
POTENSI BERENUK (*CRESCENTIA CUJETE L*) UNTUK BAHAN PRODUKSI ALKOHOL SECARA FERMENTASI

Robin Ronaldi

Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta

Patricius Kianto Atmodjo*)

Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta

*)Correspondence email: kianto.atmodjo@uajy.ac.id

Boy Rahardja Sidharta

Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta

ABSTRAK

Buah berenuk (*Crescentia cujete L*) merupakan tumbuhan non pangan yang berpotensi sebagai bahan baku produksi alkohol yang sangat dibutuhkan untuk pembuatan sanitizer dan desinfektas saat pandemi ini. Buah ini mengandung 18,61% karbohidrat dan gula sederhana seperti sukrosa 59,86%, fruktosa 25,09% dan galaktosa 18,24% . Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi penggunaan buah ini sebagai bahan dasar pembentukan alkohol secara fermentasi. Buah berenuk yang matang diambil sarinya dan dimasak lalu dibuat sebagai substrat berkonsentrasi 12, 14, 16, 18, dan 20% dengan menambahkan akuades pada cairan buah berenuk dan ditambah Saccharomyces cerevisiae. Parameter yang diukur adalah jumlah sel *Saccharomyces cerevisiae*, pH medium, kadar gula reduksi, dan kadar alkohol. Rancangan penelitian berupa rancangan acak lengkap 5 tingkat konsentrasi dengan tiga ulangan. Analisa data berupa analisa variasi, uji berganda Duncan pada tingkat kepercayaan 95% dan analisa korelasi untuk mengetahui bentuk hubungan antar variabel. Hasil fermentasi berenuk menunjukkan sari buah berenuk dapat difermentasi dan menghasilkan alkohol tertinggi $\pm 4,00\%$ dari substrat sari buah berenuk berkonsentrasi 18% . Alkohol yang dihasilkan berupa senyawa etanol. ada hubungan positif antara peningkatan konsentrasi cairan buah dengan produksi alkohol, koefisien korelasi 0,77 . Disimpulkan bahwa buah berenuk berpotensi sebagai bahan alami yang dapat digunakan untuk substrat pembuatan alkohol.

Kata Kunci : etanol, fermentasi, korelasi, *Saccharomyces cerevisiae*, sanitiser

I. PENDAHULUAN

Di saat pandemi virus corona, alkohol sebagai bahan sanitizer sangat dibutuhkan. Namun, produksi alkohol masih mengalami berbagai macam kendala, di antaranya yaitu terjadi kompetisi sumber bahan baku antara pembuatan alkohol dan pangan. Bahan baku pembuatan alkohol berupa karbohidrat diperoleh dari tanaman tebu, jagung, dan singkong, merupakan tanaman yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai

bahan pangan. Jika tanaman pangan tersebut dialihkan fungsinya menjadi bahan baku produksi bioetanol, maka produksi pangan akan menurun (1). Untuk itu perlu dicari sumber hayati yang kaya akan karbohidrat, namun belum banyak dimanfaatkan.

Kekayaan hayati tumbuhan Indonesia sangat dikenal dunia. Banyak tumbuhan yang telah dimanfaatkan baik, akan tetapi, banyak juga tumbuhan yang dianggap tidak berguna dan ditebangi sehingga terancam punah, bahkan punah. Satu di antara banyak tanaman tersebut adalah berenuk (*Crescentia cujete* L.). Berenuk (sinonim mojopahit dan sukma) selama ini dianggap sebagai tumbuhan beracun dan berbahaya, terutama bila melihat isi buah yang hitam, lengket dan berbau tidak enak. Akibatnya tumbuhan ini tidak terawat, tidak diperhatikan dan ditebangi oleh masyarakat (2). Tumbuhan ini sudah semakin susah ditemukan di daerah perkotaan. Tumbuhan dikotil dari suku Bignoniaceae ini merupakan tumbuhan yang mudah tumbuh, hijau sepanjang tahun dan berbuah sampai 250 butir per pohon sepanjang tahun, dengan bentuk buah bulat sampai lonjong dan berat bisa mencapai 4 kg per buah (1). Hasil analisa proksimat buah berenuk menunjukkan kandungan karbohidrat yang cukup besar mencapai 18% yang tersusun dari sukrosa, glukosa, fruktosa dan galaktosa serta mengandung senyawa metabolit sekunder seperti tannin dan saponin yang bersifat antimikrobia (3). Karbohidrat ini berpotensi menjadi bahan baku industri alkohol fermentatif. Produksi alkohol secara fermentasi menggunakan jasad renik jamur seluler *Saccharomyces cerevisiae* yang mengkonversi gula menjadi alkohol karena adanya enzim invertase dan zimase (4). Adanya senyawa metabolit sekunder menjadi ancaman bagi khamir ini. Untuk itu Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi sari buah berenuk untuk produksi alkohol oleh *Saccharomyces cerevisiae* dan menentukan konsentrasi sari buah yang optimum.

