

TUGAS AKHIR - RE091324

PEMANFAATAN SERBUK GERGAJI MENJADI BIOBUTANOL DENGAN HIDROLISIS SELULASE DAN FERMENTASI BAKTERI Clostridium acetobutylicum

HAYUNI DEVINA FAJARIAH 3307 100 013

Dosen Pembimbing: Prof. Ir. Wahyono Hadi, MSc., PhD.

JURUSAN TEKNIK LINGKUNGAN Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya 2012



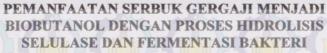
FINAL PROJECT - RE091324

UTILIZATION SAWDUST AS BIOBUTANOL WITH CELLULASE HYDROLYSIS AND FERMENTATION USING Clostridium acetobutylicum BACTERIA

HAYUNI DEVINA FAJARIAH 3307 100 013

Supervisor: Prof. Ir. Wahyono Hadi, MSc., PhD.

DEPARTMENT ENVIRONMENTAL ENGINEERING Faculty of Civil Engineering and Planning Sepuluh Nopember Institute of Technology Surabaya 2012



Clostridium acetobutylicum

TUGAS AKHIR

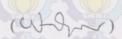
Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Memperoleh Gelar Sarjana Tenik pada

Program Studi S-1 Jurusan Teknik Lingkungan Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan

Oleh:

HAYUNI DEVINA FAJARIAH NRP: 3307 100 013

Disetujui oleh Pembimbing Tugas Akhir:
1. Prof. Ir. Wahyono Hadi, M.Sc,Ph.D.





PEMANFAATAN SERBUK GERGAJI MENJADI BIOBUTANOL DENGAN PROSES HIDROLISIS SELULASE DAN FERMENTASI BAKTERI Clostridium

acetobutylicum

Nama Mahasiswa : Hayuni Devina Fajariah

NRP : 3307 100 013

Jurusan : Teknik Lingkungan FTSP-ITS

Dosen Pembimbing : Prof. Ir. Wahyono Hadi, M.Sc,Ph.D.

Abstrak

Biobutanol adalah jenis alkohol ikatan C-4 (C₄H₉OH) yang terbuat dari biomassa. Penelitian ini dilakukan dengan memanfaatkan limbah kayu yang dihasilkan proses penggergajian kayu yang mengandung selulosa (55%).hemiselulosa (14%), dan lignin (21%). Biobutanol diproduksi dengan cara hidrolisis enzim selulase dan fermentasi bakteri Clostridium acetobutylicum. Variabel pada penelitian ini adalah penambahan enzim selulase pada proses hidrolisis (penambahan enzim atau tanpa penambahan enzim), pH awal proses fermentasi (5 atau 7) dan jumlah penambahan starter bakteri *Clostridium* acetobutylicum (5 atau 10 ml) dengan variasi lama proses fermentasi 2,4,6,8,10,12 hari. Parameter dalam penelitian ini adalah analisa kadar selulosa, gula tereduksi, dan kadar butanol.

Berdasarkan hasil penetian, diketahui bahwa proses hidrolisis dengan penambahan enzim selulase, kondisi awal fermentasi pH 5 dan penambahan inokulum bakteri *Clostridium acetobutylicum* sebanyak 10 ml dengan lama waktu fermentasi 12 hari merupakan kondisi yang paling efektif menghasilkan kadar butanol tertinggi dari 50 gram limbah serbuk gergaji. Kadar butanol tertinggi sebesar 1,88 % dari 1 µL sampel hasil fermentasi yang diinjeksikan ke dalam kromatografi gas.

Kata kunci : biobutanol, *Clostridium acetobutylicum*, selulase, serbuk gergaji

UTILIZATION SAWDUST AS BIOBUTANOL WITH CELLULASE HYDROLYSIS AND FERMENTATION USING Clostridium acetobutylicum BACTERIA

Name : Hayuni Devina Fajariah

ID Number : 3307 100 013

Department : Teknik Lingkungan FTSP-ITS

Supervisor : Prof. Ir. Wahyono Hadi, M.Sc,Ph.D.

Abstrack

Biobutanol is a type of alcohol-bond C-4 (C₄H₉OH) is made from biomass. This research was carried out by utilizing sawdust generated from the sawmill which contain cellulose (55%), hemicellulose (14%), and lignin (21%). Biobutanol is produced by hydrolysis of cellulase enzymes and fermenting bacterium *Clostridium acetobutylicum*. Variables in this study is addition of cellulase enzymes on the hydrolysis (with or without addition of enzyme), the initial pH of fermentation processes (5 or 7) and the addition of starter bacteria *Clostridium acetobutylicum* (5 or 10 ml) with a time variation process of fermentation 2,4, 6, 8, 10, 12 days. The parameters in this study is cellulose analysis, sugar reduced, and levels of butanol.

Based on results of this research, known that hydrolysis by addition of cellulase enzymes, initial conditions of fermentation pH 5 and addition of bacterial inoculum of 10 ml of Clostridium acetobutylicum with fermentation time of 12 days is the most effective conditions to produce the highest levels of butanol from 50 grams sawdust. The highest levels of butanol are 1,88 % from 1 μL of fermentation that injected into the gas chromatograph.

Keywords: biobutanol, *Clostridium acetobutylicum*, cellulase, sawdust.

KATA PENGANTAR

Puji syukur terhadap Allah SWT yang telah memberikan petunjukNya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini yang berjudul "Pemanfaatan Serbuk Gergaji menjadi Biobutanol dengan Hidrolisis Selulase dan Fermentasi Bakteri Clostridium acetobutylicum" dengan baik. Tugas akhir disusun untuk memenuhi syarat mata kuliah Tugas Akhir yang harus ditempuh di Jurusan Teknik Lingkungan, FTSP-ITS. Dalam menyelesaikan tugas akhir, penulis mendapat bantuan serta bimbingan dari berbagai pihak. Penulis mengucapkan terima kasih kepada:

- 1. Bapak Prof. Ir. Wahyono Hadi, M.Sc,Ph.D. selaku dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan, saran dan masukan.
- 2. Ibu Dr. Ir. Ellina S. Pandebesia, MT; Ibu Ir. Atiek Moesriati, M.Sc; Bapak Ir. M.Razif, MM; Ibu Dr.Ir. Nieke Karnaningroem, M.Sc; dan Bapak Alfan Purnomo, ST, MT yang telah memberikan petunjuk dan arahan yang membangun pada saat penyusunan tugas akhir ini.
- 3. Bapak Ir. Eddy Setiadi Soedjono, Dipl. SE,M.Sc,Ph.D. selaku ketua jurusan Teknik Lingkungan- FTSP-ITS.
- 4. Pak Hadi, Pak Ashari, Pak Affan, dan Pak Edi yang selalu memberikan pengetahuan, bantuan, dukungan dan motivasi yang sangat membangun.
- 5. Ibu, kakak, om dan tante tercinta yang selalu memberikan kasih sayang, semangat, dukungan, nasehat, doa, dan sebagainya.
- 6. Kepada Mas Lukis L-24 yang telah memberikan masukan dan bantuan demi kelancaran penyusunan tugas ini.
- 7. Abang Ncup yang telah memberikan semangat, dan perhatian.
- 8. Teman-teman L-25, khususnya Gary, Hana, Hamim, Dito, Daniel, dan Anjar yang telah memberikan motivasi.

Penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari semua pihak demi pengembangan pengetahuan. Semoga tugas akhir ini dapat memberikan manfaat bagi para pembaca.



DAFTAR ISI

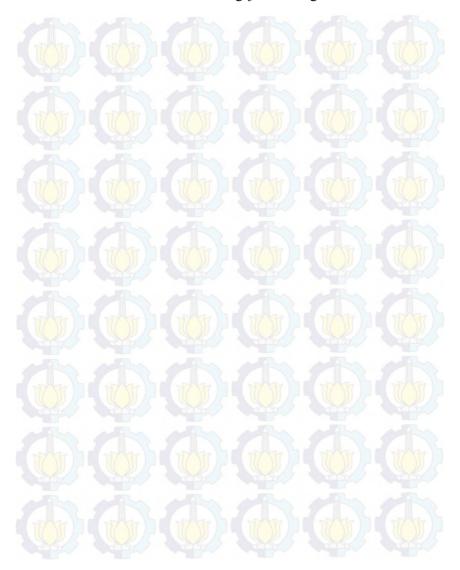
A DOTTO A M		
ABSTRAC	K	11
	IGANTAR	
	SI	
	GAMBAR	
	ABEL	
	DAHULUAN	
1.1	Latar Belakang	1
	Perumusan Masalah	
1.3		3
1.4	Manfaat Penelitian	
1.5	Ruang Lingkup	4
BAB II TIN	Produksi Biobutanol	/
	Lignoselulosa dan Limbah Serbuk Gergaji	
2.3		14
	Enzim Selulose	
2.5	Hidrolisis	
	Fermentasi	
	ETODOLOGI PENELITIAN	
	Umum	
3.2	Kerangka Penelitian	
	3.2.1 Permasalahan	
	3.2.3 Persiapan Alat dan Bahan	
	3.2.4 Pretreatment	
2.2	Analisa dan Pembahasan	
DAD IV AN	Kesimpulan dan Saran	29
BAB IV AI	NALISIŜ DAN PEMBAHASAN	31
	Analisis Kadar Selulosa Serbuk Gergaji	31
4.2	Analisis Gula Reduksi Limbah Serbuk Gergaji	33

4.3 Pengaruh Penambahan Enzim Selulase Sebagai					
	Katalis Terhadap Kadar Butanol	35			
4.4	pH Optimum untuk Fermentasi Limbah				
	Gergaji menjadi Biobutanol	41			
4.5	Pengaruh Jumlah Penambahan Inokulum Pac	la			
	Proses Fermentasi Terhadap Kadar Butanol	42			
BAB V KES	SIMPULAN DAN SARAN	47			
5.1	Kesimpulan	47			
	Saran				
	USTAKA				
LAMPIRA	N A PROSEDUR KERJA	53			
LAMPIRA	<mark>N B</mark> DATA PENELITIAN	61			
LAMPIRA	N C DOKUMENTASI PENELITIAN	115			
BIODATA	PENULIS	121			

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Bagian Lignoselulosa	noselulosa			
Gambar 2.2 Produk Nilai Tambah dari Limbah Ligr dengan Proses Produksinya	noselulosa			
dengan Proses Produksinya				
Gambar 2.3 Serbuk Gergaji	1 ∠			
Gambar 2.4 Bakteri Clostridium sp.				
	15			
Gambar 2.5 Jalur Metabolisme Clostridium acetobu				
Pada Proses Fermentasi				
Gambar 3.1 Kerangka Penelitian				
Gambar 3.2 Kerangka Kombinasi Penelitian				
Gambar 4.1 Hasil Analisis Gas Kromatografi Laruta				
Butanol				
Gambar 4.2 Hasil Analisis Gas Kromatografi Varias				
	Penambahan Enzim, pH 5, dan Konsentrasi			
Bakteri 10 ml				
Gambar 4.3 Grafik Kadar Butanol dari Berbagai Va				

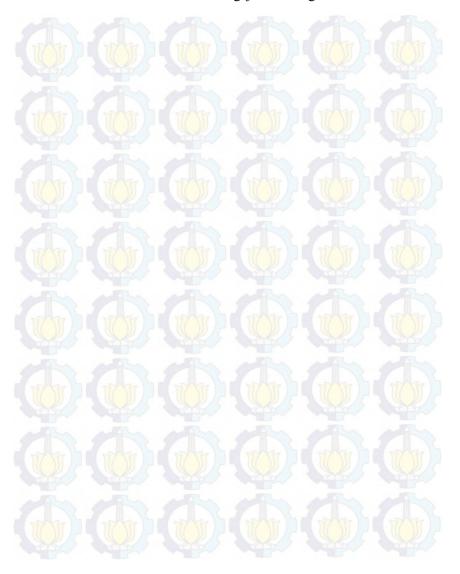
"Halaman ini sengaja dikosongkan"



DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Tabel 4.2 Tabel 4.3	Tabel 4.2 Kadar Gula Reduksi Limbah Serbuk gergaji						

"Halaman ini sengaja dikosongkan"



BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Seiring dengan terjadinya krisis energi (kelangkaan BBM), khususnya produksi minyak bumi yang semakin menurun sehingga menyebabkan harga minyak bumi melambung tinggi, sedangkan jumlah pengguna bahan bakar semakin tahun semakin meningkat. Menurut Direktur Hulu Minyak dan Gas Bumi Kementerian ESDM Edy Hermantoro, kebutuhan BBM di Indonesia pada tahun 2012 diperkirakan mencapai 1,242 juta barel per hari, sedangkan BBM yang mampu diproduksi hanya mencapai 705.000 barel per hari. Dengan demikian, Indonesia akan mengalami defisit BBM sekitar 537.000 barel per hari atau 43 persen dari total kebutuhan 1,242 juta barel per hari (Antara, 2011). Salah satu cara untuk mengurangi keterbatasan bahan bakar fosil, perlu adanya energi alternatif yang dapat diproduksi secara massal dan kontinu.

Pemerintah Indonesia telah mengeluarkan dua kebijakan penting berkaitan dengan energi alternatif. Kebijakan itu antara lain, Peraturan Presiden Nomor 5 Tahun 2006 tentang Kebijakan Energi Nasional dan Instruksi Presiden Nomor 1 Tahun 2006 tentang Penyediaan dan Pemanfaatan Bahan Bakar Nabati atau Biofuel. Kebijakan ini adalah instruksi untuk menyediakan dan memanfaatkan bahan bakar nabati (biofuel) sebagai bahan bakar pengganti BBM. Biofuel merupakan salah satu contoh energi terbarukan yang paling mudah untuk diimplemantasikan. Pengertian energi terbarukan menurut Perpres Nomor 5 Tahun 2006 adalah sumber energi yang dihasilkan dan sumber daya energi yang secara alamiah tidak akan habis dan dapat berkelanjutan jika dikelola dengan baik. Biobutanol adalah salah satu energi alternatif selain bio-etanol sebagai pengganti bahan BBM.

Biobutanol adalah jenis alkohol ikatan C-4 (C₄H₉OH) atau butil alkohol yang terbuat dari biomassa. Biomassa merupakan energi yang tersimpan dalam bahan organik yang berasal dari pohon, tanaman pertanian dan materi hidup tanaman lainnya. Selama hidupnya, tanaman melakukan fotosintesis, yang merupakan jalur metabolisme mengubah karbon dioksida menjadi karbohidrat (gula, pati dan selulosa) dengan menggunakan energi dari matahari. Sedangkan karbohidrat merupakan senyawa organik yang membentuk biomassa. Butanol pada umumnya digunakan untuk bahan campuran kosmetik, obat-obatan, dan pembersih rumah tangga. Secara tradisional, butanol juga digunakan sebagai pelarut, pengencer, *plasticizer* dan bahan baku untuk produksi bahan kimia (Chang, 2010).

Pada biofuel generasi pertama, yaitu bioetanol, umumnya menggunakan gula atau minyak dari tumbuhan sebagai bahan baku. Hal ini menyebabkan terserapnya bahan pangan seperti pati dari singkong, jagung, gula tebu dan minyak goreng, yang menyebabkan kenaikan harga akibat supply tidak mencukupi kebutuhan pasar. Berbeda dengan biobutanol yang merupakan biobutanol adalah menggunakan bahan-bahan non pangan dan limbah dari pengolahan bahan pangan, seperti batang padi, jerami, kertas bekas, ampas tebu (bagasse), bonggol jagung (corn stover), dan limbah pertanian lainnya (Qureshi et al., 2008).

Biobutanol diproduksi dengan cara hidrolisis dan fermentasi mikroba. Hidrolisis adalah reaksi kimia antara air dengan suatu zat lain yang menghasilkan zat baru atau lebih dan juga dekomposisi suatu larutan dengan menggunakan air, asam, basa, ataupun enzim. Sebagian besar limbah pertanian yang mengandung lignoselulosa dapat didegradasi oleh enzim selulase pada proses hidrolisis menjadi senyawa yang lebih sederhana, yaitu glukosa. Sedangkan fermentasi adalah suatu proses oksidasi anaerob atau partial anaerobic dari karbohidrat dan menghasilkan alkohol serta beberapa asam dengan bantuan mikroba tertentu. Sebagian besar, penelitan biobutanol menggunakan

mikroorganisme anaerob dari *Clostridium sp* yang dapat mendegradasi selulosa dan hemiselulosa (Ohara, 1998).

Salah satu bakteri genus Clostridium yang dapat dimanfaatkan untuk pembuatan biobutanol adalah Clostridium acetobutylicum. Clostridium acetobutylicum memiliki beberapa kelebihan dibandingkan dengan bakteri penghasil butanol lainnya. C.acetobutylicum merupakan bakteri anaerob, sehingga memberikan keuntungan untuk proses fermentasi selulosa yang berlangsung dalam keadaan anaerob. Selain itu, bakteri C.acetobutylicum, dapat bertahan pada pH rendah, antara 4,5-5 dengan suhu optimum 37°C (Whitman, 2009). Bakteri C.acetobutylicum mampu menguraikan selulosa dan hemiselulosa untuk memproduksi biobutanol (Anindyawati, 2010).

1.2 Perumusan Masalah

Dari latar belakang permasalahan didapatkan suatu perumusan masalah, yaitu:

- 1. Adakah pengaruh penambahan enzim selulase sebagai katalis terhadap proses hidrolisis selulosa serbuk gergaji menjadi glukosa?
- 2. Berapa pH optimum untuk fermentasi limbah serbuk gergaji menjadi biobutanol menggunakan bakteri Clostridium acetobutylicum?
- 3. Berapa penambahan jumlah starter inokulum bakteri *Clostridium acetobutylicum* yang efektif pada proses fermentasi serbuk gergaji?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari tugas akhir ini adalah:

- 1. Membandingkan pengaruh penambahan enzim selulase sebagai katalis terhadap proses hidrolisis selulosa serbuk gergaji menjadi glukosa.
- 2. Menentukan pH optimum untuk fermentasi limbah serbuk gergaji menjadi biobutanol menggunakan bakteri *Clostridium acetobutylicum*.

3. Menentukan jumlah starter inokulum bakteri *Clostridium acetobutylicum* yang efektif pada proses fermentasi serbuk gergaji.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk memberikan informasi mengenai cara pembuatan biobutanol dari limbah serbuk gergaji sebagai sumber energi alternatif.

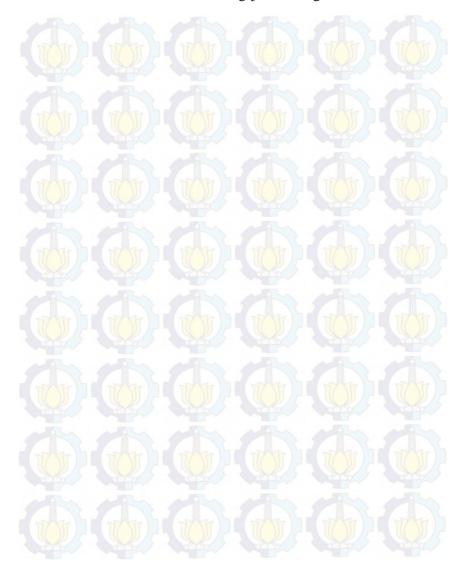
1.5 Ruang Lingkup

Ruang lingkup pada penelitian ini antara lain:

- 1. Limbah serbuk gergaji yang diolah adalah limbah hasil penggergajian kayu yang dipisahkan dari serpihan kayunya. Limbah serbuk gergaji diambil dari Dinas Kehutanan kota Gresik.
- 2. Waktu penelitian dilakukan pada bulan Februari 2012 hingga Juni 2012.
- 3. Tempat penelitian dilaksanakan di Laboratorium Teknik Lingkungan, ITS.
- 4. Analisa kadar butanol dilakukan di Laboratorium Energi dan Rekayasa Gedung Robotika ITS, Surabaya
- 5. Bakteri yang digunakan untuk mengurai selulosa adalah *Clostridium acetobutylicum* yang dibeli dari Laboratorium Bioteknologi UGM Jogjakarta.
- 6. Proses hidolisis limbah serbuk gergaji hanya menguraikan selulosa menjadi glukosa saja (hemiselulosa dan lignin diabaikan).
- 7. Variabel pada penelitian ini adalah penambahan enzim selulase pada proses hidrolisis (penambahan enzim atau tanpa penambahan enzim), pH awal proses fermentasi serbuk gergaji (5 dan 7), dan penambahan jumlah starter bakteri Clostridium acetobutylicum (5 dan 10 ml).

