

PENGARUH VARIASI MASSA RAGI *Saccharomyces cerevisiae* TERHADAP KADAR BIOETANOL BERBAHAN DASAR LIMBAH KULIT KOPI ARABIKA (*Coffea Arabica L*)

Resa Vernia Febrina^{1*}, Reni Silvia Nasution¹, Febrina Arfi¹

¹Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Ar-Raniry

*E-mail: Resa.fernia@gmail.com

Abstract: Arabica coffee skin waste contained 49% cellulose, 24,5% hemicellulose, and 7,63% lignin that can be used to produce bioethanol. The purpose were to know the effect of various mass of yeast *Saccharomyces cerevisiae* (3, 9, and 15 gram). The method used consist of several steps such as pretreatment, hydrolysis, fermentation using *Saccharomyces cerevisiae*, distillation process, and determining bioethanol content using chromatography gas. The bioethanol content from 25 gram arabica coffee skin waste with 3, 9, and 15 gram yeast for 3 days fermentation was 0,35%; 0,57%; and 1,46%. The highest bioethanol content was 1,46% found by adding 15 gram yeast *Saccharomyces cerevisiae* for 3 day fermentation.

Keywords: Coffee skin waste, bioethanol, fermentation, yeast *Saccharomyces cerevisiae*.

Abstrak: Limbah kulit kopi arabika merupakan salah satu bahan yang mengandung 49% selulosa; 24,5% hemiselulosa; dan 7,63% lignin sehingga dapat dimanfaatkan untuk pembuatan bioetanol. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh variasi massa ragi *Saccharomyces cerevisiae* terhadap kadar bioetanol limbah kulit kopi arabika. Metode yang digunakan terdiri dari beberapa tahap yaitu *pretreatment*, hidrolisis, fermentasi, distilasi, dan penentuan kadar bioetanol menggunakan kromatografi gas. Kadar bioetanol yang diperoleh pada 25 g limbah kulit kopi dengan variasi massa ragi 3, 9, dan 15 g pada 3 hari fermentasi yaitu 0,35%; 0,57%; dan 1,46%. Kadar bioetanol tertinggi diperoleh sebesar 1,46% pada penambahan 15 g massa ragi *Saccharomyces cerevisiae* dengan waktu fermentasi selama 3 hari.

Kata Kunci: Limbah kulit kopi, bioetanol, fermentasi, ragi *Saccharomyces cerevisiae*.

PENDAHULUAN

Aceh merupakan daerah yang kaya akan komoditas kopi. Banyaknya produk kopi di Aceh, terutama di daerah Aceh Tengah, memberikan dampak negatif berupa limbah kopi dengan jumlah yang

besar. Salah satu limbah yang dihasilkan dari perkebunan kopi ini adalah kulit kopi.

Ketersediaan limbah kulit kopi cukup besar di Aceh karena pada pengolahan kopi akan menghasilkan 65% biji kopi dan 35% limbah kulit kopi (Saisa dan Syabriana, 2018). Kulit kopi merupakan

salah satu limbah terbanyak yang dihasilkan dari kopi di Aceh dan hanya dimanfaatkan dalam skala kecil seperti dijadikan pakan ternak (Pertiwi dan Wardani, 2016), pupuk, dan banyak pula kulit kopi yang menjadi limbah yang tak memiliki nilai guna. Di sisi lain, kulit kopi memiliki potensi besar untuk dijadikan sesuatu yang memiliki nilai jual tinggi seperti menjadikannya sebagai bahan bakar terbarukan yaitu bioetanol.

