

Pengaruh Waktu dan Konsentrasi Enzim α -Amylase dan Glukoamilase pada Hidrolisis Biji Cempedak sebagai Bahan Baku Bioetanol

RA Ghina Sayyidah Achva¹, Jaksen M. Amin², Anerasari Meidinariasty³

^{1,2}Program Studi Teknologi Kimia Industri, Politeknik Negeri Sriwijaya, Palembang

³Jurusan Teknik Kimia, Politeknik Negeri Sriwijaya, Palembang

*Koresponden email: ghinasayyidah13@gmail.com

Diterima: 27 September 2024

Disetujui: 1 Oktober 2024

Abstract

Bioethanol is a renewable energy source with great potential for development in Indonesia. Bioethanol is produced from the fermentation of sugar, starch or lignocellulosic biomass. In addition, cempedak seeds also contain sugars such as glucose, fructose and sucrose, which provide fast energy. The aim of this study is to identify the optimal composition by varying the hydrolysis time and adding α -amylase and glucoamylase enzymes. In the pre-treatment process, Cempedak seeds are processed and then the hydrolysis process is continued with variations in the addition of α -amylase and glucoamylase enzymes. (0.5%:1.5%:2.5%) (v/v) and then analysed for sugar content. From the results of the analysis, the highest % Brix was 16% at a hydrolysis time of 70 minutes with an enzyme concentration of 2.5%. The lowest water content of 98.93% was obtained at a hydrolysis time of 70 minutes and an enzyme concentration of 2.5%. In addition, the best sugar content results were used as raw material for bioethanol production and the ethanol content was checked. The fermentation process was carried out for 6 days and the ethanol content obtained was 64.95%, based on analysis by GC-MS.

Keywords: *bioethanol, cempedak seeds, α -amylase enzyme, glucoamylase*

Abstrak

Bioetanol merupakan sumber energi terbarukan dengan potensi besar untuk pengembangan di Indonesia. Bioetanol dibuat dari fermentasi gula, pati, atau biomassa lignoselulosa. Selain itu, biji cempedak juga mengandung gula seperti glukosa, fruktosa, dan sukrosa, yang memberikan energi cepat. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi komposisi optimal dari variasi waktu hidrolisis serta penambahan enzim α -amylase dan glukoamilase. Proses pretreatment melibatkan pengolahan biji cempedak, yang kemudian dilanjutkan dengan proses hidrolisis dengan variasi penambahan enzim α -amylase dan glukoamilase. (0,5%:1,5%:2,5%) (v/v) selanjutnya diuji kadar gula. Dari hasil analisa %brix tertinggi sebesar 16% pada waktu hidrolisis 70 menit dengan konsentrasi enzim 2,5%. Kadar air terendah sebesar 98,93% didapat pada waktu hidrolisis 70 menit dan konsentrasi enzim 2,5%. Selanjutnya, hasil kandungan gula terbaik akan digunakan sebagai bahan baku pembuatan bioetanol dan akan diperiksa kadar etanolnya. Proses fermentasi dilakukan selama 6 hari, dan kadar etanol yang diperoleh adalah 64,95%, berdasarkan analisis menggunakan GC-MS.

Kata Kunci: *bioetanol, biji cempedak, enzim α -amylase, glukoamilase*

1. Pendahuluan

Bioetanol merupakan salah satu energi alternatif yang dapat mengurangi ketergantungan masyarakat terhadap penggunaan bahan bakar fosil. Bioetanol tidak hanya menghasilkan emisi yang lebih ramah terhadap lingkungan, tetapi bioetanol juga meningkatkan angka oktan. Biji cempedak merupakan salah satu bahan baku yang dapat digunakan untuk produksi bioetanol. Cempedak (*Artocarpus Chempeden*) merupakan tanaman yang banyak tumbuh di daerah tropis [1]. Pembuatan bioetanol melalui proses fermentasi telah banyak diterapkan. Bioetanol adalah cairan biokimia yang diperoleh dari proses fermentasi biomassa yang mengandung gula, pati, dan selulosa dengan bantuan mikroorganisme [2].

