


instiper 5

jurnal_22202

 21 sep 2024

 Cek Plagiat

 INSTIPER

Document Details

Submission ID

trn:oid::1:3015356014

Submission Date

Sep 21, 2024, 10:41 AM GMT+7

Download Date

Sep 21, 2024, 10:43 AM GMT+7

File Name

Jurnal_Penelitian_Muh_Fikry_Saban.docx

File Size

1.2 MB

18 Pages

6,129 Words

38,498 Characters




20% Overall Similarity

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

Filtered from the Report


- ▶ Bibliography
- ▶ Quoted Text

Top Sources

- 18%  Internet sources
- 8%  Publications
- 3%  Submitted works (Student Papers)

Integrity Flags

1 Integrity Flag for Review

-  **Replaced Characters**
44 suspect characters on 5 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

- 18% Internet sources
- 8% Publications
- 3% 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		
		es.scribd.com	3%
2	Student papers		
		Universitas Airlangga	1%
3	Internet		
		www.ejournal.upnjatim.ac.id	1%
4	Internet		
		etd.unsyiah.ac.id	1%
5	Internet		
		infokimiawan13o1b-04.blogspot.com	1%
6	Internet		
		pt.scribd.com	1%
7	Internet		
		seminaragro.mercubuana-yogya.ac.id	1%
8	Internet		
		docplayer.info	1%
9	Internet		
		docobook.com	1%
10	Internet		
		www.adywater.com	1%
11	Internet		
		fr.scribd.com	0%

12	Internet	123dok.com	0%
13	Internet	repository.unand.ac.id	0%
14	Internet	www.neliti.com	0%
15	Internet	eprints.undip.ac.id	0%
16	Internet	media.neliti.com	0%
17	Internet	ojs.uph.edu	0%
18	Student papers	Sriwijaya University	0%
19	Internet	jurnal.instiperjogja.ac.id	0%
20	Internet	repository.uir.ac.id	0%
21	Publication	Betari Claudia Mondong, Rieny Sulistijowati. "Formulasi Dan Karakteristik Cookie..."	0%
22	Internet	apelboy.blogspot.com	0%
23	Internet	ejournal.kemenperin.go.id	0%
24	Internet	repository.ub.ac.id	0%
25	Publication	Ifmalinda Ifmalinda, Weni Harjuniati, Andasuryani Andasuryani. "Kajian Suhu Pe..."	0%

26	Internet	core.ac.uk	0%
27	Internet	ojs.unm.ac.id	0%
28	Internet	repositori.usu.ac.id	0%
29	Internet	sid.ir	0%
30	Internet	vioni13.blogspot.com	0%
31	Internet	dspace.uii.ac.id	0%
32	Internet	jtam.ulm.ac.id	0%
33	Internet	repository.trisakti.ac.id	0%
34	Internet	www.slideshare.net	0%
35	Internet	amartakarya.co.id	0%
36	Internet	digilib.uinsgd.ac.id	0%
37	Internet	eprints.instiperjogja.ac.id	0%
38	Internet	journal.unesa.ac.id	0%
39	Internet	www.pusatilmupengetahuan.com	0%

40	Internet	yuhilda77erfarinagmail.wordpress.com	0%
41	Publication	Ainezzahira Ainezzahira, Hafiza Dwi Multri, Warsono El Kiyat, Nursyawal Nacing. "...	0%
42	Internet	ataseulanga.blogspot.com	0%
43	Internet	qdoc.tips	0%
44	Internet	repository.usd.ac.id	0%
45	Internet	www.scribd.com	0%
46	Publication	Refid Ruhibnur, Nur Aida, Anto Susanto, Tardi Kurniawan, Rosmalinda Rosmalind...	0%
47	Publication	Vita Taufika Rosyida, Septi Nur Hayati, Anastasia Wheni Indrianingsih, Roni Mary...	0%
48	Internet	adoc.pub	0%
49	Internet	ayupermatasari.wordpress.com	0%
50	Internet	dewey.petra.ac.id	0%
51	Internet	edoc.pub	0%
52	Internet	eprints.uny.ac.id	0%
53	Internet	garuda.kemdikbud.go.id	0%

54	Internet	ojs.unud.ac.id	0%
55	Internet	repository.uin-suska.ac.id	0%
56	Internet	4uliedz.wordpress.com	0%
57	Publication	Indah Purwaningsih. "Potensi Enzim Bromelin Sari Buah Nanas (ananas comosus ...	0%
58	Internet	hntp-unpas.blogspot.com	0%
59	Internet	journal.ubaya.ac.id	0%

PENGARUH KONSENTRASI ENZIM GLUKOAMILASE DAN LAMA INKUBASI SAKARIFIKASI TERHADAP KUALITAS BIOETANOL DARI TEPUNG UMBI ILES-ILES (*Amorphophallus muelleri B*)

M. Fikry Sa'ban¹, Ngatirah SP., M.P IPM¹, M. Prasanto Bimantio, S. T. M. Eng¹

¹Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Stiper Yogyakarta

Email :¹⁾

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang pengaruh konsentrasi enzim glukoamilase dan lama inkubasi sakarifikasi terhadap kualitas bioetanol dari tepung umbi iles-iles (*amorphophallus muelleri B*). Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk menentukan pengaruh konsentrasi enzim glukoamilase terhadap kualitas bioetanol yang dihasilkan dari iles-iles, menentukan pengaruh lama inkubasi sakarifikasi terhadap kualitas bioetanol yang dihasilkan dan menentukan konsentrasi enzim glukoamilase dan lama inkubasi yang menghasilkan produk bioetanol yang sesuai dengan SNI. Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan blok lengkap RBL 2 faktor yaitu faktor pertama variasi konsentrasi enzim glukoamilase dengan 3 taraf yaitu 1,5 %, 2%, dan 2,5% dan faktor kedua lama waktu inkubasi sakarifikasi dengan 3 taraf yaitu 30 menit, 45 menit dan 60 menit. Analisis yang dilakukan yaitu analisis densitas, gula total, total asam, kadar alkohol, kadar air dan nilai pH. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa variasi konsentrasi enzim glukoamilase dan lama waktu inkubasi sakarifikasi berpengaruh nyata terhadap densitas, gula total, total asam, kadar alkohol, kadar air dan nilai pH. Bioetanol yang sesuai dengan SNI EN 1279:2019 dihasilkan pada penambahan enzim glukoamilase 2,5% (G3) dan lama waktu inkubasi sakarifikasi 60 menit (S3) dengan sifat-sifat seperti densitas 0,8086 gr/ml, total asam 0,0075 % volume, kadar alkohol 78,5%, kadar air 21,5% dan nilai PH 7,14.

