

# **PETUNJUK PRAKTIKUM BIOENERGI**



**Disusun oleh  
Ni Luh Arpiwi, S.Si., M.Sc., Ph.D**

**PRODI BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS UDAYANA, BALI  
2015**

## **KATA PENGANTAR**

Puji syukur kami panjatkan kehadapan Tuhan Yang Maha Esa, karena Berkat dan rahmatNya kami dapat menyelesaikan Petunjuk Praktikum Bioenergi. Petunjuk ini sangat bermanfaat untuk mahasiswa Jurusan Biologi semester V yang mengambil mata kuliah pilihan Bioenergi. Petunjuk ini menuntun mahasiswa dala melakukan praktikum Bioenergi karena berisi tujuan, alat dan bahan, serta cara kerja dari tiap –tiap topik sehingga mudah diikuti. Praktikum Bioenergi sangat esensial untuk memberikan skill bagi mahasiswa yang mengambil kuliah Bioenergi khususnya dalam membuat biodiesel, dan bioethanol dari beberapa sumber bahan baku dengan beberapa metode serta uji kualitas produk yang dihasilkan.

Semoga petunjuk praktikum ini bermanfaat. Bila ada kekurangan ataupun kesalahan mohon saran yang bersifat membangun. Terimakasih

Denpasar, September 2015

Penulis

## **DAFTAR ISI**

<b>I.</b>	<b>EKSTRAKSI MINYAK DARI BIJI.....1</b>
-----------	---

<b>II.</b>	<b>DEGUMMING MINYAK NABATI.....</b>	<b>4</b>
<b>III.</b>	<b>UJI BILANGAN ASAM MINYAK NABATI.....</b>	<b>5</b>
<b>IV.</b>	<b>MENENTUKAN BILANGAN PENYABUNUAN MINYAK NABATI.....</b>	<b>6</b>
<b>V.</b>	<b>PEMBUATAN BODIESEL DENGAN REAKSI TRANSESTERIFIKASI ..</b>	<b>8</b>
<b>VI.</b>	<b>PEMBUATAN BODIESEL DENGAN REAKSI ESTERIFIKASI DAN TRANSESTERIFIKASI....</b>	<b>10</b>
<b>VII.</b>	<b>ANALISIS KUALITAS BODIESEL.....</b>	<b>12</b>
<b>VIII.</b>	<b>PEMBUATAN BIOETANOL DARI SINGKONG.....</b>	<b>15</b>
<b>IX.</b>	<b>PEMBUATAN BIOETANOL DARI KULIT PISANG.....</b>	<b>17</b>
<b>X.</b>	<b>PRE-TREATMENT DAN HIDROLISIS KIMIAWI AMPAS TEBU UNTUK BAHAN BAKU BIOETANOL....</b>	<b>20</b>
	<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>22</b>

## **PRAKTIKUM I EKSTRAKSI MINYAK DARI BIJI**

**Tujuan :** Untuk memperoleh minyak dari biji dengan metode sokletasi

### **Alat**

1. Satu set alat soklet
2. Kertas saring
3. Corong
4. Gelas ukur
5. Labu didih
6. Labu erlenmeyer
7. Mantel pemanas
8. Gelas piala
9. Satu set alat destilasi
10. Termometer
11. Pompa air

### **Bahan**

1. Biji jarak pagar (*Jatropha curcas*)
2. Biji jarak kaliki (*Ricinus communis*)
3. Biji Kemiri (*Aleurites molucana*)
4. Biji malapari (*Pongamia pinnata*)
5. Heksan
6. Vaseline

