

Produksi Bioetanol dari Limbah Kulit Jeruk Siam dengan Variasi Konsentrasi Pretreatment Alkali dan Lama Fermentasi Anaerob di Kabupaten Jember

Ases Tamimi¹, Nely Ana Mufarida*², Mokh Hairul Bahri³

^{1,2,3}Teknik Mesin, Fakultas Teknik, Universitas Muhammadiyah Jember, Indonesia
Email: ¹asestamimi122@gmail.com, ²nelyana@unmuhjember.ac.id,
³mhairulbahri@unmuhjember.ac.id

Abstrak

Permasalahan energi global dan ketergantungan terhadap bahan bakar fosil mendorong upaya pencarian sumber energi alternatif yang lebih ramah lingkungan. Salah satu solusi yang semakin dilirik adalah bioetanol, terutama jika diproduksi dari limbah organik seperti kulit jeruk yang memiliki kandungan selulosa cukup tinggi namun belum dimanfaatkan secara optimal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi larutan NaOH dan lama fermentasi terhadap produksi bioetanol dari limbah kulit jeruk siam. Proses dilakukan di Laboratorium Biologi Dasar, Universitas Muhammadiyah Jember pada Februari–Maret 2025, dengan pendekatan eksperimen deskriptif. Pretreatment dilakukan menggunakan larutan NaOH 3%, 5%, dan 7%, kemudian dilanjutkan dengan hidrolisis HCl 0,5 M. Fermentasi berlangsung secara anaerob menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* selama 3, 5, dan 7 hari. Kadar bioetanol diukur menggunakan alkohol hidrometer, sementara nilai pH diamati dengan pH meter digital. Hasil menunjukkan bahwa kombinasi NaOH 7% dan fermentasi 7 hari menghasilkan kadar etanol tertinggi sebesar 43%, pH terendah 4,1, serta yield tertinggi sebesar 52,68%. Meningkatnya konsentrasi basa dan durasi fermentasi secara umum mendorong peningkatan konversi etanol. Hasil ini menunjukkan bahwa perlakuan alkali efektif mempercepat proses delignifikasi dan meningkatkan ketersediaan glukosa sebagai substrat fermentasi. Penelitian ini memberikan kontribusi penting dalam pengembangan bioenergi berbasis limbah, serta menjadi langkah awal untuk optimalisasi produksi bioetanol dari kulit jeruk lokal.

Kata Kunci: *Bioetanol, Fermentasi, Kulit Jeruk, Pretreatment*

Abstract

*The global energy crisis and dependence on fossil fuels have driven the search for alternative and environmentally friendly energy sources. One promising solution is bioethanol, especially when produced from organic waste like orange peels, which are rich in cellulose but often go underutilized. This study aims to examine the effect of varying NaOH concentrations and fermentation duration on bioethanol production from Siam orange peel waste. The research was conducted at the Basic Biology Laboratory, Muhammadiyah University of Jember, during February–March 2025, using a descriptive experimental approach. Pretreatment involved soaking orange peel powder in 3%, 5%, and 7% NaOH solutions, followed by hydrolysis with 0.5 M HCl. Anaerobic fermentation was carried out using *Saccharomyces cerevisiae* for 3, 5, and 7 days. Ethanol content was measured using an alcohol hydrometer, while pH was assessed with a digital pH meter. Results showed that the highest ethanol content (43%), lowest pH (4.1), and maximum yield (52.68%) were achieved with 7% NaOH and 7 days of fermentation. Increased alkali concentration and longer fermentation duration generally enhanced ethanol production. These findings suggest that alkali pretreatment effectively facilitates delignification and increases glucose availability for fermentation. This study contributes to the development of renewable energy from organic waste and provides an initial reference for optimizing bioethanol production from local orange peel resources.*

Keywords: *Bioethanol, Fermentation, Orange Peel, Pretreatment*

1. PENDAHULUAN

Energi merupakan kebutuhan mendasar dalam menunjang berbagai aktivitas kehidupan manusia, baik dalam sektor transportasi, industri, maupun rumah tangga. Seiring dengan pertumbuhan populasi dan kemajuan teknologi, konsumsi energi global terus mengalami peningkatan. Sayangnya, sebagian besar energi yang digunakan saat ini masih bergantung pada sumber daya fosil seperti minyak bumi, gas

alam, dan batu bara yang bersifat tidak terbarukan. Ketergantungan terhadap bahan bakar fosil ini tidak hanya menimbulkan kekhawatiran akan ketersediaan energi di masa depan, tetapi juga memperparah dampak lingkungan seperti pemanasan global dan pencemaran udara akibat emisi gas rumah kaca (Halkos & Gkampoura, 2020).

Di Indonesia, isu krisis energi semakin nyata dengan meningkatnya jumlah kendaraan bermotor setiap tahun. Berdasarkan data Badan Pusat Statistik (2023), jumlah sepeda motor meningkat dari 112 juta unit pada tahun 2019 menjadi lebih dari 125 juta unit pada tahun 2022. Mayoritas kendaraan ini masih menggunakan bensin sebagai bahan bakar utama, yang memperbesar ketergantungan nasional terhadap energi fosil. Untuk mengatasi hal ini, pengembangan sumber energi alternatif yang ramah lingkungan dan terbarukan menjadi langkah strategis. Salah satu solusi yang banyak dikembangkan secara global adalah bioetanol, yaitu alkohol hasil fermentasi bahan organik yang mengandung karbohidrat. Bioetanol tidak hanya ramah lingkungan dan dapat terurai secara hayati, tetapi juga mampu digunakan sebagai bahan bakar campuran atau pengganti bensin dalam mesin pembakaran dalam.