Kata kunci : bioetanol, enzim, faktor, iles-iles, sakarifikasi

ABSTRACT

Research has been conducted on the effect of glucoamylase enzyme concentration and saccharification incubation time on the quality of bioethanol from iles-iles tuber flour (*amorphophallus muelleri B*). The purpose of this study is to determine the effect of glucoamylase enzyme concentration on the quality of bioethanol produced from iles, determine the effect of saccharification incubation time on the quality of bioethanol produced and determine the concentration of glucoamylase enzyme and the incubation period that produces bioethanol products that are in accordance with SNI. The research design used was a complete block design of 2-factor RBL, namely the first factor of variation in the concentration of glucoamylase enzyme with 3 levels, namely 1.5%, 2%, and 2.5% and the second factor of the length of saccharification incubation time with 3 levels, namely 30 minutes, 45 minutes, and 60 minutes. The analysis carried out was an analysis of density, total sugar, total acid, alcohol content, moisture content and pH value. The results of this study showed that the variation in the concentration of glucoamylase enzyme and the length of incubation time of saccharification had a real effect on density, total sugar, total acid, alcohol content, moisture content and pH value. Bioethanol in accordance with SNI EN 1279:2019 is produced with the addition of glucoamylase enzyme 2.5% (G3) and a saccharification incubation time of 60 minutes (S3) with properties such as density 0.8086 gr/ml, total acid 0.0075 % volume, alcohol content 78.5%, moisture content 21.5% and PH value 7.14.

Keywords: bioethanol, enzymes, factors, iles-iles, saccharification

PENDAHULUAN

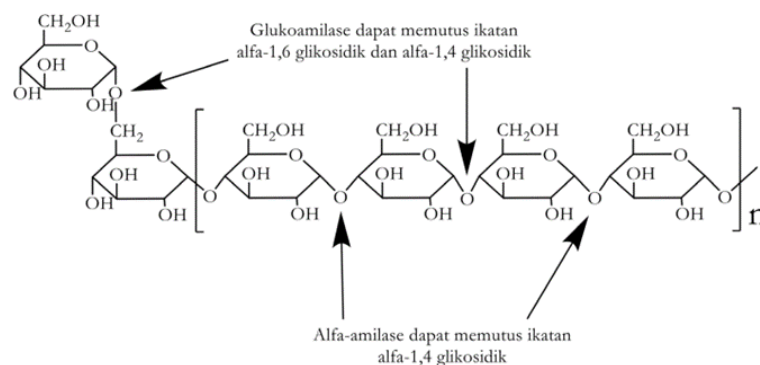
Iles-iles (*Amorphophallus muelleri B*) merupakan salah satu sumber daya alam yang berpotensi sebagai bahan baku untuk produksi bioetanol. Umbi tersebut kaya akan pati sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Saputra *et al.* (2023) yang menyatakan bahwa kadar pati dalam tepung iles-iles

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).

Proses pembuatan bioetanol dari bahan baku pati, seperti iles-iles, dimulai dengan persiapan bahan baku. Tepung umbi iles - iles dicampur dengan air lalu dipanaskan untuk membentuk proses gelatinisasi, lalu ditambahkan enzim alfa-amilase untuk mengubah pati menjadi maltosa dan dekstrin dalam proses yang disebut likuifikasi. Selanjutnya, enzim glukoamilase ditambahkan untuk menghidrolisis dekstrin menjadi glukosa, yang disebut proses sakarifikasi. Campuran glukosa kemudian menjalani proses fermentasi dengan penambahan ragi (*saccharomyces cerevisiae*). Ragi akan mengonsumsi glukosa dan menghasilkan etanol serta karbon dioksida sebagai produk sampingan. Fermentasi berlangsung pada suhu sekitar 30-35°C dan pH sekitar 4-5 selama beberapa hari. Setelah fermentasi selesai, campuran hasil fermentasi dipanaskan dalam kolom distilasi untuk memisahkan etanol dari air dan komponen lainnya. Untuk menghasilkan etanol dengan kemurnian lebih tinggi, dilakukan distilasi fraksional yang memisahkan etanol berdasarkan titik didihnya.

Konsentrasi enzim glukoamilase berpengaruh signifikan terhadap jumlah bioetanol yang dihasilkan karena enzim ini memainkan peran penting dalam proses sakarifikasi, yaitu konversi pati menjadi glukosa. Selain penggunaan enzim, lama inkubasi sakarifikasi juga memainkan peran penting dalam proses konversi pati menjadi gula total. Oleh karena itu dilakukan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh konsentrasi enzim glukoamilase dan lama inkubasi sakarifikasi terhadap kualitas bioetanol dari tepung umbi iles-iles.

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 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).



Gambar 1. Mekanisme Kerja Enzim Amilase Dan Glukoamilase

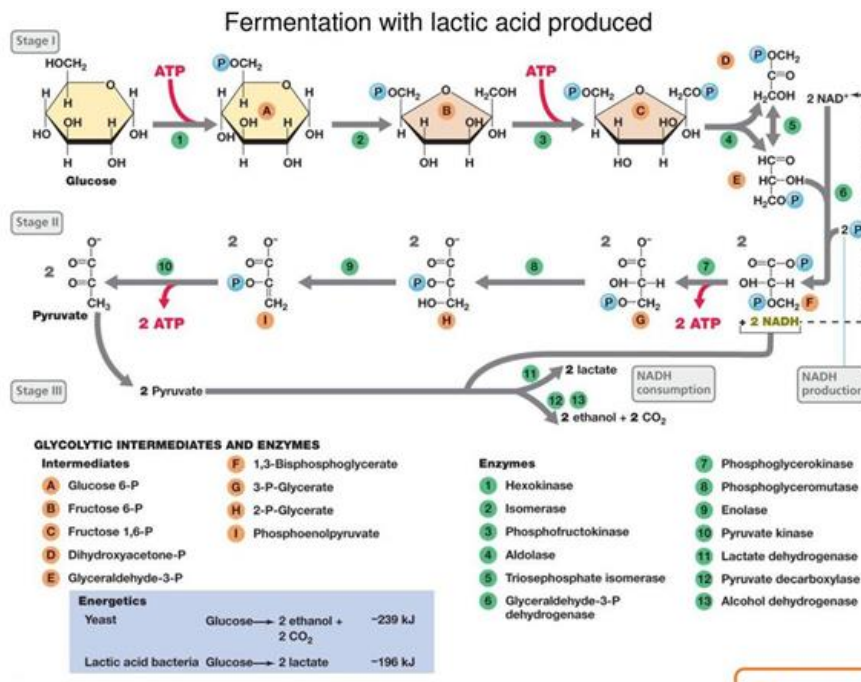
Sumber : (Ibrahim *et al.*, 2020)

