

PEMANFAATAN BIJI WANYI (*Mangifera caesia* Jack.) DALAM PEMBUATAN ETANOL SECARA HIDROLISIS ENZIMATIS DAN FERMENTASI MENGGUNAKAN *Saccharomyces cerevisiae*

THE UTILIZATION OF WANYI SEEDS (*Mangifera caesia* Jack.) IN MAKING ETHANOL BY ENZYMATIC HYDROLYSIS AND FERMENTATION USING *Saccharomyces cerevisiae*

Nur Arissah*, Saibun Sitorus, dan Rahmat Gunawan

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman
Jalan Barong Tongkok No. 4 Kampus Gunung Kelua, Samarinda, 75123

*E-mail: nurarissah02@gmail.com

Received: 19 December 2019, Accepted: 10 August 2020

ABSTRACT

The utilization of wanyi seeds (*Mangifera caesia* Jack.) in making ethanol by enzymatic hydrolysis and fermentation using *Saccharomyces cerevisiae* has been carried out. The method used is the hydrolysis of α -amylase and gluco-amylase enzymes, fermentation with time variation and yeast concentration as well as the addition of 0.5% urea nutrition and 0.06% NPK, distillation and gas chromatography. Ethanol content 98.508% at 6 days fermentation with yeast concentration 0.23%.

Keywords: *Wanyi Seeds, Hydrolysis, Fermentation, Saccharomyces cerevisiae, Ethanol.*

PENDAHULUAN

Perkembangan teknologi berakibat pada kebutuhan manusia yang semakin meningkat dimana kebutuhan manusia terikat dengan penggunaan bahan bakar minyak sedangkan di dunia ketersediaan dan permasalahan krisis bahan bakar tidak dapat dipungkiri karena bahan bakar minyak berasal dari bahan bakar fosil yang bersifat tidak dapat diperbarui (*unrenewable*). Maka dari itu, diperlukan energi alternatif sebagai pengganti bahan bakar fosil yang dapat diperbarui (*renewable*), salah satunya bahan bakar nabati yaitu bioetanol.

Bioetanol adalah jenis biofuel yang dibuat dari bahan baku yang mengandung karbohidrat melalui tahap fermentasi glukosa dengan penambahan mikroorganisme kemudian melalui proses destilasi. Pada proses fermentasi dihasilkan etanol dan CO₂. Di kehidupan sehari-hari, etanol sering digunakan dalam bidang farmasi, industri dan sebagai bahan bakar, sedangkan CO₂ dapat digunakan kembali pada proses fotosintesis oleh tanaman [1].

Bioetanol memiliki beberapa kelebihan sebagai bahan bakar dibandingkan dengan bensin. Kelebihan bioetanol, antara lain: lebih aman daripada bensin, titik nyala lebih tinggi dibandingkan bensin dan emisi gas hidrokarbon yang dihasilkan lebih sedikit [2], terjadi pengapian dini pada mesin dan

memiliki angka oktan yang tinggi sehingga mencegah ketukan pada silinder, memiliki kandungan oksigen yang tinggi sehingga mengurangi emisi gas CO dan hidrokarbon lainnya, secara kimia bioetanol dapat larut dalam bensin dan energi pembakaran lebih rendah serta waktu pembakaran lebih singkat dengan mencampurkan bioetanol dan bahan bakar yang umum digunakan [3]. Bioetanol dapat dibuat dari bahan-bahan yang mengandung pati salah satunya adalah buah wanyi.

Buah wanyi dapat diperoleh pada saat musim berbuah yang terjadi di musim penghujan dari mulai bulan November sampai Maret [4]. Kebanyakan masyarakat hanya memanfaatkan daging buah wanyi, sementara bagian biji dan kulit dari buah wanyi dibuang begitu saja tanpa dimanfaatkan. Berdasarkan hasil analisis Laboratorium Kimia dan Biokimia Hasil Pertanian, Universitas Mulawarman, biji wanyi mengandung pati sebesar 23,38%. Kandungan pati di dalam biji wanyi inilah yang berpotensi sebagai bahan dasar pembuatan etanol.

