



Pengaruh Konsentrasi Asam Sulfat dalam Proses Hidrolisis Selulosa dari Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus costaricensis*) untuk Produksi Bioetanol

Rosa Safitri¹, Indras Dwi Anggita², Firda Marta Safitri³ dan Anak Agung Istri
Ratnadewi⁴

¹Jurusan Kimia, Universitas Jember, Jember 68121

E-mail : rosasafitri02@gmail.com

²Jurusan Kimia, Universitas Jember, Jember 68121

E-mail : indrasdwi49@gmail.com

³Jurusan Kimia, Universitas Jember, Jember 68121

E-mail : firdamarta98@gmail.com

Dosen Biokimia, Universitas Jember, Jember 68121

^d istri-dewi.fmipa.unej.ac.id (corresponding author)

ABSTRAK

Kulit buah naga merah (*Hylocereus costaricensis*) merupakan limbah yang mengandung karbohidrat sebanyak 6,5% dari beratnya. Kulit buah naga merah dapat digunakan sebagai sumber energi (bioetanol) karena mengandung karbohidrat, yaitu selulosa. Proses pembuatan bioetanol dilakukan melalui tiga tahap, yaitu delignifikasi, hidrolisis dan fermentasi. Hasil delignifikasi kulit buah naga merah diuji kualitatif dengan FTIR dan menunjukkan bahwa hasil delignifikasi berupa selulosa. Selulosa yang dihasilkan sebanyak 20%. Selulosa dikonversi menjadi glukosa menggunakan metode hidrolisis dengan asam sulfat dan dilanjutkan produksi bioetanol melalui fermentasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*. Parameter yang digunakan dalam penelitian ini yaitu konsentrasi asam sulfat yang digunakan selama proses hidrolisis (0,5;1,0;1,5 dan 2,0 M) untuk menghasilkan konsentrasi glukosa yang optimum. Uji kualitatif hasil hidrolisis dengan menggunakan analisis FTIR menunjukkan adanya glukosa dalam sampel. Sementara hasil uji kuantitatifnya menunjukkan bahwa pada konsentrasi asam sulfat 2,0 M menghasilkan glukosa paling besar yaitu 0,05 g/mL. Etanol yang dihasilkan dari proses fermentasi diuji kualitatif dan menunjukkan bahwa positif menghasilkan etanol yang dapat dijadikan sebagai sumber bioetanol. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk memperoleh sumber energi alternatif, sehingga dapat mengatasi adanya kelangkaan energi.

Kata Kunci

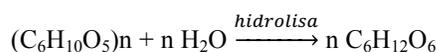
Bioetanol, delignifikasi, fermentasi, hidrolisis, kulit buah naga merah, selulosa,

1. PENDAHULUAN

Buah naga merah merupakan salah satu tanaman yang sangat berpotensi untuk dikembangkan di Indonesia. Salah satu daerah di Indonesia yang berhasil mengembangkan buah naga merah yaitu di Kabupaten Jember. Jumlah pohon buah naga merah yang terdapat di Kabupaten Jember ini sekitar 100 ribu pohon dan produksinya dapat mencapai tiga sampai empat ton dalam sehari^[1]. Konsumsi buah naga merah ini hanya memanfaatkan buahnya saja, sedangkan limbah kulit yang beratnya sekitar 30-35% dari berat buah kurang dimanfaatkan^[2].

Kulit buah naga merah memiliki kandungan karbohidrat, lemak, protein, antosianin dan serat pangan. Kandungan karbohidrat (selulosa) pada kulit buah naga merah ini sekitar 6,5 % dari beratnya. Limbah ini dapat dikonversi menjadi

cukup tinggi^[2]. Etanol dapat digunakan sebagai sumber bioetanol. Bioetanol dapat digunakan sebagai bahan bakar nabati (BBN) cair sebagai pengganti bensin atau sebagai sumber energi. Bioetanol yang dihasilkan memiliki energi dan kemurnian yang tinggi apabila saat dilakukan pengujian memiliki nyala api biru. Campuran 85% bensin dan 15% etanol memiliki angka oktan sangat tinggi, sehingga campuran antara bensin dan bioetanol dapat digunakan untuk bahan bakar mesin yang lebih efisien. Etanol dari bahan berlignoselulosa dapat dibuat melalui dua tahap yakni tahap pertama adalah konversi selulosa menjadi gula. Tahap kedua adalah produksi etanol dari gula hasil fermentasi. Konversi selulosa menjadi gula dilakukan melalui hidrolisis^[2]. Hidrolisa merupakan proses pemecahan suatu melalui dengan air. Berbagai hidrolisa dapat



