

Sintesis Bioetanol Dari Buah Berenuk (*Crescentia Cujete L.*) Dengan Metode Hidrolisis Asam Dan Fermentasi Alkoholik

Nurkholis¹⁾, Nur Rahmah Afifah²⁾, dan Samuyus Nealma³⁾

Fakultas Teknologi Pertanian, Program Studi Teknologi Industri Pertanian
Universitas Teknologi Sumbawa
Jl. Raya Olat Maras, Moyo Hulu, Kab. Sumbawa, Nusa Tenggara Barat
Telpon dan Fax. : (0371-2629009)
Corresponding author: nurkholis@uts.ac.id

Abstract

Berenuk (crescentia kujete) is a non-food plant that has the potential as a raw material for bioethanol, because the carbohydrate and its derivative content is quite high. The carbohydrate content of berenuk is converted into simple sugar through the hydrolysis stage, while bioethanol synthesis is carried out through alcoholic fermentation. This study aims to determine the effect of fermentation time and yeast concentration on the bioethanol content produced. Berenuk fermentation into bioethanol used bread yeast (saccharomyces cereviceae), with variations in fermentation times of 5, 7 and 9 days and yeast concentrations of 1%, 3%, and 5% (w / v). The results showed that the highest bioethanol content were produced at 9 days fermentation time and 1% yeast concentration was 7.33%.

Abstrak

Buah berenuk (*crescentia kujete*) merupakan tumbuhan non pangan yang berpotensi sebagai bahan baku bioetanol, karena kandungan karbohidrat dan turunan pada dagingnya cukup tinggi. Kandungan karbohidrat pada daging buah berenuk diubah menjadi gula sederhana melalui tahap hidrolisis, sedangkan sintesis bioetanol dilakukan melalui proses fermentasi alkoholik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh waktu fermentasi dan konsentrasi ragi terhadap kadar bioetanol yang dihasilkan. Fermentasi daging buah berenuk menjadi bioetanol menggunakan ragi roti (*saccharomyces cereviceae*), dengan variasi waktu fermentasi 5, 7 dan 9 hari serta konsentrasi ragi 1%, 3%, dan 5% (w/ v). Hasil penelitian menunjukkan kadar bioetanol tertinggi dihasilkan pada waktu fermentasi 9 hari dan konsentrasi ragi 1% yaitu 7,33%.

Keywords: *Berenuk (crescentia kujete L.), bioethanol, fermentation.*

1. Pendahuluan

Respon dari masalah krisis energi yang berdampak pada semua sektor kehidupan di Indonesia, mendorong lahirnya Kebijakan Energi Nasional (KEN) yang tertuang pada PerPres No. 5/ 2006. Dalam hal ini, konsumsi energi baru terbarukan ditingkatkan hingga 17%, dimana salah satunya yaitu *biofuel* sebanyak 5% [1]. Kelangkaan energi sebagai akibat dari menipisnya persediaan minyak bumi, mendorong pengembangan energi alternatif salah satunya yaitu konversi biomassa menjadi bioetanol. Bioetanol selain digunakan untuk kebutuhan industri, juga dapat menjadi sumber energi alternatif sebagai pengganti bahan bakar. Etanol memiliki kemampuan sebagai *octane booster* yang dapat meningkatkan nilai oktan, yang menyebabkan efisiensi bahan bakar meningkat dan mengandung oksigen sehingga hasil pembakarannya tidak menghasilkan polusi udara [2].

Bioetanol adalah etanol/ etil alkohol (C_2H_5OH) yang di produksi melalui proses fermentasi biologis. Bahan utama dalam produksi bioetanol terbuat dari bahan yang mengandung karbohidrat, gula, dan selulosa. Berbagai penelitian menyebutkan bahan tanaman yang berpotensi menghasilkan *biofuel* kebanyakan berasal dari tanaman pertanian yang mengandung glukosa, seperti jagung, singkong, tebu, kedelai, gandum, sorgum, dan kacang-kacangan. Di sisi lain, krisis pangan akan terjadi akibat 'perebutan' komoditas untuk kebutuhan produksi bahan bakar dan kebutuhan pangan. Salah satu alternatif untuk menangani permasalahan tersebut adalah dengan menggunakan bahan non-pangan yang berpotensi sebagai bahan baku bioetanol.

