

**PENGARUH KONSENTRASI *Acetobacter aceti* DAN WAKTU  
FERMENTASI TERHADAP KADAR ASAM ASETAT  
DARI RUMPUT LAUT *Gracilaria sp.***

**SKRIPSI**

**Diajukan Oleh:**

**HUSNIAH NADHIFA**

**NIM. 170704020**

**Mahasiswa Fakultas Sains dan Teknologi  
Program Studi Kimia**



**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI AR-RANIRY  
DARUSSALAM - BANDA ACEH  
2021 M/ 1442 H**

LEMBARAN PERSETUJUAN SKRIPSI/ TUGAS AKHIR

**PENGARUH KONSENTRASI *Acetobacter aceti* DAN WAKTU  
FERMENTASI TERHADAP KADAR ASAM ASETAT DARI  
RUMPUT LAUT *Gracilaria sp.***

SKRIPSI/ TUGAS AKHIR

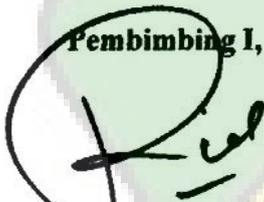
Diajukan kepada Fakultas Sains dan Teknologi  
Universitas Islam Negeri Ar-Raniry Banda Aceh  
Sebagai Beban Studi Memperoleh Gelar Sarjana dalam Ilmu Kimia

Oleh

**HUSNIAH NADHIFA**  
NIM. 170704020  
Mahasiswa Fakultas Sains dan Teknologi  
Program Studi Kimia

Disetujui Oleh:

Pembimbing I,



**(Muhammad Ridwan Harahap, M.Si)**  
NIDN. 2027118603

Pembimbing II,



**(Reni Silvia Nasution, M.Si)**  
NIDN. 2022028901

Mengetahui:  
Ketua Program Studi Kimia,



**(Khairun Nisah, M.Si)**  
NIDN. 2016027902

LEMBARAN PENGESAHAN PENGUJI SKRIPSI/ TUGAS AKHIR  
**PENGARUH KONSENTRASI *Acetobacter aceti* DAN WAKTU  
FERMENTASI TERHADAP KADAR ASAM ASETAT DARI  
RUMPUT LAUT *Gracilaria sp.***

**SKRIPSI/ TUGAS AKHIR**

Telah diuji oleh Panitia Ujian Munaqasyah Skripsi/Tugas Akhir  
Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry dan dinyatakan Lulus  
Serta diterima sebagai Salah Satu Beban Studi Program Sarjana (S-1)  
Dalam Ilmu Kimia

Pada Hari/Tanggal : Kamis, 15 Juli 2021  
5 Zulhijjah 1442

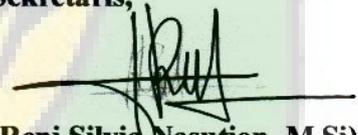
Panitia Ujian Munaqasyah Skripsi/ Tugas Akhir

Ketua,



(Muhammad Ridwan Harahap, M.Si)  
NIDN. 2027118603

Sekretaris,



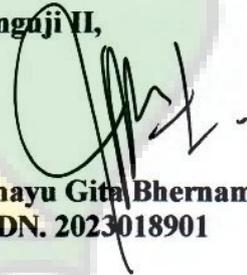
(Reni Silvia Nasution, M.Si)  
NIDN. 2022028901

Penguji I,



(Febrina Arfi, M.Si)  
NIDN. 2021028601

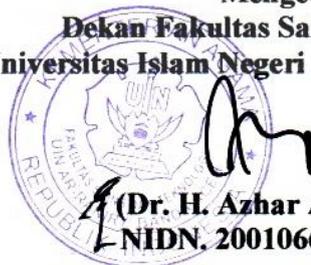
Penguji II,



(Bhayu Gita Bhernama, M.Si)  
NIDN. 2023018901

Mengetahui:

Dekan Fakultas Sains dan Teknologi  
Universitas Islam Negeri Ar-Raniry Banda Aceh,



(Dr. H. Azhar Amsal, M.Pd)  
NIDN. 2001066802

## LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Husniah Nadhifa  
NIM : 170704020  
Program Studi : Kimia  
Fakultas : Sains dan Teknologi  
Judul Skripsi : Pengaruh Konsentrasi *Acetobacter aceti* dan Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Asam Asetat Dari Rumput Laut *Gracilaria sp.*

Dengan ini menyatakan bahwa dalam penulisan skripsi ini, saya:

1. Tidak menggunakan ide orang lain tanpa mampu mengembangkan dan mempertanggungjawabkan;
2. Tidak melakukan plagiasi terhadap naskah karya orang lain;
3. Tidak menggunakan karya orang lain tanpa menyebutkan karya asli atau tanpa izin pemilik karya;
4. Tidak memanipulasi dan memalsukan data;
5. Mengerjakan sendiri karya ini dan mampu bertanggungjawab atas karya ini.

Bila dikemudian hari ada tuntutan dari pihak lain atas karya saya, dan telah melalui pembuktian yang dapat dipertanggungjawabkan dan ternyata memang ditemukan bukti bahwa saya telah melanggar pernyataan ini, maka saya siap dikenai sanksi berdasarkan aturan yang berlaku di Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry Banda Aceh.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan tanpa paksaan dari pihak manapun.

Banda Aceh, 3 Mei 2021  
Yang menyatakan,



Husniah Nadhifa

## ABSTRAK

Nama : Husniah Nadhifa  
NIM : 170704020  
Program Studi : Kimia Fakultas Sains dan Teknologi (FST)  
Judul : Pengaruh Konsentrasi *Acetobacter aceti* dan Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Asam Asetat Dari Rumput Laut *Gracilaria sp.*  
Tanggal Sidang : 15 Juli 2021  
Tebal Skripsi : 74 Halaman  
Pembimbing I : Muhammad Ridwan Harahap, M.Si.  
Pembimbing II : Reni Silvia Nasution, M.Si.  
Kata Kunci : *Gracilaria sp.*, Bioetanol, Fermentasi, *Acetobacter aceti*, Asam Asetat, Karakterisasi FTIR

Asam asetat biasanya dibuat secara sintesis yaitu dengan metode karbonilasi metanol. Asam asetat dapat dibuat dengan metode fermentasi menggunakan bahan yang lebih aman yaitu rumput laut dan dengan bantuan bakteri *Acetobacter aceti*. Karbohidrat yang terdapat pada *Gracilaria sp.* dapat dijadikan sebagai bioetanol dengan proses hidrolisis asam yang mengubah selulosa menjadi glukosa. Bioetanol yang dihasilkan dikonversi menjadi asam asetat dengan bantuan bakteri *Acetobacter aceti*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah rumput laut *Gracilaria sp.* dapat diolah menjadi asam asetat dan mengetahui pengaruh konsentrasi inokulum *Acetobacter aceti* serta waktu fermentasi terhadap kadar asam asetat dari rumput laut yang dihasilkan. Penelitian ini menggunakan metode analisis secara kualitatif dan kuantitatif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar bioetanol dari rumput laut *Gracilaria sp.* menggunakan ragi roti sebesar 7,108% dan menggunakan ragi tape sebesar 1,572%. Bioetanol menggunakan ragi roti digunakan sebagai substrat dalam fermentasi asam asetat. Karakterisasi FTIR (*Fourier Transform Infra Red*) menunjukkan puncak serapan uluran gugus O-H ( $3248\text{ cm}^{-1}$ ), uluran C=O ( $1635,64\text{ cm}^{-1}$ ), dan uluran C-O ( $1249\text{ cm}^{-1}$ ). Kadar asam asetat yang diperoleh dengan variasi konsentrasi *Acetobacter aceti* 5, 10, dan 15% pada 7 hari fermentasi berturut-turut adalah 0,032; 0,223; dan 0,181%, pada 10 hari fermentasi 0,074; 0,380; dan 0,199%. Sedangkan pada hari ke-13 fermentasi, asam asetat tidak terbentuk. Kadar asam asetat tertinggi diperoleh sebesar 0,380% pada penambahan konsentrasi *Acetobacter aceti* 10% dengan waktu fermentasi selama 10 hari. Kesimpulan dari penelitian ini adalah rumput laut *Gracilaria sp.* dapat diolah menjadi asam asetat karena kandungan karbohidrat yang tinggi dan dengan bantuan bakteri *Acetobacter aceti* dan konsentrasi inokulum *Acetobacter aceti* dan waktu fermentasi berpengaruh terhadap kadar asam asetat yang dihasilkan.

## ABSTRACT

Name : Husniah Nadhifa  
NIM : 170704020  
Major : Chemistry Faculty of Science and Technology  
Title : The Effect of *Acetobacter aceti* Concentration and The Fermentation Time On Acetic Acid levels of Seaweed *Gracilaria sp.*  
Court Date : 15<sup>th</sup> July 2021  
Thesis Thickness : 74 Pages  
Advisor I : Muhammad Ridwan Harahap, M.Si  
Advisor II : Reni Silvia Nasution, M.Si  
Keywords : *Gracilaria sp.*, Bioethanol, Fermentation, *Acetobacter aceti* Acetic acid, Characterization FTIR

Acetic acid is usually made synthetically by the methanol carbonylation method. Acetic acid can be made by fermentation method using safer materials that is seaweed and with the help of the bacterium *Acetobacter aceti*. The carbohydrate which is in *Gracilaria sp.* can be made into bioethanol with the acid hydrolysis process which change cellulose into glucose. The bioethanol is converted into acetic acid with the help of bacteria *Acetobacter aceti*. This research aims to know can seaweed *Gracilaria sp* be processed into acetic acid and know the effects of the inoculum concentration of *Acetobacter aceti* and also the time of fermentation to levels of acetic acid from the seaweed produced. The study employed qualitative and quantitative methods of analysis. The result of this study shows the bioethanol level of seaweed *Gracilaria sp* using bread yeast is about 7,108% and using tape yeast is about 1,572%. Bioethanol using bread yeast which is used as substrate in fermentation acetic acid. The characterization FTIR (*Fourier Transform Infra Red*) shows absorption peak of the hydroxyl group (O-H) stretching ( $3248\text{ cm}^{-1}$ ), C=O stretching ( $1635,64\text{ cm}^{-1}$ ) and C-O stretching ( $1249\text{ cm}^{-1}$ ). The level of acetic acid which is shown by the variation of *Acetobacter aceti* concentration 5, 10 and 15% on 7 consecutive days fermentation is 0,032; 0,233 and 0,181%, an the 10 day of fermentation 0,074; 0,380 and 0,199%. While in the 13 day of fermentation, the acetic acid is not built well. The highest level of acetic acid is 0,380% in the additional concentration acetobacter aceti 10% in 10 days. The conclusion of this study is seaweed *Gracilaria sp* can be made as acetic acid because it consist of high carbohydrate with bacteria acetobacter aceti and *Acetobacter aceti* inoculum concentration and fermentation time affects the level of acetic acid produced.

## KATA PENGANTAR

### *Bismillahirrahmanirrahim*

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah menganugerahkan Al-Qur'an sebagai petunjuk bagi seluruh manusia dan rahmat bagi segenap alam. Sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi. Shalawat dan salam semoga tercurahkan kepada junjungan Nabi Besar Muhammad SAW beserta keluarganya, para sahabatnya dan seluruh umatnya yang selalu istiqamah hingga akhir zaman.

Penulis dalam kesempatan ini mengambil judul skripsi "**Pengaruh Konsentrasi *Acetobacter aceti* dan Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Asam Asetat Dari Rumput Laut *Gracilaria sp.***". Penulisan skripsi bertujuan untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi syarat-syarat untuk menyelesaikan pendidikan tahap terakhir pada Universitas Islam Negeri Ar-Raniry Banda Aceh.

Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak terutama kedua orang tua serta keluarga tercinta yang telah memberikan dukungan dan untaian do'a nya selama ini. Penulis juga berterima kasih yang telah membantu penulis dalam membuat dan menyelesaikan skripsi, sehingga penulis mendapatkan banyak pengetahuan dan wawasan baru yang sangat berarti. Oleh karena itu, penulis juga tidak lupa mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Dr. Azhar Amsal, M. Pd., selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Ar-Raniry.
2. Ibu Khairun Nisah, M. Si., selaku Ketua Prodi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Ar-Raniry.
3. Bapak Muhammad Ridwan Harahap, M. Si., selaku Sekretaris Prodi Kimia dan Dosen Pembimbing I Prodi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Ar-Raniry.
4. Ibu Reni Silvia Nasution, M.Si., selaku Dosen Pembimbing II Prodi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Ar-Raniry.
5. Seluruh Ibu/Bapak Dosen di Prodi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Ar-Raniry.

6. Semua teman-teman seperjuangan angkatan 2017 yang telah memberikan dukungan dan motivasi selama penulis membuat dan menyelesaikan skripsi.

Semua pihak yang turut membantu dalam penyusunan skripsi ini. Semoga amal baik mereka mendapatkan balasan dari Allah SWT dengan balasan yang berlipat ganda. Semoga laporan ini dapat bermanfaat bagi berbagai pihak. Penulis menyadari bahwa laporan ini masih banyak terdapat kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk lebih menyempurnakan skripsi ini.

Banda Aceh, 3 Mei 2021

Penulis,

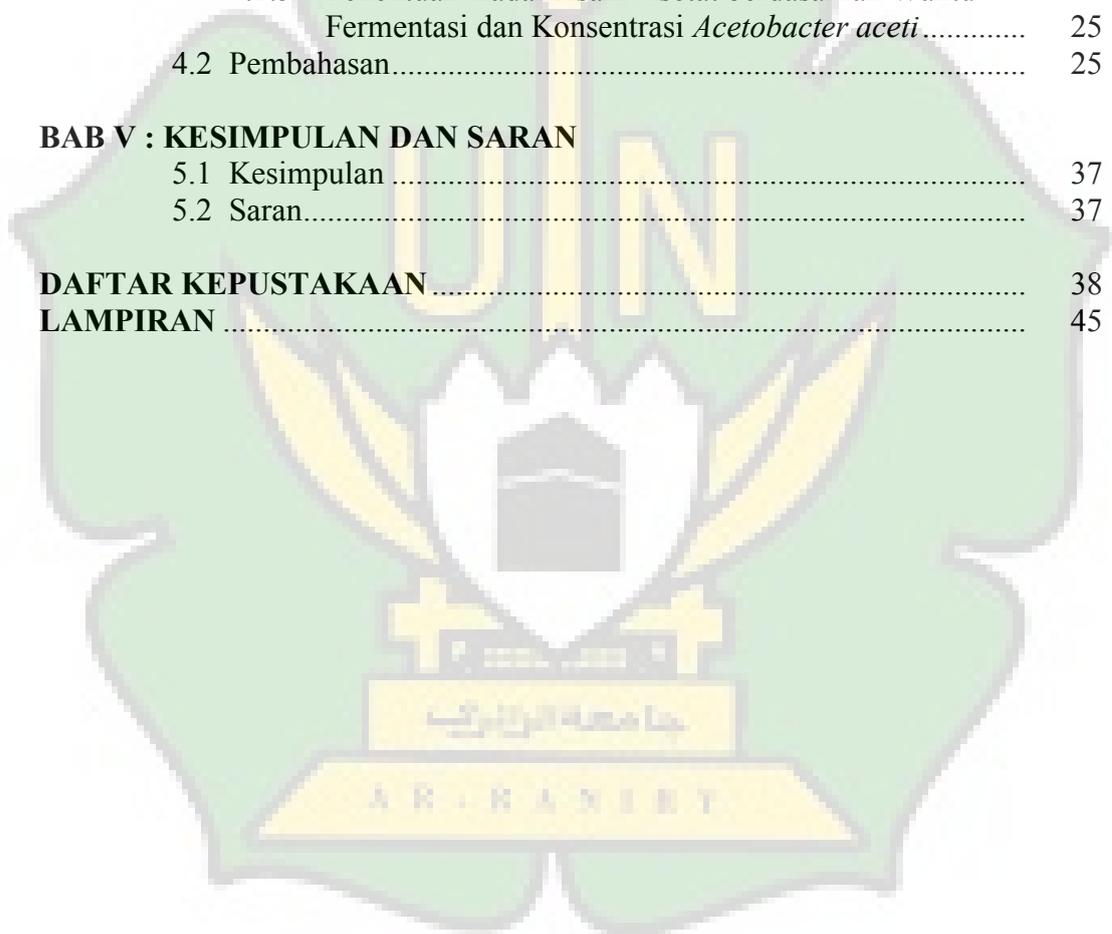
Husniah Nadhifa



## DAFTAR ISI

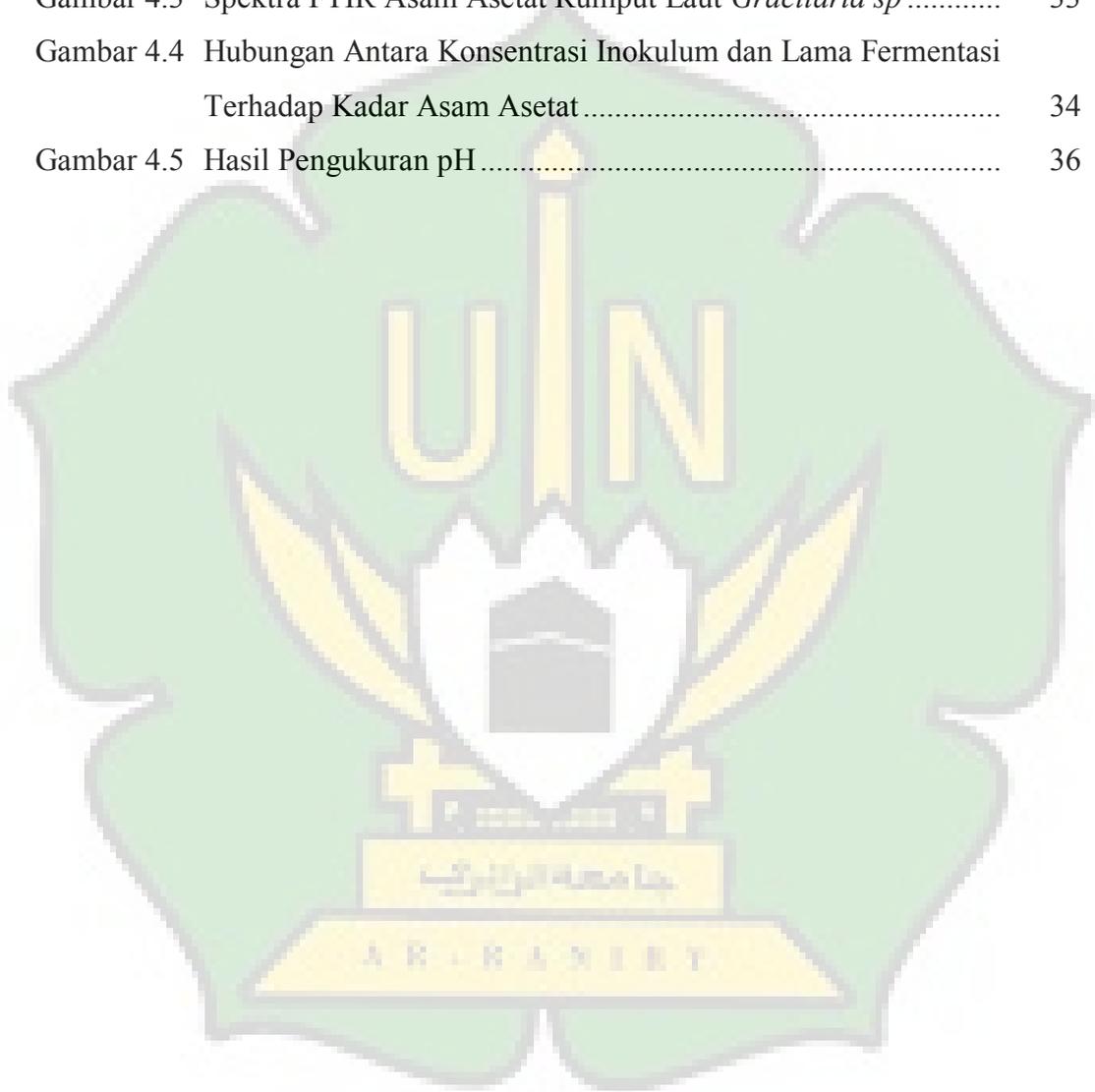
<b>LEMBAR PERSETUJUAN</b> .....	i
<b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....	ii
<b>LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI</b> .....	iii
<b>ABSTRAK</b> .....	iv
<b>ABSTRACT</b> .....	v
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	vi
<b>DAFTAR ISI</b> .....	viii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	x
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xii
<b>BAB I : PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.5 Batasan Masalah.....	5
1.6 Hipotesis Penelitian.....	5
<b>BAB II : LANDASAN TEORITIS</b>	
2.1 Rumput Laut.....	6
2.2 <i>Gracilaria sp</i> .....	8
2.3 Hidrolisis Asam.....	10
2.4 Fermentasi.....	11
2.5 Mikroorganisme yang Berperan dalam Fermentasi.....	12
2.5.1 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	12
2.5.2 <i>Acetobacter aceti</i> .....	12
2.6 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Fermentasi.....	13
2.7 Asam Asetat.....	14
2.8 Metode Penentuan Kadar Asam Asetat.....	16
<b>BAB III : METODOLOGI PENELITIAN</b>	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	19
3.2 Alat dan Bahan.....	19
3.2.1 Alat.....	19
3.2.2 Bahan.....	19
3.3 Prosedur Kerja.....	19
3.3.1 Preparasi Sampel.....	19
3.3.2 Proses <i>Preatreatment</i> (Delignifikasi).....	20
3.3.3 Proses Hidrolisis Asam.....	20
3.3.4 Penyiapan Starter.....	20
3.3.5 Produksi Alkohol.....	21
3.3.6 Analisis Kadar Etanol.....	21