Parameter yang akan diukur adalah kandungan selulosa limbah serbuk gergaji, kandungan gula tereduksi dan kadar butanol hasil proses fermentasi selama 2,4,6, 8, 10, dan 12 hari. Produk lain fermentasi sampel dengan bakteri Clostridium acetobutylicum yaitu berupa aseton dan etanol diabaikan.

"Halaman ini sengaja dikosongkan"



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Produksi Biobutanol

Butanol adalah senyawa alkohol yang memiliki ikatan 4 atom carbon atau butil alkohol dan memiliki rumus molekul n-C₄H₉OH, Menurut Lee, dkk (2008), butanol memiliki sifat:

> Pada kenampakkan pada suhu kamar (32°C) a. butanol berbentuk cair dan tidak berwarna

Butanol memiliki bau yang khas seperti pisang h

: 74,123 g/gmol C. Berat molekul (BM)

: 117,7 °C d Boiling point (Tbp)

: -89,3 °C Melting temperature e f. Density, gr/ml : 0.81337

: 287 °C Critical temperature (Tc) g.

: 48,4 atm Critical Presure (Pc) h.

Viscositas, cP (15 °C) : 0.03379 i.

Panas penguapan cal/gr : 141,31 i. Panas pembakaran kg cal/mol k. : 639

1. Kandungan Energi (MJ/kg) : 35.1

. 12 Cetane Number

Selain itu, butanol memiliki kelarutan yang terbatas terhadap air, vaitu sekitar 7-8%. Tingkat toksisitas butanol tergolong rendah pada dosis tertentu. Walaupun demikian, perlu adanya kehatihatian dalam proses penggunaannya. Selain itu, butanol adalah jenis alkohol yang tidak untuk diminum.

Biobutanol terbuat dari biomassa. Biomassa merupakan energi yang tersimpan dalam bahan organik berasal dari pohon, tanaman pertanian dan materi hidup tanaman lainnya. Selama hidupnya, tanaman melakukan fotosintesis, yang merupakan jalur metabolisme mengubah karbon dioksida menjadi karbohidrat (gula, pati dan selulosa) dengan menggunakan energi dari matahari. Sedangkan karbohidrat adalah senyawa organik pembentuk biomassa. Pada biofuel generasi pertama, yaitu

bioetanol, umumnya menggunakan gula atau minyak dari tumbuhan sebagai bahan baku. Hal ini menyebabkan terserapnya bahan pangan seperti pati dari jagung, gula tebu dan minyak goreng, yang menyebabkan kenaikan harga akibat *supply* tidak mencukupi kebutuhan pasar. Berbeda dengan biobutanol yang merupakan *biofuel* generasi kedua, keunggulan pada bahan baku pembuatan biobutanol adalah menggunakan bahan-bahan non pangan dan limbah dari pengolahan bahan pangan, seperti batang padi, jerami, kertas bekas, ampas tebu (*bagasse*), bonggol jagung (*corn stover*), dan limbah pertanian lainnya (Qureshi *et al.*, 2008).

Limbah pertanian mengandung banyak bahan lignoselulosa sehingga diperlukan bahan tambahan untuk mendegradasinya, yaitu dengan enzim. Bahan lignoselulosa terdiri atas tiga polimer yakni selulosa (35-50%), hemiselulosa (20-35%), lignin (10-25%) serta ester yang merupakan bahan pembentuk lignin (Saha, 2004). Komponen ini merupakan sumber utama untuk menghasilkan produk bernilai seperti gula dari hasil fermentasi, bahan kimia, bahan bakar cair, sumber karbon dan energi. Limbah kayu yang dihasilkan dari proses penggergajian kayu, dimana pada industri penggergajian kayu 40% yang menjadi limbah terdiri dari serbuk gergaji (15%) dan serpihan kayu (25%). Serbuk gergaji yang mengandung selulosa (55%), hemiselulosa (14%), dan lignin (21%) (Chandel *et al.*, 2007).

Sebagai biofuel generasi kedua, butanol hadir sebagai solusi dari dampak negatif yang dihasilkan dari sumber bahan bakar lainnya, terutama etanol. Menurut Mousdale (2008), beberapa keunggulan biobutanol dibandingkan bio-etanol adalah:

Kandungan energi biobutanol tidak jauh berbeda dengan gasoline (bensin), biobutanol dapat dicampur dengan bensin dalam kadar bervariasi. Berbeda dengan bio-etanol, campuran bio-etanol dengan bensin memiliki kadar maksimum 10%. Selebihnya, diperlukan modifikasi pada mesin kendaraan bermotor.

- Biobutanol memiliki beberapa kesamaan karakteristik fisika dan kimia dengan bensin. Sehingga proses pembuatan biobutanol dapat menggunakan teknologi bio-etanol bahkan bensin yang sudah ada.
- Biobutanol tidak larut dalam air seperti bio-etanol sehingga tidak mudah menyebabkan korosi, tidak memerlukan modifikasi khusus untuk fasilitas penyaluran (pipa), tangki penyimpanan, ataupun stasiun pompa. Sehingga secara tidak langsung, mengurangi kemungkinan tumpah hingga mencemari air tanah.
- Biobutanol memiliki tekanan uap lebih rendah dari pada bio-etanol sehingga tidak mudah menguap, selain itu penggunaan biobutanol diharapkan dapat mengurangi resiko terjadinya ledakan.

Selain kelebihan diatas, kelebihan proses butanol lainnya adalah biaya proses destilasi butanol lebih rendah daripada etanol. Pembuatan etanol menggunakan destilasi bertingkat, prinsipnya uap yang mengandung etanol diserap oleh suatu solvent sehingga didapatkan etanol yang berwujud cair. Sedangkan pada pembuatan butanol, dengan mengabaikan keadaan senyawa lain, dapat dilakukan dengan destilasi sederhana, yaitu dengan memanaskan solvent hingga titik didih 101 °C sehingga senyawa-senyawa lain menguap dan didapatkan senyawa butanol (Steen *et al.*, 2008).

Biobutanol diproduksi dengan cara hidrolisis dan fermentasi mikroba. Hidrolisis adalah reaksi kimia antara air dengan suatu zat lain yang menghasilkan zat baru atau lebih dan juga dekomposisi suatu larutan dengan menggunakan air. Sedangkan fermentasi adalah suatu proses oksidasi anaerob atau partial anaerobic dari karbohidrat dan menghasilkan alkohol serta beberapa asam dengan bantuan mikroba tertentu. Sebagian besar, penelitan biobutanol menggunakan mikroorganisme

anaerob dari *Clostridium sp* yang mana dapat mendegradasi selulosa dan hemiselulosa (Ohara, 1998).

Salah satu bakteri genus Clostridium yang dapat dimanfaatkan untuk pembuatan biobutanol adalah Clostridium acetobutylicum. Clostridium acetobutylicum memiliki beberapa kelebihan dibandingkan dengan bakteri penghasil butanol lainnya. C.acetobutylicum merupakan bakteri anaerob, sehingga memberikan keuntungan untuk proses fermentasi selulosa yang berlangsung dalam keadaan anaerob. Selain itu, bakteri C.acetobutylicum, dapat bertahan pada pH rendah, antara 4,5-5 dengan suhu optimum 37°C (Whitman, 2009). Bakteri C.acetobutylicum mampu menguraikan selulosa dan hemiselulosa untuk memproduksi biobutanol (Anindyawati, 2010).

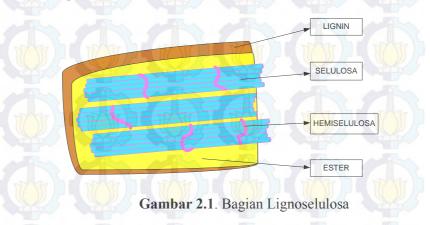
Fermentasi sampel serbuk gergaji menggunakan bakteri Clostridium acetobutylicum dalam keadaan anaerob mampu menghasilkan 3 strain, yaitu aseton, butanol, dan etanol. Oleh karena itu, fermentasi ini disebut juga dengan fermentasi ABE. Setelah proses fermentasi, larutan kultur didestilasi dengan memanfaatkan perbedaan titik didihnya (Yokoyama, 2008). Selain dimanfaatkan sebagai sumber energi alternatif, butanol secara umum digunakan untuk bahan campuran kosmetik, obatobatan, dan pembersih rumah tangga. Secara tradisional, butanol juga digunakan sebagai pelarut, pengencer, plasticizer dan bahan baku untuk produksi bahan kimia (Chang, 2010).

2.2 Lignoselulosa dan Limbah Serbuk Gergaji

Limbah pertanian mengandung banyak bahan lignoselulosa yang bisa didegradasi oleh enzim selulase. Kesulitan dalam proses degradasi lignoselulosa adalah susunan yang heterogen dari polisakarida yang terdapat pada dinding sel, yaitu berupa lignin yang berfungsi untuk mempererat selulosa dan hemiselulosa menjadi satu. Lignin yang disebut juga sebagai zat kayu terbentuk dari gugus aromatik yang sangat kompleks dan tidak terpola. Fungsi lignin pada tumbuhan adalah mempererat serat-serat menjadi satu sehingga tumbuhan menjadi kaku atau

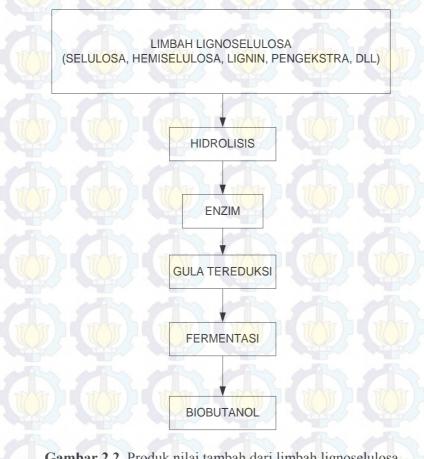
dapat berdiri tegak. Selulosa merupakan serat-serat panjang yang hanya tersusun dari glukosa, berbeda dengan hemiselulosa yang tersusun dari monomer gula berkarbon 5 dan 6 (xylosa, mannosa, glukosa, dan lain sebagainya). Hemiselulosa berfungsi sebagai perekat benang-benang selulosa. Sedangkan fungsi ester pada lignoselulosa adalah sebagai bahan pembentuk lignin.

Proses *pretreatment* bahan lignoselusa berfungsi untuk membuka struktur lignoselulosa menjadi komponen yang lebih mudah untuk dihidrolisis. Sehingga komponen selulosa menjadi lebih mudah diakses oleh enzim. Hal ini berpengaruh pada besarnya penggunaan enzim dan penekanan biaya. Dalam proses degradasi, penggunaan lignoselulosa harus melalui tahapan delignifikasi. Delignifikasi adalah proses pelepasan selulosa dan hemiselulosa dari ikatan kompleks lignin dan tahapan depolimerisasi adalah proses untuk mendapatkan gula bebas (Anindyawati, 2010). Gambar bagian dari lignoselulosa dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Proses ini penting dilakukan sebelum hidrolisis bahan selulotik, sebab lignin dapat menghambat penetrasi asam atau enzim sebelum hidrolisis berlangsung. Dengan pemberian perlakuan delignifikasi pada substrat maka selulosa alami diharapkan menjadi mudah dihidrolisis oleh enzim selulotik.

Proses *preteatment* delignifikasi dapat menggunakan cairan asam atau basa. Berbagai produk nilai tambah dari limbah lignoselulosa dengan berbagai proses produksinya dapat dilihat pada **Gambar 2.2**.



Gambar 2.2. Produk nilai tambah dari limbah lignoselulosa dengan proses produksinya

Sebagian penelitian mengenai lignoselulosa hanya menghidrolisis kandungan selulosa. Hal ini disebabkan karena minimnya ketersediaan enzim hemiselulase dan enzim pendegradasi lignin (lignolitik) terdiri dari lakase (polifenol oksidase), lignin peroksidase (Li-P) dan mangan peroksidase (Mn-P) di pasaran. Selulosa merupakan salah satu komponen utama dari lignoselulosa yang terdiri dari unit monomer D-glukosa yang terikat pada ikatan 1,4-glikosidik. Selulosa cenderung membentuk mikrofibril melalui ikatan inter dan intra molekuler. Mikrofibril selulosa terdiri dari 2 tipe, yaitu kristalin yang teratur dan amorf (tidak teratur) (Anindyawati, 2009).

Proses perlakuan awal (*preteatment*) dilakukan karena beberapa faktor seperti adanya kandungan lignin pada dinding sel, ukuran partikel bahan lignoselulosa serta kemampuan hidrolisis dari selulosa dan hemiselulosa. Metode *preteatment* dibedakan berdasarkan proses dengan mekanik panas, perlakuan asam, perlakuan alkali, perlakuan dengan menggunakan larutan organik (Saha, 2003). Selain itu, proses *preteatment* dapat dilakukan dengan perlakuan fisik (iradiasi dengan *microwave*, pirolisis, iradiasi gama), secara fisika-kimia (letupan uap, *ammonia fiber explotion*, cairan air panas), secara kimia (agen oksidasi O₃ atau H₂O₂), serta secara biologi (menggunakan mikroorganisme atau enzim yang dapat memecah selulosa dan lignin) (Mtui, 2009).

Limbah yang dihasilkan dari proses penggergajian kayu, terdiri dari serbuk gergaji (15%) dan serpihan kayu (25%). Serbuk gergaji yang mengandung selulosa (55%), hemiselulosa (14%), dan lignin (21%) (Chandel *et al.*, 2007). Serbuk gergaji adalah serbuk kayu dari jenis kayu sembarang yang diperoleh dari limbah ataupun sisa yang terbuang dari jenis kayu dan dapat diperoleh di tempat pengolahan kayu ataupun industri kayu. Selain untuk bahan baku pembuatan alkohol (butanol dan etanol), limbah serbuk gergaji dimanfaatkan untuk briket arang, pupuk kompos, batang obat pengusir nyamuk, dan lain sebagainya. Contoh serbuk gergaji dapat dilihat pada Gambar 2.3.



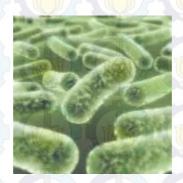
Gambar 2.3. Serbuk Gergaji

2.3 Bakteri Clostridium acetobutylicum

Bakteri Clostridium acetobutylicum merupakan bakteri dengan gram positif. Bakteri ini pada umumnya berada di tanah yang dapat mendegradasi selulosa dan hemiselulosa (Anindyawati, 2010). Clostridium acetobutylicum bersifat mesofilik dengan suhu optimal 10-65°C. Selain itu, organisme ini dapat memecah gula dan mampu menghasilkan sejumlah produk yang berguna secara komersial, terutama aseton, etanol dan butanol. C.acetobutylicum memerlukan kondisi anaerob untuk tumbuh dalam keadaan vegetatifnya. Karena sifatnya yang tidak tahan terhadap oksigen, bakteri ini hanya dapat bertahan hingga beberapa jam dalam kondisi aerobik.

Sebagian besar, penelitan biobutanol menggunakan mikroorganisme anaerob dari *Clostridium sp* yang dapat mendegradasi selulosa dan hemiselulosa (Ohara, 1998). Salah satu bakteri genus *Clostridium* yang dapat dimanfaatkan untuk pembuatan biobutanol adalah *Clostridium acetobutylicum*. *Clostridium acetobutylicum* memiliki beberapa kelebihan dibandingkan dengan bakteri penghasil butanol lainnya. *C.acetobutylicum* merupakan bakteri anaerob, sehingga memberikan keuntungan untuk proses fermentasi selulosa yang berlangsung dalam keadaan anaerob. Selain itu, bakteri *C.acetobutylicum*, dapat bertahan pada pH rendah, antara 4,5-5 dengan suhu optimum 37°C (Whitman, 2009). Bakteri

C.acetobutylicum mampu menguraikan selulosa dan hemiselulosa untuk memproduksi biobutanol (Anindyawati, 2010). Gambar bakteri Clostridium sp dapat dilihat pada Gambar 2.4 dibawah ini.

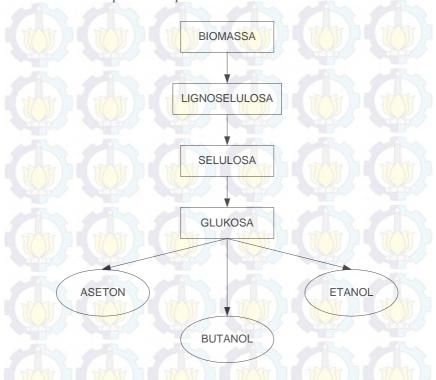


Gambar 2.4. Bakteri *Clostridium sp.*Sumber: Anonim, 2012

Mikroba Clostridium acetobutylicum pertama kali ditemukan oleh Louis Pasteur pada tahun 1861 dan diproduksi secara industri pada abad ke-20 oleh seorang ilmuwan dan politisi Yahudi bernama Chaim Weizmann sehingga banteri ini disebut juga sebagai "Organisme Weizmann" (Gheshlaghi, 2009). Clostridium acetobutylicum pertama kali dikulturkan untuk industri bubuk bahan peledak tanpa asap berupa mesiu dan TNT. Proses fermentasi yang disebut proses ABE ini bakteri Clostridium acetobutylicum selain memproduksi butanol dan etanol, juga memproduksi asam asetat (cuka), asam butirat, karbon dioksida, serta hidrogen (Krisno, 2012).

Bakteri *Clostridium acetobutylicum* pada proses fermentasi ABE berpotensi tinggi dalam bidang ekonomi. Meskipun menjanjikan, ada beberapa kelemahan yang mempengaruhi bakteri *Clostridium acetobutylicum* digunakan secara luas, yaitu biaya substrat yang tinggi dan produktivitas bakteri rendah. Proses fermentasi ABE oleh *Clostridium*

acetobutylicum dibagi dua tahapan yang berbeda, yaitu fase produksi asam dan fase produksi solvent (pelarut). Selama tahap pertama, sel-sel tumbuh membentuk asam karboksilat, asetat dan butirat; ekstraksi asam menurunkan pH eksternal (Gheshlaghi, 2009). Jalur metabolisme *Clostridium acetobutylicum* pada proses fermentasi dapat dilihat pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5. Jalur Metabolisme *Clostridium acetobutylicum*Pada Proses Fermentasi

2.4 Enzim Selulase

Enzim merupakan katalis dari proses biologi. Seperti lainnya, enzim membawa reaksi katalis terhadap posisi

kesetimbangan yang lebih cepat daripada yang terjadi seharusnya. Meskipun senyawa katalis dapat berubah pada reaksi awal, pada reaksi akhir molekul katalis akan kembali ke bentuk semula. Definisi enzim adalah protein yang berfungsi sebagai katalisator untuk reaksi-reaksi kimia di dalam sistem biologi. Nama enzim sering kali diturunkan dari nama substrat ataupun reaksi kimia yang ia kataliskan dengan akhiran –ase (Aehle, 2007). Selulase merupakan enzim kompleks yang terdiri dari eksoselulose atau eksobiohidrolase, endoselulase atau endo-β-1,4-glukanase dan β-1,4-glukosidase atau selobiase yang mampu memecahkan ikatan kompleks selulosa menjadi ikatan yang lebih sederhana, yaitu selodextrin, selobiosa, dan glukosa (Anindyawati, 2009).

2.5 Hidrolisis

Hidrolisis adalah proses penguraian zat kompleks menjadi yang lebih sederhana dengan menggunakan air untuk memisahkan ikatan kimia dari substansinya. Proses hidrolisis dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu: pemanasan, enzim, ukuran partikel, temperatur, pH, waktu hidrolisis, perbandingan cairan terhadap bahan baku (volume substrat), dan pengadukan. Ukuran partikel mempengaruhi laju kelarutan air. Ukuran partikel yang kecil akan meningkatkan luas permukaan serta meningkatkan kelarutan dalam air. Temperatur hidrolisis berhubungan dengan laju reaksi. Makin tinggi temperatur hidrolisis, maka hidrolisis akan berlangsung lebih cepat. Hal ini disebabkan konstanta laju reaksi meningkat dengan meningkatnya temperatur operasi. Enzim dapat diisolasi dari hewan, tumbuhan dan mikroorganisme.