Proses di atas menggambarkan dua tahap penting dalam penguraian pati menjadi glukosa. Pemecahan molekul amilum menjadi bagian-bagian yang lebih sederhana seperti dekstrin, isomaltosa, maltosa, dan glukosa dikenal sebagai hidrolisis pati. Enzim α -amilase dan enzim glukoamilase, juga dikenal sebagai amiloglukosidase, membantu proses hidrolisis enzim. Suhu dan pH lingkungan enzim sangat memengaruhi aktivitasnya. Biasanya, setiap enzim memiliki kisaran suhu dan pH idealnya (Sutrisno, 2015). 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 (H₂O), menghasilkan maltosa (C₁₂H₂₂O₁₁). 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).

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 (H₂O), menghasilkan dua molekul glukosa (C₆H₁₂O₆) (Yunianta *et al.*, 2010).

Fermentasi bioetanol merupakan proses biokimia yang mengubah bahan organik menjadi bioetanol melalui aktivitas mikroorganisme, terutama ragi (*Saccharomyces cerevisiae*). Pada kondisi anaerob, ragi memetabolisme glukosa menjadi etanol dan karbon dioksida melalui jalur glikolisis dan fermentasi alkohol. Ragi *Saccharomyces cerevisiae* adalah mikroorganisme utama yang digunakan untuk fermentasi bioetanol, karena mampu mengubah glukosa menjadi etanol dan karbon dioksida dengan sangat baik (Utama & Al-Baari, 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).



Gambar 2. Fermentasi Alkohol

Sumber : (Madigan *et al.*, 2012)

Pada **Gambar 2.** Dapat dilihat Proses fermentasi dimulai dengan glikolisis, di mana glukosa dipecah menjadi dua molekul piruvat. Tahap awal ini melibatkan beberapa langkah, termasuk fosforilasi glukosa menjadi glukosa-6-fosfat oleh enzim heksokinase. Setelah beberapa langkah isomerisasi dan fosforilasi lainnya, fruktosa-1,6-bifosfat terpecah menjadi dua triose fosfat (gliseraldehida-3-fosfat dan dihidroksiaseton fosfat). Kedua molekul triose ini kemudian dikonversi menjadi piruvat melalui beberapa reaksi enzimatik, menghasilkan 2 ATP dan 2 NADH per molekul

glukosa. Setelah glikolisis, piruvat mengalami dekarboksilasi menjadi asetaldehida, lalu direduksi menjadi etanol, menghasilkan 2 etanol dan 2 CO₂ (Madigan *et al.*, 2012).

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).

Dalam penelitian Kusmiyati *et al.* (2014), yang menggunakan umbi iles-iles sebagai bahan baku untuk membuat bioetanol sebagai bahan bakar alternatif di pedesaan menghasilkan konsentrasi enzim glucoamylase yang ideal berdasarkan kadar glukosa yang dihasilkan 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, semakin banyak bioetanol yang dihasilkan, karena semakin banyak glukosa yang dikonversi menjadi bioetanol. Waktu fermentasi juga berpengaruh, studi ini menemukan bahwa waktu fermentasi dengan kadar alkohol tertinggi yang dihasilkan adalah 72 jam, karena waktu terbaik untuk *Saccharomyces cerevisiae* mengubah glukosa menjadi bioetanol adalah 72 jam (Khaira *et al.*, 2015).

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.

METODE PENELITIAN

Bahan

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

Peralatan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah berupa keranjang, pisau, timbangan analitik, 1 set distillatory (rotary vacuum 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.

Rancangan Percobaan

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan blok lengkap (RBL) 2 faktor yaitu faktor pertama variasi konsentrasi enzim glucoamilase dengan 3 taraf yaitu G1 = 1,5 %, G2 = 2%, dan

G3 = 2,5% dan faktor kedua lama waktu inkubasi sakarifikasi dengan 3 taraf yaitu S1 = 30 menit, S2 = 45 menit dan S3 = 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.

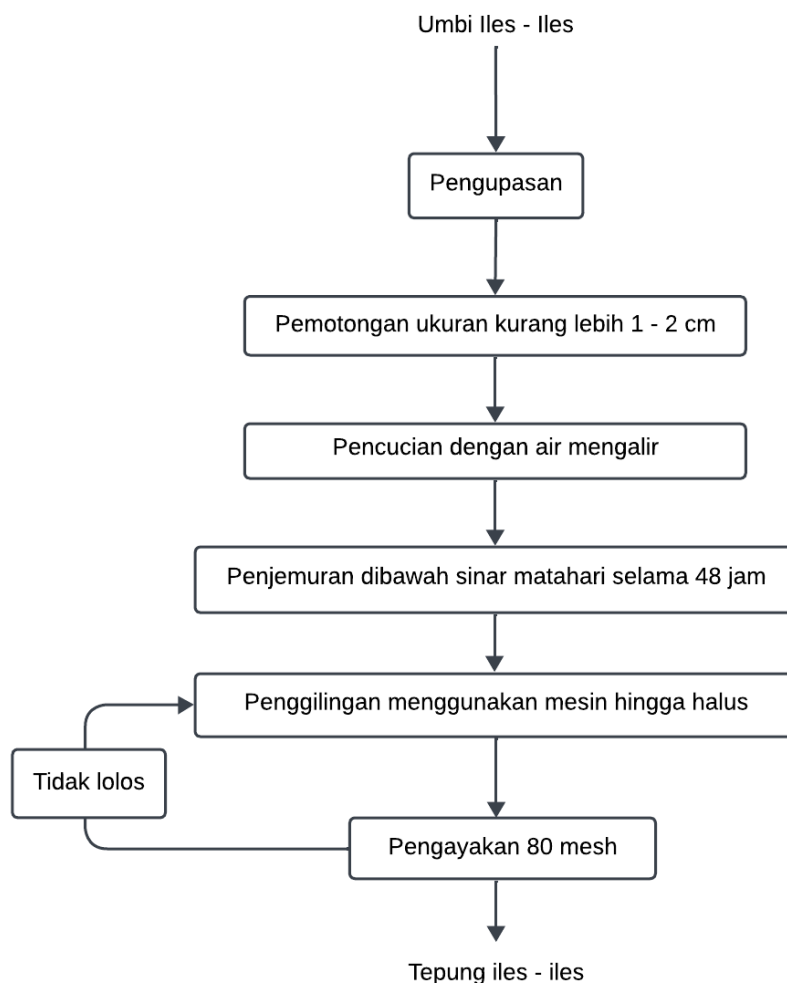
Data yang diamati yaitu ada analisis fisik dan analisis kimia dimana untuk analisis fisik diamati yaitu densitas (Sulaiman *et al.*, 2021) dan untuk analisis kimia diamati kadar air (Sulaiman *et al.*, 2021), kadar alkohol (Satria, 2013), total asam (Satria, 2013), PH (Satria, 2013) dan kadar gula total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

