**Pengaruh *Pretreatment* dan Waktu Fermentasi pada Pembuatan Bioetanol dari Tandan Kosong Kelapa Sawit dengan Menggunakan Ragi Tape**

Maretiyati Nur Fatonah1, Devi Silsia2, Hasanuddin2

1)Mahasiswi Jurusan Teknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Bengkulu

2)Dosen Jurusan Teknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Bengkulu

Jalan WR. Supratman, Kandang Limun, Bengkulu, 38371A

[maretiyatinurfatonah28@gmail.com](mailto:maretiyatinurfatonah28@gmail.com)

***ABSTRACT***

*The purpose of this study was to determine the effect of pretreatment treatment and duration of fermentation on yield and quality of bioethanol produced. This study uses Completely Randomized Design (CRD) two factorial consisting of two factors that is pretreatment (soaking and without soaking) and fermentation time (3 days, 5 days, 7 days). Data analysis used in this study is ANOVA. The conclusion of this study is that the pretreatment treatment had a significant effect on yield, and the quality of bioethanol significantly affected the yield, density, ethanol content, and pH of the bioethanol produced. But it has no significant effect on acidity as acetic acid. While the duration of fermentation treatment does not significantly affect the yield, pH of bioethanol and acidity as acetic acid. But it has a significant effect on density and ethanol content.*

***Keywords:*** *Waste, Oil Palm Empty Fruit Bunches, Pretreatment, Length of Fermentation*

**ABSTRAK**

Tujuan dari penelitian ini adalah menentukan pengaruh dari perlakuan *pretreatment* dan lama fermentasi terhadap rendemen serta mutu bioetanol yang dihasilkan. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dua faktorial yang terdiri dari dua faktor yaitu pretreatment (perendaman dan tanpa perendaman) dan waktu fermentasi (3 hari, 5 hari, 7 hari). Metode analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah ANOVA. Kesimpulan dari penelitian ini adalah perlakuan *pretreatment* berpengaruh nyata terhadap rendemen, serta mutu bioetanol berpengaruh nyata terhadap rendemen, densitas, kadar etanol, dan pH dari bioetanol yang dihasilkan. Tetapi berpengaruh tidak nyata terhadap keasaman sebagai asam asetat. Sedangkan perlakuan lama fermentasi tidak berpengaruh nyata terhadap rendemen, pH bioetanol dan keasaman sebagai asam asetat. Tetapi berpengaruh nyata terhadap densitas dan kadar etanol.

**Kata Kunci** : Limbah, Tandan Kosong Kelapa Sawit, *Pretreatment*, Lama Fermentasi

**PENDAHULUAN**

Tandan kosong kelapa sawit merupakan salah satu limbah padat yang dihasilkan oleh industri kelapa sawit. Tandan kosong kelapa sawit adalah bagian dari pohon sawit yang berfungsi sebagai tempat buah kelapa sawit (Ningsih,dkk. 2012). Rata - rata produksi tandan kosong kelapa sawit adalah berkisar 22% hingga 24% dari total berat tandan buah segar yang di proses di pabrik kelapa sawit (Lumbangaol,dkk. 2013), limbah ini belum dimanfaatkan secara baik oleh sebagian besar pabrik kelapa sawit dan masyarakat di Indonesia. Sebagian besar pabrik kelapa sawit di Indonesia masih menjadikan tandan kosong kelapa sawit sebagai bahan bakar.

Tandan kosong kelapa sawit merupakan limbah *lignoselulosa* yang belum termanfaatkan secara optimal. Padahal tandan kosong kelapa sawit berpotensi untuk dikembangkan menjadi materi atau zat yang lebih berguna. Komponen utama limbah pada tandan kosong kelapa sawit ialah selulosa dan lignin, sehingga limbah ini disebut sebagai limbah *lignoselulosa* (komponen utama tumbuhan) (Widiastuti,dkk. 2007).

Menurut Sudiyani,dkk (2010) *lignoselulosa* berpotensi untuk dirubah menjadi glukosa kemudian dirubah lagi menjadi bioetanol yang merupakan bahan baku energi terbarukan. Lignoselulosa mengandung tiga komponen penyusun utama yaitu selulosa (30-50% berat) hemiselulosa (15-30% berat) dan lignin (13-30% berat) (Saharii, 2016). Menurut Iranmahboob,dkk. (2012), selulosa secara alami diikat oleh hemiselulosa dan dilindungi oleh lignin. Adanya senyawa pengikat lignin inilah yang menyebabkan bahan – bahan *lignoselulosa* sulit untuk dihidrolisa.