Buah berenuk (*crescentia cujete*) merupakan tumbuhan non pangan yang berpotensi sebagai bahan baku bioetanol, karena kandungan karbohidrat dan turunan pada dagingnya cukup tinggi. Pemanfaatan buah berenuk selama ini masih terbatas untuk obat herbal dan kulit buahnya yang sudah tua dapat dibuat kerajinan tangan. Daging buah berenuk mengandung 18,61% karbohidrat dan gula sederhana seperti sukrosa 59,86%, fruktosa 25,09% dan galaktosa 18,24% [3].

Proses produksi bioetanol secara umum terbagi dalam 4 (empat) tahapan, yaitu *pre-treatment*, hidrolisis, fermentasi, dan distilasi [4]. Hidrolisis adalah proses pemecahan senyawa kompleks menjadi senyawa sederhana dengan bantuan air [5]. Kandungan karbohidrat pada daging buah berenuk diubah menjadi gula sederhana melalui tahap hidrolisis. Proses hidrolisis terbagi menjadi 2 (dua) jenis, yaitu hidrolisis enzimatis dan kimiawi [6]. Hidrolisis kimiawi dengan menggunakan asam lebih dipilih karena biaya relatif murah dan waktu reaksi yang singkat.

Pada penelitian ini, proses hidrolisis dilakukan secara kimiawi menggunakan HCl. Katalis HCl menghasilkan glukosa lebih tinggi dibandingkan H_2SO_4 [7]. Hal ini terjadi karena H_2SO_4 bersifat membakar selulosa, sehingga glukosa yang dihasilkan lebih sedikit. Setelah hidrolisis berjalan sempurna maka dilanjutkan dengan fermentasi. Proses fermentasi dilakukan dengan penambahan ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*), salah satu spesies ragi yang dikenal mempunyai daya konversi gula menjadi etanol, yang menghasilkan enzim zimase dan invertase. Enzim zimase berfungsi sebagai pemecah sukrosa menjadi monosakarida (glukosa dan fruktosa). Enzim invertase selanjutnya mengubah glukosa menjadi etanol [8].

Fermentasi adalah proses yang memecah gula menjadi alkohol dan asam laktat dengan bantuan mikroorganisme [9]. Proses fermentasi dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya yaitu konsentrasi ragi dan lama fermentasi [10]. Pada penelitian ini diketahui pengaruh dari konsentrasi ragi dan lama fermentasi terhadap kadar bioetanol yang dihasilkan.

2. Teori

Bioetanol terbuat dari hasil fermentasi tanaman yang mengandung karbohidrat dengan bantuan mikroorganisme. Bioetanol dapat dikembangkan sebagai bahan bakar pengganti bahan bakar minyak (BBM). Bioetanol menjadi energi alternatif karena memiliki kandungan oksigen yang tinggi, bilangan oktan yang tinggi, mudah terurai dan dapat diperbaharui. Selain itu, bioetanol juga mempunyai batas sifat nyala yang luas, kecepatan nyala yang tinggi, dan kalor uap yang lebih tinggi dibandingkan bensin [11].

Etanol lebih baik karena memiliki nilai angka oktan sebesar 108,6 dan nilai motor oktan sebesar 89,7 angka tersebut melebihi nilai angka maksimal pada bensin yang bernilai 88. Berdasarkan kandungan tersebut dan pemakaian alkohol, bioetanol terbagi atas beberapa jenis, seperti: (1) *Industrial oil* (95-96,5% v/ v), (2) etanol netral yang aman untuk diminum dan *pharmaceutical ingredients* (96-99,5% v/ v), dan (3) etanol untuk bahan bakar dalam bentuk bahan bakar etanol (99,5-100% v/ v) [12].