Cempedak adalah buah asli Indonesia yang cukup populer di kalangan masyarakat. Buah ini mirip dengan nangka dan memiliki aroma yang sangat kuat, mirip dengan bau durian, karena cempedak dan nangka termasuk dalam keluarga yang sama. Biji cempedak mengandung karbohidrat sebanyak 36,7 gr per 100 gr, protein 4,2 gr per 100 gr, dan energi 165 kkal per 100 gr sehingga dapat digunakan sebagai bahan pangan serta alternatif tepung yang potensial [3].

Dari latar belakang diatas biji cempedak memiliki potensi untuk dijadikan bahan baku dalam penelitian ini yaitu pengaruh waktu dan konsentrasi enzim α -amilase dan glukoamilase pada hidrolisis biji cempedak sebagai bahan baku bioetanol.

2. Metode Penelitian

2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan tanggal 27 Mei 2024 - 15 Juli 2024 di Laboratorium Jurusan Teknik Kimia, Politeknik Negeri Sriwijaya, Palembang.

2.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah Neraca Analitik, Erlenmeyer, Pipet Ukur, Beaker Gelas, Hot Plate Stirrer, Kaca Arloji, Kertas Saring, Kertas pH, Cawan Porselen, Termometer, Aluminium Foil, Refraktometer, Seperangkat Alat Distilasi. Bahan yang digunakan Biji Cempedak, Aquadest, Enzim *A-amilase*, Enzim Glukoamilase, Ragi, NPK dan Urea.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kadar gula total dan kadar bioetanol dari biji cempedak dengan memvariasikan waktu dan konsentrasi enzim dengan metode hidrolisis enzim, *Perlakuan Tetap*.

- a. Berat Tepung Biji Cempedak 30 Gram

Suhu Hidrolisis

- b. Likuifikasi 90°C
- c. Sakarifikasi 60°C
- d. Waktu Fermentasi 6 hari

Variable Bebas

- a. Konsentrasi Enzim Amilase : 0,5%, 1,5%, 2,5% (v/v)
- b. Konsentrasi Enzim Glukoamilase : 0,5%, 1,5%, 2,5% (v/v)
- c. Waktu Hidrolisis pada proses sakarifikasi: 60,70,80,90,100. (Menit)

2.3 Prosedur Percobaan

Pembuatan Tepung Biji Cempedak

- a. Biji buah cempedak yang sudah dikumpulkan lalu dibersihkan
- b. Kemudian dipotong dan direndam dengan kapur sirih.
- c. Setelah itu dijemur
- d. Kemudian biji cempedak yang sudah kering di haluskan
- e. Lalu biji cempedak yang sudah di haluskan diayak

Proses Hidrolisis

Proses likuifikasi dengan menghidrolisis pati, yaitu dengan melarutkan tepung biji cempedak, mencampurkan 30 gram tepung biji cempedak dengan 200 ml aquadest, kemudian diaduk hingga tercampur merata. Larutan yang terbentuk kemudian ditambahkan enzim α -Amylase dengan konsentrasi 0,5%, 1,5%, dan 2,5% (v/v). Selanjutnya, larutan dipanaskan pada suhu 90°C selama 1 jam dalam beaker glass sambil diaduk. Setelah proses likuifikasi selesai, suhu larutan diturunkan hingga 60°C. Kemudian, proses sakarifikasi dilanjutkan dengan menambahkan enzim glukoamilase dalam volume 0,5%, 1,5%, dan 2,5% (v/v). Proses ini berlangsung selama 60,70,80,90,100 menit. Suhu optimum untuk kerja enzim glukoamilase adalah antara 40-60°C, dengan pH optimum sebesar 4,5. Waktu reaksi yang diperlukan untuk hidrolisis pati adalah sekitar 48-96 jam [4]. Setelah proses tersebut, larutan didinginkan hingga suhu 34°C. Selanjutnya, dilakukan analisis terhadap kadar %Brix, kadar air dan pH.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Data Hasil Analisa Hidrolisis Biji Cempedak Sebagai Bahan Baku Bioetanol

