

Pengaruh Variasi Konsentrasi Asam pada Pembuatan Bioetanol dari Buah Kumbi (*Voacanga foetida* (Bl.) ROLFE) melalui Proses Hidrolisis

Sulwiyatul Kamariyah Sani

Teknologi Rekayasa Kimia Industri, Teknik Mesin, Politeknik Negeri Medan, Medan, Indonesia

Email: sulwiyatulkamariyah@polmed.ac.id

Abstract

Currently, the availability of petroleum and natural gas as non-renewable energy sources is steadily decreasing. One alternative energy source that can be developed for the future is bioethanol, as it is renewable and environmentally friendly. The kumbi fruit (*Voacanga foetida* (Bl.) ROLFE) is a potential raw material for bioethanol production due to its cellulose content, which can be converted into bioethanol. The objective of this study was to investigate the effect of acid concentration on the hydrolysis process in the production of bioethanol from kumbi fruit. In this study, hydrolysis was carried out using HCl at concentrations of 1%, 2%, 3%, 4%, and 5% (v/v) at 70°C for 90 minutes. To determine the reducing sugar content produced, the hydrolysate was analyzed using UV-Vis spectrophotometry. The hydrolysate was then fermented using baker's yeast containing *Saccharomyces cerevisiae* for 72 hours. The fermentation product was distilled at 78°C, and the obtained bioethanol was analyzed using GC-MS. The results showed that the highest reducing sugar concentration was obtained at 2% acid concentration, amounting to 7.18 g/L, while the highest crude bioethanol yield was 47.64%, achieved at 4% acid concentration with a reducing sugar content of 1.04 g/L.

Keywords: Acid Concentration, Kumbi Fruit, Bioethanol, Hydrolysis.

Abstrak

Dewasa ini ketersediaan migas sebagai sumber energi yang tidak dapat diperbarui semakin berkurang. Salah satu sumber energi alternatif yang dapat dikembangkan di masa mendatang adalah bioetanol karena dapat diperbarui serta ramah lingkungan. Buah kumbi (*Voacanga foetida* (Bl.) ROLFE) merupakan salah satu bahan yang potensial untuk menghasilkan bioetanol karena mengandung selulosa yang dapat dikonversi menjadi bioetanol. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mempelajari pengaruh konsentrasi asam melalui proses hidrolisis pada pembuatan bioetanol dari buah kumbi. Pada penelitian ini, proses hidrolisis dilakukan menggunakan HCl dengan konsentrasi 1%, 2%, 3%, 4%, dan 5% (v/v) pada suhu 70°C selama 90 menit. Untuk mengetahui kadar gula reduksi yang dihasilkan, hidrolisat di analisis menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Selanjutnya, hidrolisat di fermentasi menggunakan ragi roti yang mengandung *Saccharomyces cerevisiae* selama 72 jam. Hasil fermentasi di destilasi pada suhu 78°C dan bioetanol yang diperoleh di analisis dengan GC-MS. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi gula reduksi tertinggi diperoleh pada konsentrasi asam 2% sebesar 7,18 gr/L, sedangkan rendemen bioetanol kasar tertinggi sebesar 47,64% diperoleh pada konsentrasi asam 4% dengan kadar gula reduksi sebesar 1,04 gr/L.

Kata Kunci: Konsentrasi Asam, Buah Kumbi, Bioethanol, Hidrolisis.

1. PENDAHULUAN

Seiring bertambahnya populasi penduduk mengakibatkan kebutuhan terhadap energi semakin meningkat. Ketersediaan minyak dan gas sebagai salah satu sumber energi yang tidak dapat diperbarui (*nonrenewable energy*) juga semakin menipis.

Melalui Peraturan Presiden Republik Indonesia Nomor 5 Tahun 2006 tentang Kebijakan Energi Nasional, pemerintah terus berupaya untuk menggantikan bahan bakar fosil (BBM) dengan mengembangkan sumber energi alternatif (Prihandana, 2007). Salah satu yang sangat potensial untuk dikembangkan adalah bioetanol.

Bioetanol merupakan salah satu sumber energi yang dapat diperbarui (*renewable energy*) karena berasal dari sumber hayati. Selain itu, bioetanol juga dikategorikan sebagai *green energy* yang ramah lingkungan karena hasil pembakarannya murni hanya menghasilkan karbodioksida tanpa zat polutan lainnya (Prihandana, 2007). Bioetanol dapat dihasilkan dari berbagai jenis bahan baku yang tersedia melimpah di Indonesia sehingga memiliki potensi besar untuk dikembangkan. Salah satu sumber yang menjanjikan adalah bahan-bahan yang mengandung lignoselulosa karena material ini telah terbukti memiliki kemampuan yang tinggi untuk dimanfaatkan sebagai sumber energi terbarukan yang ramah lingkungan (Sriana et al., 2021).

Buah kumbi (*Voacanga foetida (Bl.) Rolfe*) adalah salah satu bahan berselulosa yang cukup potensial untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku bioetanol. Kumbi merupakan salah satu tanaman khas pulau Lombok yang dapat ditemukan hampir disemua wilayah di Lombok dimana keberadaannya masih kurang termanfaatkan. Buahnya mengandung selulosa yang cukup tinggi yakni sekitar 30% sehingga berpotensi sebagai bahan baku pembuatan bioetanol (Ayuarni, 2014).