II. METODE DAN PROSEDUR

a. Determinasi dan Persiapan Tanaman Berenuk

Sampel tanaman berenuk diambil dari Taman Wisata Candi Prambanan dibuat herbarium dan dilakukan determinasi tanaman berenuk dengan cara mencocokkan herbarium yang dibuat dengan herbarium tumbuhan berenuk yang terdapat di Herbarium Bogoriensis dan diperiksa ulang menggunakan buku determinasi (5).

b. Pembuatan Sari Buah Berenuk

Buah yang sudah matang dengan ciri waran kulit hijau kekuningan dan keras sebanyak 5 butir dibelah. Selanjutnya daging buah (pulp) yang warnanya agak putih kehitaman, segar dan harum dikerok dimasukkan panci dan dilumatkan. Pulp buah berenuk dipanaskan (tanpa air) menggunakan kompor sambil diaduk hingga busa menghilang. Hasil pemanasan didinginkan lalu dipisahkan antara sari dan ampas buah

berenuk dengan diperas menggunakan kain. Sari berenuk kemudian ditampung dan disimpan di dalam botol (6).

c. Pembuatan Alkohol

Komposisi medium fermentasi dibuat perlakuan konsentrasi sari buah berenuk (0, 12, 14, 16, 18, dan 20%) dan terdiri dari urea, KH₂PO₄, ekstrak khamir, inokulum starter, dan akuades. Subtrat atau medium sebanyak 300 ml dimasukkan dalam botol plastik bekas wadah minuman ditambah 0,1 ml starter *Saccharomyces cerevisiae* yang setara dengan 1 juta sel/ml telah ditumbuhkan pada medium selama 3 hari untuk dimudakan. Tutup botol dilubangi dan dipasang selang kemudian diletakkan ke dalam botol terpisah yang diisi air dan diatur agar terendam dalam cairan). Fermentasi berlangsung pada suhu kamar (sekitar 30°C) selama 4 hari (96 jam) dalam ruang laboratorium. Setiap 24 jam sekali dilakukan pengukuran banyaknya sel khamir yang hidup sebagai indikator pertumbuhan sel *Saccharomyces cerevisiae* (perubahan total sel khamir) menggunakan haemocytometer dan pengecatan metilen biru, perubahan pH menggunakan pH meter, perubahan kadar gula reduksi menggunakan metode Nelson Somogy, dan khusus pengukuran kadar bioetanol dilakukan setelah fermentasi berlangsung 9 hari menggunakan alkoholmeter (7. 8).

d. Pengukuran dan Identifikasi Kadar Alkohol hasil fermentasi

Hasil fermentasi sari buah berenuk didestilasi menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 78°C sampai alkohol tidak menetes lagi. Destilasi dilakukan selama ± 1 jam. Bioetanol yang dihasilkan kemudian disimpan dalam botol kaca (9). Destilat dimasukkan ke dalam gelas ukur dan kemudian dicelupkan alkoholmeter secara perlahan. Alkoholmeter dibiarkan sehingga dapat mengapung dengan stabil, dan dibiarkan selama 2 menit sampai destilat menjadi tenang (10.11.12), batas yang tertera pada permukaan destilat kemudian dicatat dan dihitung. Destilat hasil fermentasi pada perlakuan terbaik diidentifikasi kandungannya menggunakan GC-MS model Shimadzu QP 2010 SE di Laboratorium Terpadu Universitas Islam Indonesia (UII).