Cara Kerja

Penelitian ini dilakukan dengan 2 tahap yaitu pembuatan tepung iles iles dan pembuatan bioetanol.

Tahap 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. Berikut diagram alir pembuatan tepung iles iles dari umbi iles iles :



Tahap Pembuatan Bioetanol

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

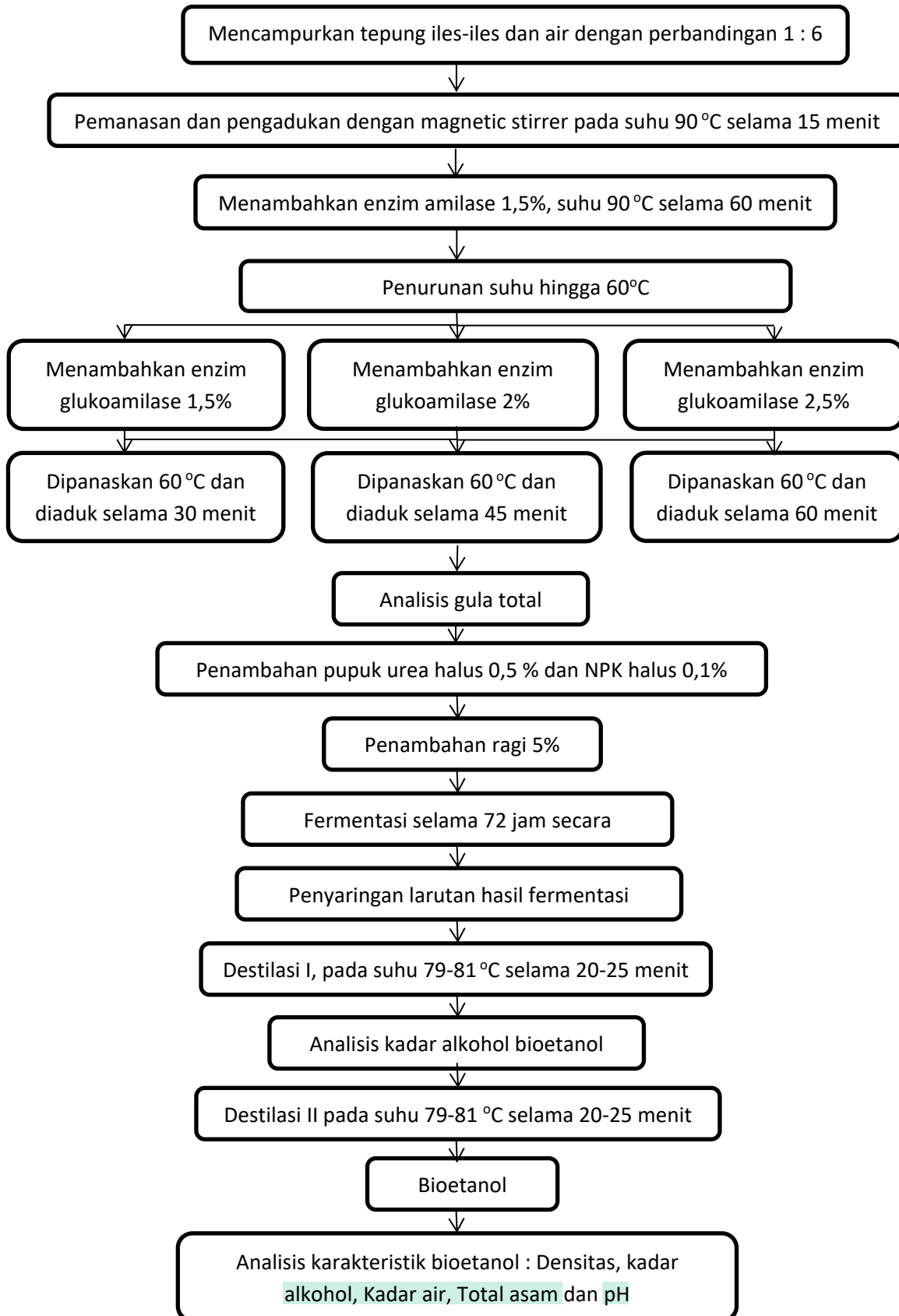
Siapkan bahan yang mengandung tepung iles - iles sebanyak 100 gram. Tambahkan air dengan perbandingan 1:6 (100 gram tepung + 600 ml air), aduk dan panaskan pada suhu 80-90°C (proses gelatinisasi) selama 15-30 menit sampai terbentuk gel (mengental). Tambahkan enzim alfa amilase sebanyak 1,5% dari berat 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. Setelah dihaluskan, garam urea dan NPK ditambahkan ke dalam larutan fermentasi dan diaduk secara merata. Dengan menambahkan asam asetat, pH disesuaikan menjadi 4,5-5. 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 3**. Fermentasi dilakukan selama 3 hari (72 jam) pada suhu kamar dengan ditutup rapat (anaerob). Setelah unit perlakuan pertama selesai, dilanjut 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. Selama suhu ini, etanol akan menguap dan melewati kondensor, mengubahnya dari uap menjadi 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, dilanjut dengan blok II dengan unit perlakuan sesuai dengan TLUE.



