

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimen. Termasuk penelitian eksperimen karena dalam penelitian ini terdapat kontrol sebagai acuan antara keadaan awal dengan sesudah diberi perlakuan (Nazir, 2003: 88).

3.2 Desain Penelitian

Untuk memudahkan pelaksanaan penelitian ini, dibuat suatu desain penelitian seperti yang ditunjukkan pada gambar 3.1, yang meliputi:

3.2.1 Tahap pendahuluan

Dalam tahap ini, dilakukan perlakuan awal kulit singkong dengan memberi perlakuan secara fisik, yaitu dengan mengubah sampel kulit singkong menjadi bentuk serbuk.

3.2.2 Tahap hidrolisis

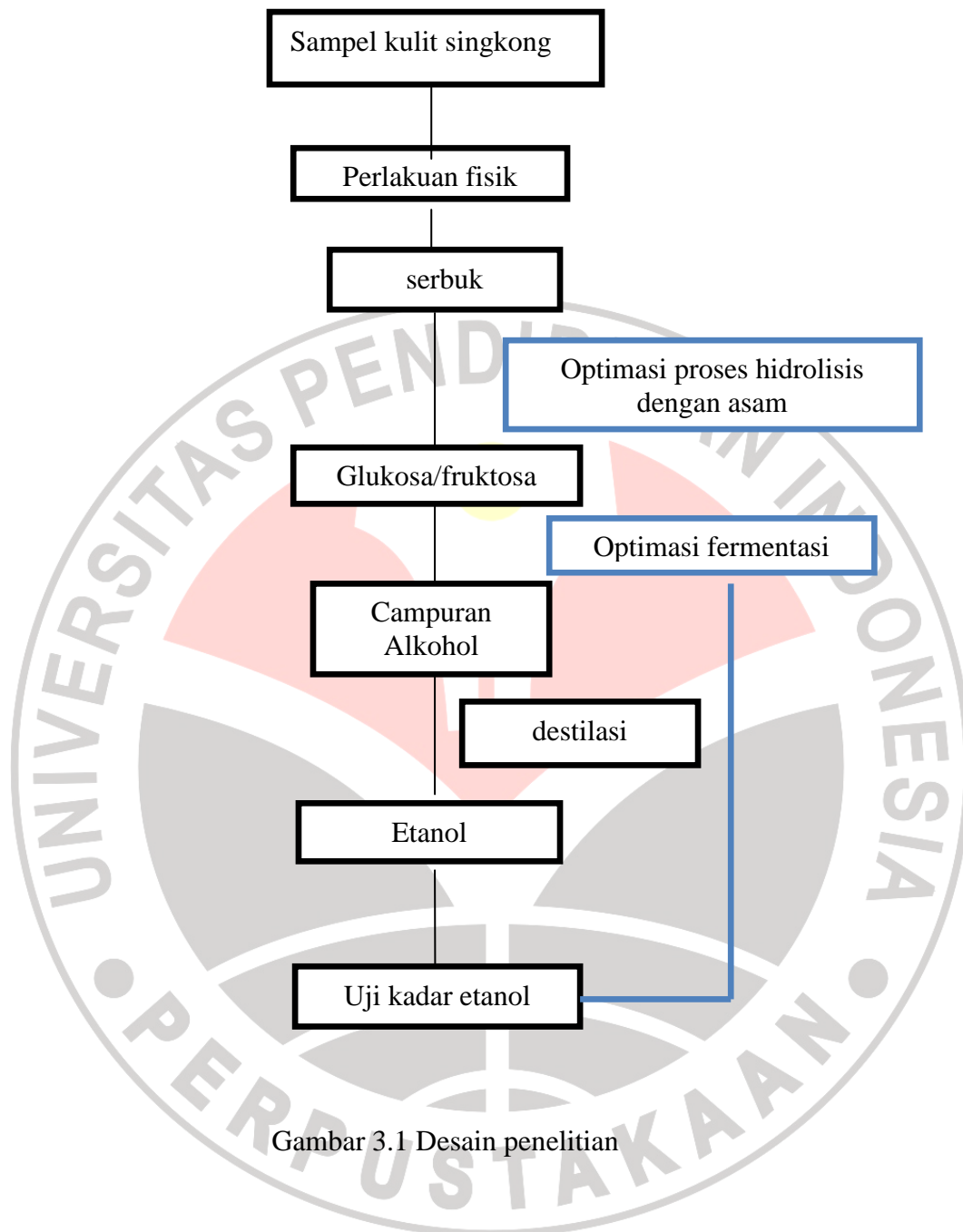
Sampel kulit singkong dalam bentuk serbuk dihidrolisis dengan penambahan asam, dan dilakukan pengujian kadar glukosa hasil hidrolisis

