

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki kebutuhan akan bahan bakar (BBM) yang cukup tinggi. Berbagai negara di dunia, baik negara maju maupun berkembang khususnya Indonesia dalam beberapa tahun terakhir mengalami peningkatan yang cukup tajam. Peristiwa ini berbanding terbalik dengan adanya bahan baku yang tersedia. Sumber dasar dari bahan bakar yang sering digunakan adalah minyak bumi dari fosil. Semakin tingginya kebutuhan minyak yang akan diproduksi menjadi bahan bakar, lama kelamaan semakin berkurang dalam ketersediaanya, maka dari itu butuh suatu pengembangan dalam sumber energi yang digunakan sebagai alternatif (Syauqi, 2020).

Salah satu contoh pengembangan yang dilakukan adalah menggunakan bahan-bahan nabati maupun organik sebagai bahan bakar nabati biasa disebut sebagai bioetanol. Bahan bakar alternatif yang berasal dari sumber daya organik disebut bioetanol. Minyak bumi dapat diganti dengan bioetanol. Etanol memiliki beberapa manfaat dibandingkan bahan bakar minyak bumi, termasuk mudah dibuat, menghasilkan lebih sedikit karbon dioksida, dapat diperbarui dan ramah lingkungan, serta diperbarui secara berkala. Fermentasi glukosa menghasilkan bioetanol dalam bentuk yang paling umum. Glukosa, atau gula dari buah-buahan, dan pati, seperti kulit nanas, singkong, tebu, getah pohon, ubi jalar, dll., digunakan untuk membuat bioetanol. Banyak penelitian telah dilakukan tentang produksi bioetanol dari berbagai bahan, seperti ubi jalar, singkong, jagung, dll., tetapi kekurangan penggunaan bahan-bahan ini adalah bahan-bahan tersebut bersaing dengan sumber daya lain yang digunakan untuk menghasilkan energi. Akibatnya, sumber daya lain, seperti limbah pertanian dan buah-buahan yang bukan makanan pokok, dapat digunakan untuk memproduksi bioetanol (Fajar *et al.* 2017).

Kulit nanas dari limbah nanas dimanfaatkan sebagai bahan alternatif. Di Indonesia, nanas (*Ananas comosus L. Merr*) merupakan buah yang cukup umum dan tersebar luas. Nanas digunakan sebagai bahan baku pertanian dalam industri dan dikonsumsi secara terus-menerus dalam bentuk buah segar (Rifdah *et al.*, 2022). Selain buahnya sendiri, kulitnya merupakan bagian lain yang dapat dimakan.

Kulit nanas bermanfaat dalam hal tersebut. Kulit nanas berpotensi untuk digunakan sebagai bahan baku alternatif untuk produksi biofuel karena saat ini hanya dapat digunakan sebagai campuran pakan ternak yang dikenal sebagai silase (Delfi Rahmi *et al.*, 2023).

Badan Pusat Statistik melaporkan mengenai produksi tanaman buah-buahan pada tahun 2021 – 2022 untuk buah nanas di Indonesia sebanyak 2.886.417 ton (2021) dan 3.203.775 ton (2022), dan dilihat dari data yang dilaporkan oleh BPS angka produksi tertinggi buah nanas terdapat di provinsi Lampung yaitu mencapai 705.883 ton pada tahun 2021 dan 861.706 ton 2022. Berdasarkan jumlah produksi pada buah nanas yang tinggi khususnya pada provinsi Lampung, berpotensi menghasilkan limbah yang cukup banyak terutama pada kulit nanas. Berdasarkan data dari Dinas Ketahanan Pangan, Tanaman Pangan Provinsi Lampung, salah satu industri berada di Lampung yang memproduksi buah nanas membutuhkan 2.000 ton buah nanas perhari, pertahun mencapai sekitar 730.000 ton. Menurut Tahir (2008), menyatakan bahwa limbah kulit nanas yang dihasilkan dari satu buah nanas berkisar 27% dari buah nanas. Sehingga untuk limbah kulit nanas yang dihasilkan dari industri tersebut bisa mencapai 197.100 ton/tahun. Melihat dari peningkatan produksi nanas, maka limbah yang dihasilkan akan semakin meningkat pula.

Dalam penelitian yang akan dilakukan, penulis melakukan pembuatan bioetanol dari kulit nanas yang dihasilkan dari limbah industri pengolahan buah-buahan segar yang ada di Lampung Tengah. Penelitian ini berfokus pada setiap tahapan proses, dimana terdapat 5 tahapan yaitu, *pretreatment* fisik, *pretreatment* secara kimia (delignifikasi), hidrolisis, fermentasi serta distilasi dengan menggunakan larutan basa (NaOH) yang terdapat pada delignifikasi, variasi konsentrasi larutan asam (HCl) pada hidrolisis, serta variasi penggunaan daya pada *microwave*. Berdasarkan penelitian dari Safaah Nurfaizin dan Indah Hartati (2022) penggunaan *microwave* pada proses penghilangan lignin menunjukkan hasil yang positif, didapatkan hasil yang meningkat dengan kelarutan lignin sebesar 9,05% dibandingkan dengan *pretreatment* tanpa *microwave* yaitu hanya sebesar 2,68%, hal ini disebabkan karena panas yang ditimbulkan akan membantu memecah atau meningkatkan proses degradasi struktur bahan yang kompleks menjadi struktur senyawa penyusun yang lebih sederhana, maka dari itu penggunaan *microwave* sangat membantu pada

proses delignifikasi. Pada proses delignifikasi penggunaan NaOH sebesar 0,8 N didasari oleh penelitian dari (Purboyo, 2015) yang melakukan delignifikasi dengan variasi konsentrasi NaOH dan didapatkan hasil kadar lignin terendah yaitu 1,024% serta menghasilkan kadar glukosa tertinggi yaitu 3,635%. Ikatan struktur dasar lignin diputus oleh ion OH⁻ dalam NaOH, yang kemudian mengikat lignin untuk membentuk natrium fenolat, garam fenolat yang mudah larut. Lignin yang terlarut kemudian terlihat dalam larutan berwarna hitam, dan begitulah cara larutan NaOH memisahkan lignin dari selulosa., dasar lain penggunaan NaOH pada penelitian ini adalah dikarenakan sudah banyak penelitian sebelumnya yang menggunakan NaOH (Purboyo, 2015).

Pada proses hidrolisis dengan menggunakan *microwave* sampai saat ini masih belum ditemukan untuk spesifik penggunaan kulit nanas sebagai bahan baku. Namun, terdapat penelitian dari (Sarah *et al.*, 2022) menggunakan bahan baku eceng gondok dengan proses hidrolisis menggunakan *microwave*, yang mengklaim bahwa radiasi gelombang mikro dapat mengubah ultrastruktur selulosa, menurunkan konsentrasi lignin dan hemiselulosa, dan meningkatkan kerentanan enzimatik terhadap lignoselulosa. Efek ini dapat meningkatkan efisiensi hidrolisis, menurunkan kadar gula yang hilang, dan meningkatkan konversi pati menjadi glukosa., dengan hasil yang didapatkan pada kandungan glukosa akhir sebesar 486 mg/L dan daya optimum pada penggunaan *microwave* yaitu 600 W, berdasarkan penelitian tersebut yang mendorong penggunaan bahan baku kulit nanas dengan proses hidrolisis menggunakan *microwave* daya yang digunakan pada penelitian ini adalah 45 W dan 135 W.

