

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. Bioetanol

Etanol atau etil alkohol menurut Bambang dan Ega (2009) adalah salah satu turunan dari senyawa hidroksil atau gugus OH yang terdiri dari karbon, hidrogen, dan oksigen dengan rumus kimia  $C_2H_5OH$ . Istilah umum yang sering dipakai untuk senyawa tersebut adalah alkohol. Etanol merupakan zat cair, berbau spesifik, mudah terbakar, tidak berwarna, mudah menguap, mudah larut dalam air, berat molekul 46,1, titik didih  $78,3^{\circ}C$ , membeku pada suhu  $-117,3^{\circ}C$ , kerapatannya 0,789 pada suhu  $20^{\circ}C$ , nilai kalor 7077 kal/g panas laten penguapan 204 kal/g dan memiliki angka oktan 91-105.

Etanol atau etil alkohol atau alkohol menurut Bambang (1992) merupakan bahan alami yang dihasilkan dari proses fermentasi yang banyak ditemui dalam produk bir, anggur, spiritus, dan sebagainya. Sebutan alkohol biasanya diartikan sebagai etil alkohol ( $CH_3CH_2OH$ ), mempunyai densitas 0,78506 g/ml pada  $25^{\circ}C$ , titik didih  $78,4^{\circ}C$ , tidak berwarna, dan mempunyai bau serta rasa yang spesifik.

Arif dan Djuma'ali (2011) bioetanol merupakan bahan bakar dari minyak nabati yang memiliki sifat seperti minyak premium. Di pasaran dikenal gasohol yang merupakan campuran antara bensin dan bioetanol. Pencampuran bioetanol absolut sebanyak 10% dengan bensin 90% sering disebut Gasohol E-10. Gasohol singkatan dari gasoline (bensin) dan alkohol (bioetanol). Etanol absolut memiliki angka oktan (ON) 117, sementara premium hanya 87-88. Gasohol E-10 secara proporsional memiliki angka oktan 92 atau setara dengan Pertamina.

Widayatnim (2015) etanol banyak digunakan sebagai pelarut, germisida, minuman bahan anti beku, bahan bakar, dan senyawa untuk sintesis senyawa-senyawa organik lainnya. Etanol sebagai pelarut banyak digunakan dalam industri farmasi, kosmetika, dan resin maupun laboratorium. Di Indonesia, industri minuman merupakan pengguna terbesar etanol, disusul berturut-turut oleh industri asam asetat, industri farmasi, kosmetika, rumah sakit, dan industri lainnya. Etanol juga digunakan sebagai bahan baku pembuatan senyawa asetaldehid, butadiena, dietel eter, etil asetat, asam asetat, dan sebagainya. Pada industri minuman, etanol merupakan salah satu barang yang diawasi atau dikenal dengan istilah Barang Kena Cukai (BKC). Barang Kena Cukai (BKC) terdiri dari tiga jenis, yaitu etil alkohol, minuman yang mengandung etil alkohol dalam kadar berapapun dan konsentrat yang mengandung etil alkohol, serta hasil tembakau. Minuman yang mengandung alkohol contohnya bir, *shandy*, anggur, dan lain-lain. Konsentrat yang mengandung alkohol adalah bahan yang mengandung etil alkohol yang digunakan sebagai bahan baku atau bahan penolong dalam pembuatan minum. Pelunasan cukai dilaksanakan dengan cara pembayaran dan pelekatan pita cukai.

Menurut Bambang (1992) beberapa macam minuman yang mengandung alkohol banyak digunakan untuk penyegar, penambah nafsu makan, pencuci mulut, dan sebagainya. Proses terbentuknya alkohol melalui proses fermentasi, terdapat beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam fermentasi tersebut, diantaranya jenis bahan dasar, cara dan alam fermentasi, ada tidaknya perlakuan destilasi, ada tidaknya *aging* (pemeraman), dan adanya bahan tambahan tertentu dalam produk. Minuman beralkohol dapat digolongkan menjadi 2 bagian yaitu

produk hasil fermentasi yang dikonsumsi langsung seperti bir dan anggur, serta produk hasil fermentasi yang didestilasi lebih dulu sebelum dikonsumsi seperti whisky. Beberapa jenis minuman seringkali mempunyai nama yang berbeda-beda berdasarkan pada kandungan alkohol yang ada. Contoh, minuman anggur (wine) ada beberapa jenis diantaranya : *Appetizer wine* (wine yang digunakan sebagai pembuka makanan/perangsang selera makan, misalnya *cherry*, *vermouth*), *Table wine* (terdiri dari *red table wine*, misalnya *claret*, *burgundy*), dan *White table wine* (*rhine wine*, *sauterne*), *sweet dessert wine* (wine yang dipakai sebagai penutup makan, misalnya *port*, *muscatel*, *white port*, *angelica*), dan *Sparkling wine* (misalnya *champagne*, *sparkling burgundy*). Disamping itu, wine juga dapat digolongkan berdasarkan kandungan alkoholnya, diantaranya *Table wine* kurang dari 14%, *Dessert wine* 14-21%, *Blending (industrial wine)* lebih dari 21%. Berdasarkan tingkat kemanisan, meliputi *Dry wine* tanpa atau dengan sedikit gula, *Sweet wine* dengan manis atau banyak gula. Berdasarkan kandungan CO<sub>2</sub>, meliputi *Still wine* tanpa CO<sub>2</sub>, *Sparkling wine* terdapat CO<sub>2</sub> hasil fermentasi, dan *Carbonated wine* terdapat CO<sub>2</sub> hasil karbonatasi.

Widayatnim (2015) penggunaan etanol sebagai bahan bakar mempunyai prospek yang cerah. Etanol dapat digolongkan sebagai bahan yang dapat diperbarukan karena dapat dibuat dari bahan baku yang berasal dari tumbuh-tumbuhan. Asyeni (2010) etanol dapat dibuat dari berbagai bahan hasil pertanian dan bukan bahan hasil pertanian, misalnya etilen. Bahan hasil pertanian dapat dibagi dalam tiga golongan, yaitu bahan yang mengandung turunan gula (molase, gula tebu, gula bit, sari buah anggur, dan sari buah lainnya), bahan-bahan yang

mengandung pati (biji-bijian, kentang, tapioka), bahan yang mengandung selulosa (kayu, jerami padi, dan beberapa limbah pertanian lainnya). Secara umum, produksi bioetanol mencakup tiga proses, yaitu hidrolisis, fermentasi, dan pemurnian atau destilasi.

Etanol murni (100%) dapat digunakan sebagai cairan pencampur pada bensin. Etanol mempunyai angka oktan yang cukup tinggi, sehingga dapat digunakan untuk menaikkan angka oktan. Jenis etanol yang digunakan untuk bahan bakar adalah etanol anhidrous (absolut) dan etanol berair (konsentrasi 85-95%). Baik gasohol (campuran 10-20% volume etanol absolut dengan bensin) maupun etanol berair telah digunakan oleh pemerintah Brasilia. Gasohol dengan kadar etanol 10% volume lazim disebut bahan bakar E-10 (Widayatnim, 2015). Keunggulan etanol dibanding dengan bahan bakar lain diantaranya :

a. Campuran bensin dengan etanol dapat mengurangi emisi gas buang seperti karbon monoksida, dan senyawa organik mudah menguap. Karbon monoksida merupakan gas tidak berwarna, tidak berbau, dan beracun yang dapat mereduksi aliran oksigen pada darah. Campuran bahan bakar etanol-bensin dapat mengurangi emisi karbon monoksida antara 25-30%.