3.3.7	Persiapan Inokulum.....	22
3.3.7.1	Pembuatan Media Cair Aktivasi.....	22
3.3.7.2	Pembuatan Inokulum.....	22
3.3.8	Pembuatan Asam Asetat.....	22
3.3.9	Analisis Kualitatif dengan FTIR.....	22
3.3.10	Analisis Kadar Asam Asetat.....	22
3.3.11	Analisis pH.....	23
<b>BAB IV : HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN</b>		
4.1	Data Hasil Penelitian.....	24
4.1.1	Penentuan Rendemen Bioetanol <i>Gracilaria sp.</i> .....	24
4.1.2	Penentuan Kurva Kalibrasi Standar Etanol.....	24
4.1.3	Penentuan Kadar Alkohol <i>Gracilaria sp.</i> .....	24
4.1.4	Penentuan Gugus Fungsi Asam Asetat.....	24
4.1.5	Penentuan Kadar Asam Asetat berdasarkan Waktu Fermentasi dan Konsentrasi <i>Acetobacter aceti</i> .....	25
4.2	Pembahasan.....	25
<b>BAB V : KESIMPULAN DAN SARAN</b>		
5.1	Kesimpulan.....	37
5.2	Saran.....	37
<b>DAFTAR KEPUSTAKAAN</b> .....		38
<b>LAMPIRAN</b> .....		45



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Rumput Laut <i>Gracilaria sp</i> .....	9
Gambar 2.2 Mekanisme Reaksi dari Alkohol menjadi Asam Asetat .....	16
Gambar 4.1 Mekanisme Reaksi Hidrolisis Asam.....	27
Gambar 4.2 Kurva Kalibrasi Standar Etanol .....	30
Gambar 4.3 Spektra FTIR Asam Asetat Rumput Laut <i>Gracilaria sp</i> .....	33
Gambar 4.4 Hubungan Antara Konsentrasi Inokulum dan Lama Fermentasi Terhadap Kadar Asam Asetat.....	34
Gambar 4.5 Hasil Pengukuran pH.....	36



## DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Rendemen Bioetanol <i>Gracilaria sp.</i> .....	24
Tabel 4.2 <i>Peak Area</i> Standar Etanol 0,2-2% menggunakan GC-FID .....	24
Tabel 4.3 <i>Peak Area</i> Bioetanol <i>Gracilaria sp.</i> menggunakan GC-FID .....	24
Tabel 4.4 Hasil FTIR Asam Asetat.....	25
Tabel 4.5 Hasil Analisis Kadar Asam Asetat dan pH.....	25



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Perhitungan .....	45
Lampiran 2	Skema Kerja.....	48
Lampiran 3	Hasil Analisis Kadar Bioetanol Ragi Tape menggunakan GC ...	52
Lampiran 4	Hasil Analisis Kadar Bioetanol Ragi Roti menggunakan GC ....	53
Lampiran 5	Hasil Spektra FTIR Asam Asetat Rumput Laut <i>Gracilaria sp...</i>	54
Lampiran 6	Dokumentasi Penelitian .....	55
Lampiran 7	Surat Identifikasi Sampel.....	61



# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Rumput laut merupakan komoditas andalan nasional di zona perikanan. Hal ini ditegaskan dengan kebijakan yang menempatkan rumput laut sebagai objek komoditas utama yang diharapkan meningkatkan perolehan devisa negeri. Hal tersebut didasarkan pada beberapa keunggulan rumput laut seperti pembudidayaan rumput laut yang relatif singkat ialah 45 hari, produktivitas besar, kandungan gula monomer ataupun polimer sehingga dapat menjadi sumber pangan ataupun energi (Haslianti *et al.*, 2016). Rumput laut atau *seaweed* adalah salah satu tanaman laut yang berada pada golongan makroalga yang sifatnya benthic (melekat) di dasar perairan. Produksi rumput laut di Indonesia saat ini telah mengalami kenaikan yang cukup signifikan. Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP) menargetkan produksi rumput laut nasional meningkat rata-rata 2,92% dalam periode 2020-2024. Sedangkan khusus tahun 2020 ditargetkan produksi rumput laut nasional meraih 10,99 juta ton (KKP, 2020).

Salah satu jenis rumput laut yang sangat banyak ditemukan di Indonesia adalah *Gracilaria sp.* Provinsi Aceh memiliki daerah pesisir pantai, sehingga sangat berpotensi untuk mengembangkan sumber daya rumput laut. Luas areal budidaya di provinsi Aceh mencapai 62.568 ha tambak (BPS, 2019). Biomassa dalam sumber pangan rumput laut ini dapat dijadikan sebagai sumber alternatif energi terbarukan yaitu energi biofuel (bioetanol, biodiesel dan biogas). Selain itu jenis *Gracilaria sp.* banyak digunakan dalam memproduksi agar (Sa'diyah dan Puryantoro, 2018).

Kandungan karbohidrat yang dimiliki masing-masing rumput laut umumnya berbeda berdasarkan jenis rumput laut, perlakuan dan lokasi perairan sebagai tempat budidayanya. Penelitian Sandi *et al* (2016) menunjukkan bahwa kandungan kimia dari rumput laut *Gracilaria sp* dari Pantai Maukawini Kota Waingapu, Sumba Timur mengandung karbohidrat 73,66%. Sedangkan Adini *et al* (2015) menggunakan *Gracilaria sp* berasal dari daerah Brebes untuk pembuatan agar-agar. Limbah yang dihasilkan dari proses pembuatan agar-agar tersebut, juga dapat dimanfaatkan kembali seperti untuk dijadikan kertas.

Kandungan karbohidrat total untuk limbah agar 72,17% sedangkan rumput laut *Gracilaria sp.* 52,87%. Selain itu, makroalga *Gracilaria sp.* dapat dijadikan potensi energi biogas sebagai energi baru terbarukan dalam bentuk produk biogas yang mengandung karbohidrat tinggi. Hasil penelitian Kawaroe *et al* (2016) menunjukkan bahwa karakteristik biokimia dari *Gracilaria sp* yang diperoleh dari Provinsi Banten memiliki nilai karbohidrat 65,46%.

Komposisi kimia yang terkandung paling dominan pada *Gracilaria sp.* adalah karbohidrat. Dengan adanya kandungan karbohidrat maka penting untuk dikembangkan teknologi pengolahan yang tepat. Selama ini masyarakat pesisir Aceh memanfaatkan rumput laut hanya sebagai sayuran dan pakan ternak (Gazali *et al.*, 2018). Oleh karena itu, salah satu upaya dalam memanfaatkan sumber daya *Gracilaria sp.* adalah dengan cara mengolahnya menjadi produk asam asetat. Pengolahan *Gracilaria sp.* menjadi produk asam asetat merupakan suatu inovasi baru dalam penggunaan jenis rumput laut sebagai bahan baku pembuatan asam asetat.

Asam asetat merupakan senyawa kimia asam organik yang dikenal sebagai pemberi rasa masam dan aroma dalam makanan. Produk asam asetat yang terdapat dipasaran biasanya dibuat melalui proses kimiawi (sintesis). Pembuatan asam asetat dibuat dalam skala industri sering menggunakan metode karbonilasi metanol. Hal ini berdasarkan Yoneda *et al* (2001) yang menyatakan bahwa karbonilasi metanol merupakan teknik yang umum digunakan dalam industri asam asetat dan menjadi teknik penghasil asam asetat lebih dari 65% dari kapasitas global. Bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan asam asetat sintesis belum tentu aman bagi kesehatan. Untuk dapat mengurangi resiko akibat bahan yang digunakan, perlu dilakukan penelitian mengenai pembuatan asam asetat dari bahan dasar alami seperti rumput laut.

Pembuatan dengan cara fermentasi lebih banyak diminati. Oleh karena itu, pembuatan cuka dengan proses biologis dari bahan dasar yang alami, yaitu rumput laut serta dalam proses pembuatannya menggunakan bahan yang lebih aman yaitu dengan bantuan bakteri *Saccharomyces cerevisiae* dan *Acetobacter aceti*. Tahap awal yaitu perlakuan hidrolisis asam yang mengubah pati menjadi glukosa, lalu difermentasi dengan *Saccharomyces cerevisiae* yang akan mengubah glukosa

menjadi etanol. Kemudian dilanjutkan dengan fermentasi dengan *Acetobacter aceti* yang mengubah etanol menjadi asam asetat (Yasminto *et al.*, 2019). Mikroba *Saccharomyces cerevisiae* dapat mengkonversi gula menjadi etanol karena adanya enzim invertase dan enzim zimase yang dihasilkan oleh mikroba tersebut. Adanya enzim-enzim tersebut, membuat *Saccharomyces cerevisiae* memiliki kemampuan untuk mengkonversi jenis gula monosakarida maupun disakarida. Jika gula yang tersedia dalam substrat merupakan gula disakarida, maka enzim invertase akan bekerja menghidrolisis disakarida menjadi monosakarida. Setelah itu, enzim zimase akan mengubah monosakarida tersebut menjadi alkohol dan CO<sub>2</sub> (Rizwan *et al.*, 2018). Bakteri *Acetobacter* bersifat aerob, sehingga untuk mendapatkan energi mikroba menggunakan glukosa atau zat organik yang lain sebagai substrat untuk dioksidasi menjadi karbondioksida dan air. Bakteri asam asetat mendapatkan energi dari hasil oksidasi etanol, maka dari itu jenis bakteri ini dapat tumbuh pada media dan etanol. *Acetobacter* dengan kemampuan untuk mengoksidasi etanol (alkohol) dan karbohidrat lainnya menjadi asam asetat (Yeni *et al.*, 2011).

Beberapa hasil penelitian tentang fermentasi asam asetat antara lain dari Kasari *et al* (2012) yang mengkonversi bioetanol hasil fermentasi dari ubi jalar putih menjadi asam asetat. Hasil penelitian dengan konsentrasi *Acetobacter aceti* 10% dan lama fermentasi 12 hari menghasilkan kadar asam asetat 0,553%. Pengaruh konsentrasi inokulum dan waktu fermentasi terhadap proses fermentasi juga dijelaskan oleh Yasminto *et al* (2019) menggunakan nira aren menghasilkan konsentrasi asam asetat tertinggi diperoleh sebesar 3,74% dengan volume inokulum 15% pada waktu fermentasi selama 8 hari. Selain itu, kondisi optimum yang menghasilkan rendemen asam cuka dari buah kersen terbaik pada perlakuan waktu fermentasi 10 hari dan penambahan inokulum *Acetobacter aceti* sebanyak 15% sehingga kadar asam cuka yang dihasilkan sebesar 8,56 mg/100mL (Rachmawati *et al.*, 2019). Dan dari hasil penelitian Masriatini (2016) yang membuat asam cuka dari bonggol pisang menunjukkan bahwa bonggol pisang memiliki kondisi optimum didapat pada penambahan induk cuka 23% dengan waktu fermentasi selama 7 hari yaitu 7,68%.

Berdasarkan penelitian dan referensi di atas, pemanfaatan bahan baku rumput laut sebagai alternatif pembuatan asam asetat belum pernah dilakukan. Maka dalam penelitian ini dilakukan pembuatan bioetanol dari rumput laut *Gracilaria sp.* yang dikonversi menjadi asam asetat dengan menggunakan variasi konsentrasi bakteri *Acetobacter aceti* dan juga waktu fermentasi. Kadar bioetanol dianalisis menggunakan GC (*Gas Chromatography*) dan selanjutnya asam asetat yang dihasilkan dikarakterisasi dengan FTIR (*Fourier Transform Infra Red*).

### 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang diatas, rumusan masalah penelitian ini adalah:

1. Apakah rumput laut *Gracilaria sp.* dapat diolah menjadi asam asetat?
2. Bagaimana pengaruh konsentrasi inokulum *Acetobacter aceti* dan waktu fermentasi terhadap kadar asam asetat dari rumput laut yang dihasilkan?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui apakah rumput laut *Gracilaria sp.* dapat diolah menjadi asam asetat.
2. Untuk mengetahui pengaruh konsentrasi inokulum *Acetobacter aceti* dan waktu fermentasi terhadap kadar asam asetat dari rumput laut yang dihasilkan.

### 1.4 Manfaat Penelitian

Adapun hasil penelitian diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut:

1. Mahasiswa dapat melakukan cara fermentasi asam asetat.
2. Mahasiswa dapat mengetahui pengaruh waktu fermentasi dan konsentrasi inokulum *Acetobacter aceti* pada pembuatan asam asetat rumput laut.
3. Memberikan informasi dan wawasan terhadap masyarakat tentang rumput laut yang dikembangkan menjadi asam asetat atau asam cuka.

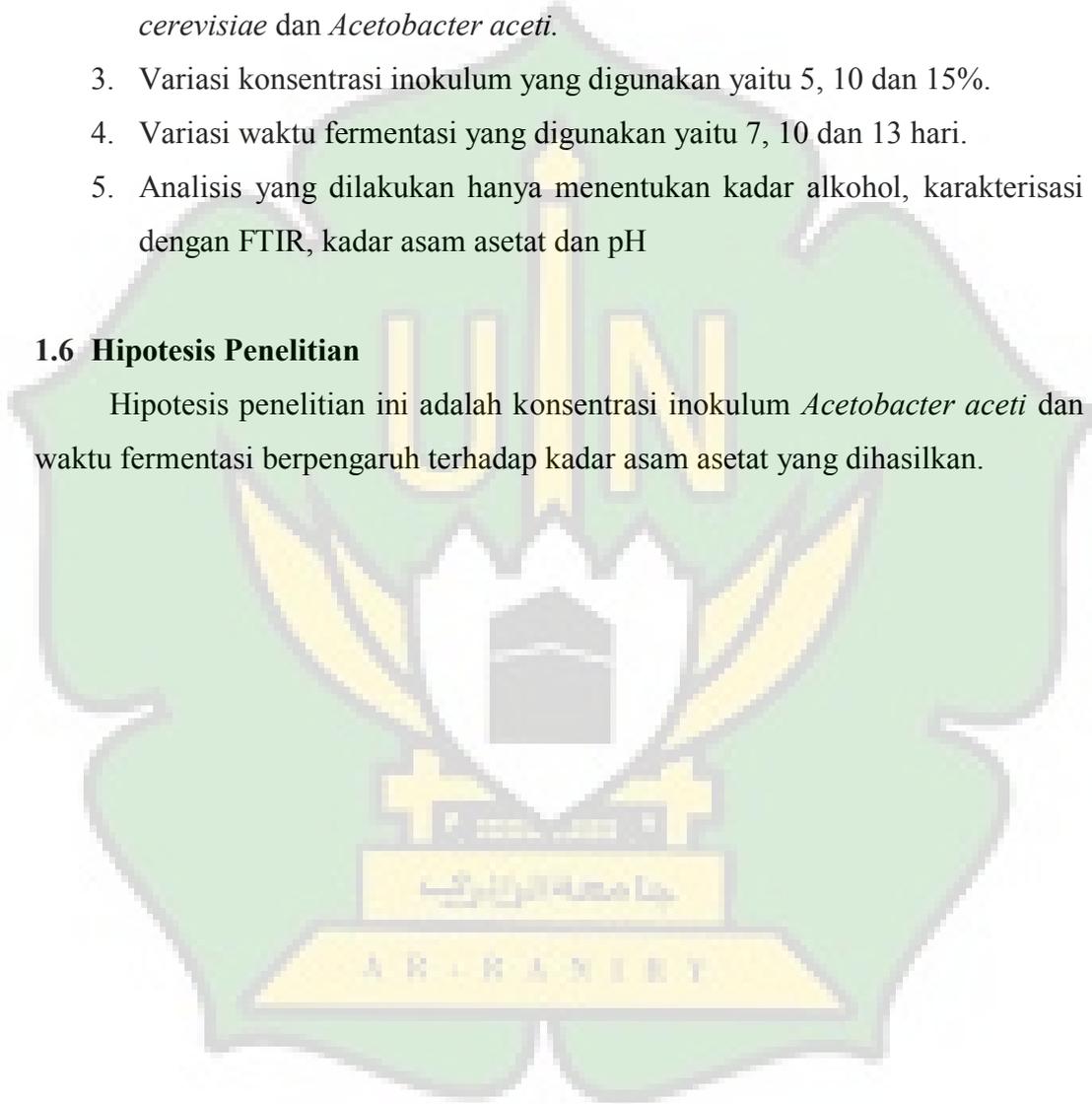
### 1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Sampel rumput laut yang digunakan adalah rumput laut merah *Gracilaria sp.* yang diperoleh dari tambak di Desa Neuhen, Kecamatan Masjid Raya, Kabupaten Aceh Besar.
2. Bakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah *Saccharomyces cerevisiae* dan *Acetobacter aceti*.
3. Variasi konsentrasi inokulum yang digunakan yaitu 5, 10 dan 15%.
4. Variasi waktu fermentasi yang digunakan yaitu 7, 10 dan 13 hari.
5. Analisis yang dilakukan hanya menentukan kadar alkohol, karakterisasi dengan FTIR, kadar asam asetat dan pH

### 1.6 Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian ini adalah konsentrasi inokulum *Acetobacter aceti* dan waktu fermentasi berpengaruh terhadap kadar asam asetat yang dihasilkan.



## BAB II

### LANDASAN TEORITIS

#### 2.1 Rumput Laut

Indonesia merupakan negara kepulauan dengan 17.504 pulau dan 81.000 km panjang garis pantai yang mempunyai potensi yang cukup besar untuk pengembangan komoditas rumput laut, di mana kegiatan pengembangannya telah dilakukan di seluruh perairan Indonesia mulai dari Nanggroe Aceh Darussalam sampai dengan Papua (Warta Ekspor, 2013). Luas lahan perikanan budidaya sangat besar dan dapat digunakan untuk memproduksi sepanjang tahun. Total potensi luas lahan perikanan budidaya sebesar 17,91 juta ha, yang terdiri dari budidaya laut sebesar 12,12 juta ha, budidaya air payau sebesar 2,96 juta ha, dan budidaya air tawar sebesar 2,83 juta ha. Di antara jumlah tersebut, tingkat penggunaan lahan untuk kegiatan perikanan budidaya masih rendah yaitu baru mencapai 957 ribu ha atau 5,35%, sehingga potensi pengembangan lahan masih sangat besar (KKP, 2019). Luas indikatif lahan yang dapat digunakan untuk budidaya komoditas rumput laut Indonesia mencapai 769.452 ha. Dari angka tersebut, hanya 50% atau seluas 384.733 ha yang dimanfaatkan secara efektif, dan akan terus dimanfaatkan sehingga target produksi tahun 2014 sebesar 10 juta ton dapat dicapai. Menurut Master Plan Program Kawasan Budidaya Laut Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya, Provinsi Aceh memiliki lahan indikatif sebesar 24.282 ha, namun hanya 12.141 yang merupakan lahan efektif (Warta Ekspor, 2013).

Kekayaan sumber daya laut di Indonesia, keragaman hayati dan jenis-jenis sumber daya alam di dalamnya sangat melimpah. Salah satu biota laut yang mempunyai ragam spesies yaitu rumput laut. Rumput laut merupakan makroalga yang hidupnya di laut yang memiliki ciri yaitu tidak mempunyai akar, batang dan daun sejati dan umumnya hidup pada dasar perairan dan melekat pada substrat seperti batu, pasir, dan lainnya. Pada rumput laut terdapat *thallus* yang menggantikan fungsi akar pada layaknya tumbuhan biasanya. *Thallus* berfungsi sebagai proses penyerapan nutrisi dan hara di sekitar rumput laut. Selain itu, *thallus* juga memiliki peran melangsungkan fotosintesis karena keberadaan klorofil atau pigmen fotosintesis lain di dalamnya. Rumput laut termasuk ke

dalam tumbuhan tingkat rendah karena tidak memiliki akar, batang dan daun seperti umumnya pada tanaman (Firdaus, 2019).

Rumput laut disebut sebagai fitobentos karena umumnya hidup pada kedalaman yang masih dapat dicapai cahaya matahari dan dengan melekatkan dirinya pada substrat lumpur, pasir, karang, fragmen karang mati, batu, kayu, dan benda keras lainnya. Ada pula yang menempel pada tumbuhan lain secara spesifik. Beberapa faktor yang dapat menentukan pertumbuhan rumput laut yaitu faktor oseanografis dan jenis substrat. Sedangkan faktor yang mempengaruhi jenis rumput laut yang dapat tumbuh adalah iklim dan letak geografis. Sinar matahari merupakan faktor utama yang diperlukan untuk kelangsungan hidup rumput laut (Wibowo *et al.*, 2015).

Dalam menentukan lokasi budidaya rumput laut, harus mempertimbangkan beberapa aspek seperti lokasi untuk budidaya rumput laut memenuhi kriteria kelayakan teknis berdasarkan kualitas air maupun aksesibilitas, dan akses ke kawasan budidaya. Salah satu daerah Aceh yang dapat dijadikan lokasi budidaya rumput laut adalah Pulo Raya Kabupaten Aceh Jaya Provinsi Aceh. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Harahap (2018) mengatakan bahwa kawasan Pulo Raya Kabupaten Aceh Jaya Provinsi Aceh layak dijadikan kawasan budidaya rumput laut karena dari hasil analisis kondisi lingkungan menunjukkan tingkat pH 6,22; kadar ion logam timbal (Pb (II)) 0,001 ppm dan ion logam tembaga (Cu (II)) 0,002 ppm; kadar COD 137 ppm dan kadar salinitas 28,75 ppm. Hasil tersebut telah memenuhi persyaratan berdasarkan Standar Nasional Indonesia (SNI) No. 7578.1: 2010 dan Keputusan Menteri Lingkungan Hidup (KemenLH) No. 51: 2004.