Metode hidrolisis yang dilakukan adalah hidrolisis asam dikarenakan lebih sederhana tanpa harus melewati beberapa tahapan dan waktu proses yang lebih singkat serta biaya yang lebih rendah, dengan asam yang digunakan adalah HCl konsentrasi 2 M didasari dari penelitian (Lukman *et al.*, 2019) Hal ini menghasilkan kadar gula tertinggi sebesar 12,6 OBrix, dan HCl dipilih sebagai katalis asam karena mudah terionisasi, sehingga lebih efisien untuk menghidrolisis serbuk kulit nanas. Rendemen gula dipengaruhi oleh konsentrasi asam ketika ion H⁺ dari HCl membentuk asam konjugat, yang menyebabkan pemutusan ikatan glikosidik dengan penambahan molekul air dan melepaskan gula dan ion H⁺. Diharapkan dari

penelitian ini yaitu melakukan pembuatan bioetanol dengan kulit nanas diperoleh data %*yield* bioetanol yang tinggi agar menjadi acuan bagi praktikum maupun penelitian selanjutnya serta dapat menjadi peluang bagi ketersediaan energi terbarukan di masa yang akan datang. Berdasarkan dari penelitian ini serta mengacu pada penelitian terdahulu, harapannya dapat menghasilkan bioetanol dengan %*yield* yang tinggi dari tahapan proses yang dilakukan.

1.2 Tujuan

Adapun tujuan khusus yang ingin dicapai dari penelitian ini, antara lain :

1. Mengetahui pengaruh konsentrasi HCl untuk menghasilkan kadar gula pereduksi terbaik pada proses hidrolisis limbah industri nanas.
2. Mengetahui daya *microwave* terbaik pada proses *pretreatment* dan hidrolisis limbah industri kulit nanas.
3. Mengetahui kadar etanol dan %*yield* tertinggi pada limbah industri kulit nanas.

1.3 Kerangka Pemikiran

Limbah adalah salah satu hasil samping dari suatu olahan ataupun proses, tetapi karena banyaknya limbah yang kurang untuk dimanfaatkan kembali khususnya pada limbah hasil industri, alasan tersebut yang mendorong penelitian ini untuk memanfaatkan limbah sebagai bahan baku untuk menjadikan suatu produk yang sangat dibutuhkan, serta peluang sebagai energi terbarukan yang dapat menggantikan sumber-sumber penting yang dihasilkan oleh bumi agar tidak adanya penurunan. Salah satunya dengan memanfaatkan limbah kulit nanas sebagai bahan baku alternatif dalam pembuatan bioetanol.

Proses pembuatan bioetanol dilakukan dengan berbagai tahapan, dimana terdapat 5 tahapan yaitu, tahap pertama *pretreatment* fisik yaitu tahap pemisahan antara ampas dan sari. Tahap kedua yaitu *pretreatment* kimia (delignifikasi) yaitu penghilangan lignin dimana penggunaan larutan basa yaitu NaOH serta variasi daya *microwave*. Tahap ketiga hidrolisis dengan metode asam maupun basa, namun yang digunakan pada penelitian ini adalah hidrolisis asam karena lebih ekonomis serta mudah digunakan, dengan variasi asam HCl serta daya *microwave* pada kedua proses yaitu *pretreatment* kimia (delignifikasi) dan hidrolisis menggunakan

microwave dikarenakan terdapat pertimbangan, diantaranya yaitu meminimalisir penggunaan daya yang begitu besar jika hanya dilakukan dalam skala laboratorium serta penggunaan *microwave* untuk mengurai bahan-bahan yang sulit terurai yang akan dikonversi menjadi bioetanol. Tahapan keempat yaitu fermentasi dengan bantuan ragi selama 5 hari. Maka dari itu penelitian ini dilakukan untuk membuktikan bahwa pengaruh penggunaan konsentrasi bahan kimia yang berbeda serta daya *microwave* yang tepat untuk mencapai hasil yang terbaik dan mendapatkan %*yield* yang lebih tinggi. Tahap kelima yaitu tahap terakhir distilasi atau pemurnian dalam pembuatan bioetanol, dimana distilasi yang digunakan adalah distilasi sederhana. Distilasi dilakukan untuk memisahkan etanol yang telah dihasilkan pada proses fermentasi, pemisahan etanol dengan air. Berdasarkan penelitian ini, harapannya akan mendapatkan hasil terbaik serta %*yield* yang tinggi dari berbagai variasi yang dilakukan

1.4 Hipotesis

Berdasarkan kerangka pemikiran yang telah dijelaskan maka dapat diambil hipotesis penelitian sebagai berikut :

1. Adanya pengaruh konsentrasi HCl yang digunakan pada proses hidrolisis dalam mendapatkan hasil pada kadar gula pereduksi yang terbaik.
2. Adanya pengaruh pada penggunaan daya *microwave* untuk menghasilkan daya terbaik yang dapat digunakan sebagai energi alternatif dalam menunjang proses.
3. Adanya variasi yang digunakan berpengaruh terhadap perolehan kadar etanol dan %*yield* yang tinggi.

1.5 Kontribusi

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi yang bermanfaat, yaitu :

1. Bagi penulis, diharapkan dapat menambah wawasan tentang pemanfaatan limbah menjadi produk energi terbarukan yang memiliki nilai yang sangat berguna demi menghindari penurunan hasil minyak bumi, serta dapat mengimplementasikan ilmu yang telah didapat selama penelitian berlangsung.

2. Bagi pendidikan, diharapkan dapat menjadi sumber dari referensi atau informasi mengenai limbah kulit nanas yang ternyata bisa dijadikan energi terbarukan yaitu bioetanol, serta diharapkan kedepannya dapat diterapkan pada praktikum pembuatan bioetanol.
3. Bagi lingkungan dan masyarakat, diharapkan dapat menjadi sarana edukasi, solusi, dan juga inovasi dalam pengembangan pada lingkungan masyarakat dan industri dalam menciptakan produk pengganti bahan bakar sebagai sumber energi terbarukan serta dapat memiliki nilai jual.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Limbah Kulit Nanas

Nanas merupakan buah asli dari Lembah Paraná, Paraguay, Brasil (Amerika Selatan). Paparan sinar matahari yang cukup dan ketinggian di bawah 500 meter sangat cocok untuk budidaya nanas. Daun tanaman nanas berukuran kecil, berduri, dan mengandung serat. Sebagian daunnya tidak berduri. Buahnya berbentuk lonjong, daging buahnya berwarna kuning pucat, kulit bagian luarnya bertekstur seragam, dan permukaannya bergerigi menyerupai duri-duri kecil (Akrinissa, 2019).



Gambar 1. Buah Nanas
Sumber : Triyani 2022

Nanas diolah oleh berbagai industri, salah satunya yang berlokasi di Lampung, PT. Perusahaan swasta Great Giant Pineapple yang memproduksi nanas kalengan dan hasil budidaya terbesar dan terbaik di dunia. Pastilah jumlah sampahnya cukup banyak karena merupakan industri yang sangat besar. Kulit nanas merupakan salah satu bahan limbah yang dihasilkan. Pemanfaatan kembali sampah yang dihasilkan selama proses produksi nanas niscaya akan menimbulkan polusi dan tantangan yang signifikan. Bau dan kekurangan oksigen karena mikroba membutuhkan oksigen untuk mempertahankan pertumbuhannya selama proses penguraian. Hal ini mengakibatkan terlepasnya karbon dioksida dan gas metana (CH_2) sehingga meningkatkan emisi dan menimbulkan efek rumah kaca yang mengakibatkan pemanasan global (Adi Prasetya Kusuma *et al.*, 2019). Limbah nanas, khususnya kulitnya, memiliki kegunaan lain selain sebagai sumber energi alternatif terbarukan. Limbah ini dapat diberikan kepada ternak. Karena

limbah nanas memiliki rendemen yang tinggi yaitu 15%, maka dapat dijelaskan bahwa rendemen limbah ampas dan kulit nanas sekitar 85% dari rendemen nanas secara keseluruhan. Oleh karena itu, potensi limbah nanas sebagai pakan ternak saat ini cukup besar. Diperkirakan terdapat 596.000 ton limbah kulit nanas yang tersedia setiap tahunnya untuk digunakan sebagai bahan pengganti pakan alternatif. Limbah kulit nanas belum banyak dimanfaatkan, kecuali untuk pakan ternak, dan hanya dibuang begitu saja sehingga memberikan kontribusi terhadap pencemaran lingkungan.