Bioetanol merupakan salah satu energi baru alternatif yang berasal dari makhluk hidup (Jannah dan Aziz, 2017). Limbah kulit kopi mempunyai kandungan serat sebesar 65,2% (Siswati *et al.*, 2012). Komponen serat pada kulit kopi yaitu 49% selulosa; 24,5% hemiselulosa; dan lignin 7,63% (Diniyah *et al.*, 2013). Hal ini menyebabkan limbah kulit kopi berpeluang besar untuk dijadikan sebagai bahan baku bioetanol. Menurut Ardiyanto (2015), pembuatan bioetanol dari bahan-bahan yang mengandung selulosa ini dapat dilakukan dengan beberapa proses yaitu hidrolisis dan fermentasi. Proses fermentasi merupakan proses pemecahan senyawa organik oleh mikroorganisme dalam kondisi anaerob untuk menghasilkan produk organik yang lebih sederhana. Salah satu mikroorganisme yang bisa membantu proses fermentasi bioetanol adalah *Saccharomyces cerevisiae*.

Proses fermentasi dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya derajat keasaman, mikroorganisme, suhu, waktu, dan media. Massa ragi *S. cerevisiae* berpengaruh terhadap kadar bioetanol yang dihasilkan. Menurut Coniwanti *et al.*, (2016), semakin banyak ragi yang ditambahkan maka kadar etanol yang dihasilkan juga semakin besar pada bahan baku yang digunakan berupa biji durian. Penelitian yang telah dilakukan oleh Asip *et al.*, (2016) mendapatkan bioetanol dengan kadar bioetanol tertinggi sebesar 5,3053% dari proses hidrolisis kemudian difermentasi dengan penambahan *S. cerevisiae* sebanyak 3 gram pada bahan baku sabut kelapa. Menurut Putra *et al.*, (2013), kondisi optimum pada proses fermentasi kulit singkong ditunjukkan dengan

menggunakan ragi sebanyak 3 g sebanyak 8,95%. Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Nasrun (2015) menggunakan ragi *S. cerevisiae* sebanyak 15 g dan menghasilkan rendemen bioetanol sebesar 6,234%. Berdasarkan hal di atas, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh massa ragi *S. cerevisiae* terhadap kadar bioetanol dari limbah kulit kopi arabika.

METODE

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain neraca analitik, ayakan 80 mesh, oven, gelas beaker, gelas ukur, blender, *hot plate*, *magnetic stirrer*, Erlenmeyer, kaca arloji, batang pengaduk, spatula, pipet tetes, pipet volume, karet penghisap, kertas saring, indikator universal, pH meter, *stopwatch*, labu alas bulat, labu kromatografi gas, labu leher tiga, mantel pemanas, termometer, statif, corong, sentrifugasi.

Bahan-bahan yang dipakai pada penelitian ini antara lain kulit kopi arabika dari Aceh Tengah, ragi roti *Saccharomyces cerevisiae* merek Fermipan, akuades (H_2O), asam klorida (HCl) 20%, natrium hidroksida (NaOH) 10 M, dan etanol (C_2H_5OH) 96%.

Persiapan Sampel

Kulit kopi arabika kering diambil dari Aceh Tengah dan dibersihkan dari kotoran terlebih dahulu. Kulit kopi arabika kering kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu 60°C selama 48 jam, kemudian dihaluskan menggunakan blender hingga berbentuk serbuk. Serbuk kulit kopi arabika diayak menggunakan ayakan 80 mesh dan dianalisis kadar airnya.

Proses Pretreatment

Serbuk kulit kopi arabika ditimbang sebanyak 25 g lalu dimasukkan ke dalam Erlenmeyer berukuran 250 mL lalu ditambahkan 250 mL akuades.

Erlenmeyer ditutup menggunakan aluminium foil. Campuran tersebut lalu dimasukkan ke dalam *Autoclave* selama 15 menit pada temperatur 121°C. Filtrat hasil *pretreatment* (Produk A) disimpan dalam Erlenmeyer, sedangkan endapan dari proses *pretreatment* akan digunakan pada proses hidrolisis.

