliki pengaruh signifikan pada sifat dan kinerja bahan bakar tersebut. Menurut Kristanto dan Tirtoatmodjo (2000), Angka total asam yang tinggi dapat menyebabkan korosi pada komponen logam yang digunakan dalam sistem bahan bakar, seperti pompa, katup, dan pipa. Hal ini dapat mengurangi kinerja sistem dan memperpendek umur peralatan (Kristanto & Tirtoatmodjo, 2000). Asam yang terkandung dalam bahan bakar dapat mempercepat proses oksidasi, yang dapat mengurangi stabilitas bahan bakar dan meningkatkan risiko kebocoran atau kegagalan sistem bahan bakar (Nur & Permani, 2015). Standar total asam pada bioetanol yang ditetapkan pada SNI 7390:2012 yaitu 0,005%. Sementara itu, pada SNI EN 1276:2019, informasi mengenai total

tidak dicantumkan secara spesifik, serta pada produk berupa *hand sanitizer* maupun disinfektan tidak mencantumkan kadar total asam pada kemasan maupun pada *safety data sheet* (SDS) produk.

F. Nilai pH bioetanol setelah destilasi ke-2

50
20
Nilai pH adalah ukuran yang menunjukkan konsentrasi ion hidrogen (H^+) dalam suatu larutan, yang menentukan tingkat keasaman atau kebasaan larutan tersebut. Skala pH berkisar dari 0 hingga 14, dengan pH 7 dianggap netral. Nilai pH di bawah 7 menunjukkan bahwa larutan tersebut asam, sedangkan nilai pH di atas 7 menunjukkan bahwa larutan tersebut basa. Standar kualitas mutu bioetanol memiliki pH 6,5-9,0. Berikut tabel hasil data primer analisis nilai pH yang didapatkan pada penelitian ini:

Tabel 20. Data primer nilai pH

sampel	Blok		Jumlah	Rata - Rata
	I	II		
G1 (1,5%)				
S1 (30 menit)	6,52	6,47	12,99	6,495
S2 (45 menit)	6,56	6,54	13,10	6,550
S3 (60 menit)	6,60	6,59	13,19	6,595
G2 (2%)				
S1 (30 menit)	6,59	6,60	13,19	6,595
S2 (45 menit)	6,68	6,72	13,40	6,700
S3 (60 menit)	6,76	6,78	13,54	6,770
G3 (2,5%)				
S1 (30 menit)	6,77	6,76	13,53	6,765
S2 (45 menit)	6,90	6,87	13,77	6,885
S3 (60 menit)	7,12	7,16	14,28	7,140

Selanjutnya dilakukan uji ANAKA untuk mengetahui pengaruh konsentrasi glukamilase dan lama inkubasi sakarifikasi pada nilai pH bioetanol. Hasil uji ANAKA dapat dilihat pada Tabel 21.

Tabel 21. Hasil ANAKA nilai pH

Sumber Keragaman	db	JK	RK	F. Hitung	F. Tabel	
					5%	1%
G	2	0,1417	0,0709	147,4682**	4,46	8,65
S	2	0,4508	0,2254	469,0751**	4,46	8,65
G x S	4	0,0460	0,0115	23,9480**	3,84	7,01
Blok	1	0,0001	0,0001			
Eror	8	0,0038	0,0005			
Total	17	0,6424	0,0378			

Keterangan :

** = berbeda sangat nyata

Dari Tabel 21. diketahui bahwa penambahan glukamilase dan lama inkubasi sakarifikasi berpengaruh sangat nyata terhadap nilai pH dan ada interaksi antara konsentrasi glukamilase dan lama inkubasi terhadap nilai pH bioetanol. Selanjutnya dilakukan uji jarak berganda *duncan* untuk mengetahui perbedaan antara perlakuan. Adapun hasil uji jarak berganda *duncan* nilai pH dapat dilihat pada Tabel 22.