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi biji Wanyi (*Mangifera caesia* Jack.) yang memiliki kadar pati sebesar 23,38% diharapkan dapat menghasilkan etanol melalui proses hidrolisis enzimatis menggunakan enzim α -amilase dan gluco-amilase

serta melalui proses fermentasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* yang terdapat pada ragi roti dengan sumber nutrisi dari urea 0,5% dan NPK 0,06%.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu neraca, wadah hidrolisis, gelas ukur, *hotplate*, termometer, tabung reaksi, gelas kimia, spektrofotometer visibel, wadah fermentasi, serangkaian alat destilasi dan instrumentasi kromatografi gas.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu biji Wanyi, enzim α -amilase, enzim glukamilase, ragi, akuades, urea dan NPK.

Prosedur Penelitian

Proses hidrolisis

Sebanyak 600 g tepung biji Wanyi dimasukkan ke dalam wadah hidrolisis, ditambahkan 3000 mL akuades kemudian, diaduk hingga menjadi bubur lalu ditambahkan enzim α -amilase sebanyak 3 mL dan diaduk hingga merata. Selanjutnya, dipanaskan di atas *hotplate* pada suhu 80-90°C sambil diaduk selama 30 menit dan didinginkan hingga suhu menjadi 55°C untuk dilanjutkan pada proses sakarifikasi. Sampel hasil liquifikasi ditambahkan enzim glukamilase sebanyak 3 mL, kemudian dipanaskan di atas *hotplate* pada suhu 50-60°C dan diaduk hingga tercampur merata selama 60 menit. Setelah itu, didinginkan hingga suhu menjadi 34°C.

Analisis kuantitatif kadar gula reduksi menggunakan metode Nelson-Somogyi

Sampel sebelum liquifikasi sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan pereaksi Nelson 1 mL dan dipanaskan tabung reaksi pada suhu 70-80°C selama 20 menit pada penangas air. Didinginkan ke dalam gelas kimia yang berisi air dingin hingga suhu 25°C, selanjutnya ditambahkan 1 mL pereaksi Arsenomolibdat dan dikocok hingga endapan yang ada larut kembali. Setelah endapan larut sempurna, tambahkan akuades sebanyak 7 mL dan homogenkan kembali, lalu diuji dengan panjang gelombang 540 nm menggunakan Spektrofotometer Visibel. Kemudian dicatat nilai absorbansi yang diperoleh dan dihitung konsentrasi gula pereduksi. Dilakukan metode yang sama terhadap sampel hasil liquifikasi dan sampel hasil sakarifikasi.

Fermentasi

Sampel hasil sakarifikasi dibagi ke dalam 12 wadah untuk difermentasi. Kemudian, ditambahkan urea sebanyak 0,5% dan NPK sebanyak 0,06% pada masing-masing wadah. Lalu, ditambahkan ragi pada masing-masing wadah sebanyak 0,13%, 0,23% dan 0,33% sambil diaduk hingga merata. Ditutup wadah fermentasi. Selanjutnya, difermentasi selama 4, 5, 6 dan 7 hari serta dijaga pada suhu maksimum 36°C.

Destilasi

Alat destilasi disiapkan dan dirangkai, kemudian didestilasi hasil fermentasi. Selama proses destilasi dijaga pada suhu 78°C selama ± 3 jam hingga etanol terpisah.

Analisis kadar etanol dengan menggunakan kromatografi gas (GC)

Analisis Kromatografi Gas dilakukan di Laboratorium Terpadu, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta untuk mengetahui konsentrasi etanol dari hasil proses destilasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengukuran konsentrasi gula reduksi pada sampel sebelum liquifikasi, setelah liquifikasi dan setelah sakarifikasi terdapat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil pengukuran gula reduksi.