3.2.3 Tahap fermentasi

Glukosa yang dihasilkan pada proses hidrolisis kemudian difermentasi untuk mendapatkan alkohol yang selanjutnya dilakukan destilasi untuk mendapatkan bioetanol

3.2.4 Tahap analisis

Analisis dilakukan dengan menguji etanol hasil fermentasi dengan alat GC



Gambar 3.1 Desain penelitian

3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Riset Kimia lingkungan Universitas Pendidikan Indonesia. Waktu penelitian dilakukan bulan April-Agustus 2010.

3.4 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: Gelas ukur 400ml, Labu Erlenmeyer 250ml, Kaca arloji, Pipet tetes, Bekker glass, Pipet mikro, set alat destilasi, set alat Spektrofotometri UV-VIS, set alat GC-MS, dan set alat GC.

Bahan atau zat-zat kimia yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: Kulit singkong, asam sulfat pekat 18M, NaOH 1M, Glukosa standar, Pereaksi Soymogi-Nelson, dan Ragi tape.

3.5 Prosedur Kerja

Kulit singkong

- Dicuci bersih dipotong kecil-kecil
- Dihaluskan seperti tepung
- Dikeringkan

Tepung kulit singkong

- Dihidrolisis dengan larutan H_2SO_4 dengan konsentrasi H_2SO_4 0,1M; 0,2M; 0,4 M; 0,6M; dan 0,8M pada suhu $120^{\circ}C$ 30 menit
- Didinginkan sampai suhu $60^{\circ}C$
- pH diset dari 1 menjadi 4, 5, 6
- Ditambahkan ragi dengan variasi penambahan 1%, 3%, 5%, dan 7%
- Bubur difermentasi selama 6 hari

Hasil fermentasi

- Didestilasi pada temperatur $80-85^{\circ}C$

Etanol

- Dianalisis dengan GC

Bioetanol hasil analisis

3.5.1 Tahap Persiapan

Preparasi awal kulit singkong

Sebanyak 500 g kulit singkong dicuci dengan air ledeng, dipotong kecil-kecil kemudian diblender sehingga bentuknya menjadi serbuk.

3.5.1.1 Persiapan Alat

Alat-alat disterilisasi dengan cara merendam botol-botol tersebut dengan detergen selama satu malam, lalu dibersihkan bagian dalam dan luarnya, setelah dibilas, botol-botol tersebut direndam dengan larutan disinfektan selama 30 menit lalu dibilas dengan Aquadest steril dan ditiriskan.

3.5.1.2 Pembuatan larutan Asam sulfat

Variasi konsentrasi asam sulfat yang digunakan adalah 0,1M; 0,2M; 0,4 M; 0,6M; dan 0,8M. Pembuatannya dilakukan dengan mengencerkan langsung dari larutan asam sulfat pekat 18M dengan aquades hingga volume masing-masing 250ml. Volume asam sulfat 18M yang diencerkan untuk masing-masing konsentrasi, dapat dilihat dari tabel berikut:

Tabel 3.1 Volume asam sulfat yang ditambahkan pada proses hidrolisis

| Konsentrasi (M) | Volume asam sulfat pekat 18M yang diencerkan 250ml |
|-----------------|--|
| 0,1 | 1,388 ml |
| 0,2 | 2,77 ml |
| 0,4 | 5,55 ml |
| 0,6 | 6,944 ml |
| 0,8 | 9,72 ml |

3.5.1.2 Pembuatan Kurva Baku Glukosa

Sebelum dilakukan analisis kadar gula pereduksi pada sampel, terlebih dahulu dibuat kurva standar glukosa. Kurva baku glukosa menyatakan hubungan antara konsentrasi glukosa dengan kerapatan optik (panjang gelombang 520 nm). Kurva ini dibuat untuk menentukan harga konsentrasi larutan glukosa dengan pengukuran transmisi cahaya menggunakan spektrofotometer dengan metode Somogyi-Nelson (Kusnadi, 2001: 40).

