

HIDROLISIS ENZIMATIK MENGGUNAKAN *Saccharomyces cerevisiae* PADA PRODUKSI ETANOL DARI KULIT PISANG MULI (*Musa acuminata* Linn)

ENZYMATIC HYDROLYSIS WITH *Saccharomyces cerevisiae* FOR ETHANOL PRODUCTION FROM MULI BANANA PEEL (*Musa acuminata* Linn)

Faisal Reja Julianto*, Rudi Kartika, Ritbey Ruga

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

*E-mail: faisalrejajulianto@gmail.com

Received: 10 April 2019, Accepted: 25 July 2019

ABSTRACT

Ethanol production from starch of muli banana peel by enzymatic hydrolysis with the addition of gelatin as a fermentation nutrient for *Saccharomyces cerevisiae* was done. This research consists of hydrolysis, fermentation, distillation and testing carried out by Gas Chromatography. This research was conducted to determine the optimal time and the optimum nutrient concentration, that can be seen that the optimum time at 7 days and the optimum nutrient concentration in addition of 2% nutrient with ethanol concentration of 36.344%.

Keywords: *Muli Banana Peel, Saccharomyces cerevisiae, Gelatin, Ethanol*

PENDAHULUAN

Seiring berkembangnya teknologi, penggunaan alat-alat teknologi yang menggunakan bahan bakar minyak akan semakin meningkatkan penggunaan bahan bakar minyak. Hal tersebut dapat menjadi salah satu penyebab ketersediaan minyak bumi semakin menipis dan menaikkan harga minyak bumi. Oleh sebab itu, diperlukan sumber energi alternatif pengganti minyak bumi, seperti bioetanol.

Bioetanol adalah etanol yang dapat dihasilkan dari biomassa yang didalamnya terdapat kandungan selulosa atau pati yang dapat dirubah menjadi etanol. Etanol sangat banyak digunakan dalam bidang industri sebagai bahan baku farmasi dan kosmetika [1].

Kulit pisang adalah salah satu contoh biomassa yang dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan etanol. Kulit pisang merupakan limbah organik tetapi dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan etanol karena memiliki kandungan karbohidrat yang cukup tinggi sekitar 18,5% [2].

Berdasarkan uraian diatas penulis tertarik untuk melakukan penelitian tentang pembuatan etanol dari kulit pisang muli (*Musa acuminata* Linn) secara hidrolisis enzimatis dengan penambahan gelatin sebagai nutrisi fermentasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain alat gelas labu Erlenmeyer, gelas kimia, gelas ukur, labu takar, corong kaca, pipet tetes, tabung reaksi, serta peralatan lain seperti *hotplate*, neraca, ose, bunsen, termometer, rangkaian alat destil, oven dan wadah fermentasi. Instrumen yang digunakan adalah Kromatografi Gas (GC), tipe 17A 2010, merek Shimadzu.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain tepung kulit pisang, alfa-amilase, glukamilase, NaOH 0,1 N, aluminium foil, aquadest, *Saccharomyces cerevisiae*, *Potato Dextrose Agar* (PDA), HCl 0,1 N, kertas saring dan gelatin.

Prosedur Penelitian

Persiapan mikroba *Saccharomyces cerevisiae*

Pembuatan media agar

Potato dextrose agar (PDA) diambil sebanyak 9,75 g dilarutkan dalam 250 mL aquadest. Campuran diaduk dan dipanaskan hingga larut. Dimasukkan campuran tersebut kedalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah itu didiamkan hingga dingin pada suhu kamar lalu dimasukkan dalam lemari pendingin.

Regenerasi mikroba

Jamur *S. cerevisiae* induk dibiakkan pada tabung reaksi yang berisi media agar yang sudah disterilkan pada suhu 37°C selama ±24 jam.

Pembuatan tepung kulit pisang muli

Kulit pisang muli dijemur di bawah sinar matahari hingga kering dan kadar air di dalamnya sedikit. Selanjutnya kulit pisang yang telah dikering dihaluskan hingga berbentuk serbuk, lalu ditambahkan aquadest dan diaduk hingga tercampur rata. Setelah itu campuran diekstrak dan diambil patinya untuk selanjutnya dijemur kembali hingga kering dan berbentuk tepung.

Hidrolisis

Proses liquifikasi

Sebanyak 500 gr tepung kulit pisang muli dimasukkan ke dalam wadah, lalu ditambah aquadest sebanyak 5.000 mL kemudian diatur pH (4-5) menggunakan NaOH 0,1 N dan HCl 0,1 N. Setelah itu dilakukan penambahan enzim alfa-amilase sebanyak 3 mL lalu diaduk hingga rata. Campuran tepung kulit pisang diaduk selama 60 menit sambil dipanaskan menggunakan *hot plate* pada suhu 80-90°C kemudian didiamkan hingga suhu 55°C untuk dilanjutkan pada proses sakarifikasi.