Sumber bahan baku bioetanol sangat beragam, mulai dari tanaman berpati (seperti jagung dan singkong), tanaman bergula (seperti tebu), hingga biomassa lignoselulosa (Azzahra, 2021). Biomassa lignoselulosa terdiri dari selulosa, hemiselulosa, dan lignin yang dapat diperoleh dari limbah pertanian dan perkebunan. Keunggulan utama dari lignoselulosa adalah ketersediaannya yang melimpah dan tidak bersaing langsung dengan kebutuhan pangan manusia. Namun, struktur kimia yang kompleks membuat biomassa ini memerlukan proses pretreatment, seperti perlakuan alkali, untuk memecah ikatan lignin dan memungkinkan selulosa diubah menjadi glukosa melalui hidrolisis dan selanjutnya difermentasi menjadi bioetanol (Putrika, 2023).

Salah satu limbah lignoselulosa yang potensial tetapi belum dimanfaatkan secara optimal adalah kulit jeruk. Kulit jeruk yang berasal dari limbah industri minuman atau pedagang minuman tradisional sering kali dibuang begitu saja tanpa pengolahan. Padahal, kulit jeruk mengandung sekitar 25% selulosa, yang merupakan komponen utama dalam produksi bioetanol (Ayala et al., 2021). Jika dibandingkan dengan limbah biomassa lainnya, kadar selulosa kulit jeruk terbilang tinggi. Kulit nanas hanya mengandung sekitar 13,65% (Rahmi et al., 2023), sementara kulit pisang mengandung selulosa dalam kisaran 17-20% (Rahmi et al., 2023). Dengan kandungan selulosa yang lebih tinggi, kulit jeruk memiliki potensi konversi glukosa yang lebih besar, sehingga lebih efisien dalam proses fermentasi bioetanol. Selain itu, pemanfaatan limbah kulit jeruk sebagai bahan baku bioetanol dapat memberikan dua keuntungan sekaligus, yaitu menghasilkan energi terbarukan dan mengurangi beban pencemaran lingkungan akibat limbah organik. Namun demikian, kandungan lignin dalam kulit jeruk cukup tinggi, sehingga memerlukan metode pretreatment yang efektif, seperti penggunaan larutan NaOH, untuk meningkatkan efisiensi proses produksi bioetanol.

Beberapa studi telah menunjukkan potensi kulit jeruk sebagai bahan baku bioetanol karena kandungan selulosanya yang tinggi (Ayala et al., 2021). Namun, penelitian terdahulu umumnya hanya mengkaji satu parameter proses, seperti (Zaki et al., 2022) memanfaatkan limbah kulit nanas dan kulit jeruk sebagai bahan baku bioetanol, dengan kadar etanol tertinggi sebesar 1,7% dari kulit jeruk setelah fermentasi selama 5 jam. Penelitian tersebut hanya mengamati durasi fermentasi secara tunggal, tanpa mempertimbangkan faktor lain yang juga dapat memengaruhi hasil akhir, seperti perlakuan awal bahan menggunakan larutan basa. Selain itu, penelitian lain yang dilakukan oleh (Listiandari & Herdyastuti, 2022) telah mengevaluasi beberapa kombinasi konsentrasi NaOH dan waktu fermentasi terhadap produksi bioetanol dari kulit kopi robusta, dengan hasil kadar bioethanol optimal pada konsentrasi NaOH tertinggi 10% dan waktu fermentasi 72jam. Namun, bahan baku tersebut memiliki komposisi kimia dan struktur lignoselulosa yang berbeda dengan kulit jeruk, khususnya dalam kadar lignin, pektin, dan kandungan airnya, yang dapat memengaruhi efektivitas pretreatment dan fermentasi.

Maka dari itu dalam penelitian ini nantinya akan menggunakan pendekatan deskriptif untuk melihat bagaimana kombinasi antara konsentrasi larutan NaOH 3%, 5%, dan 7% dan lama fermentasi 3, 5, dan 7 hari memengaruhi kadar bioetanol yang dihasilkan dari kulit jeruk siam. Dengan mengamati pola hasil dari setiap kombinasi perlakuan, penelitian ini diharapkan dapat memberikan gambaran awal mengenai kondisi proses yang paling efektif. Selain itu, penelitian ini juga bertujuan untuk mengisi celah yang

masih ada dalam penelitian sebelumnya, yang umumnya belum mengkaji secara menyeluruh pengaruh kedua parameter tersebut secara bersamaan pada bahan kulit jeruk lokal..

2. METODE PENELITIAN

2.1. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini menggunakan pendekatan eksperimen laboratorium dengan desain eksploratif deskriptif, bertujuan untuk mengamati secara langsung pengaruh variasi konsentrasi larutan NaOH dan waktu fermentasi terhadap kadar bioetanol yang dihasilkan dari kulit jeruk siam. Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Dasar, Jurusan Biologi, Universitas Muhammadiyah Jember, pada bulan Februari hingga Maret 2025.

2.2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam proses penelitian ini adalah peralatan fermentasi diantaranya; alat fermentor, selang $\frac{1}{4}$ inch dan gunting. Alat yang digunakan untuk pemurnian alkohol menggunakan peralatan destilator sederhana. Sedangkan peralatan untuk pengujian diantaranya; pH meter dan hidrometer alkohol. Peralatan tambahan seperti; timbangan analitik, hot plate, beaker glass, corong, pipet kaca, batang pengaduk, dan thermometer dan aluminium foil. Bahan yang digunakan dalam proses penelitian ini adalah kulit buah Jeruk Semboro yang diambil dari limbah sisa pedagang kaki lima es jeruk, Kecamatan Sumpersari Kabupaten Jember- Jawa Timur. Bahan yang digunakan dalam pembuatan bioetanol diantaranya; kulit buah Jeruk Siam Semboro matang, ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*), Urea, Npk, Aquades, Natrium hidroksida, dan HCL.