Pada proses hidrolisis, selulosa diubah menjadi gula-gula sederhana yaitu glukosa. Hidrolisis ini dapat dilakukan menggunakan larutan asam atau secara enzimatis. Proses hidrolisis secara enzimatis berlangsung pada kondisi yang ringan (pH sekitar 4,8 dan suhu 45-50°C). Dan tidak menimbulkan masalah korosi. Persamaan reaksi kimia proses hidrolisis selulosa adalah sebagai berikut:



(Arianie dan Idiawati, 2011)

Jenis – jenis hidrolisis ada 5 macam, yaitu:

1 Hidrolisis Murni

Direaksikan dengan H_2O saja, proses reaksi ini berlangsung lambat sehingga jarang digunakan dalam industri (tidak komersial). Hanya untuk senyawasenyawa yang reaktif. Hidrolisis ini biasanya disertai dengan proses pemanasan.

- 2. Hidrolisis dalam Larutan Asam
 Asam encer atau pekat biasanya berfungsi sebagai katalisator. Pada asam encer, umumnya kecepatan reaksi sebanding dengan konsentrasi H⁺ menjadi [H⁺]. Sifat ini tidak berlaku pada asam pekat. Pada asam pekat, pemakaian H₂SO₄ lebih disukai karena lebih ekonomis daripada pemakaian HCl yang lebih korosif.
- 3. Hidrolisis dalam Larutan Basa
 Basa encer atau pekat seperti NaOH, KOH, dan senyawa
 basa lainnya. Penggunaan basa terbatas karena hasil
 akhirnya berupa garam, bukan asam.
- 4. Alkali Fusion
 Dengan atau tan

Dengan atau tanpa H₂O pada suhu tinggi, misal pada NaOH padat (H₂O sangat sedikit). Pemakaian dalam industri untuk tujuan tertentu, misalnya peleburan bahanbahan selulosa seperti tongkol jagung, serbuk gergaji yang dilakukan pada suhu tingg (±240°C) dengan NaOH padat menghasilkan asam oksalat dan asam asetat.

5. Hidrolisis dengan Enzim
Hidrolisis ini menggunakan enzim yang dihasilkan oleh
mikroba, dan berfungsi sebagai katalisator.

2.6 Fermentasi

Fermentasi adalah suatu proses baik secara aerob maupun anaerob yang menghasilkan produk yang melibatkan mikroba atau ekstraknya dengan aktivitas mikroba terkontrol , dalam hal ini terjadi reaksi oksidasi dan reduksi menggunakan sumber energi dan sumber karbon, nitrogen dan lainnya untuk membentuk senyawa yang lebih tinggi (Bamforth, 2005). Prinsip fermentasi adalah berupa pengaktifan pertumbuhan dan metabolisme dari mikroba pembentuk alkohol dan asam, serta menekan pertumbuhan mikroba proteolitik dan lipolitik yang dapat menggu proses fermentasi. Pada fermentasi glukosa oleh bakteri *Clostridium acetobutylicum*, glukosa diubah menjadi larutan aseton-butanol-etanol (ABE), sisa glukosa, gas CO₂, dan H₂O. Reaksi pembentukan aseton, butanol, dan etanol adalah sebagai berikut:

Aseton: $C_6H_{12}O_6 + H_2O$ $\Rightarrow C_3H_6O + 3CO_2 + 4H_2$ Butanol: $C_6H_{12}O_6$ $\Rightarrow C_4H_{10}O + 2CO_2 + H_2O$ Etanol: $C_6H_{12}O_6$ $\Rightarrow 2C_2H_6O + 2CO_2$

 $\frac{72C_2\Pi_6O + 2CO_2}{\text{(Rahma } dkk, 2011)}$

Faktor – faktor yang mempengaruhi proses fermentasi adalah:

1. Substrat (Media)

Substrat/medium fermentasi menyediakan zat gizi yang diperlukan oleh mikroba untuk memperoleh energi, pertumbuhan, bahan pembentuk sel dan biosintesa produk-produk metabolisme. Bermacam-macam substrat dapat dipakai untuk melangsungkan fermentasi yaitu serealia, pati, laktosa, glukosa dan sukrosa sebagai sumber karbon, sedangkan asam amino, protein, nitrat, garam amonium, tepung kedelai dan sisa fermentasi sebagai sumber nitrogen. Selain untuk memenuhi pertumbuhan sel dan pembentukan produk fermentasi.

2. Jumlah Mikroba

Jumlah mikroba adalah banyak mikroorganisme yang diinokulasikan ke dalam medium fermentasi. Banyaknya mikroba (inokulum/starter) yang ditambahkan berkisar antar 3-10% dari yolume medium fermentasi.

3. Kadar air

Selain digunakan sebagai pemanasan, pendinginan, pembersihan dan pembilasan, air adalah komponen utama dari setiap proses fermentasi. Semua mikroorganisme membutuhkan air, sumber energi, karbon, nitrogen unsur mineral, dan vitamin. Air juga digunakan sebagai pelarut substrat (Aleksic, 2009).

4. pH

pH medium fermentasi penting untuk pertumbuhan bakteri, karena enzim-enzim tertentu hanya akan mengurai substrat sesuai dengan aktivitasnya pada pH tertentu yang disebut sebagai pH optimum. Oleh karena itu, pengaturan pH sangat penting dalam proses fermentasi.

5. Suhu

Suhu fermentasi sangat menentukan macam mikroba yang dominan selama proses fermentasi. Bakteri *Clostridium acetobutylicum* termasuk bakteri mesofilik yang dapat bertahan hidup pada suhu dibawah 45°C (Krisno, 2012). Suhu optimum bakteri ini adalah 37°C (Whitmann, 2009).



BAB III METODOLOGI PENELITIAN

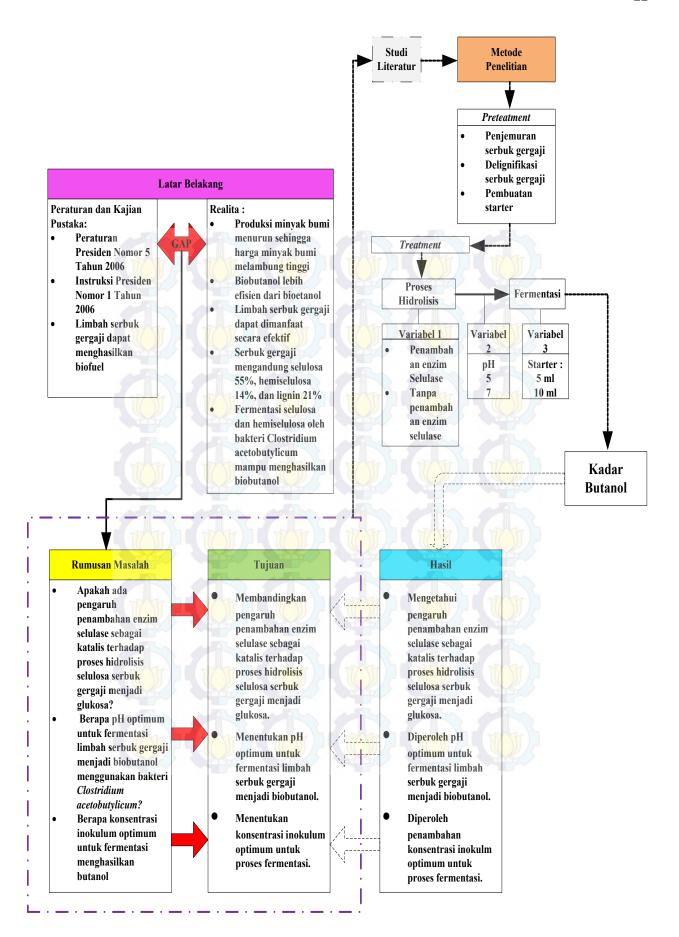
3.1 Umum

Metodologi penelitian adalah suatu proses mencari sesuatu secara sistematis dalam waktu yang relatif lama dan menggunakan metode ilmiah serta aturan yang berlaku. Metodologi penelitian merupakan acuan dalam melaksanakan aktivitas penelitian yang penyusunannya didasarkan pada pemikiran akan adanya permasalahan dalam ide studi. Metodologi penelitian ini dibuat untuk mempermudah proses dalam pelaksanaan penelitian sehingga dapat mengurangi resiko terjadinya kesalahan.

Percobaan dilakukan terhadap variasi penambahan enzim selulase pada proses hidrolisis, pH awal proses fermentasi, dan jumlah penambahan starter bakteri *Clostridium acetobutylicum* pada proses fermentasi yang digunakan dalam metode batch. Sehingga dari penelitian akan diketahui pengaruh penambahan enzim selulase pada proses hidrolisis limbah serbuk gergaji, pH awal proses fermentasi, dan jumlah penambahan bakteri *Clostridium acetobutylicum* terhadap kadar biobutanol yang diproduksi.

3.2 Kerangka Penelitian

Kerangka penelitian berisi skema penelitian yang menjabarkan secara keseluruhan isi penelitan secara jelas yang mencakup cara mekanisme ketersediaan data, pengolahan, dan penyajiannya. Kerangka penelitian tentang pengaruh penambahan enzim selulase pada proses hidrolisis, pH awal proses fermentasi, dan jumlah penambahan bakteri *Clostridium acetobutylicum* pada proses fermentasi dapat dilihat pada **Gambar 3.1**.



Gambar 3.1. Kerangka Penelitian

3.2.1 Permasalahan

Produksi minyak bumi yang semakin menurun sehingga menyebabkan harga minyak bumi melambung tinggi dan ketersediaannya pun semakin menipis, mendorong beberapa negara produsen dan konsumen minyak bumi melakukan penelitian tentang energi alternatif yang dapat diproduksi secara massal dan kontinu. Salah satunya dengan memanfaatkan limbah hasil pertanian sebagai bahan baku pembuatan *biofuel*. Sepertinya yang sudah dijelaskan pada sub.bab. 1.1 dan 1.2, biobutanol merupakan salah satu *biofuel* yang bernilai tinggi.

Pada penelitian ini digunakan variasi penambahan enzim pada proses hidrolisis (penambahan enzim atau tanpa penambahan enzim), pH awal proses fermentasi (5 dan 7), dan penambahan starter bakteri *Clostridium acetobutylicum* (5 ml dan 10 ml). Pemilihan variabel pH didasari oleh literatur yang menyebutkan bahwa pH optimum bakteri *Clostridium acetobutylicum* dalam proses fermentasi pada pH 4,5-5 (Whitmann, 2009).

3.2.2 Studi Literatur

Studi literatur ini dilakukan dengan cara menelusuri berbagai literatur yang berkaitan dengan bakteri *Clostridium acetobutylicum*, hidrolisis selulosa dengan enzim selulase, fermentasi glukosa menghasilkan biobutanol, dan limbah serbuk gergaji. Studi literatur yang dilakukan bertujuan untuk menunjang pelaksanaan penelitian, analisis dan pembahasan dari data hasil penelitian. Sumber literatur yang digunakan dalam penelitian ini meliputi buku–buku teks, laporan penelitian tugas akhir dan disertasi, jurnal baik nasional maupun internasional, serta hasil *browsing* dari internet mengenai penelitian terdahulu tentang pemanfaatan limbah hasil pertanian menghasilkan bahan bakar alternatif

3.2.3 Persiapan Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang diperlukan dalam penelitian ini berbeda-beda, hal ini sesuai dengan cara kerja yang sedang digunakan. Alat-alat yang digunakan pada penelitian adalah tabung fermentor, *shaker*, *electric stove*, timbangan analitik, pH meter, *autoclaved*, *centrifuge*, *beaker glass*, gelas ukur, erlenmeyer, kapas lemak, bunse, korek api, tabung reaksi, jarum ose, dan kertas saring. Bahan-bahan yang digunakan adalah aquades, enzim selulase, bakteri *Clostridium acetobutylicum*, limbah serbuk gergaji, medium agar (NA), *citric acid*, H₂SO₄ dan NaOH.

3.2.4 Pretreatment

Pretreatment adalah proses yang harus dilakukan sebelum penelitian inti yang melibatkan variabel bebas dilakukan. Proses pretreatment dalam penelitian ini meliputi:

1. Pe<mark>mbu</mark>atan ek<mark>stra</mark>k limbah serbuk ge<mark>rga</mark>ji

Serbuk gergaji yang didapat dari Dinas Kehutanan kota Gresik terlebih dahulu dijemur di bawah sinar matahari selama 3 hari agar kandungan air dalam serbuk gergaji berkurang. Selanjutnya dilakukan pengayakan menggunakan ayakan santan agar diperoleh serbuk gergaji yang lebih halus.

2. De<mark>ligni</mark>fikasi l<mark>imb</mark>ah serb<mark>uk g</mark>ergaji

Sebanyak 50 gram Ekstrak serbuk gergaji direndam pada 500 ml larutan NaOH 10% selama 60 menit disertai pemanasan 121°C dengan menggunakan auto claved (Noomtim dan Cheirsilp, 2011). (Lampiran A.1)

3. Pembuatan kultur kerja Clostridium acetobutylicum

Biakan murni bakteri *Clostridium acetobutylicum* digoreskan secara zig-zag pada media agar miring dengan menggunakan ose lalu ditumbuhkan dalam *incubator*

pada suhu 37°C selama 5 hari (Cappuccino dan Sherman, 1983). (Lampiran A.2)

4. Pembuatan Starter Clostridium acetobutylicum

Sebanyak 1 tabung biakan bakteri Clostridium acetobutylicum dilarutkan ke dalam 100 ml larutan NaCl 0,9 % dengan cara melarutkan sedikit NaCl 0,9% dalam tabung sambil digoreskan pada media hingga bakteri terangkat ke atas menggunakan jarum ose. Selanjutnya starter bakteri dicampur dengan sisa NaCl yang masih ada dalam erlenmeyer dan diaduk hingga bakteri tercampur dengan larutan (Azhiizhaa, 2012) . (Lampiran A.3)

3.2.5 Treatment

Treatment adalah proses penelitian inti yang melibatkan yariable bebas dilakukan, proses treatment dalam penelitian ini meliputi:

1. Proses hidrolisis

Serbuk gergaji yang telah didelignifikasi didinginkan hingga mendekati suhu ruangan. Selanjutnya ditambahkan 10 ml enzim selulase (berdasarkan variasi penambahan enzim). Diinkubasi dalam shaker 100 rpm selama 72 jam (Qureshi dkk, 2007; Noomtim dan Cheirsilp, 2011). (Lampiran A.4)

2. Proses Fermentasi

Setelah 3 hari proses hidrolisis, serbuk gergaji disaring untuk memisahkan filtrat dan endapannya. Filtrat hasil hidrolisis diukur pH-nya menggunakan pH meter. Rata-rata tiap sampel memiliki pH 11. Selanjutnya sampel ditambahkan dengan citric acid untuk menurunkan pH hingga pH larutan menjadi 5. Untuk variasi pH 7, larutan dengan pH 5 ditambahkan dengan NaOH hingga pH larutan menjadi 7. Sehingga didapatkan

sampel dengan variasi pH 5 dan 7. Selanjutnya ditambahkan larutan starter sebanyak 5 ml dan 10 ml dengan variasi penambahan, kemudian difermentasi selama 12 hari di dalam inkubator 37°C. Proses fermentasi dilakukan pada kondisi anaerob menggunakan penutup. Setelah proses fermentasi selesai, tutup botol dilepas, ditutup dengan kapas lemak dan kertas coklat untuk disterilisasi menggunakan *autoclayed* selama 60 menit. Selanjutnya hasil fermentasi yang telah disterilkan diambil sebanyak 45 ml untuk di centrifuge selama 30 menit 3000 rpm sebelum dilakukan analisa kadar butanol (Noomtim dan Cheirsilp, 2011). Hal ini bertujuan untuk memisahkan filtrat dan endapan karena akan mempengaruhi proses analisa kadar butanol. (Lampiran A.5)

3. Pengukuran Kadar Selulosa

Pengukuran kadar selulosa ini dilaksanakan di Laboratorium Teknik Lingkungan ITS Surabaya. Analisis selulosa dilakukan setelah proses delignifikasi dan setelah proses hidrolisis. Analisa selulosa setelah proses delignifikasi dilakukan guna mengetahui kadar selulosa awal dari ekstrak serbuk gergaji. Sedangkan analisa selulosa setelah hidrolisis guna mengetahui penurunan kadar selulosa setelah proses hidrolisis (selulosa diubah menjadi glukosa). Analisis selulosa menggunakan metode Chessons (Datta, 1981). Sebanyak 1 g (a) sampel kering ditambahkan 150 ml akuades, direfluk pada suhu 100°C dengan water bath selama 1 jam. Hasilnya disaring, dan residu dicuci dengan air panas sebanyak 300 ml. Residu kemudian dikeringkan dengan oven selama 30 menit, selanjutnya ditimbang (b). Residu ditambahkan 150 ml H₂SO₄ 1N kemudian direfluk dengan water bath selama 1 jam pada suhu 100°C. Hasilnya disaring dan dicuci dengan akuades lalu dikeringkan (c). Residu kering ditambahkan 10 ml H₂SO₄ 72% dan direndam pada suhu kamar selama 4 jam. Ditambahkan 150 ml H₂SO₄ 1N kemudian direfluk dengan water bath selama 1 jam pada pendingin balik. Hasilnya disaring dan dicuci dengan akuades lalu dikeringkan dan ditimbang (d). Perhitungan kadar selulosa sebagai berikut:

Kadar Selulosa =
$$\frac{c-d}{a} \times 100\%$$

4. Pengukuran Gula Tereduksi

Pengukuran gula tereduksi ini dilaksanakan di Laboratorium Teknik Lingkungan ITS Surabaya. Analisa kadar glukosa dilakukan pada tahap sebelum hidrolisis, sesudah hidrolisis dan sesudah fermentasi. Analisa kadar glukosa dilakukan sebelum dan sesudah hidrolisis guna mengetahui tingkat kenaikan kadar glukosanya sehingga dapat disimpulkan apakah proses hidrolisis berhasil atau tidak. Begitu pula hasil analisa kadar glukosa sesudah hidrolisis dan sesudah fermentasi untuk mengetahui apakah proses fermentasi berjalan sukses. Hal ini diketahui dengan tingkat penurunan kadar glukosa yang terjadi. Analisa kadar glukosa menggunakan metode Luff Schoorl. (Lampiran A.7)

5. Pengukuran Kadar Butanol

Pengukuran kadar butanol pada penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Energi dan Rekayasa Gedung Robotika ITS Surabaya. Pengukuran dilakukan setelah proses fermentasi selesai. Pengukuran ini menggunakan analisa kromatografi gas dengan temperatur detector dan injector sebesar 270 dan 230 °C. Kromatografi adalah suatu cara pemisahan lain yang penting di dalam analisa kimia. Di dalam kromatografi diperlukan adanya dua fase yang tidak saling menyampur, yaitu fasa diam dan fasa gerak. Fasa diamnya dapat

berupa suatu zat padat yang ditempatkan di dalam suatu kolom atau dapat juga berupa cairan terserap (teradsorpsi) berupa lapisan yang tipis pada butir-butir halus suatu zat padat pendukung (solid support material) yang ditempatkan di dalam kolom. Fase geraknya dapat berupa gas (gas pembawa) atau cairan.

Campuran yang akan dipisahkan komponen-komponennya, dimasukkan ke dalam kolom yang mengandung fasa diam. Dengan bantuan fase gerak, komponen campuran itu kemudian dibawa bergerak melalui fase diam di dalam kolom. Perbedaaan antar aksi atau afinitas antara komponen-komponen campuran itu dengan kedua fase, menyebabkan komponen-komponen itu bergerak dengan kecepatan berbeda mealui kolom. Akibatnya ada perbedaan kecepatan (differential migration), komponen-komponen itu terpisah satu sama lain. Cara pengoperasian alat kromatografi dapat dilihat

Rancangan penelitian yang digunakan adalah berdasarkan perlakuan penambahan enzim selulase saat proses hidrolisis, penentuan pH 5 dan 7, serta penambahan bakteri *Clostridium acetobutylicum* sebanyak 5 ml dan 10 ml dengan waktu fermentasi yang dilakukan satu kali. Parameter yang diamati adalah kadar butanol (% dalam 45 mL sampel).

pada Lampiran A.8.