Tabel 22. Rerata analisis hasil nilai pH

Perlakuan	G1 (1,5%)	G2 (2,0%)	G3 (2,5%)	Rerata S
S1 (30 m)	6,495±0,035 ^a	6,595±0,007 ^b	6,765±0,007 ^d	6,618±0,008 ^x
S2 (45 m)	6,550±0,014 ^b	6,700±0,028 ^c	6,885±0,021 ^e	6,711±0,008 ^y
S3 (60 m)	6,595±0,007 ^b	6,770±0,014 ^d	7,140±0,028 ^f	6,835±0,008 ^z
Rerata G	6,546±0,008 ^m	6,688±0,008 ⁿ	6,930±0,008 ^o	

Keterangan : Rerata yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan berdasarkan uji jarak berganda *duncan* pada jenjang nyata 5%

Bedasarkan tabel rerata analisis hasil nilai pH tersebut dapat dilihat jika semakin tinggi konsentrasi enzim glukoamilase yang digunakan maka nilai pH bioetanol semakin tinggi. Ini terjadi karena aktivitas enzimatik yang lebih tinggi mengubah komposisi kimia dalam medium fermentasi, mendorong pH ke arah yang lebih tinggi. Hal ini juga dapat dilihat pada hasil analisis total asam pada bioetanol dimana semakin rendah total asam maka konsentrasi enzim glukoamilase yang digunakan makin tinggi. Selain itu, hasil penelitian Mulyadi *et al.* (2017) menunjukkan bahwa pH yang paling baik untuk fermentasi bioetanol adalah sekitar 4,5. Pada pH ini, konsentrasi glukosa dan kinerja khamir *Saccharomyces cerevisiae* sangat optimum, sehingga menghasilkan kadar etanol yang tinggi. semakin tinggi kadar ethanol yang dihasilkan, pH juga cenderung meningkat. Hal ini menunjukkan bahwa kadar etanol yang tinggi dalam larutan fermentasi dapat menggeser pH ke arah yang lebih basa, menunjukkan adanya hubungan positif antara kadar alkohol dan pH dalam proses ini. Gugus hidroksil etanol membuat molekul ini sedikit basa. Ia hampir netral dalam air, dengan pH 100% etanol adalah 7,33, berbanding dengan pH air murni yang sebesar 7,00.

Selain pengaruh enzim glukoamilase, semakin lama waktu inkubasi sakarifikasi maka semakin tinggi nilai pH pada bioetanol yang dihasilkan. Hal ini karena waktu sakarifikasi yang lama dapat memaksimalkan kerja enzim sehingga maltosa yang dihasilkan setelah hidrolisis dapat konversi lebih maksimal sehingga menghasilkan glukosa yang tinggi. Glukosa yang konversi kemudian difermentasi yang menghasilkan etanol yang kemudian

didestilasi sehingga menghasilkan produk bioetanol. Pada destilasi dilakukan pengulangan yang membuat asam yang ada pada bioetanol semakin menurun. Hal ini sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan Trissanthi & Susanto (2016) yang menunjukkan bahwa semakin lama waktu pemanasan dapat meningkatkan proses hidrolisis, yang pada gilirannya meningkatkan gula reduksi. Namun, total fenol dalam sirup alang-alang cenderung menurun dengan semakin lamanya pemanasan karena kerusakan senyawa fenol yang tidak stabil dalam panas (Trissanthi & Susanto, 2016)

Proses destilasi merupakan proses penting dalam menghasilkan mutu bioetanol yang baik. Destilasi akan memisahkan etanol dengan komponen-komponen yang lain sehingga komponen yang bersifat asam akan hilang. Hal ini sesuai dengan pendapat Richana (2015) bahwa standar mutu kualitas bioetanol sebagai bahan bakar salah satunya adalah memiliki pH 6,5 (Richana, 2015). Menurut McCabe *et al.* (1994) destilasi adalah metode pemisahan berdasarkan perbedaan titik didih. Destilasi akan memisahkan komponen-komponen yang mudah menguap pada suatu campuran cair dengan cara menguapkannya (separating agentnya panas), yang diikuti dengan kondensasi uap yang terbentuk dan menampung kondensat yang dihasilkan (McCabe *et al.*, 1994). Standar pH pada bioetanol sebagai bahan bakar yang ditetapkan pada SNI DT 27-0001-2006 yaitu 6,5-9,0 sehingga perlakuan G1S2, G1S3, G2S1, G2S2, G3S3, G3S1, G3S2 dan G3S3 telah memenuhi standar.