Selulosa Air Glukosa

Hidrolisis merupakan reaksi antara reaktan dengan air sehingga terjadi penguraian senyawa. Asam yang biasanya digunakan dalam proses hidrolisis yaitu asam asetat, asam fosfat, asam klorida dan asam sulfat. Proses hidrolisis akan semakin cepat jika konsentrasi asam yang digunakan semakin tinggi. Konsentrasi asam yang digunakan semakin besar juga dapat mengakibatkan terikatnya ion seperti SiO_2 , fosfat dan garam-garam seperti Ca, Mg, Na dan K yang terdapat dalam pati. Proses hidrolisis menggunakan asam sulfat dapat menghasilkan produk yang lebih besar karena asam ini memiliki jumlah ion hidronium yang lebih banyak daripada asam kuat lainnya seperti asam klorida. Hal ini dapat menyebabkan pemutusan monomer dalam pati akan berlangsung dengan sempurna^[3]. Dalam penelitian ini diharapkan semakin besar konsentrasi asam sulfat yang digunakan selama proses hidrolisis, maka akan menghasilkan glukosa yang lebih tinggi. Hasil hidrolisis selulosa yaitu glukosa. Glukosa yang dihasilkan selanjutnya difermentasi untuk menghasilkan etanol. Fermentasi merupakan proses produk energi secara aerob maupun anaerob sehingga menghasilkan aktivitas mikroba yang terkontrol. Fermentasi termasuk dalam bioteknologi tradisional karena prosesnya terjadi pada bahan makanan atau bahan pakan dengan cara menambahkan suatu enzim mikroorganisme tertentu sehingga terjadi perubahan fisik, penampilan serta rasa akibat proses biologis^[4].

Proses pembuatan bioetanol telah dilakukan oleh Erna (2016), dimana bioetanol yang dihasilkan diperoleh dari kulit singkong. Proses hidrolisis pada penelitian yang dilakukan oleh Erna (2016) dilakukan dengan asam klorida dan asam sulfat dan menghasilkan glukosa maksimum ketika dihidrolisis dengan HCl 15%. Hasil etanol yang dihasilkan yaitu 4% saat difermentasi selama 10 hari. Penelitian tentang bioetanol juga dilakukan oleh Diah (2013). Bioetanol diperoleh dari kulit pisang kepok melalui proses fermentasi dan dihasilkan kadar etanol sebesar 5,1 %. Oleh karena itu penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk memperoleh bioetanol dari kulit buah naga merah yang dikakukan dengan variasi asam sulfat dalam proses hidrolisis untuk menghasilkan glukosa. Glukosa yang dihasilkan nantinya akan dapat konversi menjadi bioetanol. Bioetanol yang diperoleh dalam penelitian ini dapat digunakan sebagai sumber

energi alternatif yang dapat mengurangi permasalahan mengenai kelangkaan energi.

2. METODE PENELITIAN

2.1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu grinder (Chemex), oven (Medcenter), ayakan 60 mesh, gelas beaker (Pyrex) 50, 100 dan 1000 mL, toples, erlenmeyer (pyrex) 250 mL, labu ukur (pyrex) 10, 25, 50, dan 500 mL, pipet tetes, penangas, termometer $100^\circ C$, pipet mohr 5 mL dan ball pipet.

2.2. Bahan

Bahan yang digunakan yaitu kulit buah naga merah, H_2SO_4 (Merck), ragi *saccharomyces cereviciae*, $NaOH$ (Merck), akuades, kapas, aluminium foil, glukosa (Aldrich), reagen nelson, reagen fehling dan reagen molibdat.

