

PENGARUH PENAMBAHAN ENZIM α -AMYLASE DAN LAMA WAKTU INKUBASI DALAM PEMBUATAN BIOETANOL DARI BIJI NANGKA

Dhea Rahmadany Prasasti¹, Nuniek Herdyastuti^{1*}

¹Jurusan Kimia, Universitas Negeri Surabaya, Jl. Ketintang, Surabaya, 60231, Indonesia

Author, email: dhea.18032@mhs.unesa.ac.id

*Corresponding Author, email: nuniekerdyastuti@unesa.ac.id

ABSTRACT

The need for energy sources in social life is very large. This encourages researchers to seek to create alternative energy sources from easily available and renewable materials, one of which is by utilizing jackfruit seeds. It is known that jackfruit seeds contain quite high starch, which is around 40-50% so that it can be used as a basic material for making bioethanol. The formation of ethanol can be carried out enzymatically with the addition of the α -amylase enzyme. This study aims to determine the effect of the use of α -amylase enzyme and incubation time on the levels of bioethanol produced from jackfruit seeds. The volume of the added α -amylase enzyme was 0.05 mL; 0.10 mL; 0.15 mL; and 0.20 mL with an incubation time of 48 hours. The best result of first step will be used in the second stage with incubation 24 hours, 48 hours, and 72 hours. The method used to determine the ethanol content is to use GC-MS. The results obtained showed that the highest ethanol content was 89.80% with the addition of 0.15mL enzyme within 48 hours of incubation.

Keywords: α -amylase Enzyme; Bioethanol; Ethanol; Incubation

ABSTRAK

Kebutuhan akan sumber energi dalam kehidupan bermasyarakat sangat besar. Hal tersebut mendorong para peneliti berupaya untuk membuat sumber energi alternatif dari bahan yang mudah didapatkan dan dapat diperbarui, salah satunya adalah dengan memanfaatkan biji nangka. Telah diketahui bahwa biji nangka mengandung pati cukup tinggi yaitu sekitar 40-50% sehingga dapat digunakan sebagai bahan dasar pembuatan bioetanol. Pembentukan etanol dapat dilakukan secara enzimatik dengan penambahan enzim α -amilase. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penggunaan enzim α -amilase dan waktu inkubasi terhadap kadar bioetanol yang dihasilkan dari biji nangka. Volume enzim α -amilase yang ditambahkan adalah 0,05mL; 0,10 mL; 0,15mL; dan 0,20 mL dengan waktu inkubasi 48 jam. Hasil volume enzim terbaik akan digunakan pada tahap kedua dengan waktu inkubasi 24 jam, 48 jam, dan 72 jam. Metode yang digunakan untuk penentuan kadar etanol adalah dengan menggunakan GC-MS. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa kadar etanol tertinggi adalah 89,80% pada penambahan enzim 0,15mL dalam waktu inkubasi 48 jam.

Kata Kunci: Bioetanol; Enzim α -amilase; Etanol; Inkubasi biji nangka

I. PENDAHULUAN

Kebutuhan sumber energi dari sumber daya fosil sampai saat ini terus meningkat. Hal ini jika terjadi terus menurun akan menjadikan kelangkaan sumber energi atau bahkan dapat habis. Mengingat sumber daya fosil adalah sumber daya yang tidak dapat diperbarui. Mengurangi ketergantungan terhadap penggunaan minyak bumi, dapat

menggunakan sumber energi dari bahan nabati (biofuel) dan bioenergi mulai digunakan sebagai pengganti minyak bumi[1]. Salah satu alternatif yang dapat digunakan sebagai pengganti bahan bakar fosil adalah bioetanol. Bioetanol merupakan bahan bakar nabati yang dapat diperbarui karena terbuat dari hasil fermentasi gula, pati-patian, atau biomassa lignoselulosa. Sumber bioetanol

dapat berupa ubi jalar, singkong, tebu, sagu dan jagung^[1]. Dalam memperoleh bioetanol yang optimal maka diperlukan bahan baku alternatif yang mengandung pati dan serat yang tinggi. Biji nangka merupakan salah satu bahan yang dapat digunakan. Dimana kandungan serat pada biji nangka sekitar 36,7%^[2]. Dilihat dari komposisi kimia, biji nangka juga memiliki pati yang tinggi yaitu sekitar 40-50%, sehingga dapat berpotensi juga sebagai sumber pati^[3]. Kandungan pati pada biji nangka yang tinggi dimanfaatkan untuk pembuatan bioetanol melalui proses enzimatik.