Pemilihan variabel penambahan enzim pada proses hidrolisis berdasarkan studi literatur yang menyebutkan bahwa diperlukan katalis untuk menguraikan lebih cepat bahan baku yang mengandung lignoselulosa berupa selulosa untuk diurai menjadi senyawa yang lebih sederhana, yaitu glukosa sebagai materi pembentuk alkohol (Noomtim and Cheirsilp, 2011).

Pemilihan variabel pH pada kondisi awal proses fermentasi berdasarkan studi literatur yang menyebutkan pH optimum bakteri *Clostridium acetobutylicum* adalah range 4,5-5 sehingga pada penelitian ini ditetapkan pH optimum adalah 5, sedangkan pH 7 merupakan pH netral (Whitmann, 2009).

Pemilihan variabel konsentrasi penambahan bakteri *Clostridium acetobutylicum* berdasarkan studi literatur yang menyebutkan bahwa penambahan bakteri pada proses fermentasi adalah sebanyak 3-10% dari ml sampel, sehingga dari 500 ml sampel bahan fermentasi peneliti memberikan 10 % inokulum bakteri yaitu sebesar 5 ml. Sedangkan konsentrasi bakteri sebesar 10 ml adalah sebagai pembanding (Sampurno, 2012).

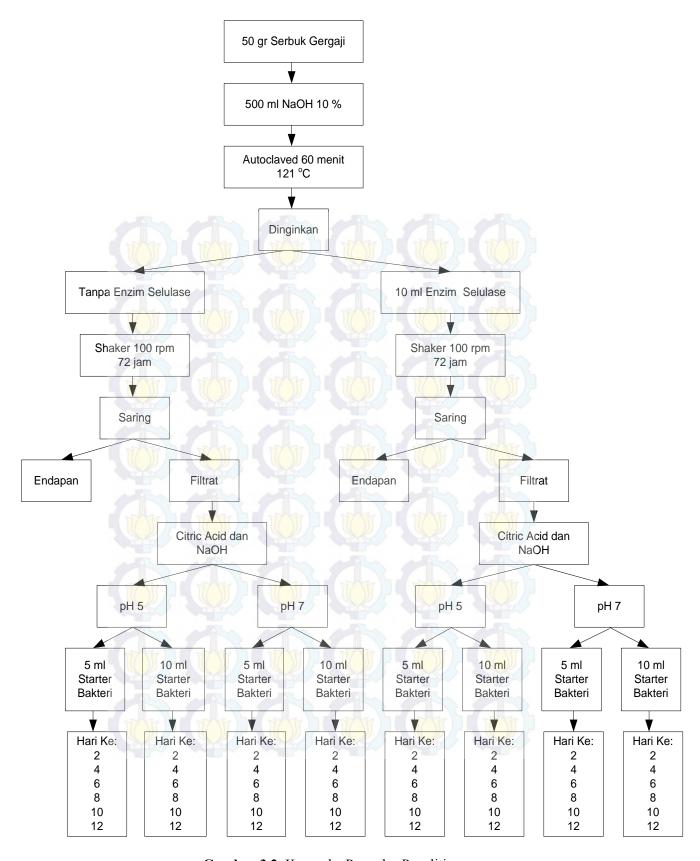
Lama waktu fermentasi berdasarkan studi literatur yang menyebutkan bahwa dalam waktu 6-8 hari, bakteri *Clostridium acetobutylicum* masih memproduksi butanol dengan proses hidrolisa enzim selulase. Sedangkan lama waktu fermentasi 8-12 hari digunakan untuk mengetahui apakah terjadi penurunan produksi butanol yang disebabkan oleh berkurangnya kadar glukosa dalam sampel sehingga bakteri kekurangan materi pembentukan alkohol, butanol (Noomtim and Cheirsilp, 2011). Kerangka prosedur penelitian dapat dilihat pada **Gambar 3.2**.

3.3. Analisa dan Pembahasan

Data yang diperoleh kemudian dibuat dalam sebuah grafik untuk kemudian dibandingkan. Dari grafik perbandingan tersebut akan dapat diketahui pengaruh penambahan enzim selulase, pH optimum, jumlah konsentrasi bakteri *Clostridium acetobutylicum* dan lama waktu fermentasi yang paling optimal menghasilkan butanol.

3.4 Kesimpulan dan Saran

Penarikan kesimpulan merupakan rangkuman dari analisa data dan pembahasan yang mengacu pada tujuan penelitian. Apabila ada hal-hal yang perlu ditindaklanjuti di kemudian hari dijelaskan pada saran.



Gambar 3.2. Kerangka Prosedur Penelitian

BAB IV ANALISA DAN PEMBAHASAN

4.1 Analisis Kadar Selulosa Serbuk Gergaji

Pada penelitian ini, komponen lignoselulosa yang dihidrolisis hanya selulosa. Hal ini disebabkan karena minimnya ketersediaan enzim hemiselulase dan enzim pendegradasi lignin (lignolitik) terdiri dari lakase (polifenol oksidase), lignin peroksidase (Li-P) dan mangan peroksidase (Mn-P) di pasaran. Selulosa merupakan salah satu komponen utama dari lignoselulosa yang terdiri dari unit monomer D-glukosa yang terikat pada ikatan 1,4-glikosidik.

selulosa serbuk Pengukuran kadar gergaji dilaksanakan di laboratorium Teknik Lingkungan ITS Surabaya. Analisis selulosa dilakukan setelah proses delignifikasi dan setelah proses hidrolisis. Analisa selulosa setelah proses delignifikasi (sebelum proses hidrolisis) dilakukan mengetahui kadar selulosa awal dari ekstrak serbuk gergaji. Delignifikasi sendiri merupakan suatu proses pembebasan lignin dari suatu senyawa kompleks lignoselulosa. Proses ini dilakukan sebelum proses hidrolisis berlangsung. Karena kandungan lignin menghambat penetrasi enzim sebelum hidrolisis berlangsung. Dengan perlakuan delignifikasi pada substrat serbuk gergaji maka selulosa alami diharapkan menjadi mudah dihidrolisis oleh enzim selulase (Gunam. 2010).

Sedangkan analisa selulosa setelah hidrolisis untuk mengetahui penurunan kadar selulosa setelah proses hidrolisis diubah menjadi glukosa). Analisis selulosa menggunakan metode Chessons (Datta, 1981). Prosedur pengukuran kadar selulosa ini berlangsung melalui beberapa tahapan pencucian menggunakan air panas dan perendaman H₂SO₄, hal ini berfungsi untuk menghilangkan kandungan lignin pada permukaan dinding sel sehingga dapat diketahui kandungan selulosa pada limbah serbuk gergaji.

Dari metode analisa Chesson ini dapat diketahui kadar selulosa dan lignin pada limbah serbuk gergaji. Namun, pada penilitian ini kadar lignin limbah selulosa diabaikan. Kadar selulosa limbah serbuk gergaji dapat dilihat pada **Tabel 4.1**.

Tabel 4.1. Kadar Selulosa Limbah Serbuk Gergaji

Penambahan	Selulosa (%)			
Enzim	Setelah Delignifikasi	Setelah Hidrolisis		
Enzim Selulase	57,6	13,7		
Tanpa Enzim Selulase	57,6	42,4		

Sumber: Perhitungan

Berdasarkan Tabel 4.1, dapat diketahui kadar selulosa limbah serbuk gergaji setelah proses delignifikasi sebesar 57,6 %. Kadar serbuk gergaji ini lebih besar dibanding literatur lain yang menyebutkan bahwa kadar selulosa serbuk gergaji sebesar 55 % (Chandel *et al.*, 2007). Sedangkan kadar selulosa setelah proses hidrolisis, mengalami penurunan yang signifikan. Penurunan kadar selulosa pada proses hidrolisis dengan penambahan enzim selulase mengalami penurunan yang signifikan yaitu sebesar 43,9%, hal ini disebabkan materi selulase sebagian telah terurai menjadi senyawa yang lebih sederhana yaitu gula dengan katalis enzim selulase. Dibanding dengan kadar selulosa pada proses hidrolisis tanpa penambahan enzim selulase, penurunan hanya sebesar 15,2 %. Hal ini disebabkan karena pada proses hidrolisis tanpa penambahan enzim selulase, tidak terjadi penguraian selulosa menjadi bentuk gula.

4.2 Analisis Gula Reduksi Limbah Serbuk Gergaji

Bahan lignoselulosa merupakan material yang susah untuk diurai secara biologi menjadi bentuk gula dikarenakan materi lignin menyelimuti seluruh bagian dinding sel. Sehingga diperlukan perlakuan pendahuluan untuk memecah lignin agar enzim dapat masuk ke dalam sel. Proses pretreatment ini disebut juga sebagai proses delignifikasi, yaitu dengan cara perendaman limbah serbuk gergaji ke dalam senyawa basa yang disertai dengan pemanasan. Senyawa basa yang dimaksud adalah larutan NaOH 10% (50 gram kristal NaOH dilarutkan dengan akuades hingga 500 ml) dan dipanaskan 121°C selama 60 menit menggunakan *autoclaved*. Oleh karena itu, sebelum penambahan enzim selulase, dilakukan proses pretreatment untuk memecah struktur kompleks dari materi lignin sehingga dapat menambah material selulosa. Material selulosa ini nantinya pada tahap hidrolisis akan diubah oleh enzim selulase menjadi bentuk yang lebih sederhana yaitu gula. Persamaan reaksi kimia proses hidrolisis selulosa menjadi gula adalah sebagai berikut:



Semakin banyak materi selulosa yang terpecah menjadi senyawa gula, maka semakin banyak gula pula yang akan direduksi oleh bakteri *Clostridium acetobutylicum*, sehingga semakin tinggi kadar butanol yang dihasilkan. Gula yang dihasilkan dari proses hidrolisis akan difermentasi oleh bakteri *Clostridium acetobutylicum* menjadi senyawa pembentuk hidrokarbon, antara lain aseton, etanol, dan butanol. Namun pada penelitian ini, yang akan dianalisis lebih dalam adalah pembentukan butanol.

Pengukuran kadar gula tereduksi dilaksanakan di laboratorium Teknik Lingkungan ITS Surabaya. Analisa kadar glukosa dilakukan pada tahap sebelum hidrolisis, sesudah hidrolisis dan sesudah fermentasi. Analisa kadar glukosa dilakukan sebelum dan sesudah hidrolisis guna mengetahui tingkat kenaikan kadar glukosa sehingga dapat disimpulkan apakah proses hidrolisis berhasil atau tidak. Hal ini disebabkan oleh materi selulosa telah terhidrolisis menjadi senyawa senyawa yang lebih sederhana yaitu gula. Begitu pula hasil analisa kadar glukosa sesudah hidrolisis dan sesudah fermentasi untuk mengetahui apakah proses fermentasi berjalan sukses vaitu ditandai dengan terjadinya penurunan kadar gula akibat sebagian materi gula telah berubah menjadi senyawa butanol, aseton, dan etanol. Analisa kadar glukosa ini menggunakan metode Luff Schoorl. Kadar gula reduksi limbah serbuk gergaji dengan berbagai perilaku dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2. Kadar Gula Reduksi Limbah Serbuk Gergaji

Penambahan	1	Konsentrasi	Gula Reduksi (%)			Kadar	
Enzim	рН	Bakteri	Sebelum Hidrolisis	Setelah Hidrolisis	Akhir Fermentasi	Butanol Akhir	
Enzim Selulase	5	5 ml	17,3	33,71	0,32		
		10 ml	17,3	33,69	0,21		
	7	5 ml	17,3	33,61	0,99	5	
		10 ml	17,3	33,76	0,97	>	
Tanpa Enzim Selulase	5	5 ml	17,3	20,62	0,22		
		10 ml	17,3	19,88	0,13		
	7	5 ml	17,3	20,31	0,09		
		10 ml	17,3	20,68	0,03),	

Sumber: Perhitungan

Berdasarkan Tabel 4.2, dapat diketahui bahwa secara umum terjadi kenaikan kadar gula reduksi selama proses hidrolisis dengan penambahan enzim selulase. Hal ini disebabkan oleh penguraian materi selulosa menjadi senyawa yang lebih sederhana yaitu gula oleh katalis enzim selulase. Sedangkan pada variasi tanpa penambahan enzim selulase (tanpa proses hidrolisis), tidak terjadi kenaikan kadar gula reduksi yang signifikan, hal ini dikarenakan oleh tidak adanya proses hidrolisis pada sampel sehingga materi selulosa hampir tidak ada yang teruraikan menjadi gula. Misalkan pada sampel penambahan enzim kadar gula reduksi mengalami kenaikan ±16,42% sedangkan pada sampel tanpa penambahan enzim selulase (tanpa proses hidrolisis) kenaikan kadar gula reduksi ±3,33%.

Selama proses fermentasi terjadi pengurangan kadar gula reduksi, hal ini disebabkan karena selama proses fermentasi terjadi konversi gula reduksi menjadi butanol, etanol, aseton dan karbon dioksida. Pada variasi penambahan enzim selulase dan tanpa penambahan enzim selulase, tidak terjadi perbedaan kadar gula reduksi yang signifikan, hal ini disebabkan seluruh gula yang terbentuk dikonversi oleh bakteri *Clostridium acetobutylicum* ke dalam bentuk butanol, karbon dioksida, dan senyawa lainnya.

Sedangkan untuk kondisi pH awal fermentasi 5 dan jumlah inokulum sebesar 10 ml terjadi konversi gula reduksi yang lebih besar dari variasi-variasi yang lain, hal ini disebabkan oleh kondisi pH optimum oleh bakteri *Clostridium acetobutylicum* untuk mencerna materi gula menjadi hasil fermentasi butanol dan jumlah bakteri yang lebih banyak untuk menguraikan gula menjadi bentuk hidrokarbon butanol.

4.3 Pengaruh Penambahan Enzim Selulase Sebagai Katalis Terhadap Kadar Butanol

Hidrolisis adalah proses penguraian zat kompleks menjadi yang lebih sederhana dengan menggunakan air untuk memisahkan ikatan kimia dari substansinya. Pada penelitian ini, proses hidrolisis menggunakan jenis hidrolisis dengan penambahan enzim. Enzim merupakan katalis dari proses biologi. Meskipun senyawa katalis dapat berubah pada reaksi awal, pada reaksi akhir molekul katalis akan kembali ke bentuk semula. Selulase merupakan enzim kompleks yang terdiri dari eksoselulose atau eksobiohidrolase, endoselulase atau endo- β -1,4-glukanase dan β -1,4-glukosidase atau selobiase yang mampu memecahkan ikatan kompleks selulosa menjadi ikatan yang lebih sederhana, yaitu selodextrin, selobiosa, dan glukosa (Anindyawati, 2009).

Pengukuran kadar butanol dilaksanakan di laboratorium Energi dan Rekayasa Gedung Robotika ITS Surabaya. Pada penelitian ini, analisa yang dilakukan hanya sebatas enzim selulase memecah ikatan kompleks selulosa menjadi gula (glukosa), sedangkan senyawa sederhana sepeti maltosa, laktosa, pentosa, selodextrin, selobiosa diabaikan. Enzim selulase yang memecahkan ikatan selulosa menjadi glukosa ini berpengaruh terhadap proses fermentasi. Yakni, glukosa yang dihasilkan pada proses hidrolisis difermentasi menjadi butanol oleh bakteri *Clostridium acetobutylicum*.

Proses hidrolisis enzim selulase berlangsung selama 3 hari dengan dilakukan pengadukan menggunakan shaker dengan kecepatan putaran 100 rpm. Sehingga enzim selulase yang dicampurkan dapat bercampur rata dengan sampel dan gula yang dihasilkan pada proses hidrolisis semakin meningkat. Setelah proses hidrolisis selama 3 hari selanjutnya sampel diatur pH-nya sesuai dengan varias sampel yaitu 5 dan 7. Selanjutnya tiap sampel ditambahkan bakteri *Clostridium actebutylicum* kemudian difermentasi hingga 12 hari. Hasil fermentasi selanjutnya dianalisis kadar butanolnya menggunakan metode gas kromatografi.

Pertama-tama temperatur detector dan inlet kromatografi diatur terlebih dahulu pada suhu 250°C. Selain itu, beberapa hal yang harus diatur pada kondisi kerja alat kromatografi adalah laju alir gas pembawa, besar arus yang melalui detector, attenuator, kecepatan kertas rekorder, dan posisi pen pada rekorder.

Penyiapan larutan standar yaitu butanol murni dilakukan dengan menggunakan jarum suntik sebanyak 1 µL dan disuntikkan ke dalam kromatograf. Ditunggu hingga terlihat titik puncak dan waktu retensi tiap senyawa yang diujikan. Selanjutnya sampel yang akan diujikan disuntikkan dengan cara yang sama ke dalam kromatografi (GC) dan diamati waktu retensi, luas puncak dan lebar puncak yang tercetak pada kertas. Luas area butanol pada sampel dibandingkan dengan luas area butanol pada larutan standar butanol. Sehingga didapatkan % kadar butanol pada sampel. Persamaan metode pembacaan kadar butanol adalah sebagai berikut:

Kadar Butanol =
$$\frac{Area[uV * S]_{sampel}}{Area[uV * S]_{N}} \times \frac{100\%}{100\%}$$

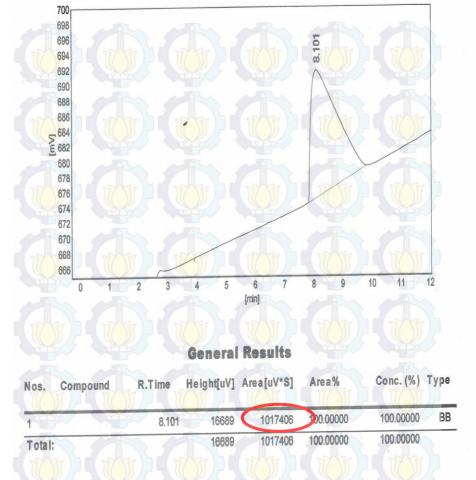
Keterangan

Area[uV*S]_{sampel} Area[uV*S]_N : Luas area N-Butanol sampel

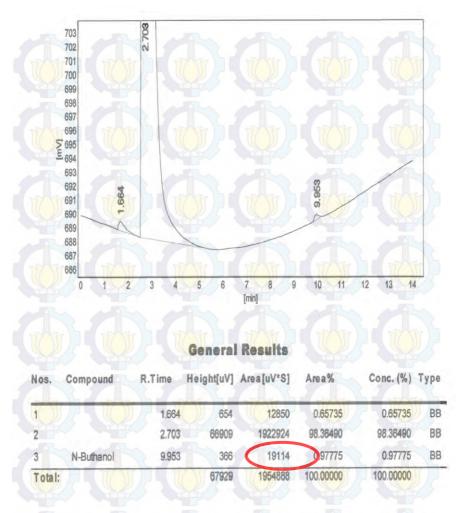
: Luas area N-Butanol larutan standar

(Surayya dan Sukandar, 2008)

Hasil analisis gas kromatografi pada larutan standar dapat dilihat pada Gambar 4.1 dan hasil analisis gas kromatografi tiap sampel dapat dilihat pada Lampiran B. Sebagai contoh, berikut adalah salah satu contoh metode pembacaan hasil analisis gas kromatografi sampel dengan variasi penambahan enzim, pH 5, dan konsentrasi bakteri 10 ml pada Gambar 4.2.



Gambar 4.1. Hasil Analisis Gas Kromatografi Larutan Standar Butanol



Gambar 4.2. Hasil Analisis Gas Kromatografi Variasi Sampel Penambahan Enzim, pH 5, dan Konsentrasi Bakteri 10 ml.

Kadar Butanol Sampel (%) =
$$\frac{19114}{1017406} \times 100\% = 1,88\%$$

Berdasarkan hasil analisis kadar butanol yang tercetak pada kertas kromatograf, didapatkan perbandingan variasi penambahan enzim dengan kadar butanol yang dihasilkan dan dapat dilihat pada **Tabel 4.3**.