Rumput laut merupakan ganggang yang hidup di laut dan tergolong dalam divisi thallophyta. Rumput laut dapat diklasifikasikan menjadi 4 kelas berdasarkan kandungan pigmen yaitu rumput laut hijau (*Chlorophyta*), rumput laut merah (*Rhodophyta*), rumput laut coklat (*Phaeophyta*) dan rumput laut pirang (*Chrysophyta*). *Chlorophyta* memiliki pigmen dominan hijau. Pigmen tersebut berasal dari klorofil yang dimiliki oleh alga. *Rhodophyta* adalah alga berwarna merah. Adanya warna merah pada *Rhodophyta* disebabkan oleh cadangan fikorietrin yang lebih dominan, dibandingkan pigmen lain atau pigmen yang dapat

menutupi warna hijau dari klorofil. Selain itu, *Rhodophyta* juga memiliki pigmen lainnya yaitu klorofil, karotenoid dan pada jenis tertentu terdapat fikosianin. Sementara itu, *Phaeophyta* adalah alga bewarna cokelat. Warna cokelat dikarenakan oleh pigmen fikosantin yang dominan. *Phaeophyta* juga mengandung pigmen lain yaitu klorofil a dan b, karoten serta santofil. Bentuk *Phaeophyta* lebih besar dibandingkan dengan *Chlorophyta* dan *Rhodophyta* (Handayani dan Kadi, 2007). Sedangkan *Chrysophyta* merupakan jenis ganggang keemasan yang memiliki pigmen dominan karoten berupa xantofil yang memberikan warna keemasan. Ganggang keemasan sering disebut ganggang kersik, karena mengandung silikat (Hasanuddin dan Mulyadi, 2014).

Saat ini, dengan kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi, pemanfaatan rumput laut sudah sangat beragam. Dengan begitu luasnya penggunaan rumput laut, tidak mengherankan jika komoditas ini menjadi salah satu produk penting dalam perdagangan internasional. Pada tahun 2016, kurang lebih 1 juta ton produk rumput laut diekspor dengan nilai lebih dari USD 4 milyar atau dengan kurs Rp14.000/ USD, setara Rp. 56 triliun. Sementara itu, tercatat lebih dari 100 negara di dunia menjadi pengimpor komoditas ini (FAO, 2018).

## 2.2 *Gracilaria sp.*

*Gracilaria sp.* merupakan tanaman yang berupa thalus, mempunyai panjang 7,5 – 30 cm. Sebagaimana alga pada umumnya, *Gracilaria sp.* tidak memiliki perbedaan antara akar, batang serta daun. Tumbuhan laut ini berbentuk batang yang disebut sebagai thallus dengan banyak percabangan. *Gracilaria sp.* memiliki thalus berbentuk silindris dengan percabangan, mulai dari yang sederhana hingga rumit dan lebat. Pada umumnya, di atas percabangan bentuk thalus semakin mengecil dan menyerupai gel atau lunak seperti tulang rawan. Perbedaan bentuk, struktur, dan asal usul pembentukan organ reproduksi sangat penting dalam perbedaan tiap spesies. Warna thalus juga beragam, mulai dari merah, pirang, hijau-coklat, merah-coklat dan sebagainya (Ashari, 2016).

Rumput laut *Gracilaria sp.* dalam bidang pangan memiliki potensi yang besar untuk dikembangkan karena memiliki nilai ekonomi yang tinggi. Rumput laut menghasilkan hidrokoloid yang berupa karagenan, alginat, dan agar-agar

yang dapat digunakan sebagai bahan pengental dan pembuatan gel. Kandungan garosa dan agropektin pada *Gracilaria sp.* mampu menghasilkan agar dengan kekuatan gel yang baik (Damat *et al.*, 2020)

Klasifikasi rumput laut *Gracilaria sp.* adalah sebagai berikut :

Kingdom	: <i>Protista</i>
Phylum	: <i>Rhodophyta</i>
Kelas	: <i>Florideophyceae</i>
Ordo	: <i>Gracilariales</i>
Familia	: <i>Gracilariaceae</i>
Genus	: <i>Gracilaria</i>
Spesies	: <i>Gracilaria sp.</i>



**Gambar 2.1** Rumput Laut (*Gracilaria sp.*)

Sumber : Dokumentasi peneliti

Kandungan kimia dari rumput laut kering *Gracilaria sp.* yaitu karbohidrat 73,66%, air 7,34%, abu 14,03%, lemak 3,34%, dan protein 1,60%. Karbohidrat pada rumput laut mempunyai fungsi tertentu yaitu untuk menentukan kadar suatu gula reduksi yang dihasilkan melalui proses hidrolisis. Semakin banyak karbohidrat (pati, glikogen, selulosa, dan hemiselulosa) semakin banyak juga gula reduksi yang terbentuk (Sandi *et al.*, 2016). *Gracilaria sp.* juga merupakan penghasil agar-agar. Limbah yang dihasilkan dari proses pembuatan agar-agar dapat dimanfaatkan kembali seperti untuk dijadikan kertas. Kandungan karbohidrat total untuk limbah agar 72,17% sedangkan rumput laut *Gracilaria sp.* 52,87% (Adini *et al.*, 2015). Makroalga *Gracilaria sp.* dapat dijadikan potensi energi biogas sebagai energi baru terbarukan dalam bentuk produk biogas yang mengandung karbohidrat tinggi. Hasil penelitian Kawaroe *et al* (2016)

menunjukkan bahwa karakteristik biokimia dari *Gracilaria sp.* yang dijadikan sebagai biogas memiliki nilai karbohidrat 65,46%. Komposisi kimia alga bervariasi salah satunya tergantung dari habitatnya. Khusus pada rumput laut *Gracillaria verrucosa* memiliki habitat yang berbeda, yaitu pada substrat pasir dan yang berlumpur. Hasil kadar karbohidrat *G. verrucosa* dari substrat lumpur adalah 72.495 % sedangkan pada substrat pasir 71.671 % (Ma'ruf *et al.*, 2013).

Rumput laut *Gracilaria sp.* termasuk jenis alga merah yang memiliki tingkat reproduksi cepat yaitu sekitar 7-13% dan dapat bertambah sampai 20% tingkat pertumbuhannya dalam sehari. *Gracilaria sp.* memiliki kandungan galaktan sebanyak 54,4% dan selulosa sebanyak 19,7%. Adanya galaktan dan selulosa di dalam rumput laut tersebut, dapat dijadikan sebagai bahan baku alternatif penghasil bioetanol (Adini *et al.*, 2015). Selain itu, *Gracilaria sp.* juga mengandung metabolit sekunder bersifat fitokimia aktif secara biologis, seperti karotenoid, terpenoid, xantofil, fikobilin, asam lemak tak jenuh, polisakarida, vitamin, sterol, tokoferol, dan fikosianin (Francavilla *et al.*, 2013).

### 2.3 Hidrolisis Asam

Hidrolisis merupakan proses pemecahan atau pemutusan ikatan suatu molekul secara kimiawi disebabkan oleh pengikatan air dan menghasilkan molekul yang lebih kecil. Tujuan dari hidrolisis adalah untuk memecah ikatan hemiselulosa dan merusak struktur kristal selulosa menjadi gula sederhana. Rusaknya struktur kristal selulosa akan mempermudah proses penguraian selulosa menjadi glukosa. Selain itu, hemiselulosa juga terurai menjadi senyawa monosakarida seperti glukosa, galaktosa, manosa, heksosa, pentosa, xilosa, dan arabinosa. Senyawa-senyawa tersebut akan diubah menjadi etanol oleh mikroorganisme penghasil etanol (Mosier *et al.*, 2018)

Dalam metode hidrolisis menggunakan asam, biomassa lignoselulosa dipaparkan dengan asam pada suhu dan tekanan tertentu selama waktu tertentu pula, dan menghasilkan monomer gula dari polimer selulosa dan hemiselulosa. Asam yang biasa digunakan adalah asam sulfat ( $H_2SO_4$ ), asam perklorat ( $HClO_4$ ), dan HCl (Ngamput, 2018). Menurut penelitian (Siswati *et al.*, 2010) katalis HCl menghasilkan glukosa lebih tinggi dibandingkan  $H_2SO_4$ . Hal ini terjadi karena

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> bersifat membakar selulosa sedangkan HCl tidak, sehingga glukosa yang dihasilkan lebih sedikit. Dalam hal ini, asam berfungsi sebagai katalisator yaitu untuk mempercepat terjadinya proses hidrolisis.

Hidrolisis asam pekat dapat dibagi menjadi hidrolisis asam pekat dan hidrolisis asam encer. Penggunaan asam pekat dalam hidrolisis selulosa dilakukan pada suhu yang lebih rendah daripada asam encer. Konsentrasi asam yang digunakan adalah 10-30%, suhu reaksi adalah 100°C dan waktu reaksi yang dibutuhkan antara 2-6 jam. Suhu yang lebih rendah meminimalisasi degradasi gula. Keuntungan menggunakan asam pekat adalah memiliki tingkat konversi gula yang tinggi, yaitu bisa mencapai konversi 90% (Habibah, 2015).

## **2.4 Fermentasi**

Dalam istilah biokimia, fermentasi adalah aktifitas mikroorganisme untuk memperoleh energi yang diperlukan untuk metabolisme dan pertumbuhannya melalui pemecahan atau katabolisme terhadap senyawa organik secara anaerobik. Fermentasi pada umumnya menggunakan senyawa organik yang berupa karbohidrat yang digolongkan menjadi tiga. Pertama adalah bahan pangan yang mengandung gula, seperti gula tebu, gula bit, sari buah-buahan dan lainnya. Kedua bahan tersebut mengandung pati, seperti pati dari serelia, umbi-umbian, dan lain-lain. Dan ketiga bahan yang mengandung selulosa, seperti serbuk gergaji, hasil limbah, buangan pabrik dan lain sebagainya. Selain itu, dalam proses fermentasi juga melibatkan enzim-enzim yang terdapat pada bahan baku. Enzim yang terlibat aktif dalam proses fermentasi alkohol antara lain enzim zimase atau enzim intervase yang mengubah glukosa menjadi alkohol.

Fermentasi makanan dapat dibagi menjadi dua berdasarkan sumber mikroba yang berperan dalam fermentasi, yaitu fermentasi spontan dan fermentasi tidak spontan. Fermentasi spontan adalah proses fermentasi makanan tanpa penambahan mikroorganisme seperti ragi, tetapi mikroorganisme yang berperan aktif dalam proses fermentasi berkembang biak secara spontan karena lingkungan hidupnya yang dibuat sesuai untuk pertumbuhannya. Sedangkan fermentasi tidak spontan terjadi pada makanan yang dalam pembuatannya ditambahkan mikroba dalam bentuk kultur atau starter/ragi, dimana mikroba tersebut akan berkembang

baik dan aktif mengubah bahan yang difermentasi menjadi produk yang diinginkan (Sari, 2008).

## **2.5 Mikroorganisme yang Berperan dalam Fermentasi**

Dalam pengolahan asam asetat, terjadi 2 kali fermentasi yaitu: fermentasi pembentukan alkohol dengan yeast *Saccharomyces cerevisiae* dan fermentasi perubahan alkohol menjadi asam asetat dan air dengan bakteri *Acetobacter aceti*.

### **2.5.1 *Saccharomyces cerevisiae***

*Saccharomyces cerevisiae* dapat diperoleh dari ragi roti. Ragi roti mengandung *Saccharomyces cerevisiae* yang telah mengalami seleksi, mutasi atau hibridasi untuk meningkatkan kemampuannya dalam memfermentasi gula dengan baik dalam adonan dan mampu untuk tumbuh dengan cepat. *Saccharomyces cerevisiae* dalam bentuk ragi dapat digunakan langsung sebagai inokulum untuk produksi etanol sehingga tidak diperlukan persiapan inokulum secara khusus (Umam, 2018)

*Saccharomyces cerevisiae* membutuhkan suhu 30<sup>0</sup> C dan pH 4,0-4,6 untuk berkembang. Ragi tumbuh optimal pada suhu 25-30<sup>0</sup> C dan maksimum pada 35-47°C. Nilai pH untuk pertumbuhan khamir yang baik antara 3-6. Perubahan pH dapat mempengaruhi pembentukan produk samping fermentasi. Beberapa kelebihan *Saccharomyces* dalam proses fermentasi adalah cepat berkembang biak, tahan terhadap alkohol tinggi, ketahanan terhadap suhu tinggi, stabilitas dan cepat beradaptasi. Beberapa spesies dari genus *Saccharomyces* dapat menghasilkan etanol hingga 13,01%. Hasil ini lebih bagus dibanding genus lainnya seperti *Candida* dan *Trochosporon* (Restuti, 2014).

### **2.5.2 *Acetobacter aceti***

*Acetobacter aceti* memiliki ciri-ciri bentuk sel bulat memanjang, respirasi aerobik, dapat tumbuh sampai suhu 30°C, serta mampu menghasilkan asam asetat. *Acetobacter aceti* adalah gram negatif untuk kultur yang masih muda, gram positif untuk kultur yang sudah tua, obligat aerobik, membentuk batang dalam medium asam, sedangkan dalam medium alkali berbentuk oval, bersifat non mortal dan tidak membentuk spora, tidak mampu mencairkan gelatin, tidak memproduksi

H<sub>2</sub>S, tidak mereduksi nitrat dan *thermal death point* pada suhu 65-70°C. Biasanya ukuran 0,6-0,8 x 1,0-4,0 µm. Acetobacter terdapat di beberapa buah seperti anggur dan buah-buah yang telah membusuk. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa genus Acetobacter dapat diisolasi dari suspensi campuran berupa buah cherry, apel, kurma, palm, kelapa, beberapa bunga dan masih berpotensi pada bahan-bahan yang lain (Waluyo, 1984).

Acetobacter adalah sebuah genus bakteri penghasil asam asetat, ditandai dengan kemampuannya mengubah etanol (alkohol) menjadi asam asetat (asam cuka) dengan bantuan udara. Ada beberapa bakteri dari golongan lain yang mampu menghasilkan asam asetat dalam kondisi tertentu, namun semua anggota genus Acetobacter dikenal memiliki kemampuan ini. Acetobacter dikenali dengan mudah dengan pertumbuhan koloninya di medium yang mengandung 7% etanol dan ditambahkan kalsium karbonat secukupnya untuk memburamkan medium sebagian. Ketika koloni tersebut membentuk asam asetat yang cukup, kalsium karbonat kemudian melarut sehingga terbentuk daerah bening yang jelas pada medium (Lay, 1994).

## 2.6 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Fermentasi

Faktor-faktor lingkungan yang berpengaruh penting terhadap kecepatan fermentasi asam asetat meliputi :

### a. Suhu

Suhu fermentasi mempengaruhi mikroorganisme, sampai pada suatu titik, kecepatan reaksi enzimatik mikroorganisme meningkat sejalan dengan meningkatnya suhu. Hal ini dikarenakan substrat akan bertumbukan dengan tempat aktif lebih sering karena molekul itu bergerak lebih cepat. Suhu optimum untuk fermentasi asam asetat adalah 30°C. Pada suhu 12°-15°C *Acetobacter sp* tumbuh sangat lambat, dan pada suhu 15°-34°C tumbuh normal dan optimal pada suhu 28°C-34°C.

### b. pH

pH pertumbuhan optimal adalah 6,0 dengan kisaran pH 5,0-7,0 dan etanol yang akan dioksidasi menjadi asam asetat pada pH 4,5.

### c. Konsentrasi inokulum

Kadar inokulum pada fermentasi menunjukkan pengaruh terhadap produk fermentasi. Saat inokulum meningkat, maka kerja bakteri semakin cepat untuk mengubah gula menjadi asam asetat. Semakin banyak inokulum yang ditambahkan maka semakin tinggi konsentrasi asam asetat yang dihasilkan tetapi semakin tinggi konsentrasi inokulum maka tidak akan efisien ketika proses fermentasi.

d. Waktu

Peningkatan kadar alkohol selama penyimpanan dapat terjadi setelah dua hari dan akan mencapai kadar alkohol yang tinggi pada fermentasi 144 jam. Peningkatan produksi alkohol terkait dengan fase pertumbuhan dari sel khamir. Selama fermentasi, sel khamir mengalami masa adaptasi dengan lingkungan baru yang disebut fase lag, diikuti dengan pembelahan sel atau fase logaritmik, dan kemudian terjadi tahap istirahat atau fase stasioner yaitu terjadi penurunan aktivitas sel (Sari, 2008).

e. Media (Nutrisi)

Media harus dipersiapkan dengan kandungan bahan-bahan yang memenuhi syarat, cukup untuk berkembang biak, dan cukup pula untuk diubah menjadi produk. Mikroorganisme membutuhkan unsur karbon dan nitrogen untuk berkembang biak. Unsur karbon merupakan sumber energi, sedangkan nitrogen digunakan mikroorganisme untuk mempercepat pertumbuhan selama masa fermentasi. Salah satu contoh sumber nitrogen yang digunakan adalah urea (Ngamput, 2018).

f. Konsentrasi etanol

Konsentrasi etanol yang digunakan bervariasi antara lain sebesar 12%, tidak lebih dari 7%, sebesar 5-7%, dan sebesar 8%. Oleh karena itu, konsentrasi etanol yang dibutuhkan antar 5-12%. Pada konsentrasi 14% tidak terbentuk asam asetat dengan sempurna (Wignyanto dan Hidayat, 2017).

## 2.7 Asam Asetat

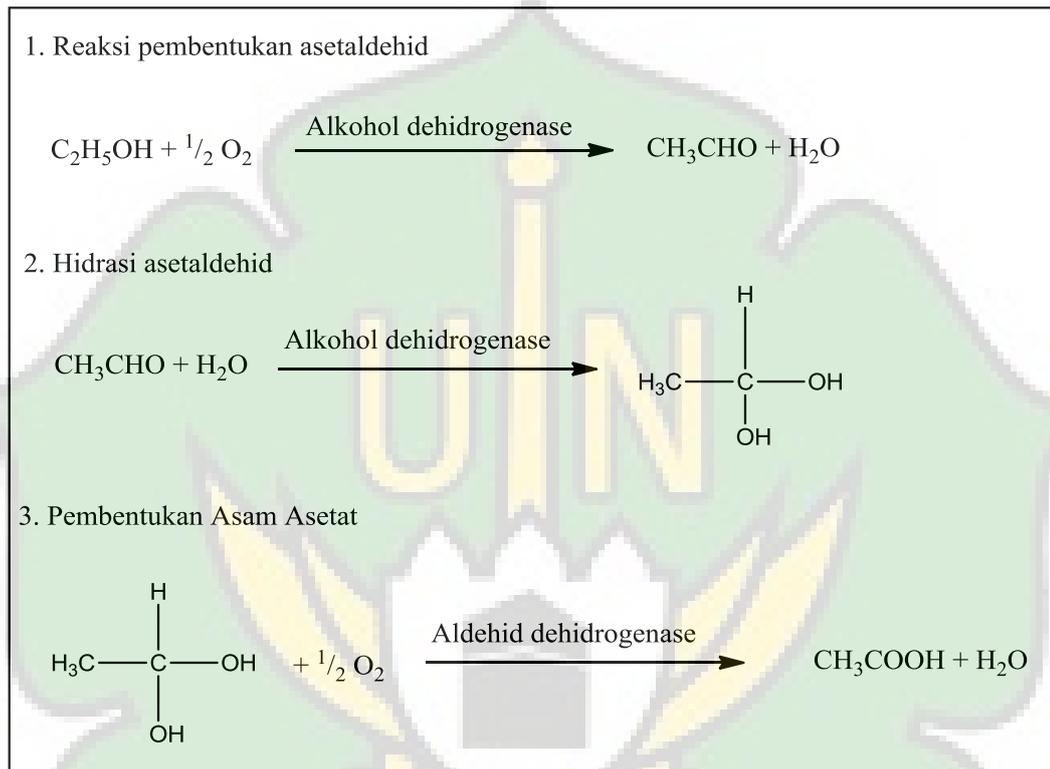
Asam asetat, asam etanoat atau asam cuka adalah senyawa kimia asam organik yang dikenal sebagai pemberi rasa asam dan aroma pada makanan. Asam

cuka memiliki rumus empiris  $C_2H_4O_2$ . Rumus ini sering ditulis dalam bentuk  $CH_3-COOH$ ,  $CH_3COOH$ , atau  $CH_3CO_2H$ . Asam asetat merupakan nama trivial atau nama dagang dari senyawa ini, dan merupakan nama yang paling dianjurkan oleh IUPAC. Nama ini berasal dari kata latin yaitu acetum, yang berarti cuka. Nama sistematis dari senyawa ini adalah asam etanoat. Asam asetat merupakan salah satu asam karboksilat paling sederhana setelah asam format. Larutan asam asetat dalam air merupakan sebuah asam lemah, artinya hanya terdisosiasi sebagian menjadi ion  $H^+$  dan  $CH_3COO^-$ . Asam asetat cair adalah pelarut protik hidrofilik (polar), mirip seperti air dan etanol. Asam asetat memiliki konstanta dielektrik yang sedang yaitu sebesar 6,2 sehingga dapat melarutkan baik senyawa polar seperti garam anorganik dan gula maupun senyawa non polar seperti minyak dan unsur-unsur seperti sulfur dan iodin. Asam asetat bercampur dengan mudah dengan pelarut polar atau nonpolar lainnya seperti air, kloroform dan heksana. Sifat kelarutan dan kemudahan bercampur dari asam asetat ini membuatnya digunakan secara luas dalam industri kimia (Setyaningrum, 2010).