Gambar 3. Rangkaian Botol Fermentasi Larutan Pembuatan Bioetanol

Sumber : foto pribadi

Untuk memperjelas prosedur penelitian, digambarkan diagram alir sebagai berikut :



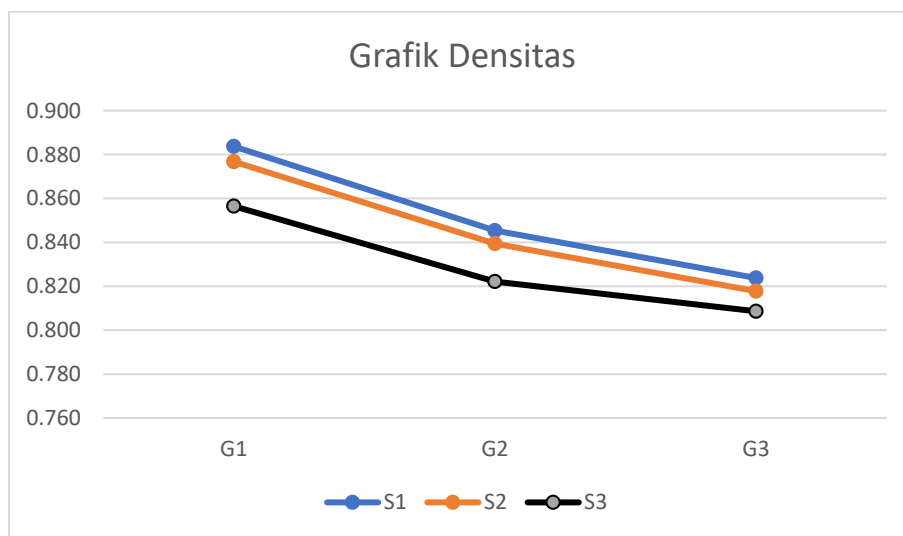
HASIL DAN PEMBAHASAN

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.

Analisis Fisik Bioetanol

1. Analisis densitas setelah destilasi kedua

Masa jenis adalah jumlah zat yang terkandung pada suatu volume. Ini juga disebut sebagai densitas atau kerapatan. Densitas bioetanol adalah 0,7871-0,7896 gram per mililiter, menurut persyaratan mutu yang ditetapkan oleh Badan Standar Nasional. Berikut adalah grafik densitas yang menunjukkan perbedaan nilai densitas bioetanol pada sampel uji yang berbeda.



Gambar 4. Grafik Densitas Bioetanol

Dari Gambar 4. diketahui bahwa penambahan glukoamilase dan lama inkubasi sakarifikasi berpengaruh terhadap densitas bioetanol dan ada interaksi antara konsentrasi glukoamilase dan lama inkubasi terhadap densitas bioetanol. Uji jarak berganda duncan kemudian dilakukan untuk mengukur perbedaan antara perlakuan. Hasil uji jarak berganda duncan densitas disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. 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 ^a	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 oleh huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan pada jenjang nyata 5% berdasarkan uji jarak berganda duncan.

Berdasarkan Tabel 1. 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

31 produksi etanol selama fermentasi. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Visca *et al.* (2020). menyatakan bahwa nilai densitas berkorelasi negatif dengan konsentrasi enzim glukamilase (Visca *et al.*, 2020). Selain itu, dalam penelitian yang dilakukan Tira *et al.* (2014), menyatakan bahwa jumlah bioetanol yang dihasilkan memengaruhi densitas, sedangkan proses destilasi berulang memengaruhi jumlah bioetanol yang dihasilkan. (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.

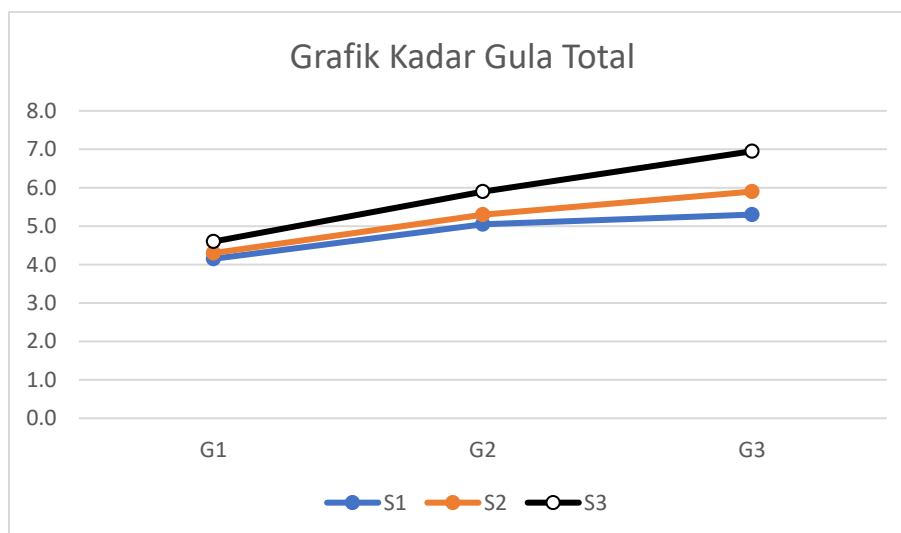
50 5 Densitas bioetanol juga dipengaruhi oleh waktu sakarifikasi, makin lama waktu inkubasi sakarifikasi maka densitas pada bioetanol yang dihasilkan semakin rendah. Waktu sakarifikasi yang lama mempengaruhi pemecahan pati yang kemudian diubah menjadi glukosa dapat dapat diubah menjadi etanol melalui 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).

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 glukamilase 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.

Analisis Kimia Bioetanol

1. Analisis Gula Total Larutan Setelah 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 (°Brix) digunakan untuk mengukur konsentrasi gula dalam larutan berair, di mana satu derajat brix setara dengan satu gram sukrosa dalam 100 gram larutan. Berikut adalah grafik kadar gula total yang menunjukkan hasil pengukuran pada berbagai sampel selama proses percobaan.



Gambar 5. Grafik Kadar Gula Total

1 2 Dari Gambar 5. 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. Uji jarak berganda duncan kemudian dilakukan untuk

mengukur perbedaan antara perlakuan. Hasil uji jarak berganda duncan kadar gula total disajikan dalam **Tabel 2**.