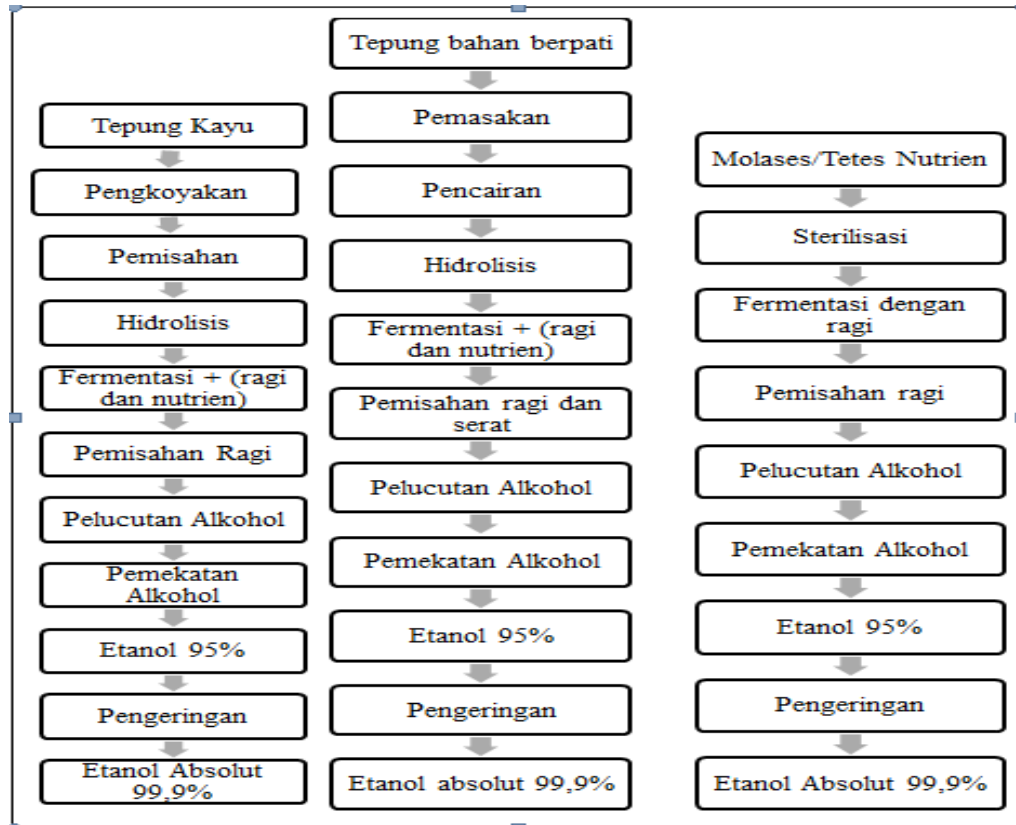
b. Etanol dapat menggantikan senyawa timbal (TEL) sebagai senyawa pengungkit angka oktan bensin. Setiap pencampuran sejumlah 10% etanol, akan menaikkan angka oktan sampai 3 digit.

c. Etanol merupakan bahan yang dapat diperbarukan. Bahan baku pembuatan etanol yaitu karbohidrat yang digolongkan sebagai bahan yang dapat diperbarukan.

Tabel 1. Pemanfaatan Bioetanol Sesuai dengan Persentasenya

<i>Grade Bioetanol</i>	Manfaat	Pemakai
20%	Digunakan untuk saos, rokok, dan campuran minuman juga parfum dan deodorasi	Pabrik rokok, makanan dan minuman, <i>Home industry</i> , Pembersih lantai dan parfum
20%-60%	Substitusi minyak tanah 1 liter yang dapat digunakan selama 3 jam	Masyarakat dan Rumah tangga
70%-80%	-Sterilisasi di Rumah Sakit dan Balai Pengobatan -Reparasi Elektro -Bahan baku Obat	-Para Medis -Pabrik obat Farmasi dan Jamu
90% ke atas	-Perdagangan umum di toko-toko kimia -Perdagangan Ekspor	-Masyarakat Luas -Luar Negri
99% ke atas	-Campuran bensin E-10	Transportasi dan masyarakat umum

## 1. Pembuatan Etanol dari Karbohidrat



Gambar 1. Blok Diagram Pembuatan Etanol dengan tiga jenis Karbohidrat : Kayu, Tepung Bahan Berpati, dan Tetes

Gambar 1 merupakan gambar dari jenis bahan yang dapat digunakan untuk pembuatan etanol menurut Widayatnim (2015). Seperti yang telah dikatakan Asyeni (2010) bahwa etanol dapat dibuat dari berbagai bahan hasil pertanian yang masih tergolong dalam turunan karbohidrat. Bahan hasil pertanian tersebut dibagi menjadi tiga golongan yaitu bahan yang mengandung turunan gula, bahan yang mengandung pati, dan bahan yang mengandung selulosa. Bahan yang mengandung turunan gula diantaranya molase, gula tebu, gula bit, sari buah anggur, dan sari buah lainnya. Bahan-bahan yang mengandung pati diantaranya

biji-bijian, kentang, tapioka. Sementara bahan yang mengandung selulosa diantaranya kayu, jerami padi, dan beberapa limbah pertanian lainnya. Secara umum, produksi bioetanol mencakup tiga proses, yaitu hidrolisis, fermentasi, dan pemurnian atau destilasi.

## **2. Tahap Pokok Pembuatan Bioetanol**

Pembuatan bioetanol pada dasarnya terdapat tiga tahap pokok, yaitu Hidrolisis, Fermentasi, dan Destilasi. Perbedaan teknik pembuatan bioetanol dari satu jenis bahan ke jenis bahan yang lain adalah terletak pada jenis bahan yang digunakan sebagai bahan baku bioetanol yang berpengaruh pada perbedaan perlakuan pra hidrolisis. Berikut merupakan tahap pokok pembuatan bioetanol :

### **a. Hidrolisis**

Gigih (2015) proses mengubah karbohidrat menjadi gula sederhana disebut dengan hidrolisis. Pada prinsipnya hidrolisis merupakan proses pemecahan rantai polimer bahan menjadi monomer-monomer sederhana.

Pemutusan rantai polimer tersebut dapat dilakukan dengan berbagai metode, misalnya secara enzimatik, kimiawi, ataupun kombinasi keduanya. Hal tersebut juga didukung oleh pernyataan menurut Bambang dkk. (1992) yang mengatakan bahwa hidrolisis dapat dilakukan dengan asam maupun enzim. Hidrolisa asam seringkali menggunakan jenis asam berupa asam klorida (HCl) atau asam sulfat ( $H_2SO_4$ ). Selain jenis asam, konsentrasi asam juga sangat penting untuk diperhatikan dalam proses hidrolisis. Hidrolisis dengan asam pekat menghasilkan kadar gula reduksi yang lebih tinggi dibandingkan hidrolisis dengan asam encer.