Tabel 1. Kandungan Kulit Nanas

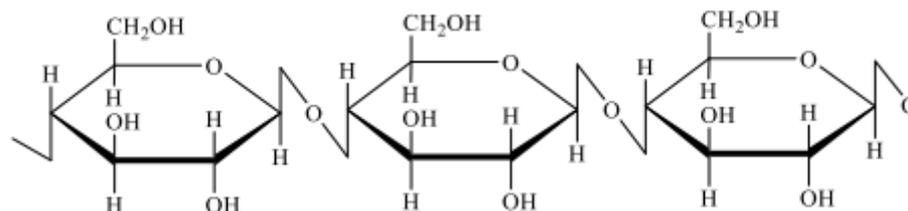
Kandungan	Jumlah (%)
Air	81,72
Karbohidrat	17,53
Protein	4,41
Serat Kasar	20,87
Selulosa	23,39
Hemiselulosa	42,72
Lignin	4,03

Sumber : Adi Prasetya Kusuma *et al.* 2019 dan Novia 2022

2.2 Selulosa

Selulosa (*cellulose*) merupakan poliksakarida yang terdiri dari satuan glukosa yang terikat dengan ikatan glikosida dengan rumus kimia $(C_6H_{10}O_5)_n$, dimana n adalah derajat polimerisasi dan mewakili gugus glukosa dengan jumlah ribuan hingga puluhan ribu unit D-glukosa terkait dan terdiri dari unit karbon-hidrogen-okisgen yang panjang dan berulang (Dewi dan Yeyen n.d.). Selulosa merupakan senyawa organik yang paling banyak jumlahnya di muka bumi dan penyusun utama dinding sel tumbuhan. Selulosa yang menyusun sekitar sepertiga dari bahan tanaman tidak dapat dicerna oleh manusia. Di masa mendatang, selulosa diperkirakan akan menjadi bahan baku utama yang digunakan untuk memproduksi bioetanol karena daya saingnya yang rendah terhadap bahan pangan. Selulosa memerlukan proses awal yang lebih ekstensif dibandingkan bahan baku lainnya saat digunakan sebagai bahan baku bioetanol (Rifdah *et al.*, 2022).

Selulosa memiliki kualitas fisik dan kimia. Karakteristik fisik selulosa rantai panjang lebih kuat, dan tidak mudah terurai oleh faktor biologis, kimia, atau termal. Panjang, lebar, dan tebal molekul selulosa merupakan karakteristik fisik yang signifikan (Dewi dan Yeyen, n.d). Bentuk senyawa berserat, kekuatan tarik tinggi, dan tidak larut dalam pelarut organik dan air merupakan beberapa karakteristik fisik lainnya. Karena tidak beracun, dapat diperbarui, dan cepat terurai, selulosa merupakan polimer biokompatibel yang ditemukan dalam jumlah besar di alam dan juga ramah lingkungan. Permintaan selulosa akhir-akhir ini meningkat karena penggunaannya yang meluas sebagai bahan baku pengganti dalam industri. Namun, proses pemisahan menjadi sangat sulit karena adanya interaksi hidrogen intra dan intermolekul yang kuat dalam struktur selulosa, sehingga selulosa tidak cocok untuk digunakan secara luas dalam berbagai industri. Di alam, selulosa sering ditemukan dalam bentuk tidak murni yang disebut lignoselulosa (Triyani, 2022). Salah satu polimer yang memiliki sedikit aplikasi adalah selulosa. Di alam, selulosa praktis tidak pernah ditemukan sendiri; sebaliknya, ia terus-menerus berkombinasi dengan zat lain seperti lignin dan hemiselulosa. Salah satu hambatan utama terhadap hidrolisis selulosa adalah keberadaan lignin dan hemiselulosa di sekitar selulosa. Gambar di bawah ini merupakan struktur kimia selulosa.



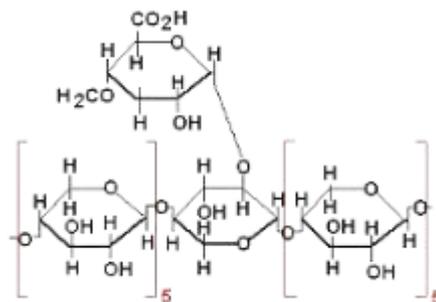
Gambar 2. Struktur Kimia Selulosa

Sumber : (Rewini Kunusa 2017)

2.3 Hemiselulosa

Hemiselulosa adalah polimer karbohidrat heterogen dengan berat molekul rendah yang larut dalam alkali. Sekitar 15–30% dari berat kering bahan lignoselulosa terdiri dari hemiselulosa. Hemiselulosa terdiri dari berbagai kombinasi ikatan glikosidik dan monomer karbohidrat, seperti unit D-glukosa, D-galaktosa, D-xilosa, D-manosa, dan L-arabinosa. Hemiselulosa berikatan silang dengan lignin untuk membangun jaringan kompleks dan struktur yang kuat, dan

berinteraksi dengan lembaran serat selulosa untuk menghasilkan mikrofibril, yang meningkatkan stabilitas dinding sel (Radhitya *et al.*, 2020). Salah satu jenis heteropolisakarida dengan kandungan gula tinggi adalah hemiselulosa, khususnya pentosa. Biasanya, hemiselulosa terdiri dari dua atau lebih residu gula pentosa yang berbeda. Polimer hemiselulosa bersifat asam, memiliki tingkat polimerisasi yang lebih rendah, lebih ringan daripada selulosa, dan tidak membentuk serat panjang karena penyusunnya biasanya mengandung asam uronat (Pertiwi, 2016). Karena strukturnya yang lebih terbuka, yang memungkinkannya menyerap lebih banyak air, hemiselulosa juga biasanya lebih higroskopis daripada selulosa (Triyani, 2022). Gambar di bawah ini merupakan susunan kimia hemiselulosa.

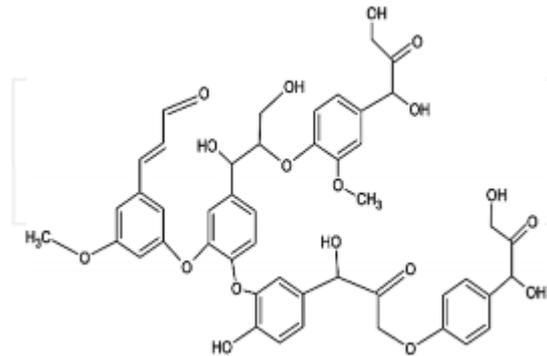


Gambar 3. Struktur Kimia Hemiselulosa
Sumber : (Sutini, et al. 2020)