Tabel 2. Rerata Analisis Hasil Gula Total ($^{\circ}$ Brix)

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

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

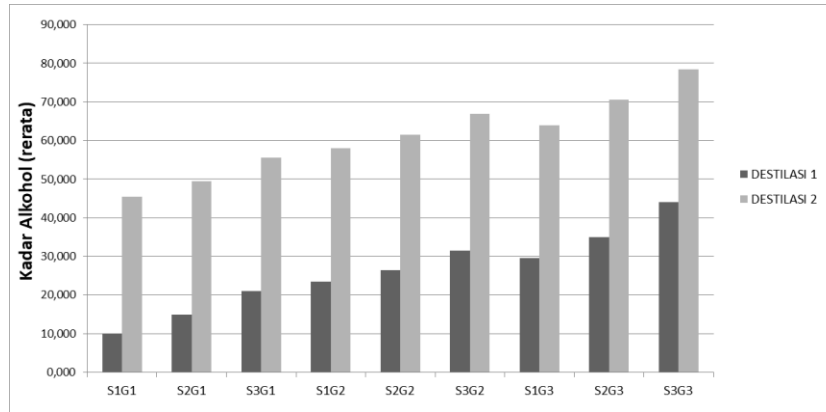
Bedasarkan **Tabel 2**. tersebut dapat dilihat jika semakin tinggi konsentrasi enzim glucoamilase yang digunakan maka gula total dari larutan sebelum fermentasi semakin tinggi. konsentrasi enzim glucoamilase yang tinggi dalam proses sakarifikasi meningkatkan efisiensi konversi oligosakarida dan maltosa 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 karena selama proses likuifikasi, Setelah enzim glucoamilase memecah pati yang belum sempurna, enzim alfa-amilase hanya menghasilkan dekstrin dengan rantai panjang (Schoonees, 2004). Karena kemampuan glucoamilase untuk menghidrolisa ikatan 1,4-glukosida dan 1,6-glukosida, jumlah glukosa yang diproduksi meningkat (Sukaryo *et al.*, 2013).

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 glucoamilase 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 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).

Peningkatan volume enzim mampu meningkatkan kadar glukosa, namun dalam beberapa penelitian menyatakan, penambahan enzim yang berlebih juga berpengaruh kerja enzim yang tidak maksimal. Menurut Hakim *et al.* (2015), mengungkapkan Semakin banyak volume enzim yang diberikan, semakin banyak glukosa yang dihasilkan. Pemberian volume enzim yang berlebihan menyebabkan kerja enzim tidak maksimal (Hakim *et al.*, 2015). Perlakuan dengan faktor terbaik pada penelitian ini yaitu 6,95 $^{\circ}$ Brix dengan variasi konsentrasi enzim glucoamilase 2,5% dan lama inkubasi 60 menit.

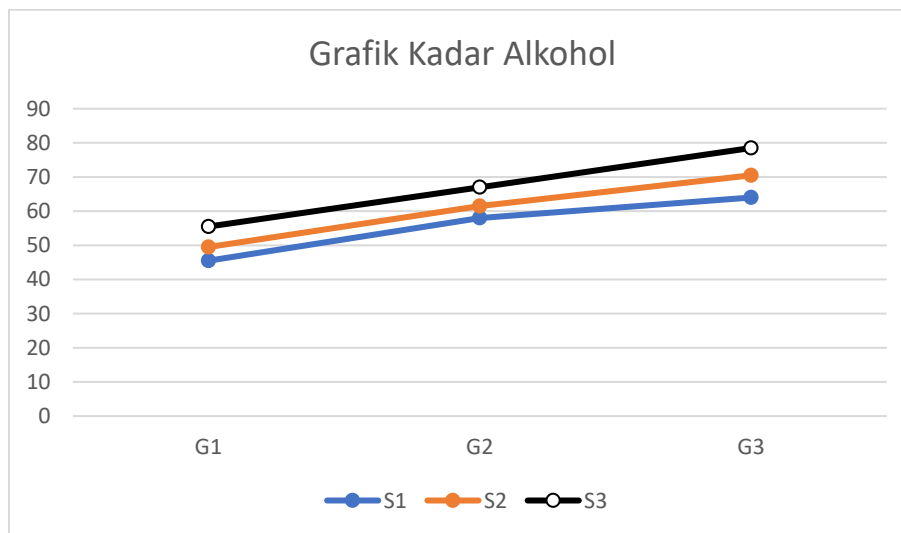
2. Analisis Kadar Alkohol Bioetanol Setelah Destilasi Ke-2

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 6**.



Gambar 6. 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 adalah grafik kadar alkohol pada bioetanol setelah destilasi kedua yang menunjukkan perbedaan kadar alkohol bioetanol pada sampel uji yang berbeda.



Gambar 7. Grafik Kadar Alkohol

Dari **Gambar 7.** diketahui bahwa penambahan glucoamilase dan lama inkubasi sakarifikasi berpengaruh sangat nyata terhadap kadar alkohol dan ada interaksi antara konsentrasi glucoamilase dan lama inkubasi terhadap kadar alkohol bioetanol. Uji jarak berganda duncan kemudian dilakukan untuk mengukur perbedaan antara perlakuan. Hasil uji jarak berganda duncan kadar alkohol disajikan dalam **Tabel 3.**

Tabel 3. 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 oleh huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan pada jenjang nyata 5% berdasarkan uji jarak berganda duncan.

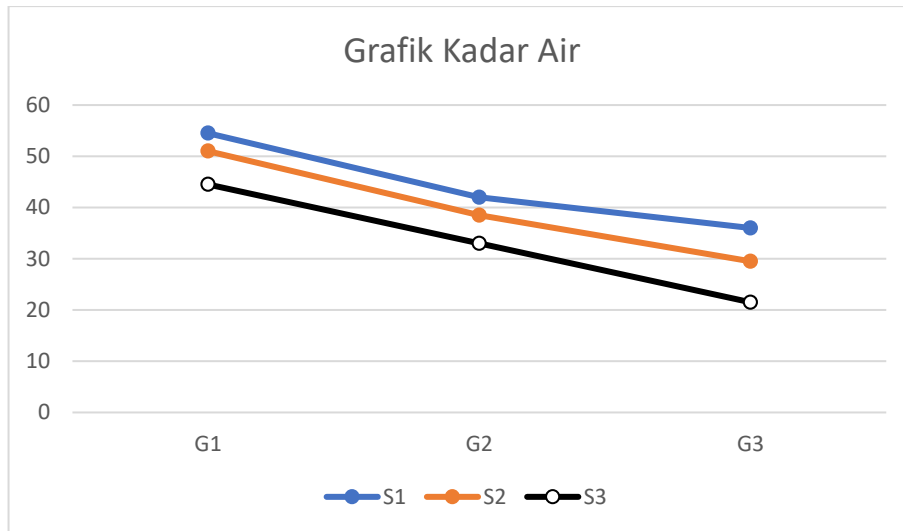
3 Berdasarkan **Tabel 3**, dapat dilihat jika semakin tinggi konsentrasi enzim glukoamilase yang digunakan maka kadar alkohol bioetanol semakin tinggi. Hal ini karena glukoamilase berfungsi memecah pati menjadi glukosa. Semakin tinggi konsentrasi enzim, semakin efisien proses pemecahan pati, sehingga 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 banyak glukosa yang dihasilkan setelah hidrolisis, semakin banyak 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).