Proses Hidrolisis

Endapan hasil *pretreatment* ditambahkan 250 mL HCl 20% kemudian diaduk hingga homogen. Erlenmeyer berisi campuran ditutup dengan aluminium foil dan direndam selama 24 jam. Disentrifugasi selama 5 menit. Hidrolisat (produk B) dicatat volumenya.

Proses Penentuan pH

Filtrat hasil *pretreatment* (produk A) dicampur dengan filtrat hasil hidrolisis (produk B). Kemudian pH larutan tersebut diukur hingga menjadi 5-5,5 dengan menambahkan NaOH 10 M. Saat pH telah mencapai *range* 5-5,5, HCl ditambahkan untuk mempertahankan pH agar tetap pada *range* tersebut. Campuran ini diberi nama sebagai produk C.

Proses Fermentasi

Produk C dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 500 mL. Produk C kemudian ditambahkan ragi *S.cerevisiae* dengan variasi massa ragi 3, 9 dan 15 g. Erlenmeyer tersebut ditutup dengan tisu dan dibiarkan proses fermentasi berlangsung selama 3 hari. Larutan hasil fermentasi lalu disaring dengan kertas saring dan diambil filtratnya (produk D). Volume larutan setelah fermentasi diukur dan dicatat.

Proses Pemisahan dengan Distilasi

Sebanyak 1 set peralatan distilasi dirangkai. Lalu produk D dimasukkan ke dalam labu distilasi. Produk D didistilasi pada suhu 78°C hingga diperoleh produk E dan produk E tidak menetes lagi.

Rendemen produk E kemudian dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Volume larutan setelah distilasi (mL)}}{\text{Volume larutan setelah fermentasi (mL)}} \times 100\%$$

Analisa Kadar Bioetanol

Kromatografi gas dengan detektor FID dikondisikan dengan suhu kolom 170°C, suhu injektor pada 210°C, suhu detektor pada 250°C dengan gas pembawa N₂ dengan kecepatan alir gas 0,5 bar dan H₂ dengan kecepatan alir pada 0,65 bar. Deret standar etanol dibuat dengan konsentrasi 0,2%; 0,4%; 1%; dan 2%, dengan mengencerkan etanol p.a menggunakan akuades. Standar tersebut dianalisis dengan menginjeksikan 1 µL larutan standar tersebut ke alat kromatografi gas sehingga diperoleh data luas area dari masing masing standar. Lalu dilakukan analisis terhadap sampel dengan mengambil 1µL sampel yang sudah dilakukan preparasi sebelumnya diambil menggunakan *syring* khusus untuk kromatografi gas. Sampel diinjeksikan ke kolom GC lewat *heated injection port* dengan sistem yang sudah dioptimasi. Hasil analisis diperoleh berupa kromatogram yang berisi waktu retensi dan luas area, kemudian dibuat kurva kalibrasi dengan memplotkan luas area dengan konsentrasi standar etanol yang digunakan. Kadar bioetanol sampel dihitung dengan cara memplotkan *peak area* terhadap konsentrasi etanol standar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

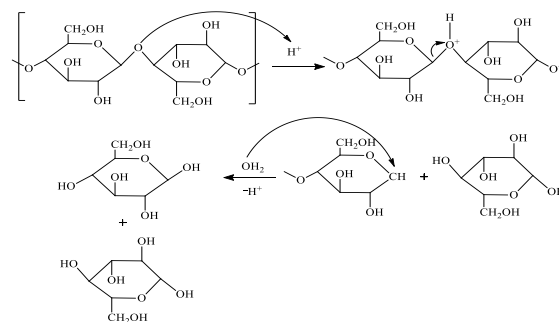
Pengeringan limbah kulit kopi arabika dilakukan menggunakan oven pada suhu 60°C selama 48 jam bertujuan untuk mengurangi kadar air yang dikandung sampel. Sampel dihaluskan dengan tujuan untuk merombak struktur-struktur yang menyusun biomassa sehingga luas permukaan sampel menjadi maksimal dan bahan kimia yang akan digunakan pada tahap hidrolisis lebih cepat terserap dan kecepatan proses hidrolisis semakin meningkat (Hafidh *et al.*, 2017). Proses penghalusan sampel ini tergolong ke dalam jenis *pretreatment*