Untuk dapat menghasilkan bioetanol setidaknya harus melewati dua tahapan penting yaitu hidrolisis dan fermentasi (Zulnazri et al., 2024). Hidrolisis merupakan proses penguraian molekul kompleks polisakarida (pati dan selulosa) menjadi molekul yang lebih sederhana seperti glukosa, sukrosa, maupun fruktosa yang selanjutnya akan difermentasi menghasilkan bioetanol (Maharani et al., 2021). Dalam proses fermentasi, glukosa akan dikonversi menjadi etanol dan gas karbon dioksida dengan bantuan ragi/yeast jenis *Saccharomyces cereviceae* dalam kondisi anaerob.

Dalam proses hidrolisis, variabel seperti konsentrasi asam, suhu, dan durasi reaksi sangat menentukan jumlah gula yang dihasilkan yang pada akhirnya akan memengaruhi rendemen bioethanol (Wardani, 2018). Penggunaan asam dengan konsentrasi rendah (asam encer) lebih disukai karena mempermudah pencampuran, sehingga reaksi berlangsung lebih merata dan efisien. Konsentrasi asam encer yang umum digunakan berada pada kisaran 2–5% (Mood et al., 2013). Hidrolisis menggunakan asam encer umumnya melibatkan asam mineral seperti H_2SO_4 dan HCl (Taherzadeh dan Karimi, 2007), namun HCl lebih banyak dipilih karena garam hasil netralisasinya tidak bersifat toksik.

Penelitian tentang pengaruh konsentrasi asam hidrolisis pada pembuatan bioetanol sudah pernah dilakukan dilakukan oleh Irawan (2012) menggunakan bahan sampah organik dimana kondisi terbaik hidrolisis didapatkan pada konsentrasi HCl 0,75% dengan kadar gula 29,34 mg/ml yang menghasilkan etanol dengan yield sebesar 13,09%. Sementara itu, penelitian yang dilakukan oleh Osvaldo et al. (2012) memberikan kadar etanol tertinggi sebesar 5,0675% pada konsentrasi asam 2%. Sedangkan dari penelitian yang dilakukan oleh Wardani (2012) dengan menggunakan kulit kakao menghasilkan bioetanol tertinggi yaitu 59,6% pada konsentrasi asam 4% dan Ariyani (2013) menghasilkan bioetanol dari jerami padi sebesar 6,41% menggunakan HCl 21% dengan kadar gula 70,85 ppm. Adapula penelitian oleh Erna et al. (2016) menghidrolisis kulit ubi kayu menggunakan larutan HCl diperoleh hasil bahwa konsentrasi optimum terdapat pada asam klorida 15%, dengan kadar glukosa tertinggi sebesar 9,9%. Namun, penggunaan konsentrasi asam yang terlalu tinggi dapat meningkatkan kekuatan hidrolisis sehingga menyebabkan hemiselulosa dan selulosa mengalami degradasi lanjutan hingga membentuk senyawa karbon (Sarmal, 2023).

Oleh karena itu, berdasarkan uraian diatas maka penelitian ini akan menitik beratkan pada “Pengaruh Variasi Konsentrasi Asam Pada Pembuatan Bioetanol dari Buah Kumbi (*Voacanga foetida* (Bl.) ROLFE) Melalui Proses Hidrolisis” guna melihat pengaruh variasi konsentrasi asam yaitu HCl pada proses hidrolisis selulosa dari buah kumbi khususnya terhadap kadar gula dan rendemen bioetanol yang dihasilkan. Konsentrasi HCl yang akan digunakan yakni antara 1-5% (v/v) sehingga dapat diketahui pada konsentrasi HCl berapa diperoleh bioetanol yang optimum. Penelitian ini dibedakan secara signifikan dari studi sebelumnya melalui pemanfaatan buah kumbi yang masih belum banyak diteliti serta pendekatan sistematis dalam mengevaluasi pengaruh variasi konsentrasi HCl terhadap hasil hidrolisis dan fermentasi. *Research gap* yang ingin diisi adalah kurangnya data ilmiah mengenai bioetanol dari buah kumbi dan pengaruh spesifik variasi konsentrasi asam terhadap efisiensi konversi lignoselulosa dari bahan ini menjadi bioetanol terutama dalam konteks pemanfaatan sumber daya lokal dan pendekatan teknologi sederhana yang berkelanjutan.

2. METODOLOGI PENELITIAN

1. Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah seperangkat alat destilasi, alat-alat gelas, pisau, blender, termometer, hot plate, timbangan analitik, pipet tetes, sendok, pH meter, waterbath shaker, oven, UV-Visibel Uvicon dan GC-MS Ultra Simadzu QP-2010. Alat penunjang: alumunium foil, kertas saring dan kertas label.

2. Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah buah kumbi yang sudah matang, ragi roti/fermipan (*Saccharomices cerevisiae*), NaOH (Natrium Hidroksida) pellet p.a, CH₃COOH (asam asetat) glasial p.a, H₂SO₄ (asam sulfat) pekat p.a, HCl (asam klorida) pekat p.a, CO(NH₂)₂ (urea) p.a, KH₂PO₄ (kalium hidrogen fospat) p.a, aquadest, pereaksi Nelson A, pereaksi Nelson B, pereaksi arsenomolibdat, etanol p.a, dan glukosa.

3. Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan melalui beberapa tahapan meliputi: persiapan sampel, proses hidrolisis, fermentasi, destilasi, serta analisis kadar etanol. Selain itu, dilakukan pula analisis tambahan seperti pengukuran kadar air, kandungan selulosa, kadar gula reduksi dengan metode Nelson-Somogyi, dan analisis kadar lignin. Rangkaian tahapan secara lengkap disajikan sebagai berikut:

a. Persiapan Sampel

Perlakuan awal terhadap buah kumbi meliputi proses pencucian, pemisahan kulit dan biji, pemotongan, serta penjemuran di bawah sinar matahari selama kurang lebih tiga hari. Setelah kering, buah dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk, kemudian diayak untuk memperoleh tekstur yang halus dan homogen.

b. Analisis Kadar Air

Penetapan kadar air dilakukan dengan metode pengeringan menggunakan oven. Buah kumbi yang telah dikupas dan dipotong kecil ditimbang, kemudian dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C selama dua jam. Sampel selanjutnya didinginkan dalam desikator selama 15 menit dan ditimbang kembali. Proses pengeringan diulang hingga berat sampel mencapai nilai konstan.

c. Analisis Kadar Selulosa

Sebanyak 3 gram sampel kering dimasukkan ke dalam gelas kimia berkapasitas 250 mL, lalu ditambahkan 15 mL larutan NaOH 17,5% dan dimaserasi selama satu menit. Proses dilanjutkan dengan penambahan bertahap larutan NaOH 17,5% sebanyak 10 mL setiap 2,5 menit hingga tiga kali, kemudian campuran didiamkan selama 30 menit. Selanjutnya, 100 mL aquades ditambahkan dan campuran kembali diinkubasi selama 30 menit. Setelah penyaringan, residu dicuci menggunakan aquades sebanyak lima kali masing-masing 50 mL. Endapan yang diperoleh dipindahkan ke gelas kimia, dicuci ulang dengan 400 mL aquades, ditambahkan 10 mL asam asetat glasial 2 N, diaduk selama lima menit, disaring kembali, dan dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C hingga diperoleh berat kering yang konstan setelah pendinginan dalam desikator.

d. Analisis Kadar Lignin

Sebanyak 2 gram sampel ditambahkan secara bertahap dengan 40 mL H₂SO₄ 72% sambil diaduk hingga campuran homogen dan seluruh sampel terendam sempurna. Campuran diinkubasi pada suhu 20°C selama dua jam, kemudian ditambahkan 400 mL aquades dan direfluks selama empat jam. Endapan lignin yang terbentuk disaring, dicuci dengan air panas, dikeringkan dalam oven, kemudian ditingginkan dalam desikator dan ditimbang setiap 15 menit hingga diperoleh berat konstan.

e. Proses Hidrolisis

Bubuk buah kumbi halus ditimbang sebanyak 12.5 gram lalu dihidrolisis dengan 100 ml HCl dengan konsentrasi 1% (v/v) selama 90 menit pada suhu 70°C. Tahap ini diulangi untuk HCl dengan variasi konsentrasi 2% (v/v); 3% (v/v); 4% (v/v); dan 5% (v/v).

f. Uji Kadar Gula Reduksi (Metode Nelson-Somogyi)

Sebanyak 1 mL larutan hasil hidrolisis dimasukkan ke dalam tabung reaksi bersih dan kering, kemudian ditambahkan masing-masing 1 mL pereaksi Nelson A dan Nelson B. Prosedur perlakuan mengikuti metode yang digunakan dalam pembuatan kurva kalibrasi. Kadar gula reduksi ditentukan berdasarkan nilai absorbansi sampel yang diperoleh, kemudian dihitung melalui persamaan regresi atau kurva standar dari larutan glukosa.

g. Proses Fermentasi

Proses fermentasi dilakukan dengan mencampurkan 50 gram hidrolisat HCl 1% (v/v) dengan 10 gram ragi kering aktif (fermipan), 4 gram urea, dan 4 gram KH₂PO₄, kemudian ditambahkan 250 mL aquades. pH campuran disesuaikan menjadi pH 4 menggunakan larutan NaOH 1 M. Setelah mencapai pH yang diinginkan, campuran difermentasi dengan pengocokan (*shaker*) selama 24 jam pada suhu 30°C, lalu diinkubasi dalam kondisi gelap pada suhu ruang selama 72 jam. Prosedur serupa diterapkan pada hidrolisat hasil hidrolisis dengan HCl konsentrasi 2% (v/v), 3% (v/v), 4% (v/v), dan 5% (v/v).

h. Destilasi

Filtrat hasil fermentasi dari masing-masing variasi konsentrasi HCl 1-5% (v/v) disaring dan dimasukkan ke dalam alat destilasi. Proses destilasi dilakukan pada suhu 78°C selama tiga jam untuk memperoleh fraksi etanol.

i. Analisis GC-MS

Bioetanol hasil destilasi dianalisis menggunakan instrumen *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS) untuk mengidentifikasi senyawa berdasarkan pola kromatogram yang dihasilkan.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Preparasi Sampel

Buah kumbi yang digunakan yakni buah kumbi yang sudah matang dengan ciri berwarna kuning hingga oranye.



Gambar 1. Buah Kumbi Matang

Selanjutnya, buah kumbi tersebut dikupas kulitnya kemudian dihilangkan getah dan biji yang menempel pada dagingnya sehingga yang tersisa hanya daging buah yang berwarna agak kekuningan hingga agak oranye. Daging buah yang telah bersih kemudian diiris tipis-tipis agar memudahkan proses pengeringannya. Selanjutnya dilakukan proses pengeringan daging buah kumbi yaitu dengan penjemuran di bawah sinar matahari. Daging buah kumbi yang telah dikeringkan selanjutnya mengalami proses pengecilan ukuran menjadi serbuk halus yang lebih homogen dengan bantuan blender, kemudian diayak untuk memperoleh partikel berukuran seragam.