2.4 Lignin

lignin tersusun dari jaringan tiga dimensi polimer fenolik atau fenilpropanoid yang bercabang, yang menghubungkan serat selulosa dan hemiselulosa untuk membentuk dinding sel tanaman yang sangat kuat, lignin merupakan zat yang sangat kuat. Karena keberadaan lignin membatasi pembentukan bioetanol, strukturnya yang sangat rumit membuat enzim atau mikroorganisme tidak dapat memasuki selulosa (Radhitya *et al.*, 2020). Karena sistem aromatik unit fenilpropananya, struktur molekul lignin sangat berbeda dari polisakarida. Lignin memiliki rumus kimia $C_{10}H_{12}O_3$. Lignin berfungsi sebagai pengikat antara serat lignin dan, sebagai tambahan, dapat menutupi kelarutan parsial dan kompleksitas karbohidrat yang menyulitkan mikroorganisme untuk menyerang dan mendegradasi jaringan kayu, melindunginya dari jamur dan mikroba lainnya. Sekitar 20–40% tanaman berkayu, sedangkan tanaman nonkayu memiliki lignin yang lebih sedikit (Triyani, 2022). Delignifikasi merupakan proses pemecahan

struktur selulosa menggunakan lignin dengan bantuan senyawa katalis agar proses hidrolisis dapat berlangsung lebih cepat. Hal ini dikarenakan adanya lignin pada bahan selulosa yang dapat menghambat aktivitas enzim pada khamir dalam proses konversi gula sederhana menjadi etanol (Triyani, 2022). Struktur kimia lignin dapat dilihat pada gambar di bawah ini.



Gambar 4. Struktur Kimia Lignin
Sumber : (Triyani 2022)

2.5 Gula Pereduksi

Semua gula dengan gugus keton dan aldehida bebas memiliki kemampuan untuk mereduksi, sehingga semuanya dianggap sebagai gula pereduksi. Aktivitas enzim dan gula pereduksi saling terkait erat. Peningkatan aktivitas enzim berhubungan dengan produksi gula pereduksi yang lebih tinggi. Gula pereduksi meliputi polisakarida seperti sukrosa serta monosakarida seperti glukosa, fruktosa, dan galaktosa serta disakarida seperti laktosa dan maltosa. Kelas karbohidrat yang dikenal sebagai gula pereduksi memiliki kemampuan untuk mereduksi zat penerima elektron seperti fruktosa dan glukosa (Bulal *et al.*, 2021). Kandungan gula pereduksi dari limbah kulit nanas ditemukan menggunakan metode DNS (3,5 asam dinitrosalisilat) atau reagen asam dinitrosalisilat/asam dinitrosalisilat, baik sebelum maupun setelah pemrosesan. Kandungan gula bahan, diukur pada panjang gelombang 540 nm.

2.6 Tahapan Proses

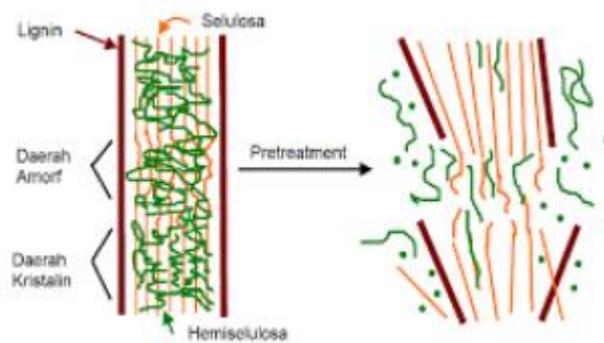
2.6.1 Pretreatment Fisik

Salah satu langkah pertama dalam mengurangi ukuran partikel substrat adalah persiapan fisik. Aksesibilitas enzim terhadap bahan-bahan lignoselulosa dapat

ditingkatkan secara efektif dengan mengecilkan atau memotong bahan mentah menjadi potongan-potongan kecil. Manfaat utama praperlakuan fisik adalah keramahan lingkungannya karena tidak menggunakan bahan kimia, tidak menghasilkan residu berbahaya, dan kemampuannya untuk mempermudah proses selanjutnya (Sindhuwati *et al.*, 2021).

2.6.2 Pretreatment Kimia (Delignifikasi)

Tujuan utama dari praperlakuan kimia, atau penghilangan lignin, adalah untuk meningkatkan biodegradasi selulosa (Sindhuwati *et al.* 2021). Dinding utama sel tumbuhan disebut lignin, yang dapat melindungi selulosa dan hemiselulosa dari katalis asam selama hidrolisis.. Pada proses pembuatan bioetanol, delignifikasi merupakan tahap awal setelah *pretreatment* bahan baku dilakukan. *Pretreatment* dapat dilakukan secara kimia maupun fisik. Secara fisik dapat dilakukan dengan menggunakan *temperature* dan tekanan tinggi, penggilingan, radiasi, atau pendinginan, semuanya membutuhkan energi yang tinggi, sedangkan secara kimia dengan menggunakan *solven* untuk memecah dan melarutkan lignin. Salah satu proses *pretreatment* kimia adalah delignifikasi (Triyani, 2022). Dimana proses delignifikasi sendiri merupakan proses pengurangan kadar lignin pada bahan lignoselulosa. Selulosa menjadi lebih mudah diakses melalui proses delignifikasi yang membuka struktur lignoselulosa. Lignin lebih mudah diekstraksi dari seratnya jika dilarutkan dalam zat tersebut (Permatasari, n.d.). Proses delignifikasi mengakibatkan terurainya struktur lignin dan keluarnya karbohidrat. Pencabutan struktur lignoselulosa merupakan salah satu metode untuk mengubahnya menjadi gula. Salah satu larutan basa yang sering digunakan dalam proses delignifikasi adalah NaOH yang dapat membantu pemisahan lignin dari serat selulosa dan meningkatkan reaktivitas serta luas permukaan katalis asam selama hidrolisis (Ika *et al.*, 2017). Dengan memecah rantai samping ester dan glikosida lignin, penggunaan larutan basa juga mengubah sifat struktural lignin (Sindhuwati *et al.*, 2021). Ilustrasi di bawah ini menggambarkan prosedur delignifikasi.



Gambar 5. Mekanisme Pemutusan Ikatan Lignin
Sumber : (Triyani 2022)

2.6.3 Hidrolisa

Hidrolisa merupakan suatu proses antara reaktan dan air untuk memecah atau mengurai suatu senyawa. Suatu senyawa yang dipecah adalah polisakarida terdapat di dalam biomassa lignoselulosa, yaitu selulosa dan hemiselulosa yang kemudian akan menjadi monomer yang tersusun dari gula. Penguraian ini merupakan reaksi orde satu. Lebih sederhana, tujuan dari hidrolisis adalah mengubah polisakarida menjadi monomer gula yang sederhana (Ari Diana *et al.*, 2013). Terdapat beberapa hidrolisa yaitu :

1. Hidrolisis murni dengan air sebagai satu-satunya reaksi. Kelemahannya adalah laju reaksi agen penghidrolisis relatif lambat, kurang ideal, dan memiliki efek produksi yang kurang menguntungkan. Uap air dapat dimanfaatkan pada suhu tinggi, dan menambahkan katalis sebagai reaktan merupakan salah satu cara untuk mempercepat proses.
2. Sebagai katalis hidrolisis, gunakan larutan asam. Asam pekat atau asam encer dapat ditemukan dalam larutan asam. Kandungan asam encer bertindak sebagai katalis untuk mengaktifkan air. Laju reaksi dan ion H^+ umumnya berbanding lurus, tetapi pada konsentrasi besar, hubungan ini menjadi tidak terlihat. Baik HCl maupun H_2SO_4 merupakan asam yang sering digunakan dalam bisnis.
3. Untuk hidrolisis, gunakan katalis dalam larutan alkali. Alkali pekat atau alkali encer dapat ditemukan dalam larutan alkali. Alkali padat, pekat, dan encer merupakan basa yang digunakan.
4. Hidrolisis yang dikatalisis oleh enzim: menurut Ari Diana *et al.* (2013),

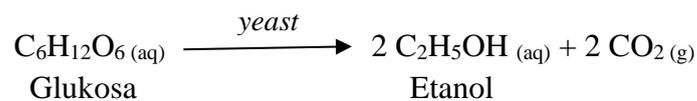
senyawa yang dibuat oleh mikroorganisme dimanfaatkan sebagai katalis dalam proses hidrolisis.