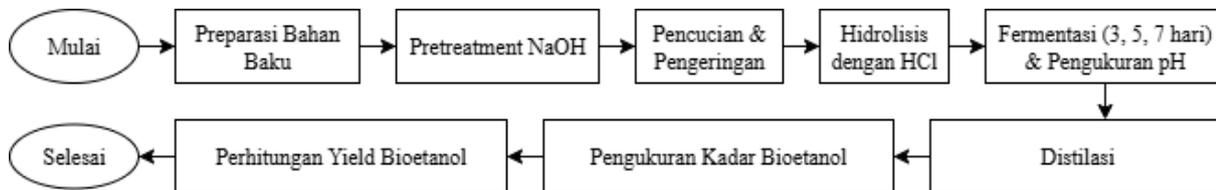
2.3. Tahapan Pembuatan Bioetanol

Adapun tahapan proses pembuatan bioethanol sebagai berikut ;

- a. Persiapan sampel
Kulit jeruk dicuci untuk dibersihkan, lalu dikeringkan dengan oven dilanjutkan dengan penghalusan menggunakan blender hingga menjadi bubuk lalu diayak menggunakan ayakan 40 mesh.
- b. Tahap pretreatment
Sebanyak 80gr serbuk kulit jeruk direndam dalam NaOH 3%, 5%, dan 7% dengan perbandingan konsentrasi 1:10. Direndam pada suhu 100°C selama 1 jam. Selain itu, dilakukan penyaringan dan serbuk kulit jeruk yang diperoleh dicuci dengan air suling hingga pH larutan pencuci menjadi netral. Serbuk yang terkumpul dikeringkan pada suhu 50°C dalam oven selama 24 jam (Maryana et al., 2020.).
- c. Hidrolisis
Hidrolisis Serbuk kulit jeruk yang telah didelignifikasi dihidrolisis dengan 0,5M HCL dengan perbandingan 1 : 10 (serbuk kulit jeruk : HCL). Hidrolisis dilakukan dengan menggunakan hot plate magnetic stirrer selama 60 menit pada suhu 100 °C.
- d. Fermentasi
Cairan hasil hidrolisis ditambahkan ragi sebanyak 5% dan urea 0,5% dan npk 0,1%. Campuran tersebut difermentasi secara anaerob selama 3, 5, dan 7 hari pada suhu ruang.
- e. Distilasi
Distilasi Produk fermentasi kemudian dimurnikan menggunakan distilasi sederhana. Distilasi dilakukan pada suhu 78 - 85°C (hingga tidak ada lagi distilat yang diperoleh).

Setelah semua tahapan dijelaskan, berikut ditampilkan diagram alir proses penelitian secara keseluruhan untuk memberikan gambaran sistematis dari rangkaian prosedur yang dilakukan dapat dilihat pada gambar 1. yang menggambarkan alur lengkap proses pembuatan bioetanol dari kulit jeruk, dimulai dari tahap persiapan bahan hingga proses distilasi. Proses diawali dengan pembersihan dan pengeringan kulit jeruk yang kemudian dihaluskan menjadi serbuk. Selanjutnya, serbuk ini mengalami pretreatment menggunakan larutan NaOH dengan berbagai konsentrasi untuk memecah struktur lignoselulosa. Setelah dicuci dan dikeringkan, bahan dilanjutkan ke tahap hidrolisis menggunakan

larutan HCl guna mengubah selulosa menjadi glukosa. Cairan hasil hidrolisis kemudian difermentasi secara anaerob dengan bantuan ragi *Saccharomyces cerevisiae* selama beberapa hari sesuai variasi perlakuan. Terakhir, hasil fermentasi dimurnikan melalui proses distilasi untuk memperoleh bioetanol. Alur ini menunjukkan bahwa setiap tahapan saling berkaitan dan berperan penting dalam mengoptimalkan konversi limbah kulit jeruk menjadi bioetanol.



Gambar 1. Diagram Alir Proses Pembuatan Bioetanol dari Kulit Jeruk

2.4. Parameter Uji

Setiap kombinasi perlakuan dilakukan sebanyak satu kali, mengingat penelitian ini bersifat eksploratif awal. Oleh karena itu, data yang diperoleh disajikan dalam bentuk deskriptif tanpa analisis statistik. Adapun parameter yang diukur yaitu :

a. Pengukuran pH bioetanol

Sebelum pengukuran lakukan kalibrasi pada pH meter agar hasil akurat :

- 1) Nyalakan pH meter digital.
- 2) Bilas elektroda dengan air suling, lalu keringkan dengan tissue bebas serat .
- 3) Celupkan elektroda ke dalam buffer pH 7.00
- 4) Gunakan trimmer pengaturan untuk menyetel pembacaan agar tepat 7.00
- 5) Setelah stabil, bilas elektroda lalu lanjutkan ke buffer pH 4.00.
- 6) Selesai kalibrasi, bilas elektroda kembali.