Selain itu, dalam proses preparasi sampel ini juga dilakukan penentuan berat dari masing-masing komponen yang ada pada buah kumbi. Adapun komponen yang terdapat dalam satu buah kumbi utuh dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komponen Buah Kumbi

Parameter	Berat (gr)	Percentase (%)
Daging buah basah	87,6073	83,5716
Daging buah kering	9,4022	10,7322
Kulit buah	10,6722	10,1806
Biji buah	4,0187	3,8336

3.2. Analisis Kadar Air, Selulosa dan Lignin

Analisis kadar air dalam penelitian ini dilakukan menggunakan metode oven berdasarkan SNI 01-3182-1992, yang mengacu pada prinsip gravimetri, yaitu penentuan kadar air dengan mengukur kehilangan massa biomassa akibat penguapan air. Umumnya, pengeringan dilakukan pada suhu 105°C selama 3 jam atau hingga berat sampel menjadi konstan (Winarno, 2002). Dalam penelitian ini, proses pengeringan dilakukan pada suhu yang sama, yaitu 105°C, dengan pendinginan sampel di dalam desikator setiap satu jam selama 10–15 menit, hingga diperoleh berat konstan yang menunjukkan bahwa seluruh kandungan air telah menguap secara optimal.

Pengukuran kadar selulosa dilakukan menggunakan metode yang dikembangkan oleh Saleh (2009), yang juga menggunakan prinsip gravimetri. Sementara itu, analisis kadar lignin mengacu pada metode yang digunakan oleh Hendriwati (2014), dengan pendekatan yang sama, yakni berdasarkan prinsip gravimetri seperti pada analisis kadar air dan selulosa. Hasil dari ketiga analisis ini—kadar air, selulosa, dan lignin—disajikan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Analisis Kadar Air, Selulosa, dan Lignin Buah Kumbi

Parameter	Berat (gr)	Percentase (%)
Kadar air	78,2051	89,2678
Selulosa	0,7274	24,2467
Kadar lignin	0,1001	5,005

Berdasarkan data pada Tabel 2, kandungan selulosa dalam buah kumbi tercatat sekitar 24%, sedangkan kadar ligninnya sekitar 5%. Lignin melapisi selulosa dan hemiselulosa dalam dinding sel sehingga dapat menghalangi akses enzim atau asam ke selulosa. Tingginya kadar lignin berarti biomassa akan lebih sulit dihidrolisis sehingga menurunkan efisiensi konversi selulosa menjadi glukosa sehingga menurunkan efisiensi produksi bioetanol. Namun, kandungan lignin dalam buah kumbi tergolong kecil sehingga tidak terlalu menghambat proses hidrolisis selulosa. Sementara itu, kandungan selulosa dalam buah kumbi lebih tinggi dibandingkan dengan limbah daun yang umumnya hanya mengandung sekitar 15–20% selulosa, meskipun sedikit lebih rendah dibandingkan dengan buah bintaro (*Cerbera odollam*) yang memiliki kadar selulosa sebesar 36,945% dan lignin sebesar 38% (Handoko *et al.*, 2012). Selulosa yang terdapat dalam buah kumbi ini selanjutnya akan mengalami proses hidrolisis menjadi glukosa, yang kemudian akan dikonversi lebih lanjut menjadi bioetanol. Semakin tinggi kadar selulosa maka potensi hasil glukosa dan etanol yang dapat dihasilkan juga semakin besar.

3.3. Hidrolisis dengan Variasi HCl

Hidrolisis asam merupakan proses yang dapat memecah polisakarida menjadi glukosa dengan bantuan larutan asam yang kemudian akan di fermentasi menjadi bioetanol. Umumnya, asam yang digunakan dalam proses ini adalah asam klorida (HCl) atau asam sulfat (H_2SO_4) (Chusna, 2024). Proses hidrolisis selulosa dalam buah kumbi dilakukan dengan penambahan HCl pada konsentrasi berturut-turut 1%, 2%, 3%, 4%, dan 5% (v/v), pada suhu 70°C selama 90 menit.

Tahap berikutnya adalah analisis kadar gula reduksi yang dihasilkan dari proses hidrolisis. Konsentrasi glukosa ditentukan menggunakan persamaan regresi yang diperoleh dari kurva standar glukosa, yaitu $y = 0,005x + 0,012$. Persamaan ini digunakan untuk menghitung konsentrasi glukosa berdasarkan nilai absorbansi yang terukur. Nilai absorbansi dari sampel hasil hidrolisis dengan variasi konsentrasi HCl mulai dari 1% hingga 5% disajikan sebagai berikut:

Tabel 3. Nilai Absorbansi Sampel Glukosa

No.	Sampel (konsentrasi HCl)	Absorbansi (Y)
1	1%	0,139
2	2%	0,371
3	3%	0,130
4	4%	0,064
5	5%	0,082

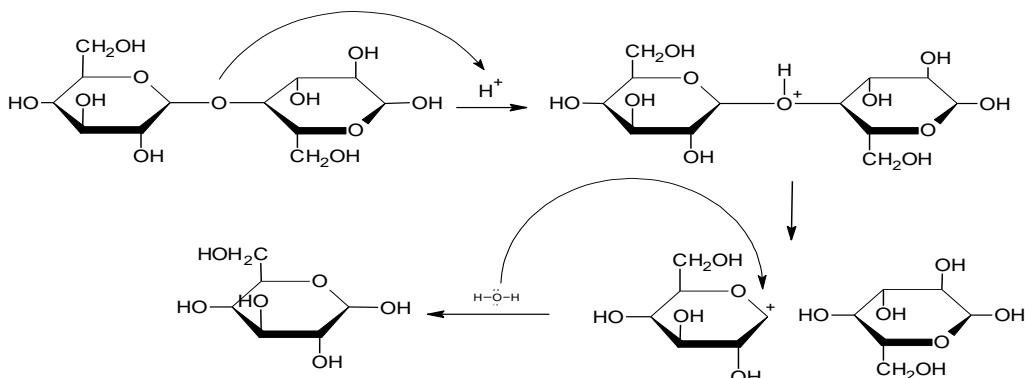
Nilai absorbansi yang tercantum pada Tabel 3 digunakan dalam persamaan regresi dari kurva standar untuk menghitung kadar gula reduksi dalam sampel. Hasil perhitungan tersebut disajikan pada Tabel 4. Berdasarkan pengukuran, absorbansi tertinggi sampel kering buah kumbi tercatat sebesar 0,371 pada sampel HCl 2% (v/v). Nilai ini kemudian disubstitusikan ke dalam persamaan regresi untuk memperoleh konsentrasi glukosa tertinggi.