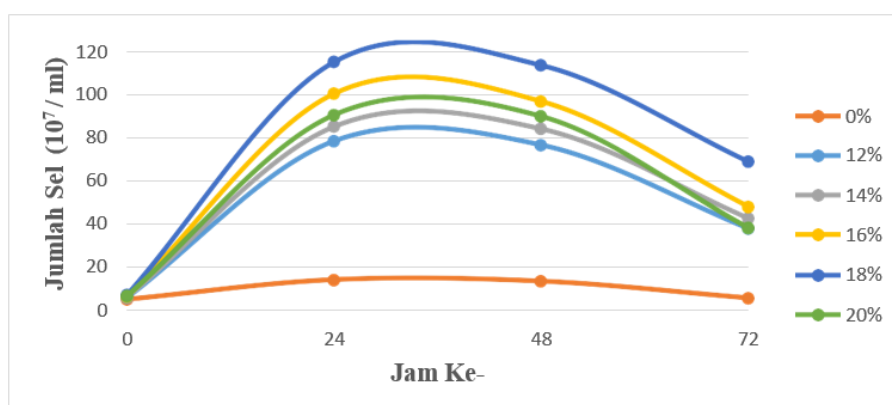
e. Analisis Data

Data dianalisis menggunakan ANOVA kemudian dilanjutkan Uji Duncan dengan tingkat kepercayaan 95% atau α 0,05 menggunakan program SPSS 15.0 untuk mengetahui letak beda nyata antar perlakuan. Analisis korelasi dilakukan untuk mengetahui tingkat hubungan antara satu variabel bebas (X) yaitu konsentrasi sari buah berenuk pada medium fermentasi terhadap variabel terikat (Y) kadar bioetanol yang dihasilkan (13)

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Khamir dari biakan murni diremajakan dan dilihat pertumbuhannya sebelum digunakan untuk fermentasi. Hasilnya dalam waktu tiga hari diperoleh pola pertumbuhan yang mendekati pola pertumbuhan mikrobial pada umumnya. Adanya pertumbuhan khamir ini juga ditandai dengan muncul gelumbung gas karbondioksida tanda proses fermentasi berlangsung (14). Ketika memasuki jam ke-24 pengamatan, terlihat adanya percepatan pertumbuhan sel mikroba ditandai gambar grafik yang tumbuh menanjak. Hal ini menandakan bahwa telah memasuki fase pertumbuhan eksponensial (fase log). Sesuai dengan pernyataan (4), bahwa di fase ini terjadi pemecahan gula secara besar-besaran guna memenuhi kebutuhan pertumbuhan khamir dengan hasil pemecahan gula dalam keadaan anaerob adalah berupa alkohol. Sel khamir memasuki fase kematian setelah jam ke-48, yaitu ditandai dengan jumlahnya yang mulai menurun, hal ini karena metabolit sekunder diantaranya alkohol yang dihasilkan bersifat racun bagi khamir (14.). Pertumbuhan khamir ini berkorelasi dengan penambahan sari buah. Hal ini membuktikan bahwa sari buah berenergi mengandung nutrisi diantaranya fruktosa, protein, vitamin, dan berbagai mineral yang dapat digunakan untuk pertumbuhan organisme seperti binatang dan manusia (Ojolanu dkk, 2011). Dari gambar ini diketahui bahwa khamir *S. cerevisiae* ini layak untuk proses fermentasi alkohol dari sari buah berenergi.

Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan (Gambar 1), fase adaptasi (fase lag) kurang terlihat karena pengamatan yang dilakukan pada periode waktu yang terlalu lama (per 24 jam). Akan tetapi, fase lag tersebut dapat diperkirakan ada pada jam ke-0 sampai jam ke-4 (15. Wardani dan Pertiwi, 2013). Kecepatan pertumbuhan sel khamir pada fase lag lebih rendah dibandingkan fase lainnya karena sel masih beradaptasi dengan kondisi lingkungannya (Wahono dkk., 2011). Azizah dkk. (2012) juga menambahkan bahwa di dalam fase ini, khamir mengalami masa adaptasi dengan lingkungan dan belum ada pertumbuhan.