Semua tautan yang menghubungkan satu monomer dengan monomer lainnya dapat mengalami reaksi selama proses hidrolisis, yang menghasilkan glukosa sebagai produk sampingan. Asam yang sering digunakan adalah asam sulfat, asam klorida, asam fosfat, dan asam asetat. Asam klorida adalah asam yang paling umum digunakan di antara semuanya, terutama dalam bisnis makanan di mana sifatnya yang mudah menguap membuatnya mudah diekstraksi dari produk. Dalam penelitian ini, HCl digunakan sebagai katalis. HCl memiliki kemampuan untuk menghasilkan lebih banyak glukosa sendiri daripada H_2SO_4 , yang terjadi karena H_2SO_4 dapat membakar selulosa sedangkan HCl tidak (Permei, 2022). Manfaat lain dari penggunaan HCl sebagai katalis adalah dapat mempercepat proses hidrolisis dibandingkan dengan H_2SO_4 . Hal ini karena HCl merupakan asam kuat dan bersifat monoprotik, yang berarti pembentukan H^+ terjadi sekaligus, memungkinkan reaksi hidrolisis berlangsung lebih cepat ketika menggunakan katalis HCl. Lebih jauh, karena karakteristiknya yang lebih kuat dan reaktivitas yang lebih tinggi daripada H_2SO_4 , HCl biasanya menghasilkan glukosa pada suhu, konsentrasi, dan durasi yang sama dengan katalis H_2SO_4 (Permei, 2022). Karena bahan yang berbeda digunakan untuk tujuan yang berbeda, proses hidrolisis biasanya terjadi dalam kondisi yang bervariasi. Laju hidrolisis pati akan tumbuh dalam kondisi peningkatan suhu atau konsentrasi asam, tetapi tidak pada konsentrasi pati yang digunakan dengan konsentrasi pati yang tinggi, laju hidrolisis akan turun. Pada suhu di bawah $100^\circ C$, proses hidrolisis akan lambat namun pada suhu di atas $100^\circ C$, gula pereduksi yang memiliki kecenderungan berubah menjadi gelap (Ari Diana *et al.*, 2013). Gula yang memiliki kapasitas untuk berkurang disebut gula pereduksi. Hal ini disebabkan oleh gugus keton atau aldehida bebas yang ada dalam gula. Gula pereduksi meliputi semua monosakarida (glukosa, fruktosa, galaktosa) dan disakarida (laktosa, maltosa). Gula non-pereduksi meliputi sukrosa dan pati (polisakarida).

2.6.4 Fermentasi

Fermentasi merupakan suatu penguraian dari bahan yang mengandung karbohidrat, dengan proses yang tidak menimbulkan bau busuk serta dapat

menghasilkan karbondioksida. Fermentasi merupakan proses biokimia, terdapat reaksi dan perubahan dengan menggunakan bantuan yaitu jasad renik yang bersentuhan dengan zat makanan yang sesuai dengan pertumbuhannya merupakan penyebab fermentasi. Dari proses fermentasi sebagian maupun seluruhnya dengan waktu tertentu akan menghasilkan atau berubah menjadi alkohol. Fermentasi dengan menggunakan *yeast* dapat menghasilkan etil alkohol (etanol) dan CO₂ melalui reaksi seperti dibawah ini :



Reaksi diatas merupakan reaksi dasar dari pembuatan tape, brem dll yang menghasilkan alkohol. Pada proses yang dilakukan glukosa hasil hidrolisa di fermentasikan menggunakan enzim *zimase/invertase* yang dihasilkan dari *sacharomyces cereviseae*. Enzim *zimase* berfungsi sebagai pemisah polisakarida yang masih terdapat dalam proses hidrolisis yang kemudian akan diubah kembali menjadi gula sederhana. Enzim *invertase* yang kemudian selanjutnya akan mengubah glukosa menjadi alkohol pada proses fermentasi (Susanti, 2013).

Fermentasi juga dikenal sebagai reaksi oksidasi atau dalam sistem biologi yang menghasilkan energi dimana donor dan aseptor adalah senyawa organik. Zat gula merupakan senyawa organik yang biasa digunakan, kemudian akan diubah oleh reaksi reduksi dengan katalis enzim menjadi senyawa lain.

Berikut merupakan faktor-faktor yang mempengaruhi proses fermentasi alkohol (Wijaya *and* Yanti 2017) :

1. Jenis Mikroorganisme

Setiap pemilihan mikroorganisme dalam proses fermentasi yang akan digunakan sudah pasti memiliki fungsi yang berbeda. Mikroorganisme dipilih berdasarkan substrat yang akan difermentasi.

2. Laju Fermentasi (Waktu)

Proses fermentasi akan berhenti ditandai dengan tidak adanya lagi CO₂ yang dihasilkan. Selama belum mencapai waktu optimal etanol yang dihasilkan akan semakin tinggi, namun jika telah mencapai waktu optimal, etanol yang dihasilkan kan berkurang atau menurun.

3. Derajat Keasaman (pH)

Fermentasi pada buah-buahan umumnya dibutuhkan keasaman yang optimum yaitu 4-5.5.

4. Kadar Gula

Kadar gula yang optimum adalah 10 – 18%. Penambahan gula berguna sebagai nutrisi bagi mikroba untuk memaksimalkan proses pada fermentasi.

5. Suhu

Suhu optimum untuk mikroba adalah 19 - 32°C. Setiap golongan memiliki suhu optimum pada pertumbuhannya yang berbeda-beda.

6. Oksigen atau udara

Berfungsi sebagai pengatur selama proses fermentasi, untuk memperbanyak atau menghambat laju pertumbuhan mikroba tertentu. Oksigen yang dibutuhkan dari setiap mikroba berbeda jumlahnya untuk pertumbuhan atau pembentukan sel-sel baru serta fermentasi. Sebagai contoh yaitu *sacharomyces cereviseae* atau ragi roti akan tumbuh lebih baik dalam keadaan aerobik, tetapi keduanya akan melakukan fermentasi terhadap gula jauh lebih cepat dibandingkan dengan keadaan anaerobik (Rifdah *et al.*, 2022).

Yeast yang digunakan adalah *sacharomyces cereviseae*, merupakan genus dalam kerajaan jamur banyak jenis ragi. *Sacharomyces* berasal dari bahasa Latin yaitu gula jamur. *Yeast* ini digunakan pada pembuatan anggur, roti serta minuman beralkohol. Koloni dari *sacharomyces* tumbuh pesat serta jatuh tempo dalam waktu 3 hari. Mereka rata, mulus, basah, *glistening* atau kuyu, dan *cream* untuk *cream tannish* dalam warna. Memiliki ketidakmampuan untuk memanfaatkan nitrat serta kemampuan untuk berbagi atau memfermentasikan karbohidrat adalah karakteristik khas dari *sacharomyces*.

Beberapa fase pada pertumbuhan *sacharomyces cereviseae* yaitu (Rifdah *et al.*, 2022):

1. Fase adaptasi (*lag phase*)

Dimulai dari *Sacharomyces cereviseae* yang akan menyesuaikan diri dengan lingkungan barunya terlebih dahulu.