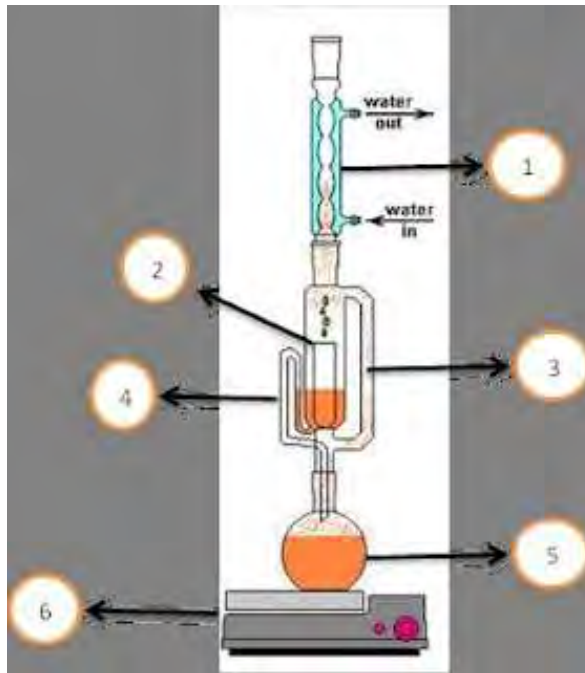
### **Cara kerja**

#### **A. Sokletasi**

1. Pisahkan biji dari kulitnya dan dikeringkan dengan oven (60°C) selama 5 hari atau dijemur dibawah sinar matahari sampai kering
2. Giling biji sampai halus dengan menggunakan blender atau ulekan batu
3. Ayak serbuk biji agar homogen
4. Timbang serbuk ditimbang (10 g) dan dikemas dengan kertas saring
5. Alat soklet dipasang, dihubungkan dengan pompa air yang dilengkapi selang masuk dan keluar air, kemudian dihubungkan dengan mantel pemanas. Oleskan vaselin pada setiap sambungan alat untuk menghindari kebocoran.
6. Masukkan sampel yang dikemas dengan kertas saring ke dalam soklet
7. Isi labu didih dengan heksan sebanyak 170 ml dan tambahkan kepingan keramik pada labu untuk mencegah tumpahnya pelarut dan minyak karena pemanasan yang lama.

8. Hidupkan mantel pemanas dan atur suhu pada 60°C dan ekstraksi dilakukan selama 50 menit. Hasilnya adalah minyak yang masih bercampur dengan pelarut yang selanjutnya akan dipisahkan dengan cara destilasi

Diagram rangkain alat soklet dapat dilihat pada gambar dibawah ini



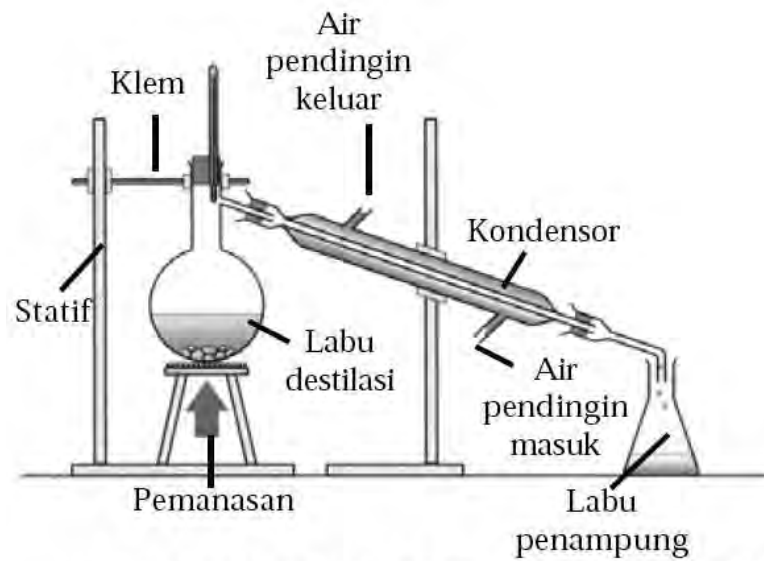
#### Keterangan

1. Kondensor, 2. Timbel, 3. Tabung uap, 4. Tabung sifon, 5. Labu didih, 6. alat pemanas

#### B. Destilasi

1. Pasang alat destilasi dengan cara menghubungkannya dengan pompa air yang dilengkapi selang masuk dan keluar air.
2. Sampel dalam labu didih dihubungkan dengan alat destilasi yang dilengkapi dengan thermometer untuk memantau suhu (60°C).
3. Labu Erlenmeyer untuk menampung destilat (minyak) dipasang pada ujung alat destilasi
4. Hubungkan alat destilasi dengan mantel pemanas dan atur suhu pada 60oC.
5. Akhiri destilasi setelah hamper semua minyak terpisah dari pelarut