Proses hidrolisis asam menurut Adnan (2012) dapat dikatakan sederhana dan dapat langsung diketahui hasilnya, namun memiliki beberapa kekurangan. Proses hidrolisis asam sering menghasilkan produk campuran glukosa, selobiosa, dan produk hidrolisis hemiselulosa, serta degradasi produk dari pemecahan monomer gula menjadi aldehid dan keton. Rendemen glukosa yang tinggi dapat dihasilkan dari hidrolisis asam bila dicapai dengan kondisi yang optimum. Pada metode hidrolisis asam, limbah lignoselulosa dipaparkan dengan asam pada suhu dan tekanan tertentu selama waktu tertentu. Proses hidrolisis asam menghasilkan monomer gula dari polimer selulosa dan hemiselulosa. Sementara pada proses hidrolisis enzimatis dilakukan dengan penambahan enzim alphaamilase dan amilglukosidae. Kelemahan hidrolisis enzim pada bahan ubi kayu yaitu substrat masih menyisakan serat dan sedikit pati. Selain itu metode hidrolisis secara enzimatis juga relatif mahal dan memerlukan waktu yang cukup lama.

#### **b. Fermentasi**

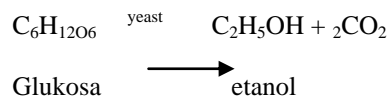
Menurut Widayatnim (2015) fermentasi dapat diartikan sebagai semua kegiatan mikrobial hasil aerob maupun anaerob yang menghasilkan suatu proses perubahan kimia spesifik pada suatu substrat organik. Sementara fermentasi alkohol dapat diartikan sebagai perubahan senyawa-senyawa gula (substrat) oleh mikrobial yang menghasilkan alkohol dan gas CO<sub>2</sub>.

Menurut Retno (2009) fermentasi berasal dari bahasa latin "*Ferfere*" yang berarti mendidihkan. Seiring perkembangan teknologi, definisi fermentasi meluas menjadi semua proses yang melibatkan mikroorganisme untuk menghasilkan suatu produk yang disebut metabolit primer dan sekunder dalam suatu lingkungan



yang dikendalikan. Pada mulanya istilah fermentasi digunakan untuk menunjukkan proses perubahan glukosa menjadi etanol yang berlangsung anaerob. Namun, istilah fermentasi berkembang lagi menjadi seluruh perombakan senyawa organik yang dilakukan mikroorganisme.

Reaksi kimia proses fermentasi :



Pada proses ini glukosa mengalami proses fermentasi dengan adanya enzim zimase/invertase yang dihasilkan oleh *Saccharomyces cerevisiae*. Fungsi enzim zimase adalah untuk memecah polisakarida (pati) yang masih terdapat dalam proses hidrolisis untuk diubah menjadi monosakarida (glukosa), sedangkan enzim invertase mengubah monosakarida menjadi alkohol dengan proses fermentasi. Pada awal fermentasi masih diperlukan oksigen untuk pertumbuhan dan perkembangan *Saccharomyces cerevisiae*, tetapi kemudian tidak dibutuhkan lagi karena kondisi proses yang diperlukan adalah anaerob (Retno, 2009).

Bambang dkk. (1992) dalam pembentukan alkohol melalui proses fermentasi peran mikroorganisme sangat besar dan biasanya mikroorganisme yang digunakan untuk fermentasi mempunyai beberapa syarat sebagai berikut :

- a. Mempunyai kemampuan untuk memfermentasi karbohidrat yang cocok secara tepat.
- b. Bersifat membentuk flokulasi dan sedimentasi (misal sel-sel yeast selalu ada pada bagian bawah tangki fermentasi).
- c. Mempunyai genetik yang stabil (tidak mudah mengalami mutasi).

- d. Bersifat osmotolerans artinya mikroorganisme tersebut toleran terhadap tekanan osmose yang tinggi.
- e. Toleran terhadap kadar alkohol yang tinggi (sampai dengan 14-15%).
- f. Mempunyai sifat regenerasi yang cepat.

Penggunaan berbagai macam jenis mikroorganisme tersebut disesuaikan dengan substrat/bahan yang akan difermentasi dan kondisi proses yang akan berlangsung. Sebagai contoh, untuk proses yang menggunakan suhu tinggi maka mikroorganisme yang digunakan sedapat mungkin yang bersifat termofilik, misalnya *Clostridium thermocellum*, *Clostridium thermohydrosulfuricum*, dan sebagainya. Mikroorganisme yang lain ada pula yang bersifat tahan terhadap kadar etanol yang tinggi (*etanol tolerance*), tahan terhadap konsentrasi gula yang tinggi (osmofilik), dan sebagainya. Mikroorganisme yang paling banyak digunakan dalam proses fermentasi alkohol adalah *Saccharomyces cerevisiae* yang dapat memproduksi tinggi, tahan/toleran terhadap kadar alkohol tinggi, tahan terhadap kadar gula tinggi, dan tetap aktif melakukan aktivitasnya pada suhu 4-32°C. Pada minuman beralkohol yang dihasilkan tanpa destilasi (hasil fermentasi) biasanya mempunyai kadar alkohol antara 3% sampai 18%. Tujuan mempertinggi kadar alkohol dalam produk seringkali hasil fermentasi didestilasi dan kadar alkohol yang dihasilkan berkisar antara 20% sampai 50% (Bambang dkk. 1992).

Sebelum proses fermentasi dilaksanakan, terdapat beberapa faktor menurut Bambang dkk. (1992) yang perlu diperhatikan dan berpengaruh pada proses fermentasi, yaitu :

- a. Mikroba

Sudah diketahui bahwa proses penghasil etanol secara fermentasi dilakukan oleh mikroba. Jenis mikroba yang digunakan dalam proses fermentasi sangat berpengaruh pada etanol yang dihasilkan. Bila dilihat dari jenisnya, maka terdapat beberapa jenis mikroorganisme yang banyak digunakan dalam proses fermentasi diantaranya khamir, kapang, dan bakteri. Akan tetapi tidak semua mikroorganisme tersebut dapat digunakan secara langsung karena masih diperlukan seleksi untuk menjamin berlangsungnya proses fermentasi. Pemilihan mikroorganisme biasanya didasarkan pada jenis substrat (bahan) yang digunakan sebagai medium, misalnya untuk menghasilkan bioetanol digunakan khamir *Saccharomyces cerevisiae*, untuk mengoksidasi alkohol menjadi asam asetat digunakan bakteri *Acetobacter*. Seleksi ini bertujuan untuk mendapatkan mikroorganisme yang mampu tumbuh dengan cepat dan mempunyai toleransi tinggi terhadap konsentrasi gula yang tinggi sehingga dapat menghasilkan kadar bioetanol yang dikehendaki.

#### b. Sumber Karbon

Sumber karbon yang ada disesuaikan dengan jenis mikroorganisme yang digunakan. Sebagai contoh, laktosa tidak cocok untuk yeast (ragi) karena yeast tidak menghasilkan laktase yang digunakan untuk memecah laktosa. Konsentrasi gula juga berpengaruh terhadap proses fermentasi, dimana pada konsentrasi gula 25% yeast akan mulai terhambat aktivitasnya, sedangkan apabila konsentrasi terlalu rendah (sekitar 5%) maka gula yang ada akan habis untuk energi saja.