Setelah melakukan penelitian mengenai hidrolisis biji cempedak sebagai bahan baku bioetanol dengan menggunakan enzim α -amilase dan glukoamilase pada variasi konsentrasi 0,5%, 1,5%, dan 2,5% (v/v) serta waktu hidrolisis 60, 70, 80, 90, dan 100 menit, hasil analisis menunjukkan grafik yang menggambarkan pengaruh variasi waktu dan konsentrasi enzim terhadap %Brix dan kadar air. Dari analisis ini, diperoleh tiga kondisi terbaik berdasarkan %Brix yang akan diuji coba lebih lanjut untuk pembuatan bioetanol. Selain itu, hasil analisis juga mencakup indeks bias dan kadar bioetanol. Hasil pengamatan hidrolisis biji cempedak menggunakan enzim sebagai bahan baku bioetanol dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Hasil Pengamatan Hidrolisis Biji Cempedak Menggunakan Enzim A-Amylase dan Glukoamilase Sebagai Bahan Baku Bioetanol

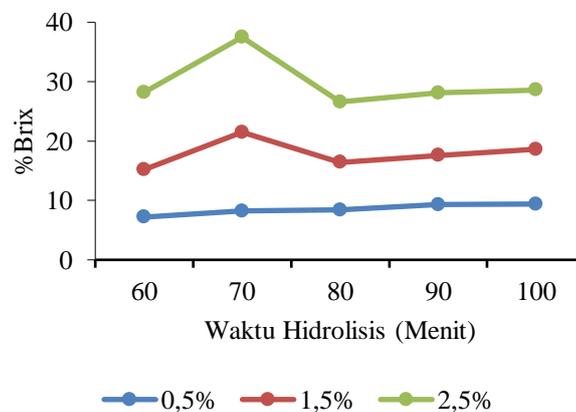
Waktu	Kode sampel	Konsentrasi Enzim (%)	% Brix	Kadar Air	pH
60	1	0,5	7,2	96.62	4,5
	2	1,5	8	99.67	4,5
	3	2,5	13	99.34	4,5
70	4	0,5	8,2	99.73	4,5
	5	1,5	13,3	98,94	4,5
	6	2,5	16	98,93	4,5
80	7	0,5	8,4	99.49	4,5
	8	1,5	8	99.39	4,5
	9	2,5	10,2	99,47	4,5
90	10	0,5	9,3	99.62	4,5
	11	1,5	8,3	99.08	4,5
	12	2,5	10,5	99.41	4,5
100	13	0,5	9,4	99.06	4,5
	14	1,5	9,2	99.24	5
	15	2,5	10	99.16	5

Tabel 2. Hasil Pengamatan Kadar Bioetanol Pada Hidrolisis Biji Cempedak Menggunakan Enzim Sebagai Bahan Baku Bioetanol

Kode Sampel	Indeks Bias
3	1,350
5	1,346
6	1,353

3.2. Pengaruh Waktu Hidrolisis dan Konsentrasi Enzim dengan % Brix

Berdasarkan pada **Gambar 1** bahwa % brix tertinggi terdapat pada konsentrasi 2,5% dengan waktu hidrolisis 70 menit sebesar 16%. Sedangkan %brix terendah terdapat pada waktu hidro 60 menit dengan konsentrasi 0,5% sebesar 7,2%.



Gambar 1. Pengaruh Waktu Hidrolisis (Menit) dan Konsentrasi Enzim (%) Terhadap %Brix Hidrolisis Biji Cempedak

Pada **Gambar 1**, bahwa semakin bertambahnya waktu hidrolisis, kadar % Brix semakin meningkat. Menunjukkan bahwa meningkatnya konsentrasi enzim menghasilkan hidrolisis lebih banyak ikatan glikosidik menjadi glukosa. semakin tinggi kandungan dosis enzim maka semakin berkurang kandungan pati yang dihasilkan [5]. Enzim berfungsi sebagai katalis yang mempercepat reaksi dan menentukan laju reaksi. Konsentrasi enzim mempengaruhi kecepatan reaksi, jika konsentrasi enzim terlalu rendah maka reaksinya akan lambat dan menghasilkan produk yang jumlahnya yang lebih sedikit [6]. Seperti pada **Gambar 1**, penggunaan dosis enzim 0,5% menghasilkan jumlah produk gula yang paling rendah dibanding dengan dosis enzim yang paling tinggi.