Rangkain alat destilasi dapat dilihat pada gambar di bawah ini



**Sumber:** *Basic Concept of Chemistry, 2002*

### C. Pencacatan hasil

1. Timbang berat minyak yang diperoleh
2. Hitung kandungan minyak (rendemen) dalam sampel dengan rumus

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat minyak}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

3. Tampilkan dalam tabel untuk tiap waktu ekstraksi dan untuk masing – masing spesies

## **PRAKTIKUM II DEGUMMING MINYAK NABATI**

**Tujuan :** Untuk membersihkan minyak dari getah atau lendir

**Alat**

Hot plate stirrer  
Batang magnet  
Labu didih  
Corong pisah

**Bahan**

Minyak nabati (minyak jarak, minyak malapari, minyak nyamplung dll)  
NaCl  
Asam sitrat  
Asam fosfat  
Metanol

**Cara Kerja**

1. Masukkan 10 ml minyak nyamplung dan magnet pengaduk ke dalam labu didih
2. Panaskan dengan hotplate stirrer suhu 80°C selama 30 menit sambil diaduk
3. Tambahkan air panas 80°C 20% (v/b) dan NaCl 2% (b/b) atau asam sitrat atau asam fosfat
4. Dinginkan dalam corong pisah selama 3 jam
5. Pisahkan minyak dengan gum

## PRAKTIKUM III

### UJI BILANGAN ASAM MINYAK NABATI

**Tujuan** : untuk mengetahui kandungan asam lemak bebas minyak nabati (jarak, malapari, nyamplung)

#### **Alat**

Erlenmeyer  
Neraca analitik  
Hot plate stirrer  
Batang magnet  
Buret

#### **Bahan**

Minyak nabati  
Alkohol absolut  
Phenolphthalein / PP  
KOH 0,1 N

#### **Cara kerja**

1. Timbang 5 g minyak ditampung pada labu Erlenmeyer kemudian tambahkan 25 ml etanol absolut dan 2-3 tetes pp
2. Panaskan campuran pada suhu 60°C selama 10 menit sambil diaduk, kemudian dinginkan
3. Tuangkan 10 ml KOH 0.1M ke dalam buret dan titrasi campuran sampai terjadi perubahan warna menjadi pink.
4. Catat volume KOH yang dipakai untuk titrasi (V)
5. Hitung bilangan asam dengan rumus berikut:

$$\text{bilangan asam} = \frac{V * N \text{ KOH} * Mr \text{ KOH}}{\text{berat sampel (g)}}$$

Mr KOH = N KOH = 56

%FFA = bilangan asam \* 0.503



## **PRAKTIKUM IV**

### **MENENTUKAN BILANGAN PENYABUNUAN MINYAK NABATI**

**Tujuan** : untuk mengetahui bilangan penyabunan minyak nabati

#### **Alat**

Erlenmeyer ukuran 250 mL  
Kondensor spiral  
Hot plate stirrer  
Buret 25 atau 50 mL  
Gelas kimia 100 mL  
Pipet volume 50 mL

#### **Bahan**

Minyak nabati (jarak, nyamplung, malapari)  
Fenolftalein  
KOH 0,5 N  
HCl 0,5 N

#### **Larutan-larutan**

**KOH 0,5 N** : larutkan 30 gram KOH ke dalam 20 ml air destilasi kemudian buat menjadi 1 liter dengan etanol 95%. Biarkan selama 24 jam dalam suhu ruang kemudian disaring sebelum digunakan