secara fisik. Proses pengayakan kemudian dilakukan menggunakan ayakan 80 mesh. Hal ini dikarenakan besar atau kecilnya ukuran sampel akan mempengaruhi kadar selulosa yang dihasilkan, dan sangat berpengaruh terhadap pemutusan rantai polimer menjadi semakin pendek sehingga proses pemisahan lignin lebih mudah dilakukan (Cheng, 2002).

Kadar air sampel rata-rata yang diperoleh adalah sebesar 2,88%. Hal ini menunjukkan bahwa kadar air yang dikandung oleh sampel cukup rendah sehingga mikroba atau jamur akan sulit tumbuh dan berkembang biak pada sampel, dan menyebabkan masa simpan sampel bisa lebih lama. Agar dapat menghidrolisis selulosa yang ada pada sampel, diperlukan suatu perlakuan untuk membuka ikatan lignin yang dinamakan sebagai tahap *pretreatment*. Menurut Sime *et al.*, (2017), tujuan utama dari proses *pretreatment* ini adalah merusak sel lignin yang melindungi selulosa serta hemiselulosa, kemudian mengurangi kristalin selulosa, serta meningkatkan porositas. *Pretreatment* juga dapat meningkatkan pembentukan gula, menghindari kehilangan karbohidrat, dan mengurangi biaya produksi. Dengan proses *pretreatment* ini pula, hasil konversi bioetanol akan menjadi semakin tinggi (Asip *et al.*, 2016). Filtrat hasil *pretreatment* (produk A) berwarna kehitaman. Warna hitam ini terbentuk akibat berkurangnya kandungan lignin pada larutan.

Asip *et al.*, (2016) mengatakan bahwa hidrolisis adalah proses perubahan atau pemecahan selulosa, hemiselulosa serta karbohidrat menjadi gula yang lebih sederhana atau disebut sebagai glukosa. Penelitian ini menggunakan asam klorida sebagai pelarut pada proses hidrolisis. Hal ini disebabkan karena HCl yang merupakan asam kuat tersebut akan cenderung memberikan proton jika larut dalam air, maka asam tersebut akan berubah menjadi basa konjugasi (Sutarno, 2017). HCl yang digunakan juga berfungsi sebagai katalisator yang berfungsi untuk mempercepat proses reaksi yang terjadi.

Berikut merupakan reaksi hidrolisis selulosa menggunakan HCl:



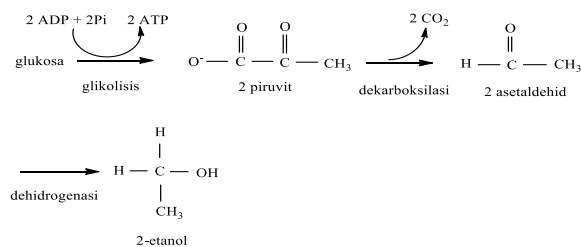
Gambar 1. Mekanisme Reaksi Hidrolisis Asam Pada Selulosa (Balat, 2008)

Mekanisme reaksi hidrolisis asam pada selulosa diawali dengan adanya donor H^+ sehingga proton dari asam akan berinteraksi secara cepat dengan ikatan glikosida yang terdapat pada dua unit glukosa dan menyebabkan terbentuk asam konjugasi. Keberadaan asam konjugasi tersebut mengakibatkan konformasi menjadi tidak stabil sehingga terjadi pemutusan ikatan C-O dan membebaskan asam konjugasi yang berada pada konformasi tidak stabil. Kemudian terdapatnya air pada sistem juga akan menyebabkan OH^- dari air berikatan dengan ion karbonium sehingga membebaskan glukosa dan proton. Lalu proton yang terbentuk akan berinteraksi kembali dengan cepat dengan ikatan glikosida oksigen yang terdapat pada dua unit glukosa yang lain dan proses tersebut akan terus berlanjut hingga molekul selulosa terhidrolisis menjadi molekul glukosa (Balat, 2008).