Gambar 1. Pertumbuhan Khamir *Saccharomyces cerevisiae* selama proses fermentasi

Hasil fermentasi alkohol oleh *S. cerevisiae* menggunakan substrat/medium sari buah berenuk dilakukan dalam waktu 9 hari agar diperoleh hasil yang sudah maksimal (7). Hasil berupa kadar alkohol dan perubahan gula yang terkandung medium, dan pH dapat dilihat pada tabel 1. Dari tabel 1 ini diketahui bahwa sari buah berenuk dapat difermentasi menghasilkan alkohol. Hasil alkohol mula-mula meningkat seiring dengan penambahan sari buah berenuk sampai pada konsentrasi 18%. Di saat dinaikan konsentrasi saribuahnya ternyata justru menurun. Hal ini sesuai hukum Mitzerlich (16) yang dikarenakan kandungan senyawa metabolit sekunder seperti tannin, flavonoid, dan alkaloid yang terkandung dalam saribuah akan meningkat dan menjadi racun.

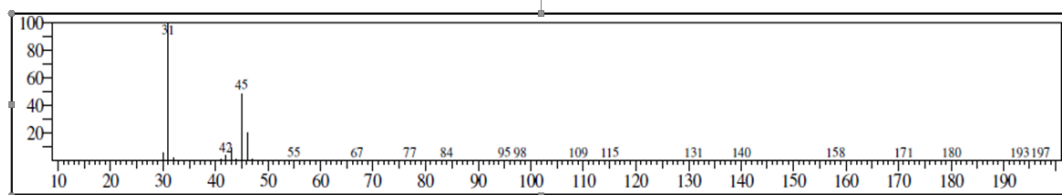
Tabel 1. Hasil fermentasi alkohol menggunakan substrat sari buah berenuk

Konsentrasi Sari buah berenuk	Produksi Alkohol %	Perubahan Kadar Gula %	pH	Pertumbuhan Saccharomyces cerevisiae	Alkohol Kromatografi
0	0a	25.6a	6	Tidak ada	
12	2,10b	20.9a	5,0	ada	Etanol
14	2,50bc	24.4a	4,8	ada	Etanol
16	2,90bc	26.2a	4,7	tinggi	etanol
18	4,00d	36.6c	4,5	Paling tinggi	etanol
20	3,10c	31/4b	4,5	tinggi	etanol

Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian (17) yang menyatakan bahwa kadar bioetanol mencapai titik tertinggi pada konsentrasi gula larutan molases 18% yaitu sebesar 13,85%. Hal ini dapat diartikan bahwa pada konsentrasi gula 18% merupakan kondisi optimal bagi aktivitas katabolis *S. cerevisiae*, dan kadar bioetanol yang dihasilkan secara langsung dipengaruhi oleh efisiensi penggunaan substrat (sari berenuk), yang ditandai dengan penurunan kadar gula reduksi. Tingkat efisiensi penggunaan substrat menunjukkan seberapa banyak gula yang dimanfaatkan oleh khamir untuk diubah menjadi bioetanol (produk utama), asam organik (produk samping) dan energi yang digunakan untuk pertumbuhan khamir. Efisiensi penggunaan substrat dapat dihitung dengan membandingkan persentase total gula reduksi yang dikonsumsi selama fermentasi dengan jumlah gula reduksi awal (18).

Nilai pH merupakan salah satu faktor penting yang perlu untuk diperhatikan pada saat proses fermentasi karena mempengaruhi pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae*. Kisaran pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* adalah pada pH 3,5 – 6,5. Produksi etanol oleh *S. cerevisiae* maksimal dapat dicapai pada pH 4,5 (19). Arti pH sari buah berenuk kurang lebih 4,8-5 (20) masih layak untuk mendukung pertumbuhan khamir dalam memproduksi alkohol. Berdasarkan data profil kromatogram, sampel hasil fermentasi terdeteksi adanya senyawa etanol. Senyawa etanol muncul pada waktu retensi

2,076 menit dengan luas serta tinggi puncak masing-masing sebesar 100% dari puncak (peak) keseluruhan. Berdasarkan pola fragmentasi pada spektrum MS tersebut, diketahui senyawa puncak dasar ion molekul (M^+) dengan $m/z = 45$. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa tersebut teridentifikasi sebagai senyawa etanol.