Proses hidrolisis dalam sintesis bioetanol dapat menggunakan asam pekat dan dilakukan pada suhu yang rendah. Suhu yang lebih rendah meminimalisir degradasi gula. Keuntungan dari penggunaan asam pekat ini adalah konversi gula yang dihasilkan tinggi, yaitu bisa mencapai konversi 90% [5]. Menurut Megawati dkk. (2009), reaksi kimia yang terjadi pada proses hidrolisis dapat dituliskan sebagai reaksi antara polimer dengan air, yang dituliskan pada persamaan (1).



Menurut Ni'mah dkk. (2015), beberapa faktor yang mempengaruhi proses hidrolisis asam, antara lain:

a. Bahan baku

Kandungan karbohidrat pada bahan baku akan mempengaruhi gula yang dihasilkan pada hidrolisis asam. Karbohidrat yang rendah akan menghasilkan gula dalam jumlah sedikit, sedangkan karbohidrat yang terlalu tinggi akan menghasilkan campuran yang kental, dimana frekuensi tumbukan antara molekul karbohidrat dan air berkurang. Hal ini menyebabkan kecepatan reaksi pembentukan glukosa menjadi berkurang.

b. pH

Pada proses hidrolisis asam, pH sangat tergantung pada konsentrasi asam yang digunakan. Pada umumnya, pH yang optimum adalah 2,3.

c. Waktu hidrolisis

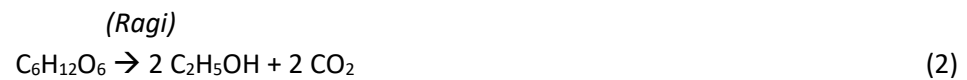
Semakin lama waktu pemanasan, maka akan semakin besar pula konversi yang dihasilkan. Waktu optimal yang diperlukan untuk proses hidrolisis asam adalah sekitar 1-3 jam.

d. Suhu

Hubungan antara suhu dan kecepatan hidrolisis karbohidrat akan mengikuti persamaan Arrhenius, yaitu semakin tinggi suhu maka semakin besar konversi gula yang dihasilkan. Tetapi, jika suhu terlalu tinggi akan menyebabkan konversi yang diperoleh akan menurun, karena glukosa akan terdegradasi.

Setelah dihasilkan glukosa, selanjutnya dilakukan proses fermentasi dengan menggunakan bakteri atau ragi yang dapat mengkonversi gula menjadi bioetanol. Fermentasi alkohol adalah proses penguraian karbohidrat menjadi etanol dan CO₂ yang dihasilkan oleh aktivitas suatu jenis mikroba yang disebut khamir dan keadaan anaerob dengan keberadaan substrat yang sesuai bagi pertumbuhannya. Ragi *saccharomyces cereviceae* merupakan mikroorganisme eukariot bersel tunggal dan umumnya digunakan pada industri makanan dan minuman seperti roti, tempe, bir dan lain-lain[15].

Bahan baku yang mengandung senyawa organik terutama glukosa dan pati dapat digunakan sebagai substrat dalam proses fermentasi bioetanol [16]. Secara ringkas reaksi perubahan pati/ polisakarida menjadi alkohol fermentasi adalah sebagai berikut:



Pada proses fermentasi, suhu sangat berpengaruh terhadap aktivitas enzim khamir dan hasil alkohol karena terjadi penguapan. Laju reaksi fermentasi akan bertambah sesuai dengan suhu yang optimum yaitu 27-32°C. Di sisi lain, suhu optimum ragi roti mempunyai suhu maksimal sekitar 19-32°C. Selain suhu, pertumbuhan mikroba dalam ragi roti dipengaruhi oleh pH, dimana pH yang sesuai dengan *saccharomyces cereviceae* adalah 3,4-4 [16].

Faktor lain yang mempengaruhi kecepatan reaksi fermentasi adalah konsentrasi ragi. Konsentrasi ragi yang kurang dari kadar optimal dapat mengurangi kecepatan fermentasi karena sedikitnya mikroorganisme yang menguraikan glukosa menjadi etanol, sedangkan konsentrasi ragi yang terlalu banyak menyebabkan substrat yang tersedia tidak cukup [17]. Konsentrasi ragi yang diberikan pada larutan yang akan difermentasikan optimalnya adalah 2-4% [18]. Selain itu, diperlukan tambahan makanan bagi pertumbuhan ragi, misalnya: garam amonium dari pupuk urea dan garam fosfat yang diperoleh dari pupuk NPK. Di sisi lain, kadar etanol yang dihasilkan tergantung dari waktu fermentasi. Kadar etanol yang dihasilkan akan semakin tinggi sampai waktu yang optimal dan setelah itu akan menurun [16].