Tabel 4. Hasil Pengukuran Kadar Gula Reduksi Sampel

No.	Sampel (konsentrasi HCl) (v/v)	Kadar gula reduksi (gr/L)	Warna hidrolisat
1	1%	2,54	Coklat muda
2	2%	7,18	Coklat
3	3%	2,36	Coklat Tua
4	4%	1,04	Merah kecoklatan
5	5%	1,40	Merah kecoklatan

Dari Tabel 4, dapat dilihat bahwa konsentrasi HCl berpengaruh terhadap kadar gula reduksi yang dihasilkan. Kadar gula reduksi terbesar dihasilkan pada konsentrasi HCl 2% (v/v) sebesar 7,18 gr/L yang ditandai dengan hidrolisat berwarna coklat, sedangkan pada konsentrasi 3% (v/v) hingga 5% (v/v) konsentrasi gula reduksi yang dihasilkan mengalami penurunan secara drastis dengan warna hidrolisat yang semakin tua.

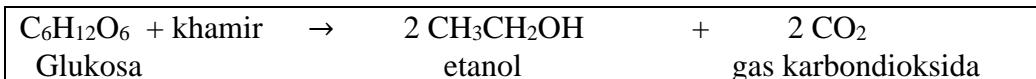
Dalam proses hidrolisis gugus H^+ dari HCl akan memecah selulosa dari buah kumbi sehingga terbentuk senyawa intermediet berupa karbokation. Karbokation yang terbentuk akan berikatan dengan gugus OH^- dari air yang akan membentuk gula reduksi (Hikmiyati dan Yanie, 2009). Reaksi yang terjadi dapat dilihat pada Gambar 2 (Xiang *et al.*, 2003) :



Pada konsentrasi HCl 1% (v/v), jumlah ion H^+ yang tersedia belum mencukupi untuk membentuk karbokation dalam jumlah optimal, sehingga reaksi dengan ion OH^- dari air tidak berlangsung efektif dan menghasilkan glukosa dalam jumlah rendah. Peningkatan konsentrasi HCl memang meningkatkan pembentukan karbokation, namun secara bersamaan mengurangi proporsi air dalam larutan, sehingga jumlah ion OH^- yang tersedia sebagai penstabil karbokation berkurang dan menyebabkan produksi glukosa menurun (Ariyani *et al.*, 2013). Selain itu, menurut Taherzadeh dan Karimi (2007), konsentrasi asam yang tinggi dapat mempercepat degradasi glukosa menjadi senyawa turunan seperti hidroksimetilfurfural dan furfural, yang kemudian berubah menjadi asam format. Oleh karena itu, pada konsentrasi HCl yang lebih tinggi (3–5% v/v), kadar gula yang dihasilkan justru menurun. Berdasarkan hal tersebut, konsentrasi HCl optimum untuk hidrolisis selulosa buah kumbi ditetapkan pada 2% (v/v).

3.4. Proses Fermentasi

Produksi etanol umumnya dilakukan melalui proses fermentasi, yaitu suatu mekanisme biologis yang mengubah glukosa menjadi etanol dan karbon dioksida dengan bantuan mikroorganisme seperti khamir. Pada proses fermentasi etanol, setiap 1 mol glukosa akan dikonversi menjadi 2 mol etanol dan 2 mol karbon dioksida. Adapun reaksi yang berlangsung adalah sebagai berikut:

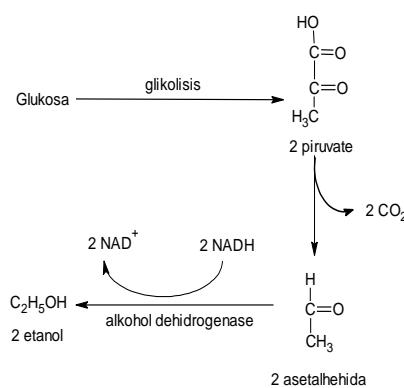


Gambar 3. Reaksi pembentukan etanol

Dalam penelitian ini, etanol diproduksi melalui proses fermentasi secara anaerob menggunakan khamir *Saccharomyces cerevisiae* yang terkandung dalam ragi roti. Mikroorganisme ini mampu mengubah gula yang terdapat dalam substrat menjadi bioetanol dengan bantuan enzim invertase dan zimase. Enzim invertase berfungsi menghidrolisis gula disakarida menjadi monosakarida, sedangkan enzim zimase selanjutnya mengkonversi monosakarida tersebut menjadi etanol dan karbon dioksida (Azizah, 2012). *Saccharomyces cerevisiae* memiliki beberapa keunggulan dibandingkan khamir lainnya, seperti kemampuan produksi etanol yang tinggi, toleransi terhadap kadar etanol yang relatif besar (10-20% v/v), serta tetap aktif melakukan fermentasi pada rentang suhu 4–32°C (Stanley et al., 2010).