Proses sakarifikasi

Sampel yang didapat dari proses liquifikasi dilakukan penambahan enzim glukamilase sebanyak 5 mL, kemudian sampel tersebut dipanaskan pada suhu 50-60°C selama 60 menit sambil diaduk lalu didinginkan hingga suhu mencapai 30°C.

Analisis kuantitatif kadar gula reduksi menggunakan metode Nelson-Somogyi

Proses pembuatan larutan pereaksi

1. Pereaksi Nelson

Natrium karbonat anhidrat (Na_2CO_3) diambil sebanyak 12,5 g, natrium kalium tartrat 12,5 g, natrium bikarbonat 10 g dan natrium sulfat anhidrat 100 g, selanjutnya dilarutkan ke dalam 350 mL aquadest dan diencerkan kembali hingga 500 mL, larutan ini adalah reagen Nelson A.

Diambil 7,5 mL $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, kemudian dilarutkan hingga 50 mL menggunakan aquadest dan ditambahkan 1 tetes asam sulfat pekat. Larutan ini adalah reagensia B. Pembuatan pereaksi Nelson dilakukan dengan cara mencampurkan larutan Nelson B dan larutan Nelson A dengan perbandingan (1:25).

2. Pereaksi arsenomolibdat

Ammonium molibdat diambil sebanyak 25 g dan dilarutkan hingga 450 mL menggunakan aquadest, kemudian dilakukan penambahan asam sulfat pekat sebanyak 25 mL. Lalu, 3 g $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dilarutkan dalam 25 mL *aquadest* di wadah yang berbeda, kemudian dituangkan larutan ini ke dalam larutan pertama dan disimpan untuk diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Larutan campuran tersebut dapat digunakan setelah proses inkubasi dengan ditandai oleh hasil inkubasi berwarna kuning.

3. Pembuatan bubur alumunium hidroksida ($\text{Al}(\text{OH})_3$)

Tawas dilarutkan menggunakan aquadest dengan perbandingan (1:20), kemudian dimasukkan ke dalam ammonia 10% dengan perbandingan (1:1,1) dan didiamkan sampai terbentuk endapan. Larutan yang berada pada fase atas dibuang dan endapan dilarutkan kembali dengan aquadest, lalu didiamkan hingga mengendap kembali. Proses ini dilakukan hingga larutan tidak berwarna dan endapan disimpan sebagai pasta.

4. Pembuatan kurva standar

Larutan induk glukosa standar dengan konsentrasi 100 ppm sebanyak 100 mL dibuat dengan tahap melarutkan 10 mg glukosa anhidrat ke dalam 100 mL aquadest. Kemudian, larutan standar glukosa diencerkan menjadi 6 konsentrasi yaitu 0, 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm. Tujuh tabung reaksi disiapkan dan 1 mL larutan glukosa diisi pada masing-masing tabung, 1 tabung diisi dengan aquadest sebagai blanko. Tabung masing-masing ditambahkan dengan 1 mL pereaksi Nelson lalu semua tabung dipanaskan dengan penangas air selama 20 menit. Ketujuh tabung diambil lalu didinginkan ke dalam gelas kimia yang berisi dengan air dingin hingga suhu tabung mencapai 25°C, setelah semua tabung dingin masing-masing tabung ditambahkan dengan 1 mL pereaksi arsenomolibdat dan kemudian dihomogenkan hingga endapan yang ada terlarut kembali. Endapan yang telah larut sempurna kemudian dilakukan penambahan 7 mL *aquadest* lalu dihomogenkan kembali dan diuji dengan menggunakan Spektrofotometer *Visible* dengan panjang gelombang sebesar 540 nm. Dicatat konsentrasi dan nilai absorbansi yang didapat. Kurva kalibrasi yang terbentuk menunjukkan absorbansi dan konsentrasi glukosa.

5. Penentuan kadar gula reduksi pada sampel

Kadar gula reduksi dihitung menggunakan alat Spektrofotometer *Visible* pada panjang gelombang yaitu 540 nm. Alat Spektrofotometer disiapkan dengan cara dinyalakan dan panjang gelombang

diatur pada 540 nm. Kalibrasi alat Spektrofotometer menggunakan blanko yang dimasukkan ke dalam kuvet dan diukur menggunakan panjang gelombang yang sama hingga didapat nilai absorbansi menunjukkan angka 0,000.