Bioetanol merupakan salah satu *biofuel* yang hadir sebagi bahan bakar alternatif yang lebih ramah lingkungan dan sifatnya yang terbarukan. Bioetanol bersifat multi – guna karena dicampur dengan bensin pada kompesisi berapapun memberikan dampak positif. Bioetanol (C2H5OH) adalah cairan biokimia dari proses fermentasi gula dari sumber karbohidrat menggunakan bantuan mikroorganisme (Ningsih,dkk. 2012).

Pembuatan etanol dari bahan *lignoselulosa* melalui empat proses utama yaitu 1. *Preatreatment* 2. hidrolisa, 3.fermentasi dan 4.pemisahan serta pemurnian produk etanol (Mosier, 2005). Menurut Kristina,dkk (2012) *preatreatment* biomassa lignoselulosa dilakukan untuk mendapatkan hasil yang tinggi. Pretreatment dapat dilakukan secara fisika, kimia , fisika – kimia, dan biologis (Hidayat, 2013). *Preatreatment* ini dilakukan agar lignoselulosa lebih mudah untuk dibuka sehingga polimer polisakarida dapat dipecah menjadi monomer gula. Dan menurut Ningsih,dkk (2012) jika tidak dilakukan *preatreatment* terlebih dahulu, lignoselulosa sulit untuk dihidrolisis karena lignin sangat kuat melindungi selulosa sehingga sangat sulit melakukan hidrolisis sebelum memecah pelindung lignin.

*Pretreatment* secara kimiawi mempunyai tujuan utama untuk meningkatkan biodegradasi selulosa dengan menghilangkan lignin dan hemiselulosa. Metode ini bertujuan untuk menurunkan tingkat polimerisasi dan kristalisasi komponen selulosa (Hidayat, 2013). *Pretreatment* secara kimia dapat digunakan menggunakan asam dan basa. *Pretreatment* secara basa dengan menggunakan larutan natrium, kalium, kalsium dan amonium hidroksida. Pemakaian basa menyebabkan perubahan struktur lignin dengan cara mendegradasi ester dan rantai samping glikosidiknya. Penggunaan basa juga menyebabkan dekristalisasi parsial selulosa, solvasi parsial hemiselulosa dan mengakibatkan selulosa membesar.

Proses *pretreatment* ini dapat dilakukan dengan cara pemasanasan (Sastrohamidjojo, 2016), ataupun dengan perendaman dalam waktu tertentu. Dengan kedua metode diatas kadar etanol yang dihasilkan belum maksimal. Hal ini diduga NaOH belum maksimal masuk kebagian lignin karena keterbatasan waktu sehingga ikatan lignin yang berada di selulosa belum maksimal untuk diuraikan.Menurut Sahayu (2017) untuk meningkatkan rendemen selulosa dan mengurangi kadar lignin pada proses pembuatan pulp dapat dilakukan dengan merendam lignoselulosa dalam larutan alkali (NaOH) sebelum proses pemasakan. Selulosa yang telah dipisahkan dari lignin selanjutnya dihidrolisis menjadi monosakarida, kemudian monosakarida tersebut difermentasi menjadi bioetanol.

Mikroorganisme yang dapat digunakan untuk fermentasi bioetanol salah satunya adalah *Saccharomyces cerevisiae* (ragi tape) (Arif,dkk. 2016). Lama fermentasi pada proses produksi bioetanol sangat mempengaruhi kadar bioetanol yang dihasilkan. Semakin lama waktu fermentasi maka semakin tinggi kadar bioetanol yang dihasilkan. (Azizah, 2012) Faktor – faktor yang mempengaruhi fermentasi antara lain yaitu lama fermentasi, jenis mikroorganisme, derajat Keasaman, suhu, dan konsentrasi ragi (Ningsih, Y. A. 2012)

Melihat tingginya potensi limbah tandan kosong kelapa sawit maka berpeluang besar untuk dirubah menjadi bioetanol tetapi belum diketahui metode *pretreatment* dan waktu fermentasi yang cocok untuk menghasilkan bioetanol dengan rendemen yang tinggi. Untuk itu perlu dilakukan penelitian.