Dalam penelitian ini, semua hidrolisat yang telah dihidrolisis dengan konsentrasi asam 1%(v/v) sampai 5%(v/v) selanjutnya difermentasi untuk menghasilkan bioetanol. Proses fermentasi diawali dengan menambahkan sejumlah nutrien ke dalam masing-masing larutan hidrolisat yang berisi gula hasil hidrolisis dan ragi roti (perbandingan 50 gram hidrolisat:10 gram ragi roti) sebagai sumber *Saccharomyces cereviceae*. Penambahan nutrient ini bertujuan agar khamir yang digunakan dapat tumbuh secara optimal meskipun dalam kondisi anaerob. Adapun jenis nutrient yang ditambahkan yakni urea ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) dan potassium fosfat (KH_2PO_4) masing-masing sebanyak 4 gram. Menurut Mulyati (2006), kadar nitrogen dalam urea mencapai 45-46%, sedangkan kadar fosfat dalam potassium fosfat mencapai 16-18%. Fosfat maupun nitrogen merupakan nutrient yang sangat penting untuk pertumbuhan dan perkembangan khamir *Saccharomyces cereviceae* dalam pembentukan alkohol selama proses fermentasi.

Pada 24 jam awal fermentasi, dilakukan proses agitasi menggunakan waterbath shaker pada suhu 30°C untuk meningkatkan difusi oksigen dalam medium, sehingga mendukung pertumbuhan sel khamir secara aerob dan membantu pemerataan konsentrasi substrat (Horn, 2000). Setelah itu, fermentasi dilanjutkan selama 72 jam dalam kondisi anaerob (ruang tertutup) untuk menghasilkan etanol. Secara umum, pembentukan etanol dari glukosa dalam proses fermentasi terdiri atas dua tahapan utama, yaitu glikolisis dan fermentasi alkohol. Pada tahap glikolisis, glukosa dikonversi menjadi asam piruvat. Selanjutnya, dalam tahap fermentasi alkohol, asam piruvat diubah menjadi etanol (Periadnadi, 1985). Proses ini melibatkan dua reaksi: pertama, asam piruvat diubah menjadi asetaldehid dan CO₂ oleh enzim piruvat dekarboksilase; kedua, asetaldehid direduksi menjadi etanol oleh enzim alkohol dehidrogenase. Etanol merupakan produk akhir dari rangkaian reaksi fermentasi tersebut, seperti ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Proses fermentasi etanol

3.5. Destilasi

Untuk memisahkan etanol dari hasil fermentasi dilakukan dengan destilasi. Etanol mempunyai titik didih lebih rendah daripada air, yaitu 78,4°C, sedangkan air 100°C pada kondisi standar sehingga destilasi dilakukan pada suhu sekitar 78°C. Hasil destilat yang diperoleh berwarna bening dengan aroma yang menyengat khas alkohol dan jika diteteskan ke kulit terasa dingin. Ciri-ciri ini mengindikasikan bahwa destilat yang diperoleh merupakan bioalkohol sesuai dengan sifat alkohol pada umumnya yang apabila terjadi kontak dengan kulit akan terasa dingin, mudah menguap, berbentuk cair, dan tidak berwarna (Perry,1999). Dari hasil perhitungan diperoleh % rendemen hasil destilasi sebagai berikut:

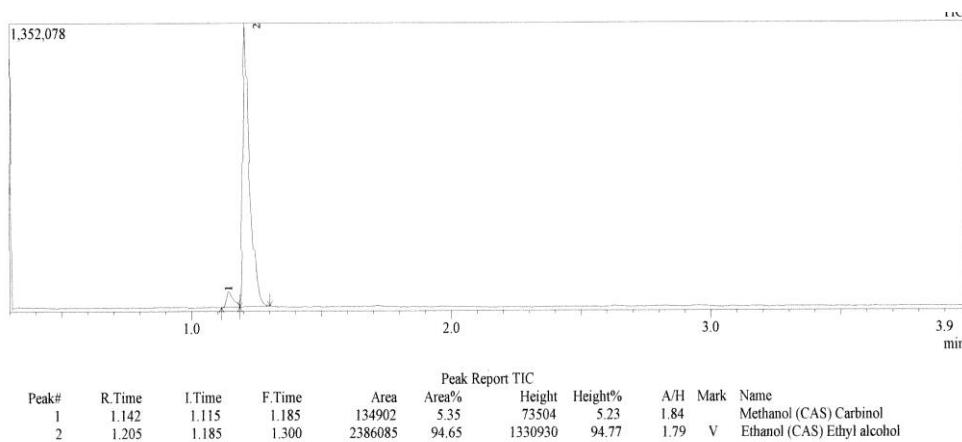
Tabel 5. Perolehan %rendemen bioetanol kasar

No.	Konsentrasi HCl (%v/v)	Konsentrasi gula reduksi (gr/L)	%rendemen bioetanol kasar (b/b)
1	1%	2,54	28,74
2	2%	7,18	27,50
3	3%	2,36	39,42
4	4%	1,04	47,64
5	5%	1,40	46,20