Bioetanol yang dihasilkan pada proses fermentasi biasanya dengan kadar rendah, sehingga untuk memperoleh bioetanol dengan kadar yang tinggi dapat dilakukan dengan proses pemekatan, yaitu dengan distilasi. Proses distilasi dapat dilakukan pada 2 (dua) tingkat yaitu beer dan rectifying column, sehingga kadar bioetanol yang dihasilkan memenuhi spesifikasi fuel based ethanol yaitu 95% [19].

3. Metodologi

3.1 Bahan dan Alat Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah antara lain daging buah berenuk, akuades, HCl 3 M, dan ragi roti (*saccharomyces cereviceae*), sedangkan alat-alat yang digunakan adalah *blender*, alat titrasi, *hotplate*, termometer, fermentor, alat distilasi dan alkoholmeter.

3.2. Prosedur Penelitian

Proses pembuatan bioetanol dilakukan dalam 2 (dua) tahap, yaitu hidrolisis daging buah berenuk dan dilanjutkan dengan fermentasi hidrolisat menjadi bioetanol.

3.2.1. Tahap Hidrolisis

Sebanyak 2.000 gram daging buah berenuk yang telah dihaluskan dicampur dengan akuades sebanyak 1 L dan ditambahkan larutan HCl 3 M dengan pola titrasi asam hingga pH larutan berkisar antara 4-5, kemudian larutan dipanaskan dengan *hotplate* dengan suhu 100 °C sambil diaduk selama 1 jam. Hasil hidrolisis didinginkan lalu dipisahkan antara *cake* daging buah berenuk dengan larutan hidrolisat. Pada tahap hidrolisis dihasilkan larutan hidrolisat sebanyak 2 L.

3.2.2. Tahap Fermentasi

Larutan hidrolisat dimasukkan ke dalam fermentor, dimana setiap fermentor mengandung 100 mL larutan hidrolisat yang kemudian dikonversi menjadi bioetanol. Proses fermentasi ini berlangsung dalam kondisi *anaerobic* dengan suhu fermentasi 30 °C. Larutan hidrolisat ditambahkan *saccharomyces cereviceae* dalam bentuk *dry baker yeast* komersial (ragi roti) dengan berat sebesar 1, 3, dan 5 g, sehingga konsentrasi ragi menjadi 1%, 3%, dan 5% (w/ v). Proses fermentasi menggunakan sistem *batch culture* dan difermentasikan dengan waktu 5, 7, dan 9 hari.

3.2.3. Tahap Pemurnian

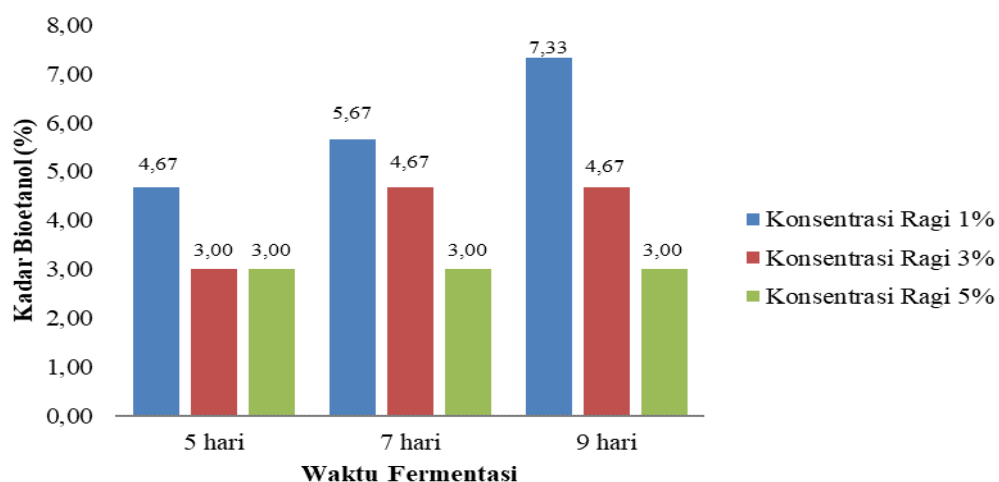
Setelah proses fermentasi selesai, dilakukan distilasi untuk memurnikan bioetanol. Suhu pemanas dijaga pada suhu 100 °C, dan dilakukan selama 3-4 jam hingga etanol tidak menetes lagi. Etanol yang dihasilkan kemudian diukur kadarnya dengan menggunakan alkoholmeter.