Enzim α -amilase adalah salah satu enzim yang digunakan pada proses hidrolisis enzimatik yang berfungsi untuk mengkonversi pati menjadi glukosa. Enzim α -amilase memotong ikatan α -1,4-glukosida secara spesifik pada titik tertentu membentuk dekstrin. Dalam tahap selanjutnya maltose dan glukosa terbentuk kembali dengan terurainya maltotriosa. Dalam menghasilkan glukosa untuk jumlah yang lebih banyak dibutuhkan enzim glukamilase. Kegunaan enzim glukamilase adalah untuk memutus ikatan pati pada pati yang belum terputus oleh enzim α -amilase^[3]. Dalam proses ini dapat dipengaruhi beberapa faktor, salah satunya adalah waktu inkubasi dan pH Enzim α -amilase dapat berkerja pada pH 5-6^[5]. Waktu inkubasi menentukan pertumbuhan jamur, laju fermentasi, dan hasil produk.

Pengaruh waktu inkubasi dalam pembuatan bioetanol sangatlah mempengaruhi kadar bioetanol yang dihasilkan^[6]. Waktu inkubasi berguna untuk mengubah gula menjadi etanol (alkohol) dengan menggunakan yeast/ ragi/ atau

khamir^[7]. Proses ini dapat dinamakan glikolisis. Glikolisis merupakan langkah awal dari respirasi aerob yang bertujuan menghasilkan energi dalam bentuk NADH dan ATP dari molekul glukosa. Untuk memecah glukosa menjadi alkohol dilakukan secara anaerob oleh aktivitas khamir *Saccharomyces cereviceae*^[8].

Saccharomyces cereviceae adalah bakteri yang termasuk dalam family *Saccharomycetales* dalam genus *Saccharomyces* berbentuk sel khamir bundar, memanjang seperti benang dan menghasilkan pseudomiselium. Khamir ini dapat hidup pada kondisi pH 3-6 dengan kondisi suhu maksimal 40-50°C dan minimal suhu 0°C^[9]. Bakteri *Saccharomyces cereviceae* sering digunakan untuk proses pembuatan bioetanol secara komersial bila dibandingkan dengan bakteri atau jamur yang lainnya, hal ini karena *Saccharomyces cereviceae* mampu memproduksi alkohol lebih banyak dan mempunyai toleransi kadar alkohol yang tinggi. Kadar alkohol yang dihasilkan sekitar 8-20% pada kondisi optimum. Secara umum mikroba ini memfermentasi gula menjadi etanol secara efisien pada pH 3,5-6,0 pada suhu 28-35 °C^[8].

II. METODE PENELITIAN

Alat

Peralatan yang digunakan *hot plate stirrer* (DLAB MS7-H550-Pro), *centrifuge* (Eppendorf), alat destilasi, dan GC-MS (Thermo Trace 1310)

Bahan

Bahan yang digunakan adalah biji nangka yang diperoleh secara komersial di pasar tradisional di Surabaya,

Saccharomyces cerevicae (Alcotec turbo 48), enzim α -amilase dengan aktivasi 300 KNU/g (Novozymez), dan enzim glukamilase dengan aktivasi 270 AUG.g⁻¹(Novozymez).

Prosedur

Pengaruh Penambahan Volume Enzim α -Amilase dan Lama Waktu Inkubasi

Biji nangka di oven pada suhu 150 °C hingga kering dan dihaluskan. Tepung biji nangka sebanyak ± 50 gram dan dilarutkan dalam 250 mL aquades dan dipanaskan di dalam gelas beaker hingga suhu mencapai 93-95°C menggunakan *heater stirrer*. Suspensi biji nangka didinginkan hingga mencapai suhu 90°C, ditambahkan volume enzim α -amilase aktivasi 300 KNU/g sesuai dengan perlakuan yaitu 0,05 mL; 0,01 mL; 0,15 mL; dan 0,20 mL. Suhu 90°C dipertahankan selama 1 jam disertai pengadukan. Enzim α -amilase cukup stabil berkerja pada suhu rendah sekitar 70-90°C pH dibawah 6^[5]. Hasil dari proses likuifikasi tersebut kemudian didinginkan hingga suhu mencapai 60°C, lalu ditambahkan enzim glukamilase sebanyak 0,1 mL pada setiap perlakuan yang dibuat. Proses ini dinamakan sakarifikasi yang berlangsung dalam 3 jam dengan suhu 60°C disertai pengadukan. Pada penelitian Sukandar (2011)^[10], menyatakan enzim glukamilase berkerja optimum pada suhu 60°C. *Saccharomyces cerevicae* ditambahkan sebanyak 4 gram pada setiap perlakuan dengan inkubasi selama 48 jam pada suhu ruang 28-35 °C. Hasil kadar biotenaol biji nangka tertinggi dari penambahan volume enzim α -Amilase di variasikan dengan pengaruh lama waktu inkubasi selama 24 jam, 48 jam, dan 72 jam.