Konsentrasi HCl yang digunakan adalah 20% karena konversi gula yang dihasilkan bisa tergolong tinggi hingga mencapai 90%. Suhu yang dipakai pada proses hidrolisis ini yaitu $100^{\circ}C$ dimana suhu ini dipilih karena hidrolisis asam membutuhkan suhu yang tinggi untuk dapat bekerja (Sutarno, 2017). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Asip *et al.*, (2016), konsentrasi HCl yang digunakan pada saat hidrolisis berbanding lurus dengan kadar glukosa yang dihasilkan dari proses hidrolisis. Menurut Jannah (2017), penggunaan asam kuat seperti HCl juga dapat

merusak lignin disebabkan asam kuat lebih reaktif memecahkan lignin dan melarutkannya.

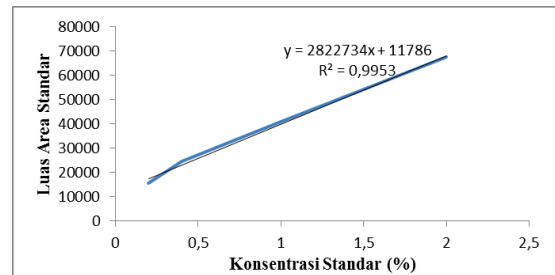
Fungsi penambahan NaOH pada proses penentuan pH adalah untuk menaikkan pH yang semula memiliki nilai pH sekitar 1 hingga 2 agar menjadi pH yang diinginkan untuk digunakan pada proses fermentasi yaitu pada pH berkisar antara 5-5,5. Hal ini sesuai dengan teori Sime (2017) yang menyatakan bahwa NaOH digunakan untuk menyesuaikan pH selulosa dan hemiselulosa sebelum dilakukan fermentasi. Setelah pH larutan tersebut menjadi 5-5,5, maka ditambahkan asam agar mempertahankan pH supaya tetap pada *range* tersebut. Pemilihan *range* pH ini disebabkan karena *S.cerevisiae* hanya dapat hidup pada *range* pH tersebut (Winarno, 1984). Faktor keasaman merupakan faktor yang penting yang akan mempengaruhi pertumbuhan ragi *S. cerevisiae*, juga mempengaruhi pembentukan produk hasil fermentasi (Moede, 2017), sedangkan penambahan HCl setelah diperoleh pH yang diinginkan yaitu 5 bertujuan untuk mempertahankan pH produk C tersebut agar tetap berada pada *range* yang diinginkan sehingga pH produk C tidak turun atau naik sehingga dapat mempengaruhi hidup *S. cerevisiae*. Fermentasi dilakukan pada suhu ruang dikarenakan ragi yang digunakan untuk mengubah glukosa yang diperoleh pada proses hidrolisis agar menjadi etanol adalah ragi *S. cerevisiae* sehingga untuk dapat mencapai produksi etanol dengan maksimal pada suhu 28-31°C (Moede, 2000). Reaksi umum pembentukan bioetanol adalah sebagai berikut:



Gambar 2. Reaksi Pembentukan Bioetanol Pada Proses Fermentasi.

Proses distilasi untuk memurnikan bioetanol yang didapatkan setelah proses fermentasi dilakukan (Sime, 2017). Suhu yang digunakan adalah 78-80°C dikarenakan titik didih etanol adalah 78,4°C (Badan Standarisasi Nasional, 2009). Distilat yang diperoleh merupakan larutan tak berwarna, jernih, dan berbau khas seperti bau alkohol. Rendemen bioetanol yang diperoleh dari setiap variasi yang dilakukan berbeda-beda.