Pembuatan kurva baku glukosa dimulai dengan menimbang glukosa murni sebanyak 200 mg dan dilarutkan dalam 1000 ml aquades dan dikocok sampai homogen. Dengan mikropipet larutan tersebut diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 0,2 ml; 0,4 ml; 0,6 ml; 0,8 ml; 1,0 ml; 1,2 ml; 1,4 ml; 1,6 ml; 1,8 ml dan 2,0 ml. Selanjutnya ke dalam tabung reaksi tersebut ditambahkan aquades masing-masing sebanyak 1,8 ml; 1,6 ml; 1,4 ml; 1,2 ml; 1,0 ml; 0,8 ml; 0,6 ml; 0,4 ml; 0,2 ml; dan 0 ml sehingga volume masing-masing tabung 2 ml. Maka pada masing-masing tabung diperoleh konsentrasi glukosa 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180, 200 mg/ml.

Larutan Somogyi I sebanyak 1,6 ml dan Somogyi II sebanyak 0,4 ml ditambahkan ke dalam masing-masing tabung reaksi yang telah berisi larutan glukosa. Larutan tersebut dikocok dan ditutup dengan kelereng. Kemudian dimasukkan ke dalam penangas air mendidih selama 10 menit, lalu diangkat dan didinginkan dalam penangas es sampai mencapai suhu $\pm 20^{\circ}\text{C}$. Kemudian ditambahkan 2 ml larutan Nelson dan 4 ml aquades, maka volume total adalah 10 ml. Tabung reaksi ditutup dengan ibu jari dan dikocok dengan baik dan kuat,

hingga gas CO₂ tidak keluar lagi. Masing-masing larutan diukur *optical density* (OD) dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 520 nm. Nilai absorbansi dari kadar glukosa standar dibuat dengan grafik linier, kemudian kurva baku glukosa dapat dibuat dan diperoleh persamaan yang akan digunakan dalam penentuan kadar gula pereduksi dari sampel.

3.5.2 Penentuan konsentrasi H₂SO₄ optimum

Sebanyak 5 buah botol disiapkan dan diberi label, botol pertama digunakan untuk kulit singkong dengan pemberian larutan H₂SO₄ 0,1% . Botol ke dua untuk pemberian larutan H₂SO₄ 0,2%. Botol ke tiga untuk pemberian larutan H₂SO₄ 0,4%. Botol ke empat untuk pemberian larutan H₂SO₄ 0,6%. Botol ke lima untuk pemberian larutan H₂SO₄ 0,8%. Masing-masing Larutan dimasukan kedalam botol, tutup rapat dan dididihkan selama 30 menit dalam panci tertutup dengan suhu 78 °C.

Masing-masing sampel diukur kadar gulanya dengan metode somogyi nelson. Substrat dengan hasil akhir kadar gula paling tinggi, diambil sarinya untuk tahap selanjurnya (fermentasi).

3.5.3 Tahap Fermentasi

a. Persiapan substrat

Substrat dibuat berdasarkan hasil uji pendahuluan, diambil substrat dengan kadar gula paling tinggi berdasarkan data yang diperoleh.

b. Fermentasi (Skala Lab)

Substrat dengan kadar asam sulfat optimum dibuat 3 buah, disaring sebanyak 2x penyaringan. Penyaringan pertama menggunakan kain puring dan penyaringan kedua menggunakan kertas saring.

Setelah didapat, larutan hasil hidrolisis diatur pH nya menjadi 4, 5, dan 6 dengan penambahan NaOH, ukur dengan menggunakan pH indikator Sebelum diberi ragi tape. Setelah larutan hasil hidrolisis tersedia, ragi tape dimasukan. Tutup botol dengan plastik dan ditambahkan *wrap* pada bagian dalam untuk meminimalisir kontaminasi. Masing-masing botol fermentor diberi label sesuai dengan konsentrasi ragi tape yang diberikan. Botol-botol fermentor dimasukan kedalam inkubator dengan suhu 30 °C.

c. Destilasi

Pada hari yang sesuai dengan hasil fermentasi, sampel didestilasi dengan menggunakan destilator.

3.5.4 Tahap Analisis

a. Analisis Kadar Glukosa

Kadar gula pereduksi dalam sari smpah diukur dengan metode Somogyi-Nelson. Sebanyak 2 ml sari kulit singkong hasil hidrolisis diambil kemudian ditambahkan reagen Somogyi-Nelson (pengerjaan sesuai dengan pembuatan kurva baku glukosa). Kadar gula pereduksi diketahui berdasarkan nilai absorbansi sampel yang dikonversikan ke dalam persamaan pada kurva baku glukosa.

b. Analisis pH

Analisis pH pada kulit singkong yang difermentasi dengan ragi tape dilakukan menggunakan pH meter.

c. Uji GC

Sampel hasil destilasi dikirim ke laboratorium kimia LIPI untuk diuji GC, agar dapat diketahui kadar etanol yang dihasilkan.