Asam cuka ( $CH_3COOH$ ) adalah suatu senyawa berbentuk cairan, tidak berwarna, berbau menyengat, memiliki rasa asam yang tajam dan larut di dalam air, alkohol, gliserol, dan eter. Pada tekanan atmosferik, titik didihnya  $118,1^\circ C$ . Asam asetat tidak larut dalam karbon disulfida. Asam asetat dibuat dengan fermentasi alkohol oleh bakteri *Acetobacter*. Proses ini dilakukan pada pembuatan cuka makan. Asam asetat memiliki sifat mudah menguap diudara terbuka, mudah terbakar, dan dapat menimbulkan korosi pada logam. Asam asetat larut dalam air dengan suhu  $20^\circ C$ , etanol 9,5% pekat, dan gliserol pekat (Umar, 2017).

Pembentukan asam asetat melalui fermentasi memerlukan dua proses. Proses pertama adalah perubahan gula menjadi alkohol oleh ragi (fermentasi alkoholik). Proses kedua adalah perubahan etanol menjadi asam asetat oleh bakteri asam asetat (fermentasi oksidatif). Pada fermentasi oksidatif, starter atau bibit yang cocok harus ditambahkan untuk menyediakan jenis bakteri yang diperlukan. Starter yang baik adalah berasal dari biakan murni. Strain yang digunakan untuk menghasilkan asam asetat adalah *Acetobacter aceti* karena kemampuannya dibawah kondisi aerasi dan keasaman yang tinggi mengubah etanol secara cepat dengan hasil asam asetat tinggi (Kusmawati, 2017).

Pada tahap pertama alkohol (etanol) dioksidasi menjadi asetaldehid dan air oleh enzim alkohol dehidrogenase (ADH). Kemudian terjadi hidrasi menjadi asetaldehida hidrat dan selanjutnya dioksidasi kembali menjadi asam asetat oleh aldehid dehidrogenase (ALDH) (Sijid *et al.*, 2017). Reaksi dehidrogenase adalah reaksi yang kehilangan atom hidrogen dari suatu senyawa (donor). Hidrogen yang dilepas diterima oleh senyawa lain (akseptor) (Poedjiadi dan Supriyanti, 2005).



**Gambar 2.2** Mekanisme Reaksi dari Alkohol menjadi Asam Asetat

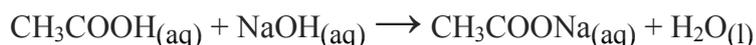
## 2.8 Metode Penentuan Kadar Asam Asetat

Penentuan kadar asam asetat dilakukan dengan titrasi asam-basa. Titrasi adalah cara penentuan konsentrasi suatu larutan dengan volume tertentu dengan menggunakan larutan yang sudah diketahui konsentrasinya dan mengukur volumenya secara pasti. Suatu larutan yang konsentrasinya diketahui disebut dengan titran sedangkan larutan yang akan dititrasi disebut titrat. Larutan asam bereaksi dengan larutan basa akan menghasilkan garam dan air. Sifat asam dan sifat basa akan hilang dengan terbentuknya zat baru yang disebut garam yang memiliki sifat berbeda dengan sifat zat asalnya. Karena hasil reaksinya adalah air yang memiliki sifat netral yang artinya jumlah ion  $\text{H}^+$  sama dengan jumlah ion

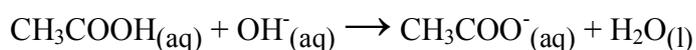
$\text{OH}^-$  maka reaksi itu disebut dengan reaksi netralisasi. Pada reaksi netralisasi, jumlah asam harus ekuivalen dengan jumlah basa. Untuk itu perlu ditentukan titik ekuivalen reaksi (Syaherias, 2009).

Titik ekuivalen adalah titik pada saat jumlah mol ion  $\text{OH}^-$  yang ditambahkan ke larutan sama dengan jumlah mol ion  $\text{H}^+$  yang semula ada. Jadi untuk menentukan titik ekuivalen dalam suatu titrasi, kita harus mengetahui dengan tepat berapa volume basa yang ditambahkan dari buret ke asam dalam labu. Salah satu cara untuk mencapai tujuan ini adalah dengan menambahkan beberapa tetes indikator asam-basa ke larutan asam saat awal titrasi. Indikator adalah zat yang memiliki perbedaan warna yang mencolok dalam medium asam dan basa. Salah satu indikator yang umum digunakan adalah fenolftalein, yang tidak berwarna dalam larutan asam dan netral, tetapi berwarna merah muda dalam larutan basa. Titik akhir titrasi terjadi ketika indikator berubah warna. Namun, tidak semua indikator berubah warna pada pH yang sama, sehingga pemilihan indikator untuk titrasi tertentu bergantung pada sifat asam dan basa yang digunakan dalam titrasi. Dengan memilih indikator yang tepat untuk titrasi, kita dapat menggunakan titik akhir untuk menentukan titik ekuivalen. Semakin jauh titik akhir titrasi dengan titik ekuivalen maka semakin besar kesalahan titrasi (Chang, 2004).

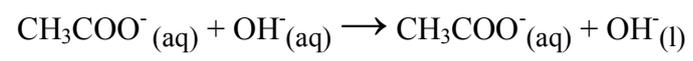
Ada beberapa jenis titrasi asam basa yaitu titrasi asam kuat-basa kuat, titrasi asam lemah-basa kuat, titrasi asam kuat-basa lemah. Titrasi yang digunakan pada penelitian ini adalah jenis titrasi asam lemah dengan basa kuat. Asam lemah yang digunakan yaitu  $\text{CH}_3\text{COOH}$  tidak dapat terionisasi dengan sempurna. Hal ini dikarenakan asam lemah tergolong kedalam larutan elektrolit lemah. Sehingga garam yang dihasilkan dalam reaksi memiliki sifat basa. Oleh karena itu, pada proses titrasi asam lemah dengan basa kuat titik ekuivalennya terjadi ketika pH campuran lebih dari 7 (Chang, 2004). Persamaan reaksi penetralan antara asam asetat (asam lemah) dan natrium hidroksida (basa kuat) :



Persamaan ini dapat disederhanakan menjadi



Ion asetat mengalami hidrolisis sebagai berikut:



## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada Februari 2021 - April 2021 di Laboratorium Multifungsi Universitas Islam Negeri Ar-Raniry Banda Aceh. Analisis GC dilakukan di Laboratorium UPTD BPSMB Aceh (Balai Pengujian Standar Mutu Barang) dan analisis FTIR dilakukan di Laboratorium Teknik Kimia Universitas Syiah Kuala Banda Aceh.

#### **3.2 Alat dan Bahan**

##### **3.2.1 Alat**

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah blender, oven, ayakan 50 mesh, ayakan 100 mesh, alat-alat gelas (pyrex), penangas air, *hot plate*, inkubator, seperangkat alat distilasi, seperangkat alat GC-FID (*Gas Chromatography*) Shimadzu tipe QP2010 ultra, Spektrofotometer FTIR (*Fourier Transform Infra Red*) Shimadzu tipe IRPrestige-21, timbangan analitik, seperangkat alat titrasi, pH meter HANNA, shaker, magnetic stirrer, autoklaf, *laminar air flow*, botol fermentor, selang karet, jarum ose, kertas saring, dan cawan porselin.

##### **3.2.2 Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah rumput laut *Gracilaria sp.* yang diperoleh dari tambak Desa Neuhén, akuades, natrium hidroksida (NaOH) 0,01 M; 10%; dan 0,1 N, asam klorida (HCl) 1%, ragi roti merk fermipan, ragi tape, gula pasir, urea, pupuk NPK, indikator fenolftalein (PP), *Nutrien Broth* (NB), dan biakan *Acetobacter aceti* FNCC 0016 diperoleh dari Lab PSPG UGM.

#### **3.3 Prosedur Kerja**

##### **3.3.1 Preparasi Sampel**

Rumput laut *Gracilaria sp.* diambil dari tambak Desa Neuhun sebanyak 3 kg. Sebelum diberi perlakuan awal sampel rumput laut dicuci dengan air tawar untuk menghilangkan kotoran-kotoran yang masih menempel di permukaan tubuhnya. Sampel kemudian dikeringkan dengan sinar matahari selama 2-3 hari. Sampel kering dipotong dengan ukuran 1-2 cm, dihaluskan dengan blender hingga menjadi serbuk kasar dan dioven dengan suhu 60°C selama 4 jam. Serbuk kasar rumput laut *Gracilaria sp.* yang telah kering diblender kembali hingga menjadi serbuk halus kemudian diayak menggunakan pengayak berukuran 50 mesh. Serbuk rumput laut *Gracilaria sp.* yang lolos ayakan 50 mesh dipakai sebagai sampel untuk perlakuan selanjutnya (Habibah, 2015).

### 3.3.2 Proses *Pretreatment* (Delignifikasi)

Proses pretreatment (delignifikasi) dilakukan dengan menggunakan 350 gram serbuk rumput laut *Gracilaria sp.* ditambah NaOH 0,01 M hingga terendam semua. Proses perendaman dilakukan selama 24 jam. Setelah 24 jam disaring dan residu dicuci dengan air panas hingga netral dan dikeringkan di oven pada suhu 105°C. Residu kering digerus dalam cawan porselin kemudian diayak dengan ayakan 100 mesh. Residu hasil delignifikasi dengan ukuran 100 mesh siap digunakan untuk proses hidrolisis (Habibah, 2015).

### 3.3.3 Proses Hidrolisis Asam

Sebanyak 30 gram tepung rumput laut ditambahkan 300 mL HCl 1% kemudian hidrolisis dengan *hot plate* pada suhu 121°C selama 60 menit. Setelah dihidrolisis pH media diatur hingga 5 dengan menambahkan NaOH 10%. Penambahan NaOH juga dimaksudkan untuk detoksifikasi kandungan toksik yang dihasilkan selama proses hidrolisis (Ngamput, 2018).

### 3.3.4 Penyiapan Starter

Starter yang digunakan adalah ragi roti komersil dengan merk Fermipan dan ragi tape yang masing-masingnya ditumbuhkan dalam media pertumbuhan. Media pertumbuhan terdiri dari 100 mL akuades steril yang ditambahkan dengan 10 gram gula pasir yang disiapkan di dalam erlenmeyer ukuran 125 mL. Selain itu,

sebanyak 0,4 g/l urea dan 0,5 g/l NPK ditambahkan pada masing-masing media sebagai nutrisi mikroorganisme. Setelah semua bahan dimasukkan, kemudian dihomogenkan terlebih dahulu menggunakan *magnetic stirrer* selama 10 menit kemudian disterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah dingin, sampai kira-kira mencapai suhu 30-33°C, sebanyak 5% (b/v) ragi roti (merk fermipan) dan 5% (b/v) ragi tape dimasukkan ke dalam masing-masing media. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam dalam inkubator (Ngamput, 2018).

### 3.3.5 Produksi Alkohol

Masing-masing bubur rumput laut yang telah dihidrolisis ditambahkan dengan 10% (v/v) starter ragi roti dan starter ragi tape secara aseptis kemudian diaduk menggunakan shaker selama 10 menit. Selanjutnya erlenmeyer dihubungkan dengan selang karet. Ujung selang dimasukkan ke dalam air agar tidak terjadi kontak langsung dengan udara. Selanjutnya difermentasikan selama 3 hari pada suhu ruang. Kemudian disaring dan diambil filtratnya untuk proses distilasi. Proses distilasi dilakukan dengan memasukkan hasil fermentasi dalam labu alas bulat dan labu distilat dipasang pada alat distilasi. Sampel didistilasi pada suhu 78-80°C hingga teruapkan semua atau tidak ada cairan yang menetes. Kemudian distilat dimasukkan dalam botol siap untuk dianalisis dengan menggunakan GC (Ngamput, 2018).

### 3.3.6 Analisis Kadar Etanol

Alat kromatografi gas dengan detektor FID dikondisikan dengan suhu kolom pada 170°C, suhu injektor pada 210°C, suhu detektor pada 250°C dengan gas pembawa berupa N<sub>2</sub> dengan kecepatan alir gas 0,5 bar dan H<sub>2</sub> dengan kecepatan alir pada 0,65 bar. Kemudian deret standar etanol dibuat dengan konsentrasi 0,2%; 0,4%; 1%; dan 2%, dengan cara mengencerkan etanol p.a menggunakan akuades. Standar tersebut dianalisa dengan cara menginjeksikan 1 µL larutan standar tersebut ke alat kromatografi gas sehingga diperoleh data luas area dari masing masing standar. Lalu dilakukan analisa terhadap sampel dengan mengambil 1µL sampel yang sudah dilakukan preparasi sebelumnya diambil

menggunakan syring khusus untuk kromatografi gas. Sampel diinjeksikan ke kolom GC lewat *heated injection port* dengan sistem yang sudah dioptimasi. Hasil analisis diperoleh berupa kromatogram yang berisi waktu retensi dan luas area, kemudian dibuat kurva kalibrasi dengan memplotkan luas area dengan konsentrasi standar etanol yang digunakan. Kadar bioetanol sampel dihitung dengan cara memplotkan *peak* area terhadap konsentrasi etanol standar hingga diperoleh persamaan garis  $y = ax + b$  dimana  $y$  merupakan luas area dan  $x$  merupakan kadar sampel (Febrina, 2020).

### **3.3.7 Persiapan Inokulum *Acetobacter aceti***

#### **3.3.7.1 Pembuatan Media Cair Aktivasi**

Sebanyak 1,3 gram media NB (nutrient broth) dilarutkan dalam 100 mL akuades panas kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Nurismanto *et al.*, 2014).

#### **3.3.7.2 Pembuatan Inokulum**

- a. Biakan murni *Acetobacter aceti* sebanyak 9 ose diinokulasikan dalam 10 mL media NB secara aseptis kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C.
- b. 10 mL dalam media NB tersebut dimasukkan ke dalam erlenmeyer berisi 100 mL media NB secara aseptis, diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C (Nurismanto *et al.*, 2014).

### **3.3.8 Pembuatan Asam Asetat**

Bioetanol ditambahkan inokulum *Acetobacter aceti* masing-masing 5%, 10%, dan 15%. Fermentasi dilakukan selama 7, 10, dan 13 hari. Kemudian dianalisis kadar asam dan pH.

### **3.3.9 Analisis Kualitatif dengan FTIR**

Sampel ditempatkan pada *plat holder* pada alat FTIR. Sampel diidentifikasi pada interval bilangan gelombang 400-4000  $\text{cm}^{-1}$ . Setelah proses scan selesai maka akan ditampilkan gambar gelombang dari spektrum yang dihasilkan.

Analisis FTIR bertujuan untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat di dalam sampel.

### 3.3.10 Analisis Kadar Asam Asetat

- a. Dipipet sebanyak 10 mL larutan asam asetat rumput laut *Gracilaria sp.* terfermentasi
- b. Dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL
- c. Ditambahkan akuades hingga volumenya 100 mL, kemudian dimasukkan pada labu erlenmeyer
- d. Dipipet sampel uji tersebut sebanyak 25 mL dan dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer lainnya
- e. Ditambahkan 2-3 tetes larutan indikator PP (fenolftalein), kemudian dititrasi sampel dengan larutan NaOH 0,1 N
- f. Dicatat jumlah volume NaOH yang digunakan hingga berubah warna menjadi merah muda.

### 3.3.11 Analisis pH

Asam asetat yang dihasilkan oleh rumput laut *Gracilaria sp.* diukur pH dengan alat pH meter

**BAB IV**  
**HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN**

**4.1 Data Hasil Penelitian**

**4.1.1 Penentuan Rendemen Bioetanol *Gracilaria sp.***

Berdasarkan hasil pemurnian bioetanol dengan distilasi diperoleh nilai rendemen bioetanol seperti pada tabel berikut:

**Tabel 4.1** Rendemen Bioetanol *Gracilaria sp.*

No	Sampel	Rendemen Bioetanol (%)
1	Bioetanol <i>Gracilaria sp.</i> dengan ragi roti	37,5
2	Bioetanol <i>Gracilaria sp.</i> dengan ragi tape	29,23

**4.1.2 Penentuan Kurva Kalibrasi Standar Etanol**

Adapun hasil pengukuran standar etanol 0,2; 0,4; 1 dan 2% menggunakan GC-FID diperoleh data seperti pada tabel berikut:

**Tabel 4.2** *Peak Area* Standar Etanol 0,2-2% menggunakan GC-FID

Sampel	<i>Peak Area</i>
Etanol 0,2 %	587196
Etanol 0,4%	1088467
Etanol 1%	2673848
Etanol 2%	6666151

**4.1.3 Penentuan Kadar Alkohol *Gracilaria sp.***

Adapun hasil pengukuran sampel bioetanol *Gracilaria sp.* menggunakan GC-FID diperoleh data seperti pada tabel berikut:

**Tabel 4.3** *Peak Area* Bioetanol *Gracilaria sp.* menggunakan GC-FID

Sampel	Waktu Retensi (menit)	<i>Peak Area</i>	Kadar Etanol (%)
Bioetanol <i>Gracilaria sp.</i> dengan ragi roti	4,599	23799687	7,108
Bioetanol <i>Gracilaria sp.</i> dengan ragi tape	4,563	5032531	1,572

**4.1.4 Penentuan Gugus Fungsi Asam Asetat**

Berdasarkan hasil karakterisasi FTIR (*Fourier Transform Infra Red*) pada asam asetat dari rumput laut *Gracilaria sp.* diperoleh data seperti pada tabel berikut:

**Tabel 4.4** Hasil FTIR Asam Asetat

No.	Gugus Fungsi	Bilangan Gelombang (cm <sup>-1</sup> )	
		Asam Asetat Hasil Penelitian	Asam Asetat (Silverstein <i>et al</i> , 2005)
1.	Ulur C-O	1249	1290,38
2.	Ulur C=O	1635,64	1730,15
3.	Ulur O-H	3248,13	3589,53

#### 4.1.5 Penentuan Kadar Asam Asetat berdasarkan Waktu Fermentasi dan Konsentrasi *Acetobacter aceti*

Berdasarkan hasil penelitian pengaruh konsentrasi *Acetobacter aceti* dan waktu fermentasi terhadap kadar asam asetat dari bioetanol rumput laut *Gracilaria sp.* dengan ragi roti diperoleh data sebagai berikut:

**Tabel 4.5** Hasil Analisis Kadar Asam Asetat dan pH

Konsentrasi <i>Acetobacter aceti</i> (%)	Waktu Fermentasi	Kadar CH <sub>3</sub> COOH (%)	pH
5	7 hari	0,032	6,4
5	10 hari	0,074	6,3
5	13 hari	-	-
10	7 hari	0,223	6,1
10	10 hari	0,380	5,5
10	13 hari	-	-
15	7 hari	0,181	6,2
15	10 hari	0,199	6,1
15	13 hari	-	-

Keterangan : (-) tidak terbentuk asam asetat

## 4.2 Pembahasan

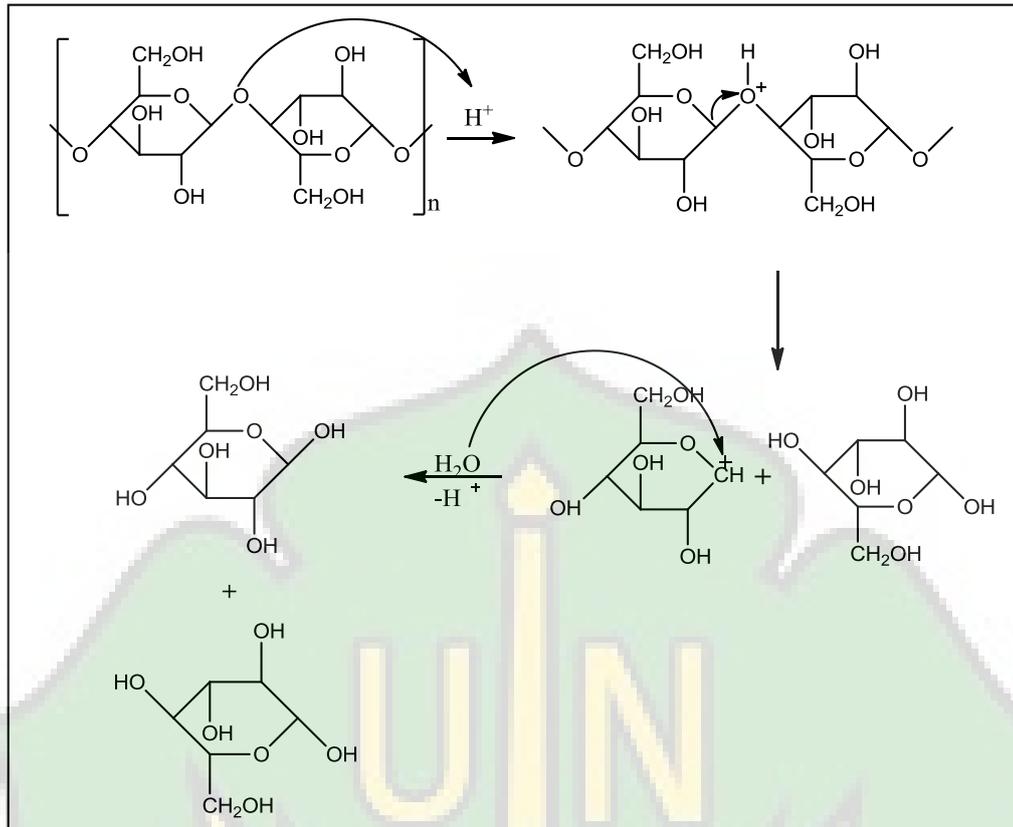
Tahapan awal yang dilakukan adalah preparasi sampel. Pada tahap ini, diambil rumput laut sebanyak 3 kg dan dicuci dengan air untuk menghilangkan kotoran-kotoran yang menempel. Selanjutnya dilakukan pengeringan dibawah sinar matahari untuk mempermudah proses penghalusan dan juga untuk menghilangkan kadar air. Rumput laut yang telah kering, dipotong dengan ukuran 1-2 cm dan dihaluskan dengan blender. Tahap tersebut dilakukan untuk mendapatkan serbuk kasar. Serbuk kasar dikeringkan di oven pada suhu 60°C selama 4 jam. Semakin tinggi suhu pengeringan maka semakin banyak air diuapkan dari suatu bahan sehingga berat sampel akhir yang dihasilkan semakin

berkurang dan kadar air yang dihasilkan rendah. Tetapi jika suhu yang pengeringan terlalu tinggi juga tidak baik karena akan menyebabkan rusaknya senyawa-senyawa yang terdapat pada sampel rumput laut. Setelah rumput laut kering sempurna, dilanjutkan dengan diblender kembali serbuk kasar tersebut yang menghasilkan serbuk halus. Selanjutnya serbuk tersebut diayak dengan menggunakan ayakan 50 mesh untuk mendapatkan serbuk yang lebih halus sehingga akan memberi pengaruh pada reaksi yang terjadi. Hal ini sesuai dengan teori Aiman (2016), ukuran partikel yang lebih kecil menyebabkan luas permukaan kontak menjadi lebih besar. Luas permukaan yang besar menyebabkan laju reaksi semakin cepat.