2. Perbanyak sel

Di fase ini mikroba merombak substrat menjadi nutrisi untuk pertumbuhannya. Jika pada fase ini mikroba menemukan senyawa kompleks yang tidak dikenali,

maka senyawa tersebut akan dirombak oleh mikroba. *Sacharomyces cereviseae* adalah ragi yang termasuk mudah dalam hal beradaptasi, hal ini ditunjukkan dengan singkatnya waktu yang dibutuhkan untuk beradaptasi yaitu 1 jam 40 menit.

3. Fase percepatan (*acceleration phase*)

Di fase ini peningkatan jumlah sel mulai terjadi dalam waktu yang sangat cepat atau singkat (*rapid growth*) dengan waktu yang dibutuhkan yaitu 20 menit.

4. Fase eksponensial/pertumbuhan (*log phase*).

Di fase ini *sacharomyces cereviseae* sudah dapat menyesuaikan diri dengan lingkungannya. Pembelahan sel telah menyesuaikan serta terjadi sangat cepat secara eksponensial. Dalam kondisi kultur yang optimum, sel telah mengalami reaksi metabolisme yang maksimum yang terjadi selama 2 jam. Kultur telah berada di kondisi aktif serta sebelumnya yaitu aktivasi telah berjalan dengan baik.

5. Fase penurunan (*deceleration phase*)

Di fase ini telah terjadi perlambatan dan berlangsung selama 20 menit.

6. Fase penetapan/konstan (*stasioner phase*).

Di fase ini kecepatan pada pertumbuhan adalah nol.

Sacharomyces cereviseae memiliki kelebihan sebagai berikut (Febriasari, Arifina *et al.*, *n.d.*) :

1. Alkohol yang diproduksi akan lebih cepat
2. Alkohol yang dihasilkan tinggi
3. Tahan terhadap suhu tinggi
4. Mudah tumbuh pada medium yang mengandung gula dengan konsentrasi yang tinggi.

2.6.5 Distilasi

Langkah terakhir dalam produksi bioetanol adalah distilasi. Metode lain untuk memisahkan bahan kimia adalah distilasi, yang didasarkan pada variasi volatilitas bahan, kemudahan penguapan, atau titik didih. Dalam pemisahan, yang juga dikenal sebagai distilasi, campuran zat pertama-tama dipanaskan hingga mencapai titik penguapan, kemudian uap yang dihasilkan direbus lagi atau dipisahkan menjadi bentuk cair. Senyawa dengan titik didih rendah juga menguap

terlebih dahulu pada saat yang sama. Aksi unit kimia, yaitu jenis perpindahan massa, merupakan bagian dari strategi ini. Ide di balik penerapan prosedur ini adalah bahwa jika larutan mencapai titik didih setiap komponen, larutan tersebut akan menguap. Hukum Raoult dan hukum Dalton juga merupakan dasar dari model distilasi ideal. Cairan juga dapat dipisahkan dan dimurnikan menggunakan proses distilasi.

Distilasi adalah proses pemanasan cairan hingga mencapai titik didihnya, uap tersebut dialirkan melalui alat pendingin yang akan terjadi pengembunan dan zat yang terkondensasi akan dikeluarkan. Syarat utama pemisahan komponen dengan distilasi adalah komposisi uap berbeda dengan komposisi cairan, sehingga terjadi keseimbangan dalam larutan, komponen-komponen dapat menguap dengan cukup. Hukum Raoult menyatakan bahwa tekanan masing-masing komponen berbanding lurus dengan fraksi mol. Jika yang didinginkan adalah bagian campuran yang tidak menguap dan bukan distilat, maka proses tersebut disebut pendinginan evaporatif. Proses distilasi adalah ketika uap berubah menjadi cairan di dalam kondensor. Cairan yang berubah menjadi uap merupakan senyawa murni yang terpisah dari campuran dan pengotor atau zat yang mengendap. Terdapat residu yang bersifat padatan, pada saat semua cairan telah terpisah. Distilat adalah sebutan untuk hasil dari proses distilasi.

Memanaskan cairan hingga mencapai titik didihnya dan kemudian melewatkan uap melalui pendingin untuk menyebabkan kondensasi dan menghilangkan material yang terkondensasi merupakan proses yang dikenal sebagai distilasi. Agar terjadi keseimbangan dalam larutan dan agar setiap komponen menguap dengan sempurna, prasyarat utama untuk distilasi guna memisahkan komponen adalah komposisi uap dan cairan harus berbeda. Menurut Hukum Raoult, fraksi mol dan tekanan setiap komponen berhubungan langsung. Pendinginan evaporatif adalah prosedur yang digunakan saat komponen campuran yang tidak mudah menguap didinginkan alih-alih distilat. Proses dalam kondensor yang mengubah uap menjadi cairan disebut distilasi. Zat murni yang telah dipisahkan dari campuran, pengotor, dan komponen yang mengendap adalah cairan yang berubah menjadi uap. Akan ada residu padat saat cairan telah dipisahkan. Produk dari proses distilasi dikenal sebagai distilat.

Distilasi beroperasi atas dasar bahwa uap dalam larutan akan berbeda dari bahan atau larutan asli dalam komposisi jika zat-zat dalam larutan tidak menguap secara bersamaan. Zat-zat tersebut terpisah dengan sempurna jika salah satunya menguap. Namun demikian, hanya sebagian dari proses pemisahan yang terjadi jika kedua senyawa menguap. Distilasi digunakan untuk menghilangkan kotoran dari senyawa cair yang memiliki titik didih tertentu untuk mendapatkan molekul yang diinginkan. Uap bebas akan dilepaskan dari uap dan ditambahkan ke dalam campuran. Bagian yang masih cair dan belum menguap dikenal sebagai residu, dan konsentrasi yang turun juga dikenal sebagai distilat. Distilasi sederhana, yang merupakan bentuk distilasi yang digunakan dalam penelitian ini, biasanya dilakukan dengan menaikkan suhu ke titik di mana tekanan uap lebih besar daripada tekanan cairan atau tekanan atmosfer (titik didih normal). Perbedaan yang signifikan pada salah satu titik didih komponen atau ketidakstabilan berfungsi sebagai dasar untuk pemisahan dalam distilasi sederhana. Komponen dengan titik didih terendah akan menguap terlebih dahulu dalam kombinasi yang dipanaskan (Rifdah *et al.*, 2022).

2.6.6 Bioetanol

Etanol (bioetanol) adalah etanol yang dibuat melalui proses biologis dan bahan baku alami. Meskipun umumnya ditulis sebagai EtOH, rumus strukturnya adalah $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH}$ dan rumus molekulnya adalah $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$. Etanol yang berasal dari tebu, singkong, sagu, dan nanas dikenal sebagai bioetanol. Bioetanol tidak memiliki dampak berbahaya terhadap lingkungan dan mudah terbakar, mudah menguap, dan larut dalam air. Keunggulan bioetanol antara lain kemampuannya untuk dimanfaatkan sebagai bahan bakar dengan persentase etanol serendah 10%, selain penggunaannya sebagai minuman beralkohol untuk konsumsi manusia. Mengingat bahan baku bioetanol adalah limbah pertanian, yang memiliki nilai ekonomi yang buruk, biaya yang dikeluarkan untuk memproduksinya relatif rendah (Delfi Rahmi *et al.*, 2023).

Menurut G. Marlair *et al.*, bioetanol sebagai bahan bakar dalam pemakaiannya dalam dicampur dengan bensin. Dalam pemakaiannya memiliki kelebihan dan kekurangan.

Kelebihan :

- Sebagai bahan bakar, bioetanol aman untuk digunakan, dikarenakan titik

nyala etanol tiga kali lebih tinggi dibandingkan bensin.