Setelah kalibrasi selesai ukur suhu sampel terlebih dahulu, Setelah mengukur suhu sampel pH ditetapkan ke nilai yang digunakan untuk mengukur suhu sampel. Pengukur pH dinyalakan dan dibiarkan hingga stabil (15 ± 30 menit). Terakhir, bilas elektroda dengan air suling, lalu dikeringkan. Kemudian elektroda dicelupkan ke dalam sampel hingga pembacaan skala konstan tercapai (Richana, 2011 dalam (Azizah et al., 2012)).

b. Pengukuran Kadar Bioetanol

Pengujian kadar bioetanol dilakukan menggunakan hidrometer alkohol. Sebelum digunakan, hidrometer dikalibrasi dengan larutan etanol standar 30%, 40%, dan 50% untuk memastikan akurasi pengukuran. Data hasil pengukuran kadar bioetanol lalu dicatat. Adapun langkah-langkah yang dilakukan adalah sebagai berikut :

- 1) Sterilkan terlebih dahulu isi dalam tabung hidrometer alkohol dengan lap bersih.
- 2) Masukkan larutan destilat kedalam hidrometer alkohol.
- 3) Celupkan parameter kadar bioetanol.
- 4) Nilai kadar bioetanol dibaca pada skala hidrometer ketika posisi stabil.
- 5) Pengukuran dilakukan pada suhu ruang dan dicatat hasilnya.

c. Perhitungan Yield Bioetanol

Perhitungan yield bioetanol bertujuan untuk mengetahui efisiensi konversi bahan baku menjadi produk bioetanol. Yield dihitung berdasarkan volume bioetanol murni yang diperoleh dari proses distilasi terhadap berat awal substrat kering. Volume bioetanol murni sendiri diperoleh dari hasil distilasi dikalikan dengan kadar etanol yang terukur.

Volume bioetanol murni V_{murni} ditulis sebagai berikut:

$$V_{murni} = \frac{V_b \times K_b}{100} \quad (1)$$

Keterangan :

V_{murni} : volume bioethanol murni (ml)

V_b : volume distilat hasil fermentasi dan distilasi (ml)

K_b : kadar etanol dalam distilat (%)

Nilai volume bioetanol murni yang diperoleh dari persamaan (1) tersebut kemudian digunakan dalam perhitungan yield bioetanol, seperti ditunjukkan pada persamaan berikut:

$$\text{Yield Bioetanol (\%)} = \frac{V_{\text{murni}}}{W_s} \times 100 \quad (2)$$

Keterangan :

W_s : berat substrat kering (gram)

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Uji pH

Keasaman atau pH merupakan salah satu parameter terpenting, yang dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme dalam pembentukan produk dan produksi fermentasi karena setiap mikroorganisme memiliki kisaran pH optimumnya sendiri untuk keberadaannya. Penentuan hasil pH bioetanol ditunjukkan pada Gambar 1 Nilai pH bioetanol hasil fermentasi dari kulit jeruk menunjukkan kisaran antara 4,1 hingga 5,2. Nilai pH tertinggi sebesar 5,2 diperoleh pada perlakuan NaOH 3% dengan waktu fermentasi 3 hari, sedangkan nilai pH terendah 4,1 tercatat pada perlakuan NaOH 7% dengan fermentasi selama 7 hari. Meskipun pengujian dilakukan secara tunggal dan belum mencakup replikasi, hasil ini secara deskriptif menunjukkan adanya tren penurunan pH seiring dengan peningkatan konsentrasi NaOH dan lamanya fermentasi.

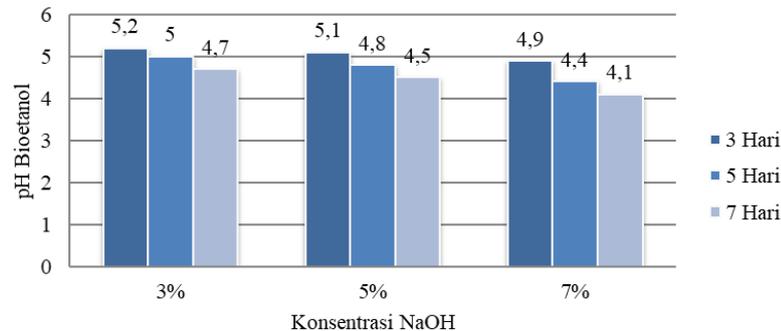
Penurunan pH dalam proses fermentasi bioetanol merupakan fenomena umum yang terjadi akibat produksi senyawa asam selama fermentasi berlangsung, seperti piruvat, asam laktat, dan asetat. Dalam penelitian ini, penurunan pH seiring meningkatnya konsentrasi NaOH dan waktu fermentasi dapat dijelaskan sebagai efek dari meningkatnya ketersediaan glukosa hasil pretreatment dan hidrolisis yang lebih efisien. Kandungan glukosa yang tinggi menyediakan substrat optimal bagi *Saccharomyces cerevisiae*, sehingga aktivitas fermentasi meningkat, dan menghasilkan etanol serta senyawa samping asam dalam jumlah lebih besar. Hal ini konsisten dengan temuan (Fadarina, 2018) dan (Braide et al., 2016) yang melaporkan bahwa proses fermentasi aktif menyebabkan penurunan pH akibat akumulasi metabolit asam. Dikatakan oleh (Fadarina, 2018), ini dikarenakan fermentasi memulai biosintesis piruvat yang menghasilkan produk asam. Maka dengan peningkatan etanol serta produksi gas yang dihasilkan ketika proses fermentasi akan mempengaruhi turunnya nilai pH.

(Kokkinakis et al., 2020) mengatakan bahwa alkohol cenderung bersifat asam oleh karena itu, jika proses waktu fermentasi berlangsung lama tingkat kadar alkohol juga memungkinkan untuk bertambah. Ini sejalan dengan penurunan pH pada sampel dengan waktu fermentasi yang lebih lama pada penelitian bioetanol dari kulit jeruk dengan variasi konsentrasi NaOH pretreatment dan waktu fermentasi dengan hasil yang berkisar antara 4,1-5,2.