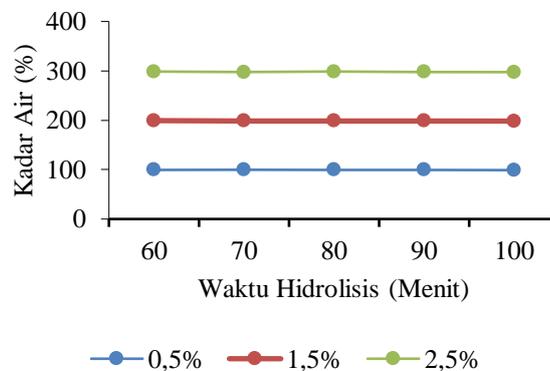
Begitu juga, meningkatnya jumlah glukosa yang dihasilkan disebabkan oleh bertambahnya waktu hidrolisis. Semakin lama waktu proses hidrolisis berlangsung, kesempatan terjadinya tumbukan antara molekul air dan molekul pati semakin besar, yang pada gilirannya menghasilkan lebih banyak glukosa [7]

Penggunaan kombinasi enzim, yaitu α -amilase untuk likuifikasi dan glukoamilase untuk sakarifikasi, pada rentang waktu tertentu dapat mengalami reaksi kondensasi glukosa (reverse reaction) yang dikatalisis oleh enzim glukoamilase [8]. Sesuai dengan data yang ditunjukkan Gambar 1, di mana hasil hidrolisis pada waktu 80 menit lebih rendah dibandingkan dengan 70 menit. Dengan kata lain, semakin lamanya proses hidrolisis, hasilnya tidak bersifat linear (lurus).

Pengolahan data % Brix dilanjutkan dengan uji anova. Dari hasil perhitungan didapatkan untuk faktor waktu $F_{hitung} (2,070) < F_{tabel} (3,838)$. Pada Tingkat kesalahan 5% bahwa terdapat tidak beda nyata nilai % brix disebabkan karena adanya perlakuan perbedaan waktu. Pada faktor konsentrasi enzim, $F_{hitung} (5,209) > F_{tabel} (4,459)$ pada Tingkat kesalahan 5% bahwa beda nyata pada nilai % brix.

3.3. Pengaruh Waktu Hidrolisis dan Konsentrasi Enzim dengan Kadar Air

Kadar air adalah persentase dari total kandungan air dalam suatu bahan. Tingginya kadar air dapat mempercepat pertumbuhan bakteri, kapang, dan khamir, yang dapat mengakibatkan perubahan pada bahan pangan [9].



Gambar 2. Pengaruh Waktu Hidrolisis (Menit) Dan Konsentrasi Enzim (%) Terhadap Kadar Air Hidrolisis Biji Cempedak

Berdasarkan **Gambar 2**, Kadar air tertinggi, yaitu 99,73%, diperoleh pada waktu hidrolisis 70 menit dengan konsentrasi enzim 0,5%. Sebaliknya, kadar air terendah, yaitu 98,93%, diperoleh pada waktu hidrolisis 70 menit dengan konsentrasi enzim 2,5%. Oleh karena itu, semakin rendah kadar air dalam gula cair, semakin menguntungkan karena viskositasnya meningkat, sehingga gula cair menjadi lebih kental. Selain itu, kadar air yang lebih rendah dapat mengurangi kemungkinan berkembangnya mikroba [10].

Pengolahan data kadar air dilanjutkan dengan uji anova (lampiran B). Dari hasil perhitungan didapatkan untuk faktor waktu $F_{hitung} (1,415) < F_{tabel} (3,838)$. Pada Tingkat kesalahan 5% bahwa tidak beda nyata nilai disebabkan karena adanya perlakuan perbedaan waktu. Hal yang sama terjadi pada faktor konsentrasi enzim, $F_{hitung} (1,680) < F_{tabel} (4,459)$ pada Tingkat kesalahan 5% bahwa beda nyata pada nilai kadar air.