#### **Cara Kerja**

1. Timbang minyak sebanyak 2 gram dan masukkan ke dalam labu Erlenmeyer
2. Tambahkan 25 mL KOH 0,5N
3. Sambungkan labu erlenmeyer dengan kondensor berpendingin udara dan didihkan perlahan tetapi mantap, sampai contoh tersabunkan sempurna. Ini biasanya membutuhkan waktu 1 jam. Larutan yang diperoleh pada akhir penyabunan harus jernih dan homogen; jika tidak, perpanjang waktu penyabunannya.
4. Setelah labu dan kondensor cukup dingin (tetapi belum terlalu dingin hingga membentuk jeli), bilas dinding-dalam kondensor dengan sejumlah kecil aquades. Lepaskan kondensor dari labu, tambahkan 1 mL larutan indikator fenolftalein ke dalam labu,
5. Titrasi isi labu dengan HCl 0,5 N sampai warna merah jambu persis sirna. Catat volume HCl 0,5 N yang dihabiskan dalam titrasi yang disimbulkan S.

6. Lakukan prosedur yang sama untuk blanko (tanpa sampel). Catat volume HCl 0,5 N yg dihabiskan untuk titrasi blanko yang disimbulkan dengan B

$$As = \frac{56,1 (B-S) * N HCl}{berat sampel (g)}$$

As = angka penyabunan

B = volume HCl 0,5 N yang dihabiskan pada titrasi blanko (mL)

S = volume HCl 0,5 N yang dihabiskan pada titrasi sampel (mL)

N = normalitas eksak larutan HCl 0,5 N.

m = berat sampel (g)

## PRAKTIKUM V

### PEMBUATAN BIODIESEL DENGAN REAKSI TRANSESTERIFIKASI

**Tujuan :** Untuk membuat biodiesel dari minyak nabati

**Alat :**

Magnetik stirrer  
Batang magnet pengaduk  
Labu leher dua  
Kondensor spiral  
Termometer  
Neraca analitik  
Gelas kimia  
Corong pisah

**Bahan:**

Minyak nabati (jarak, malapari, nyamplung)  
KOH  
Metanol

**Larutan:**

Pembuatan larutan metoksida: Tuangkan 6.4 gram metanol ke dalam beaker glass kemudian tambahkan 0.3 gram KOH, aduk dengan magnetic stirrer hingga tercampur sempurna.

Perhitungan ratio metanol : minyak 6 : 1

Mr minyak malapari = 909.54

Jika berat minyak = 30.67 gram, berapa gram metanol yang diperlukan???

Mol minyak = massa/Mr =  $30.67/909.54 = 0.0337$  mol

Mol metanol =  $6 * 0.0337 = 0.2$  mol

Massa metanol = mol metanol \* Mr metanol =  $0.2 * 32 = 6.4$  gram

Massa katalis KOH 1% berat minyak =  $1/100 * 30.67 = 0.3$  gram

**Cara Kerja**

1. Sebelum melakukan reaksi transesterifikasi, anaskan minyak nabati pada suhu 100°C selama 30 menit untuk menghilangkan kandungan air
2. Masukkan metoksida ke dalam labu leher dua kemudian panaskan metoksida pada suhu 65°C selama 15 menit sambil diaduk, tambahkan 30,67 gram minyak nabati dan ini membentuk molar rasio metanol : minyak 6 : 1

3. Reflux campuran selama 90 menit.
4. Tampung campuran dalam corong pisah selama semalam
5. Campuran akan membentuk 2 lapisan, lapisan atas biodiesel, dan lapisan bawah gliserol. Pisahkan kedua lapisan tersebut dengan cara membuka kran corong pisah sehingga diperoleh crude biodiesel
6. Cuci biodiesel dengan air beberapa kali pH air cucin netral (7)
7. Keringkan biodiesel dengan vacum sampai jernih sehingga diperoleh biodiesel murni

## PRAKTIKUM VI PEMBUATAN BIODIESEL DENGAN REAKSI ESTERIFIKASI DAN TRANSESTERIFIKASI

**Tujuan :** Untuk membuat biodiesel dari bahan baku dengan kandungan asam lemak bebas lebih besar 3 mg KOH/gram sampel

**Alat :**

Magnetik stirrer  
Batang magnet pengaduk  
Labu leher dua  
Kondensor spiral  
Termometer  
Neraca analitik  
Gelas kimia  
Corong pisah

**Bahan:**

Minyak jelantah  
 $H_2SO_4$   
KOH  
Metanol

**Larutan:**

Pembuatan larutan metoksida: Tuangkan 6.4 gram metanol ke dalam beaker glass kemudian tambahkan 0.3 gram KOH, aduk dengan magnetic stirrer hingga tercampur sempurna.