Menurut (Iqbal et al., 2017 dalam (Utomo & Pratama, 2024)), bioetanol dengan kandungan etanol 30–35% sebagian besar bersifat asam dengan nilai pH berkisar dari 4,12 hingga 4,59. Sebaliknya, etanol dengan kadar 83-96% cenderung bersifat netral dengan pH berkisar dari 7,0 hingga 7,38. Perubahan nilai pH selama fermentasi dapat menggambarkan reaksi metabolisme yang terjadi pada ragi, yang mengalami glikolisis untuk melepaskan energi dan pemanfaatan rantai karbon untuk perkembangbiakan sel dan menghasilkan senyawa baru (Munoz et al., 2022).

Hasil penelitian ini juga sejalan dengan penelitian oleh (Braide et al., 2016) dalam penelitiannya mengenai bioetanol dari limbah pertanian, di mana selama fermentasi 5 hari, kadar etanol meningkat hingga mencapai maksimum pada 72 jam, sementara nilai pH menurun hingga kisaran 3,60–4,00. Pada bahan baku ampas tebu nilai pH terendah 3,60 di dapatkan dengan kadar etanol tertinggi 6,72% dan pH tertinggi 4,87 pada kadar bioetanol 3,86%. Penurunan pH ini terjadi akibat akumulasi etanol dan senyawa metabolit asam lainnya, yang menciptakan lingkungan fermentasi yang semakin asam. Pada penelitian lain oleh (Rizaldi et al., 2022) juga melaporkan bahwa hasil pengujian pH dari nira batang

tebu dengan waktu fermentasi 5,6, dan 7 hari memperoleh hasil pH terendah 4,70 pada waktu fermentasi 7 hari.



Gambar 2. Grafik Nilai pH Bioetanol Kulit Jeruk

3.2. Uji Kadar Bioetanol

Hasil pengukuran kadar bioetanol dapat dilihat pada gambar 2. Dibawah dengan hasil berkisar antara 32%-43%. Grafik dibawah menunjukkan Hasil kadar bioetanol tertinggi diperoleh pada perlakuan NaOH 7% dan fermentasi 7 hari, yang menunjukkan bahwa kombinasi pretreatment dan waktu fermentasi tersebut paling efektif dalam mengonversi substrat menjadi etanol. Proses pretreatment menggunakan NaOH berperan penting dalam delignifikasi, yaitu pemutusan ikatan ester dan eter pada struktur lignin. Pemutusan ikatan ini membuka jaringan lignoselulosa sehingga mempermudah enzim atau asam mengakses selulosa untuk dihidrolisis menjadi glukosa fermentabel (Sembada, 2022). NaOH dengan konsentrasi tinggi mampu menguraikan lignin lebih banyak, membuat proses hidrolisis substrat menjadi lebih efisien.

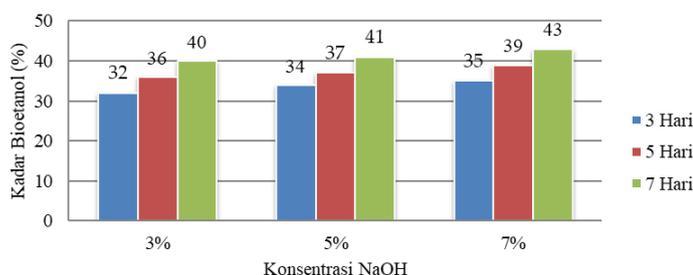
Efektivitas ini juga di dukung oleh penelitian (Masrullita et al., 2023) yang menunjukkan bahwa NaOH 7% menghasilkan gula reduksi tertinggi sebesar 60,98%, lebih tinggi dibanding perlakuan dengan konsentrasi NaOH 1%, 3%, dan 5%. Tingginya kandungan glukosa dalam substrat akan meningkatkan produksi alkohol selama fermentasi, karena glukosa merupakan bahan utama dalam jalur metabolisme fermentasi etanol. Selanjutnya, glukosa dikonversi menjadi etanol oleh *Saccharomyces cerevisiae* melalui jalur glikolisis. Dalam proses ini, glukosa dipecah menjadi asam piruvat dan menghasilkan energi dalam bentuk ATP. Asam piruvat kemudian diubah menjadi asetaldehida dan direduksi menjadi etanol oleh enzim alkohol dehidrogenase. Reaksi ini terjadi dalam kondisi anaerob dan menghasilkan etanol serta karbon dioksida sebagai produk utama (Boonekamp et al., 2018).

Waktu fermentasi juga sangat memengaruhi kadar etanol yang dihasilkan menurut (Nasrun et al., 2017) perolehan bioetanol juga dipengaruhi oleh lama waktu fermentasi, yang dimana semakin lama waktu fermentasi berjalan akan berbanding lurus dengan peningkatan etanol yang dihasilkan. Namun bila fermentasi terlalu lama maka nutrisi dalam substrat akan habis dan khamir *Saccharomyces cerevisiae* tidak lagi dapat memfermentasi glukosa pada substrat. Selain itu, kisaran pH juga memengaruhi pertumbuhan dan aktivitas metabolik *Saccharomyces cerevisiae*, dalam penelitian (Azizah et al., 2012), dikatakan kisaran pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* adalah pada pH 3,5-6,5 jika terlalu tinggi atau terlalu asam maka aktivitas fermentatif ragi dapat terganggu, sehingga menurunkan efisiensi produksi etanol.

Hasil penelitian ini juga sejalan dengan studi oleh (Setiawan et al., 2024) yang bertujuan untuk mengevaluasi pemanfaatan kulit jeruk baby java sebagai bahan baku bioetanol melalui proses pretreatment alkali menggunakan larutan NaOH. Proses pretreatment dilakukan dengan variasi konsentrasi NaOH mulai dari 0% hingga 8%, yang kemudian dilanjutkan dengan proses fermentasi selama 3 hari menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa perlakuan dengan konsentrasi NaOH tertinggi, yaitu 8%, menghasilkan kadar etanol tertinggi dibandingkan dengan konsentrasi lainnya..