Delignifikasi adalah tahap awal yang dilakukan untuk pembebasan senyawa lignin sehingga akan mempermudah dalam proses hidrolisis. Lignin salah satu bagian dari lignoselulosa. Lignoselulosa adalah komponen polisakarida yang terdiri dari tiga polimer yaitu selulosa, hemiselulosa dan lignin. Lignin dapat menghambat kerja enzim karena berikatan dengan selulosa, sehingga proses hidrolisis selulosa tidak dapat berjalan karena masih adanya senyawa lignin (Zhao *et al.*, 2020). Serbuk rumput laut direndam selama 24 jam dengan larutan NaOH 0,01 M. Lignin akan larut dalam pelarut basa. NaOH akan merusak struktur selulosa dalam bentuk lainnya seperti beta selulosa dan gamma selulosa. Akan tetapi, alfa selulosa tidak dapat dirusak karena tidak larut dalam larutan NaOH. Sebelumnya NaOH memiliki pH 12, setelah serbuk rumput laut direndam selama 24 jam pH larutan NaOH menjadi 8. Kemudian dicuci dengan menggunakan akuades panas, pH menjadi 7 atau netral. Tujuan dicuci dengan air panas untuk menghilangkan sisa pelarut sehingga lignin akan terurai. Hal ini sesuai teori Visca *et al* (2020) dengan suhu yang tinggi akan menyebabkan lignin terurai dan terlepas dari selulosa. Residu yang sudah memiliki pH 7, dikeringkan di oven pada suhu 105°C. Setelah kering digerus dengan cawan porselin dan diayak dengan ayakan 100 mesh. Diayak untuk mendapatkan tepung rumput laut yang digunakan pada proses hidrolisis.

Tepung rumput laut yang telah dilakukan perlakuan delignifikasi kemudian dihidrolisis dengan larutan HCl 1% sebanyak 300 mL. Hidrolisis dilakukan dengan menggunakan *hot plate* pada suhu 121°C selama 60 menit. Prinsip

hidrolisis yaitu memecah rantai polimer menjadi monomer-monomer yang lebih sederhana dengan menggunakan katalis. Pemutusan rantai polimer tersebut menggunakan larutan HCl yang berperan sebagai katalisator. Rantai polimer yang dimaksud yaitu selulosa dan hemiselulosa diubah menjadi monosakarida yang selanjutnya akan digunakan sebagai substrat pada saat fermentasi menjadi etanol. Pada saat hidrolisis terjadi, HCl akan membentuk gugus  $H^+$  dan  $Cl^-$ . Ion  $H^+$  dari asam yang berikatan dengan  $H_2O$  membentuk  $H_3O^+$  akan memecah ikatan glikosida pada selulosa maupun hemiselulosa. Sehingga akan terbentuk monomer-monomer gula sederhana. Mekanisme yang terjadi yaitu proton dari asam akan berinteraksi secara cepat dengan ikatan glikosida pada dua unit glukosa sehingga akan membentuk asam konjugasi. Keberadaan asam konjugasi menyebabkan konformasi tidak stabil sehingga terjadi pemutusan ikatan C-O dan membebaskan asam konjugasi pada konformasi yang tidak stabil. Keberadaan air pada sistem akan menyebabkan  $OH^-$  dari air berikatan dengan ion karbonium sehingga membebaskan glukosa dan proton. Proton yang terbentuk akan berinteraksi secara cepat dengan ikatan glikosida oksigen pada dua unit glukosa yang lain. Proses tersebut terjadi secara kontinyu hingga molekul selulosa terhidrolisis menjadi glukosa (Balat *et al.*, 2008). Mekanisme reaksi hidrolisis asam dapat dilihat pada Gambar 4.1



**Gambar 4.1** Mekanisme Reaksi Hidrolisis Asam

Pada penelitian ini digunakan asam encer dengan konsentrasi yang rendah karena kandungan air nya yang tinggi akan membentuk glukosa yang banyak. Jika menggunakan konsentrasi asam yang tinggi, maka kandungan air nya lebih rendah karena ion  $OH^-$  tidak dapat mengikat radikal bebas sehingga glukosa yang dihasilkan juga sedikit. Hal ini sesuai dengan teori Ahmad *et al* (2020), penambahan konsentrasi asam yang lebih pekat menghasilkan kadar glukosa yang rendah karena kandungan air nya sedikit sehingga kebutuhan  $OH^-$  (dari ionisasi  $H_2O$ ) untuk mengikat karbonium pada proses hidrolisis lebih sedikit.

Hasil hidrolisis asam yang disebut dengan hidrolisat asam ditandai dengan larutan berwarna coklat muda yang menandakan belum terjadi degradasi sempurna hemiselulosa dan selulosa menjadi glukosa. Menurut Erna *et al* (2016) hidrolisis sempurna selulosa menjadi glukosa ditandai dengan filtrat berwarna coklat tua. Hidrolisat asam mempunyai pH yang sangat rendah yaitu 1. Dengan kondisi pH tersebut, tidak bisa langsung digunakan sebagai substrat fermentasi. Karena akan mempengaruhi dari bakteri *Saccharomyces cerevisiae* yang digunakan. Bakteri tersebut dapat hidup pada pH 3-6. Oleh karena itu diatur pH

media hingga 5 dengan menambahkan sedikit demi sedikit larutan NaOH 10%. Penambahan NaOH juga berfungsi untuk detoksifikasi hasil dari hidrolisis. Dengan adanya detoksifikasi mempermudah proses fermentasi karena dapat mengurangi senyawa-senyawa yang bersifat toksik. Hal ini sesuai dengan teori Fuadi *et al* (2015) perlakuan detoksifikasi larutan hasil hidrolisis dilakukan untuk menaikkan pH dan menghilangkan senyawa-senyawa yang bersifat racun dalam fermentasi.

Sebelum difermentasi, digunakan ragi roti dan ragi tape sebagai starter. Starter adalah bahan yang digunakan pada tahap awal fermentasi. Masing-masing ragi dibuat dalam media pertumbuhan. Media pertumbuhan yang digunakan yaitu akuades steril, gula pasir, urea dan NPK. Urea dan NPK berfungsi sebagai nutrisi mikroorganisme agar dapat hidup. Semua bahan dicampur hingga homogen, kemudian dilakukan sterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Tujuan disterilisasi adalah untuk mematikan, menghambat pertumbuhan dan menghilangkan semua mikroorganisme yang ada pada alat dan bahan yang akan digunakan sehingga menjadi aseptis. Setelah itu, sebanyak 5% (b/v) ragi roti dan 5% (b/v) ragi tape dimasukkan ke dalam masing-masing media. Kemudian diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam dalam inkubator. Penggunaan inkubator yaitu agar bakteri akan tetap hidup dengan baik pada suhu dan kelembaban selama masa inkubasi tersebut.

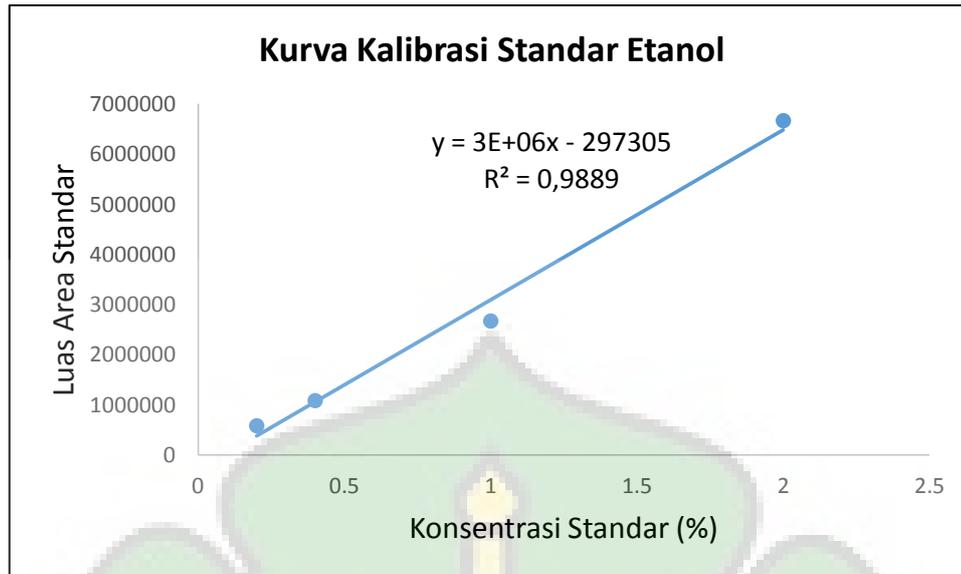
Bakteri akan melakukan empat fase yaitu fase lag, fase log, fase stasioner dan fase kematian. Fase lag dimana bakteri akan beradaptasi dengan kondisi lingkungannya kemudian memasuki fase log yang mana pertumbuhan bakteri cepat yaitu setiap sel akan membelah menjadi dua. Lalu pada fase stasioner terjadi laju pertumbuhan bakteri sama dengan laju kematiannya, sehingga jumlah populasi organisme ini akan tetap. Dan fase kematian menunjukkan laju kematian lebih tinggi daripada laju pertumbuhan. Pertumbuhan bakteri sangat bergantung kepada suhu, kelembaban, nutrisi dan cahaya. Jika nutrisi yang tersedia sedikit, maka gula akan tersisa pada akhir fermentasi dan dapat menurunkan efisiensi fermentasi. Kekurangan nutrisi pada media ini merupakan penyebab melambat atau terhentinya fermentasi (Umam, 2018). Bakteri *Saccharomyces cerevisiae* memiliki suhu optimum 30-35°C. Pada suhu tersebut sel bakteri memperbanyak

diri dan tumbuh sangat cepat. Sedangkan pada suhu yang lebih rendah atau lebih tinggi, masih dapat memperbanyak diri, tetapi dalam jumlah yang lebih kecil dan tidak secepat jika dibandingkan dengan pertumbuhan pada suhu optimalnya (Yuda *et al.*, 2018).

Bubur makroalga yang telah dihidrolisis selanjutnya diberi perlakuan dengan menambahkan starter ragi roti dan starter ragi tape yang telah diinkubasi selama 24 jam. Fermentasi dilakukan pada suhu ruang selama 3 hari dalam keadaan anaerob. Erlenmeyer yang telah terisi starter ragi roti dan starter ragi tape dihubungkan dengan selang, yang ujung selangnya dimasukkan pada gelas kimia yang berisi air. Digunakan selang sebagai jalan keluar CO<sub>2</sub> hasil fermentasi ditandai dengan adanya gelembung pada air. Pada hari kedua fermentasi, terlihat bahwa adanya gelembung-gelembung pada air yang terhubung dengan selang. Hal ini menandakan bahwa proses fermentasi berjalan dengan baik, karena terbukti timbulnya gelembung-gelembung gas.

Setelah difermentasi selama 3 hari, terbentuk 2 lapisan yaitu larutan hasil fermentasi pada lapisan atas sedangkan endapan rumput laut pada lapisan bawah. Sehingga perlu dilakukan penyaringan untuk memisahkan hasil fermentasi tersebut. Tahap selanjutnya adalah distilasi. Distilasi adalah salah satu teknik pemurnian berdasarkan perbedaan titik didih larutan. Distilasi dilakukan dengan tujuan untuk memurnikan bioetanol yang didapatkan. Proses distilasi dilakukan pada suhu 78-80°C karena etanol memiliki titik didih 78,4°C. Pemilihan suhu sangat penting pada tahap didestilasi, karena akan berpengaruh pada destilat. Destilasi yang dilakukan memerlukan waktu sampai 8 jam. Destilat yang dihasilkan adalah larutan yang tidak berwarna, mudah menguap, dan berbau khas alkohol. Rendemen bioetanol yang diperoleh dari ragi roti adalah 37,5% sedangkan bioetanol dengan menggunakan ragi tape adalah 29,23%.

Destilat yang diperoleh kemudian dilakukan uji secara kuantitatif dengan menggunakan alat kromatografi gas dengan detektor yang digunakan yaitu FID. Kurva kalibrasi standar etanol yang digunakan yaitu 0,2; 0,4; 1; dan 2%. Berikut kurva kalibrasi standar etanol disajikan pada gambar 4.2



**Gambar 4.2** Kurva Kalibrasi Standar Etanol

Kurva kalibrasi adalah hubungan antara respon instrumen dan konsentrasi sampel yang sudah diketahui. Dari kurva kalibrasi tersebut didapatkan persamaan garis yang menyatakan hubungan antara konsentrasi dan luas area. Fungsi dari kurva kalibrasi adalah untuk menentukan konsentrasi suatu zat dalam suatu sampel yang tidak diketahui dengan membandingkan yang tidak diketahui kedalam seperangkat sampel standar yang konsentrasinya telah diketahui (Rohman, 2014).

Hasil analisis kuantitatif dengan GC berupa puncak yang disebut dengan kromatogram. Puncak yang dihasilkan tersebut berdasarkan waktu retensi dan luas area. Luas area sampel mendekati dengan luas area standar menandakan bahwa sampel mengandung etanol. Hal ini ditandai dengan luas area standar yaitu 587196-6666151 dan luas area sampel yaitu 5032531-23799687. Dari luas area tersebut dapat ditentukan kadar etanol. Kadar bioetanol yang diperoleh pada bioetanol dengan ragi tape yaitu 1,572% sedangkan bioetanol dengan ragi roti yaitu 7,108%. Kadar etanol yang dihasilkan dari fermentasi ini masih lebih rendah dibandingkan dengan hasil penelitian Ngamput (2018) yang menggunakan ragi roti dan ragi tape dalam memfermentasi rumput laut hijau *Ulva lactuca* menjadi etanol dengan kadar etanol 13,17%. Rendahnya kadar etanol diduga karena proses hidrolisis asam yang belum sempurna dan juga berpengaruh pada penggunaan ragi roti dan ragi tape secara bersamaan.

Dengan menggunakan ragi roti kadar bioetanol yang dihasilkan lebih baik dibandingkan ragi tape yang hanya menghasilkan kadar bioetanol sebesar 1,572%. Hal ini disebabkan oleh pengaruh dari kedua ragi tersebut. Ragi roti memiliki kemampuan memfermentasi gula dengan baik karena telah mengalami seleksi dan mutasi. Sedangkan ragi tape masih mengandung campuran dari genus-genus lainnya. Seperti yang dikemukakan oleh Walker dan Stewart (2016) *S. cerevisiae* dianggap sebagai ragi yang dapat dengan mudah difermentasi glukosa, fruktosa, manosa, galaktosa, sukrosa, maltosa dan maltotriosa menjadi etanol dan karbon dioksida. Sedangkan menurut Maryana *et al* (2020) ragi roti lebih optimal digunakan untuk fermentasi dalam waktu singkat. Ragi roti merupakan khamir jenis *Saccharomyces cerevisiae* yang telah diseleksi sebelumnya untuk tujuan komersil. Sedangkan ragi tape kurang optimal, karena disebabkan ragi yang digunakan bukanlah biakan murni melainkan campuran dari genus-genus yang memiliki spesies seperti *Aspergillus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida*, *Hansenula* dan *Acetobacter*.

Penelitian yang dilakukan oleh Mukti dan Aryani (2016) dalam pembuatan bioetanol dari buah kersen menghasilkan kadar bioetanol dari ragi roti adalah 2,51% sedangkan dengan ragi tape persentase kadar bioetanol sebesar 1,69%. Kadar bioetanol yang didapatkan dipengaruhi oleh gula reduksi yang dihasilkan. Kadar gula reduksi mengalami penurunan ketika fermentasi, karena sel *Saccharomyces cerevisiae* akan terus dimanfaatkan untuk pertumbuhan sel dan pembentukan etanol. Semakin banyak gula reduksi yang dimanfaatkan oleh sel *Saccharomyces cerevisiae* maka konsentrasi etanol yang dihasilkan semakin tinggi dan sebaliknya semakin sedikit gula reduksi yang dimanfaatkan maka konsentrasi etanol yang dihasilkan semakin rendah (Putri *et al.*, 2016). Selain itu waktu fermentasi juga berpengaruh terhadap kadar etanol yang dihasilkan. Dalam penelitian ini waktu fermentasi adalah 3 hari sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Adini *et al* (2015) adalah 5 hari. Fermentasi yang terlalu lama mengakibatkan fasa dari bakteri tersebut telah melampaui dari fase eksponensial, yang mana fase eksponensial ditandai dengan terjadinya pembelahan sel yang cepat. Akibat terlalu lama waktu fermentasi, maka tidak akan terjadi lagi pembelahan sel dan jumlah nutrisi juga akan semakin berkurang, sehingga etanol yang dihasilkan akan

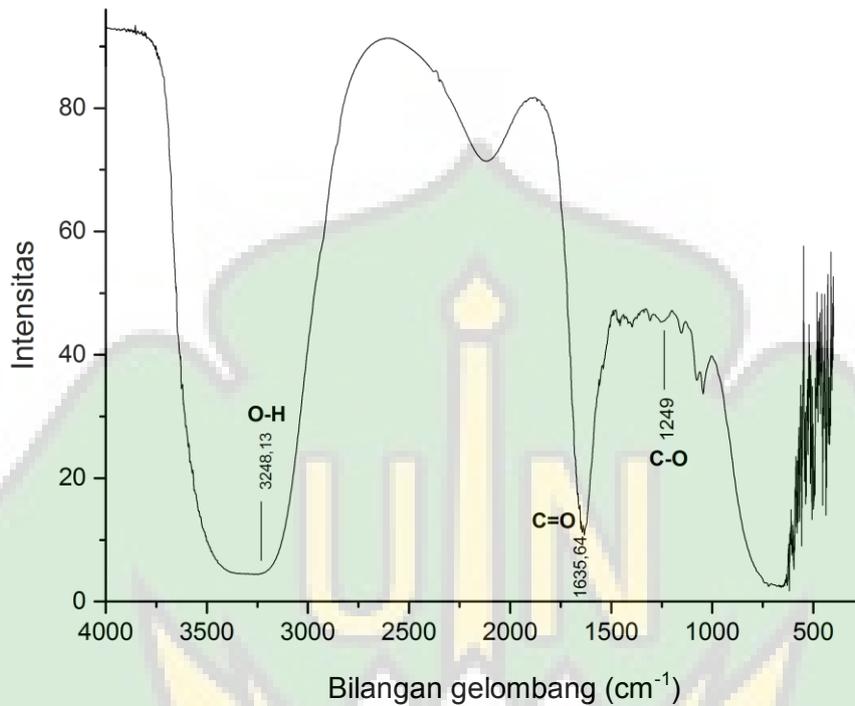
berkurang. Fasa eksponensial *Saccharomyces cerevisiae* adalah 36-72 jam. Proses fermentasi yang dilakukan 5 hari (120 jam), sudah melewati fasa eksponensial. Oleh karena itu, hal tersebut salah satu faktor yang menyebabkan kadar etanol yang dihasilkan lebih kecil dibandingkan pada penelitian ini. Diantara bioetanol ragi roti dan ragi tape dipilih bioetanol dari ragi roti untuk perlakuan selanjutnya karena memiliki kadar etanol yang tinggi.

Bioetanol dengan kadar 7% digunakan sebagai substrat dalam fermentasi asam asetat. Pada pembuatan asam asetat, konsentrasi alkohol akan mempengaruhi hasil akhir. Dengan kandungan alkohol yang tinggi tidak dapat membentuk asam asetat, karena akan menghambat kerja dari bakteri *Acetobacter aceti*. Hal ini sesuai dengan teori Patel dan Pandya (2015) konsentrasi alkohol terlalu tinggi menyebabkan hal yang tidak diinginkan yaitu dapat meningkatkan jumlah *Acetobacter* yang mati. Akan tetapi dengan konsentrasi alkohol yang rendah, juga tidak dapat membentuk asam asetat yang sempurna. Melainkan akan teroksidasi menjadi H<sub>2</sub>O dan CO<sub>2</sub>. Konsentrasi alkohol yang optimal pada pembuatan asam asetat yaitu 10-13%.

Pada proses fermentasi asam asetat substrat bioetanol tersebut ditambahkan dengan inokulum *Acetobacter aceti*. Pembuatan inokulum tersebut yaitu dibuat media cair aktivasi dengan melarutkan *Nutrien Broth* (NB) dengan akuades. Fungsi media cair aktivasi ini agar biakan bakteri murni *Acetobacter aceti* dapat mengalami pertumbuhan. Selanjutnya media NB tersebut dilakukan sterilisasi selama 15 menit. Lalu biakan murni *Acetobacter aceti* diinokulasikan ke dalam 10 mL media NB dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Setelah 48 jam, 10 mL media NB tersebut diinokulasikan ke dalam 100 mL media NB dan diinkubasi kembali selama 48 jam pada suhu 37°C. Hasil dari inkubasi ini disebut sebagai inokulum.