4. Hasil dan Pembahasan

Bahan baku daging buah berenuk terlebih dahulu dihidrolisis dengan asam klorida (HCl) 3 M pada suhu 100 °C selama 1 jam. Proses ini bertujuan untuk memecah rantai karbohidrat kompleks menjadi lebih sederhana. Daging buah berenuk terlebih dihaluskan dengan tujuan agar luas permukaan kontak substrat dengan mikroorganisme dapat berlangsung dengan optimal. Hasil hidrolisis didinginkan lalu dipisahkan antara *cake* daging buah berenuk dengan larutan hidrolisat. Larutan hidrolisat dimasukkan kedalam fermentor, dimana setiap fermentor mengandung 100 mL larutan hidrolisat dan ditambahkan *saccharomyces cereviceae* dalam bentuk *dry baker yeast* komersial (ragi roti) dengan berat sebesar 1%, 3%, dan 5% (w/ v) yang akan dikonversi menjadi bioetanol. Proses fermentasi ini berlangsung dalam kondisi *anaerobic* dengan suhu fermentasi 30 °C. Proses fermentasi menggunakan sistem *batch culture* dan difermentasikan dengan waktu 5, 7, dan 9 hari.

4.1. Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Bioetanol

Pengaruh waktu fermentasi terhadap kadar bioetanol dapat dijelaskan oleh grafik hubungan antara waktu fermentasi terhadap kadar bioetanol (Gambar 1) dengan parameter konsentrasi ragi.