Tahapan Sampel	Volume Sampel (mL)	Konsentrasi Gula Reduksi (ppm)
Sebelum liquifikasi	1	223,95
Setelah liquifikasi	1	301,68
Setelah sakarifikasi	1	342,20

Berdasarkan data tersebut diketahui bahwa kadar gula reduksi mengalami peningkatan dari sebelum liquifikasi, setelah liquifikasi dan setelah sakarifikasi. Hal ini dikarenakan enzim α -amilase dan glukamilase mampu memecah rantai polisakarida menjadi glukosa [5].

Hasil Fermentasi Tepung Biji Wanyi

Proses fermentasi dilakukan variasi waktu fermentasi dan konsentrasi ragi dengan tujuan untuk mengetahui kondisi optimum waktu fermentasi dan konsentrasi ragi yang dapat menghasilkan kadar etanol optimum. Hasil dari fermentasi kemudian didestilasi untuk menghasilkan etanol yang terbentuk selama proses fermentasi.

Tabel 2. Hasil fermentasi tepung biji Wanyi.

Waktu Fermentasi (Hari)	Konsentrasi Ragi (%)	Volume Sebelum Destilasi (mL)	Volume Hasil Destilasi (mL)
4	0,13	260	14,5
	0,23	260	15,5
	0,33	260	12
5	0,13	260	10,2
	0,23	260	13
	0,33	260	13
6	0,13	260	8
	0,23	260	11,5
	0,33	260	10,5
7	0,13	260	12
	0,23	260	13,4
	0,33	260	13,2

Berdasarkan Tabel 2, hasil destilasi yang diperoleh pada waktu fermentasi 4, 5, 6 dan 7 hari dengan massa ragi 0,13% dan 0,23% volume hasil destilatnya mengalami peningkatan namun pada fermentasi dengan konsentrasi ragi 0,33% terjadi penurunan. Hal ini dikarenakan kurangnya sumber nutrisi sehingga produktivitas dari *Saccharomyces cerevisiae* menurun.

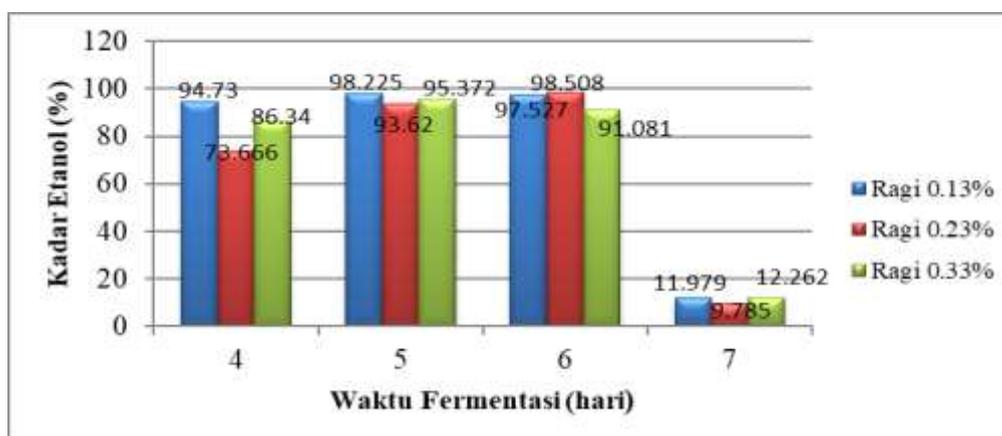
Penentuan Kadar Etanol Menggunakan Instrumen Kromatografi Gas

Berdasarkan Tabel 3, dapat diketahui bahwa kadar etanol optimum pada waktu fermentasi 6 hari dengan penambahan konsentrasi ragi 0,23% menghasilkan kadar etanol 98,508%.

Tabel 3. Kadar etanol yang dihasilkan dari analisis instrumen kromatografi gas.