Tabel 4.3. Perbandingan Kadar Butanol dengan Variasi Penambahan Enzim Selulase 10 ml

Penambahan Enzim	рН	Konsentrasi - Bakteri -	Kadar Butanol (%)					
			Lama Waktu Fermentasi (Hari)					
			2	4	6	8	10	12
Enzim Selulase	5	5 ml	0,00	0,00	0,00	0,00	1,00	1,55
		10 ml	0,00	0,00	0,00	0,00	1,34	1,88
	1	5 ml	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,07
		10 ml	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,25
Tanpa Enzim Selulase	5	5 ml	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
		10 ml	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,20
	7	5 ml	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
		10 ml	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,21

Sumber: Hasil Perhitungan

Berdasarkan tabel di atas diketahui bahwa variasi penambahan enzim selulase sangat berpengaruh terhadap proses hidrolisis. Kadar butanol pada sampel yang ditambahkan enzim selulase, pH awal fermentasi 5 dengan inokulum 10 ml menghasilkan butanol pada rentang fermentasi 10 hingga 12 hari lebih besar dari pada variasi tanpa penambahan enzim, yakni sebesar 1,88%. Hal ini disebabkan oleh enzim selulase memecahkan ikatan kompleks selulosa menjadi ikatan yang lebih sederhana yaitu gula. Gula hasil hidrolisis ini pada proses selanjutnya akan difermentasi oleh bakteri menjadi bentuk

hidrokarbon butanol. Sedangkan pada variasi hidrolisis tanpa penambahan enzim, pada rentang fermentasi 10 hari belum menghasilkan butanol. Hal ini karena kadar gula yang dihasilkan pada proses hidrolisis sangat sedikit. Sehingga kadar butanol yang dihasilkan sangat sedikit hingga mendekati angka nol.

4.4 pH Optimum untuk Fermentasi Limbah Serbuk Gergaji menjadi Biobutanol

pH sangat berpengaruh pada proses fermentasi. pH medium fermentasi penting untuk pertumbuhan bakteri, karena enzim-enzim tertentu hanya akan mengurai substrat sesuai dengan aktivitasnya pada pH tertentu yang disebut sebagai pH optimum. Oleh karena itu, pengaturan pH sangat penting dalam proses fermentasi. pH optimum pertumbuhan bakteri *Clostridium acetobutylicum* berada pada rentang 4,5-5. Pada penelitian ini, pH yang digunakan adalah pH 5 dan pH netral yaitu 7. pH awal pada proses hidrolisis >12 sehingga sebelum proses fermentasi dilakukan penyesuaian pH pada sampel sesuai dengan variasi pH awal fermentasi. Yakni menggunakan larutan citric acid 40% dan larutan NaOH 20% untuk menurunkan pH menjadi 5 dan 7. Perbandingan variasi pH awal fermentasi dengan kadar butanol yang dihasilkan dapat dilihat pada Tabel 4.3 pada sub bab 4.3.

Berdasarkan Tabel 4.3 dapat diketahui kadar butanol pada sampel pada waktu fermentasi 12 hari dengan variasi pH 5 lebih besar dari pada variasi pH 7. Hal ini disebabkan oleh rentang pH optimum bakteri *Clostridium acetobutylicum* berada pada rentang pH 4,5-5 (Whitmann, 2009). Sehingga bakteri dapat memfermentasi gula menjadi butanol. Hal ini sesuai pada penelitian sebelumnya yang menyebutkan bahwa pH fermentasi optimum bakteri *Clostridium acetobutylicum* adalah pH 5 (Noomtim and Cheirsilp, 2011). Sedangkan pada pH awal fermentasi 7 kemungkinan bakteri *Clostridium acetobutylicum* tidak aktif bekerja memproduksi senyawa butanol. Sebagian besar bakteri dengan genus Clostridium *sp.* tidak dapat hidup pada pH netral.

4.5 Pengaruh Jumlah Penambahan Inokulum Pada Proses Fermentasi Terhadap Kadar Butanol

Fermentasi butanol pada kondisi anaerob ini dilakukan pada berbagai konsentrasi inokulum yang berbeda yaitu 5 ml dan 10 ml. Bakteri yang didapat dari Laboratorium Bioteknologi UGM ini selanjutnya diinokulasi pada tabung-tabung reaksi dan diinkubasi selama 5 hari dengan suhu 37 °C. Hasil bakteri yang telah diinokulasi selanjutnya dilarutkan dengan larutan NaCl 0,5% agar membentuk fraksi cair sehingga mempermudah pada proses penambahan inokulum. Sampel yang telah dihidrolisis menggunakan atau tanpa menggunakan enzim selulase selanjutnya ditambahan dengan inokulum bakteri Clostridium acetobutylicum sesuai dengan variasi yaitu 5 dan 10 ml. Selanjutnya media fermentasi diinkubasi pada suhu 37°C dalam inkubator. Fermentasi berlangsung selama 12 hari dengan pengukuran kadar butanol setiap 2 hari sekali.

Sebagian besar, penelitan biobutanol menggunakan mikroorganisme anaerob dari Clostridium sp yang dapat mendegradasi selulosa dan hemiselulosa (Ohara, 1998). Salah satu bakteri genus Clostridium yang dapat dimanfaatkan untuk pembuatan biobutanol adalah *Clostridium acetobutylicum*. Clostridium acetobutylicum memiliki beberapa kelebihan dibandingkan dengan bakteri penghasil butanol lainnya. C.acetobutylicum merupakan bakteri anaerob, sehingga memberikan keuntungan pada proses fermentasi selulosa yang berlangsung dalam keadaan anaerob. Selain itu, bakteri C.acetobutylicum, dapat bertahan pada pH rendah, antara 4,5-5 dengan suhu optimum 37°C (Whitman, 2009). Kadar butanol vang dihasilkan dari proses fermentasi selama 12 hari dengan berbagai variasi dapat dilihat pada Tabel 4.3 dan Gambar 4.3.

Pada fermentasi glukosa oleh bakteri *Clostridium* acetobutylicum ini, glukosa diubah menjadi larutan asetonbutanol-etanol (ABE), sisa glukosa, gas CO₂, dan H₂O. Reaksi pembentukan aseton, butanol, dan etanol adalah sebagai berikut:

Aseton : $C_6H_{12}O_6 + H_2O \rightarrow C_3H_6O + 3CO_2 + 4H_2$ Butanol : $C_6H_{12}O_6 \rightarrow C_4H_{10}O + 2CO_2 + H_2O$

Etanol: $C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2C_2H_6O + 2CO_2$

(Rahma dkk, 2011)



Gambar 4.3. Grafik Kadar Butanol dari Berbagai Variasi

Keterangan:

Series 1 = Variasi Enzim Selulase, pH 5, Konsentrasi inokulum 5 ml

Series 2 = Variasi Enzim Selulase, pH 5, Konsentrasi inokulum 10 ml

Series 3 = Variasi Enzim Selulase, pH 7, Konsentrasi inokulum 5 ml

Series 4 = Variasi Enzim Selulase, pH 7, Konsentrasi inokulum 10 ml

Series 5 = Variasi Tanpa Enzim Selulase, pH 5, Konsentrasi inokulum 5 ml Series 6 = Variasi Tanpa Enzim Selulase, pH 5, Konsentrasi inokulum 10 ml

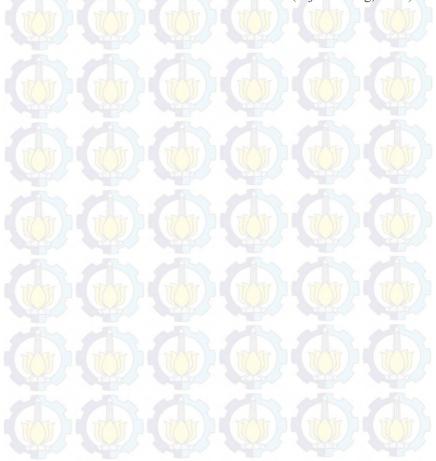
Series 7 = Variasi Tanpa Enzim Selulase, pH 7
Konsentrasi inokulum 5 ml

Series 8 = Variasi Tanpa Enzim Selulase, pH 7, Konsentrasi inokulum 10 ml

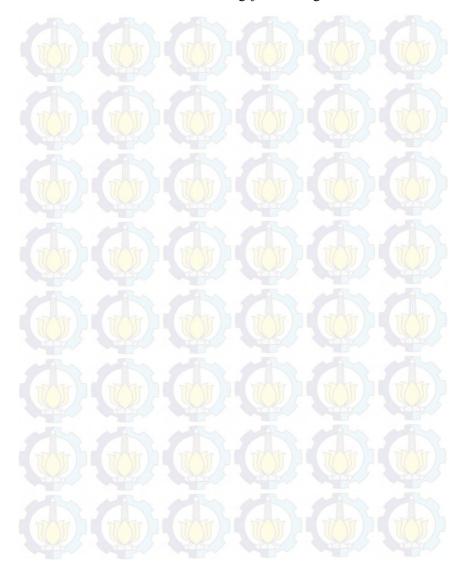
Berdasarkan **Tabel 4.3**, diketahui bahwa kadar butanol dengan konsentrasi inokulum 10 ml lebih besar dibanding dengan konsentrasi inokulum 5 ml yakni pada waktu fermentasi 12 hari, proses hidrolisis penambahan enzim dan pH awal proses fermentasi 5 sebesar 1,88%. Berbeda dengan yariasi-yariasi sampel yang lain, misalnya pada variasi penambahan enzim, pH awal 5 dengan inokulum 5 ml, kadar butanol yang dihasilkan hanya 1,55%. Hal ini disebabkan oleh jumlah bakteri yang lebih sedikit sehingga kurangnya bakteri yang memfermentasi gula menjadi senyawa butanol. Sedangkan pada variasi sampel tanpa penambahan enzim, kadar butanol yang dihasilkan sangat sedikit hingga pada kurva Gas Kromatografi sangat sulit dibaca karena mendekati angka nol.

Dari tabel 4.3 juga diketahui bahwa proses pembentukan butanol baru terjadi pada waktu fermentasi 10-12 hari. Hal ini disebabkan oleh aktifasi bakteri baru terjadi pada waktu fermentasi 10-12 hari karena keadaan inhibitor atau pengaruh kondisi ketersediaan oksigen pada proses fermentasi sehingga bakteri mengalami proses tidak aktif sehingga tidak bisa memfermentasi gula dalam sampel. Sedangkan pada penelitian sebelumnya, aktifitas bakteri memproduksi butanol sudah berlangsung pada hari ke-1 dan produksi butanol optimum pada hari ke-6 (Noomtim and Cheirsilp, 2011). Hal ini disebabkan oleh starter bakteri yang digunakan ditumbuhkan pada media yang memiliki komposisi yang sama dengan media pertumbuhan sebelumnya. Sedangkan pada penelitian ini, starter tidak ditumbuhkan pada media serbuk gergaji. Sehingga mikroorganisme membutuhkan waktu yang lebih lama untuk

beradaptasi dengan lingkungan yang baru sebelum memulai pertumbuhannya. Fase adaptasi ini disebut juga dengan fase log. Fase log ini akan pendek jika inokulum yang digunakan adalah bakteri pada media yang memiliki komposisi sama dengan media pertumbuhan sebelumnya. Inokulasi Fase log mengindikasikan waktu yang diperlukan bakteri untuk mensistesis enzim yang dibutuhkan dalam metabolisme nutrisi baru (Jujubandung, 2012).



"Halaman ini sengaja dikosongkan"



BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

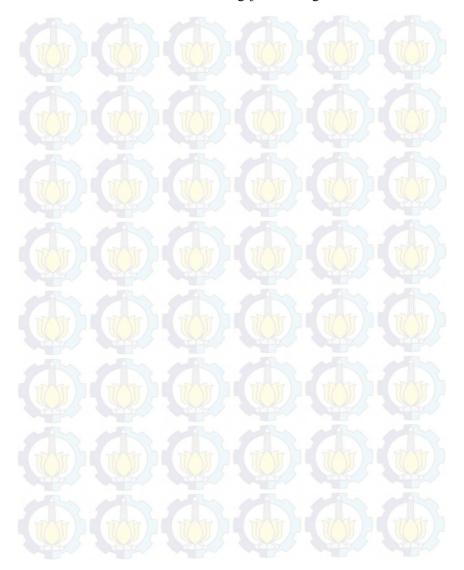
5.1 Kesimpulan

- a. Kadar gula reduksi pada proses hidrolisis dengan penambahan enzim selulase lebih besar 13% dibanding dengan proses hidrolisis tanpa penambahan enzim selulase
- b. pH optimum untuk fermentasi limbah serbuk gergaji menjadi biobutanol menggunakan bakteri *Clostridium acetobutylicum* adalah pH 5.
- c. Jumlah starter inokulum bakteri *Clostridium* acetobutylicum yang efektif pada proses fermentasi serbuk gergaji sebesar 10 ml.

5.2 Saran

- a. Sebaiknya diperlukan penelitian lebih lanjut tentang fermentasi butanol dengan menggunakan limbah bahan lignoselulosa lainnya.
- b. Perlu dicoba penelitian lebih lanjut tentang proses hidrolisis dalam berbagai kondisi, antara lain dalam kondisi asam, basa, atau proses hidrolisis lainnya.
- c. Sebaiknya diperlukan penelitian lebih lanjut tentang jumlah penambahan enzim pada proses hidrolisis.
- d. Hasil fermentasi berupa aseton dan etanol dapat dimanfaatkan untuk penelitian selanjutnya.

"Halaman ini sengaja dikosongkan"



DAFTAR PUSTAKA

- Aehle W. 2007. Enzymes in Industry: Production and Application, Third Completely Revised Edition. ISBN 978-3-527-31689-2
- Aleksic S. 2009. **Butanol Production from Biomass**. Tesis. Youngstown State University.
- Anindyawati T. 2009. Prospek Enzim dan Limbah Lignoselulosa untuk Produksi Bioetanol. Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI.
- Anindyawati T. 2010. Potensi Selulase dalam Mendegradasi Lignoselulosa Limbah Pertaniam untuk Pupuk Organik. Pusat Penelitian Bioteknologi. LIPI.
- Anonim. http://www.sbi.uni-rostock.de/research/research/research-projects/single/29/, diakses pada 21 Februari 2012.
- Antara.

 http://www.republika.co.id/berita/ekonomi/makro/11/09
 /20/lrtr20-diperkirakan-537000-barelhari-impor-bbm2012, diakses pada 21 Februari 2012.
- Arianie L., dan Idiawati N., 2011. "Penentuan Lignin dan Kadar Glukosa dalam Hidrolisis Organosolv dan Hidrolisi Asam". Sains dan Terapan Kimia, Vol.5, No. 2 (Juli 2011), 140-150.
- Azhiizhaa. http://azhiizhaa.blogspot.com/2012/03/pembuatanmedia-pengenceran-dan.html, diakses pada 20 Juli 2012
- Bamforth C.W. 2005. Food, Fermentation and Microorganisme. University of California Davis, USA.
- Cappuccino, J.G., dan Sherman N., 1983. Microbiology: a. Laboratory Manual. Addison-Wesley Publishing Company.
- Chandel, A. K., Chan E.S, Rudravaram R., Narasu M.L., Rao L.V., and Ravindra P., 2007. "Economics and Environmental Impact of Bioethanol Production

- Technologies: An Appraisal". **Biotechnology and Molecular Biology Review** Vol. 2 (1), 14-32.
- Chang W.L. 2010. Acetone-Butanol-Ethanol Fermentation by Engineered *Clostridium beijerinckii* and *Clostridium tyrobutyricum*. Tesis. The Ohio State University.
- Datta R. 1981. "Acidogenic fermentation of Lignocelluse-Acid Yield and Conversion of Components". **Biotechnology and Bioengineering** 23(9): 2167-2170.
- Gheshlaghi R., Scharer J.M., Young M. M., Chou C.P. 2009.

 "Research Reviw Paper: Metabolic Pathway of Clostridia for Producing Butanol". Biotechnology

 Advances 27: 764-781.
- Gunam, I.B.W., Buda K., Guna I.M.Y.S. 2010. "Pengaruh Perlakuan Delignifikasi dengan Larutan NaOH dan Konsentrasi Substrat Jerami Padi terhadap Produksi Enzim Selulase dari Aspergillus niger NRRL A-II, 264". Jurnal Biologi Volume XIV No.2 Desember 2010. ISSN: 1410 5292
- Haryanto T. http://tryharyantochemistry.110mb.com/Xbab1.5.htm
 http://tryharyantochemistry.110mb.com/Xbab1.5.htm
 http://tryharyantochemistry.120mb.com/Xbab1.5.htm
 http://tryharyantochemistry.120mb.co
- Instruksi Presiden Nomor 1 Tahun 2006 tentang Penyediaan dan Pemanfaatan Bahan Bakar Nabati atau Biofuel.
- Jujubandung.
 - http://jujubandung.wordpress.com/2012/06/05/kurva-pertumbuhan-bakteri/, diakses pada 23 Juni 2012.
- Krisno A. http://aguskrisnoblog.wordpress.com/2012/01/13/6498/, diakses pada 9 Februari 2012.
- Lee, S. Y., Park, J.H., Jang, S.H, Nielsen, L.K., Kim, J., Jung, K.S. 2008. "Fermentative Butanol Production by Clostridia". Biotechnology and Bioengineering 2008;101:209-228.
- Meryandini A., Widosari W., Maranatha B., Sunartis T.C., Rachmania N., dan Satria H., 2009. "Isolasi bakteri selulolitik dan karakterisasi enzimnya". **Makara Sains** 2009; 13: 33-38.

- Mosier, N., C. Wayman, B. Dale, R. Elander, Y.Y. Lee, M. Holtzapple, M. Ladisch. 2005. "Features of Promising Technologies for Pretreatment of Lignocellulose". **Biores. Technol.** 96, 673-686.
- Mousdale D.M. 2008. Biofuels: Biotechnology, Chemistry, and Sustainable Development. New York: CRC Press
- Mtui Y.S. 2009. "Recent Advances in Pretreatment of Lignocellulosic Wastes and Production of Value Added Products". **African J. of Biotechnology** Vol. 8(8), 1398-1415.
- Noomtim P., dan Cheirsilp B., 2011. "Production of Butanol from Palm Empty Fruit Bunches Hydrolyzate by Clostridium acetobutylicum". 9th Eco-Energy and Materials Science and Engineering Symposium. Energy Procedia 9: 140-146.
- Ohara, H., Karita S., Kimura T., Sakka K., and Ohmiya K., 1998. "Cellulase Complex from Ruminococcus albus".

 Annual Report IC Biotech Vol. 21. 358-370.
- Peraturan Presiden Nomor 5 Tahun 2006 tentang Kebijakan Energi Nasional.
- Qureshi N, Saha B.C., Cotta M.A. 2007. "Butanol Production from Wheat Straw Hydrolysate Using Clostridium beijerinckii". Original Paper Bioprocess Biosyst Eng 30: 419-427.
- Qureshi N., Ezeji T.C., Ebener J., Dien B.S., Cotta M.A., Blaschek H.P. 2008. "Butanol production by Clostridium beijerinckii". Part I: use of acid and enzyme hydrolyzed corn fiber. **Bioresour Technol** 99: 5915-5922.
- Rahma A., Junita D., Wuri L., 2011. **Pabrik Biobutanol dari Ubi Kayu**. TA. Program Studi Teknik Kimia-ITB.
- Saha B.C. 2003. "Hemicellulose Bioconversion". J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 30: 279-291.

- Saha B.C. 2004. **Lignocellulose Biodegradation and Application in Biotechnology**. US Government Work.

 American Chemical Society. 2-14.
- Sampurno

 http://pojokkampusblog.blogspot.com/2012/04/perananmikroba-dalam-proses-fermentasi.html, diakses pada 23
 April 2012.
- Steen E.J., Chan R., Prasad N., Myers S., Petzold C.J., Redding A., Ouellet M., dan Keasling J.D. 2008. "Research: Metabolic Engineering of Saccharomyces cerevisiae for the Production of n-Butanol". Microbial Cell Factories 7:36.
- Surayya, L., dan Sukandar, D., 2008. "Konversi Pati Ganyong (*Canna edulis* Ker.) Menjadi Bioetanol melalui Hidrolisis Asam dan Fermentasi". **Biodiversitas** Vol. 9, No. 2, April 2008, hal. 112-116.
- Whitman W.B. 2009. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2nd edition Volume: 3 The Firmicutes. New York
- Yokoyama S. 2008. The Asian Handbook: A Guide for Biomass Production and Utilization. The Japan Institute of Energy.