47
14
26
9
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 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).

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 7390:2014 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.

3. Kadar air bioetanol setelah destilasi ke-2

25
21
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. Berikut adalah grafik kadar air pada bioetanol setelah destilasi kedua yang menunjukkan perbedaan kadar air bioetanol pada sampel uji yang berbeda.



Gambar 8. Grafik Kadar Air

Dari **Gambar 8**, diketahui bahwa penambahan glukoamilase dan lama inkubasi sakarifikasi berpengaruh sangat nyata terhadap kadar air dan ada interaksi antara konsentrasi glukoamilase dan lama inkubasi terhadap kadar air bioetanol. Uji jarak berganda duncan kemudian dilakukan untuk mengukur perbedaan antara perlakuan. Hasil uji jarak berganda duncan kadar air disajikan dalam **Tabel 4**.

Tabel 4. 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 oleh huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan pada jenjang nyata 5% berdasarkan uji jarak berganda duncan.

Berdasarkan **Tabel 4**, dapat dilihat jika penambahan enzim glukoamilase berpengaruh terhadap kadar air dari bioetanol, semakin tinggi konsentrasi enzim glukoamilase 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 glukoamilase yang ditambahkan. Pertumbuhan *saccharomyces cerevisiae* dibantu oleh rangka karbon dan sumber energi yang tinggi dari glukosa, yang diikuti oleh produksi bioetanol yang tinggi. Menurut *Visca et al.* (2020) Enzim glukoamilase 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).

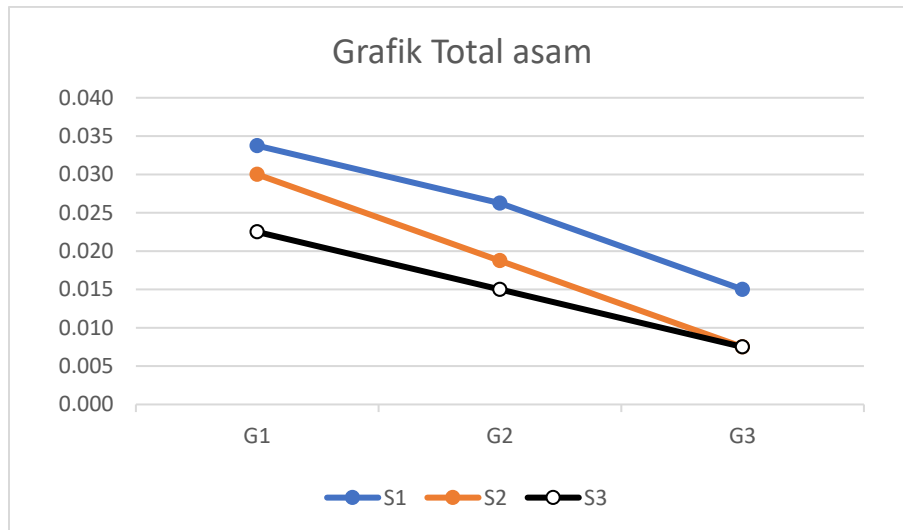
Lama inkubasi sakarifikasi juga berpengaruh pada dengan kadar air bioetanol yang dihasilkan dimana semakin lama inkubasi sakarifikasi maka semakin rendah kadar air pada bioetanol. Sakarifikasi adalah proses pemecahan pati menjadi gula sederhana seperti glukosa, yang dilakukan oleh enzim amilase atau glukoamilase. 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 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)

Standar kadar air pada bioetanol yang ditetapkan pada SNI 7390:2014 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.

4. 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. Berikut adalah grafik kadar total asam pada bioetanol setelah destilasi kedua yang menunjukkan perbedaan kadar total asam bioetanol pada sampel uji yang berbeda.



Gambar 9. Grafik Total Asam

Dari **Gambar 9**, diketahui bahwa penambahan glukoamilase dan lama inkubasi sakarifikasi berpengaruh sangat nyata terhadap total asam, namun tidak ada interaksi antara konsentrasi glukoamilase dan lama inkubasi terhadap total asam bioetanol. Uji jarak berganda duncan kemudian dilakukan untuk mengukur perbedaan antara perlakuan. Hasil uji jarak berganda duncan total asam disajikan dalam Tabel 5.

Tabel 5. Rerata Analisis Hasil Total Asam (% v/v)

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 oleh huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan pada jenjang nyata 5% berdasarkan uji jarak berganda duncan.

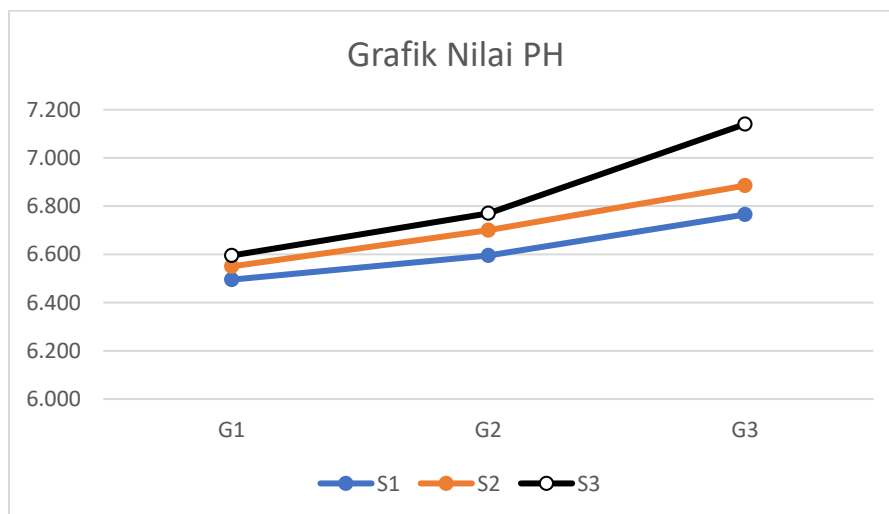
3 Berdasarkan **Tabel 5**, dapat dilihat jika semakin tinggi konsentrasi enzim glukoamilase yang digunakan maka total asam bioetanol semakin rendah. Hal ini karena enzim glukoamilase secara mempengaruhi total asam pada bioetanol karena konsentrasi enzim glukoamilase yang tinggi dapat menghindrolisis 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).