Dari Tabel 5, dapat dilihat bahwa besarnya konsentrasi asam memberikan pengaruh terhadap % rendemen bioetanol kasar yang dihasilkan. Pada konsentrasi HCl 4%(v/v) dihasilkan %rendemen bioetanol kasar tertinggi yaitu 47,64%, sedangkan pada konsentrasi HCl 2%(v/v) dihasilkan %rendemen bioetanol kasar terendah yaitu 27,50%. Hasil yang didapat ini kemungkinan besar dipengaruhi oleh kadar gula yang dihasilkan pada masing-masing konsentrasi asam pada saat hidrolisis terhadap proses fermentasi. Pada konsentrasi asam 4% kadar gula reduksi yang dihasilkan sebesar 1,04 gr/L dengan rendemen bioetanol tertinggi sedangkan pada konsentrasi asam 2% menghasilkan kadar gula reduksi sebesar 7,18 gr/L dengan perolehan rendemen bioetanol terendah. Menurut Wignyanto (2001), konsentrasi gula reduksi berpengaruh yang nyata terhadap jumlah bioetanol yang dihasilkan. Salah satu faktor yang sangat dipengaruhi oleh kadar gula pada saat fermentasi adalah *yeast* yang digunakan yaitu *Saccharomyces cereviceae*. Menurut Judoamidjoyo (1992), jika konsentrasi gula terlalu tinggi atau jika konsentrasi media terlalu pekat maka akan mengganggu metabolisme *Saccharomyces cereviceae* sehingga menghambat pembelahan sel dari *Saccharomyces cereviceae* yang kemudian berpengaruh terhadap etanol yang dihasilkan. Ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi asam 4% dengan konsentrasi gula reduksi 1,04 gr/L merupakan kondisi yang paling sesuai bagi *Saccharomyces cereviceae* untuk tumbuh diantara kelima konsentrasi tersebut, sedangkan pada konsentrasi gula reduksi di atas 1,04gr/L merupakan kondisi dimana konsentrasi gula yang digunakan terlalu pekat sehingga aktivitas sel *Saccharomyces cereviceae* terhambat.

3.6. Analisis GC-MS

Analisis GC-MS dilakukan untuk memastikan bahwa alkohol yang terdapat dalam rendemen bioetanol kasar hasil fermentasi adalah etanol. Rendemen bioetanol kasar yang dianalisis dengan GC-MS adalah rendemen bioetanol kasar dari konsentrasi HCl 4%(v/v). Analisis GC juga dilakukan untuk mengukur tingkat kemurnian dari masing-masing sampel. Sebagai standar digunakan etanol murni dan masing-masing sampel bioetanol hasil fermentasi yang sudah didestilasi kemudian diinjeksikan kedalam kolom kromatografi gas.



Gambar 5. Hasil analisis GC-MS rendemen bioetanol kasar

Sumber Gambar: Dokumentasi pribadi

Dari hasil kromatogram GC-MS pada Gambar 5, diketahui bahwa rendemen yang dianalisis, etanol teridentifikasi sebagai senyawa utama hasil fermentasi hidrolisat buah kumbi menggunakan ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*), dengan tingkat kemurnian bioetanol yang diperoleh mencapai lebih dari 90% berdarakan tinggi puncak kromatogram. Selain etanol juga muncul senyawa lain seperti methanol yang terdapat pada produk hasil fermentasi namun memiliki persentase yang sangat kecil dibandingkan dengan puncak etanol.

4. KESIMPULAN

Buah kumbi dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan bioetanol melalui proses hidrolisis dan fermentasi yang dibuktikan dengan hasil GC-MS senyawa etanol yang terdeteksi. Variasi konsentrasi asam yaitu HCl pada proses hidrolisis berpengaruh terhadap rendemen bioetanol yang dihasilkan dimana rendemen bioetanol tertinggi yaitu 47,64%(b/b) diperoleh pada konsentrasi asam 4%(v/v) dengan kadar gula reduksi sebesar 1,04 gr/L

REFERENCES

- Ariyani, E., Ersanghono, K., dan Supartono. 2013. Produksi Bioetanol dari Jerami Padi (*Oryza sativa L*), *Indo. J. Chem. Sci.* 2(2): 167-172.
- Ayuarni, S.P., 2014. Pembuatan Bioetanol dari Buah Kumbi (*Voacanga Foetida (Bi.) Rolfe*) dengan Metode Fermentasi Melalui Hidrolisis. Skripsi. Program Studi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Mataram.
- Azizah, N., Al-Baarri, A.N., dan Mulyani, S. 2012. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kadar Alkohol, pH, dan Produksi Gas pada Proses Fermentasi Bioetanol dari Whey dengan Substitusi Kulit Nanas. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan* 1(2): 72-77.
- Chusna, F. M. A., Cahaya, S., dan Aprianita, S. 2024. Optimasi Pembuatan Bioetanol dari Limbah Bonggol Jagung Berdasarkan Beda Waktu Fermentasi dan Berat Ragi. *Jurnal Serambi Engineering*, 9(1), 8140-8145.
- Erna, Said, I., dan Abram, P.H. 2016. Bioetanol dari Limbah Kulit Singkong (*Manihot esculenta Crantz*) Melalui Proses Fermentasi. *J. Akad. Kim.* 5(3): 121-126
- Handoko, T., Suhandiaya, G., dan Mulyana, H. 2012. Hidrolisis Serat Selulosa Dalam Buah Bintaro Sebagai Sumber Bahan Baku Bioetanol. *Jurnal Teknik Kimia Indonesia*, 11(1): 26-33.

