

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia menjadi salah satu negara produsen kopi terbesar di dunia, menempati peringkat keempat setelah Brazil, Kolombia, dan Vietnam. Luas area perkebunan kopi di Indonesia mencapai lebih dari 1.265.930 hektar. Setiap tahunnya, Indonesia mengekspor rata-rata sekitar 430.000 ton kopi, yang terdiri atas 85% kopi robusta dan 15% kopi arabika (Azis et al., 2025). Menurut data Badan Pusat Statistik (BPS) pada tahun 2024 produksi kopi mencapai angka tertinggi dalam satu dekade terakhir, yakni 813.345 ton. Data tersebut menunjukkan peningkatan produksi jika dibandingkan pada tahun 2023 yang hanya sebesar 758.725 ton. Sebelumnya, pada 2023, terjadi penurunan produksi sebesar 2,10% dari 774.961 ton pada 2022. Ekspor utama kopi Indonesia dalam perdagangan internasional berasal dari kategori robusta yang belum disangrai dan mengandung kafein (HS 09011130), yang mencapai 76,88% dari total ekspor. Sulawesi Selatan merupakan wilayah dengan produksi kopi terbesar di Indonesia Timur dengan luas area perkebunan 80.229 hektar. Pada tahun 2024, total produksi kopi di Sulawesi Selatan mencapai 31.785 ton mengalami peningkatan dibandingkan produksi tahun 2023 yaitu 30.727 ton (BPS, 2025).

Jenis kopi yang banyak ditanam di Indonesia terdiri atas dua varietas utama, yaitu arabika (*Coffea arabica*) dan robusta (*Coffea canephora*). Sebagian besar lahan perkebunan kopi yaitu sekitar 98% dikelola petani lokal dan dari total luas lahan tersebut 71% digunakan untuk menanam kopi robusta, sementara 29% sisanya untuk kopi arabika. Kopi robusta lebih banyak dipilih oleh petani karena keunggulannya dalam hal ketahanan terhadap penyakit karat, produktivitas buah yang lebih besar, serta kemampuannya beradaptasi di lingkungan dataran rendah (BPS, 2025). Kulit kopi robusta diketahui memiliki kandungan selulosa yang berkisar antara 25-35%, hemiselulosa 20-25%, dan lignin sekitar 30% (Azmi et al., 2025). Proses pengolahan biji kopi dikenal sebagai salah satu tahap yang menghasilkan limbah dalam jumlah besar. Limbah tersebut dapat berupa berbagai bentuk kulit kopi, mulai dari kulit buah basah, gelondong kering, cangkang kering, hingga limbah cair yang mengandung lendir. Limbah kulit kopi ini diperkirakan mencapai 50-60% dari total hasil panen (Heriwati et al., 2021). Limbah kulit kopi yang berlimpah berpotensi besar untuk dimanfaatkan sebagai salah satu sumber energi alternatif terbarukan. Energi alternatif yang berpotensi untuk dikembangkan salah satunya adalah bioetanol (Zulfikar et al., 2022).

Bioetanol adalah bahan bakar alternatif yang diperoleh dari fermentasi bahan organik dan mulai dilirik sebagai opsi yang menjanjikan untuk menggantikan bahan bakar minyak sebagai bahan bakar karena ramah lingkungan, dapat mengurangi emisi gas rumah kaca dan meningkatkan kualitas udara (Selvakumar et al., 2025). Setiap tahun, jumlah bioetanol yang dihasilkan di seluruh dunia terus mengalami kenaikan. Pada tahun 2016, produksi tahunan berada di angka 26 miliar, dan meningkat menjadi 29 miliar pada tahun 2019. Amerika Serikat menduduki posisi teratas sebagai negara penghasil bioetanol, dengan produksi mencapai 15 miliar