2.3. Prosedur Penelitian

a. Pretreatment buah naga

Buah naga dibeli dari pedagang buah naga yang berasal dari banyuwangi. Daging buah dan kulit buah naga dipisahkan dan kulit buah naga dipotong kecil-kecil. Kulit buah naga yang telah dipotong lalu dioven pada suhu $60^\circ C$ dalam oven. Kulit buah naga yang telah kering digrinder dan diayak dengan ayakan 60 mesh untuk mencari ukuran yang homogen.

b. Ekstraksi Selulosa

Bubuk kulit buah naga merah sebanyak 40 gram dididihkan dengan 2M $NaOH$ 1L selama 1 jam pada suhu $80^\circ C$. Hasil yang diperoleh dicuci dengan akuades sampai pH netral dan disaring dengan menggunakan kertas saring. Residu yang dihasilkan dikeringkan pada suhu $60^\circ C$.

c. Hidrolisis

Serbuk kulit buah naga sebanyak 8 gram dihidrolisis dengan 100 ml asam sulfat pada konsentrasi 0,5; 1,0 ; 1,5 dan 2,0 M pada suhu $90^\circ C$ selama 30 menit. Dinginkan hasil hidrolisis dan saring untuk memperoleh filtratnya. Filtrat ditambahkan $NaOH$ sampai netral. Kadar gula reduksi dianalisis dengan menggunakan metode nelson somogy.

d. Fermentasi

Hasil kadar gula reduksi tertinggi yang diperoleh saat hidrolisis di fermentasi dengan menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*. Hasil proses hidrolisis ditambahkan $NaOH$ 5M sampai pH 4-6 dan ditambahkan ragi sebanyak 10% dari volume sampel. Fermentasi dilakukan selama 3 hari pada suhu kamar. Hasil fermentasi lalu dididihkan pada

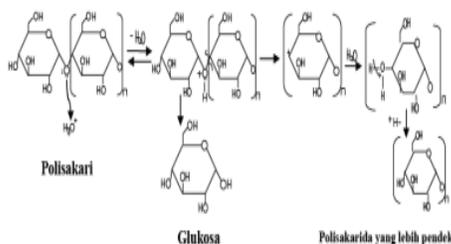
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Kulit buah naga merah merupakan limbah yang tidak banyak dimanfaatkan. Setiap 10 kg buah naga menghasilkan sekitar 3,5 kg kulit buah naga. Kulit buah naga merah ini mengandung komponen karbohidrat seperti selulosa yang dapat digunakan untuk mengasihkan energi. Sampel kulit buah naga merah yang akan digunakan di *pretreatment* terlebih dahulu untuk menyiapkan sampel bubuk buah naga yang akan diproses untuk mengasihkan etanol. Proses ini dilakukan dengan mencuci kulit buah naga merah yang telah dipotong untuk menghilangkan pengotornya. Sampel tersebut kemudian dikeringkan pada suhu 60 °C serta sampel yang telah kering digrinder untuk memperoleh ukuran yang kecil (bubuk). Ukuran partikel yang kecil dapat menyebabkan laju reaksi akan semakin cepat.

3.1. Delignifikasi

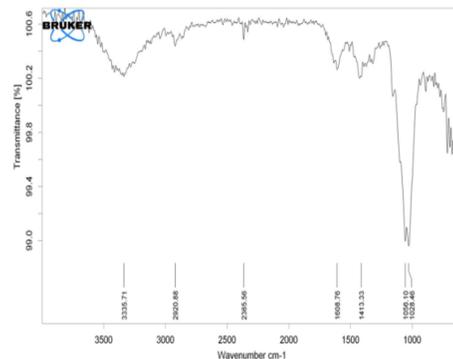
Bubuk kulit buah naga didelignifikasi untuk menghilangkan lignin. Selulosa hampir tidak ditemui dalam keadaan murni di alam, melainkan selalu berikatan dengan bahan lain seperti lignin. Lignin memiliki dinding yang sangat kuat, sehingga lignin ini harus dihilangkan agar proses hidrolisis dapat berlangsung dengan sempurna [5]. Proses delignifikasi dilakukan dengan mereaksikan 40 gram bubuk buah naga dengan larutan NaOH 2 M pada suhu 80 °C. Larutan NaOH 2M merupakan kondisi yang optimum untuk memecah lignin, sehingga diperoleh selulosa dalam keadaan murni. Proses delignifikasi ini menyebabkan bubuk kulit buah naga merah yang semula berwarna merah muda berubah menjadi coklat tua. Reaksi yang terjadi pada tahap delignifikasi terdapat pada gambar 1.

Hasil delignifikasi dicuci dengan menggunakan akuades sampai pH netral. Pencucian ini bertujuan untuk menghilangkan pengotor dan senyawa NaOH dalam larutan, sehingga tidak mempengaruhi hasil pada proses selanjutnya. Campuran yang telah dinetralkan dikeringkan pada suhu 60 °C sampai kadar air konstan.