Hasil dari inkubasi ini selanjutnya disentrifuge untuk memisahkan ampas/ rendemen sisa, kemudian didestilasi untuk memisah etanol dengan bahan-bahan lain yang tersisa, destilasi ini dilakukan pada suhu 80°C. Langkah akhir dalam penelitian ini pengukuran volume destilat dan pengukuran kadar etanol menggunakan instrument GC-MS.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Penambahan Volume Enzim α -Amilase

Hasil dan Pembahasan

Berdasarkan penelitian dengan pengaruh konsentrasi enzim α -amilase 0,05-0,20 mL. Bioetanol dianalisa volume hasil destilasi. Hasil analisa dapat diamati pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil analisa bioetanol pengaruh konsentrasi enzim α -amilase

Volume Enzim α -Amilase (mL)	Volume Destilat (mL)
0,05	5
0,10	6,7
0,15	8,6
0,20	11,5

Hasil dari penelitian ini dapat dilihat bahwa semakin banyak volume enzim α -amilase maka semakin banyak volume destilat etanol yang dihasilkan^[13].

Tabel 2. Hasil analisa bioetanol pengaruh konsentrasi enzim α -amilase

Volume Enzim α -Amilase (mL)	Waktu retensi (min)	Area [pA*]	Kadar Etanol (%)
0,05	1,4	109907521.2 12	58,80
0,10	1,4	121866820.9 54	63,63
0,15	1,4	166554046.7 28	89,80
0,20	1,4	149787830.5 04	89,57

Berdasarkan hasil pengaruh konsentrasi enzim α -amilase 0,05-0,20 mL yang dapat dilihat pada Tabel 1, menunjukkan bahwa pada volume enzim α -amilase 0,20 mL didapatkan volume bioetanol tertinggi yaitu 11,5 mL. Penambahan enzim α -amilase semakin banyak dapat menyebabkan kinerja amilase semakin baik seiring dengan peningkatan persentase volume dari destilat yang didapatkan^[11].

Berdasarkan data Tabel 2 dapat dilihat kadar etanol yang tertinggi didapatkan pada volume 0,15mL dengan 89,80%. Hal ini berbeda dengan penelitian Milarika dkk (2016) dimana hasil yang didapatkan kadar etanol dari biji durian tertinggi pada volume enzim α -amilase 0,20 mL sebesar 35%^[6]. Pada volume enzim α -amilase 0,20 mL terjadi penurunan kadar etanol, dengan hasil kadar etanol yang didapatkan yaitu 89,57%. Penurunan yang kurang signifikan ini dapat disebabkan oleh banyak faktor mulai dari proses pembuatan yang kurang teliti atau juga bisa dari efek inhibisi substrat. Hal ini dapat disebabkan karena konsentrasi gula berlebih merupakan efek dari inhibisi substrat^[4].

Enzim α -amilase sangat berpengaruh dalam proses liquifikasi, proses ini akan memecah ikatan 1,4-glukosida^[12]. Penambahan enzim α -amilase dapat menyebabkan peningkatan glukosa menjadi gula sederhana dan juga proses fermentasi dan produksi bioetanol. Tetapi dengan konsentrasi tertinggi dari enzim yang digunakan juga menyebabkan penghambatan proses reaksi serta mengurangi substrat yang dapat diubah ke bioetanol. Semakin tinggi konsentrasi gula akan menghasilkan produktivitas bioetanol yang tinggi juga. Hal tersebut terjadi karena banyaknya substrat untuk digunakan dalam metabolisme *Saccharomyces cerevisiae* sehingga menghasilkan metabolit yaitu etanol yang semakin banyak juga, namun dalam peningkatan ini dibatasi oleh adanya kandungan glukosa yang dapat menyebabkan inhibisi terhadap aktivitas dari enzim α -amilase^[11].