pada 2019 (Dhungana et al., 2022). Bioetanol adalah jenis etanol yang diperoleh dari sumber biomassa dan memiliki rumus kimia C_2H_5OH . Etanol memiliki sifat fisik berupa cairan tidak berwarna, berbau khas, mudah menguap, serta memiliki titik didih $78,32\text{ }^{\circ}C$. Etanol dapat larut dalam air dan eter serta memiliki massa jenis sebesar 0,7937 pada suhu $15\text{ }^{\circ}C$ (Samosir et al., 2022). Berdasarkan bahan baku yang digunakan pembuatan bioetanol dibagi menjadi tiga jenis utama yang pertama adalah tanaman pangan penghasil sukrosa dan pati seperti tebu dan jagung. Jenis kedua diperoleh dari bahan lignoselulosa nonpangan seperti limbah pertanian dan limbah industri. Selanjutnya produksi bioetanol jenis ketiga dengan memanfaatkan biomassa alga sebagai sumber bahan baku (Gengiah et al., 2020). Proses pembuatan bioetanol sebagai bahan bakar terbarukan melibatkan proses pemecahan lignoselulosa melalui proses praperlakuan, yang kemudian dikonversi menjadi gula yang dapat difermentasi atau dapat dikenal sebagai proses hidrolisis. Setelah proses hidrolisis dilakukan fermentasi dengan memanfaatkan mikroorganisme untuk menghasilkan etanol (Alabdall et al., 2023).

Biomassa lignoselulosa terdiri atas selulosa, hemiselulosa, dan lignin yang saling terikat erat dalam struktur yang kompleks. Untuk melakukan proses hidrolisis selulosa menjadi gula yang dapat difermentasi, diperlukan proses praperlakuan (*pretreatment*) untuk memecah struktur tersebut (Tsegaye et al., 2024). Selulosa merupakan polimer linier yang tersusun dari unit-unit D-glukosa yang terhubung melalui ikatan β -1,4-glikosidik. Sementara itu, hemiselulosa adalah polisakarida yang tersusun dari pentose, heksosa, asam heksuronat dan deoksiheksosa. Adapun lignin adalah polimer tidak teratur (*amorf*) yang terdiri atas berbagai unit fenilpropana (Almanza et al., 2023). Dalam struktur lignoselulosa, hanya selulosa dan hemiselulosa yang dapat digunakan dalam produksi bioetanol karena keduanya dapat dihidrolisis menjadi gula pentosa dan heksosa yang dapat difermentasi lebih lanjut menjadi etanol. Lignoselulosa memiliki sifat yang resisten terhadap degradasi sehingga proses praperlakuan diperlukan untuk melepaskan selulosa dan hemiselulosa dari struktur kompleksnya (Broda et al., 2022).

Proses praperlakuan bertujuan untuk mengonversi biomassa lignoselulosa dari bentuk aslinya menjadi lebih sederhana dan mudah diproses dalam tahapan selanjutnya. Metode praperlakuan telah dikembangkan untuk meningkatkan efisiensi produksi, yaitu metode fisik, kimia, dan biologi (Li et al., 2022). Metode praperlakuan secara fisik, biomassa mengalami peningkatan luas permukaan akibat berkurangnya ukuran partikel dan menurunnya kristalinitas selulosa, dengan menggunakan teknik seperti penghancuran mekanis, ekstrusi, atau pembekuan. Pada metode secara kimia dilakukan penambahan bahan seperti asam, basa, atau zat oksidator yang akan bereaksi terhadap biomassa sehingga dapat menguraikan struktur biomassa tersebut. Metode biologis dilakukan dengan memanfaatkan organisme hidup seperti mikroorganisme (bakteri dan jamur) dan makroorganisme (serangga, cacing, dan gastropoda) (Devi et al., 2022). Salah satu metode praperlakuan yang paling efektif adalah secara kimia dengan menggunakan pelarut basa seperti NaOH, yang dapat merusak struktur lignin serta memutuskan ikatan antara lignin dan komponen

karbohidrat. Seiring dengan berkurangnya lignin akan menyebabkan tingkat reaktivitas polisakarida yang tersisa meningkat (Morales et al., 2018).