Perhitungan ratio metanol : minyak 6 : 1

Mr minyak malapari = 909.54

Jika berat minyak = 30.67 gram, berapa gram metanol yang diperlukan???

Mol minyak = massa/Mr =  $30.67/909.54 = 0.0337$  mol

Mol metanol =  $6 * 0.0337 = 0.2$  mol

Massa metanol = mol metanol \* Mr metanol =  $0.2 * 32 = 6.4$  gram

Massa katalis KOH 1% berat minyak =  $1/100 * 30.67 = 0.3$  gram

**Cara kerja**

1. Ukur volume minyak (V minyak)
2. Masukkan minyak ke dalam reaktor, pasang kondensor
3. Masukkan metanol dan panaskan sambil diaduk sampai suhu  $65^{\circ}C$
4. Masukkan katalis asam sulfat pekat, hitung waktu awal reaksi

5. Pertahankan reaksi pada suhu 65°C selama 3 jam
6. Masukkan ke dalam corong pisah, diamkan sampai terbentuk 2 fasa. Fasa atas metanol dan fasa bawah biodiesel.
7. Pisahkan fasa biodiesel, **lanjutkan dengan reaksi transesterifikasi.**

### Perhitungan

- Kebutuhan Metanol Esterifikasi

$$\text{Mol asam lemak bebas} = \frac{AV * V \text{ minyak} * \rho \text{ minyak}}{56100}$$

- Perbandingan mol asam lemak bebas dengan metanol adalah 20

$$\text{Volume metanol (ml)} = \frac{\text{mol asam lemak bebas}}{\rho \text{ metanol}} \times 20$$

- Volume H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> yang digunakan 2 % dari berat minyak

$$\text{Volume H}_2\text{SO}_4 \text{ (ml)} = 2\% \times V \text{ minyak} \times \rho \text{ minyak}$$

## **PRAKTIKUM VII ANALISIS KUALITAS BIODIESEL**

**Tujuan** : untuk mengetahui standar mutu biodiesel menurut SNI 2006

### **1. Analisis Kadar Air**

#### **Alat**

Cawan porselen  
Oven  
Desikator  
Termometer

#### **Bahan**

Contoh biodiesel

#### **Cara kerja**

1. Keringkan cawan porselen dalam oven selama 15 menit lalu dimasukkan ke dalam desikator
2. Sampel biodiesel sebanyak 5 gram (W1) dimasukkan ke dalam cawan tersebut dan ditimbang (W2).
3. Panaskan cawan yang berisi sampel pada suhu 110°C selama 4 jam.
4. Dinginkan cawan dalam desicator dan timbang (W3)

Hitung kadar air dengan rumus

$$\text{Kadar air} = \frac{W2-W3}{W1} * 100\%$$

#### **Keterangan**

W = berat sampel (g)

W2 = berat cawan + sampel biodiesel sebelum dipanaskan (g)

W3 = berat cawn + sampel biodiesel setelah dipanaskan (g)

## 2. Analisis densitas

### Alat

Piknometer  
Desicator  
Neraca analitik  
Oven

### Bahan

Contoh biodiesel  
HCl  
Aquadess

### Cara kerja

1. Bersihkan piknometer dengan HCl lalu dibilas tiga kali dengan aquades kemudian dibilas sekali dengan alkohol kemudian dikeringkan dalam oven selama 5 menit
2. Masukkan piknometer ke dalam desicator selama 10 menit
3. Timbang piknometer hingga diperoleh massa tetap (W1)
4. Isi piknometer dengan sampel biodiesel, bagian luarnya dilap hingga kering dan ditimbang sehingga diperoleh masa yang tetap (W2)

Hitung densitas sampel dengan rumus

$$\rho = \frac{(W2-W1)}{V}$$

### Keterangan

P = densitas (g/ml)

W2 = masa piknometer + sampel (g)