Gambar 1. Reaksi pada proses delignifikasi [2]

Residu (bubuk kulit buah naga) yang dihasilkan pada proses delignifikasi yaitu 8 gram dari 40 gram kulit buah naga sebelum delignifikasi. Hal ini menunjukkan bahwa kulit buah naga mengandung lebih banyak lignin daripada selulosa. Kadar lignin dalam kulit buah naga merah yaitu sebesar 80%, sedangkan sisanya adalah selulosa. Hasil delignifikasi dapat berupa selulosa. Hal ini dapat dibuktikan dengan menggunakan uji kualitatif menggunakan FTIR yang terdapat pada gambar 2. Spektrum FTIR yang diperoleh dari bubuk kulit buah naga sama dengan selulosa komersil, tetapi memiliki intensitas yang cukup berbeda dengan selulosa komersil sehingga uji kualitatif ini menunjukkan bahwa sampel hasil delignifikasi mengandung selulosa.



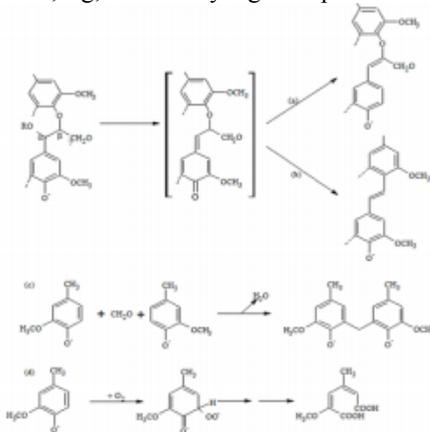
Gambar 2. Hasil spektrum FTIR selulosa kulit buah naga merah

3.2. Hidrolisis

Bubuk hasil delignifikasi dihidrolisis dengan menggunakan asam sulfat 0,5;1,0;1,5 dan 2,0 M. Variasi konsentrasi ini dilakukan untuk mengetahui konsentrasi asam sulfat yang baik dalam proses hidrolisis. Hidrolisis merupakan proses pemecahan molekul dengan air. Selulosa merupakan polimer glukosa dengan ikatan β-1,4 glukosida dalam rantai lurus, sehingga ketika selulosa dihidrolisis maka ikatan ikatan β-1,4 akan lepas dan akan menghasilkan glukosa [6]. Mekanisme reaksi hidrolisis yang terjadi antara selulosa dengan asam yaitu gugus H⁺ pada asam sulfat akan mengubah serat menjadi gugus radikal. Gugus radikal ini akan berikatan dengan OH dari molekul air sehingga akan mengasihkan glukosa [3]. Mekanisme reaksi hidrolisis selulosa dengan asam terdapat pada gambar 3.

Hasil yang diperoleh pada proses hidrolisis yaitu serbuk buah naga merah akan semakin coklat ketika ditambahkan dengan asam sulfat pada konsentrasi yang semakin tinggi. Hal ini dapat disebabkan

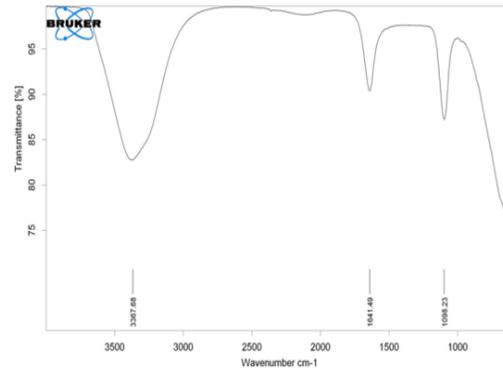
digunakan dalam proses hidrolisis akan menyebabkan proses degradasi selulosa menjadi lebih sempurna untuk menghasilkan glukosa. Menurut Mardina (2014) konsentrasi asam yang digunakan semakin tinggi akan mengakibatkan terikatnya ion seperti SiO₂, fosfat dan garam-garam seperti Ca, Mg, Na dan K yang terdapat dalam pati.