**METODE PENELITIAN**

**Tempat dan Waktu**

Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Pertanian Universitas Bengkulu mulai bulan Juli s.d bulan September 2018.

**Bahan dan Alat**

Bahan – bahan yang diperlukan untuk penelitian ini adalah limbah tandan kosong kelapa sawit yang diperoleh dari PT. Bio Nusantara Teknologi, *Saccharomyces cerevisiae* (ragi tape) yang diperoleh dari pasar minggu, aquadest, larutan natrium hidroksida (NaOH 4%) , larutan asam sulfat (H2SO4 pekat 98%), pp (phenopetaline) 1% dll.

Alat – alat yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah alat grinder tandan kosong kelapa sawit, neraca analitis, gelas ukur, erlenmeyer 500 ml, pengaduk, indicator universal, saringan, seperangkat alat destilasi, piknometer 25 ml, oven, selang, gabus dll.

**Rancangan Penelitian**

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) 2 Faktorial yang terdiri dari 2 faktor yaitu *pretreatment* (perendaman dan tanpa perendaman) dan waktu fermentasi (3hari, 5hari dan 7 hari). Pembuatan bioetanol berdasarkan penambahan larutan NaOH (4%) serta larutan asam sulfat (H2SO4 pekat 98%) dengan penambahan *Saccharomyces cerevisiae* (ragi tape) dengan masing – masing perlakuan

**Variabel Pengamatan**

Variabel yang diamati seperti rendemen destilat, densitas, kadar etanol, pH dan keasaman sebagai CH3COOH.

**Rendemen Destilat**

Rendemen dapat dihitung dengan rumus berikut :

(Marjoni,2014)

**Densitas Bioetanol**

Pengukuran densitas dilakukan pada suhu 25ºC dengan menggunakan alat piknometer, yang dimana piknometer yang digunakan adalah piknometer 25 ml pada suhu kamar. Yang dimana tahapan dalam pengukuran densitas, yaitu :

1. Piknometer diisi dengan bioetanol hasil destilasi dan ditimbang masaanya.
2. Selisih massa antara piknometer kosong dan yang berisi bioetanol merupakan massa bioetanol.
3. Densitas bioetanol diperoleh dengan membagi masaa bioetanol dengan volumenya.
4. Dicatat densitas yang diperoleh pada tiap – tiap perlakuan.

Perhitungan :

(g/ml)

Dimana :

m = massa (piknometer + sampel) – massa piknometer kosong (g)

Vp = Volume piknometer (ml) (Wijaya, dkk. 2012).

**Kadar Etanol**

Kadar etanol yang digunakan analisa density. Kadar etanol dihitung menggunakan tabel konversi BJ-etanol atau dilihat menggunakan tabel alkoholometrik atau tabel bobot jenis dan kadar etanolpada lampiran 2 (Wijaya, dkk. 2012).

**pH**

Untuk analisis pH, sampel diuji dengan mengukur suhu sampel dahulu kemudian mengatur suhu pH meter pada suhu teru kur, pH meter dihidupkan dan biarkan agar stabil dalam waktu 1-2 menit. Elektorda dibilas dengan aquades dan dikeringkan dengan tissue. Kemudian elektroda dicelupkan lagi pada sampel sampai diperoleh pembacaan skala pH sampel yang stabil (Richana, 2011).

**Keasaman sebagai CH3COOH**

Prinsip dasar metode ini adalah reaksi titrasi asam basa antara asam asetat dengan natrium hidroksida dilakukan berdasarkan SNI 3565:2009 (BSN, 2009) sebagai berikut :

1. Pipet 20 mL larutan contoh ke dalam Erlenmeyer bertutup, tambahkan 20 mL air suling bebas CO 2 (air suling yang telah dididihkan).
2. Beri 0,1 mL larutan indikator fenolftalein.
3. Titrasi dengan larutan standar NaOH 0,01 N sampai warna berubah menjadi merah muda.

Perhitungan :

Keterangan :

V = volume titran (mL);

N = normalitas titran (ek/L);

1. berat equivalen asam asetat

**Analisis Data**

Data yang telah dikumpulkan dianalisis dengan menggunakan uji ANAVA dan dilanjutkan dengan menggunakan Duncan’s Multitiple Test (DMRT) pada taraf 5% menggunakan program SPSS 22.0

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Rendemen Hasil Destilasi**

Rendemen adalah presentase berat cairan setelah di destilasi yang dihasilkan dari berat bahan yang digunakan. Semakin banyak rendemen yang dihasilkan maka akan semakin menguntungkan. Hasil analisis rata-rata rendemen bioetanol berkisar antara 25,66 – 30,22 %. Hasil masing – masing perlakuan dapat dilihat pada gambar 1.