#### c. Sumber Nitrogen dan Unsur Hara lain

Apabila dalam substrat kekurangan unsur nitrogen maka dapat ditambahkan dalam bentuk asam-asam amino, pepton, peptida, ammonium fosfat, maupun ammonium sulfat. Bentuk ammonium merupakan bentuk yang paling mudah digunakan oleh yeast. Unsur hara lain yang dibutuhkan cukup banyak untuk fermentasi diantaranya P, K, Mg, dan Ca, sedangkan unsur Fe dan Cu dibutuhkan dalam jumlah kecil.

#### d. Kadar Alkohol

Kadar alkohol akan mempengaruhi pertumbuhan yeast, yaitu apabila konsentrasi alkohol semakin tinggi maka yeast akan terhambat. Pada kadar alkohol 16% aktivitas yeast mulai terhambat. Yeast umumnya lebih tahan (toleran) terhadap etanol dibanding dengan mikroorganisme lain. Alkohol berantai panjang akan bersifat toksik. Yeast akan terhambat oleh alkohol bila dicapai Delle Unit (DU) sebesar 75-85, sedangkan  $DU = a + 4,5 c$ , dimana a adalah presentase gula dalam substrat (berat/volume), dan c adalah presentase etanol (volume/volume).

#### e. Karbondioksida (CO<sub>2</sub>)

Karbondioksida berpengaruh pada tekanan saat fermentasi dilakukan, sehingga CO<sub>2</sub> yang dihasilkan akan dapat mempengaruhi aktivitas mikroorganisme yang digunakan. Oleh sebab itu CO<sub>2</sub> yang dihasilkan harus dialirkan ke luar ruang fermentasi. Yeast akan mulai terhambat pada tekanan 15 g/l CO<sub>2</sub>.

#### f. Temperatur

Temperatur diatur sesuai dengan temperatur optimum sesuai dengan mikroorganisme yang digunakan.

g. Aerasi

Aerasi diberikan untuk suplai oksigen pada yeast sehingga hasil glukosa yang berupa asam piruvat tidak berubah menjadi CO<sub>2</sub> melainkan menjadi etanol. Akan tetapi, bila suplai oksigen tersebut terlalu banyak maka piruvat akan dioksidasi melalui siklus Krebs sehingga tidak berbentuk etanol.

Berikut merupakan tabel toleransi alkohol pada beberapa macam yeast dan macam mikroorganisme yang dapat digunakan untuk fermentasi alkohol dengan substrat yang digunakan menurut Bambang dkk. (1992) :

Tabel 2. Toleransi Alkohol pada Beberapa Macam Yeast

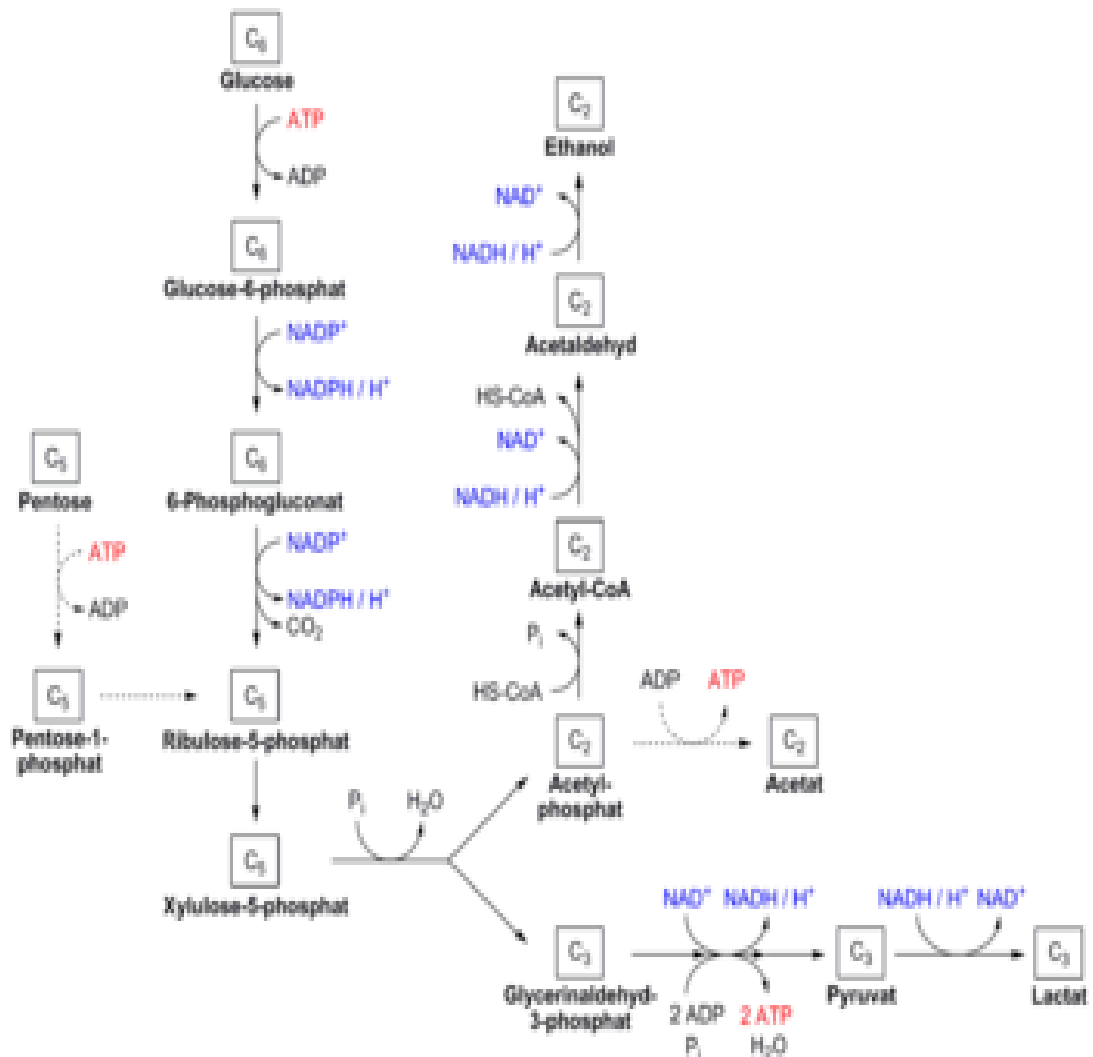
Nama yeast	Toleransi alkohol (% berat alkohol)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> Hansen	5,79-11,58
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> Hansen Rasse XII	8,68
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> Hansen Rasse M	10,61
<i>ZygoSaccharomyces soja</i> B	4,82
<i>SchizoSaccharomyces mellacei</i> Jorgenson	7,72
<i>Saccharomyces ellipsoideus</i> Hansen	9,65
<i>SchizoSaccharomyces pombe</i>	8,68