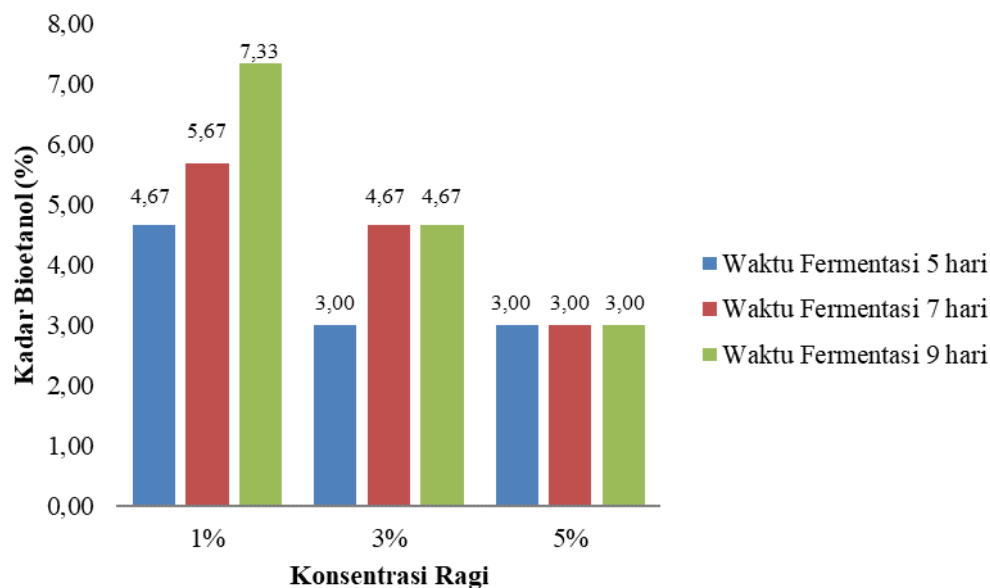


Gambar 1. Pengaruh Waktu Fermentasi terhadap Kadar Etanol

Pada dasarnya semakin lama waktu fermentasi maka jumlah mikroba akan semakin berkurang, karena mikroba akan menuju fase kematian dimana alkohol yang dihasilkan semakin banyak, sedangkan makanan mikroba semakin berkurang [20]. Gambar 2 menunjukkan bahwa kadar bioetanol maksimal diperoleh pada waktu fermentasi 9 hari dengan konsentrasi ragi sebanyak 1% yaitu sebesar 7,33%. Hal ini dikarenakan semakin lama fermentasi berlangsung maka jumlah mikroba akan semakin banyak yang tumbuh, sehingga produksi alkohol akan semakin tinggi [21]. Dalam hal ini, lama fermentasi 9 hari merupakan waktu yang dimana aktivitas ragi *saccharomycess cereviseae* bekerja secara optimal (fase eksponensial), dimana aktivitas enzimatis tidak terhambat. Tetapi, bila poses fermentasi berlangsung terlalu lama maka kemungkinan substrat dan nutrien akan habis sehingga ragi tidak lagi dapat memfermentasi bahan. Pada variasi waktu fermentasi 5 hari dan 7 hari dan konsentrasi ragi yang sama 1%, diperoleh kadar bioetanol yang lebih rendah yaitu secara berturut-turut 4,67% dan 5,67%. Hal ini terjadi karena pada waktu fermentasi tersebut, aktivitas ragi dalam mengkonsumsi substrat untuk dikonversi menjadi bioetanol belum maksimal, sehingga kadar bioetanol menjadi relatif lebih rendah.

4.2 Pengaruh Konsentrasi Ragi Terhadap Kadar Bioetanol

Pengaruh konsentrasi ragi terhadap kadar bioetanol dapat dijelaskan oleh grafik hubungan antara konsentrasi ragi terhadap kadar bioetanol (Gambar.2) dengan parameter waktu fermentasi.



Gambar 2. Pengaruh Konsentrasi Ragi Terhadap Kadar Bioetanol

Pada proses fermentasi, semakin banyak ragi maka akan semakin cepat pula reaksi fermentasi terjadi [16]. Gambar 2. menunjukkan bahwa kadar bioetanol maksimal diperoleh pada konsentrasi ragi sebanyak 1% dengan waktu fermentasi 9 hari yaitu sebesar 7,33%, sedangkan pada perlakuan konsentrasi ragi yang lebih banyak yaitu 3% dan 5% dan waktu fermentasi yang sama 9 hari menghasilkan kadar bioetanol yang relatif rendah yaitu berturut-turut 4,67% dan 3,00%. Dalam hal ini, konsentrasi ragi sangat tergantung pada substrat yang tersedia. Pada konsentrasi ragi yang lebih besar, kompetisi untuk perebutan substrat dan

nutrien untuk pertumbuhan ragi akan terjadi. Jika mikroorganisme tersedia dalam jumlah banyak, sedangkan substrat dalam jumlah yang terbatas maka substrat yang dapat terkonversi menjadi bioetanol juga akan sedikit.

5. Kesimpulan

Hasil terbaik dari proses fermentasi daging buah berenuk menjadi bioetanol, diperoleh pada waktu fermentasi 9 hari dengan konsentrasi ragi 1 % (w/v) yaitu kadar bioetanol sebesar 7,33%. Kadar bioetanol yang dihasilkan belum memenuhi spesifikasi *fuel based ethanol*.