Jika larutan hasil hidrolisis mengalami kekeruhan atau berwarna maka harus dijernihkan terlebih dahulu dengan menggunakan bubuk aluminium hidroksida. Dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 1 mL sampel hasil hidrolisis. Tabung reaksi yang telah ditambahkan pereaksi Nelson sebanyak 1 mL lalu dipanaskan menggunakan penangas air selama 20. Semua tabung diangkat dan didinginkan hingga suhu 25°C, ditambahkan 1 mL pereaksi arsenomolibdat setelah tabung dingin dan dikocok hingga endapan yang ada larut. Kemudian, tambahkan sebanyak 7 mL aquadest dan homogenkan kembali, dan diuji semua larutan dengan menggunakan Spektrofotometer Visible dengan panjang gelombang sebesar 540 nm. Kemudian dicatat konsentrasi dan nilai absorbansi glukosa yang didapat [3].

Fermentasi

Sampel hasil sakarifikasi selanjutnya dimasukkan ke dalam 12 buah wadah fermentasi lalu ditambahkan *Saccharomyces cerevisiae* dengan jumlah 2 ose dan penambahan nutrisi gelatin sebanyak 1; 2 dan 3% v/v sambil diaduk. Setiap wadah dipisahkan menjadi 4 wadah untuk difermentasi dengan variasi waktu fermentasi berlangsung selama 5, 6 dan 7 hari. Campuran dijaga suhu maksimum 35°C kemudian ditutup wadah fermentasi.

Destilasi

Disiapkan seperangkat alat destilasi dan dimasukkan ke dalam labu destilasi hasil dari proses fermentasi dan diatur pada suhu 78°C dan dihentikan ketika etanol sudah terpisah.

Analisis Data

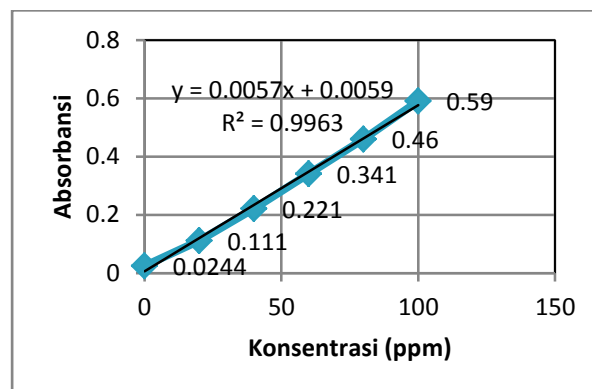
Proses analisis kadar etanol dengan kromatografi gas

Adapun tahapan dalam proses analisis kadar etanol dengan menggunakan kromatografi gas yaitu masing-masing destilat diambil sebanyak 1 µL dan melalui tempat injeksi suntikkan larutan sampel ke dalam kolom. Luas pucak etanol dari kromatografi dihitung. Dengan membaca hasil kromatogram kita dapat mengetahui kadar bioetanol dalam larutan sampel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penentuan Kurva Standar Gula Reduksi Menggunakan Metode Nelson-Somogyi

Pertama dilakukan penentuan kurva standar menggunakan Spektrofotometer Visible dengan standar glukosa dengan konsentrasi 0, 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm yang akan digunakan sebagai standar untuk penentuan gula pereduksi pada sampel kulit pisang muli.



Gambar 1. Penentuan konsentrasi glukosa terhadap absorbansi

Dari kurva di atas diperoleh persamaan garis $y=0,0057x-0,0059$, dimana x merupakan konsentrasi glukosa yang didapat dan y merupakan absorbansinya. Setelah didapatkan persamaan garis di atas maka dapat diukur kadar glukosa yang diperoleh dari sampel kulit pisang muli sebelum hidrolisis, pada proses sakarifikasi dan pada proses liquifikasi. Hasil pengukuran kadar gula pereduksi pada sampel dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Analisis konsentrasi gula reduksi terhadap volume sampel setelah dan sesudah hidrolisis

Tahapan Sampel	Volume Sampel (mL)	Faktor Pengenceran	Konsentrasi Gula Reduksi (ppm)
Sebelum hidrolisis	1	10	14,21
Liquifikasi	1	10	191,40
Sakarifikasi	1	10	370,35

Berdasarkan tabel 1 di atas dapat diketahui kadar gula pereduksi pada sampel kulit pisang muli dari sebelum hidrolisis sebesar 14,21 ppm meningkat menjadi 191,40 ppm pada proses liquifikasi. Kemudian pada proses sakarifikasi meningkat lagi menjadi 370,35 ppm, hal ini dikarenakan karbohidrat yang terdapat dalam sampel terhidrolisis menjadi glukosa sehingga kadar glukosa dalam sampel meningkat dari sebelum hidrolisis.