Tabel 3. Macam Mikroorganisme dan Substrat yang digunakan untuk Fermentasi

Mikroorganisme	Substrat
1. Golongan yeast	

<i>Saccharomyces cerevisiae, S. uvarum (S. carlsbergensis)</i>	Glukosa, Fruktosa, Galaktosa, Maltosa, Sukrosa
<i>Saccharomyces diastaticus</i>	Glukosa, Maltosa, Dekstrin, Pati
<i>Saccharomyces rouxii</i>	Glukosa, Fruktosa, Maltosa, Sukrosa
<i>Kluyveromyces fragilis, K.lactis</i>	Glukosa, Galaktosa, Laktosa
<i>Candida pseudotropicalis</i>	Glukosa, Galaktosa, Laktosa
<i>Pachysolen tannophilus</i>	Glukosa, Silosa, Silulosa
<i>Swaniomyces alluvins, S. castelli</i>	Dekstrin, Pati
<i>Endomycopsis fibulifera</i>	Dekstrin, Pati
2. Golongan bakteri	
<i>Zymomonas mobilis</i>	Glukosa, Fruktosa, Sukrosa
<i>Clostridium thermocellum</i>	Glukosa, Selobiosa, Selulosa
<i>Clostridium thermohydrosulfuricum</i>	Glukosa, Silosa, Selobiosa, Sukrosa, Pati
<i>Thermoanaerobium brockii</i>	Glukosa, Sukrosa, Selobiosa, Pati
<i>Thermobacteroides acetoethylicus</i>	Glukosa, Sukrosa, Selobiosa
<i>Thermoanaerobacter etanolicus</i>	D-Silosa, Pati

Proses fermentasi alkohol berjalan melalui jalur EMP (*Embden Meyerhof Parnas*) atau sering juga disebut dengan glikolisis. Proses fermentasi alkohol dari gula menjadi etanol dapat dibagi menjadi 3 bagian, yaitu :



Gambar 1. Blok Diagram Proses Fermentasi Gula menjadi Etanol

### 3. Efisiensi Fermentasi

Efisiensi fermentasi digunakan untuk menghitung efisiensi perubahan gula menjadi alkohol dan  $\text{CO}_2$ . Tujuan penghitungan efisiensi fermentasi ini adalah untuk menghitung aktivitas mikroorganisme pada proses fermentasi dan mengetahui kondisi fermentasi. Pada penghitungan efisiensi fermentasi juga dikenal istilah '*plant efficiency*' yaitu efisiensi perubahan dari pati menjadi alkohol.

Rumus % efisiensi fermentasi = (alkohol aktual yang diproduksi : alkohol teoritis dari fermentasi gula) x 100

Rumus % plant efficiency = (alkohol aktual yang diproduksi : alkohol teoritis dari karbohidrat yang dipakai) x 100

#### **4. Destilasi**

Susilowati dan Vosiani (2007) bioetanol yang dihasilkan dari proses fermentasi masih mengandung gas-gas CO<sub>2</sub> (yang ditimbulkan dari perubahan glukosa menjadi bioetanol) dan aldehid sebanyak 35% volume yang perlu dibersihkan dengan menyaring bioetanol yang terikat oleh CO<sub>2</sub>. Kadar bioetanol dari proses fermentasi biasanya mencapai 8-10% sehingga untuk memperoleh etanol yang murni diperlukan proses destilasi. Destilasi adalah proses penguapan dan pengembunan kembali untuk memisahkan campuran dua atau lebih zat cair ke dalam fraksi-fraksinya berdasarkan perbedaan titik didihnya. Proses destilasi diperlukan pada pembuatan bioetanol agar kadar alkohol yang diperoleh menjadi lebih dari 95% dan dapat dipergunakan sebagai bahan bakar. Hasil fermentasi pada umumnya terdiri atas air dan etanol, maka untuk memperoleh kadar etanol murni diperlukan proses pemisahan air dari etanol. Pada destilasi, fase uap akan segera terbentuk setelah larutan dipanaskan. Uap dan cairan dibiarkan mengadakan kontak sehingga dalam waktu yang cukup semua komponen yang ada dalam larutan akan terdistribusi dalam fase uap membentuk destilat. Destilat banyak mengandung komponen dengan tekanan uap tinggi atau titik didih rendah. Komponen dengan tekanan uap murni rendah atau titik didih tinggi sebagian besar terdapat dalam residu.



Proses destilasi bertujuan memisahkan bioetanol dan air berdasarkan perbedaan titik didih kedua bahan tersebut yang kemudian diembunkan kembali. Titik didih etanol murni adalah 78°C sedangkan air 100°C, pemanasan larutan pada rentang suhu 78-100°C akan mengakibatkan sebagian besar alkohol menguap, maka perlu dilakukan proses destilasi melalui unit kondensasi sehingga akan dihasilkan etanol berkonsentrasi 95%.

### **B. Onggok**

Onggok merupakan limbah dari industri tapioka yang berbentuk padatan yang diperoleh pada proses ekstraksi. Pada proses ekstraksi ini diperoleh suspensi pati sebagai filtratnya dan ampas yang tertinggal sebagai onggok. Komponen penting yang terdapat dalam onggok adalah pati dan serat kasar. Pati dan serat kasar pada onggok dapat diuraikan secara enzimatik maupun kimiawi sebagai bahan baku bioetanol. Menurut Kawid (2013) terdapat dua jenis onggok yang sering ditemui, yaitu onggok basah dan onggok kering. Onggok basah banyak digunakan sebagai bahan pengganti pakan ternak yang mulai kesusahan mencari hijauan pakan terutama di musim kemarau. Sementara onggok kering merupakan onggok basah mengalami proses pengeringan terlebih dulu dan banyak digunakan sebagai bahan baku saus, bahan baku obat nyamuk, bahan perekat lem kertas, campuran kecap, dan lain sebagainya. Daerah penghasil onggok terbesar di Indonesia diantaranya di Propinsi Lampung, Pulau Jawa yang meliputi Kabupaten Pati, Purbalingga, Ajibarang, Wonogiri, Bogor, Sukabumi, dan daerah disekitarnya.

Menurut Intan (2009) onggok basah memiliki organoleptik berupa warna coklat krem, bertekstur kasar, berbau dan berasa singkong, serta berperan sebagai

sumber energi. Kandungan pada onggok yaitu protein kasar 2,89%, serat kasar 14,73%, abu 1,21%, lemak kasar 0,38%, dan air 20,31%. Sementara menurut ITS (2015) limbah pada industri tapioka masih mengandung pati cukup tinggi yaitu sebesar 63%. Badan Penelitian dan Pengkajian Teknologi Indonesia menyebutkan bahwa kandungan pati pada ampas tapioka sebesar 67,8%. Analisis kandungan onggok kering yaitu karbohidrat sebesar 68%, protein sebesar 1,57%, lemak sebesar 0,26%, serat kasar 10%, dan kadar air 20%.

## **1. Kandungan Utama Onggok**

Onggok sebagai limbah dari tapioka masih memiliki kandungan pati dan serat kasar karena pada saat ekstraksi tidak semua kandungan pati terikut dan tersaring bersama filtratnya. Pati dan serat kasar merupakan komponen karbohidrat dan onggok yang masih potensial untuk dimanfaatkan.

### **a. Pati**

Pati merupakan polimer dari glukosa yang tersusun atas ikatan  $\alpha$ -D-glikosida dan terdiri dari dua komponen utama, yaitu amilosa dan amilopektin. Amilosa merupakan polimer linear dengan ikatan  $\alpha$ -1,4-glukosa. Amilopektin memiliki molekul yang berukuran lebih besar dari amilosa, memiliki ikatan  $\alpha$ -1,4-glukosida dan berbentuk cabang pada ikatan  $\alpha$ -1,6-glukosida. Pati alami biasanya mengandung amilopektin lebih banyak dari pada amilosa. Butiran pati mengandung amilosa berkisar antara 15% - 30%, sedangkan amilopektin berkisar antara 70% - 85%. Perbandingan antara amilosa dan amilopektin akan berpengaruh terhadap sifat kelarutan dan derajat gelatinisasi pati.