- Hendriwati. 2014. Analisis Selulosa dan Lignin Limbah Daun Kumbi (*Voacanga foetida*) dan Proses Pemanfaatannya Sebagai Bahan Baku Pembuatan Kertas. Skripsi. Program Studi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Mataram.
- Hikmiyati, N. dan Yanie, N.S., 2009. Pembuatan Bioetanol dari Limbah Kulit Singkong Melalui Proses Hidrolisa Asam dan Enzimatis. Universitas Diponegoro Semarang.
- Horn, S.J., Aasen, I.M., dan Østgaard, K. 2000. Ethanol Production from Seaweed Extract. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 25: 249–254. <https://doi.org/10.1038/sj.jim.7000065>
- Irawan, D. dan Arifin, Z. 2012. Proses Hidrolisis Sampah Organik Menjadi Gula dengan Katalis Asam Klorida. *Jurnal Teknik kimia*, 6(2): 36-40. <https://doi.org/10.33005/tekkim.v6i2.382>
- Judoamidjojo, M., A. Darwis dan E.G. Sa'id. 1992. Teknologi Fermentasi. Penerbit Rajawali Pers, Jakarta.
- Maharani, M. M., Bakrie, M., & Nurlela, N. 2021. Pengaruh Jenis Ragi, Massa Ragi Dan Waktu Fermentasi Pada Pembuatan Bioetanol Dari Limbah Biji Durian. *Jurnal Redoks*, 6(1), 57–65. <https://doi.org/10.31851/redoks.v6i1.5200>
- Mood, S. H., Golfeshan, A. H., Tabatabaei, M., Jouzani, G. S., Najafi, G. H., Gholami, M., & Ardjmand, M. (2013). Lignocellulosic biomass to bioethanol, a comprehensive review with a focus on pretreatment. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 27, 77–93. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2013.06.033>
- Mulyati dan E.S. Lovita. 2006. Pupuk dan Pemupukan. Universitas Mataram Press, Mataram.
- Osvaldo, Z.S., Panca, P.S., dan Faizal, M. 2012. Pengaruh Konsentrasi Asam Dan Waktu Pada Proses Hidrolisis Dan Fermentasi Pembuatan Bioetanol Dari Alang-Alang. *Jurnal Teknik Kimia*, 18(2): 52–62.
- Periadnadi. 1985. *Penggunaan S.cereviciae Hansen dalam Memfermentasi Nila Aren*. Skripsi. Program Studi Biologi, Fakultas MIPA, UNAND Padang.
- Perry, R. H., D.W. Green, dan J. O. Maloney. 1999. Perry's Chemical Engineers Handbook 7th Edition. McGraw Hill Book Company, New York.
- Prihandana, R. dan R. Hendroko. 2007. Energi Hijau. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Putri, I. N., Zulnazri, Muarif, A., Dewi, R., dan Sylvia, N. 2024. Pembuatan Bioetanol dari Kulit Pisang Raja menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* dengan Metode Hidrolisis dan Fermentasi. *Chemical Engineering Journal Storage* 4(2): 279-288. <https://doi.org/10.29103/cejs.v4i2.14942>
- Saleh, A., Pakpahan, M. D., dan Angelina, N. 2009. Pengaruh Konsentrasi Pelarut, Temperatur dan Waktu Pemasakan pada Pembuatan Pulp dari Sabut Kelapa. *Jurnal Teknik Kimia*, 16(3): 35-44.
- Sarmal. 2013. Pengaruh Konsentrasi HCl dan Waktu Fermentasi terhadap Kadar Bioetanol yang Dihasilkan dari Limbah Kulit Ubi Kayu (*Manihot esculenta C.*). *Sains: Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia*, 12(1): 10-13. <https://doi.org/10.36709/sains.v12i1.27>
- Sriana, T., Dianpalupidewi, T., Ukhrawi, S. M. P., dan Nata, I. F. 2021. Pengaruh Konsentrasi Sodium Hydroxide (NaOH) pada Proses Delignifikasi Kandungan Lignoselulosa Serat (*Fiber*) Siwalan (*borassus flabellifer*) sebagai Bahan Dasar Pembuatan Bioethanol. *Buletin Profesi Insinyur*, 4(2): 49–52. <https://doi.org/10.20527/bpi.v4i2.105>
- Stanley, D., Bandara, A., Fraser, S., Chambers, P. J., & Stanley, G. A. (2010). The ethanol stress response and ethanol tolerance of *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Applied Microbiology*, 109(1), 13–24.
- Taherzadeh, M. J. dan Karimi, K. 2007. Acid-Based Hydrolysis Processes for Ethanol from Lignosellulosic Materials: A Review. *BioResources*, 2(3): 472-499. <https://doi.org/10.15376/biores.2.4.472-499>

- Taherzadeh, M.J. dan Karimi, K. 2007. Acid-Based Hydrolysis Processes for Ethanol from Lignocellulosic Materials: Bioethanol Review. *BioResources*, 2, 707-738.
- Wardani, A. K. 2018. Pengaruh Lama Waktu Fermentasi pada Pembuatan Bioetanol dari *Sargassum sp.* menggunakan Metode Hidrolisis Asam dan Fermentasi menggunakan Mikroba Asosiasi (*Zymomonas mobilis*, *Saccharomyces cerevisiae* dalam Ragi Tape dan Ragi Roti). Skripsi. Jurusan Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.
- Wardani, F., 2012. Kajian Awal Pembuatan Bioetanol dari Kulit Kakao (*Theobroma cacao L*). Skripsi. Program Studi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Mataram.
- Wignyanto, S. dan Novita. 2001. Pengaruh Konsentrasi Gula Reduksi Sari Hati Nanas dan Inokulum *Saccharomyces cerevisiae* pada Fermentasi Etanol. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 2(1): 68-77.
- Winarno, F.G., Fardiaz, S., dan Fardiaz, D. 1992. Pengantar Teknologi Pangan. PT.Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Xiang Q., Lee, Y.Y., Pettersson P.O., dan Torget, R.W. 2003. Heterogeneous Aspects of Acid Hydrolysis of α -Cellulose. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 107(1): 505–514.