Penentuan kadar bioetanol terhadap sampel dilakukan dengan kromatografi gas dengan menggunakan detektor FID. Kurva kalibrasi yang diperoleh dengan menggunakan standar etanol 0,2%; 0,4%; 1%; dan 2% adalah sebagai berikut:



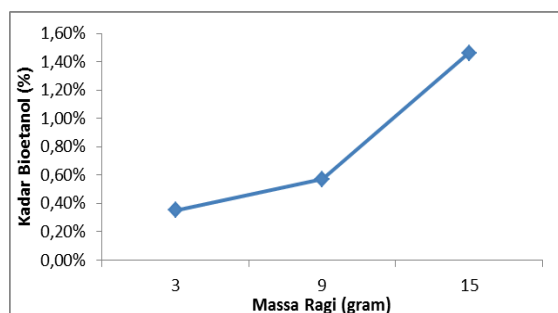
Gambar 3. Kurva Kalibrasi Standar Etanol.

Rendemen dan kadar bioetanol yang diperoleh pada penelitian ini ditunjukkan pada tabel 1 dibawah ini:

Tabel 1. Rendemen dan Kadar Bioetanol dengan Variasi Massa Ragi *S. cerevisiae*.

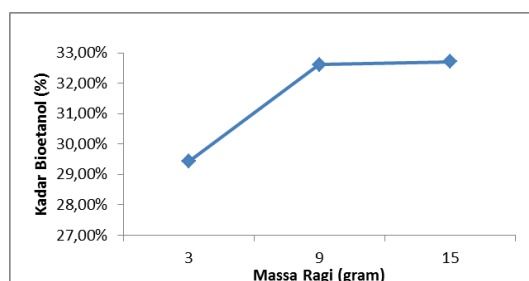
Massa Ragi (g)	Kadar Bioetanol (%)	Rendemen Bioetanol (%)
3	0,35	29,43
9	0,57	32,62
15	1,46	32,71

Berikut merupakan grafik hubungan antara massa ragi dan kadar bioetanol:



Gambar 4. Hubungan Antara Massa Ragi Terhadap Kadar Bioetanol.

Kadar bioetanol yang diperoleh pada penelitian ini bervariasi. Semakin banyak massa ragi *S. cerevisiae* yang ditambahkan pada sampel menyebabkan kadar etanol semakin tinggi. Dengan kata lain massa ragi *S. cerevisiae* berbanding lurus dengan kadar etanol. Semakin banyak penambahan ragi maka kadar etanol yang dihasilkan akan semakin besar akibat bakteri yang mengurai glukosa akan semakin banyak. Kadar bioetanol tertinggi diperoleh pada penggunaan 15 g ragi dengan kadar 1,46% sedangkan kadar terendah diperoleh pada 3 g ragi sebesar 0,35% kadar.



Gambar 5. Hubungan Antara Massa Ragi Terhadap Rendemen Bioetanol

DAFTAR RUJUKAN

- Ardiyanto, A., & Zainuddin, M. (2015). Pembuatan bioetanol dari limbah serat kelapa sawit melalui proses *pretreatment* hidrolisis. *Jurnal Teknik*. 16(2).
- Asip, F., Wibowo, Y.P., & Wahyudi, R.T. (2016). Pengaruh basa terhadap penurunan lignin dan konsentrasi