Hasil Fermentasi

Tepung kulit pisang muli hasil hidrolisis difermentasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* yang bekerja untuk merubah glukosa menjadi etanol. Pada proses fermentasi ini digunakan variasi lama waktu fermentasi selama 6, 7 dan 8 hari. Untuk memaksimalkan kerja mikroba digunakan gelatin sebagai nutrisi mikroba dengan variasi konsentrasi nutrisi sebanyak 1, 2 dan 3%. Variasi

lama fermentasi dan konsentrasi nutrisi yang digunakan bertujuan untuk mengetahui kondisi optimal lama fermentasi dan konsentrasi nutrisi yang dapat menghasilkan kadar etanol maksimum. Hasil fermentasi selanjutnya didestilasi untuk memisahkan komponen etanol yang terbentuk selama fermentasi. Hasil destilat yang didapat lalu diukur volumenya untuk menghitung persen rendemen etanol yang ditunjukkan pada tabel 2.

Tabel 2. Waktu fermentasi kulit pisang muli dan penambahan nutrisi terhadap volume destilasi

Waktu Fermentasi (Hari)	Konsentrasi Nutrisi (%)	Volume Fermentasi (Sebelum Destilasi) (mL)	Volume Hasil Destilasi (mL)
6	Blanko	400	9,50
	1	400	11,50
	2	400	14,20
	3	400	13
7	Blanko	400	16
	1	400	17,20
	2	400	21,50
	3	400	19,70
8	Blanko	400	15
	1	400	16,40
	2	400	18,50
	3	400	17,10

Dari tabel di atas dapat diketahui volume destilasi yang didapatkan pada fermentasi kulit pisang muli berbeda-beda dan didapatkan volume destilasi tertinggi yaitu 21,50 mL. Dari hasil tersebut kemudian dilakukan penyetaraan volume destilasi mengikuti volume destilasi tertinggi yaitu 21,50 mL.

Kadar Etanol Hasil Pengukuran Kromatografi Gas

Destilat etanol yang diperoleh kemudian dianalisa menggunakan kromatografi gas untuk mengetahui konsentrasi etanol yang dihasilkan. Berikut adalah hasil analisa konsentrasi etanol yang dihasilkan dari tepung kulit pisang pada tabel 3.

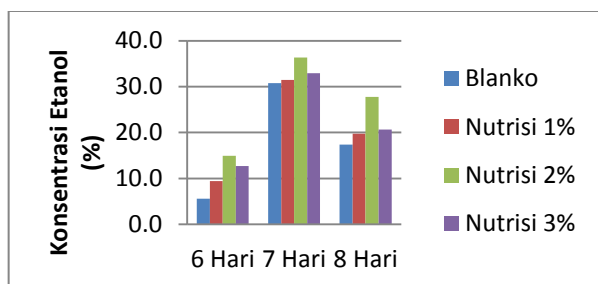
Tabel 3. Penentuan konsentrasi etanol dengan metode kromatografi gas

Waktu Fermentasi (Hari)	Konsentrasi Nutrisi (%)	Waktu Retensi (Menit)	Luas Area (μm^2)	% Rendemen	Konsentrasi Etanol (%)
6	0	4.863	911610	0.571	5.591
	1	4.910	1534948	1.164	9.414
	2	4.910	2433846	2.279	14.927
	3	4.934	2068788	1.773	12.688
7	0	4.887	5013094	5.288	30.746
	1	4.998	5125573	5.815	31.448
	2	4.987	5925681	8.4	36.344
	3	4.938	5363342	6.966	32.895
8	0	5.008	2830455	2.799	17.360
	1	5.013	3221437	3.483	19.758
	2	4.938	4524452	5.519	27.749
	3	4.981	3371033	3.801	20.675
Standar Etanol PA		4.845	8228434	100	100

Berdasarkan hasil kadar etanol pada tabel 3. dapat dibuat grafik hubungan antara lama fermentasi dan penambahan nutrisi terhadap kadar etanol yang dihasilkan, seperti yang ditunjukkan pada gambar 2. Dari gambar 2 dapat diketahui bahwa kadar etanol

tertinggi didapat pada waktu fermentasi 7 hari dengan konsentrasi nutrisi 2% dengan kadar etanol sebesar 36,344% yang dikarenakan pada waktu 7 hari merupakan waktu optimum pada proses fermentasi, dimana pada waktu fermentasi 6 hari kadar etanol

yang dihasilkan masih rendah yang disebabkan *Saccharomyces* masih menghidrolisis kandungan glukosa yang terdapat dalam sampel menjadi etanol dan pada waktu fermentasi 8 hari kadar etanol yang dihasilkan menurun karena glukosa yang terdapat dalam sampel telah habis dan sebagian etanol yang dihasilkan teroksidasi menjadi asam asetat yang menyebabkan kematian pada sebagian *Saccharomyces cerevisiae* sehingga kadar etanol yang dihasilkan akan menurun [4].