Widayatnim (2015) struktur polimer glukosa yang bercabang relatif lebih mudah larut seperti amilopektin dibandingkan dengan polimer glukosa berantai lurus seperti amilosa. Kandungan amilosa dalam pati sekitar 20%, sisanya amilopektin.

Anna dkk. (2005) menyebutkan bahwa molekul amilopektin lebih besar daripada molekul amilosa karena terdiri atas lebih dari 1.000 unit glukosa. Butir-butir pati tidak larut dalam air dingin tetapi apabila suspensi dalam air dipanaskan, akan terjadi suatu larutan koloid yang kental. Larutan koloid ini apabila diberi larutan iodium akan berwarna biru. Warna biru tersebut disebabkan oleh molekul amilosa yang membentuk senyawa. Amilopektin dengan iodium akan memberikan warna ungu atau merah lembayung. Amilum yang terdiri dari polisakarid amilopektin dan amilosa dapat dihidrolisis sempurna dengan menggunakan asam sehingga menghasilkan glukosa. Hidrolisis juga dapat dilakukan dengan bantuan enzim amilase.

Pengolahan awal pada tepung bahan berpati meliputi pemasakan, pencairan, dan proses hidrolisis. Pemasakan tepung bahan berpati dilakukan dengan menambahkan air dan mengatur pH pada nilai 4-6, kemudian memanaskan adonan pada temperatur 135-150°C selama 10-30 menit. Pemanasan akan mempercepat pelarutan amilopektin, dan sekaligus mensterilkan campuran. Adonan didinginkan sampai temperature 100°C, kemudian ditambahkan enzim  $\alpha$ -amilase. Amilase merupakan enzim yang dapat menghidrolisis ikatan glikosida dalam pati, dengan hasil katabolik glukosa atau maltosa dan maltooligosakarida. Penambahan enzim  $\alpha$ -amilase dapat mengubah suspense pati menjadi larutan.

Enzim  $\alpha$ -amilase dapat diperoleh dari bakteri *Bacillus subtilis* dan *Bacillus licheniformis*, yang dapat bertahan pada temperatur maksimum. Proses pembentukan glukosa lebih sempurna (konsentrasi glukosa lebih tinggi) dengan menambahkan enzim glucoamilase atau amiloglukosidae. Enzim glucoamilase hanya menyerang ujung-ujung ikatan glikosida yang tidak terputus pada pati, dengan hasil katabolik glukosa. Enzim ini dapat diperoleh dengan menambahkan *Aspergillus niger*. Enzim *glucoamilase* mempunyai aktifitas pada temperatur maksimum 60-65°C, sehingga memerlukan pendinginan campuran adonan ketika menggunakan enzim tersebut. Proses hidrolisis pati juga dapat menggunakan larutan asam. Proses fermentasi dilakukan setelah proses hidrolisis, dengan menambahkan ragi dan nutrien. Proses hidrolisis dengan metode kimia menggunakan larutan asam seperti asam sulfat dan asam klorida. Penggunaan larutan asam pekat memerlukan temperatur rendah sedangkan larutan asam encer memerlukan temperatur operasi tinggi (Widayatnim, 2015).

#### **b. Serat Kasar**

Serat kasar merupakan serat tumbuhan yang tidak dapat larut dalam air. Serat kasar yang terdapat pada onggok mengandung hemiselulosa dan selulosa yang merupakan bagian terbesar dari komponen polisakarida non pati. Selulosa merupakan senyawa organik penyusun utama dinding sel tumbuhan. Polimer selulosa umumnya tersusun oleh monomer-monomer anhidroglukosa atau glukopiranososa yang saling berhubungan pada posisi atom karbon 1 dan 4 oleh ikatan  $\beta$ -glukosida. Selulosa termasuk homopolimer linier dengan monomer berupa D-anhidroglukosa yang saling berkaitan dengan ikatan  $\beta$ -1,4-glikosidik.

Rumus empiris selulosa adalah  $(C_6H_{10}O_5)_n$  dengan n adalah jumlah satuan glukosa yang berikatan dan berarti juga polimerisasi glukosa. Selulosa murni memiliki derajat polimerisasi sekitar 14.000, namun dengan pemurnian biasanya akan berkurang menjadi sekitar 2.500 (Widayatnim, 2015).

Hemiselulosa adalah polisakarida non selulosa yang pokok, terkandung dalam serat dengan berat molekul 4.000-15.000. Hemiselulosa terdapat dalam serat dan tergolong senyawa organik. Hemiselulosa juga terdapat di dinding sel bersamaan dengan selulosa, terutama di daerah amorf dan di dalam lamella tengah. Hemiselulosa mirip dengan selulosa yang merupakan polimer gula. Namun, berbeda dengan selulosa yang hanya tersusun dari glukosa, hemiselulosa tersusun dari bermacam-macam jenis gula. Monomer gula penyusun hemiselulosa terdiri dari monomer gula berkarbon 5 (C-5) dan 6 (C-6), misalnya xylosa, mannose, glukosa, galaktosa, arabinosa, dan sejumlah kecil rhamnosa, asam glukoroat, asam metal glukoronat, dan asam galaturonat. Hemiselulosa lebih mudah dihidrolisis dari pada selulosa tetapi gula C-5 lebih sulit difermentasi. Perbedaan selulosa dan hemiselulosa adalah hemiselulosa mudah larut dalam alkali tapi sukar larut dalam asam, sedangkan selulosa adalah sebaliknya. Rantai utama hemiselulosa dapat terdiri atas satu jenis monomer (homopolimer), seperti xilan, atau terdiri atas dua jenis atau lebih dari satu monomer (heteropolimer), seperti glukomanan. Rantai molekul hemiselulosa lebih pendek daripada selulosa (Widayatnim, 2015).

### **C. Hidrolisis Asam**

Bambang dkk. (1992) hidrolisa pada bahan berpati merupakan tahap pemecahan rantai pati menjadi molekul gula penyusunnya. Hidrolisa dapat

dilakukan dengan asam maupun enzim. Hidrolisa asam seringkali menggunakan HCl atau H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Penggunaan asam sulfat dapat menimbulkan warna gelap. Pada hidrolisis enzim, enzim yang digunakan dapat berupa enzim yang telah diisolasi dari bahan maupun enzim dalam bahan yang telah diaktivasi. Beberapa contoh enzim yang dapat digunakan dalam hidrolisa adalah enzim termamil, enzim *bacterial amylase*, enzim amiloglukosidase (glukoamilase), enzim fungamil (misal dari *Aspergillus oryzae*), dan sebagainya. Sementara menurut Adnan (2012) hidrolisis bertujuan untuk memecah selulosa dan hemiselulosa menjadi monosakarida (glukosa dan xylosa) yang selanjutnya akan difermentasi menjadi etanol. Secara umum teknik hidrolisis dibagi menjadi dua, yaitu hidrolisis berbasis asam dan hidrolisis dengan enzim. Hidrolisis sempurna selulosa menghasilkan glukosa, sedangkan hemiselulosa menghasilkan beberapa monomer gula pentose (C<sub>5</sub>) dan heksosa (C<sub>6</sub>). Proses hidrolisis bahan lignoselulosa secara asam telah dilakukan sejak awal abad 20. Proses hidrolisis asam dapat dikatakan sederhana dan langsung diketahui hasilnya, namun memiliki beberapa kekurangan. Proses hidrolisis asam sering menghasilkan produk campuran glukosa, selobiosa, dan produk hidrolisis hemiselulosa serta degradasi produk dari pemecahan monomer gula menjadi aldehyd dan keton. Rendemen glukosa yang tinggi dapat dihasilkan dari hidrolisis asam bila dicapai kondisi yang optimum. Pada metode hidrolisis asam, limbah lignoselulosa dipaparkan dengan asam pada suhu dan tekanan tertentu selama waktu tertentu. Proses hidrolisis asam menghasilkan monomer gula dari polimer selulosa dan hemiselulosa.