Karbohidrat yang terkandung dalam bahan lignoselulosa perlu diubah terlebih dahulu menjadi gula sederhana melalui proses yang dikenal sebagai hidrolisis. Berbagai metode hidrolisis lignoselulosa telah dikembangkan, dan umumnya terbagi menjadi dua jenis utama yaitu hidrolisis kimia dan hidrolisis enzimatik. Hidrolisis kimia menggunakan asam merupakan salah satu metode yang cukup sederhana dan efisien, serta mampu menghasilkan alkohol dalam jumlah yang lebih tinggi dibandingkan metode hidrolisis lainnya (Zezelew et al., 2018). Reaksi yang terjadi dalam proses hidrolisis yaitu molekul akan dipecah menjadi dua bagian dengan bantuan molekul air. Proses ini bertujuan untuk mengonversi polisakarida menjadi glukosa sebagai unit dasar, yang kemudian diproses lebih lanjut melalui fermentasi untuk menghasilkan bioetanol (Anwar dan Subagyo, 2020).

Fermentasi adalah proses menghasilkan energi dalam sel dalam kondisi anaerobik atau tanpa oksigen. Proses ini memanfaatkan glikolisis dan beberapa reaksi lanjutan untuk memecah glukosa. Secara umum fermentasi juga dikenal sebagai proses perubahan gula menjadi etanol, dengan bantuan mikroorganisme seperti ragi *Saccharomyces cerevisiae* (Desniorita et al., 2024). *S. cerevisiae* menjadi pilihan utama dalam produksi etanol industri karena memiliki laju pertumbuhan yang cepat, mampu menghasilkan etanol dengan efisiensi tinggi, dan memiliki ketahanan yang baik terhadap tekanan lingkungan serta memiliki status GRAS (*Generally Recognized as Safe*) yang menunjukkan bahwa penggunaannya dianggap aman. Glukosa yang termasuk golongan gula heksosa merupakan substrat utama yang digunakan oleh *S. cerevisiae* (Topaloğlu et al., 2023). *S. cerevisiae* memfermentasi glukosa, manosa, atau fruktosa yang dihasilkan melalui hidrolisis selulosa menjadi etanol. Sementara xilan sebagai polisakarida yang terbentuk dari hidrolisis hemiselulosa dapat diproses lebih lanjut menjadi xilosa (Kazmi et al., 2025).

Pembuatan bioetanol dari limbah lignoselulosa telah banyak dilakukan, beberapa penelitian yang menggunakan limbah kulit kopi seperti penelitian Azrin et al (2023) menggunakan fermentasi ragi *S. cerevisiae* sebanyak 42 g dan waktu fermentasi 6 hari. Penentuan kadar bioetanol pada penelitian tersebut dilakukan melalui perhitungan sampel sebelum dan setelah destilasi yang menghasilkan kadar bioetanol 5,53%. Penelitian Febrina et al (2020) menggunakan limbah kulit kopi arabika dengan proses hidrolisis menggunakan HCl 20% dan fermentasi dengan *S. cerevisiae* sebanyak 15 g selama 3 hari. Analisis kadar bioetanol dilakukan menggunakan instrumen *Gas Chromatography* (GC) dan menghasilkan kadar bioetanol tertinggi sebesar 1,46%. Sementara itu penelitian Phuong et al (2019) menggunakan fermentasi dengan *S. cerevisiae* menghasilkan etanol dari 100 g limbah kulit kopi robusta menjadi 11,36 g etanol dengan menggunakan konversi glukosa ke etanol. Berdasarkan penelitian-penelitian tersebut belum ada kajian yang secara khusus mengidentifikasi komponen senyawa setelah proses fermentasi menggunakan instrumen *Gas Chromatography Mass Spectrometry* (GC-MS), yang mampu memberikan informasi lebih lengkap terkait komponen senyawa dalam hasil

fermentasi, sehingga penelitian ini dilakukan untuk menganalisis komponen senyawa setelah proses fermentasi limbah kulit kopi robusta dengan GC-MS.