Adapun penelitian yang dilakukan oleh (Juwon & Oluwatoyin, 2019) yang mengkaji pembuatan bioetanol dari 4 bahan baku yaitu tongkol jagung, kulit jeruk, kulit singkong dan kulit pisang. Fermentasi dilakukan selama 10 hari atau 240 jam dan pengamatan terhadap kadar bioetanol dilakukan secara berkala tiap 25 jam, hasil menunjukkan bahwa setiap 25 jam hingga 240 jam kadar bioetanol meningkat seiring bertambahnya waktu fermentasi. Dengan kenaikan kadar bioetanol pada kulit jeruk tiap 25 jam yaitu 0.70 gr serta perolehan akhir kadar bioetanol kulit jeruk sebesar 8.02 g/100g.

Meskipun penelitian ini belum dilengkapi dengan replikasi dan analisis statistik, pola peningkatan kadar bioetanol yang diamati sejalan dengan teori dan temuan penelitian sebelumnya, yang menunjukkan bahwa peningkatan pretreatment alkali dapat membantu membuka struktur lignoselulosa, sehingga lebih banyak selulosa dapat diakses dan diubah menjadi glukosa. Glukosa yang tersedia selanjutnya difermentasi oleh *Saccharomyces cerevisiae* menjadi etanol. Penambahan waktu fermentasi juga memungkinkan ragi bekerja lebih lama, sehingga produk etanol yang dihasilkan cenderung meningkat. Namun demikian, karena keterbatasan replikasi, hasil ini sebaiknya dianggap sebagai indikasi awal yang perlu divalidasi lebih lanjut dalam penelitian lanjutan yang melibatkan pengulangan dan uji signifikansi statistik.



Gambar 3. Grafik Uji Kadar Bioetanol dari kulit Jeruk

3.3. Hasil Yield Bioetanol

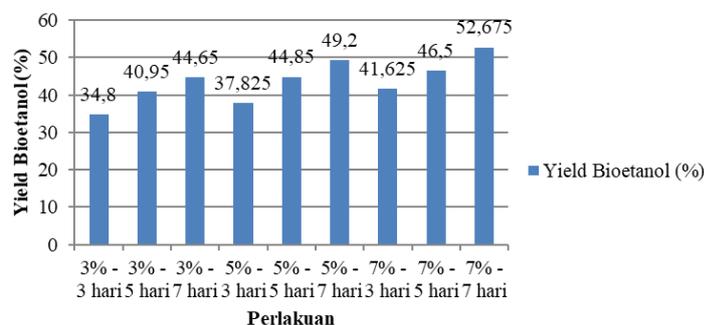
Hasil penelitian menunjukkan pada gambar 3. Menunjukkan bahwa yield bioetanol meningkat seiring dengan bertambahnya konsentrasi larutan NaOH pada tahap pretreatment serta durasi fermentasi. Nilai yield tertinggi diperoleh pada perlakuan NaOH 7% dengan fermentasi selama 7 hari, yaitu sebesar 52,68%, sedangkan yield terendah tercatat pada perlakuan NaOH 3% dengan fermentasi selama 3 hari, sebesar 34,80%.

Peningkatan yield ini secara biokimia dapat dijelaskan melalui dua mekanisme utama. Pertama, konsentrasi NaOH yang lebih tinggi pada tahap pretreatment mampu mengurai struktur lignoselulosa dengan lebih efektif. Secara spesifik, NaOH akan memutus ikatan ester dan glikosidik dalam jaringan lignin dan hemiselulosa, sehingga lapisan pelindung lignin yang menghalangi akses enzim ke selulosa menjadi berkurang. Akibatnya, selulosa menjadi lebih terbuka dan mudah terhidrolisis menjadi glukosa (Yang et al., 2021). Kedua, waktu fermentasi yang lebih panjang memungkinkan *Saccharomyces cerevisiae* untuk mengoptimalkan konversi glukosa menjadi etanol melalui jalur glikolitik, di mana glukosa dipecah menjadi piruvat dan kemudian dikonversi menjadi etanol dalam kondisi anaerob. Namun demikian, waktu fermentasi yang terlalu panjang dapat menurunkan efisiensi fermentasi akibat penurunan aktivitas enzim dan populasi mikroba karena keterbatasan nutrisi (Damayanti et al., 2022).

Temuan ini selaras dengan hasil penelitian (Sudiyani et al., 2016) yang meneliti pengaruh pretreatment NaOH terhadap produksi bioetanol dari bagasse sorgum manis. Mereka membandingkan dua konsentrasi NaOH (6% dan 10%). Hasil terbaik diperoleh pada pretreatment 10% NaOH yang menghasilkan yield etanol sebesar 92,19% dengan konsentrasi etanol mencapai 66,88 g/L setelah 24 jam. Sebaliknya, kondisi pretreatment dengan 6% NaOH menghasilkan konsentrasi etanol dan yield yang jauh lebih rendah, meskipun angka pastinya tidak disebutkan secara eksplisit. Hasil ini memperkuat bukti bahwa peningkatan konsentrasi basa dan waktu reaksi dapat memaksimalkan pelepasan gula fermentabel dari bahan lignoselulosa.