Waktu Fermentasi (hari)	Konsentrasi Ragi (%)	Waktu Retensi (menit)	Luas Area (μm^2)	Kadar Etanol (%)
4	0,13	0,466	112741296	94,730
	0,23	0,473	87671826	73,666
	0,33	0,470	102756150	86,340
5	0,13	0,470	116900273	98,225
	0,23	0,470	111419914	93,620
	0,33	0,466	113504912	95,372
6	0,13	0,466	116070172	97,527
	0,23	0,466	117237568	98,508
	0,33	0,470	108397914	91,081
7	0,13	0,460	23869822	11,979
	0,23	0,456	19497144	9,785
	0,33	0,456	24434218	12,262

*Keterangan : Angka berwarna biru menandakan kadar etanol optimum.



Gambar 1. Diagram hubungan antara waktu fermentasi dengan penambahan konsentrasi ragi terhadap kadar etanol.

Berdasarkan Gambar 1, diketahui bahwa kadar etanol yang dihasilkan pada hari ke-4 dan hari ke-7 lebih rendah dibanding hari ke-5 dan hari ke-6. Dari

diagram dapat pula diketahui bahwa kadar etanol optimum yaitu 98,508 % dihasilkan pada hari ke-6 dengan penambahan massa ragi sebesar 0,23 %.

Pada hari ke-4, kadar etanol yang dihasilkan lebih rendah dari hari ke-5 dan hari ke-6 dikarenakan pada mikroorganisme tersebut memasuki fase *lag* atau fase pertumbuhan. Pada fase tersebut mikroorganisme masih menyesuaikan diri dengan media pertumbuhan. Pada hari ke-5 dan ke-6 mengalami peningkatan dikarenakan pada waktu tersebut mikroorganisme memasuki fase eksponensial dimana pada fase ini mikroorganisme telah menyesuaikan diri dengan media pertumbuhan yang mengakibatkan aktivitas amilase yang dihasilkan meningkat sehingga kadar etanol juga meningkat, sedangkan pada hari ke-7 kadar etanol mengalami penurunan dikarenakan glukosa pada sampel telah habis berubah menjadi etanol dan sebagian etanol teroksidasi menjadi asam asetat yang berdampak buruk pada aktivitas mikroorganisme yaitu menyebabkan kematian pada mikroorganisme. Selain itu, dipengaruhi oleh waktu fermentasi yang berlangsung terlalu lama sehingga akan terjadi proses lanjutan yang menghasilkan asam asetat mengakibatkan terjadinya penurunan kadar etanol.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian dapat disimpulkan bahwa diperoleh etanol dengan kadar optimum sebesar 98,508% dari biji Wanyi (*Mangifera caesia* Jack.) melalui proses hidrolisis enzimatis dan fermentasi dengan waktu fermentasi 6 hari dan konsentrasi ragi 0,23%.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Sugiyono A. 2008. Pengembangan bahan bakar nabati untuk mengurangi dampak pemanasan global. *Seminar Nasional Kebijakan Pemanfaatan Lahan dalam Menanggulangi Dampak Pemanasan Global*. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada.
- [2] Senam. 2009. Prospek bioetanol sebagai bahan bakar yang terbarukan dan ramah lingkungan. *Prosiding Seminar Nasional Penelitian*. Yogyakarta: Jurusan Pendidikan dan Penerapan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Yogyakarta.
- [3] Deenanath E. D., Iyuke S. and Rumbold K. 2012. The bioethanol industry in sub-saharan Africa: History, challenges and prospects. *Jurnal Biomedikal dan Bioteknologi*. 2012: 416491-11.
- [4] Polosakan R. 2016. Sebaran jenis-jenis Mangifera di Indonesia. *Jurnal Penelitian dan Pengabdian Masyarakat*. (4)1.
- [5] Listriyani. 2009. Pembuatan bioetanol melalui fermentasi umbi keladi (*Colocaia esculenta* L.) dengan proses hidrolisis menggunakan enzim alfa-amilase dan gluco-amilase. *Skripsi*. Samarinda: Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Mulawarman.