24 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)

Standar total asam pada bioetanol yang ditetapkan pada SNI 7390:2014 yaitu 0,005%, sehingga total asam pada produk masih belum ada memenuhi standar. 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.

5. Nilai pH bioetanol setelah destilasi ke-2

35 10 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 adalah grafik kadar nilai pH pada bioetanol setelah destilasi kedua yang menunjukkan perbedaan kadar nilai pH bioetanol pada sampel uji yang berbeda.



Gambar 10. Grafik Nilai pH

Dari **Gambar 10**, diketahui bahwa penambahan glukoamilase dan lama inkubasi sakarifikasi berpengaruh sangat nyata terhadap nilai pH dan ada interaksi antara konsentrasi glukoamilase dan lama inkubasi terhadap nilai pH bioetanol. Uji jarak berganda duncan kemudian dilakukan untuk mengukur perbedaan antara perlakuan. Hasil uji jarak berganda duncan nilai pH disajikan dalam **Tabel 6**.

Tabel 6. 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 oleh huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan pada jenjang nyata 5% berdasarkan uji jarak berganda duncan.

Bedasarkan **Tabel 6**, 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 etanol 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. pH 100% etanol adalah 7,33, sedangkan pH total asam murni adalah 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 pemanasan yang lebih lama dapat meningkatkan proses hidrolisis, meningkatkan reduksi gula. Namun, karena panas menghancurkan senyawa fenol yang tidak stabil, jumlah total fenol dalam sirup alang-alang cenderung menurun dengan waktu pemanasan. (Trissanthi & Susanto, 2016)

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.

KESIMPULAN

Dari data hasil dan pembahasan yang didapatkan dalam penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa konsentrasi enzim glukoamilase berpengaruh nyata terhadap densitas, kadar gula total, kadar total asam, kadar alkohol, total asam dan nilai pH. Lama inkubasi sakarifikasi berpengaruh nyata terhadap densitas, kadar gula total, kadar total asam, kadar alkohol, total asam dan nilai pH. 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 total asam 21,5% dan nilai pH 7,14.

SARAN

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

DAFTAR PUSTAKA

- Azizah, N., Al, A. N., & Mulyani, S. (2012). Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Kadar Alkohol, pH, dan Produksi Gas Pada Proses Fermentasi Bioetanol dari Whey dengan Substitusi Kulit Nanas. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 1(2).
- Hakim, M. L., Hastuti, E. D., & Parman, S. (2015). Pengaruh Pemberian Enzim Amilase terhadap Kadar Bioetanol dari Limbah Sagu Padat. *Jurnal Biologi*, 4(1), 17–24.
- Ibrahim, A. M., Pradana, A. F., Priyosakti, G., Arifin, M., Alawiyah, T., & Perliansyah, P. (2020). Potensi Tanaman Pandan Laut (*Pandanus Tectorius*) Dan Limbah Industri Gandum Kota Cilegon Sebagai Bahan Baku Sintesis Bioetanol. *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*, 38(2), 91–104.
- Kartika, B. M., Khojayanti, L., Nuha, ., Listiana, S., Kusumaningrum, S., & Wijaya, A. F. (2019). Dekstrosa Monohidrat Kualitas Farmasi dari Pati *Manihot esculenta*, *Metroxylon sagu*, *Zea mays*, *Oryza sativa*, dan *Triticum*. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBi)*, 6(2), 184.
- Laily, I., Santy, W. H., & Pratiwi, V. N. (2019). Effect of Mixed Cultures in Alcoholic Fermentation on the Physicochemical and Sensory Properties of Bilimbi Vinegar (*Averrhoa bilimbi L.*). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 7(3), 9–18.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Stahl, D. A., & Clark, D. P. (2012). *Biology of Microorganism* (13th ed.). Pearson Production Inc.
- Nilasari, O. W., Susanto, W. H., & Maligan, J. M. (2017). Pengaruh Suhu Dan Lama Pemasakan Terhadap Karakteristik Lempok Labu Kuning (Waluh). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 5(3), 15–26.
- Ningsih, B. A. R. (2017). Optimasi Proses Sakarifikasi Dan Fermentasi Serentak Dalam pembuatan Bioetanol Dari Batang Kelapa Sawit Dengan Metode Respon Permukaan. *Universitas Lampung*, 1, 1–61.
- Prasasti, D. R., & Herdyastuti, N. (2022). Pengaruh Penambahan Enzim Amylase Dan Lama Waktu Inkubasi Dalam Pembuatan Bioetanol Dari Biji Nangka. *Indonesian Chemistry and application journal*, 5(1), 15–21.
- Sandi, Y. T., & Zubaidah, E. (2014). Pembuatan Sake Berbasis Ubi Kayu (*Manihot Esculanta Crantz*) (Kajian Pengaruh Konsentrasi Starter *Saccharomyces Cereviceae*). *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 2(4), 1–9.
- Saputra, A. N., Hastuti, S., & Ngatirah. (2015). Pembuatan Pati Dari Iles-Iles (*Amorphophallus Muelleri*). *AGROFORETECH*, 1(3), 1920–1928.

- Schoonees, B. M. (2004). Starch Hydrolysis Using (Amylase: A Laboratory Evaluation Using Response Surface Methodology. *Technol Ass*, 1(2), 427–440.
- Sukaryo, Hargono, & Bakti Jos. (2013). Pembuatan Bioetanol Dari Pati Umbi Kimpul (*Xanthasoma Sagittifolium*). *Momentum*, 9(2), 41–45.
- Tira, H. S., Mara, I. M., & Mirmanto, M. (2014). Uji sifat fisik dan kimia bioetanol dari jagung (*Zea mays L*). *Dinamika Teknik Mesin*, 4(2).
- Trissanthi, C. M., & Susanto, W. H. (2016). Pengaruh Konsentrasi Asam Sitrat Dan Lama Pemanasan Terhadap Karakteristik Kimia Dan Organoleptik Sirup Alang-Alang (*Imperata Cylindrica*). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 4(1), 180–189.
- Visca, R., Sinaga, M., & Nurcahyati, S. (2020). Optimasi Dosis Enzim Glukoamilase dan Waktu Fermentasi dalam Produksi Bioetanol dari Air Cucian Beras. *Jurnal Sumberdaya Alam dan Lingkungan*, 7(3), 101–107.