Bioetanol ditambahkan inokulum *Acetobacter aceti* dengan konsentrasi yang berbeda-beda, yaitu 5, 10 dan 15%. Masing-masing konsentrasi inokulum tersebut dilakukan fermentasi selama 7, 10 dan 13 hari. Setelah fermentasi, asam asetat dilakukan uji kualitatif dengan menggunakan FTIR. Penggunaan FTIR bertujuan untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat pada sampel. Hasil

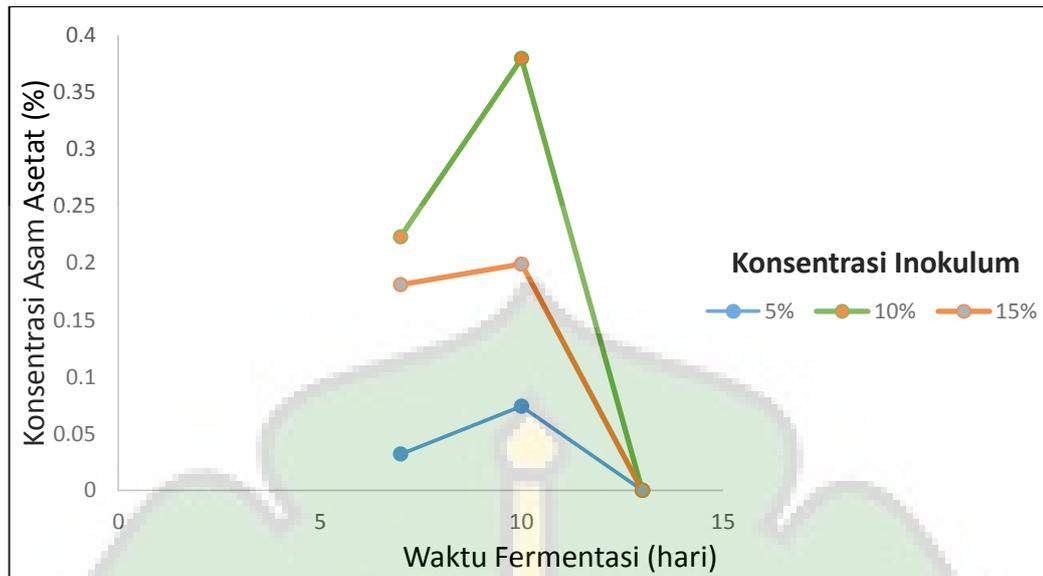
pembacaan spektrum sampel asam asetat yaitu pada panjang gelombang antara  $4000\text{ cm}^{-1}$  sampai  $400\text{ cm}^{-1}$  dapat dilihat pada Gambar 4.3



**Gambar 4.3** Spektra FTIR Asam Asetat Rumput Laut *Gracilaria sp.*

Berdasarkan dari hasil pengujian yang dilakukan, dari sampel asam asetat rumput laut *Gracilaria sp.* terdeteksi mengandung gugus fungsi O-H ditunjukkan adanya pita melebar pada daerah bilangan gelombang  $3000\text{--}3500\text{ cm}^{-1}$  yang merupakan keberadaan dari gugus hidroksil, tepatnya daerah serapan pada panjang gelombang  $3248,13\text{ cm}^{-1}$ . Pada daerah bilangan gelombang  $1635,64\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan adanya vibrasi ulur gugus C=O. Selain dua gugus tersebut, terdapat juga uluran C-O yang muncul diantara  $1320\text{--}1210\text{ cm}^{-1}$ , yaitu  $1249\text{ cm}^{-1}$ . Dari hasil tersebut dapat dinyatakan pada sampel terbentuk asam asetat, karena adanya gugus pembentuk asam asetat yaitu O-H, C=O dan C-O.

Penentuan kadar asam asetat ditentukan dengan titrasi asam basa. Titrasi asam basa adalah suatu metode penentuan kadar suatu larutan basa dengan larutan asam yang diketahui kadarnya atau sebaliknya. Asam asetat dititrasi dengan menggunakan larutan NaOH 0,1 N. Hasil kadar asam asetat dan waktu fermentasi hasil perlakuan terbaik disajikan pada gambar 4.4



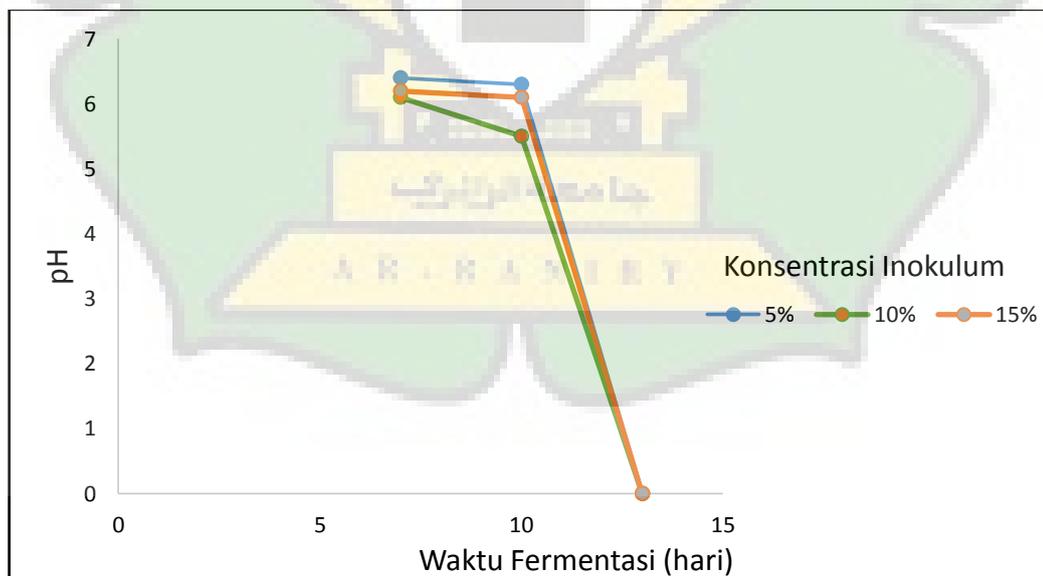
**Gambar 4.4** Hubungan Antara Konsentrasi Inokulum dan Waktu Fermentasi terhadap Kadar Asam Asetat

Hasil kadar asam asetat dari rumput laut berkisar antara 0,032 – 0,380%. Pada gambar 4.4 menunjukkan bahwa pada hari ke-7 dan hari ke-10 terjadi peningkatan kadar asam asetat. Dibuktikan pada konsentrasi 5%, pada hari ke-7 menghasilkan 0,032% dan pada hari ke-10 menghasilkan 0,074%. Sama halnya juga pada konsentrasi 10% dan 15% mengalami peningkatan kadar asam asetat. Sedangkan pada hari ke-13, tidak terbentuk asam asetat. Karena pada botol fermentor ditandai dengan tumbuhnya jamur yang berwarna hitam dan alkohol sebagai substrat telah habis, artinya tidak ada lagi proses perombakan substrat alkohol oleh *Acetobacter aceti* menjadi asam asetat. Hal ini dipengaruhi oleh lama fermentasi. Semakin lama fermentasi, maka nutrisi yang dibutuhkan juga akan semakin banyak. Sehingga substrat yang dibutuhkan juga diperlukan banyak. Penelitian yang dilakukan oleh Rachmawati (2018) asam cuka dari buah kersen dimana pada waktu fermentasi 10 hari, diperoleh kadar asam asetat paling tinggi karena tidak terjadinya *over oxidizing* atau over oksidasi yang menghasilkan CO<sub>2</sub> dan H<sub>2</sub>O. Karena nutrisi di dalam media fermentasi telah habis, maka bakteri *Acetobacter aceti* akan melakukan oksidasi asam asetat. Hal ini sesuai teori Kanchanarach *et al* (2010) selain kemampuannya yang dapat mengubah etanol menjadi asam asetat, acetobacter juga mampu mengoksidasi asam asetat.

Fenomena ini disebut over oksidasi asetat dan kondisi ini merupakan gangguan selama fermentasi asam asetat.

Konsentrasi inokulum berpengaruh terhadap kadar asam asetat yang dihasilkan. Pada hari ke-7 fermentasi dengan menggunakan konsentrasi 5% dan 10% mengalami peningkatan kadar, tetapi pada konsentrasi 15% kadar asam asetat semakin menurun. Hal yang sama juga terjadi pada hari ke-10 fermentasi. Dengan demikian kinerja bakteri *Acetobacter aceti* untuk merombak alkohol menjadi asam mengalami penghambatan kadar asam asetat. Turunnya kadar asam asetat dengan penambahan konsentrasi 15% akibat kurangnya nutrisi pada substrat sehingga aktivitas bakteri kurang optimal. Jumlah inokulum yang baik harus sebanding dengan jumlah substrat (Palimbong, 2017). Nutrisi menjadi faktor utama dalam meningkatkan sel bakteri. Nutrisi yang terbatas akan menyebabkan kematian terhadap sel bakteri, sehingga jumlah sel bakteri berkurang yang mengakibatkan berkurangnya bakteri asam asetat. Oleh karena itu hanya sebagian kecil alkohol yang dioksidasi menjadi asam asetat. Selain nutrisi, perlakuan oksidasi yang lebih lanjut juga menyebabkan asam asetat berkurang (Kusmawati,2017).

Langkah selanjutnya menentukan pH asam asetat dengan menggunakan pH meter. Hasil pengukuran pH disajikan pada Gambar 4.5



**Gambar 4.5** Hasil pengukuran pH

Hasil pH asam asetat dari rumput laut memiliki variasi yaitu dari 5,5-6,4. Nilai pH berbanding terbalik terhadap kadar asam asetat. Semakin tinggi kadar asam asetat maka pH dari asam asetat tersebut rendah. Sebaliknya semakin rendah kadar asam asetat maka pH dari asam asetat tersebut tinggi. Dapat dibuktikan pada kadar asam asetat 0,380% memiliki pH 5,5 sedangkan kadar asam asetat 0,223% memiliki pH 6,1. Hal ini diperkuat oleh penelitian Andayani *et al* (2019), pH mengalami penurunan dengan bertambahnya kadar asam asetat. Nilai pH turun diduga karena bertambah konsentrasi asam asetat selama proses fermentasi berlangsung. Kadar asam asetat terlarut semakin tinggi maka akan semakin cepat berdisosiasi untuk melepas proton-proton bebas sehingga pH akan menurun (Nendissa *et al.*, 2015).



## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Rumput laut *Gracilaria sp.* dapat diolah menjadi asam asetat karena kandungan karbohidrat yang tinggi dan dengan bantuan bakteri *Acetobacter aceti*
2. Konsentrasi inokulum *Acetobacter aceti* dan waktu fermentasi berpengaruh terhadap kadar asam asetat yang dihasilkan. Hal ini dapat dilihat dari hasil penelitian yang menunjukkan pada setiap konsentrasi inokulum *Acetobacter aceti* dan waktu fermentasi terjadi peningkatan dan penurunan kadar. Pada waktu fermentasi hari ke 13 di setiap konsentrasi inokulum menunjukkan tidak terbentuk asam asetat karena adanya fenomena oksidasi lanjut membentuk hasil oksidasi CO<sub>2</sub> dan H<sub>2</sub>O.

#### 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disarankan sebagai berikut :

1. Untuk mendapatkan bioetanol murni yang bebas air dapat menggunakan destilasi fraksionasi.
2. Diperlukan suatu alat untuk penambahan udara atau oksigen yang disebut aerasi sehingga fermentasi aerob akan dapat berjalan dengan baik dan maksimal.

## DAFTAR KEPUSTAKAAN

- Adini, S., Kusdiyantini, E., dan Budiharjo, A. (2015). Produksi Bioetanol dari Rumput Laut dan Limbah Agar *Gracilaria sp.* dengan Metode Sakarifikasi yang Berbeda. *Jurnal Bioma*, 16(2), 65–75.
- Ahmad, A., Muria, S. R., dan Rahani, R. (2020). Pengaruh Konsentrasi Asam Klorida (HCl) Pada Hidrolisis dan Waktu Fermentasi Terhadap Limbah Padat Sagu Menjadi Bioetanol. *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia Kejuangan*, 1-10.
- Aiman, S. (2016). Pengaruh Ukuran Partikel Biomasa Lignoselulosa pada Pembuatan Bioetanol dan Biobutanol: Tinjauan. *Jurnal Kimia Terapan Indonesia (Indonesian Journal of Applied Chemistry)*, 18(01), 11-25.
- Andayani, N., Nurhayati, D., dan Saing, M. D. (2019). Optimalisasi Lama Fermentasi Dengan Penambahan Konsentrasi *Acetobacter aceti* Pada Pembuatan Cuka Buah Apel Rhome Beauty Menggunakan Alat Fermentor. *Seminar Nasional Hasil Pengabdian Masyarakat Dan Penelitian Pranata*, 313–320.
- Ashari, M. R. (2016). *Pengaruh Kombinasi Biofilter Gracilaria sp. Zeolit dan Arang Aktif terhadap Logam Berat Timbal (Pb)*. Skripsi. Surabaya: Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga.
- Badan Pusat Statistik Provinsi Aceh. (2019). Provinsi Aceh Dalam Angka 2019. ISBN : 2088-8910. Seri 46. BPS Provinsi Aceh, Aceh.
- Balat, M., Balat, H., dan Öz, C. (2008). Progress in Bioethanol Processing. *Journal Progress in Energy and Combustion Science*, 34, 551–573.
- Chang, R. (2004). **Kimia Dasar: Konsep-konsep Inti Edisi Ketiga**. Terjemahan dari General Chemistry: The Essential Concepts Third Edition oleh Suminar Setiati Achmadi. Jakarta: Erlangga.
- Damat, D., Tain, A., Winarsih, S., Siskawardani, D., dan Rastikasari, A. (2020). **Teknologi Proses Pembuatan Beras Analog Fungsional**. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang.
- Erna, E., Said, I., dan Abram, P. H. (2016). Bioetanol dari Limbah Kulit Singkong (*Manibet esculenta Crantz*) Melalui Proses Fermentasi. *Jurnal Akademika Kimia*, 5(3), 121-126.

- FAO. 2018. The Global Status of Seaweed Production, Trade and Utilization. Globefish Research Programme Vol. 124. Roma.
- Febrina, R. V. (2020). *Pengaruh Variasi Massa Ragi Saccharomyces cerevisiae dan Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Bioetanol Berbahan Dasar Limbah Kulit Kopi Arabika (Coffe arabica L.)*. Skripsi. Banda Aceh: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Ar-Raniry.
- Firdaus, M. (2019). **Pigmen Rumput Laut dan Manfaat Kesehatannya**. Malang: UB Press.
- Francavilla, M., Franchi, M., Monteleone, M., dan Caroppo, C. (2013). The Red Seaweed *Gracilaria gracilis* as a Multi Products source. *Marine Drugs*, 11(10), 3754–3776.
- Fuadi, AM., Harsimah, K., dan Setiawan, A. (2015). Pengaruh Suhu Dan Ph Terhadap Banyaknya Yield (Kadar Glukosa) Yang Dihasilkan Pada Proses Hidrolisis Enzimatis Dari Limbah Kertas. *Simposium Nasional RAPI XIV*, 179-185.
- Gazali, M., Nurjanah, dan Zamani, N. P. (2018). Eksplorasi Senyawa Bioaktif Alga Cokelat *Sargassum sp.* Agardh sebagai Antioksidan dari Pesisir Barat Aceh. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 21(1), 167–178.
- Habibah, F. (2015). *Produksi Substrat Fermentasi Bioetanol dari Alga Merah Gracilaria verrucosa Melalui Hidrolisis Enzimatik dan Kimiawi*. Skripsi. Semarang: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Universitas Negeri Semarang.
- Handayani, T., dan Kadi, A. (2007). Keanekaragaman dan Biomassa Algae di Perairan Minahasa Utara, Sulawesi Utara. *Oseanologi Dan Limnologi Di Indonesia*, 33(2), 199–211.
- Harahap, M. R. (2018). Chemical Analysis Of Environmental Conditions Of Seaweed Culture In Pulo Raya Kabupaten Aceh Jaya, Aceh Province. *Elkawnie*, 4(2), 77–87.
- Hasanuddin, dan Mulyadi. (2014). **Botani Tumbuhan Rendah**. Banda Aceh: Syiah Kuala University Press.
- Haslianti, Purnama, M. F., dan Piliانا, W. O. (2016). Potensi Industri Pengolahan Rumput Laut menjadi Bioetanol. *Jurnal Bisnis Perikanan FPIK UHO*, 3(1), 89–96.

- Kanchanarach, W., Theeragool, G., Inoue, T., Yakushi, T., Adachi, O., dan Matsushita, K. (2010). Acetic Acid Fermentation of *Acetobacter pasteurianus* : Relationship between Acetic Acid Resistance and Pellicle Polysaccharide Formation. *Bioscience, Bioetchnology, and Biochemistry*, 74(8), 1591-1597.
- Kasari, N., Iryani, I., dan Bahrizal, B. (2012). Konversi Bioetanol Hasil Fermentasi dari Ubi Jalar Putih (*Ipomoea batatas* LAM.) Menjadi Asam Asetat menggunakan *Acetobacter aceti*. *Periodic*, 1(2), 39-41.
- Kawaroe, M., Hasanudin, U., dan Krisye. (2016). Pencernaan Anaerobik Makroalga *Gracilaria sp.* Pada Sistem *Batch* Untuk Memproduksi Bio-Metana. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Kelautan Tropis*, 8(2), 595–603.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP). (2020). *Genjot Nilai Ekspor, KKP Targetkan Produksi 10,99 Juta Ton Rumput Laut di 2020*. <https://kkp.go.id/artikel/16505-genjot-nilai-ekspor-kkp-targetkan-produksi-10-99-juta-ton-rumput-laut-di-2020>. Diakses tanggal 12 Desember 2020.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP). (2019). *Kelautan dan Perikanan dalam angka tahun 2018*. Jakarta: Pusat Data dan Informasi KKP.
- Kusmawati, W. (2017). Analisis Kadar Asam Asetat Dalam Media Limbah Fermentasi Biji Kakao Akibat Penambahan Konsentrasi *Acetobacter aceti* dan Waktu Inkubasi. *Jurnal Filsafat, Sains, Teknologi, Dan Sosial Budaya*, 23(1), 67–72.
- Lay, B. W. (1994). **Analisis Mikroba di Laboratorium**. Jakarta: Raja Grafindo Persada.
- Ma'ruf, W. F., Ibrahim, R., Dewi, E. N., Susanto, E., dan Amalia, U. (2013). Profil Rumput Laut *Caulerpa racemosa* dan *Gracilaria verrucosa* Sebagai Edible Food. *Jurnal Saintek Perikanan*, 9(1), 68–74.
- Maryana, T., Silsia, D., dan Budiyanto. (2020). Pengaruh Konsentrasi Dan Jenis Ragi Pada Produksi Bioetanol Dari Ampas Tebu. *Jurnal Agroindustri*, 10(1), 47–56.
- Masriatini, R. (2016). Penambahan Induk Cuka Pada Pembuatan Asam Asetat Dari Bonggol Pisang Uli (*Musa X Paradisiacal Triploid Aab*). *Jurnal Redoks*, 1(1), 65–72.
- Mosier, N., Wyman, C., Dale, B., Elander, R., Lee, Y. Y., Holtzapple, M., dan Ladisch, M. (2005). Features Of Promising Technologies For Pretreatment

Of Lignocellulosic Biomass. *Bioresource Technology*, 96, 673-686.

- Mukti, N. L., dan Aryani, W. (2016). Pengaruh Waktu Fermentasi Dan Jumlah Ragi Terhadap Persentase Hasil Dalam Pembuatan Bioetanol Dari Buah Talok (Kersen) Menggunakan Ragi Tape Dan Ragi Roti (*Saccharomyces cerevisiae*). *Jurnal Inovasi Proses*, 1(1), 18–27.
- Nendissa, S.J., Breemer, R., dan Melamas, N. (2015). Pengaruh Konsentrasi Ragi *Saccharomyces cerevisiae* Dan Lama Fermentasi Terhadap Kualitas Cuka Tomi-Tomi (*Flacourtia inermis*). *AGRITEKNO: Jurnal Teknologi Pertanian*, 4(2), 50-55.
- Ngamput, H. M. A. (2018). *Pengaruh Waktu Hidrolisis Asam terhadap Kadar Etanol yang Dihasilkan dalam Fermentasi Ulva lactuca*. Skripsi. Yogyakarta: Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Sanata Dharma.
- Nurismanto, R., Mulyani, T., dan Tias, D. I. N. (2014). Pembuatan Asam Cuka Pisang Kepok (*Musaparadisiaca L.*) Dengan Kajian Lama Fermentasi Dan Konsentrasi Inokulum (*Acetobacter aceti*). *Jurnal Rekapangan*, 8(2), 149–155.
- Palimbong, S. (2017). Pengaruh Konsentrasi *Acetobacter aceti* Dan Lama Fermentasi Terhadap Total Asam Cairan Fermentasi Pepaya Burung (*Carica papaya, L.*). *Jurnal Sains dan Teknologi Pangan*, 2(2), 478-485.
- Patel, R dan Pandya, H. N. (2015). Production Of Acetic Acid From Molasses By Fermentation Process. *IJARIE*, 1(2), 58-60.
- Poedjiadi, A., dan Supriyanti, F. M. T. (2005). **Dasar-Dasar Biokimia**. Jakarta: UI-Press.
- Putri, S. A., Restuhadi, F., dan Rahmayuni. (2016). Hubungan Antara Kadar Gula Reduksi, Jumlah Sel Mikrob Dan Etanol Dalam Produksi Bioetanol Dari Fermentasi Air Kelapa Dengan Penambahan Urea. *Jurnal Online Mahasiswa Fakultas Pertanian*, 3(2), 1–8.
- Rachmawati, N., Nurlaily, F. A., dan Wijatniko, B. D. (2019). Pengaruh Waktu Fermentasi dan Penambahan Konsentrasi Inokulum (*Acetobacter aceti*) terhadap Kualitas Asam Cuka dari Buah Kersen (*Muntingia calabura L.*). (*IJHS*) *Indonesian Journal of Halal Science*, 1(1), 12–17.
- Restuti, T. Y. (2014). *Pengaruh Konsentrasi H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Lama Waktu Hidrolisis dan*

*Fermentasi terhadap Kadar Bioetanol yang Dihasilkan Rumput Laut Eucheuma cottonii. Skripsi.* Yogyakarta: Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Sanata Dharma.