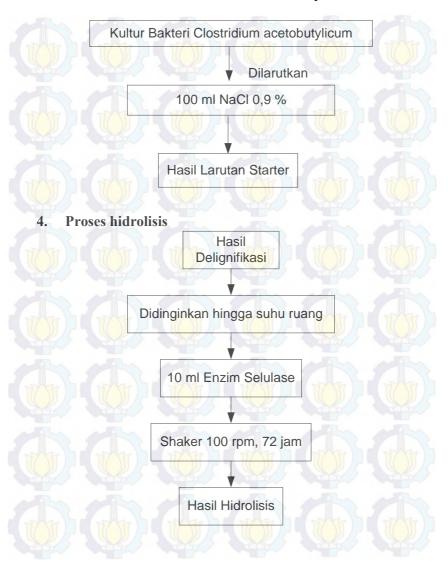


1. Delignifikasi limbah serbuk gergaji

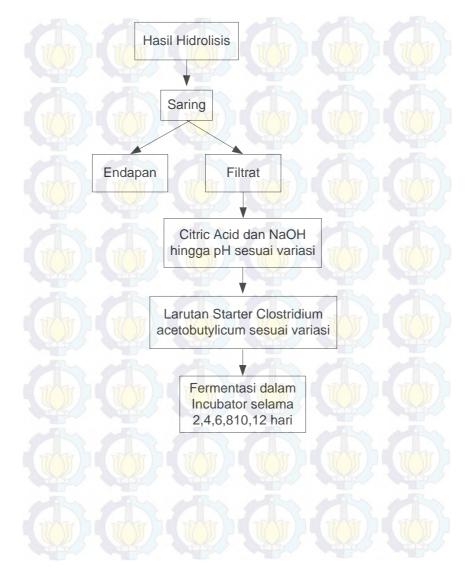




3. Pembuatan Starter Clostridium acetobutylicum



5. Proses Fermentasi



6. Pengukuran Kadar Selulosa

- a) Sebanyak 1 g (a) sampel kering ditambahkan 150 ml akuades
- b) Refluk pada suhu 100 °C dengan water bath selama 1 jam
- c) Saring hasil, dan cuci residu dengan air panas sebanyak 300 ml
- d) Residu dikeringkan dengan oven selama 30 menit, selanjutnya ditimbang (b)
- e) Residu ditambahkan 150 ml H₂SO₄ 1N
- f) Kemudian refluk dengan water bath selama 1 jam pada suhu 100°C
- g) Saring hasilnya dan cuci dengan akuades lalu dikeringkan dan ditimbang (c).
- h) Residu kering ditambahkan 10 ml H₂SO₄ 72%
- i) Rendam pada suhu kamar selama 4 jam.
- j) Tambahkan 150 ml H₂SO₄ 1N
- k) Kemudian refluk dengan water bath selama 1 jam pada pendingin balik
- Saring hasilnya dan cuci dengan akuades lalu dikeringkan dan ditimbang (d)
- m) Perhitungan kadar selulosa sebagai berikut:

Kadar Selulosa =
$$\frac{c-d}{a} \times 100\%$$

7. Pengukuran Gula Tereduksi

- a) Ambil 5 gram sampel, masukkan kedalam erlenmeyer
- b) Tambahkan aquades hingga 100 ml.
- c) Tambahkan 10 ml larutan luff (Larutan Fehling)
- d) Panaskan hingga mendidih selama 10 menit
- e) Setelah dingin,ditambahkan 1 gram kristal KI dan 10 ml larutan H2SO4 pekat
- f) Tutup rapat selama 10 menit
- g) Tambahkan indikator amilum 1 ml
- h) Titrasi dengan Natrium Tiosulfat 0,1 N sebagai titran hingga warna biru kehitaman hilang pertama kali
- i) Volume larutan natrium tiosulfat yang digunakan sebagai sebagi titran untuk sampel sampel = a ml
- j) Pada blanko, dilakukan prosedur yang sama dengan perlakuan sampel
- k) Volume larutan Natrium Tiosulfat yang digunakan sebagai titran untuk blanko= b ml
- l) Penggunaan Natrium Tiosulfat : (b-a) ml
- m) Gula reduksi yang terkandung pada sampel identik dengan (b-a) ml
- n) Kemudian di konverikan ke tabel luff sehingga didapatkan mg glukosa

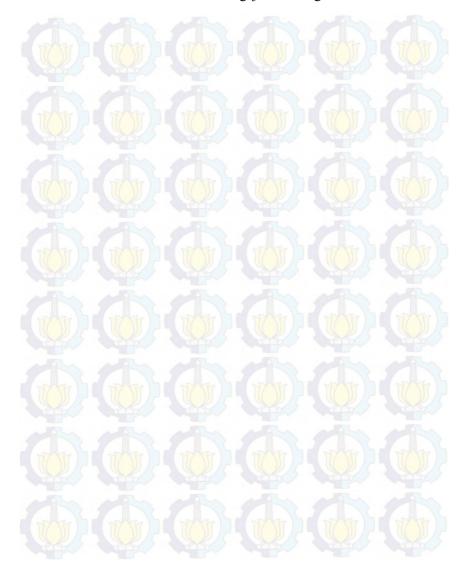
% Kadar gula =
$$\frac{mg.glukosa \times 20 \times 100\%}{5000mg}$$

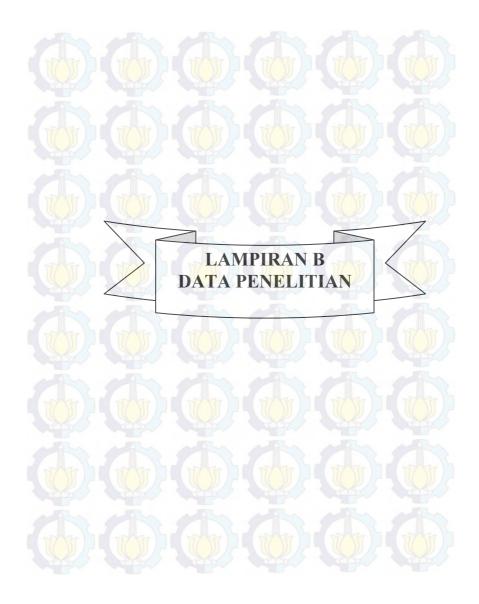


8. Cara Pengoperasian Alat Kromatografi Gas

- a) Nyalakan transformator/power supply. Tekan tombol "on" pada alat GC-MS berturut-turut pada Ion Gauge (IG), MS dan GC. Alirkan gas He. Hidupkan pula computer, monitor dan printer.
- b) Pilih menu Class 5000, klik vacum control dan jalankan auto start up.
- c) Aktifkan GC-MS monitor, set temperatur injector, kolom dan detektor. Tunggu hingga tekanan vakum dibawah 5 kPa.
- d) Aktifkan tuning, klik auto tune, load method yang akan digunakan, klik start tunggu beberapa start samapai hasilnya di print out, setelah selesai klik close tuning.
- e) Aktifkan method development, set GC parameter, set MS parameter, save method yang akan dideskripsikan, klik exit
- f) Aktifkan real time analysis, pilih single sample parameter, isi deskripsi yang diinginkan.
- g) Lakukan send parameter. Tunggu hingga GC dan MS ready, kemudian lakukan injeksi sampel.
- h) Tunggu hingga analisis selesai.
- i) Aktifkan Post run analysis, pilih browser untuk analisis sampel secara kualitatif. Load file yang akan dianalisa, lakukan pengaturan peak top comment (peak label) dan lakukan reintegrasi. Pilih display spektrum search pada peak tertentu. Lakukan report pada yang bagian yang diinginkan.
- j) Untuk mengakhiri, dinginkan temperatur injector, kolom dan detektor pada GC-MS monitor sampai temperatur ruangan (30°C). Bila sudah terkontrol, klik vacum control, lakukan auto shut down.
- k) Matikan perangkat alat dengan urutan : computer, GC, MS IG dan gas He.

"Halaman ini sengaja dikosongkan"





1. Perhitungan Kadar Selulosa Serbuk Gergaji



Keterangan:

a = Sampel kering serbuk gergaji (gram)

c = Sampel kering setelah proses pencucian

akuades awal (gram)

d = Sampel kering setelah proses pencucian akuades akhir (gram)

a) Setelah Proses Delignifikasi (Tanpa Enzim)

Kadar Selulosa
$$= \frac{0.580gr - 0.156gr}{1gr} \times 100\%$$

$$= \frac{0.424gr}{1gr} \times 100\%$$

$$= 42.4 \%$$

b) Setelah Proses Delignifikasi (Dengan Enzim)

Kadar Selulosa
$$= \frac{0,441gr - 0,123gr}{1gr} \times 100\%$$
$$= \frac{0,318gr}{1gr} \times 100\%$$
$$= 31,7 \%$$

2. Perhitungan Gula Reduksi

				Gula Reduksi (%)								
Penambahan	рН	Konsentrasi	Sebelum Hidrolisis		DATE:	Setelah Hidro	lisis	Akhir Fermentasi				
Enzim	r	Bakteri	Titrasi (ml)	Tabel Luff (mg)	Gula Reduksi (%)	Titrasi (ml)	Tabel Luff (mg)	Gula Reduksi (%)	Titrasi (ml)	Tabel Luff (mg)	Gula Reduksi (%)	
	5	5 ml	6	14,7	5,88	8	19,8	7,92	2,6	6,24	2,496	
Enzim		10 ml	6	14,7	5,88	8	19,8	7,92	2,5	6	2,4	
Selulase	7	5 ml	6	14,7	5,88	8	19,8	7,92	3	7,2	2,88	
		10 ml	6	14,7	5,88	8	19,8	7,92	3,5	8,45	3,38	
	5	5 ml	6	14,7	5,88	6	14,7	5,88	2,8	6,72	2,688	
Tanpa Enzim	5	10 ml	6	14,7	5,88	6	14,7	5,88	2,5	6	2,4	
Selulase	7	5 ml	6	14,7	5,88	6	14,7	5,88	3,3	7,95	3,18	
		10 ml	56	14,7	5,88	6	14,7	5,88	3,8	9,2	3,68	

3. Tabel Luff

Na ₂ S ₂ O ₄ , 0, 1	Glukosa, Fruktosa Gula inversi	Laktosa	Maltosa
mi	mg		
01	2.4	3,6	3,9
727	4,8	1,3	7.8
3	7,2	11,0	11,7
4	9,7	14,7	15,6
5	12,2	18,4	19,6
5	14,7	22,1	23,5
	17,2	25,8	27,5
8	19,8	29,5	31,5
q	22,4	33,2	35,5
107	25.0	37.0	39,5
11	27,6	40.8	43,5
12	30,3	44,6	47,5
13	33,0	48,6	31,6
14	17.357	52,2	55,7
15	38.5	56,0	59,8
15	41.3	59,9	63,9
17	44.2	63,8	88,0
187	47,1	67,7	72,2
14	50,0	701	70,5
20	53,0	75,1	80.9
21	56,0	79,8	85,4
22	59.1	83,9	90,0
23	62,2	88,0	94,5

4. Perhitungan Kadar Butanol

Kadar Butanol =
$$\frac{Area[uV * S]_{sampel}}{Area[uV * S]_{N}} \times 100\%$$

Keterangan

Area[uV*S]_{sampel} Area[uV*S]_N : Luas area N-Butanol sampel

: Luas area N-Butanol larutan

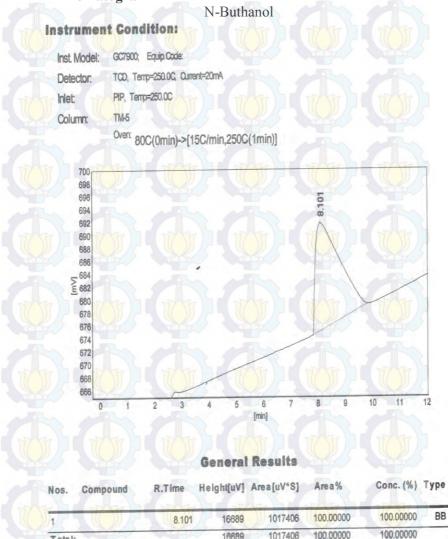
standar

5. Kadar Butanol dengan Metode Gas Kromatografi

Penambahan	DATE	Konsentrasi	Lama Waktu Fermentasi (Hari)							
Enzim	pH	Bakteri	5 2	45	6	8	10	5 12		
	5	5 ml	0,00	0,00	0,00	0,00	1,00	1,55		
Enzim	3	10 ml	0,00	0,00	0,00	0,00	1,34	1,88		
Selulase	7	5 ml	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5 1,07		
		10 ml	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,25		
	5	5 ml	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
Tanpa Enzim		- 10 ml	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	_ <mark>0,20</mark>		
Selulase	7	5 ml	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
		10 ml	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,21		

Total:

6. Pengukuran Butanol dengan Metode Hasil Kromatografi

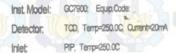


16689

1017408

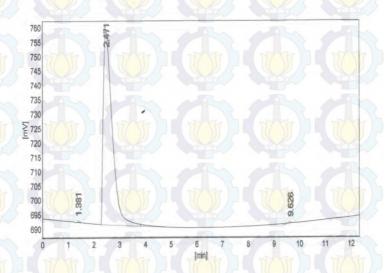
100,00000

Sampel 1



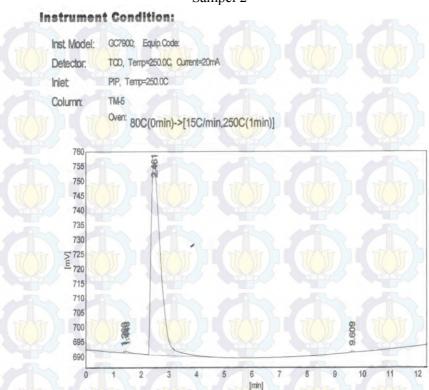
Column: TM-5

Oven: 80C(0min)->[15C/min,250C(1min)]

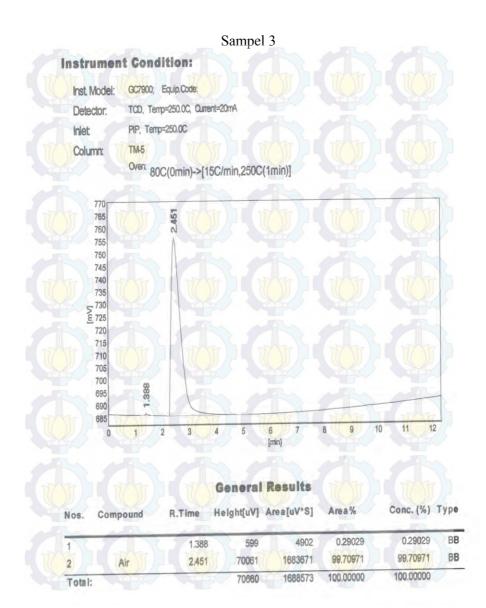


Nos. Compound	R.Time	Height[uV]	Area[uV*S]	Area%	Conc. (%)	Туре
1	1.381	177	969	0.05876	0.05876	BB
2	2.471	67254	1640960	99.55410	99.55410	BB
3	9.626	308	6381	0.38714	0.38714	BB
Total:		67739	1648310	100.00000	100.00000	11/10

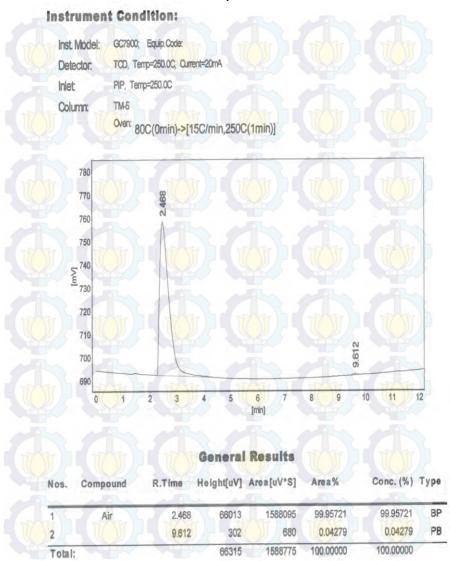
Sampel 2

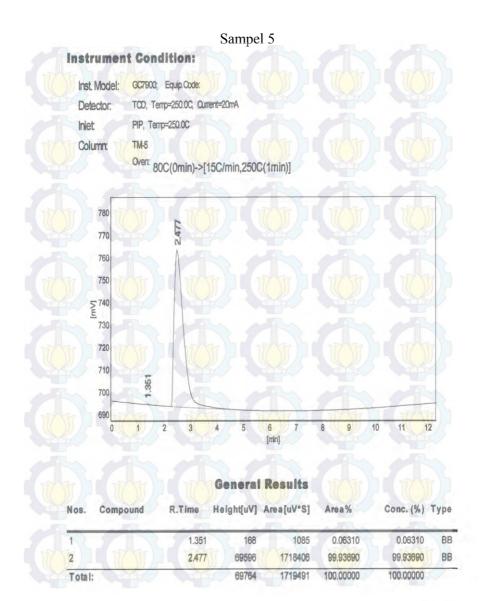


Nos.	Compound	R.Time	Height[uV]	Area[uV*S]	Area%	Conc. (%)	Туре
1		1.360	260	398	0.02490	0.02490	BV
2		1.443	543	6575	0.41131	0.41131	VB
3	Air	2.461	65944	1588679	99.37525	99.37525	BB
4		9.609	277	3014	0.18854	0.18854	BB
Total			67024	1598668	100.00000	100.00000	