**Gambar 1**. Pengaruh perendaman 24 jam dan tanpa perendaman dengan waktu fermentasi terhadap rendemen hasil destilasi dari limbah tandan kosong kelapa sawit

Rendemen terendah diperoleh pada perlakuan pendahuluan tanpa perendaman 24 jam dengan lama waktu fermentasi 3 hari yaitu 25,66%. Sedangkan rendemen tertinggi diperoleh pada perlakuan pendahuluan perendaman 24 jam dengan waktu fermentasi 3 hari dan 5 hari yaitu 30,22%.

Berdasarkan hasil uji ANOVA dengan taraf signifikan 5% menunjukkan nilai Fhitung perlakuan pretreatment sebesar 306,401 dengan taraf signfikan 0,000 (p<0,05) yang berarti perlakuan pretreatment berpengaruh nyata terhadap nilai rendemen bioetanol dari tandan kosong kelapa sawit dan untuk perlakuan lama fermentasi terhadap nilai rendemen bioetanol tandan kosong kelapa sawit diperoleh Fhitung sebesar 1,850 dengan taraf signifikan 0,199 (p>0,05) yang berarti berpengaruh tidak nyata sedangkan interaksi pretreatment dan lama fermentasi berpengaruh tidak nyata terhadap rendemen bioetanol Tandan Kosong Kelapa Sawit. Hal ini dapat dilihat pada nilai Fhitung 1,009 dengan taraf signifikan 0,394 (p>0,05). Bioetanol dari limbah tandan kosong kelapa sawit dengan rendemen tertinggi diperoleh pada perlakuan pretreatment perendaman 24 jam dan lama fermentasi 3 hari perendaman 24 jam sebesar 30,22% sedangkan bioetanol dari limbah tandan kosong kelapa sawit dengan perlakuan pretreatment tanpa perendaman 24 jam dan lama fermentasi 3 hari memiliki rendemen terendah yaitu sebesar 25,66%

Nilai rendemen pada perendaman 24 jam terus meningkat seiring dengan peningkatan suhu dan waktu destilasi. Peningkatan nilai rendemen ini disebabkan karena peningkatan suhu dan waktu destilasi menyebabkan cairan yang dapat diuapkan. Uap yang dihasilkan terkondensasi menjadi etanol destilat pada labu penampung destilat.

Selain pengaruh suhu dan waktu destilasi, nilai rendemen juga sangat dipengaruhi oleh bahan baku, proses, dan alat destilasi yang digunakan. Pada penelitian ini digunakan alat destilasi yang sangat sederhana, sehingga nilai rendemen yang dihasilkan tidak terlalu besar. Upaya untuk meningkatkan nilai rendemen yang dihasilkan dapat dilakukan dengan menambah lama waktu destilasi sehingga larutan fermentasi yang teruapkan akan semakin bertambah (Marjoni, 2014).

**Densitas**

Densitas (massa jenis) adalah pengukuran massa setiap satuan volume zat cair. Hasil densitas bioetanol dengan perlakuan jumlah ragi dan jenis ragi. Hasil pengukuran densitas bioetanol dapat dilihat pada tabel 1.

**Tabel 1 .** Densitas Bioetanol

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Lama Fermentasi** | **Pretreatment** | **Densitas** |
| 1. Hari   5 Hari  7 Hari | Perendaman 24 jam  Tanpa perendaman  Perendaman 24 jam  Tanpa perendaman  Perendaman 24 jam  Tanpa perendaman | 0,9665bc  0,9726c  0,9604ab  0,9702c  0,9565a  0,9680c |