Gambar 2. Hubungan antara lama fermentasi dan konsentrasi nutrisi terhadap kadar etanol

Kadar etanol pada blanko yang tidak ditambahkan nutrisi gelatin lebih rendah dibandingkan sampel yang ditambahkan nutrisi gelatin, dimana hal ini disebabkan kandungan protein pada gelatin sebagai penyedia nitrogen bagi mikroba pada proses fermentasi sehingga dapat meningkatkan kadar etanol yang dihasilkan. Nitrogen memiliki peranan untuk membentuk asam amino dan asam nukleat yang berguna bagi pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae*. Pada penelitian ini kadar nutrisi yang optimal diantara nutrisi 1, 2 dan 3% yaitu konsentrasi nutrisi 2% hal ini disebabkan karena pada konsentrasi nutrisi 1% kebutuhan nitrogen bagi pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* masih kurang sehingga kadar etanol yang dihasilkan masih rendah dan pada konsentrasi nutrisi 3% kadar etanol yang dihasilkan lebih rendah dibandingkan pada konsentrasi 2% yang disebabkan nutrisi yang diberikan berlebihan sehingga kadar nitrogen berlebihan dan menyebabkan kematian pada sebagian *Saccharomyces cerevisiae* [5].

Rendemen tertinggi yang dihasilkan dari proses destilasi yaitu pada waktu fermentasi 7 hari dengan penambahan nutrisi gelatin sebanyak 2% dengan nilai rendemen sebesar 8,4% dan dengan volume etanol sebanyak 21,50 mL.

Pada proses fermentasi, waktu yang digunakan untuk fermentasi sangat berpengaruh terhadap kadar etanol yang dihasilkan, dimana jika waktu fermentasi dibawah 7 hari kadar etanol yang dihasilkan masih

belum optimal dikarenakan *Saccharomyces cerevisiae* masih dalam tahap pertumbuhan dan masih merubah glukosa menjadi etanol. Pada waktu fermentasi diatas 7 hari kadar etanol yang diperoleh juga dapat menurun yang dapat disebabkan oleh ketersediaan glukosa dalam sampel telah sedikit dan juga dapat disebabkan kematian *Saccharomyces cerevisiae* yang dikarenakan etanol yang dihasilkan sebagian teroksidasi menjadi asam asetat [6].

KESIMPULAN

1. Waktu fermentasi terbaik dari tepung kulit pisang muli untuk memperoleh kadar etanol optimum adalah waktu fermentasi 7 hari.
2. Penambahan massa nutrisi gelatin yang optimal yaitu konsentrasi nutrisi 2% dengan konsentrasi etanol yang dihasilkan sebesar 36,344%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada seluruh dosen dan staf jurusan kimia FMIPA Universitas Mulawarman, Laboratorium Biokimia dan Laboratorium Lingkungan.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Hambali, E. 2007. *Teknologi Bioenergi*. Jakarta: PT. Agromedia Pustaka.
- [2] Gunawan, T. 2013. *Kandungan dan Manfaat Kulit Pisang*. <http://tanamanobat-herbal.blogspot.com/2013/02/kandungan-dan-manfaat-kulit-pisang.html>. Diakses tanggal 19 Oktober 2018.
- [3] Sudarmadji, S., Haryono, B., dan Suhardi. 1989. *Mikrobiologi Pangan*. PAU Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada: Yogyakarta.
- [4] Rosdiana, A. 2015. Pembuatan Bioetanol dari Kulit Pisang Raja (*Musa sapientum*) Menggunakan Metode Hidrolisis Asam dan Fermentasi. *Jurnal Teknik Kimia*, No.2, Vol. 21.
- [5] Thontowi, A. 2007. Produksi β -glukan *Saccharomyces cerevisiae* dalam media dengan sumber nitrogen berbeda pada air-lift fermentor. *Jurnal Biodiversitas*, Universitas Negeri Surakarta Volume 8 No. 4, Hal. 253-256.
- [6] Shinta, D., Isa, I. dan Alio, L. 2014. Pemanfaatan limbah kulit pisang menjadi etanol dengan cara hidrolisis dan fermentasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*. Fakultas MIPA, Universitas Negeri Gorontalo.