Pengaruh Lama Waktu Inkubasi

Hasil dan Pembahasan

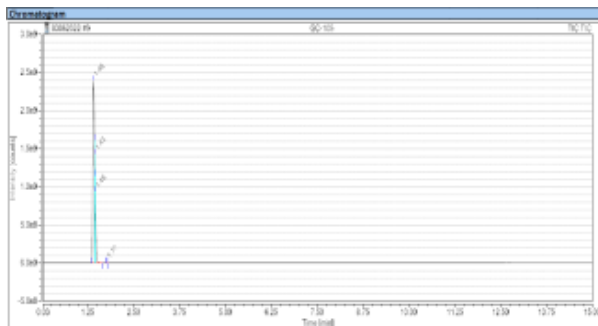
Hasil pada penelitian ini membahas dan menjelaskan mengenai kadar etanol yang dihasilkan dari biji nangka yang telah melalui proses enzimatik. Penelitian ini dengan variasi lama inkubasi 24-72 jam. Bioetanol dianalisa volume destilat. Hasil analisa dapat diamati pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil analisa bioetanol pengaruh lama waktu inkubasi

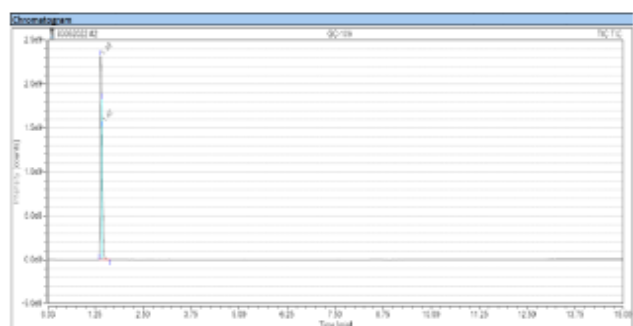
Lama Waktu Inkubasi (jam)	Volume Destilat (mL)
24	7
48	9
72	7,8

Waktu dalam proses fermentasi sangat berpengaruh terhadap perolehan volume bioetanol dan juga kadar etanol. Dimana semakin lama waktu inkubasi maka semakin banyak perolehan bioetanol dan semakin meningkat kadar etanolnya. Namun,

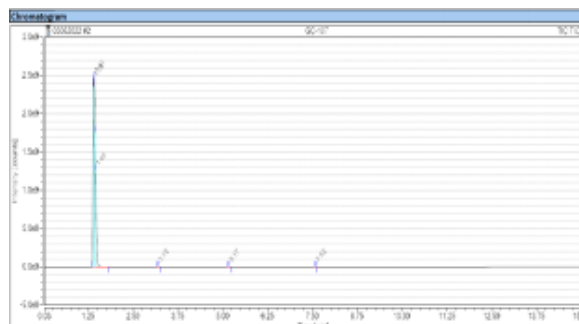
bila fermentasi terlalu lama maka nutrisi dalam substrat akan habis dan ragi *Saccharomyces cerevicae* tidak lagi dapat menfermentasi^[2].



(a)



(b)



(c)

Gambar 1. Hasil kromatogram GC-MS senyawa etanol pada lama waktu inkubasi (a) 24 jam, (b) 48 jam, dan (c) 72 jam.

Tabel 4. Hasil analisa bioetanol pengaruh lama waktu inkubasi

Lama Waktu Inkubasi (jam)	Waktu retensi (min)	Area [pA*]	Kadar Etanol (%)
24	1,4	94500088.540	62,42
48	1,4	110368217.513	71,98
72	1,4	85073292.108	42,13

Kadar bioetanol yang dihasilkan setelah mendapatkan perlakuan lama fermentasi. Volume bioetanol tertinggi pada variasi lama

waktu fermentasi yaitu 48 jam dengan volume bioetanol yang dihasilkan 9 mL serta kadar etanol 71,98%. Kadar terendah dihasilkan oleh waktu fermentasi 72 jam yaitu 42,13% dengan volume bioetanol 7,8 mL. waktu fermentasi 24 jam menghasilkan kadar etanol sebanyak 64,42% dengan volume bioetanol 7 mL. Hasil ini sesuai dengan variasi penambahan volume enzim α -amilasi yang kadar bioetanol tertinggi didapatkan pada

volume enzim 0,15 mL dengan lama waktu inkubasi 48 jam. Dalam penelitian Milarika dkk (2016) lama waktu inkubasi 48 jam juga menghasilkan volume destilat terbanyak dan kadar etanol tertinggi^[4].