W1 = masa piknometer (g)

## 3. Bilangan Iodin

### Alat

Buret  
Neraca analitik  
Erlenmeyer

### Bahan

Larutan hanus : larutkan 1,2 gram iodin dalam 1 liter asam asetat glasial dan tambahkan 3 ml air bromin untuk meningkatkan kandungan halogen

Larutan potassium iodin 15%

Larutan pati 1%

Chloroform

Parafilm



Sodium thiosulfate 0,1N  
Air destilasi

### Cara Kerja

1. Timbang sampel biodiesel sekitar 0,25 g dan masukan ke dalam erlenmeyer 250 ml
2. Tambahakan kloroform sebanyak 10 ml
3. Tambahakan larutan hanus sebanyak 30 ml dan tutup Erlenmeyer dengan parafilm, kemudian dikocok terus menerus selama 30 menit
4. Tambahakan potassium iodine 15% sebanyak 10 ml kemudian dikocok
5. Tambahakan air destilasi 100 ml (DW)
6. Titrasi campuran dengan sodium thiosulfate 0,1 N sampai terbentuk warna kuning
7. Tambahakan 2-3 tetes larutan pati sehingga terbentuk warna biru
8. Lanjutkan titrasi sampai warna biru menghilang. Volume  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  pada akhir titrasi sampel disimbulkan dengan huruf S
9. Lakukan prosedur diatas tanpa sampel (blanko). Volume  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  pada akhir titrasi blanko disimbulkan dengan huruf B

Hitung bilangan iodin dengan rumus

$$\text{Bilangan Iodin} = \frac{(B-S) \cdot N \text{ Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 0,127 \frac{\text{g}}{\text{meq}} \cdot 100}{\text{Berat sampel (g)}}$$

B = Volume (ml)  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  untuk blanko

S = Volume (ml)  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  untuk sampel

4. **Bilangan Ester** = Bilangan penyabunan – Bilangan asam
5. **Persen gliserin** = Bilangan ester x 0,054664

## PRAKTIKUM VIII PEMBUATAN BIOETANOL DARI SINGKONG

**Tujuan :** Untuk membuat bioethanol dari singkong dengan tehnik fermentasi

### **Alat**

Parutan  
Panci  
Wadah fermentasi  
Kompur  
Alat destilasi

### **Bahan**

Singkong  
Ragi

### **Cara kerja**

1. Kupas singkong dan bersihkan dengan cara mencuci
2. Parut 1 kg singkong, masukan ke dalam panik, tambahkan 4 liter air
3. Panaskan pada suhu 100°C selama 30 menit sambil diaduk hingga mengental menjadi bubur pati, kemudian dinginkan
4. Pindahkan bubur pati ke wadah fermentasi dan tambahkan ragi *Saccharomyces cerevisiae* sebanyak 10% dari total bubur pati sedikit demi sedikit sambal diaduk agar tercampur
5. Tutup rapat wadah fermentasi dan iarkan selama 2-3 hari
6. Terbentuk 3 lapisan, lapisan paling bawah adalah endapan protein, diatasnya air dan etanol.
7. Pisahkan etnol dan endapan protein dengan penyaringan sehingga menghasilkan etanol yang masih bercampur air
8. Destilasi pada titik didih etanol (78°C) untuk memisahkan etanol dari larutan hasil fermentasi
9. Ukur kadar etanol dan pH
10. Hitung rendemen fermentasi dengan rumus:

$$Rf = \frac{Hf}{Bp} * 100\%$$

Rf = rendemen fermentasi

Hf = Larutan hasil fermentasi yang telah disaring dn sip untuk didestilasi (liter)

Bp = Volume bubur pati (liter)

11. Hitung rendemen destilasi dengan rumus

$$Rd = \frac{Bd}{Hf} * 100\%$$

Rd = Rendemen destilasi (%)

Bd = Bioetanol hasil destilasi (liter)

Hf = larutan hasil fermentasi (liter)