Gambar 17. Spektrum Massa GC-MS Hasil Fermentasi (Dokumentasi Pribadi, 2021).

Pola fragmentasi etanol hasil fermentasi memiliki kesamaan dengan hasil penelitian Putri dan Sukandar (2008), bahwa pada fragmentasi etanol gugus CH_3 (alkil) lebih mudah lepas dibandingkan dengan gugus OH . Hal ini disebabkan gugus CH_3 memiliki energi ikatan yang lebih rendah dibandingkan dengan gugus OH . Gugus OH yang sulit terlepas mengakibatkan ion molekul bermuatan positif.(21).

Etanol bagian dari senyawa alkohol sifat yang larut air, mudah terbakar dan melarutkan lemak serta berbagai senyawa organik. Senyawa ini sangat dibutuhkan dalam jumlah yang banyak, terlebih disaat masa pandemic sekarang ini sebagai santiseptis dan digunakan sebagai campuran sanitizer (22). Produksi alkohol menggunakan buah dari tanaman berneuk yang belumbanyak dimanfaatkan oleh masyarakat dan industry memiliki prospek baik untuk penyediaan alkohol bagi kebutuhan masyarakat dan industry namun adanya zat gizi perl dicari solusi agar produksi alkohol menjadi lebih efisien (23).