Rendemen bioetanol tertinggi adalah sebesar 32,71% yang terdapat pada sampel dengan 15 g ragi *S. cerevisiae*. Sedangkan rendemen bioetanol terendah terdapat pada sampel dengan 3 g ragi *S. cerevisiae* yaitu 29,43%. Menurut Syauqiah (2015) rendemen bioetanol dipengaruhi oleh kondisi lingkungan seperti suhu. Jika suhu fermentasi maupun distilasi berubah maka pertumbuhan dan kinerja dari ragi juga akan berubah sehingga proses fermentasi akan terganggu dan menghasilkan distilat dengan jumlah yang berbeda pula. Rendemen juga ditentukan oleh sistem pemanasan yang dilakukan pada tahap distilasi serta lama proses distilasi yang dilakukan. Semakin lama proses distilasi dilakukan maka volume bioetanol akan semakin banyak sehingga menyebabkan nilai rendemen menjadi semakin tinggi dan sebaliknya.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa kadar bioetanol tertinggi diperoleh pada penggunaan 15 g ragi yaitu 1,46% sedangkan kadar terendah diperoleh pada 3 g ragi sebesar 0,35%. Rendemen bioetanol tertinggi adalah sebesar 32,71% dengan penggunaan 15 gram ragi *S. cerevisiae*. Sedangkan rendemen bioetanol terendah terdapat pada sampel dengan 3 g ragi *S. cerevisiae* yaitu 29,43%.

hcl pada hidrolisis sabut kelapa untuk memproduksi bioetanol. *Jurnal Teknik Kimia*. 1(22).

- Balat, M. (2008). Progress in Bioethanol Processing. *Progress in Energy and Combustion Science*. 34(5).

- Cheng, J. & Sun, Y. (2002). Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production. A Review. *Biosource Technology*.
- Coniwanti, P., Siagian, F., & Prasetyo, Y. (2016). Pengaruh konsentrasi asam sulfat dan variasi massa ragi terhadap pembuatan bioetanol dari biji durian. *Jurnal Teknik Kimia*. 4(22).
- Diniyah, N., Maryanto, Nafi, A., Sulistia, D., & Subagio, A. (2013). Ekstraksi dan karakterisasi Polisakarida larut air dari kulit kopi Varietas Rabika (*Coffea arabica*) dan Robusta (*Coffea canephora*). *Jurnal Teknologi Pertanian*. 14(2).
- Hafid, H. S., Rahman, N. A., Shah, U. K.M., Baharuddin, A. S., & Arif, A.B. (2017). Feasibility of using kitchen waste as future substrate for bioethanol production : A review. *Renewable and Sustainable energy Review*.
- Jannah, A.M., & Aziz, T. (2017). Pemanfaatan sabut kelapa menjadi bioetanol dengan proses delignifikasi *acid-pretreatment*. *Jurnal Teknik Kimia*. 4(23).
- Moede, F.K., Gonggo, S.T., & Ratman, R. (2017). Pengaruh lama waktu fermentasi terhadap kadar bioetanol dari pati ui jalar kuning (*Ipomea batata L*). *Jurnal Akademika Kimia*. ISSN: 2447-5185.
- Pertiwi, F.N.E., & Wardani, A.K. (2016). *Produksi Etanol dari Tetes Tebu Oleh Saccharomyces cerevisiae Pembentuk Flok*.
- Putra, H. P., Fitri, G. N., & Awaluddin. (2013). Optimalisasi waktu fermentasi dan penggunaan ragi dalam pembuatan bioetanol dari kulit singkong. ISBN 978-98438-8-3.
- Saisa., & Syabriana, M. (2018). Produksi bioetanol dari limbah kulit kopi menggunakan enzim *Zymomonas Mobilis* dan *Saccharomyces Cereviseae*. *Serambi Engineering*. 3(1).
- Sime, W., Kasirajan, R., & Latebo, S. (2017). Coffee husk highly available in Ethiopia as an alternative waste source for biofuel production. *International Journal of Scientific & Engineering Research*. 8 (7). ISSN 2229-5518.
- Siswati, N. D., Yatim, M., & Hidayanto, R. (2013). bioetanol dari limbah kulit kopi dengan proses hidrolisis. *Jurnal Teknik*.
- Sutarno., & Kholiq, A. M. (2017). Utilization of robusta coffee waste as renewable energy material bioetanol. MATEC Web of Conferences 154.