Rizwan, M., Diah, A. W. M., dan Ratman. (2018). Pengaruh Konsentrasi Ragi Tape (*Saccharomyces Cerevisiae*) Terhadap Kadar Bioetanol Pada Proses Fermentasi Biji Alpukat (*Persea Americana Mill*). *Jurnal Akademika Kimia*, 7(4), 173–178.

Rohman, A. (2014). **Validasi dan Penjaminan Mutu Metode Analisis Kimia.** Yogyakarta : Gajah Mada University Press.

Sa'diyah, A., dan Puryantoro, D. A. S. (2018). Potensi Rumput Laut *Gracilaria sp.* Sebagai Alternatif Biomassa Studi Kasus Di Kawasan Tambak Tanjungsari, Kecamatan Jabon, Sidoarjo. *Prosiding Seminar Nasional Inovasi Dan Aplikasi Teknologi Di Industri 2018*, 279–284.

Sandi, Y. A., Rita, W. S., dan Ciawi, Y. (2016). Hidrolisis Rumput Laut (*Glacilaria sp.*) Menggunakan Katalis Enzim dan Asam Untuk Pembuatan Bioetanol. *Jurnal Kimia*, 10(1), 7–14.

Sari, E. A. I. (2008). *Pengaruh Variasi Substrat dan Lama Fermentasi Terhadap Produksi Alkohol Pisang Klutuk (Musa branchycarpa).* Skripsi. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang.

Setyaningrum, E. N. (2010). *Efektivitas Penggunaan Jenis Asam dalam Proses Ekstraksi Pigmen Antosianin Kulit Manggis (Garcinia mangostana L.) dengan Penambahan Aseton 60%.* Skripsi. Surakarta: Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret.

Sijid, S. A., Khatimah, H., dan Damayanti, S. (2017). Pengaruh Pemberian Alkohol Terhadap Organ Vital Mencit (*Mus musculus*) ICR (Sebuah Review). *Prosiding Seminar Nasional Biology for Life*, 79–86.

Silverstain, R. M., Webster, F. X., dan Kiemle, D. J. (2005). **Spectrometric Identification of Organic Compounds, Seventh Edition.** United States of America: John Wiley & Sons, Ltd.

Siswati, N. D., Yatim, M., dan Hidayanto, R. (2010). Bioetanol dari Limbah Kulit Kopi dengan Proses Fermentasi. 7–10.

Syaherias, P. (2009). *Perancangan Produk Kimia Cuka Apel dari Apel Anna (Malus sylvestris).* Skripsi. Depok: Fakultas Teknik Universitas Indonesia.

- Umam, M. S. (2018). *Pengaruh Konsentrasi Ragi Roti (Saccharomyces cerevisiae) Dan Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Bioetanol Nira Siwalan (Borassus flabellifer L.)*. Skripsi. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Umar, K. (2017). *Efektifitas Larutan Cuka (Asam Asetat) dalam Pengurangan Kadar Formalin pada Ikan Cakalang (Katsuwonus pelamis L.)*. Skripsi. Makassar: Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.
- Visca, R., Nurjanah, S., dan Yuliana, N. (2020). Kajian Karakterisasi SEM pada Mikrokristalin Selulosa Kulit Sukun (*Artocarpus astilis*) Melalui Proses Hidrolisa Rinette. *Jurnal Teknologi*, 8(1), 11–21.
- Walker, G. M., dan Stewart, G. G. (2016). *Saccharomyces cerevisiae* in the Production of Fermented Beverages. *Beverages*, 2(30), 1-12.
- Waluyo, S. (1984). **Beberapa Aspek Tentang Pengolahan Vinegar**. Jakarta: Dewa Ruci Press.
- Warta Ekspor. (2013, Desember). Rumput laut Indonesia. Ditjen PEN/MJL/70/IX/2013.
- Wibowo, S., Peranginangin, R., Darmawan, M., dan Hakim, A. R. (2015). **Teknik Pengolahan ATC dari Rumput Laut *Eucheuma cottonii***. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Wignyanto, dan Hidayat, N. (2017). **Bioindustri**. Jakarta: UB Press.
- Yasminto, H. M., Chairul, dan Utami, S. P. (2019). Pengaruh Volume Inokulum *Acetobacter aceti* dan Waktu Fermentasi Terhadap Fermentasi Asam Asetat dari Nira Aren (*Arenga pinnata*). *Jurnal Online Mahasiswa FTEKNIK*, 6, 1–6.
- Yeni, L. F., Hidayat, A., dan Marlina, R. (2011). Isolasi dan Aktivitas Fermentasi Bakteri Asam Asetat pada Nira Nipah (*Nypa fruticans*). *Jurnal Pendidikan Matematika Dan IPA*, 2(1), 1–10.
- Yuda, I. G. Y. W., Wijaya, I. M. M., dan Suwariani, N. P. (2018). Studi Pengaruh Ph Awal Media Dan Konsentrasi Substrat Pada Proses Fermentasi Produksi Bioetanol Dari Hidrolisat Tepung Biji Kluwih (*Actinocarpus Communis*) Dengan Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 6(2), 115-124.

Yoneda, N., Kusano, S., Yasui, M., Pujado, P., dan Wilcher, S. (2001). Recent advances in processes and catalysts for the production of acetic acid. *Applied Catalysis A: General*, 221(1), 253–265.

Zhao, C., Qiao, X., Shao, Q., Hassan, M., dan Ma, Z. (2020). Evolution of the Lignin Chemical Structure during the Bioethanol Production Process and Its Inhibition to Enzymatic Hydrolysis. *Energy Fuels*, 34, 5938-5947.



## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Perhitungan

1. Perhitungan Rendemen Bioetanol *Gracilaria sp.*

$$\text{Rendemen bioetanol} = \frac{\text{Volume Akhir}}{\text{Volume Awal}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned}\text{Rendemen bioetanol ragi roti} &= \frac{120 \text{ mL}}{320 \text{ mL}} \times 100\% \\ &= 0,375 \times 100\% \\ &= 37,5\%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Rendemen bioetanol ragi tape} &= \frac{95 \text{ mL}}{325 \text{ mL}} \times 100\% \\ &= 0,292 \times 100\% \\ &= 29,2\%\end{aligned}$$

2. Perhitungan Kadar Bioetanol *Gracilaria sp.*

$$y = ax + b$$

$$y = 3E + 06x - 297305$$

1. Bioetanol ragi roti

$$y = 3000006x - 297305$$

$$x = \frac{23502382}{3000006}$$

$$x = 7,108\%$$

2. Bioetanol ragi tape

$$y = 3000006x - 297305$$

$$x = \frac{4735226}{3000006}$$

$$x = 1,572\%$$

3. Perhitungan Standarisasi NaOH 0,1 N

$$\text{Normalitas H}_2\text{C}_2\text{O}_4 = 0,1 \text{ N}$$

$$\text{Volume H}_2\text{C}_2\text{O}_4 = 25 \text{ mL}$$

$$\text{Volume NaOH ulangan} \quad 1 = 24,2 \quad \text{mL}$$

Volume NaOH ulangan 2= 24,3 mL

Volume NaOH ulangan 3= 23,8 mL

Volume NaOH rata-rata = 24,1 mL

$$\begin{aligned} N \text{ NaOH} &= \frac{N \text{ H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \times v \text{ H}_2\text{C}_2\text{O}_4}{v \text{ NaOH rata-rata}} \\ &= \frac{0,1 \text{ N} \times 25 \text{ mL}}{24,1 \text{ mL}} \\ &= 0,1037 \text{ N} \end{aligned}$$

4. Perhitungan Kadar Asam Asetat

$$\% \text{ CH}_3\text{COOH} = \frac{v \text{ NaOH} \times N \text{ NaOH} \times \text{BM CH}_3\text{COOH} \times F_p}{v \text{ sampel} \times 1000} \times 100\%$$

a. Konsentrasi *Acetobacter aceti* 5% dan lama fermentasi 7 hari

$$\begin{aligned} \% \text{ CH}_3\text{COOH} &= \frac{0,13 \text{ mL} \times 0,1037 \text{ N} \times 60 \times 10}{25 \text{ mL} \times 1000} \times 100\% \\ &= 0,032\% \end{aligned}$$

b. Konsentrasi *Acetobacter aceti* 5% dan lama fermentasi 10 hari

$$\begin{aligned} \% \text{ CH}_3\text{COOH} &= \frac{0,3 \text{ mL} \times 0,1037 \text{ N} \times 60 \times 10}{25 \text{ mL} \times 1000} \times 100\% \\ &= 0,074\% \end{aligned}$$

c. Konsentrasi *Acetobacter aceti* 10% dan lama fermentasi 7 hari

$$\begin{aligned} \% \text{ CH}_3\text{COOH} &= \frac{0,9 \text{ mL} \times 0,1037 \text{ N} \times 60 \times 10}{25 \text{ mL} \times 1000} \times 100\% \\ &= 0,223\% \end{aligned}$$

d. Konsentrasi *Acetobacter aceti* 10% dan lama fermentasi 10 hari

$$\begin{aligned} \% \text{ CH}_3\text{COOH} &= \frac{1,53 \text{ mL} \times 0,1037 \text{ N} \times 60 \times 10}{25 \text{ mL} \times 1000} \times 100\% \\ &= 0,380\% \end{aligned}$$

e. Konsentrasi *Acetobacter aceti* 15% dan lama fermentasi 7 hari

$$\begin{aligned}\% \text{CH}_3\text{COOH} &= \frac{0,73 \text{ mL} \times 0,1037 \text{ N} \times 60 \times 10}{25 \text{ mL} \times 1000} \times 100\% \\ &= 0,181\%\end{aligned}$$

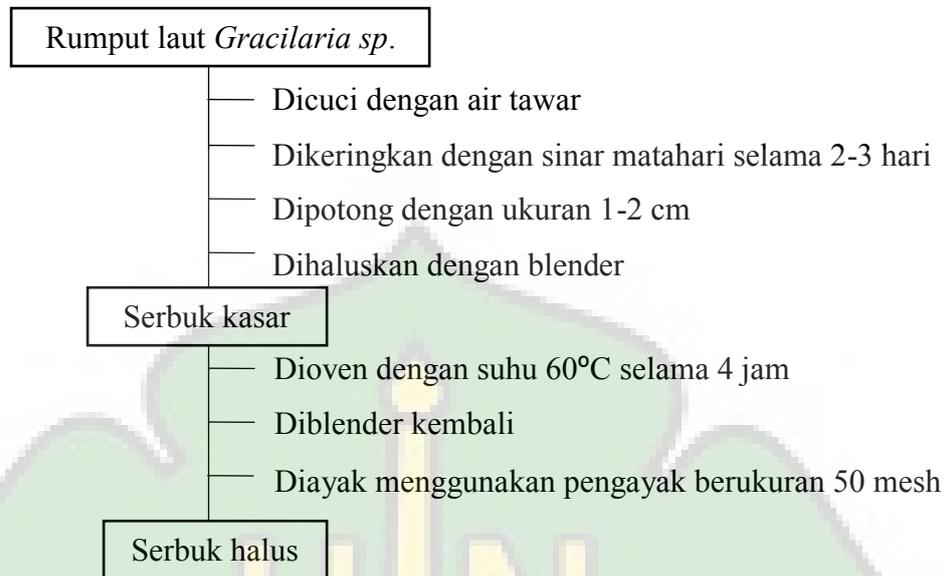
f. Konsentrasi *Acetobacter aceti* 15% dan lama fermentasi 10 hari

$$\begin{aligned}\% \text{CH}_3\text{COOH} &= \frac{0,8 \text{ mL} \times 0,1037 \text{ N} \times 60 \times 10}{25 \text{ mL} \times 1000} \times 100\% \\ &= 0,199\%\end{aligned}$$

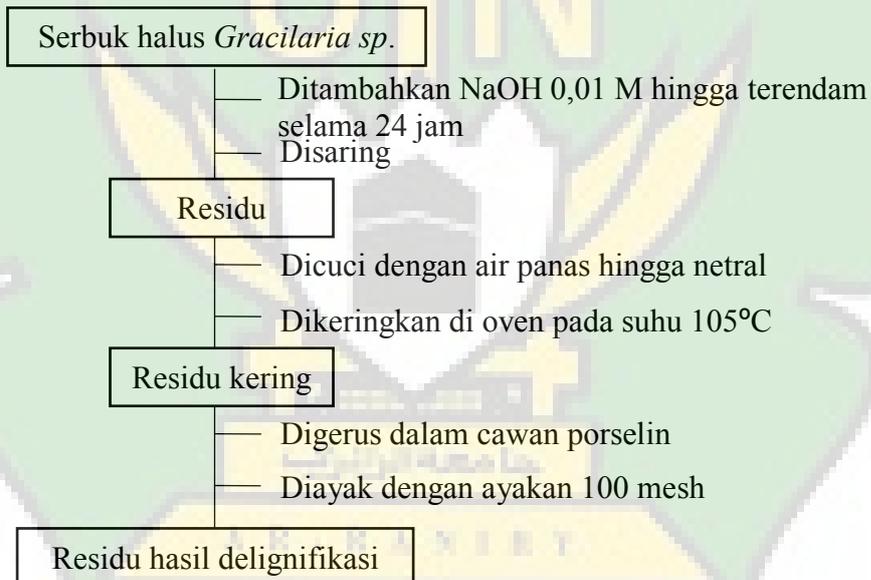


## Lampiran 2. Skema Kerja

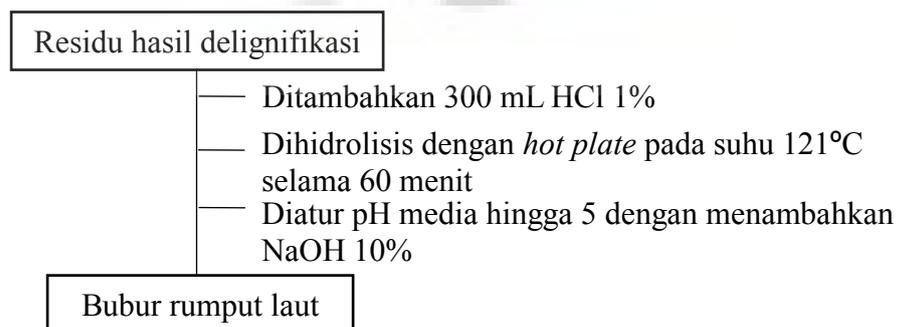
### 2.1 Preparasi Sampel



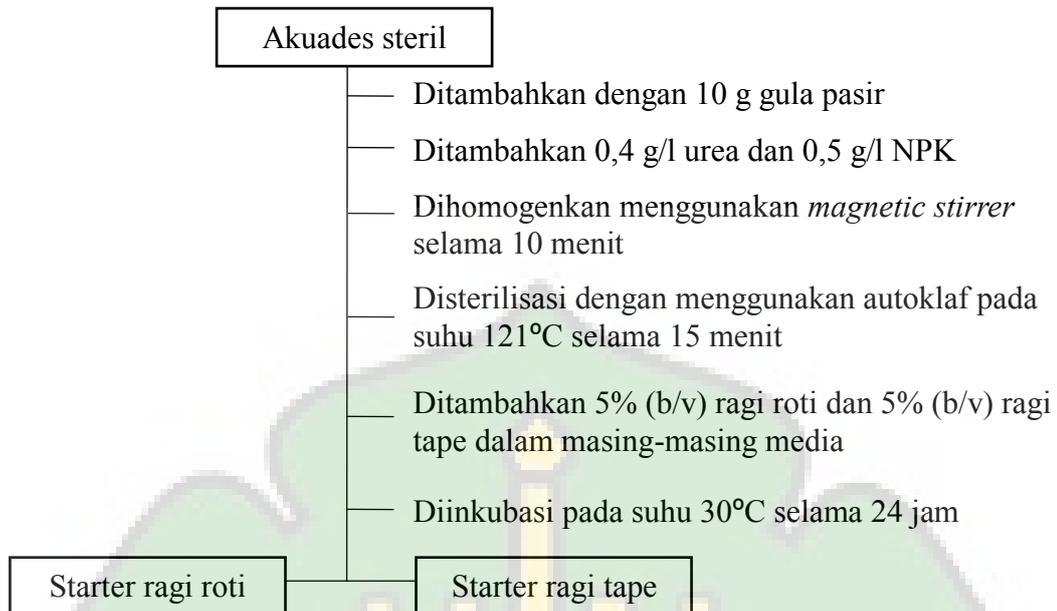
### 2.2 Proses *Pretreatment* (Delignifikasi)



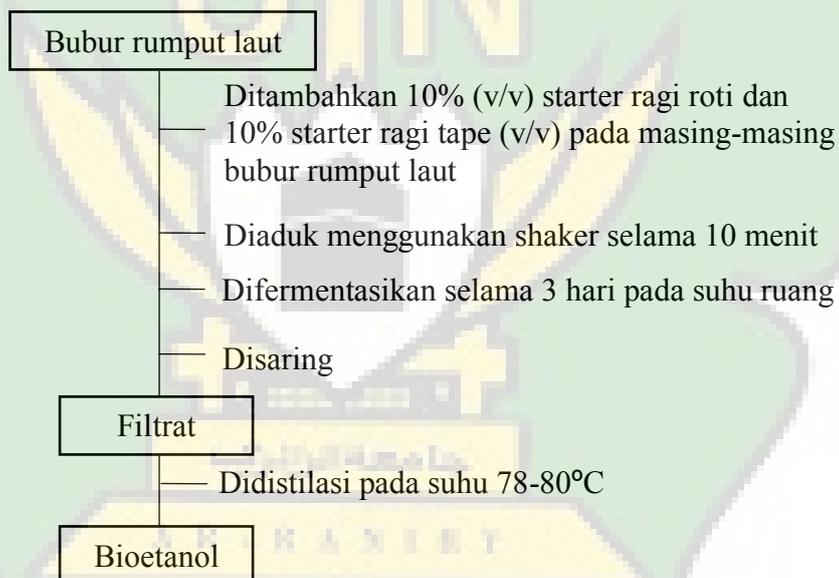
### 2.3 Proses Hidrolisis



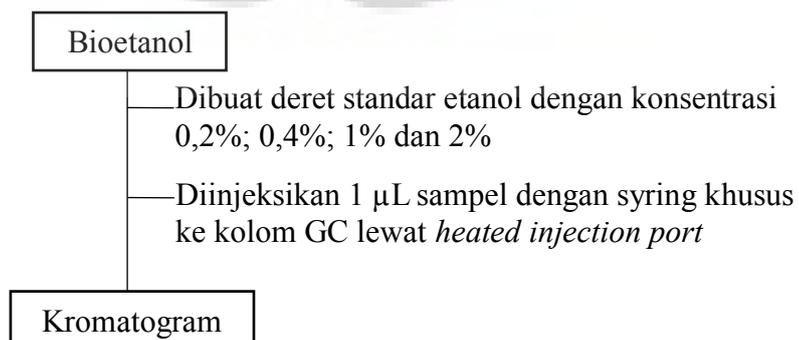
## 2.4 Penyiapan Starter



## 2.5 Produksi Alkohol

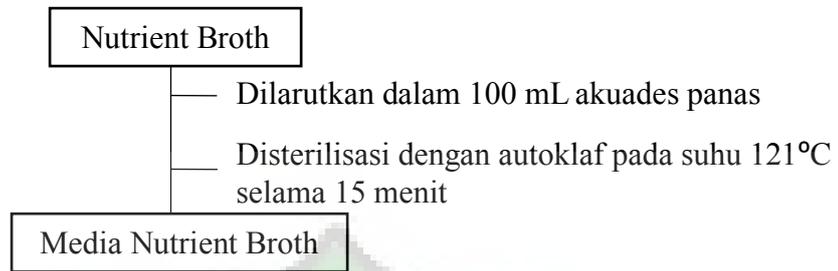


## 2.6 Analisis Kadar Bioetanol

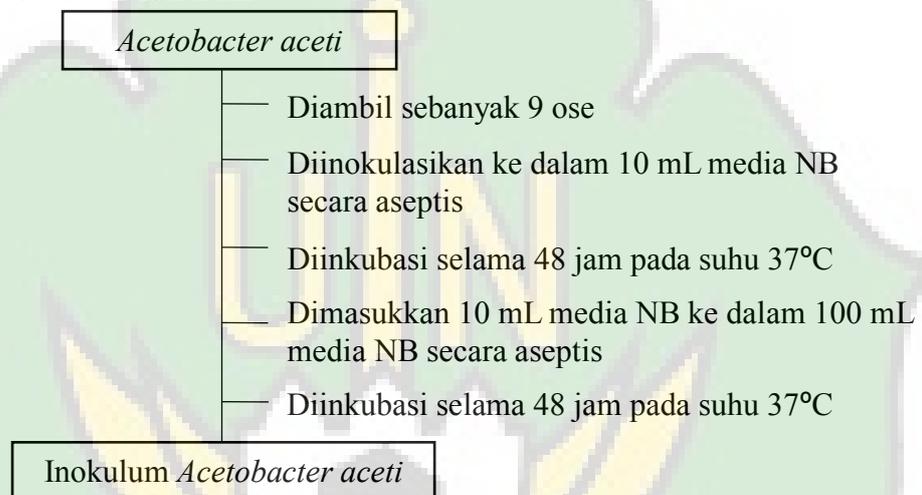


## 2.7 Persiapan Inokulum *Acetobacter aceti*

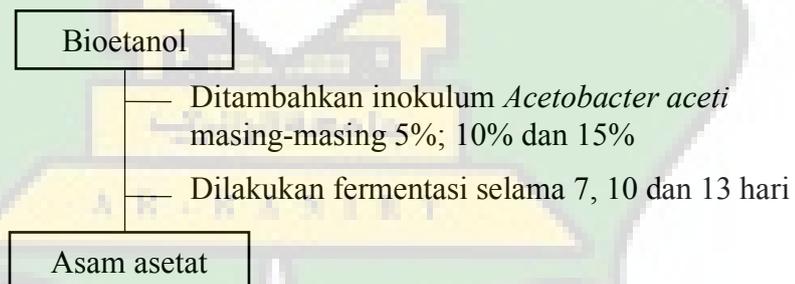
### 2.7.1 Pembuatan Media Cair Aktivasi



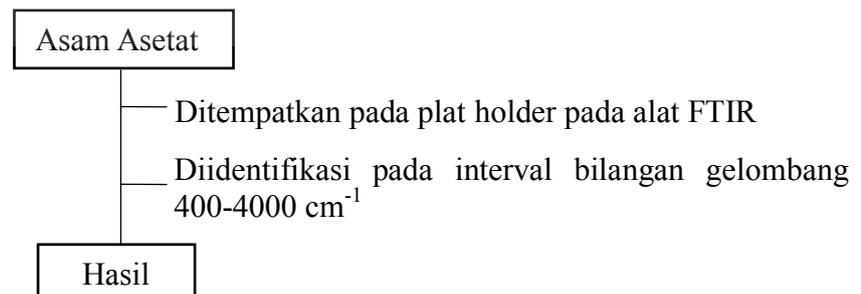
### 2.7.2 Pembuatan Inokulum



## 2.8 Pembuatan Asam Asetat



## 2.9 Analisis Kadar Asam Asetat



### 2.10 Analisis Kadar Asam Asetat

10 mL asam asetat

- Dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL
- Ditambahkan akuades hingga volumenya 100 mL
- Dipipet sampel uji tersebut sebanyak 25 mL dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer
- Ditambahkan 2-3 tetes larutan indikator PP (fenolftalein)
- Dititrasi sampel dengan larutan NaOH 0,1 N
- Dicatat jumlah volume NaOH yang digunakan hingga berubah warna menjadi merah muda