## PRAKTIKUM IX PEMBUATAN BIOETANOL DARI KULIT PISANG

**Tujuan :** untuk meningkatkan kadar selulosa kulit pisang

### 1. Pembuatan enzim selulase

#### Cara kerja

##### a. Penyiapan inokulum

- Siapkan 100 ml media cair yang terdiri dari sukrosa 12,5%,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0,25%,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,2%
- Atur pH media cair dengan HCl hingga pH 3
- Celupkan ujung kawat ose ke dalam etanol 9% lalu dipanaskan dalam api bunsen sampai berwarna merah
- Ambil biakan *Aspergillus niger* dari media PDA dengan ose lalu celupkan beberapa saat pada media cair hingga keruh. Lakukan ini di ruang aseptik
- Tutup Erlenmeyer dengan kapas dan inkubasi pada suhu 24°C selama 24 jam

##### b. Produksi enzim selulase dengan media cair padat

- Potong - potong kulit pisang kemudian keringkan
- Timbang 20 gram sampel kulit pisang kering dan masukkan ke dalam beaker glass 250 ml kemudian tambahkan urea 0,03 gram,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,005 g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,0023 g
- Atur pH hingga pH 5 kemudian autoclave pada suhu 120°C selama 15 menit, kemudian dinginkan
- Tambahkan suspensi spora *Aspergillus niger* sebanyak 10 ml pada media tersebut
- Inkubasi pada suhu 30°C dengan waktu fermentasi 96 jam

##### c. Pengambilan enzim

- Ekstrak hasil fermentasi dengan aquades 100 ml kemudian letakkan pada rotary shaker 150 rpm selama 15 menit
- Saring cairan hasil fermentasi dengan kertas saring
- Simpan enzim yang diperoleh di kulkas dan siap digunakan

## 2. Pre- treatment

**Tujuan :** membuka struktur lignuselulosa agar selulosa lebih mudah diakses oleh enzim selulase

### Cara kerja

1. Potong – potong kulit pisang kemudian keringkan di bawah sinar matahari lalu di oven
2. Blender kulit pisang kering hingga membentuk serbuk halus
3. Masukkan 50 gram serbuk kulit pisang ke dalam erlenmeyer 500 ml
4. Tambahkan 100 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1% dan tutup rapat erlenmeyer dengan gabus
5. Autoclave pada suhu 121°C selama 30 menit
6. Pisahkan fase cair dan padat dengan penyaringan
7. Tambahkan 100 ml NaOH 4% pada fase padat (selulignin), tutup rapat kemudian panaskan kembali pada suhu 121°C selama 30 menit.
8. Cuci fase solid dengan air beberapa kali

## 3. Hidrolisis enzimatik

**Tujuan :** Menguraikan selulosa menjadi glukosa

### Cara kerja

1. Masukkan hasil pre-treatment ke dalam Erlenmeyer 500 ml lalu ditambahkan 100 ml aquadest dan tur pH 4-5
2. Autoclave pada suhu 100°C selama 30 menit hingga membentuk bubur kulit pisang
3. Dinginkan pada suhu ruang
4. Tambahkan enzim selulase sebanyak 9 ml lalu tutup rapat erlenmeyer dengan gabus
5. Letakkan pada rotary shaker 160 rpm selama 24 jam

#### **4. Proses fermentasi**

Tujuan : mengubah glukosa menjadi etanol

Cara Kerja

1. Timbang 4 gram hidrolisat kemudian masukkan ke dalam Erlenmeyer 500 ml
2. Tambahkan 4 gram ragi *Saccharomyces cerevisiae* dan diaduk pada 150 rpm sampai homogen
3. Pasang selang karet pada Erlenmeyer dan hubungkan ujung selang dengan air agar tidak terjadi kontak langsung dengan udara
4. Fermentasi selama 5 hari
5. Pisahkan larutan dengan bubur kulit pisang dengan cara menyaring sehingga diperoleh alkohol bercampur air

#### **5. Destilasi**

1. Destilasi pada suhu 80°C selama 1,5 – 2 jam sampai etanol tidak menetes lagi
2. Ukur kadar destilat (etanol) yang diperoleh