Gambar 3. Reaksi hidrolisis selulosa dengan asam^[5]

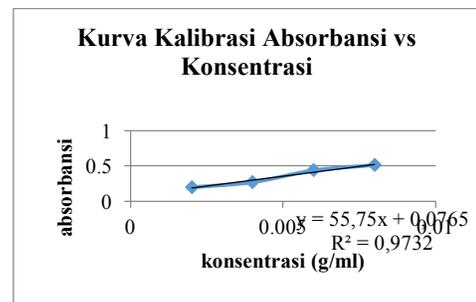
Proses hidrolisis menggunakan asam sulfat dapat menghasilkan produk yang lebih besar karena asam ini memiliki jumlah ion hidronium yang lebih banyak daripada asam kuat lainnya seperti asam klorida. Hal ini dapat menyebabkan pemutusan monomer dalam pati akan berlangsung dengan sempurna^[5]. Hal ini menyebabkan bahwa penggunaan asam kuat yang memiliki konsentrasi yang semakin besar dalam proses hidrolisis akan menghasilkan glukosa yang semakin banyak.

Pada konsentrasi asam sulfat 2 M menghasilkan larutan coklat gelap. Hal ini terjadi karena konsentrasi yang digunakan terlalu tinggi jika dibandingkan dengan variasi konsentrasi lainnya yang digunakan dalam penelitian ini, sehingga kekuatan hidrolisis akan meningkat dan menghasilkan suatu degradasi lebih lanjut membentuk karbon. Sampel hasil hidrolisis didinginkan dan dinetralkan dengan NaOH agar diperoleh glukosa dalam keadaan murni. Uji kualitatif hasil hidrolisis dilakukan dengan FTIR yang dapat dilihat pada gambar 4. Spektrum pada gambar 4 menunjukkan bahwa puncak yang dihasilkan oleh glukosa dari kulit buah naga merah memiliki puncak yang hampir sama dengan glukosa komersil, sehingga uji kualitatif ini menunjukkan bahwa hasil hidrolisis mengandung glukosa yang dapat dikonversi menjadi bioetanol setelah difermentasi



Gambar 4. Spektrum FTIR glukosa

Uji kuantitatif hasil hidrolisis dilakukan dengan menggunakan metode nelson somogyi yang diukur dengan spektrometer UV-VIS. Metode ini dilakukan untuk menentukan kadar gula pereduksi dalam sampel dengan menggunakan reagen nelson. Metode ini didasarkan pada reaksi reduksi pada pereaksi tembaga sulfat oleh gula pereduksi. Gula pereduksi (glukosa) akan mereduksi tembaga (II) menjadi tembaga (I) oksida^[7]. Metode ini membutuhkan larutan standar dan larutan blanko. larutan standar yang digunakan yaitu larutan glukosa dengan konsentrasi 0,02; 0,04; 0,06; dan 0,08 g/mL, sedangkan larutan blanko yang digunakan yaitu akuades, reagen nelson dan arsenomolibdat. Reagen arsenomolibdat digunakan untuk membentuk senyawa kompleks berwarna biru, sehingga dapat diukur dengan menggunakan spektrofotometer visible Sampel, larutan standar dan larutan blanko diukur pada panjang gelombang 540 nm. Hasil kurva standar yang diperoleh yaitu



Gambar 5. Kurva kalibrasi larutan standart glukosa

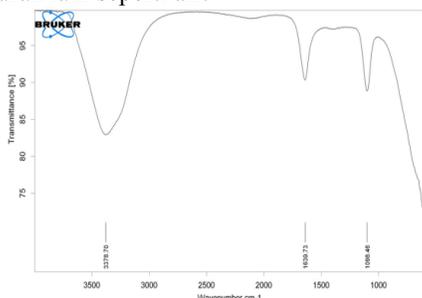
Hasil pengukuran kadar glukosa dengan spektrofotometer dapat dilihat pada tabel 1, dimana tabel ini menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi asam sulfat yang digunakan maka akan menghasilkan glukosa dengan konsentrasi yang lebih banyak. Kadar glukosa tertinggi ini yang akan digunakan untuk proses fermentasi.

Tabel 1. Analisis Konsentrasi glukosa hasil hidrolisis

No	Konsentrasi asam sulfat (M)	Konsentrasi Glukosa (g/mL)
1	0,5	0,030
2	1	0,032
3	1,5	0,041
4	2	0,050