**Keterangan :** Angka yang diikuti berbeda menunjukkan berbeda nyata pada taraf 5%

Setelah *fermentasi* selama 3 hari, 5 hari dan 7 hari dilanjutkan proses destilasi selama 3-4 jam pada suhu 78-90°C dan diperoleh destilat. Destilat ditampung dan diukur densitasnya menggunakan piknometer. Berdasarkan hasil uji anova yang dapat dilihat di lampiran 9, nilai Fhitung perlakuan pretreatment sebesar 23,881 dengan taraf signifikan 0,000 yang berarti perlakuan pretretament berpengaruh nyata terhadap densitas dan untuk pengaruh lama fermentasi terhadap bioetanol yang dihasilkan diperoleh Fhitung sebesar 5,083 dengan taraf signifikan 0,025 yang berarti limbah tandan kosong kelapa sawit berpengaruh nyata terhadap densitas. Sedangkan interaksi antara perlakuan pretreatment dan lama fermentasi berpengaruh tidak nyata terhadap bioetanol. Hal ini dapat dilihat dari Fhitung yang diperoleh sebesar 0,715 dengan taraf signifikan 0,509. Tidak adanya perbedaan ini disebabkan karena kadar etanol dari limbah tandan kosong kelapa sawit yang dihasilkan dari setiap perlakuan hampir sama.

Densitas bioetanol terbesar diperoleh pada perlakuan sampel pretreatment perendaman selama 24 jam dalam larutan NaOH dengan lama waktu fermentasi 7 hari yaitu 0,9565267g/ ml. Densitas bioetanol dalam penelitian ini belum memenuhi Standar Nasional Indonesia (SNI) yang dihasilkan yaitu 0,790 g/ml. karena destilasi yang digunakan hanya satu kali destilasi sedangkan untuk mendapatkan densitas 95,13% harus melewati destilasi sebanyak 14 kali (Wijaya, 2012).

**Kadar Etanol**

Bioetanol yang dihasilkan dari gula merupakan hasil aktivitas fermentasi. Kadar bioetanol yang dihasilkan pada *pretreatment* perendaman dan tanpa perendaman pada dengan lama fermentasi 3 hari, 5 hari, dan 7 hari dapat dilihat pada gambar 2.

**Gambar 2.** Pengaruh perendaman 24 jam dan tanpa perendaman dengan waktu fermentasi terhadap kadar etanol dari limbah tandan kosong kelapa sawit

Pada gambar 2 dapat dilihat bahwa kadar etanol pada perlakuan pretreatment perendaman 24 dengan lama fermentasi 3 hari yaitu 21,85 lalu fermentasi 5 hari yaitu 25,83 dan untuk fermentasi 7 hari yaitu 28,39. Sedangkan untuk perlakuan tanpa perendaman pada hari ke-3 yaitu 17,71 lalu di hari ke-5 yaitu 19,33 dan dihari ke-7 yaitu 20,27. Pada lampiran 5 pretreatment dengan nilai Fhitung yaitu 23,846 dengan taraf signifikan 0,000 yang berarti pretreatment berpengaruh nyata terhadap kadar etanol. Sedangkan lama fermentasi nilai Fhitung yaitu 4,912 dengan taraf signifikan 0,028 yang berarti lama fermentasi berpengaruh nyata terhadap kadar etanol. Dan untuk interaksi antara pretreatment dan lama fermentasi nilai Fhitung yaitu 0,690 dengan taraf signifikan 0,520 yang berarti interaksi berpengaruh nyata.

Pada perendaman tanpa perendaman kadar etanol dihari ke-3 yaitu 17,71%, dihari ke-5 19,33% dan dihari ke-7 20,27%. Sedangkan hasil dari perendaman 24 jam dihari ke-3 yaitu 21,85%, dihari ke-5 yaitu 25,83% dan dihari ke-7 yaitu 28,39%. Kadar etanol yang paling tinggi 28,39% yaitu dihari ke -7 dengan perlakuan perendaman 24 jam dengan densitas pada gambar 3 yaitu 0,9565 gr/ml. Hasil penelitian Ningsih (2012) pada pembuatan bioetanol dengan menggunakan ragi roti dengan proses pemanasan langsung bersama alkali (NaOH) kadar etanol yang paling tinggi adalah sebesar 0,9698 gr/ml yaitu dihari kelima dengan densitas etanol yaitu 16,41444 % serta lama fermentasi kelima. Semakin rendah atau kecil densitas etanol yang dihasilkan, maka semakin besar kadar etanol yang dihasilkan (Ningsih, 2012). Lama fermentasi pada proses produksi bioetanol sangat mempengaruhi kadar bioetanol yang dihasilkan. Semakin lama waktu fermentasi maka semakin tinggi kadar bioetanol yang dihasilkan. Jika bioetanol yang terkandung di dalam substrat tinggi maka hal ini justru akan berpengaruh buruk terhadap pertumbuhan *Saccharomyces cerevisae*. Oleh karena itu, dibutuhkan lama fermentasi yang tepat untuk proses fermentasi bioetanol agar didapatkan kadar etanol dalam jumlah yang tinggi, nilai pH rendah, dan produksi gas yang tinggi tidak mengganggu pertumbuhan *Saccharomyces cerevisae* (Azizah,dkk. 2012).