Selain itu, hasil penelitian ini juga didukung oleh (Rischa et al., 2021) yang menggunakan ubi cilembu sebagai bahan baku bioetanol. Mereka menunjukkan bahwa waktu fermentasi yang optimal terjadi pada hari ke-6, di mana yield bioetanol mencapai 1,94% pada perlakuan dengan 5 gram ragi. Di hari ke-8, justru terjadi penurunan yield menjadi 1,03%, yang mereka duga akibat aktivitas ragi yang mulai menurun karena nutrisi terbatas dan kondisi fermentasi tidak lagi mendukung. Hal serupa juga ditunjukkan oleh (Widyastuti et al., 2022) yang meneliti alang-alang. Mereka menemukan bahwa rendemen bioetanol tertinggi, sebesar 23,11%, diperoleh dengan 15 gram ragi dan fermentasi 6 hari, sementara perlakuan dengan ragi lebih sedikit dan waktu fermentasi lebih singkat hanya menghasilkan 17,90%.

Dari hasil tersebut dapat dilihat bahwa dari peningkatan konsentrasi basa pretreatment maupun pengaturan waktu fermentasi yang optimal cenderung mempengaruhi peningkatan yield bioetanol. Secara umum, semakin efektif lignin dipecah dan semakin efisien mikroorganisme mengubah glukosa menjadi etanol, maka semakin besar pula bioetanol yang dihasilkan (Chua et al., 2021)



Gambar 4. Grafik Yield Bioetanol Kulit Jeruk

4. KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa variasi konsentrasi larutan NaOH dan lama fermentasi memengaruhi hasil produksi bioetanol dari kulit jeruk siam. Perlakuan optimal ditemukan pada kombinasi pretreatment NaOH 7% dengan waktu fermentasi selama 7 hari, yang menghasilkan kadar bioetanol tertinggi sebesar 43% dan nilai pH terendah sebesar 4,1. Hasil yield bioetanol juga meningkat seiring meningkatnya konsentrasi basa dan durasi fermentasi, dengan nilai tertinggi sebesar 52,68%. Temuan ini menegaskan bahwa penggunaan pretreatment alkali yang tepat serta waktu fermentasi yang cukup menjadi kunci penting dalam meningkatkan efisiensi konversi lignoselulosa menjadi etanol.

Pemanfaatan limbah kulit jeruk sebagai bahan baku bioetanol berkontribusi pada pengembangan energi terbarukan yang ramah lingkungan, sekaligus menjadi alternatif solusi pengelolaan limbah organik. Penelitian ini memperkaya literatur dengan data empiris mengenai kombinasi perlakuan NaOH dan fermentasi yang optimal untuk kulit jeruk lokal, yang sebelumnya masih jarang dikaji secara menyeluruh. Hasilnya dapat menjadi rujukan awal bagi penelitian lanjutan maupun penerapan skala kecil dalam produksi bioetanol berbasis limbah.

Namun, penelitian ini masih memiliki keterbatasan pada jumlah replikasi dan belum dilengkapi dengan analisis statistik, sehingga hasil yang diperoleh bersifat eksploratif. Disarankan agar penelitian selanjutnya mencakup uji statistik dengan jumlah pengulangan yang memadai serta menguji parameter lain seperti rendemen glukosa, efektivitas enzimatis, dan kualitas fisikokimia bioetanol. Kajian lebih lanjut dalam skala semi-industri juga diperlukan untuk melihat potensi penerapan nyata dari hasil penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Ayala, J. R., Montero, G., Coronado, M. A., García, C., Curiel-Alvarez, M. A., León, J. A., Sagaste, C. A., & Montes, D. G. (2021). *Characterization of orange peel waste and valorization to obtain reducing sugars. Molecules*, 26(5), 1348. <https://doi.org/10.3390/molecules26051348>