Widayatnim (2015) Proses hidrolisis dengan metode kimia menggunakan larutan asam, seperti asam sulfat dan asam klorida. Penggunaan larutan asam pekat memerlukan temperatur yang rendah, sementara larutan asam encer memerlukan temperatur tinggi.

Penelitian Ashadi (1988) dalam Adnan (2012) kadar glukosa yang dihasilkan dari proses hidrolisis dipengaruhi oleh konsentrasi asam dan lama waktu hidrolisis. Peningkatan konsentrasi asam yang digunakan akan menurunkan glukosa yang dihasilkan karena glukosa yang terbentuk akan terdegradasi lebih lanjut. Hidrolisis dengan menggunakan asam pada konsentrasi tinggi, gula yang dihasilkan akan diubah menjadi senyawa-senyawa furfural yang akan menghambat proses fermentasi. Lama waktu hidrolisis mempengaruhi proses degradasi selulosa menjadi glukosa dan juga mempengaruhi degradasi glukosa sebagai produk. Waktu hidrolisis yang melebihi waktu optimum akan mendegradasi glukosa menjadi komponen-komponen yang lebih sederhana yang biasanya bersifat racun (Assegaf, 2009 dalam Adnan, 2012).

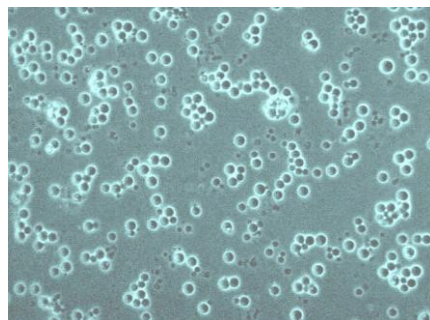
Penelitian mengenai pengaruh konsentrasi asam sulfat sebagai asam kuat ( $H_2SO_4$ ) terhadap peranannya menghasilkan kadar bioetanol telah dilaksanakan oleh Novia dkk. (2015) yang menggunakan dua macam konsentrasi asam sulfat yaitu 1% dan 5% untuk proses hidrolisis dengan hasil konsentrasi tertinggi 5% dari perlakuan tersebut menghasilkan kadar bioetanol terbanyak, yaitu 4,95% dengan lama fermentasi 5 hari. Berdasarkan hasil tersebut, maka saran dari penelitian yang dilakukan Novia dkk. (2015) adalah lebih banyak memvariasikan konsentrasi asam agar dapat dilihat perbandingan persen penurunan kadar lignin.

Disamping itu, juga disebutkan bahwa untuk penelitian selanjutnya disarankan menggunakan bahan lain selain jerami padi karena dari penelitian sendiri dan sebelumnya didapatkan kadar bioetanol yang kecil. Penelitian selanjutnya yaitu penelitian Yusrin dan Mukaromah (2010) yang memberikan hasil hidrolisis  $H_2SO_4$  3% yang setara dengan 0,2 M selama 3 jam dengan 1% ragi dan waktu fermentasi 32 jam merupakan perlakuan yang memberikan kadar etanol tertinggi sebesar 9,11%. Penelitian Dwi dkk. (2012) memberikan hasil bahwa perlakuan  $H_2SO_4$  2M selama 4 jam memberikan kadar glukosa tertinggi sebesar 30,74 g/L dari perlakuan 0,2M yang digunakan untuk hidrolisis. Semakin lama waktu yang digunakan untuk menghidrolisis maka proses pemecahan pati pada onggok menjadi glukosa akan lebih maksimal, sehingga mempengaruhi pada banyaknya gula yang akan didapatkan dari proses hidrolisis.

#### **D. *Saccharomyces cerevisiae***

Susilowati dan Vosiani (2007) *Saccharomyces cerevisiae* merupakan jenis khamir yang merupakan produsen utama alkohol. Khamir adalah salah satu mikroorganisme yang termasuk dalam golongan fungi yang dibedakan bentuknya dari kapang karena uniseluler. Reproduksi vegetatif khamir terutama dengan cara pertunasan. Khamir mempunyai ukuran sel yang lebih besar dan dinding sel yang lebih kuat daripada bakteri, serta tidak melakukan fotosintesis dan pertumbuhan yang lebih cepat dibandingkan ganggang atau alga.





Gambar 2. Koloni *Saccharomyces cerevisiae*

*Saccharomyces cerevisiae* merupakan mikroba fakultatif aerob yang dapat menggunakan sistem aerob maupun anaerob untuk memperoleh energi dari proses pemecahan glukosa, tahan terhadap kadar gula yang tinggi, dan tetap aktif melakukan aktifitasnya pada suhu 28-32°C. Sel berbentuk silindris, dengan ukuran sel 5-20 mikron dan biasanya 5-10 kali lebih besar dari ukuran bakteri. Khamir ini bersifat non patogenik dan non toksik sehingga banyak digunakan dalam berbagai proses fermentasi seperti pembuatan roti dan alkohol. *Saccharomyces cerevisiae* merupakan jenis mikroorganisme yang paling banyak digunakan untuk fermentasi alkohol karena mampu menghasilkan etanol dengan rendemen yang lebih tinggi dibandingkan jenis mikroorganisme lainnya. Disamping itu, mikroorganisme ini sangat mudah ditumbuhkan, membutuhkan nutrisi yang sederhana, laju pertumbuhan yang cepat, dan sangat stabil (Susilowati dan Vosiani, 2007).

Menurut Wikipedia (2013) spesies *Saccharomyces cerevisiae* memiliki klasifikasi ilmiah : Kerajaan *Fungi*, Filum *Ascomycota*, Kelas *Saccharomycetes*, Bangsa *Saccharomycetales*, Famili *Saccharomycetaceae*, Genus *Saccharomyces*. *Saccharomyces* merupakan genus khamir/ragi/yeast yang memiliki kemampuan mengubah glukosa menjadi alkohol dan CO<sub>2</sub>. *Saccharomyces* merupakan

mikroorganisme bersel satu tidak berklorofil, termasuk kelompok *Eumycetes*. Tumbuh baik pada suhu 30°C dan pH 4,8. Beberapa kelebihan *Saccharomyces* dalam proses fermentasi yaitu mikroorganisme cepat berkembang biak, tahan terhadap alkohol yang tinggi, tahan terhadap suhu yang tinggi, mempunyai sifat stabil dan cepat mengadakan adaptasi. Beberapa spesies *Saccharomyces* mampu memproduksi etanol hingga 13,01%. Hasil ini lebih bagus dibanding genus lainnya seperti *Candida* dan *Trochosporon*. Pertumbuhan *Saccharomyces* dipengaruhi oleh adanya penambahan nutrisi yaitu unsur C sebagai sumber carbon, unsur N yang diperoleh dari penambahan urea, ZA, ammonium dan pepton, mineral dan vitamin. Suhu optimum untuk fermentasi 28-30°C.