**pH Bioetanol**

Derajat keasaman (pH) merupakan salah satu faktor penting yang perlu untuk diperhatikan pada saat proses fermentasi. pH mempengaruhi pertumbuhan *Saccharomyces cerevisae.* Hasil rata – rata pH bioetanol pada berbagai perlakuan dan lama fermentasi dapat dilihat pada tabel 2.

**Tabel 2 .** pH Bioetanol

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Lama Fermentasi** | **pretreatment** | **pH Bioetanol** |
| 3Hari  5Hari  7Hari | Perendaman 24 jam  Tanpa perendaman  Perendaman 24 jam  Tanpa perendaman  Perendaman 24 jam  Tanpa perendaman | 4,3433b  4,2433a  4,3600bc  4,2467a  4,3667c  4,2500a |

**Keterangan :** Angka yang diikuti berbeda menunjukkan berbeda nyata pada taraf 5%

Berdasarkan hasil uji anova dapat dilihat lampiran 2 nilai Fhitung perlakuan pretreatment sebesar 445,500 dengan taraf signifikan 0,000 (P <0,05) yang berarti perlakuan pretreatment berpengaruh nyata terhadap pH bioetanol. Dan untuk lama fermentasi terhadap bioetanol yang dihasilkan diperoleh Fhitung sebesar 2,864 dengan taraf signifikan 0,096 (P>0,05) yang berarti limbah tandan kosong kelapa sawit berpengaruh tidak nyata terhadap pH fermentasi. Sedangkan interaksi antara pretreatment dan lama fermentasi berpengaruh tida k nyata terhadap bioetanol.

Hal ini dapat dilihat dari Fhitung yang diperoleh sebesar 0,955 dengan taraf signifikan 0,412 (P>0,05). Fermentasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* pada perlakuan perendaman maupun tanpa perendaman mengalami pH bioetanol yang terlihat menurun dari hari ke hari, yaitu pada perendaman hari ke-3. Sesuai dengan pendapat roukas (1994), bahwa kisaran pertumbuhan pH 3,5 – 6,5. Pada kondisi basa, *Saccharomyces cerevisae* tidak tumbuh. Ditambahkan oleh Elevri dan Putra (2006), bahwa produksi etanol oleh *Saccharomyces cerevisae* paling maksimal dapat dicapai pH 4,5 (Azizah, 2012)

Dari gambar 4 dapat dilihat bahwa pH bioetanol dengan menggunakan ragi tape mengalami kenaikan pH pada perendaman 24 jam mengalami kenaikan terlihat hari ke-3 yaitu 4,34 dan di hari ke-5 serta ke-7 yaitu 4,36. Sedangkan pada perlakuan tanpa perendaman hari ke-3 dan ke-4 yaitu 4,24 serta di hari ke-5 yaitu 4,25. pH bioetanol ini belum memenuhi Standar Nasional Indonesia (SNI) yaitu 6,5 – 9,0. Perubahan pH dalam fermentasi disebabkan karena aktivitas sel khamir selain menghasilkan etanol sebagai metabolit primer juga menghasilkan asam – asam organik seperti asam malat, asam tartarat, asam sitrat, asam laktat, asam asetat, asam butirat, dan asam propionat sebagai hasil samping, asam – asam ini dapat menurunkan pH (Nasrun, dkk. 2015)

Nilai pH dipengaruhi oleh produk yang dihasilkan selama proses fermentasi. Dalam penelitian ini, produk fermentasi yang dihasilkan adalah alkohol. *Saccharomyces cerevisiae* bersifat homofermentatif, sehingga produk fermentasi yang dihasilkan hanya alkohol. Alkohol bersifat asam, sehingga ketika waktu fermentasi ditambah maka akan semakin banyak alkohol yang terbentuk. Kondisi ini menyebabkan pH substrat semakin rendah (Azizah, 2012).