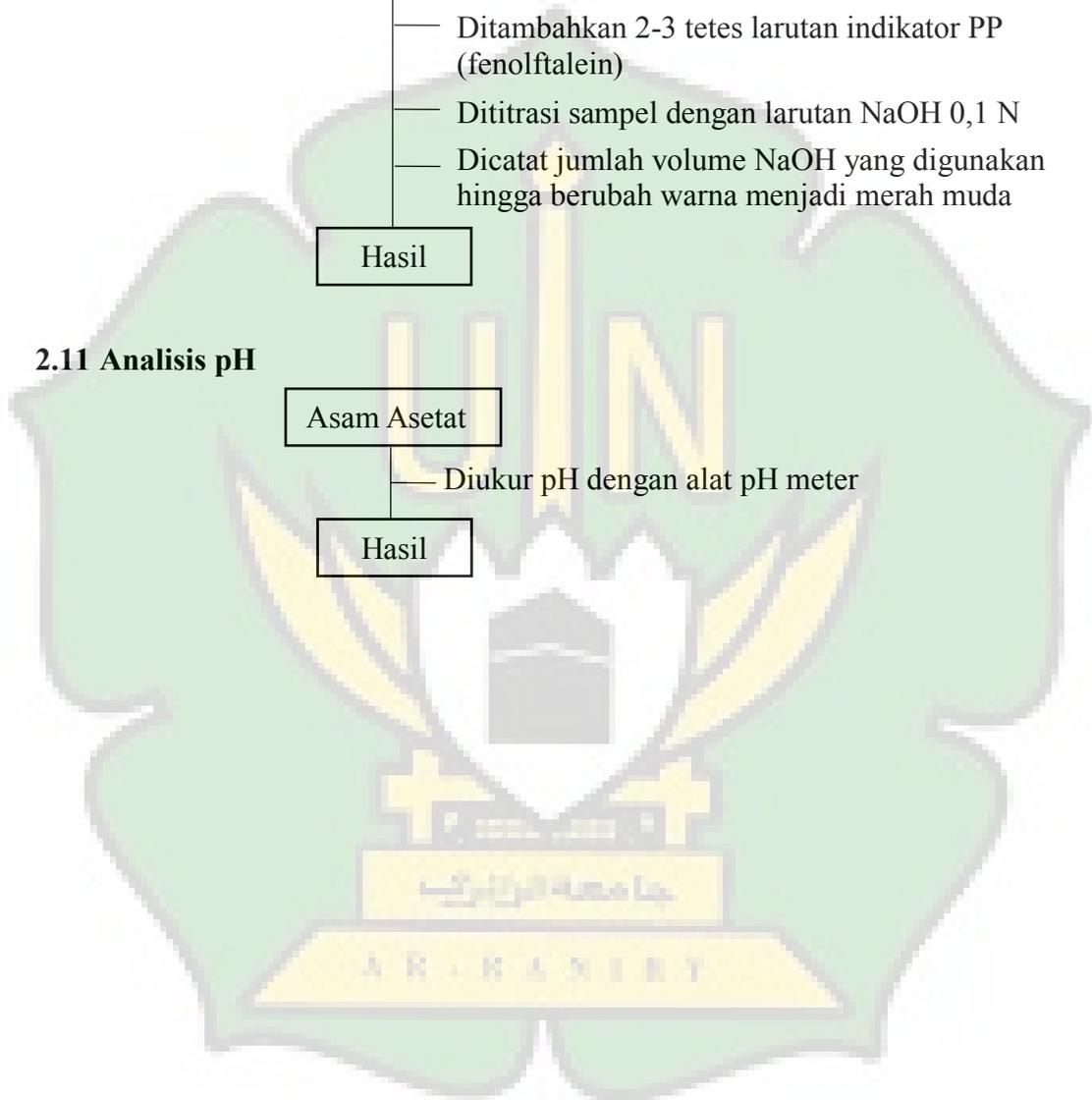
Hasil

### 2.11 Analisis pH

Asam Asetat

- Diukur pH dengan alat pH meter

Hasil



### Lampiran 3. Hasil Analisis Kadar Bioetanol Ragi Tape menggunakan GC

#### Sample Information

Analysis Date & Time : 07/04/2021 14:40:37  
 User Name : Rahmad Afrizal  
 Vial# : 5  
 Sample Name : Bioethanol  
 Sample ID : 001.BE.21  
 Sample Type : Unknown  
 Injection Volume : 1,00  
 Multi Injection# : 1  
 Dilution Factor : 1  
 ISTD Amount :  
 Sample Amount : 1  
 Level# : 1  
 Data Name : C:\GCsolution\Data\Lab.  
 Original Data Name : C:\GCsolution\Data\Lab.  
 Baseline Data Name :  
 Method Name : C:\GCsolution\Data\Lab.  
 Report Name : C:\GCsolution\System\DI  
 Batch Name : C:\GCsolution\Data\Lab.

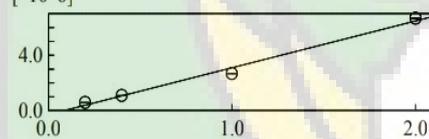
#### Calibration Curve - Analytical Line 1 - Channel 1

ID#:1 Name:ethanol

$f(x)=3390245,11617*x-297304,827723$   
 $R=0,994439914872$   $R^2=0,98891074429$   
 MeanRF:2916018,24148 RFSD:300526,37028 RFRSD:10,3060524795  
 CurveType:Linear  
 ZeroThrough:Not through  
 WeightedRegression:None

#### External Standard

[\*10<sup>6</sup>]

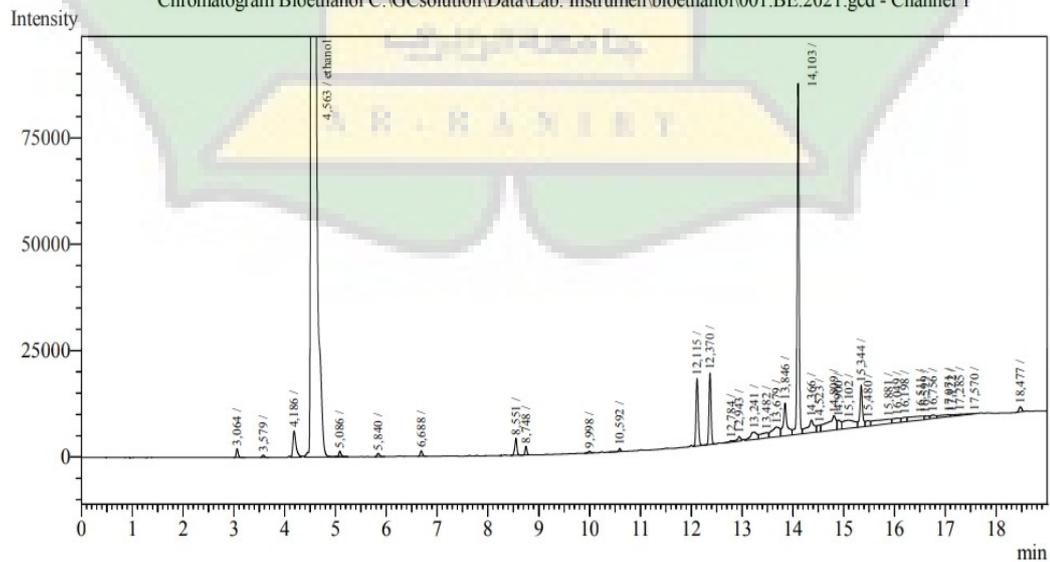


No.	Conc.	Area
1	0,200	587196
2	0,400	1088467
3	1,000	2673848
4	2,000	6666151

#### Quantitative Results - Channel 1

ID#	Name	Ret.Time	Area	Height	Conc.	Units
1	ethanol	4,563	5032531	1405670	1,572	%

#### Chromatogram Bioethanol C:\GCsolution\Data\Lab. Instrumen\bioethanol\001.BE.2021.gcd - Channel 1



## Lampiran 4. Hasil Analisis Kadar Bioetanol Ragi Roti menggunakan GC

### Sample Information

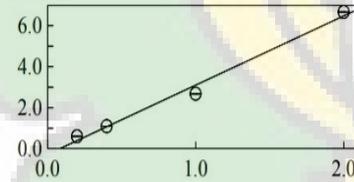
Analysis Date & Time : 20/04/2021 11:01:41  
 User Name : Rahmad Afrizal  
 Vial# : 1  
 Sample Name : Bioethanol  
 Sample ID : 002.BE.21  
 Sample Type : Unknown  
 Injection Volume : 1,00  
 Multi Injection# : 1  
 Dilution Factor : 1  
 ISTD Amount :  
 Sample Amount : 1  
 Level# : 1  
 Data Name : C:\GCsolution\Data\Lab.  
 Original Data Name : C:\GCsolution\Data\Lab.  
 Baseline Data Name :  
 Method Name : C:\GCsolution\Data\Lab.  
 Report Name : C:\GCsolution\System\DI  
 Batch Name :

### Calibration Curve - Analytical Line 1 - Channel 1

ID#:1 Name:ethanol

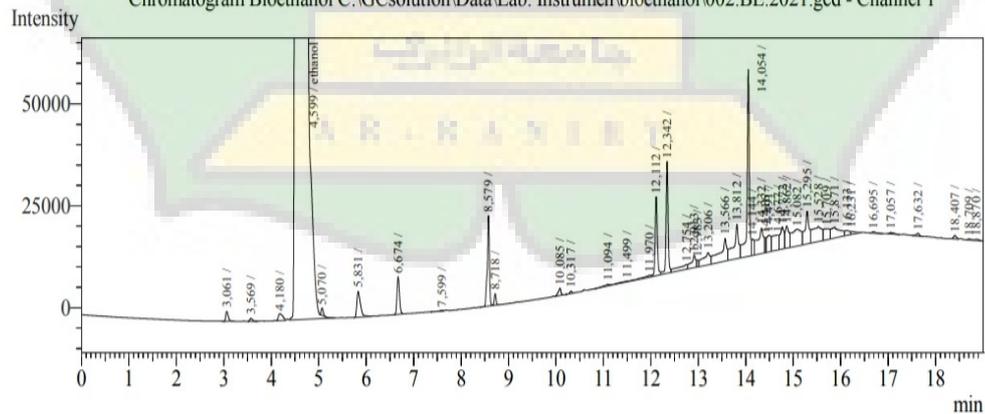
$f(x)=3390245,11617*x-297304,827723$   
 $R=0,994439914872$   $R^2=0,98891074429$   
 MeanRF:2916018,24148 RFS:300526,37028 RFRSD:10,3060524795  
 CurveType:Linear  
 ZeroThrough:Not through  
 WeightedRegression:None

External Standard  
[\*10<sup>6</sup>]



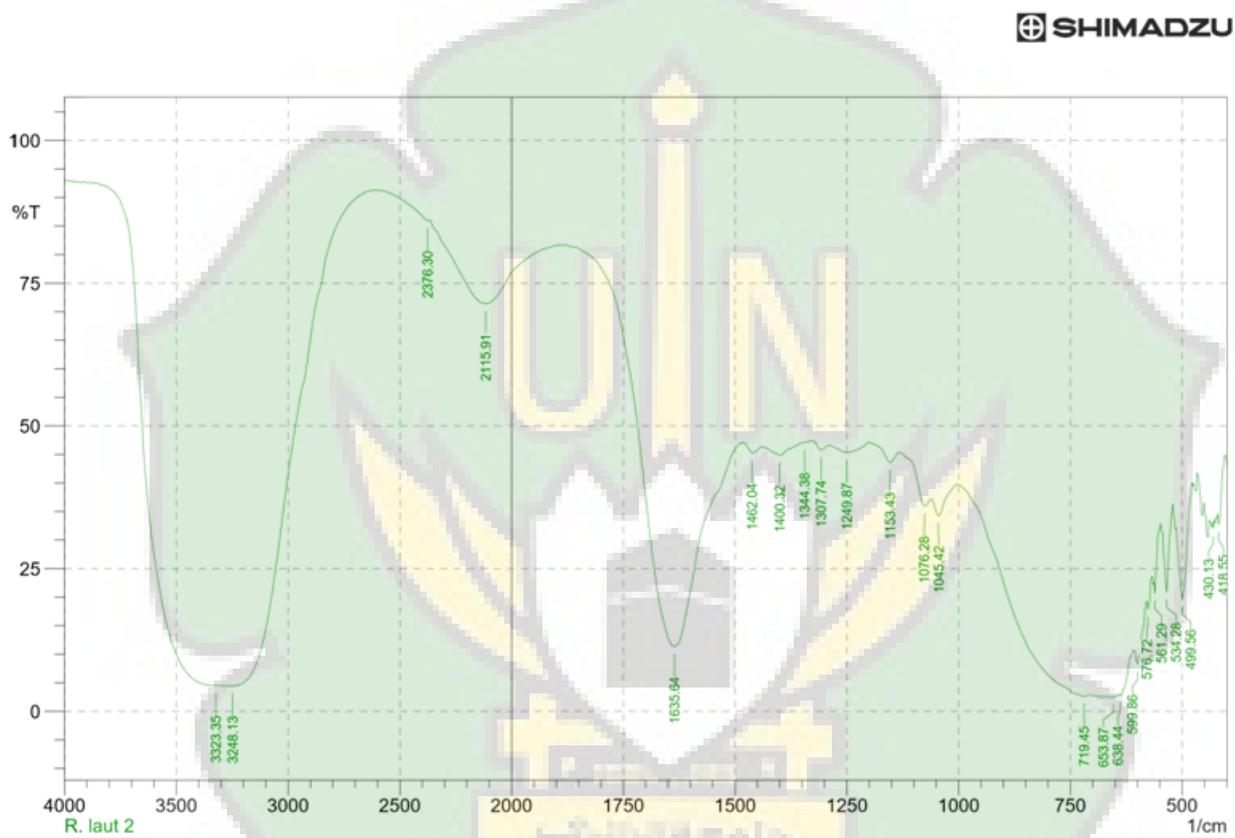
No.	Conc.	Area
1	0,200	587196
2	0,400	1088467
3	1,000	2673848
4	2,000	6666151

### Chromatogram Bioethanol C:\GCsolution\Data\Lab. Instrumen\bioethanol\002.BE.2021.gcd - Channel 1



### Quantitative Results - Channel 1

ID#	Name	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Units
1	ethanol	4,599	23799687	4272030	7,108	%

Lampiran 5. Hasil Spektra FTIR Asam Asetat Rumput Laut *Gracilaria sp.*

**Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian**



Pengeringan rumput laut



Rumput laut dihaluskan dengan  
diblender



Rumput laut setelah dihaluskan



Pengayakan rumput laut



Proses delignifikasi dengan NaOH



Pengeringan sampel dengan oven



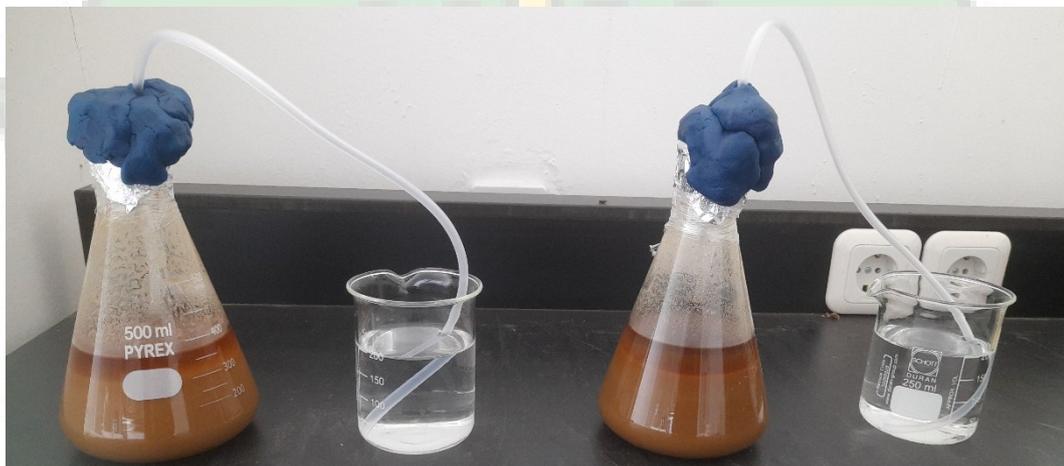
Sampel setelah dikeringkan dengan oven



Pembuatan starter ragi roti dan ragi tape



Proses hidrolisis asam



Proses fermentasi



Hasil fermentasi yang telah disaring



Proses destilasi bioetanol



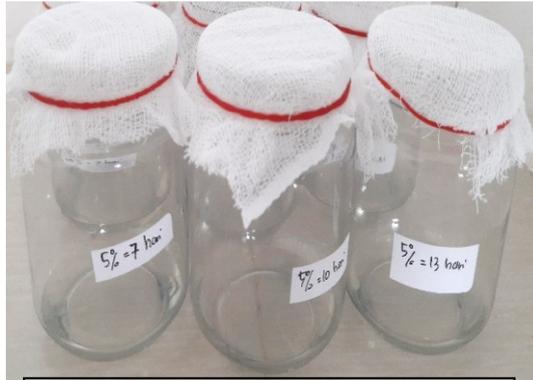
Instrumen Kromotografi Gas



Inokulasi *Acetobacter aceti*  
pada media NB



Setelah diinkubasi selama 48 jam



Fermentasi asam asetat secara aerob



Hasil fermentasi pada hari ke-13



Asam asetat yang diencerkan pada labu ukur 100 mL



Hasil titrasi asam basa



Penentuan pH dengan pH meter



## Lampiran 7. Surat Identifikasi Sampel



**KEMENTERIAN AGAMA RI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI AR-RANIRY  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
LABORATORIUM BIOLOGI**



Gedung Laboratorium Multifungsi Jl. Syekh Abdul Rauf Kopelma Darussalam, Banda Aceh  
Web: [www.biologi.fst.ar-raniry.ac.id](http://www.biologi.fst.ar-raniry.ac.id), Email: [biolab.arraniry@gmail.com](mailto:biolab.arraniry@gmail.com)

**SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI**

No: B-98/Un.08/Lab.Bio-FST/PP.00.9/07/2021

Ketua Laboratorium Biologi Fakultas Sains dan teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Ar-Raniry Banda Aceh menerangkan bahwa sampel yang dibawa oleh :

Nama	: Husniah Nadhifa
NIM	: 170704020
Status	: Mahasiswa
Program Studi/Fakultas	: Kimia / Fakultas Sains dan Teknologi
Jenis Sampel	: Makroalga (Protista)

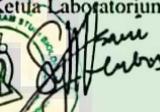
Telah dilakukan identifikasi sampel tumbuhan di Laboratorium Botani dengan hasil klasifikasi taksonomi adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Protista
Phylum	: Rhodophyta
Kelas	: Florideophyceae
Ordo	: Gracilariales
Familia	: Gracilariaceae
Genus	: Gracilaria
Spesies	: <i>Gracilaria</i> sp.

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Banda Aceh, 13 Julis 2021

Mengetahui,  
Ketua Laboratorium Biologi

  
**Syafrina Sari Lubis, M.Si**  
NIDN. 2025048003