- Pengeluaran emisi lebih sedikit

Kekurangan :

- Penggunaan bioetanol pada mesin dingin, lebih sulit untuk dilakukan starter.
- Bioetanol dapat bereaksi dengan aluminium dan magnesium.

Berikut merupakan tabel sifat fisik berdasarkan Standar Nasional Indonesia (SNI) 06-3565-1994.

Tabel 2. Sifat Fisik Etanol

Parameter	Etanol
Rumus Kimia	C ₂ H ₅ OH
Berat molekul	46
Densitas (g/mL)	0,7851
Titik didih (°C)	78,4
Titik nyala (°C)	13
Titik beku (°C)	-112,4
Indeks bias	1,3633
Panas evaporasi (cal/g)	204
Viskositas pada (20°C) poise	0,0122

Sumber : Badan Standarisasi Nasional

2.7 *Microwave Irradiation*

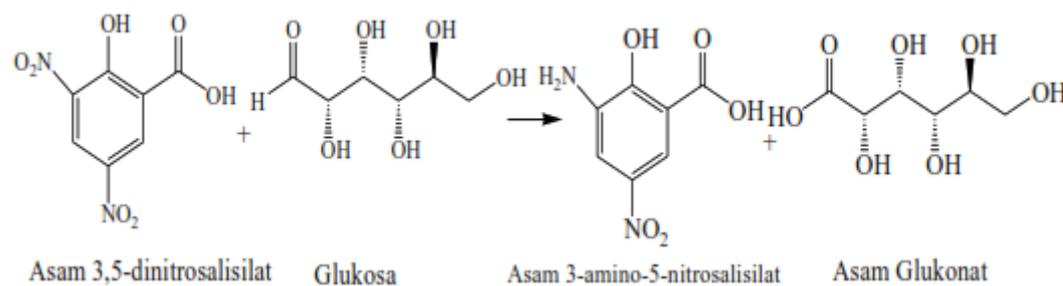
Dalam proses hidrolisis maupun proses lain yang membutuhkan penguraian atau reaksi dengan bantuan suhu tinggi atau pemanasan salah satu alternatif yang digunakan untuk mengurangi penggunaan listrik maupun daya yaitu dengan menggunakan *microwave*. *Microwave* sendiri merupakan alternatif karena mengatasi kekurangan pada proses pemanasan biasa dengan menyediakan energi yang intensif, homogen dan efisien serta dapat mencapai suhu yang tinggi dengan memakan waktu yang singkat. *Microwave* menghasilkan gelombang elektromagnetik yang bersifat magnet dan memiliki 2 kutub ion (positif dan negatif). Bahan-bahan yang mengandung ion tersebut akan ikut berputar ketika gelombang mikro berputar akibat adanya gaya tolak kutub yang sama, bahan tersebut seperti air, lemak dan gula. Putaran/frekuensi yang dihasilkan oleh

gelombang mikro pada umumnya sebesar 2450 kali per detik, hal tersebut dapat menyebabkan molekul air dan lemak yang berputar akan sedemikian cepat dan menghasilkan gesekan yang akhirnya dapat menimbulkan panas. Penggunaan *microwave* sendiri dapat membantu mengurai bahan-bahan yang sulit terurai yang akan dengan mudah mengkonversi menjadi bioetanol (Dwi Kemala *et al.*, 2023).

Waktu reaksi yang lebih singkat karena laju pemanasan yang lebih cepat, peningkatan hasil produk, pemanasan yang lebih konsisten, selektivitas (tergantung pada bagaimana bahan bereaksi terhadap gelombang mikro), keramahan lingkungan, dan pengulangan yang lebih baik merupakan manfaat lebih lanjut dari penggunaan radiasi gelombang mikro. Karena energi gelombang mikro meningkatkan jumlah tumbukan yang terjadi pada molekul senyawa polar, penggunaan radiasi gelombang mikro dapat mempercepat proses. Daya yang digunakan dalam gelombang mikro menentukan berapa banyak energi yang dilepaskan. Gelombang mikro melepaskan energi secara proporsional dengan listrik yang dikonsumsinya (Ilham Bagas *et al.*, 2019).

2.8 Metode DNS

Salah satu teknik perhitungan gula reduksi yang memanfaatkan reagen DNS (dinitrosalisilat) adalah metode DNS. Untuk mengetahui kadar glukosa dalam setiap perlakuan sampel hidrolisat, dilakukan pengujian DNS. Karena akurasi, kepraktisan, dan kemudahan pengukuran sampel yang sangat baik, pendekatan ini lebih sering digunakan, bahkan untuk kadar gula yang sangat rendah. Senyawa dengan warna kuning jingga ini tersusun atas asam 3,5-dinitrosalisilat, glukosa untuk menurunkan kadar alkali, fenol untuk meningkatkan warna, bisulfit untuk menjaga kestabilan warna, dan garam Rochek untuk mencegah hilangnya oksigen dari reagen. Untuk mengurangi ketidakakuratan hasil pengujian, reagen DNS harus segera digunakan. Waktu stabilisasi reagen DNS dengan penambahan fenol dan sulfit dapat diperoleh dengan menunda pengukuran serapan selama 24 jam (Permei, 2022).



Gambar 6. Mekanisme Reduksi Glukosa oleh Asam 3,5-dinitrosalisilat
 Sumber : (Permei 2022)

DNS bereaksi dengan gula pereduksi dalam lingkungan basa dan pada suhu 100°C. Pada panjang gelombang 540 nm, asam 3-amino-5-nitrosalisilat terbentuk dan menyerap radiasi elektromagnetik. Jumlah molekul asam 3-amino-5-nitrosalisilat yang dihasilkan meningkat seiring dengan jumlah gula pereduksi dalam sampel, sehingga meningkatkan penyerapan sampel (Permei, 2022).

2.9 Spektrofotometer

Dalam analisis kimia, spektrofotometri *UV-Visible* merupakan teknik eksperimen penting yang sering digunakan untuk mengidentifikasi senyawa (padatan/cairan) berdasarkan penyerapan foton. Sampel biasanya perlu diolah atau diderivatisasi agar dapat menyerap foton dalam daerah sinar ultraviolet-*visible* (panjang gelombang foton 200 nm - 700 nm), seperti dengan menambahkan bahan kimia untuk menghasilkan garam kompleks, dsb. Berdasarkan senyawa kompleksnya, unsur-unsur diidentifikasi (Irawan 2019). Dasar dari spektrofotometri ultraviolet-*visible* (UV-Vis) adalah penyerapan cahaya, atau interaksi cahaya dengan atom dan molekul. Spektrofotometer ultraviolet-*visibel* (UV-Vis) menggabungkan konsep spektrofotometer *visible* dan ultraviolet (UV). Alat ini menggunakan dua sumber cahaya yang berbeda: satu adalah sinar UV, dan yang lainnya adalah cahaya tampak. Dasar dari spektrofotometer UV-*visible* adalah hukum Lambert-Beer. Cahaya monokromatik yang bergerak melalui suatu senyawa akan menyebabkan sebagian cahaya terbawa menjauh dan sebagian diserap saat dipantulkan. Cermin putar spektrofotometer membagi berkas sumber cahaya menjadi dua berkas. Panjang gelombang daerah *visible* berkisar antara 380 hingga

780 nm, sedangkan daerah UV antara 180 dan 380 nm (Zelviani 2021).