**Keasaman sebagai Asam Asetat**

Asam asetat atau lebih dikenal sebagai asam cuka (CH3COOH) adalah suatu senyawa berbentuk cairan, tak berwarna,berbau menyengat, memiliki rasa asam yang tajam dan larut didalam air, alkohol, gliserol, eter. Hasil keasaman sebagai asam asetat bioetanol pada berbagai perlakuan dan lama fermentasi dapat dilihat pada gambar 3.

**Gambar 3**. Pengaruh perendaman 24 jam dan tanpa perendaman dengan waktu fermentasi terhadap keasaman sebagai asam asetat dari limbah tandan kosong kelapa sawit

Berdasarkan hasil uji ANOVA dengan taraf signifikan 5% menunjukkan nilai Fhitung perlakuan pretreatment sebesar 0,10 dengan taraf signfikan 0,922 (p>0,05) yang berarti perlakuan pretreatment berpengaruh tidak nyata terhadap nilai rendemen bioetanol dari tandan kosong kelapa sawit dan untuk perlakuan lama fermentasi terhadap keasaman sebagai asam asetat bioetanol tandan kosong kelapa sawit diperoleh Fhitung sebesar 1,707 dengan taraf signifikan 0,0,233 (p>0,05) yang berarti berpengaruh tidak nyata sedangkan interaksi pretreatment dan lama fermentasi berpengaruh tidak nyata terhadap rendemen bioetanol tandan kosong kelapa sawit. Hal ini dapat dilihat pada nilai Fhitung 1,404 dengan taraf signifikan 0,283 (p>0,05). Bioetanol dari limbah tandan kosong kelapa sawit dengan rendemen tertinggi diperoleh pada perlakuan pretreatment perendaman 24 jam dan lama fermentasi 7 hari sebesar 59 mg/L sedangkan bioetanol dari limbah tandan kosong kelapa sawit dengan perlakuan pretreatment perendaman 24 jam dan lama fermentasi 3 hari memiliki rendemen terendah yaitu sebesar 46 mg/L.

Hasil kadar keasaman yang kurang stabil bisa saja diakibatkam oleh kontaminasi bakteri asam asetat dan penguraian (oksidasi) bioetanol selama penyimpanan atau pada saat pembuatannya, sehingga akan menyebabkan terkonversinya bioetanol menjadi asam asetat karena sifat bakteri asam asetat dapat mengoksidasi lanjut asam asetat yang dihasilkannya (Luwihana, dkk. 2004).

Keasaman sebagai CH3COOH ini belum memenuhi Standar Nasional Indonesia (SNI) maksimal yaitu 30 mg/L. Luwihana, dkk (2010) mengemukakan kondisi optimum untuk tumbuhnya asam asetat dipengaruhi kadar etanol, suhu, waktu fermentasi dan pH, pada kisaran pH 5,1 – 6,2 dengan suhu 30ºC produksi asam asetat maksimal 34 mg/L. Pada semua perlakuan keasaman sebagai asam asetat terbaik yaitu dengan lama fermentasi 5 hari pada perendaman 24 jam yang hanya mengandung asam asetat sebesar 46 mg/L.

**KESIMPULAN**

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

1. Perlakuan pretreatment berpengaruh nyata terhadap rendemen, serta mutu bioetanol berpengaruh nyata terhadap rendemen, densitas, kadar etanol, dan pH dari bioetanol yang dihasilkan. Tetapi berpengaruh tidak nyata terhadap keasaman sebagai asam asetat.
2. Perlakuan lama fermentasi berpengaruh nyata terhadap densitas dan kadar etanol, tetapi berpengaruh tidak nyata terhadap rendemen, pH bioetanol dan keasaman sebagai asam asetat, tetapi

**DAFTAR PUSTAKA**

Arif, A. B., W. Diyono., A. Budiyanto. dan Richana. 2016. *Analisis Rancangan Faktorial Tiga Faktor Untuk Optimalisasi Produksi Bioetanol dari Molases Tebu*. Jurnl Informatika Pertanian. 25(1) : 145 – 154

Azizah, N., A.N. Al-Baarri., dan S. Mulyani. *Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kadr Alkohol, pH, dan Produksi Gas Pada Proses Fermentasi Bioetanol Dari Whey Dengan Substitusi Kulit Nanas.* Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan. 1(2):72-77