3.3. Fermentasi

Proses fermentasi glukosa hasil hidrolisis dilakukan dengan menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*. Proses fermentasi ini dilakukan selama 3 hari dan berlangsung dengan kondisi anaerob. Anaerob merupakan suatu proses yang tidak memerlukan adanya oksigen, sehingga selama proses fermentasi harus ditutup dengan rapat. Campuran yang akan difermentasi perlu dijaga pHnya, dimana pH yang digunakan dalam penelitian ini yaitu pH 4-6. Hal ini dilakukan dengan tujuan agar ragi (*Saccharomyces cerevisiae*) yang digunakan tetap hidup dan dapat melangsungkan fermentasi. Hasil yang diperoleh dalam tahap ini yaitu berupa etanol. Hal ini dapat diketahui melalui uji kualitatif menggunakan FTIR. Spektrum pada gambar 6 menunjukkan bahwa etanol yang dihasilkan belum murni karena memiliki beberapa perbedaan dengan spektrum FTIR glukosa komersial. Proses pemurnian bioetanol dapat dilakukan dengan menggunakan destilasi, dimana bioetanol akan menguap terlebih dahulu pada suhu 78 °C dan akan dapat terpisah dari campuran lain seperti air.



Gambar 6. Spektrum FTIR etanol kulit buah naga

Bioetanol dapat dijadikan sebagai bahan bakar alternatif yang dapat digunakan untuk mengatasi kelangkaan energi. Bioetanol akan memberikan nilai oktan yang tinggi ketika dicampur dengan bensin (gasohol).

4. KESIMPULAN

Proses delignifikasi pada kulit buah naga merah dapat menghasilkan selulosa sebesar 20%. Hasil delignifikasi berupa selulosa dapat dibuktikan dengan uji kualitatif menggunakan FTIR. Selulosa yang dihidrolisis akan menghasilkan glukosa dalam

semakin besar (2M). Glukosa dapat dikonversi menjadi bioetanol melalui proses fermentasi dengan mikroorganisme *Saccharomyces cerevisiae*. Uji kualitatif adanya glukosa dan bioetanol dilakukan dengan menggunakan FTIR. Dalam proses produksi bioetanol dari kulit buah naga merah perlu dilakukan optimalisasi agar diperoleh bioetanol murni dalam jumlah yang cukup besar.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis memberikan ucapan terima kasih kepada Universitas Jember dan KEMENRISTEK DIKTI yang telah memberikan dukungan finansial dalam bentuk dana hibah PKM 2018 sehingga penelitian ini dapat terselesaikan dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Piliang, G.W. 1997. *Strategi Penyediaan Pakan Ternak Berkelanjutan Melalui Pemanfaatan Energi Alternatif, Orasi Ilmiah*. Bogor: Fakultas Pertanian IPB.
- [2] Setiawati, Diah Restu, Anastasia Rafika Sinaga, Tri Kurnia Dewi. 2013. Proses Pembuatan Bioetanol dari Kulit Pisang Kepok. *Jurnal Teknik Kimia*. 1(19) : 9-13
- [3] Mardina, Primata. 2014. Pengaruh Waktu Hidrolisis dan Konsentrasi Katalisator Asam Sulfat terhadap Sintesis Furfural dari Jerami Padi. *Konversi*. 2(3) : 2-4.
- [4] Sadasivam dan Manickam. 1996. *Biochemical Methods*. New Delhi : New Age International.
- [5] Gunam, I. B. W., Buda, K., & Guna, M. Y. S. (2010). Pengaruh perlakuan delignifikasi dengan larutan NaOH dan konsentrasi substrat jerami padi terhadap produksi enzim selulase dari *Aspergillus niger* NRRL A-II, 264. *Jurnal Biologi*, XIV(1), 55-61.
- [6] Lehninger. 1982. *Dasar-Dasar Biokimia* Jilid 1. Jakarta : Erlangga.
- [7] Pribadi, Yoga Sindi, Sukatiningsih dan Puspita Sari. 2014. Formulasi Tablet Effervescent Berbahan Baku Kulit Buah Naga Merah. *Berkala Ilmiah Pertanian* 1(4) : 88
- [8] Erna, Irwan Said dan P. Hengky Abram. 2016. Bioetanol dari Limbah Kulit Singkong (*Manihot esculenta* Crantz) Melalui Proses Fermentasi. *J. Akad. Kim.* 5(3) : 122-124
- [9] Hikmiyati, N., & Yantie, N. S. (2008). Pembuatan bioetanol dari limbah kulit singkong melalui proses hidrolisis asam dan enzimatis. *Skripsi*, Universitas Diponegoro.
- [10] Ramadhan, M. Ricjy, Noviar Harun, dan Faizah Hamzah. 2015. Kajian Pemanfaatan Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan Mangga (*Mangifera indica* Linn) dalam Pembuatan Fruit Leather. *Jurnal Ilmiah* 14 (1)