Tabel 23. Hasil analisis total sesuai standar

Perlakuan	Densitas	Gula total	Total asam	kadar alkohol	Kadar air	PH
G1S1	0,8836	4,15	0,0337	45,5%	54,5%	6,49
G2S1	0,8453	5,05	0,0262	58,0%	42%	6,59
G3S1	0,8237	5,30	0,0150	64,0%	36%	6,76
G1S2	0,8767	4,30	0,0300	49,5%	50,5%	6,55
G2S2	0,8394	5,30	0,0187	61,5%	38,5%	6,7
G3S2	0,8177	5,95	0,0075	70,5%	29,5%	6,8
G1S3	0,8564	4,60	0,0225	55,5%	44,5%	6,59
G2S3	0,8221	5,90	0,015	67,0%	33%	6,77
G3S3	0,8086	6,95	0,0075	78,5%	21,5%	7,14
SNI 7390:2012	-	-	0,005%	99,5 %	0,5%	6,5-9,0
SNI EN 1276:2019	0,875	-	-	70 %	30%	7,0-8,0

Keterangan : Angka yang dicetak tebal merupakan angka yang sesuai dengan standar, sedangkan angka yang tidak merupakan angka yang tidak memenuhi standar

Konsentrasi penambahan glucoamilase dan lama waktu inkubasi sakarifikasi dalam produksi bioetanol umbi iles – iles yang sesuai dengan SNI 7390:2012 dan SNI EN 1276:2019,: Pada analisis densitas, konsentrasi penambahan glucoamilase dan lama waktu inkubasi sakarifikasi dalam produksi bioetanol umbi iles – iles, pada perlakuan G1S3, G2S1, G2S2, G3S3, G3S1, G3S2 dan G3S3 telah memenuhi standar pada SNI EN 1276:2019. Pada analisis gula total, konsentrasi penambahan glucoamilase dan lama waktu inkubasi sakarifikasi dalam produksi bioetanol umbi iles – iles hanya diukur agar dapat mengetahui kadar glukosa yang didapatkan setelah sakarifikasi. Pada analisis total asam,

konsentrasi penambahan glukamilase dan lama waktu inkubasi sakarifikasi dalam produksi bioetanol umbi iles – iles belum memenuhi standar pada SNI 7390:2012. Pada analisis kadar alkohol, konsentrasi penambahan glukamilase dan lama waktu inkubasi sakarifikasi dalam produksi bioetanol umbi iles – iles, perlakuan G3S2 dan G3S3 telah memenuhi standar SNI EN 1276:2019. Pada analisis kadar air, konsentrasi penambahan glukamilase dan lama waktu inkubasi sakarifikasi dalam produksi bioetanol umbi iles – iles, perlakuan G3S2 dan G3S3 telah memenuhi standar SNI EN 1276:2019. Pada analisis nilai pH, konsentrasi penambahan glukamilase dan lama waktu inkubasi sakarifikasi dalam produksi bioetanol umbi iles – iles, perlakuan G2S1, G3S1, G1S2, G2S2, G3S2, G1S3, G2S3 dan G3S3 sudah sesuai dengan standar pada SNI DT 27-0001-2006.

SNI 7390:2012 adalah standar nasional Indonesia yang mengatur tentang "Bioetanol untuk Bahan Bakar Kendaraan Bermotor". Standar ini menetapkan persyaratan dan metode uji untuk bioetanol yang digunakan sebagai bahan bakar kendaraan bermotor tanpa denaturasi. SNI EN 1276:2019 adalah standar yang mengatur tentang "Metode Uji Aktivitas Bakterisida dari Produk Desinfektan dan Antiseptik." Standar ini khususnya digunakan untuk mengevaluasi efektivitas produk antiseptik dan desinfektan terhadap bakteri.

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

Dari data hasil dan pembahasan yang didapatkan dalam penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa :

1. Konsentrasi enzim glukoamilase berpengaruh nyata terhadap densitas, kadar gula total, kadar air, kadar alkohol, total asam dan nilai pH.
2. Lama inkubasi sakarifikasi berpengaruh nyata terhadap densitas, kadar gula total, kadar air, kadar alkohol, total asam dan nilai pH.
3. Konsentrasi enzim glukoamilase dan lama waktu inkubasi sakarifikasi yang menghasilkan kadar alkohol sesuai dengan SNI EN 1279:2019 yaitu dengan konsentrasi enzim glukoamilase 2,5% dan lama inkubasi 60 menit dengan hasil analisa sebagai berikut : kadar alkohol 78,5%, densitas 0,8086 gr/ml, total asam 0,0075 %volume, kadar air 21,5% dan nilai pH 7,14.

B. SARAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disarankan untuk selanjutnya menggunakan konsentrasi enzim glukoamilase yang lebih optimal dan lama inkubasi sakarifikasi yang lebih singkat. Selain itu, penulis juga menyarankan dapat melakukan dehidrasi pada bioetanol sehingga dapat menghasilkan bioetanol *fuel grade*.