Mikrostruktur *Saccharomyces cerevisiae* :

1. Kapsul
2. Dinding sel pada sel-sel yang muda sangat tipis, namun semakin lama semakin menebal seiring dengan waktu. Pada dinding sel terdapat struktur yang disebut bekas lahir (bekas yang timbul dari pembentukan oleh sel induk) dan bekas tunas (bekas yang timbul akibat pembentukan anak sel). Setiap sel hanya dapat memiliki satu bekas lahir, namun bisa membentuk banyak bekas tunas. *Saccharomyces cerevisiae* dapat membentuk 9 sampai 43 tunas dengan rata-rata 24 tunas per sel dan paling banyak lahir pada kedua ujung sel yang memanjang.
3. Membran sitoplasma, nukelus, vakuola, mitokondria
4. *Saccharomyces cerevisiae* mengandung jumlah lipid sangat sedikit. Lipid ini disimpan dalam bentuk globula yang dapat dilihat dengan mikroskop setelah diberi lemak seperti hitam sudan atau merah sudan.

## 5. Sitoplasma

6. *Saccharomyces cerevisiae* berkembang biak dengan cara : a. Pertunasan multipolar, dimana tunas muncul dari sekitar ujung sel, b. Pembelahan tunas, yaitu gabungan antara pertunasan dan pembelahan. Pada proses ini mula-mula terbentuk tunas, tetapi tempat melekatnya tunas pada sel induk relatif besar, kemudian terbentuk septa yang memisahkan tunas dari induknya. Pada *Saccharomyces*, areal tempat melekatnya tunas pada induk sedemikian kecilnya sehingga seolah tidak pernah terbentuk septa (tidak dapat dilihat dengan mikroskop biasa), c. Pembentukan askospora. Pada khamir diploid seperti *Saccharomyces cerevisiae*, meiosis dapat terjadi langsung dari sel vegetatif. Spora berbentuk bulat atau oval dengan permukaan halus.

Penelitian mengenai *Saccharomyces cerevisiae* terhadap kaitannya dengan kadar etanol yang dihasilkan diantaranya penelitian etanol dari onggok oleh Akyunul (2008) yang memberikan hasil bahwa kadar etanol tertinggi sebesar 19% didapat pada dosis *Saccharomyces cerevisiae* 10% dan lama fermentasi 7 hari dengan rendemen 72%.

## E. Molase

Bahan sisa dari industri gula banyak dijumpai disamping hasil utamanya. Berbagai bahan sisa yang dihasilkan industri gula, molase merupakan bahan dasar untuk industri dengan fermentasi. Molase adalah sejenis sirup yang merupakan sisa dari proses pengkristalan gula pasir. Molase tidak dapat dikristalkan karena mengandung glukosa dan fruktosa yang sulit untuk dikristalkan. Molase merupakan produk limbah dari industri gula dimana produk ini masih banyak mengandung gula dan asam-asam organik, sehingga merupakan bahan baku yang

sangat baik untuk industri pembuatan etanol. Bahan ini merupakan produk sampingan yang dihasilkan selama proses pemutihan gula. Kandungan gula dari molase terutama sukrosa berkisar 40-55% (Riswan, 2004).

Molase masih mengandung kadar gula yang cukup untuk dapat menghasilkan etanol dengan proses fermentasi, biasanya pH molase berkisar antara 5,5-6,5. Molase yang masih mengandung kadar gula sekitar 10-18% telah memberikan hasil yang memuaskan untuk pembuatan etanol. Jenis mikroorganisme yang berperan dalam proses ini adalah golongan khamir *Saccharomyces cerevisiae* (Riswan, 2004).

Molase dari tebu dapat dibedakan menjadi 3 jenis. Molase kelas 1, kelas 2, dan "*black strap*". Molase kelas 1 didapatkan saat pertama kali jus tebu dikristalisasi. Saat dikristalisasi terdapat sisa jus yang tidak mengkristal dan berwarna bening. Sisa jus ini langsung diambil sebagai molase kelas 1. Molase kelas 2 atau biasa disebut dengan "*Dark*" diperoleh saat proses kristalisasi kedua. Warnanya agak kecoklatan sehingga sering disebut juga dengan istilah "*Dark*". Molase kelas terakhir, "*Black Strap*" diperoleh dari kristalisasi terakhir. Warna "*Black Strap*" ini memang mendekati hitam (coklat tua) sehingga tidak salah jika diberi nama "*Black Strap*" sesuai dengan warnanya. "*Black Strap*" ternyata memiliki kandungan zat yang berguna. Zat-zat tersebut antara lain kalsium, magnesium, potasium, dan besi. "*Black Strap*" memiliki kandungan kalori yang cukup tinggi karena terdiri dari glukosa dan fruktosa (Riswan, 2004).

Komposisi kimia dari molase menurut Riswan (2004) adalah bahan kering 77-84%, total gula sebagai invert 52-67%, N 0,4-1,5%, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 0,6-2%, CaO 0,1-

1,1%, MgO 0,03-0,1%, K<sub>2</sub>O 2,6-5,0%, total abu 7-11%. Berdasarkan penelitian Agustin dan Pertiwi (2013) *Saccharomyces cerevisiae* sebanyak 5%, 10%, dan 15% (v/v) diinokulasikan pada medium tetes tebu hasil *pretreatment* dengan kandungan gula 15%, 20%, dan 25% (b/v) pada pH 5 memberikan hasil etanol tertinggi pada konsentrasi inokulum 10% (v/v) dengan konsentrasi sumber gula 15% (b/v) yaitu 8,792 (b/v) dengan *yield* etanol 65%. Merujuk pada penelitian Agustin dan Pertiwi (2013), maka pada kesempatan penelitian ini penulis akan meneliti bagaimana reaksi dan pengaruh penambahan molase terhadap kadar etanol yang dihasilkan sebagai perlakuan pendukung pada penelitian ini, jika konsentrasi etanol diturunkan menjadi 10%, dan 15%, dengan memperhatikan konsentrasi 15% pada penelitian Agustin dan Pertiwi (2013) merupakan perlakuan konsentrasi paling kecil dan memberikan hasil kadar etanol tertinggi dari konsentrasi gula 20% dan 25%. Disamping itu juga, penambahan molase dengan konsentrasi tertinggi 15% dari 10% maka artinya jumlah total gula yang akan didapatkan akan lebih banyak. Semakin tinggi kadar gula yang didapat sebagai bahan fermentasi maka semakin tinggi juga kadar etanol yang akan didapatkan.

#### **F. Hipotesis**

Diduga perlakuan dengan lama waktu terlama yaitu 5 jam dan penambahan molase dengan konsentrasi tertinggi 15% dapat memberikan hasil etanol tertinggi.