- Azizah, N., Al-Barrii, 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 Aplikasi Teknologi Pangan*, 1(3).
- Azzahra, R. F. (2021). Review Artikel Produksi Bioetanol Berbahan Dasar Limbah Kulit Kopi sebagai Bahan Bakar Alternatif. *KINETIKA*, 12(2), 58–63.
- Boonekamp, F. J., Dashko, S., van den Broek, M., Gehrman, T., Daran, J. M., & Daran-Lapujade, P. (2018). The Genetic Makeup and Expression of the Glycolytic and Fermentative Pathways Are Highly Conserved Within the *Saccharomyces* Genus. *Frontiers in Genetics*, 9. <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00504>
- Braide, W., Kanu, I. A., Oranusi, U. S., & Adeleye, S. A. (2016). Production of bioethanol from agricultural waste. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 8(2), 372–386.
- Chua, G. K., Mahadi, N. I. F., & Tan, F. H. Y. (2021). *Bacterial Cellulose Production from Agro-Industrial and Food Wastes*. https://doi.org/10.1007/978-981-15-9696-4_7
- Damayanti, A., Bahlawan, Z. A. S., & Kumoro, A. C. (2022). Modeling of bioethanol production through glucose fermentation using *Saccharomyces cerevisiae* immobilized on sodium alginate beads. *Cogent Engineering*, 9(1). <https://doi.org/10.1080/23311916.2022.2049438>
- Fadarina, F. (2018). Perancangan dan Unjuk Kerja Sistem Pengendalian Proses pada Microferm Fermentor. *KINETIKA*, 9(2), 16–24.
- Halkos, G. E., & Gkampoura, E. C. (2020). Reviewing usage, potentials, and limitations of renewable energy sources. *Energies*, 13(11). <https://doi.org/10.3390/en13112906>
- Intan Fatma Listiandari, & Nuniek Herdyastuti. (2022). The effect of adding NaOH and fermentation time on Robusta coffee husk (*Coffea canephora*) bioethanol production with SSF (Simultaneous Saccharification and Fermentation) method. *World Journal of Advanced Research and Reviews*, 15(2), 630–638. <https://doi.org/10.30574/wjarr.2022.15.2.0882>
- Juwon, O. E., & Oluwatoyin, O. F. (2019). Production of Bioethanol from Selected Lignocellulosic Agrowastes. *Journal of Advances in Biology & Biotechnology*, 21(2), 1–17. <https://doi.org/10.9734/jabb/2019/v21i230089>
- Kokkinakis, M., Tsakiris, I., Tzatzarakis, M., Vakonaki, E., Alegakis, A., Papachristou, S., Karzi, V., Kokkinaki, A., Goumenou, M., & Kallionakis, M. (2020). Carcinogenic, ethanol, acetaldehyde and noncarcinogenic higher alcohols, esters, and methanol compounds found in traditional alcoholic beverages. A risk assessment approach. *Toxicology Reports*, 7, 1057–1065.
- Maryana, T., Silsia, D., Supratman, J. W. R., & Limun, K. (2020). Pengaruh konsentrasi dan jenis ragi pada produksi bioetanol dari ampas tebu. *Jurnal Agroindustri*, 10(1), 47–56. <https://doi.org/10.31186/j.agroind.10.1.47-56>
- Masrullita, M., Suryati, S., Rozah, T., & Safriwardy, F. (2023). Pengaruh Perbandingan Waktu Delignifikasi Dan Konsentrasi NaOH Dalam Pembuatan Gula Reduksi Dari Kulit Kopi Arabika (*coffea Arabica*). *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*, 12(1), 86–96. <https://doi.org/10.29103/jtku.v12i1.11640>
- Munoz, R. C., Ahmad, M. Z., Malankowska, M., & Coronas, J. (2022). A new relevant membrane application: CO2 direct air capture (DAC). *Chemical Engineering Journal*, 446, 137047.
- Nasrun, N., Jalaluddin, J., & Mahfuddhah, M. (2017). Pengaruh Jumlah Ragi dan Waktu Fermentasi terhadap Kadar Bioetanol yang Dihasilkan dari Fermentasi Kulit Pepaya. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*, 4(2), 1. <https://doi.org/10.29103/jtku.v4i2.68>
- Putrika, A. (2023). Jenis-jenis Tumbuhan yang Berpotensi Sebagai Sumber Bahan Bakar Alternatif Masa Depan. *Biologi Terapan Untuk Masa Depan Dan Kemajuan Bangsa*, 237.
- Rahmi, D., Zulnazri, Z., Dewi, R., Sylvia, N., & Bahri, S. (2023). Pemanfaatan Limbah Kulit Nanas Menjadi Bioetanol Dengan Menggunakan Ragi (*Saccharomyces Cerevisiae*). *Chemical Engineering Journal Storage (CEJS)*, 2(5), 147–160. <https://doi.org/10.29103/cejs.v2i5.9796>

- Rischa, M. S., Ma'sum, Z., & Widyastuti, F. K. (2021). Pengaruh Konsentrasi Ragi dan Lama Waktu Fermentasi Terhadap Yield Bioetanol Ubi Cilembu. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Industri, Lingkungan Dan Infrastruktur (SENTIKUIN)*, 4, 6–7. <https://pro.unitri.ac.id/index.php/sentikuin>
- Rizaldi, L. H., -, M., Rinjani, F. U., & Amrullah, S. (2022). The effect of fermentation time on bioethanol levels from sugar cane (*saccharum officinarum*). *Jurnal Agrotek Ummat*, 9(3), 182. <https://doi.org/10.31764/jau.v9i3.8106>
- Sembada, A. A. (2022). Delignification of Cinnamon Bark (*Cinnamomum verum*) with Pre-treatment by NaOH to Increase Cellulose and Hemicellulose Recovery. *Quagga: Jurnal Pendidikan Dan Biologi*, 14(1), 73–76. <https://doi.org/10.25134/quagga.v14i1.4372>
- Setiawan, I. R., Wijayanti, W. P., & Wicaksono, A. D. (2024). *A Study on the Utilization of Livelihood Assets by the Community of Pujon Kidul Tourism Village, Malang Regency (Kajian Pemanfaatan Aset Penghidupan Masyarakat Desa Wisata Pujon Kidul, Kabupaten Malang)*. <http://repository.ub.ac.id/id/eprint/222553/>
- Sudiyani, Y., Triwahyuni, E., Muryanto, Burhani, D., Waluyo, J., Sulaswaty, A., & Abimanyu, H. (2016). Alkaline pretreatment of sweet sorghum bagasse for bioethanol production. *International Journal of Renewable Energy Development*, 5(2), 113–118. <https://doi.org/10.14710/ijred.5.2.113-118>
- Utomo, D., & Pratama, R. O. (2024). Efektivitas pembuatan bioetanol sebagai sumber green energy dari buah mangga klonal 21 (*Mangifera indica*) dengan pengaruh lama fermentasi dan massa ragi. *Teknologi Pangan: Media Informasi Dan Komunikasi Ilmiah Teknologi Pertanian*, 15(2), 209–222.
- Widyastuti, D. A., Minarti, I. B., & Ula, N. (2022). Pengaruh Variasi Massa Ragi *Saccharomyces Cerevisiae* dan Lama Fermentasi terhadap Densitas dan Rendemen Bioetanol Alang-Alang (*Imperata Cy-lindrica*). *Jurnal Ilmiah Teknosains*, 8(1), 54–59.
- Yang, J., Wang, X., Shen, F., & Qi, X. (2021). Base activation of persulfate: an effective pretreatment method to enhance glucose production from lignocellulosic biomass. *Cellulose*, 28(7), 4039–4051. <https://doi.org/10.1007/s10570-021-03796-9>