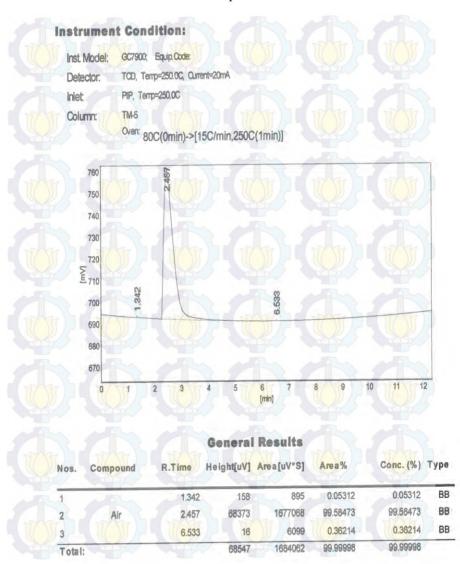


Sampel 4

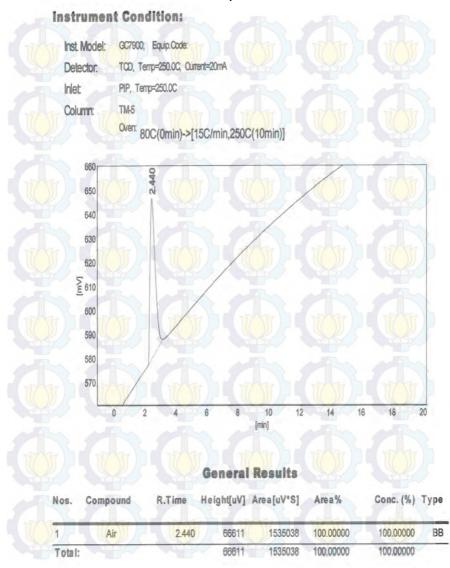




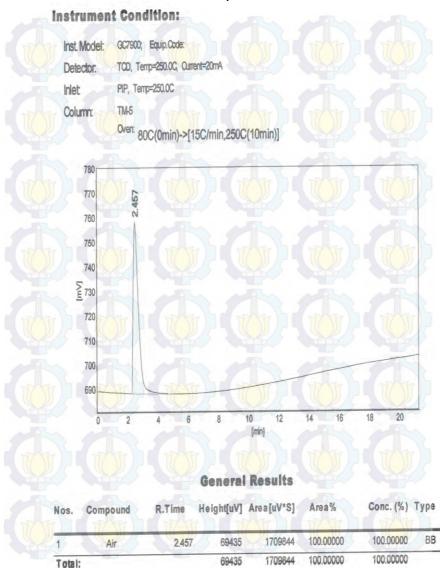
Sampel 6



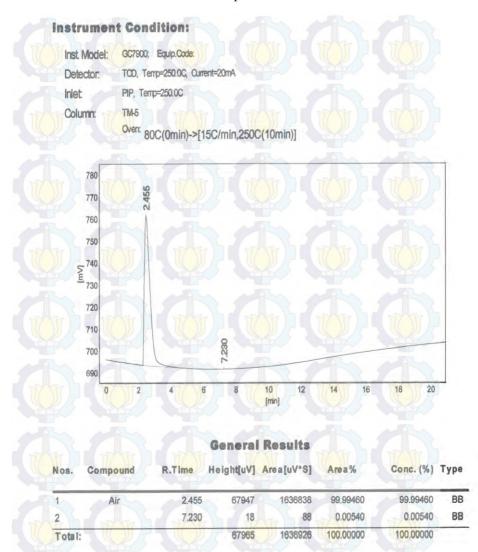
Sampel 7



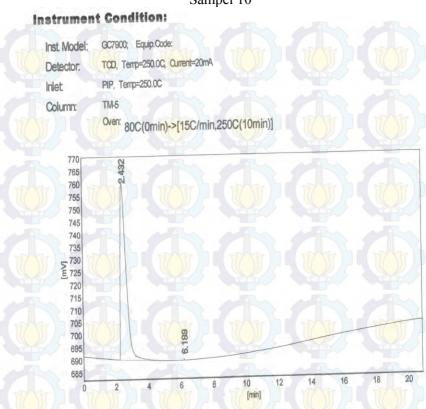
Sampel 8



Sampel 9

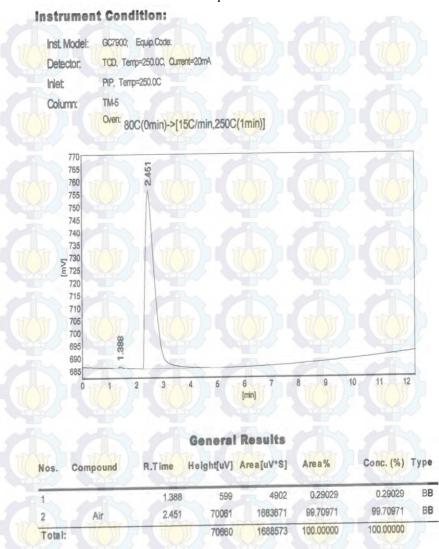


Sampel 10



			General	Kesuits			
Nos.	Compound	R.Time	Height[uV]	Area [uV*S]	Area%	Conc. (%)	Туре
2		2,432	70392	1704277	99.64668	99.64668	BB
1	Air	6.189		6043	0.35332	0.35332	BB
2 Total			70409	1710320	100.00000	100.00000	

Sampel 11

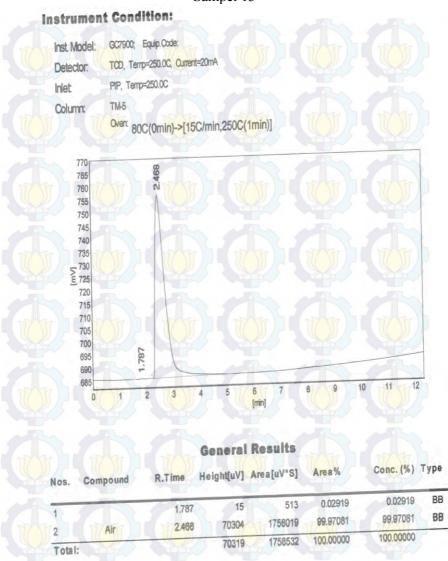


Sampel 12 Instrument Condition: Inst Model: GC7900; Equip.Code: TCD, Temp=250.0C, Ourrent=20mA Detector. PIP, Temp=250.0C Inlet Column: TM-5 Oven: 80C(0min)->[15C/min,250C(1min)] 780 770 760 750 740 ₹ 730 720 710 700 2

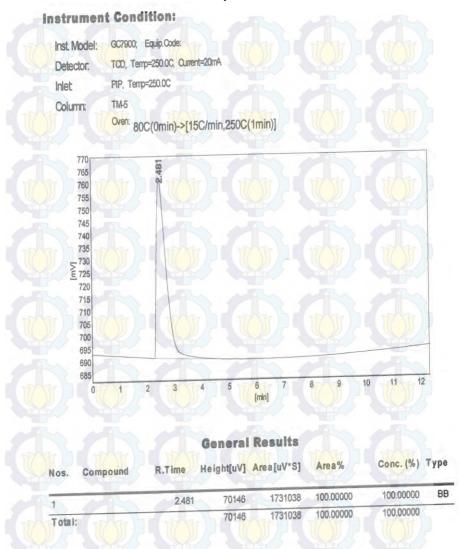
General	Beaut	60
General	Weami	12

Nos.	Compound	R.Time	Height[uV]	Area[uV*S]	Area%	Conc. (%)	Туре
1		(1.398	567	4912	0.31474	0.31474	BB
2		1.993	160	558	0.03576	0.03576	BB
3	Air	2.449	65003	1541454	98.77744	98.77744	BB
4	N-Buthanol	9.626	182	13609	0.87206	0.87206	BB
Total			65912	1560533	100.00000	100.00000	

Sampel 13



Sampel 14



Sampel 15

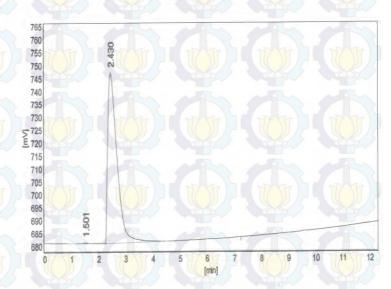


Detector: TCD, Temp=250.0C, Ourrent=20mA

Inlet PIP, Temp=250.0C

Column: TM5

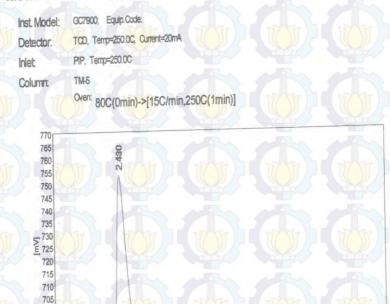
Oven: 80C(0min)->[15C/min,250C(1min)]



Nos.	Compound	R.Time	Height[uV]	Area[uV*S]	Area%	Conc. (%)	ype
1		1.501	162	5302	0.33547	0.33547	BB
2	Air	2.430	65679	1575275	99.66453	99.86453	BB
Total:		132	65841	1580577	100.00000	100.00000	

Sampel 16





General Results

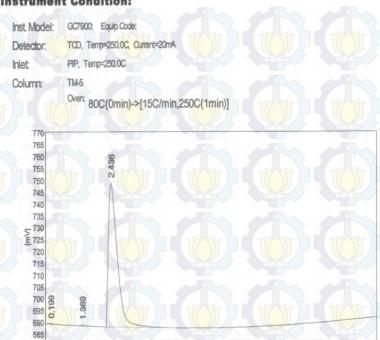
[min]

Nos.	Compound	R.Time	Height[uV]	Area[uV*S]	Area%	Conc. (%)	Туре
2		1.393	143	3656	0.22292	0.22292	BV
1	Air	2.430		1636569	99.77708	99.77708	VB
Total		77/17	66806	1640225	100.00000	100.00000	

11

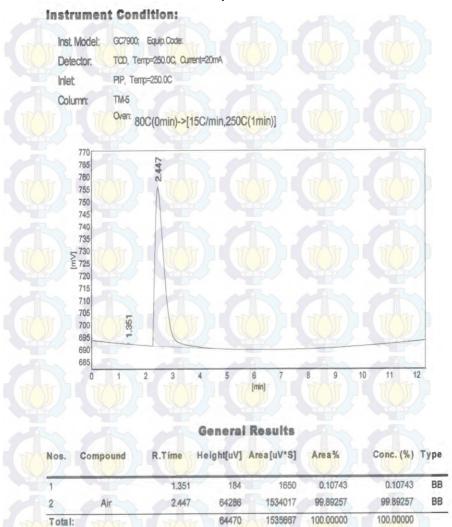
Sampel 17

Instrument Condition:



Nos.	Compound	R.Time	Height[uV]	Area[uV*S]	Area%	Conc. (%)	Туре
1		0.199	71	181	0.01285	0.01285	ВВ
2		1.369	197	1890	0,13447	0.13447	88
3	Air	2.436	60622	1403288	99.85268	99.85268	BB
Total		9	60890	1405359	100,00000	100.00000	1

Sampel 18



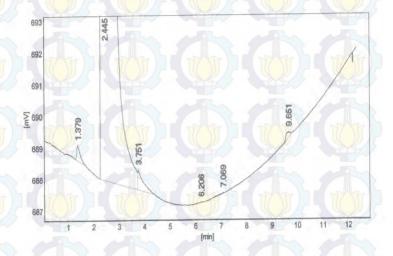
Sampel 19



Inlet: PIP, Temp=250.0C

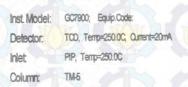
Column: TM-5

Oven: 80C(0min)->[15C/min,250C(1min)]

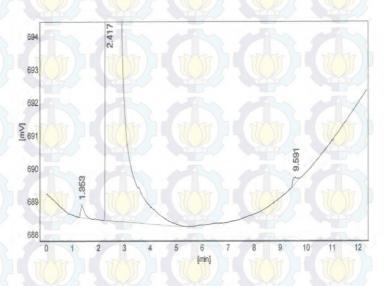


Nos.	Compound	R.Time	Height[uV]	Area[uV*S]	Area%	Conc. (%)	Туре
1		1.379	474	4523	0.29825	0.29825	BB
2	Air	2.445	63669	1498676	98.81926	98.81926	BV
3		3.751	616	10370	0.68377	0.68377	VB
4		6.206	7	449	0.02963	0.02963	BB
5		7.069	22	437	0.02878	0.02878	BB
6	N-Buthanol	9.651	174	2128	0.14030	0.14030	BB
Total		-	64962	1516583	99.99998	99.99998	1

Sampel 20

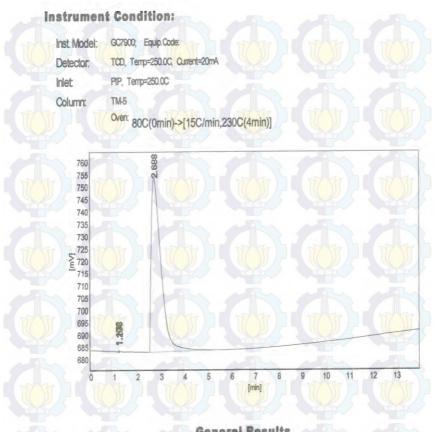


Oven: 80C(0min)->[15C/min,250C(1min)]



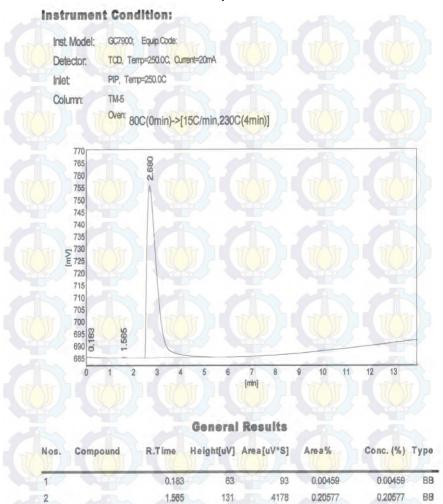
Nos.	Compound	R.Time	Height[uV]	Area[uV*S]	Area%	Conc. (%)	Туре
1		1.353	364	3428	0.25149	0.25149	BB
2	Air	2.417	57500	1357278	99.58867	99.58867	BB
3	N-Buthanol	9.591	175	2178	0.15983	0.15983	BB
Total	1:	5	58039	1362884	99.99998	99,99998	5

Sampel 21



		General	Keanita			
Nos. Compoun	d R.Time	Height[uV]	Area[uV*S]	Area%	Conc. (%)	Type
1	1,172	321	303	0.01488	0.01488	ВВ
2	1,206	231	314	0.01543	0.01543	BB
3	2.688	70611	2033956	99.96969	99.96969	BB
Total:	1	71163	2034573	100.00000	100.00000	15

Sampel 22



2.680

Total:

70268

70462

2026246

2030517

99.78964

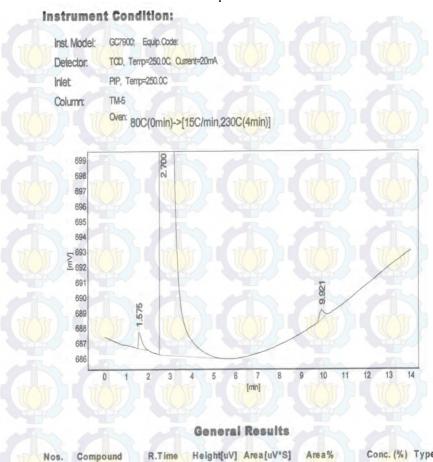
100.00000

99.78964

100.00000

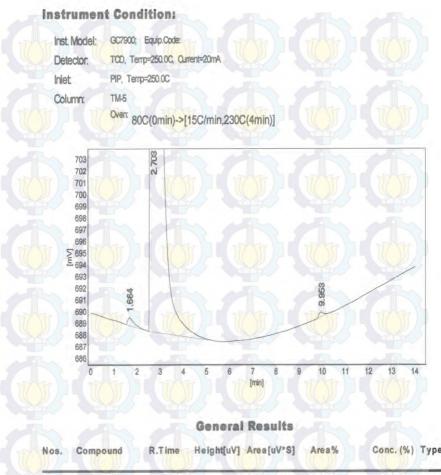
BB

Sampel 23



Compound	R.Time	Height[uV]	Area[uV*S]	Area%	Conc. (%)	Туре
	1.575	1048	11924	0.58822	0.58822	ВВ
	2.700	69536	1999453	98.63604	98.63604	BB
N-Buthanol	9,921	581	15725	0.77574	0.77574	BB
ilia	70	71165	2027102	100.00000	100.00000	15
	N-Buthanol	1.575 2.700 N-Buthanol 9.921	1.575 1048 2.700 69536 N-Buthanol 9.921 581	1.575 1048 11924 2.700 69536 1999453 N-Buthanol 9.921 581 15725	1.575 1048 11924 0.58822 2.700 69536 1999453 98.63804 N-Buthanol 9.921 581 15725 0.77574	1.575 1048 11924 0.58822 0.58822 2.700 69536 1999453 98.63604 98.63604 N-Buthanol 9.921 581 15725 0.77574 0.77574

Sampel 24

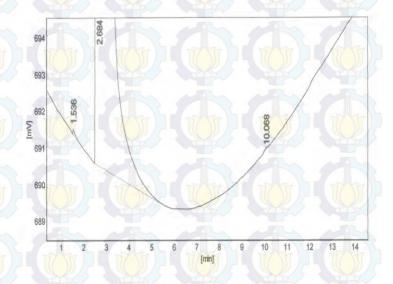


Nos.	Compound	R.Time	Height[uV]	Area[uV*S]	Area%	Conc. (%)	Туре
1		1.664	654	12850	0.65735	0.65735	ВВ
2		2.703	66909	1922924	98.36490	98.36490	BB
3	N-Buthanol	9.953	366	19114	0.97775	0.97775	BB
Tota	1:5	70	67929	1954888	100.00000	100.00000	5

Sampel 25

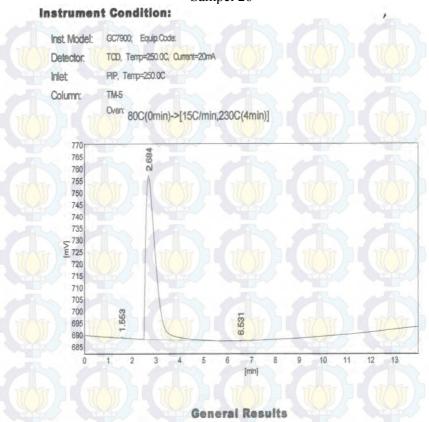


Oven: 80C(0min)->[15C/min,230C(4min)]



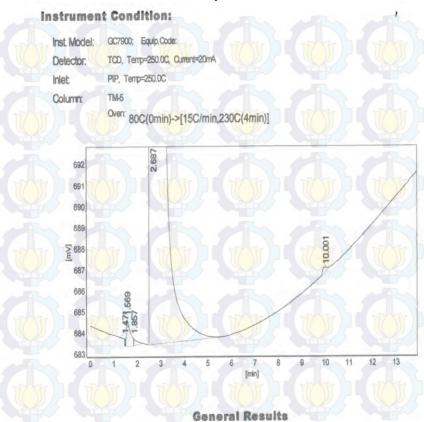
Nos.	Compound	R.Time	Height[uV]	Area[uV*S]	Area%	Conc. (%)	Туре
1		1.536	132	724	0.03816	0.03816	BB
2		2.684	66853	1896594	99.94715	99.94715	BB
3		10.068	30	279	0.01468	0.01468	BB
Total:		1	67015	1897597	99.99999	99.99999	0





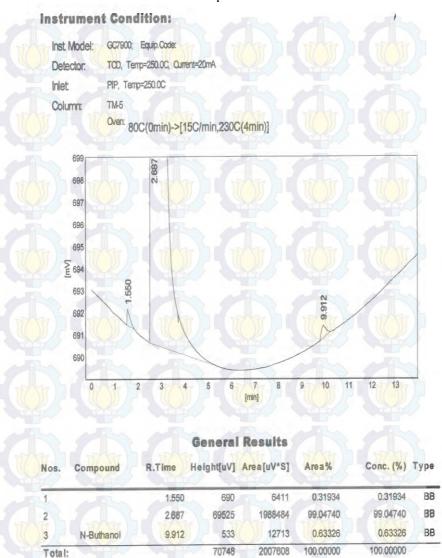
Nos.	Compound	R.Time	Height[uV]	Area[uV*S]	Area%	Conc. (%)	Туре
1		1.553	160	1588	0.08066	0.08066	ВВ
2		2.684	68685	1965153	99.81007	99.81007	BB
3		6.531	153	2151	0.10927	0.10927	BB
Total			68998	1968892	100.00000	100.00000	1

Sampel 27

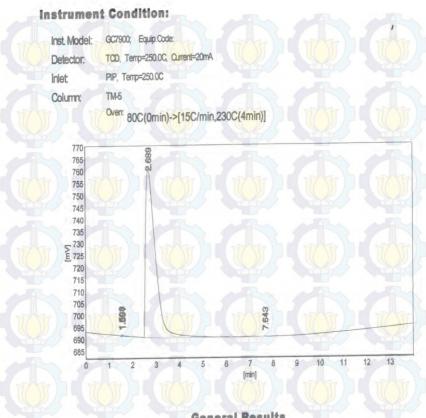


Nos. Compou	nd R.Time	Height[uV]	Area[uV*S]	Area%	Conc. (%)	Туре
1	1.471	315	404	0.01919	0.01919	BB
2	1.569	1198	14103	0.66929	0.66929	88
3	1.857	314	3391	0.16095	0.16095	BB
4	2.687	72386	2089269	99.14934	99,14934	BB
5	10.001	225	26	0.00123	0.00123	BB
Total:		74438	2107193	100.00000	100,00000	