IV. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dari penelitian yang diperoleh, dapat ditarik kesimpulan proses yang digunakan adalah proses hidrolisis enzimatis menggunakan enzim α -amilase dan glukamilase dengan bakteri *Saccharomyces cerevisiae* yang memfermentasi gula menjadi etanol. Hasil analisa menunjukkan kadar bioetanol tertinggi diperoleh pada volume enzim α -amilase 0,15 mL dengan volume etanol yang dihasilkan 8,6 mL dan kadar etanol yang didapatkan yaitu 89,80%. Pada proses fermentasi diperoleh yang paling optimum pada 48 jam dengan hasil volume bioetanol 9 mL dengan kadar etanol 71,98%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih diutarakan kepada Jurusan Kimia Universitas Negeri Surabaya yang telah memfasilitasi semua penelitian pengaruh enzim α -amilase dan lama waktu inkubasi dalam pembuatan bioetanol dari biji nangka.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Arifiyanti, N. A., Katini, D. N., & Billah, M. (2020). ChemPro Journal. Bioetanol dari Biji Nangka dengan Proses Likuefikasi dan Fermentasi Menggunakan *Saccharomyces Cerevisiae*, 1, 51-55.
- [2] Naid, T., Baits, M., & Triana, Y. (2012). Produksi Bioetanol Dari Biji Buah Nangka (*Artocarpus Heterophyllus*) Melalui Proses Hidrolisis Asam Sulfat dan Fermentasi. Jurnal Farmasi, 04, 121-128.
- [3] Supriyadi, A., & Pangesthi. (2014). Pengaruh Substitusi Tepung Biji Nangka ((*Artocarpus*

- heterophyllus*) terhadap Mutu Organoleptik Kue Onde-nde Ketawa. Jurnal Boga, 3, 225-233.
- [4] Milarika, N. P., Ristiat, & dkk. (2016). Penggunaan Enzim Alfa-Amilase dan Waktu Fermentasi Dalam Pembuatan Bioetanol Dari Tepung Biji Buah Durian (*Durio zibethinus*). 3-4.
- [5] Ainezzahira, H. D., & dkk. (2019). Pemanfaatan Enzim Alpha-amilase pada Modifikasi Pati Singkong Sebagai Substitusi Gelatin Produk Marshmallow. Jurnal Agroindustri, 220-227.
- [6] Azizah, N., Al-DBaarri, A. N., & Mulyani, S. (2012). Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kadar Alkohol, pH, dan Produksi Gas Pada Proses Fermentasi Bioetanol Dari Whey Dengan Substitusi Kulit Nanas. Jurnal Teknologi Pangan, 1, 1-8.
- [7] Febriana, I., Zurohaina, & dkk. (2018). Pengaruh Konsentrasi Ragi Roti (*Saccharomyces Cerevisiae*) Dan Lama Fermentasi Dalam Pembuatan Bioetanol Menggunakan Kulit Pisang. Distilasi, 3, 1-7.
- [8] Rijal, M., Rumburu, A., & Mahulauw, A. (2019). Pengaruh Konsentrasi *Saccharomyces cerevisiae* Terhadap Produksi Bioetanol Berbahan Dasar Batang Jagung. Jurnal Biology Science and Education, 8, 59-70.
- [9] Moeksin, R. (2015). Pembuatan bioetanol dari air limbah cucian beras menggunakan metode hidrolisis enzimatis dan fermentasi. Jurnal Teknik Kimia, 21, 14-22.
- [10] Sukandar, U., & dkk. (2011). Sakarifikasi Pati Ubi Kayu Menggunakan Amilase *Aspergillus Niger* Itb Cc L74. Jurnal Teknik Kimia Indonesia, 1-8.
- [11] Azad, A., & dkk. (2014). Optimum Conditions for Bioethanol Production for Bioethanol Production. Advances in Bioscience and Biotechnology, 5, 501-507.
- [12] Sukaryo, Jos, B., & Hargono. (2013). Pembuatan Bioetanol dari Pati Umbi Kimpul (*Xanthosoma Sagittifolium*). Momentum, 9, 41-45.
- [13] Hanum, F., Pohan, N., Rambe, M., & Primadoni, R. (2013). Pengaruh Massa Ragi Dan Waktu Fermentasi Terhadap Bioetanol Biji Durian. Jurnal Teknik Kimia USU, 2, 49-54.