Daftar Pustaka

- [1] Mariyamah. Analisa Konsumsi Penggunaan Bahan Bakar Campuran Biodiesel Jarak Pagar dan Solar Pada Boiler. *Alkimia*, Vol. 1 (1), hal. 37-42, 2017
- [2] Prihandana, R. Bioetanol Ubi Kayu Bahan Bakar Masa Depan. Jakarta : Agromedia Pustaka, 2007.
- [3] Ejelonu, B.C., Lasisi, A.A., Olaremu, A.G., dan Ejelonu, O.C. *The Chemical Constituents of Calabash (Crescentia cujete)*. *African Journal of Biotechnology*, Vol. 10(84), hal. 19631-19636. 2011
- [4] Muthuvelayudham, R. dan Viruthagiri, R. *Optimizaton and Modeling of Cellulase Protein from Trichoderma ressei Rut C30 Using Mixed Substrate*. *African Journal of Biotechnology*, 6(1), hal.41. 2007
- [5] Winarno, F.O. Kimia Pangan dan Gizi. Jakarta : Gramedia Pustaka Utama. 2004
- [6] Badger, PC . *Ethanol from Cellulose : A General Review. In Trend in New Crops and New Uses*, J. Jannick and A. Whipkey (eds). Alexandria, VA : ASHS Press. 2002
- [7] Siswati, N. D., Yatim, M., dan Hidayanto, R. Bioetanol dari Limbah Kulit Kopi dengan Proses Fermentasi. *Jurnal Teknik Kimia*, Vol. 3 (2), 2009.
- [8] Judoamidjojo, M., Abdul, A.D., dan Endang. G.S. *Teknologi Fermentasi*. Jakarta : Rajawali Press.1992.
- [9] Chandel, A.K., Chan, E., Rudravaram, R., Narasu, M.L., Rao, L.V., dan Ravindra, P. *Economics and environmental impact of bioethanol production technologies: an appraisal*. *Biotechnol Mol Biol*, 2 (14), hal. 32. 2007.
- [10] Setiawati, D. R., Sinaga, A. R., dan Dewi, T. K. 2013. Proses Pembuatan Bioetanol dari Kulit Pisang Kepok. *Jurnal Teknik Kimia*, Vol. 19 (1), hal. 9-15.
- [11] Balat, M., H. Balat., and C. Öz. *Progress in Bioethanol Processing*. *Energy and Combustion Science*, Vol. 34, hal. 551-573. 2007

- [12] Gil, I. D., García, L. C., dan Rodríguez, G. *Simulation of Ethanol Extractive Distillation with Mixed Glycols as Separating Agen. Brazilian Journal of Chemical Engineering*, Vol. 31 (1), hal. 259 – 270. 2014.
- [13] Megawati, Sediawan, W. B., Sulisty, H., dan Hidayat, M. Kinetika Reaksi Hidrolisis Ranting Kering dengan Asam Encer Pada Kondisis Non-Isotermis. *Reaktor*, Vol. 12 (4), hal. 211-217. 2009.
- [14] Ni'mah, L., Ardiyanto, A., dan Zainuddin, M. Pembuatan Bioetanol dari Limbah Serat Kelapa Sawit Melalui Proses Pre-treatment, Hidrolisis Asam dan Fermentasi Menggunakan Ragi Tape. *Info Teknik*, Vol. 16 (2), hal. 227-242, 2015
- [15] Jhonprimen, H. S., Turnip, A., dan Dahlan, M. H. Pengaruh Massa Ragi, Jenis Ragi dan Waktu Fermentasi Pada Bioetanol dari Biji Durian. *Jurnal Teknik Kimia*, Vol. 18 (2), hal. 43-51. 2012.
- [16] Prescott, S. G., and Said, C. G. *Industrial Microbiology* ed. 3., New York : McGraw-Hill Book Company. 1995
- [17] Winarno, F. G., dan Fardiaz, S.. *Pengantar Teknologi Pangan*, Jakarta : Gramedia. 1992
- [18] Satuhu, S., dan Supardi, A. *Budidaya Pisang: Pengolahan dan Prospek*, Jakarta : Penebar Swadaya. 1994
- [19] Senam. *Prospek Bioetanol Sebagai Bahan Bakar yang Terbarukan dan Ramah Lingkungan. Prosiding Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan dan Penerapan MIPA UNY*, hal. 359-366. 2009.
- [20] Kunaepah, U. *Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Gluksoa Terhadap Aktivitas Antibakteri, Polifenol Total dan Mutu Kimia Kefir Susu Kacang Merah*, Semarang : Universitas Diponegoro. 2008
- [21] Asngad, A. *Pemanfaatan Lidah Buaya (Aloe vera) Menjadi Produk Makanan Berserat dengan Penambahan Berbagai Jenis Gula*, Surakarta : Universitas Muhammadiyah Surakarta. 2008