## **PRAKTIKUM X PRE-TREATMENT DAN HIDROLISIS KIMIWI AMPAS TEBU UNTUK BAHAN BAKU BIOETANOL**

**Tujuan :** untuk meningkatkan kadar selulosa ampas tebu sehingga lebih mudah diakses oleh enzim selulase

### **Alat**

Ayakan 40 mesh  
Shieve shaker  
Oven  
Reflux  
Desicator  
pH meter, autoclave  
Incubator  
Votex  
Neraca analitik  
Plate stirrer  
Laminar air flow  
Centrifuge dingin  
Mikropipet 1000  $\mu$ l  
Ose  
Bunsen  
Glass ware

### **Bahan**

Ampas tebu  
Enzim selulase  
 $H_2O_2$   
 $H_2SO_4$   
NaOH

### **Pre treatment**

Rendam serbuk bagas tebu dengan salah satu larutan kimia  $H_2O_2$  5% selama 72 jam atau  $H_2SO_4$  1% selama 30 menit kemudian saring dan keringkan

### **Cara Kerja Analisa lignin dengan metode Klason:**

1. Timbang 0,5 gram (W1) hasil pre-treatment dan masukan ke dalam Erlenmeyer
2. Tambahkan 25 ml asam sulfat 72% dan aduk
3. Shake campuran pada suhu ruang selama 3 jam
4. Saring campuran untuk mendapatkan residu
5. Tambahkan 25 ml asam sulfat 3%
6. Autoclave campuran pada  $121^\circ C$  selama 30 menit kemudian disaring dengan saringan logam
7. Oven pada suhu  $100^\circ C$  selama 1 jam dan timbang berat akhirnya (W2)

8. Hitung kadar lignin dengan rumus

$$\text{Kadar lignin} = \frac{W_2}{W_1} \times 100$$

W1 = berat awal (g)

W2 = berat akhir (g)

### **Analisa kadar Selulosa Metode Chesson**

1. Timbang 1 gram hasil pre-treatment dan letakkan pada erlenmeyer 250 ml kemudian ditimbang sebagai berat A
2. Tambahkan 100 ml aquades dan refluks pada suhu 100oC selama satu jam
3. Saring residu dan keringkan di oven.
4. Timbang residu sebagai berat B
5. Masukkan residu berat B ke dalam Erlenmeyer 250 ml dan tambahkan 150 ml asam sulfat 1 N
6. Refluks pada suhu 100°C selama 1 jam
7. Saring residu dan netralkan dengan air panas kemudian keringkan di oven. Timbang sebagai residu berat C
8. Tampung residu berat C dalam Erlenmeyer 250 ml kemudian tambahkan 15 ml asam sulfat 72% pada suhu ruang selama 4 jam
9. Tambahkan 150 ml asam sulfat 1 N dan refluks selama 1 jam
10. Saring residu, netralkan dengan air panas kemudian keringkan dengan oven, timbang residu sebagai berat D
11. Hitung kadar selulosa dengan rumus

$$\text{Kadar selulosa} = \frac{\text{Berat C} - \text{Berat D}}{\text{Berat A}} * 100\%$$



## DAFTAR PUSTAKA

- Mailool JC, Molenaar R, Tooy D, Longdong IA. Produksi bioethanol dari singkong (manihot utilissima) dengan skala laboratorium.
- Seftian D, Antonus F, Faizal M (2012) Pembuatan etanol dari kulit pisang menggunakan metode hidrolisis enzimatis dan fermentasi. *Jurnal Teknik Kimia* 18 (1):10-16
- Setiawati E dan Fatmir E (2012) Teknologi pengolahan biodiesel dari minyak goreng bekas dengan tehnik mikrofiltrasi dan transesterifikasi sebagai alternative bahan bakar mein diesel. *Jurnal Riset Industri*. 6 (2): 117-127
- Syamsidar HS (2010) Pembuatan dan uji kualitas biodiesel dari minyak jelantah. *Jurnal Teknosains* 7 (2): 209-218
- Wardani AK, Kusumawardini (2015) Pre-treatment ampas tebu (*Saccharum officinarum*) sebagai bahan baku bioetnol generasi kedua. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* 3 (4): 1430-1437