IV. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa buah berneuk berpotensi untuk dijadikan bahan atau substrat untuk produksi alkohol secara fermentatif menggunakan khamir *Saccharomyces cerevisiae* sebagai fermenternya. Hasil alkohol dicapai tertinggi pada penambahan saribuah sebanyak 18%, alkohol yang dihasil adalah etanol. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut agar diperoleh gambaran lengkap tentang efisiensi, sifat alkohol, perancangan bioreaktor, ketersediaan bahan berneuk agar industri alkohol berbasis buah berneuk dapat berkelanjutan dan ramah lingkungan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih diucapkan pada Pimpinan Universitas Atma Jaya Yogyakarta yang telah memberi kesempatan dan memfasilitasi sehingga penelitian ini dapat berlangsung.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Bahroni dan Istianah. 2018. Pemanfaatan buah berenuk (*Crescentia cujete* Linn.) sebagai bahan baku pembuatan bioetanol. Jakarta. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta. Halaman 1 – 7.
- [2] Atmodjo, P. K. 2019. Keragaman dan pemanfaatan berenuk (*Crescentia cujete* L.) di Daerah Istimewa Yogyakarta. *Biota* 4 (3): 116-123.
- [3] Ejelonu, B. C., Lasisi, A. A., Olaremu, A. G., dan Ejelonu, O. C. 2011. The chemical constituents of calabash (*Crescentia cujete*). *African Journal of Biotechnology* 10 (84): 1963 – 1966.
- [4] Azizah, N., Al-Baarri, A. N., dan Mulyani, S. 2012. Pengaruh lama fermentasi terhadap kadar etanol, pH, dan produksi gas pada proses fermentasi bioetanol dari whey dengan substitusi kulit nanas. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan* 1 (2): 72 – 77.
- [5] Backer, C. A. dan Brink, R. C. B. 1980. *Flora of Java*. Springer Netherlands, Netherlands. Halaman 252.
- [6] Nurkholis, Fajar, A., dan Rohman, S. A. 2019. Sifat-sifat pembakaran bioetanol gel dari buah berenuk (*Crescentia cujete* L.). *Jurnal Teknologi* 7 (1): 1 – 8
- [7] Atmodjo, P. K., Narindri, B., Harsono, A., dan Edison, A. 2016. The effect of temulawak extract on alcohol fermentation from molase substrate by *Saccharomyces cerevisiae*. *Biota* (1) 3: 132 – 137
- [8] Wardani, A. K. dan Pertiwi, F. N. E. 2013. Produksi etanol dari tetes tebu oleh *Saccharomyces cerevisiae* pembentuk flok (NRRL-Y 265). *Agritech* 33 (2):131 – 139.
- [9] Batutah, M. A. 2017. Destilasi bertingkat bioetanol dari buah maja (*Aegle marmelos* L) *Jurnal IPTEK* 21 (2): 9 – 18.
- [10] Atmodjo, P. K. 2017. Optimalisasi gula cair dan pH medium untuk fermentasi alkohol dari jus *Curcuma xanthorrhiza*. *Biota* 2 (3): 97 – 104.
- [11] Wijaya, I. M. A. S., Arthawan, I. G. K. A., dan Sari, A. N. 2012. Potensi nira kelapa sebagai bahan baku bioetanol. *Jurnal Bumi Lestari* 12 (1): 85 – 92.
- [12] Irawan, E. P. 2013. Optimasi produksi bioetanol dari tepung garut (*Maranta arundinacea* Linn.) dengan variasi pH, kadar pati, dan sumber khamir komersial. Naskah Skripsi S-1. Universitas Atma Jaya Yogyakarta, Yogyakarta. Halaman 35 – 36.
- [13] Yulianti, L. I. M. 2014. *Buku Ajar Biostatistika*. Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta, Yogyakarta. Halaman 90 – 105.
- [14] Wahono, S. K., Damayanti, E., dan Rosyida, V. T. 2011. Laju pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* pada proses fermentasi pembentukan bioetanol dari biji sorgum (*Sorghum bicolor* L.). Di dalam: *Prosiding Seminar Rekayasa Kimia dan Proses*. 26 Juli 2011. Yogyakarta. Halaman 1 – 6.
- [15] Eden, Y. dan Rahayu, S. R. 2019. Produk bioetanol daging buah sawo (*Manilkara zapota* L.) secara fermentasi batch dengan *Saccharomyces cerevisiae*. *Archives Pharmacia* 1 (2): 62 – 67.
- [16] Gomes F.P., 1953, *The Use of Mitscherlich's Regression Law in the Analysis of Experiments with Fertilizers*. *Biometrics*. 9(4) pp. 498-516
- [17] Rochani, A., Yuniningsih, S., dan Ma'sum, Z. 2015. Pengaruh konsentrasi gula larutan molases terhadap kadar etanol pada proses fermentasi. *Jurnal Reka Buana* 1 (1): 43 – 48.

- [18] Zelvi, M., Suryani, A., dan Setyaningsih, D. 2017. Hidrolisis *Eucheuma cottonii* dengan enzim k-karagenase dalam menghasilkan gula reduksi untuk produksi bioetanol. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian* 27 (1): 33 – 42.
- [19] Utama, A. W., Legowo, A. M., dan Al-Baari, A. N. 2013. Produksi alkohol, nilai pH, dan produksi gas pada bioetanol dari susu rusak dengan campuran limbah cair tapioka. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan* 2 (2): 93 – 100.
- [20] Adini, S., Kusdiyantini, E., dan Budiharjo, A. 2015. Produksi bioetanol dari rumput laut dan limbah agar *Gracilaria* sp. dengan metode sakarifikasi yang berbeda. *BIOMA* 16 (2): 65 – 75.
- [21] Laboratorium Terpadu UII. 2021. Gas Chromatography - Mass Spectrometry. [labterpadu.uii.ac.id/fasilitas /alat/gc-gas-chromatography-mass spectrometry- gc- ms](http://labterpadu.uii.ac.id/fasilitas/alat/gc-gas-chromatography-mass-spectrometry-gc-ms). Diakses pada 13 Maret 2021.
- [22] Millan, J. D. 1997. Bioethanol production: status and prospects. *Renewable Energy* 10 (2 – 3): 295 – 302.
- [23] Marc, N. O. 2008. The Nutritive and anti-nutritive compositions of calabash (*Crescentia cujete*). *Journal of Food Technology* 6: 267 – 270