Singkatnya, spektrofotometer UV-*visible* bekerja berdasarkan cahaya polikromatik yang berasal dari sumber cahaya yang melewati cahaya monokromatik untuk menghasilkan cahaya monokromatik, yang kemudian dilewatkan melalui kuvet yang diisi dengan larutan sampel untuk menghasilkan cahaya yang diterima dan dipancarkan. Melalui identifikasi, cahaya tersebut diubah oleh peralatan menjadi energi listrik, yang kekuatannya dapat dilihat oleh pembaca. Monokromator digunakan untuk menerima dan mengarahkan cahaya monokromatik. Spektrofotometer terdiri dari beberapa komponen utama. Sumber cahaya menggunakan lampu deuterium pada daerah ultraviolet dengan panjang gelombang 190 hingga 350 nm dan lampu halogen kuarsa atau lampu filamen tungsten pada daerah cahaya tampak dengan panjang gelombang 350 hingga 900 nm. Instrumen ini menggunakan kuvet sebagai wadah untuk menampung sampel cairan yang lewat setelah memecah hasilnya menjadi prisma atau kisi. Detektor bereaksi terhadap cahaya yang dipancarkan oleh spektrofotometer. Perangkat pembacaan dapat membaca energi listrik berkat amplifier yang beroperasi pada berbagai panjang gelombang (Azizah, 2017). Karena spektrofotometer UV-*visible* digunakan dalam penelitian ini untuk mengukur kuantitas gula pereduksi yang dihasilkan oleh hidrolisis, spektrofotometer ini dapat digunakan untuk analisis kimia kualitatif dan kuantitatif.

2.10 °Brix

Brix merupakan satuan ukur yang digunakan untuk menyatakan konsentrasi gula dalam suatu cairan. Satuan ini juga dapat disebut sebagai Brix, Brix, atau %Brix. Jika suatu larutan memiliki indeks bias yang sama dengan larutan yang mengandung 1 g sukrosa yang dilarutkan dalam 100 g air, maka larutan tersebut dikatakan memiliki Brix (= 1% Brix) (Budianto, 2020). Ilmuwan Jerman Adolf Ferdinand W. Brix (1798 – 1870) menemukan Brix pada tahun 1870. Dipakai oleh ilmuwan Jerman Ernest Abbe pada tahun 2010-an (%) untuk menyatakan konsentrasi zat terlarut, atau kadar zat terlarut dalam suatu badan air (Reynaldi *et al.*, 2022).

2.11 Pengukuran Berat Jenis dengan Piknometer

Definisi berat jenis adalah massa per satuan volume bahan, yang berarti bahwa berat jenis adalah kerapatan suatu zat dalam kaitannya dengan jenis massanya (air murni atau air suling). Berat jenis suatu zat adalah rasio beratnya terhadap volumenya pada suhu tertentu (biasanya 25°C). Piknometer digunakan dalam penelitian ini untuk menentukan berat jenis. Etanol yang diekstrak dari kulit nanas adalah sampel yang digunakan. Metode yang lebih mudah untuk menentukan kadar etanol dengan piknometer adalah menentukan berat jenis. Pastikan bagian dalam piknometer kering dan bersih (tidak boleh ada air di dalamnya) sebelum menggunakannya. Tujuannya adalah untuk menentukan berat kosong alat tersebut; keberadaan air apa pun niscaya akan mengubah hasilnya. Pastikan tidak ada gelembung udara di dalam instrumen saat mengisi sampel, karena ini akan mengubah berat timbangan. Selanjutnya, termometer digunakan untuk menguji suhu distilat murni (etanol), dan piknometer digunakan untuk mengukur beratnya. Sebaliknya, piknometer juga digunakan untuk mengukur berat air suling.

Suhu, massa, volume, dan viskositas suatu zat termasuk variabel yang memengaruhi berat jenisnya. Karena senyawa yang diukur akan menguap pada suhu yang terlalu tinggi dan terlalu rendah dalam uji berat jenis ini, suhu distilat memiliki dampak yang signifikan terhadap pengukuran berat jenis etanol. Bekukan dan hilangkan. Suhu diturunkan menjadi antara 10°C dan 20°C karena distilat, yang merupakan produk dari proses distilasi, memiliki suhu rata-rata 30°C. Ketika suhu turun menjadi sekitar 15°C, etanol ditambahkan ke piknometer, ditimbang, dan suhu akhir distilat dicatat. Suhu etanol naik dengan cepat, sehingga penting untuk segera menimbanginya untuk mencegah penguapan. Tabel berat jenis dan konsentrasi etanol kemudian digunakan untuk mengkonversi suhu akhir distilat dan berat jenis yang diukur (Primadevi, 2016).

2.12 Penelitian Terdahulu

Tabel 3. Penelitian Terdahulu

No	Nama dan Tahun	Judul dan Variasi	Hasil
1	Rachmat Subagyo, Wahyu Arifin (2016)	Analisa Variasi Waktu Fermentasi Pembuatan Bioetanol Dengan	Kadar bioetanol tertinggi dengan kombinasi 0% kulit singkong – 100% kulit nanas yaitu dengan variasi waktu

No	Nama dan Tahun	Judul dan Variasi	Hasil
		Bahan Kulit Singkong dan Kulit Nanas. Variasi persen kombinasi bahan baku yang digunakan antara kulit singkong dan kulit nanas serta variasi waktu fermentasi	fermentasi 120 jam (5 hari) menggunakan ragi 6 g serta kadar bioetanol yang dihasilkan sebesar 24,83%.
2	Ari Diana Susanti, Puspito Teguh Prakoso, Hari Prabawa. (2013)	Pembuatan Bioetanol dari Kulit Nanas Melalui Hidrolisis dengan Asam. Variasi konsentrasi dan waktu fermentasi.	Proses hidrolisa dengan HCl 0,3 N waktu reaksi 270 – 315 menit, menghasilkan kadar glukosa terbesar yaitu 8,958 – 9,594%. Pada proses fermentasi hasil yang optimum terdapat pada waktu fermentasi selama 4 hari (96 jam) dan dengan massa <i>yeast</i> digunakan 6 g, dikarenakan menghasilkan kadar etanol 31,399% serta konversi glukosa 58,62%.
3	L. Nulhakim, R. R. Febrina, B. Anggono, H. Lukmana, F. Ervina, A.D. Pratiwi, dan P. N. Azizah. (2022)	Pembuatan Bioetanol Dari Kulit Nanas Oleh <i>Saccharomyces Cerevisiae</i> Termobilisasi Dalam Butiran Alginat. Variasi penggunaan konsentrasi asam, temperature serta pengadukan.	Kadar gula paling tinggi dihasilkan pada HCl 2 M, temperatur 75°C serta pengadukan 300 rpm yaitu sebesar 12,6 °Brix. Peningkatan temperature mempengaruhi besarnya laju reaksi, sehingga gula yang dihasilkan akan semakin besar, tetapi tidak berlaku pada penelitian ini, kenaikan temperatur tidak begitu mempengaruhi konsentrasi. Pada konsentrasi HCl berpengaruh, dimana semakin

No	Nama dan Tahun	Judul dan Variasi	Hasil
			tinggi konsentrasi HCl maka akan menyebabkan semakin tinggi gula yang dihasilkan.
4	Novia N, Khairunnas, Gigih Tejo Purboyo. (2015)	Pengaruh Konsentrasi Natrium Hidroksida Saat <i>Pretreatment</i> dan Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Bioetanol Dari Daun Nanas. Variasi konsentrasi NaOH dan waktu fermentasi.	Konsentrasi 0,8 N NaOH sebanyak 500 ml selama 1 jam suhu 100°C menghasilkan sisa kadar lignin terendah yaitu 1,024%. Penambahan konsentrasi NaOH pada saat delignifikasi menyebabkan konsentrasi glukosa semakin tinggi, dimana konsentrasi 0.8 N NaOH menghasilkan glukosa dengan kadar tertinggi yaitu 3,635%, serta waktu optimal fermentasi selama 3 hari menghasilkan kadar etanol yaitu 3,213%.