Sampel 28

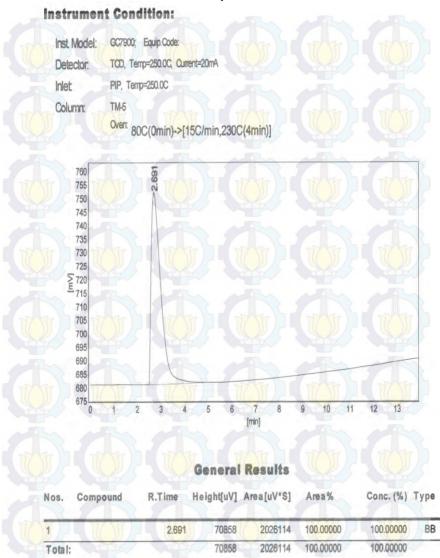


Sampel 29



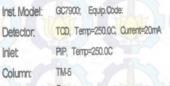
Nos.	Compound	R.Time	Height[uV]	Area[uV*S]	Area%	Conc. (%)	Туре
1		1.508	317	200	0.00997	0.00997	ВВ
2		1.557	363	4505	0.22434	0.22434	BB
3		2.689	69970	2003443	99.76021	99.76021	BB
4		7.643	16	110	0.00548	0.00548	BB
Total:			70686	2008258	100.00000	100.00000	3

Sampel 30

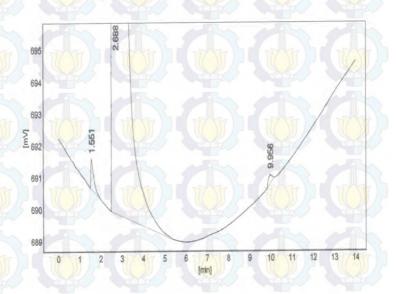


Sampel 31

Instrument Condition:

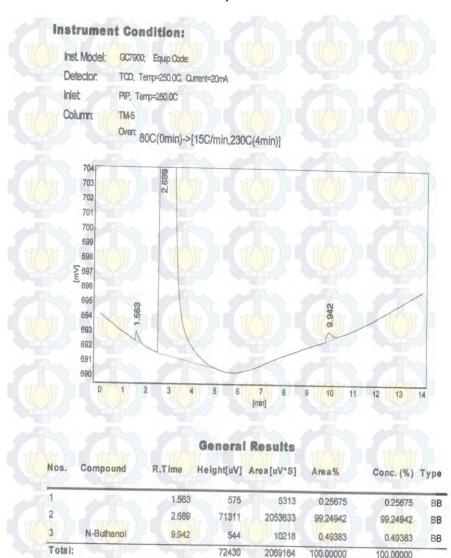


Oven: 80C(0min)->[15C/min,230C(4min)]

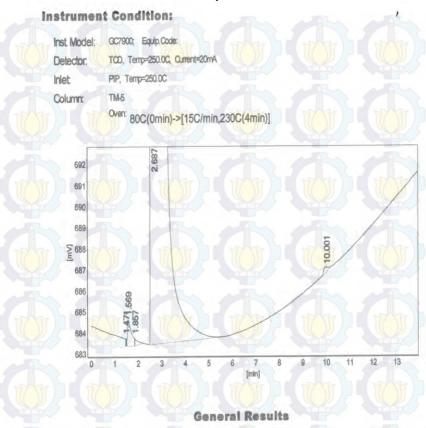


			General	Results			
Nos.	Compound	R.Time	Helght[uV]	Area[uV*S]	Area%	Conc. (%)	Туре
1		1.551	927	8655	0.41783	0.41783	BB
2		2.688	71245	2051963	99.05871	99.05871	BB
3	N-Buthanol	9.956	288	10843	0.52346	0.52346	BB
Total			72460	2071461	100.00000	100.00000	

Sampel 32

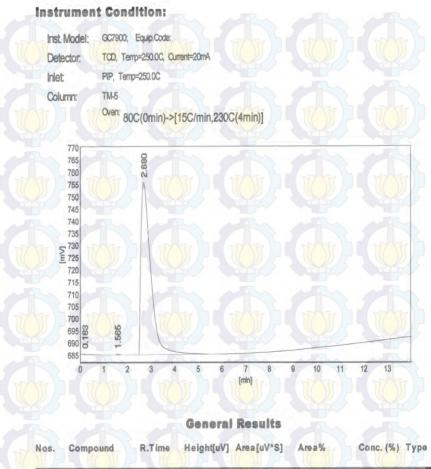


Sampel 33



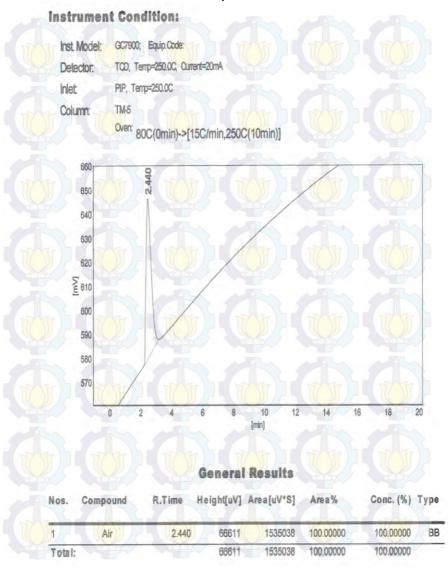
Nos. Compou	nd R.Time	Height[uV]	Area[uV*S]	Area%	Conc. (%)	Туре
1	1.471	315	404	0.01919	0.01919	BB
2	1.569	1198	14103	0.66929	0.66929	BB
3	1.857	314	3391	0.16095	0.16095	BB
4	2.687	72386	2089269	99.14934	99,14934	BB
5	10.001	225	26	0.00123	0.00123	BB
Total:		74438	2107193	100.00000	100,00000	

Sampel 34

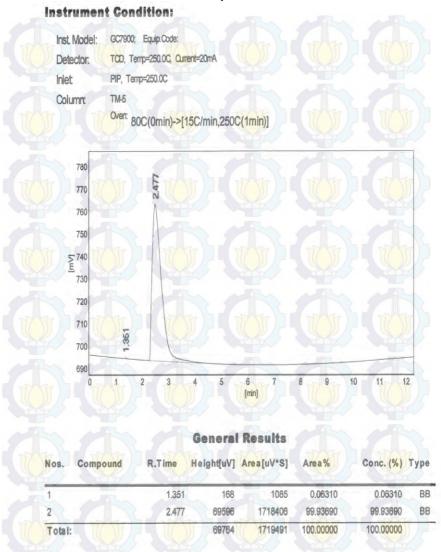


Nos. Con	npound	R.Time	Height[uV]	Area[uV*S]	Area%	Conc. (%)	Туре
1		0.183	63	93	0.00459	0.00459	BB
2		1.565	131	4178	0.20577	0.20577	88
3		2.680	70268	2026246	99.78964	99.78964	BB
Total:			70462	2030517	100.00000	100.00000	1/5

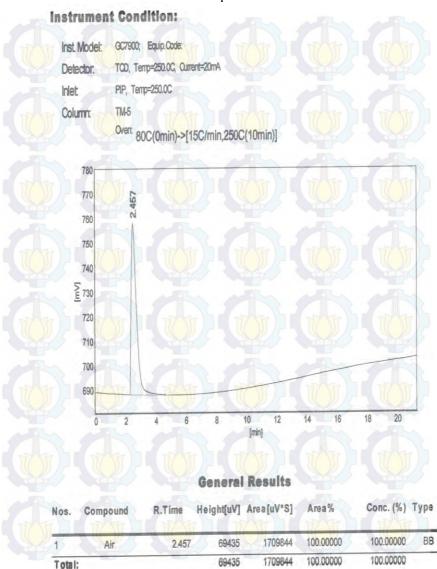
Sampel 35



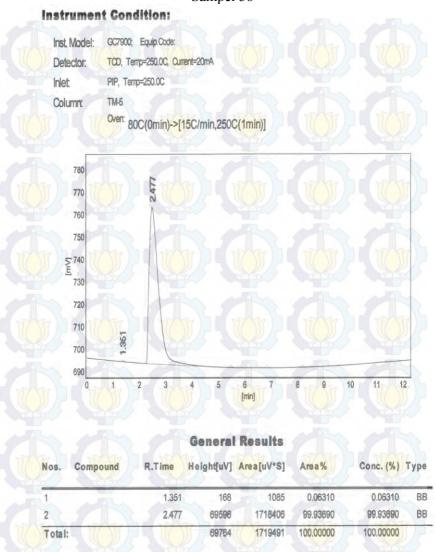
Sampel 36



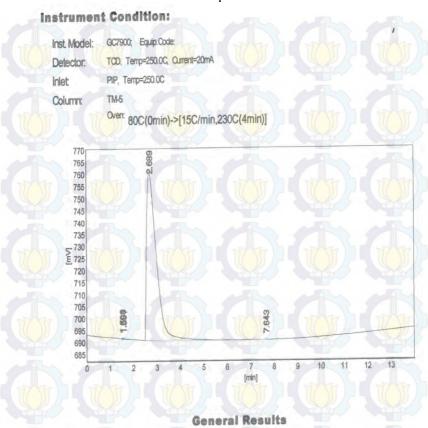
Sampel 37



Sampel 38

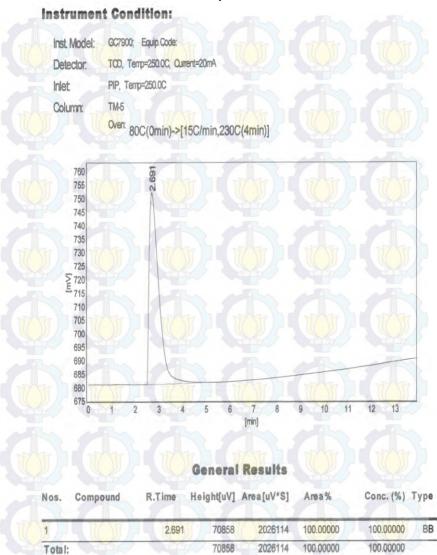


Sampel 39

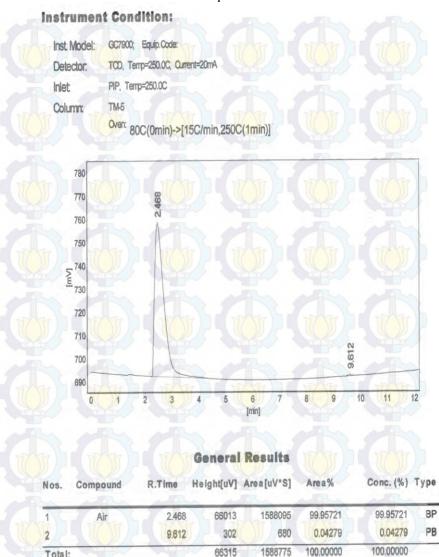


Nos.	Compound	R.Time	Height[uV]	Area[uV*S]	Area%	Conc. (%)	Туре
1		1.508	317	200	0.00997	0.00997	ВВ
2		1.557	363	4505	0.22434	0.22434	88
3		2.689	69970	2003443	99.76021	99.76021	BB
4		7.643	16	110	0.00548	0.00548	BB
Total			70686	2008258	100.00000	100.00000	35

Sampel 40

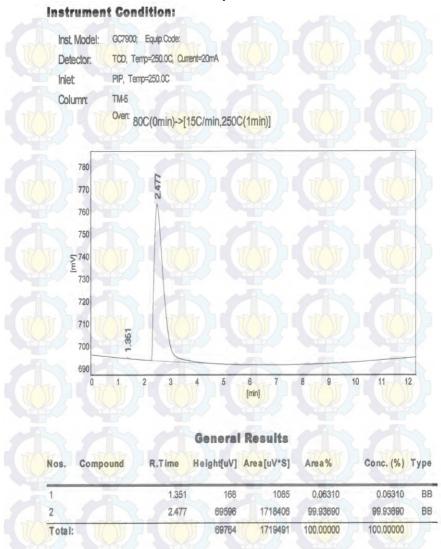


Sampel 41



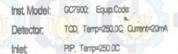
Total:

Sampel 42



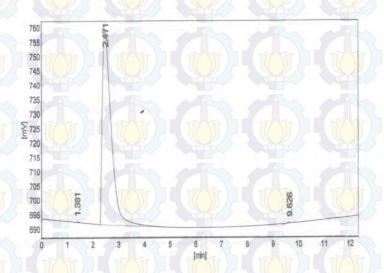
Sampel 43

Instrument Condition:



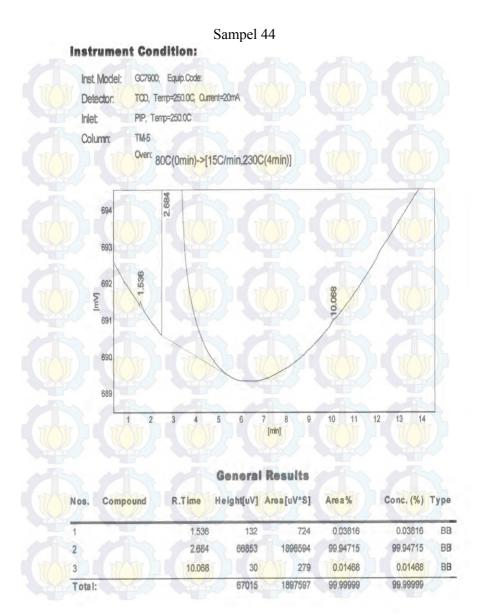
Column: TM-5

Oven: 80C(0min)->[15C/min,250C(1min)]



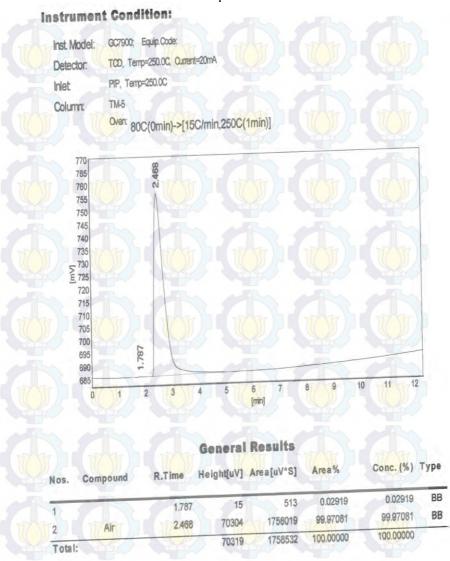
General Results

Nos. Compound	R.Time	Height[uV]	Area[uV*S]	Area%	Conc. (%)	Туре
1	1.381	177	969	0.05876	0.05876	BB
2	2.471	67254	1640960	99.55410	99.55410	BB
3	9.626	308	6381	0.38714	0.38714	BB
Total:		67739	1648310	100.00000	100.00000	11/10

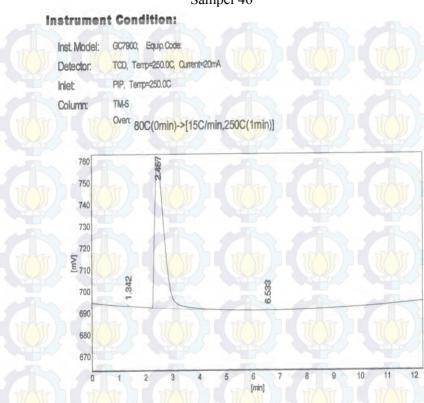


Sampel 44

Sampel 45



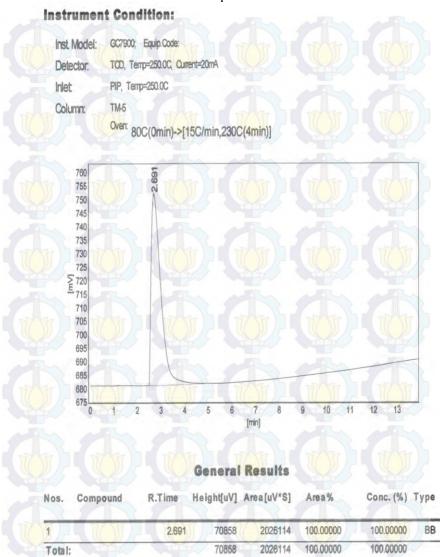
Sampel 46



General Results

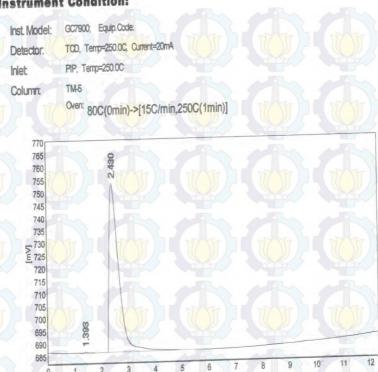
Nos.	Compound	R.Time	Height[uV]	Area [uV*S]	Area%	Conc. (%)	Туре
1		1.342	158	895	0.05312	0.05312	BB
2	Air	2.457	68373	1677068	99.58473	99.58473	88
3		6.533	16	6099	0.36214	0.36214	BB
Total			68547	1684062	99.99998	99.99998	7

Sampel 47



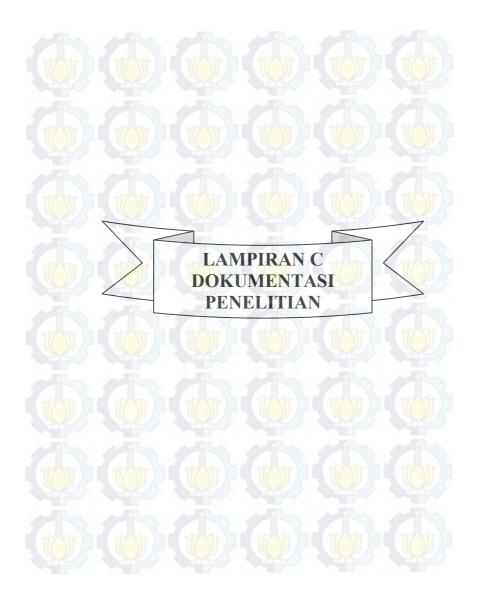






General	Baculée
General	Masaura

Nos.	Compound	R.Time	Height[uV]	Area[uV*S]	Area%	Conc. (%)	Туре
2		1,393	143	3656	0.22292	0.22292	BV
1	Air	2.430		1636569	99.77708	99.77708	VB
Total			66806	1640225	100.00000	100.00000	



1. Gambar Proses Penjemuran Serbuk Gergaji



2. Gamb<mark>ar S</mark>erbuk Gergaji Setelah Proses Pengeringan



3. Gambar Proses Pengayakan Serbuk Gergaji



4. Gambar Inokulum Clostridium acetobutylicum



5. Gambar Serbuk Gergaji Stelah Penambahan NaOH



6. Gambar Proses Pemanasan Sampel untuk Analisa Gula Reduksi



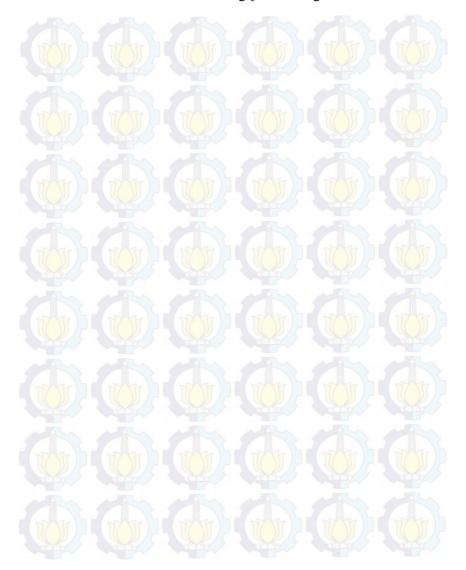
7. Gambar Proses Analisa Gula Reduksi Setelah Titrasi



8. Gambar Reaktor Fermentasi Serbuk Gergaji



"Halaman ini sengaja dikosongkan"



BIODATA PENULIS



Penulis dilahirkan di Surabaya pada tanggal 15 Juni 1989. Penulis telah melalui beberapa pendidikan formal yaitu SD Negeri Ngagel II Surabaya, SLTPN 32 Surabaya dan SMAN 13 Surabaya. Setelah lulus dari SMA tahun 2007, penulis diterima di Jurusan Teknik Lingkungan , FTSP-ITS tahun 2006 dan terdaftar dengan NRP 3307 100 013 melalui jalur SPMB. Di Institut Teknologi Sepuluh Nopember, penulis sempat aktif dalam kepengurusan

Himpunan Mahasiswa Teknik Lingkungan (HMTL) pada Departemen Hubungan Masyarakat periode 2008-2009. Selain itu penulis juga pernah menjadi asisten laboratorium Mikrobiologi. Di luar lingkup ITS, penulis aktif menjadi staff pengajar murid SD dan SMP di "Rumah Belajar" RW IV Kelurahan Darmo Kecamatan Wonokromo.