Badan Standarisasi Nasional. SNI 3565:2009. *Etanol Nabati*

Gaol, M. R. L. L., R. Sitorus., Yhanthi S., I. Surya., dan R. Manurung. 2013. *Pembuatan Selulosa Asetat Dari – Soelulosa Tandan Kosong Kelapa Sawit.* Jurnal Teknik Kimia.2(3):34-39

Irvan., P. Prawati., dan B. Trisakti. 2015. *Pembuatan Bioetanol dari Tepung Ampas Tebu Melalui Proses Hidrolisis Termal dan Fermentasi: Pengaruh pH, Jenis Ragi dan Waktu Fermentasi.* Jurnal Teknik Kimia. 4(2) : 27-31.

Kristina., E. R. Sari dan Novita. 2012. *Alkaline Pretreatment Dan Proses Simultan Sukarifikasi – Fermentasi Untuk Produksi Etanol Dari Tandan Kosong Kelapa Sawit.* Jurnal Teknik Kimia. 18(3) : 34 – 43.

Luwihana, S., E. S. Rahayu, S. Sudarmadji., dan K. Rahayu. 2004. *Produksi Asam Asetat oleh Sel Actobacter Pasteurianus INT-7 Amobil pada Variasi Konsentrasi Etanol*.Agritech. 24(2): 70-73

Mosier, N., et al. 2005. *Features of Promising Technologies for Pretreatment of Lignocellulosa Biomass*. Bioresource Technology 96(2005): 673-686.

Mhd. R. Marjoni. 2014. *Pemurnian Etanol Hasil Fermentasi Kulit Umbi Singkong (Manihot Utilissima Pohl) Dari Limbah Industri Kerupuk Sanjai Di Kota Bukittinggi*

Nasrun., Jalaluddin., dan Mahfuddhah. 2015. *Pengaruh Jumlah Ragi dan Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Bioetanol yang Dihasilkan dari Fermentasi Kulit Pepaya.* Jurnal Teknologi Kimia. 4(2) : 1-10

Ningsih, Y. A., K.A. Lubis dan R. Moeksin. 2012. *Pembuatan Bioetanol Dan Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS) Dengan Metode Hidrolisis Asam dan Fermentsi*. Jurnal Teknik Kimia. 182 (1) : 30 – 34.

Richana, N. 2011. *Bioetanol: Bahan baku, Teknologi, Produksi dan Pengendalian Mutu.* Penerbit Nuansa : Bandung.

Roukas T. 1994. *Continuous Ethanol Productions From Carob Pod Extract By Immobilized Saccharomyces Cerevisiae in a Packed Bed Reactor.* Jurnal Chem Teknologi Bioeteknologi. 59(1) : 387-393

Saharii. 2016. *Pemanfaatan Limbah Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS) Dalam Pembuatan Bioetanol Dengan Menggunakan Hidrolisis dan Fermentasi.* Skripsi. Fakultas Teknik. Universitas Lambung Mangkurat Banjarbaru.

Sahayu, O. 2017. *Studi Pembuatan Pulp Mangium (Acacia mangium Willd). Menggunakan Metode Kraft Dengan Perlakuan Pendahuluan Berupa Perendaman Serpih*. Skripsi. Jurusan Kehutanan. Universitas Bengkulu.

Sastrohamidjojo, S. 2016. *Kimia kayu, Dasar – Dasar dan Penggunaan Edisi Kedua.* Yogyakarta. Universitas Gadjah Mada.

Sudiyani, Y., S. Alawiyah., and K.C Sembiring. 2010*. Alkaline Pretreatment and Enzymatic Saccharification of Oil Palm Empty Fruit Bunchfiber for Ethanol Production.* Menara Perkebunan. 78(2):69-76.

Widiastuti, H. Dan T. Panji. 2007. *Pemanfaatan Tandan Kosong Kelapa Sawit Sisa Umur Jamur Merang (Volvariella Volvacea) (TKSJ) sebagai Pupuk Organik pada Pembibitan Kelapa Sawit.* Jurnal Menara Perkebunan. 75(2) : 70 – 79.

Wijaya I. M. A. S., I. G. K. A. Arthawan., dan A.N. Sari. 2012. *Potensi Nira Kelapa Sebagai Bahan Baku Bioetanol.* Jurnal Bumi Lestari. 12(1) : 85-95