3.4. Kadar Bioetanol

Dari hasil data yang telah diperoleh, menunjukkan bahwa kadar bioetanol dari 3 sampel yang telah dilakukan analisa indeks bias, Kemudian indeks bias tertinggi dilakukan analisa kadar bioetanol. Kadar bioetanol dianalisis menggunakan GC-MS, dan hasilnya menunjukkan kadar etanol sebesar 64,95% dengan fermentasi yang berlangsung selama 6 hari dan konsentrasi ragi sebesar 3%. Pemilihan waktu fermentasi selama 6 hari didasarkan pada fase pertumbuhan optimal ragi pada periode tersebut. Hal ini sejalan dengan kurva pertumbuhan ragi, di mana pada hari kedua dan keempat, ragi beradaptasi dengan lingkungannya. Pada hari keenam hingga kedelapan, ragi berada dalam fase pertumbuhan aktif, sehingga dapat mengonversi glukosa menjadi etanol dengan efektif. Namun, setelah 10 hari fermentasi, nutrisi dalam substrat akan habis, dan *Saccharomyces cerevisiae* tidak lagi mampu melakukan fermentasi. Jumlah mikroba juga akan menurun, memasuki fase kematian [11].

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan beberapa hal yaitu variasi waktu hidrolisis dan konsentrasi enzim yang memberikan % Brix tertinggi adalah pada waktu hidrolisis 70 menit dengan konsentrasi enzim 2,5%, yaitu sebesar 16%. Selain itu, kadar air terendah sebesar 98,93% juga diperoleh pada waktu hidrolisis 70 menit dengan konsentrasi enzim 2,5%. Oleh karena itu, waktu hidrolisis terbaik adalah 70 menit dengan konsentrasi enzim 2,5%. Dari hasil pengujian kadar etanol menggunakan GC-MS menunjukkan kadar etanol sebesar 64,95%. Sementara itu, kadar gula tertinggi yang diperoleh adalah 16%.

5. Daftar Pustaka

- [1] Gusti S. S., Erisa M., & Meilana D.P. (2015). Pemanfaatan kulit cempedak sebagai bahan baku pembuatan bioetanol dengan proses fermentasi menggunakan *saccharomyces cerevisiae*
- [2] Arlianti, Lily. 2018. Bioetanol Sebagai Sumber Green Energy Alternatif yang Potensial di Indonesia. Tangerang Banten : Universitas Islam Syekh Yusuf
- [3] Viera Valencia, L. F., & Garcia Giraldo, D. (2019). Tumbuhan cempedak. *Angewandte Chemie International Edition*, 6 (11), 951–952. [4]
- [4] Permanasari, A. R., & Yulistiani, F. (2015). Pembuatan gula cair dari pati singkong dengan menggunakan hidrolisis enzimatis. *Fluida*, 11 (2), 9–14.
- [5] Smith, I. A. (1970). Factors affecting enzymatic starch hydrolysis in sugar solutions. *Proceedings of the South African Sugar Technologists' Association*, 44, 88–93.
- [6] Wee L. L., Anuar M., Ibrahim, S., & Chisti Y. (2011). Enzyme-mediated production of sugars from sago starch: Statistical process optimization. *Chemical Engineering Communications*, 198 (11), 1339–1353.
- [7] Sari R. S., Pamungkas, E., & Inayati. (2014). Pengaruh waktu hidrolisa dan konsentrasi asam pada hidrolisa pati kentang dengan katalis asam. *Ekulibrium*, 13 (2), 45–49. [9] Kementerian Pekerjaan Umum, *Materi Bidang Sampah I, Diseminasi dan Sosialisasi Keteknikan Bidang PLP*. Jakarta, Indonesia: Ditjen Cipta Karya, 2013.
- [8] Findrik Z., Presečki A. V., & Vasić-Rački D. (2010). Mathematical modeling of maltose hydrolysis in different types of reactor. **Bioprocess and Biosystems Engineering*, 33*(3), 299-307.
- [9] Sandjaja dan Atmarita. 2009. *Kamus Gizi Pelengkap Kesehatan Keluarga*. PT Gramedia: Jakarta
- [10] RTM Sutamihardja. (2017). Perbandingan hidrolisis enzim dan asam terhadap pati jagung manis (*Zea mays L.*) dalam pembuatan gula cair. 7, 58 – 67.
- [11] Wusnah, Bahri S., dan Hartono D (2019). "Proses Pembuatan Bioetanol dari Kulit Pisang Kepok (*Musa Acuminata B.C*) Secara Fermentasi". Jurusan Teknik Kimia. Fakultas Teknik. Universitas Malikussaleh. Lhokseumawe