Berdasarkan penelusuran literatur, penelitian mengenai produksi bioetanol menggunakan limbah kulit kopi robusta dapat dilakukan dengan memecah komponen karbohidrat yaitu antara lignin dan selulosa yang terdapat dalam kulit kopi robusta. Selulosa kemudian diubah menjadi gula sederhana seperti glukosa melalui proses hidrolisis asam. Setelah proses hidrolisis dilakukan fermentasi dengan menambahkan ragi *Saccharomyces cerevisiae* untuk mengubah gula hasil hidrolisis menjadi etanol. Selanjutnya dilakukan analisis menggunakan GC-MS untuk mengetahui kadar bioetanol sampel serta senyawa yang terbentuk setelah proses fermentasi. Penelitian ini dilakukan untuk mengoptimalkan penggunaan limbah kulit kopi robusta dengan memanfaatkan kandungan karbohidratnya.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu:

1. berapa perubahan kadar selulosa dan kadar lignin yang dihasilkan dari limbah kulit kopi robusta melalui proses praperlakuan alkali?
2. berapa kadar gula pereduksi yang dihasilkan limbah kulit kopi robusta setelah proses hidrolisis asam?
3. bagaimana hasil uji *Gas Chromatography–Mass Spectrometry* (GC-MS) kulit kopi robusta dari hasil fermentasi dengan ragi *Saccharomyces cerevisiae*?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini yaitu:

1. menganalisis perubahan kadar selulosa dan kadar lignin yang dihasilkan dari kulit kopi robusta melalui proses praperlakuan alkali
2. menganalisis kadar gula pereduksi yang dihasilkan limbah kulit kopi robusta setelah proses hidrolisis asam
3. mengidentifikasi hasil uji *Gas Chromatography–Mass Spectrometry* (GC-MS) kulit kopi robusta dari hasil fermentasi dengan menggunakan ragi *Saccharomyces cerevisiae*

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan nilai ekonomi limbah kulit kopi robusta yang dapat membantu mengembangkan sektor pertanian di Indonesia dan menambah informasi mengenai pengelolaan limbah kulit kopi robusta menjadi bahan bakar alternatif dalam pembuatan bioetanol.

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sampel limbah kulit kopi robusta, akuades, natrium hidroksida (NaOH, Merck), asam sulfat (H₂SO₄, Merck), asam klorida (HCl, Merck), kalium natrium tartrat (KNa-tartrat, Merck), Fenol (C₆H₅OH, Merck), natrium bisulfit (NaHSO₃, Merck), kalium dihidrogen fosfat (KH₂PO₄, Merck), amonium sulfat ((NH₄)₂SO₄, Merck), magnesium sulfat heptahidrat (MgSO₄·7H₂O, Merck), ragi *Saccharomyces cerevisiae*, kalium dikromat (K₂Cr₂O₇, Merck), aluminium foil, plastik wrap dan kertas saring, kapas.

2.2 Alat Penelitian

Pipet ukur, pipet tetes, gelas kimia, labu ukur, gelas ukur, tabung reaksi, erlenmeyer, cawan porselen, corong, sendok tanduk, batang pengaduk, blender, botol semprot, tabung sentrifus, botol *vial*, neraca analitik (*ohaus*), *hotplate*, *magnetic bar*, termometer, *vortex*, oven, tanur (Furnance 6000-Barnstead Thermolyse), desikator, pH meter, serangkaian alat refluks, serangkaian alat destilasi, *heating mantle* (EMA 0500/CE MK1), inkubator, *autoclave* (Model 8000 DNE *Napco*), sentrifus (HERMLE Z 366 K), *shaker water bath* (Labo WBS-18), spektrofotometer UV-Vis (T60 UV-Vis) dan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (Trace 1310 GC-ISQ 7000 MS).

2.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari hingga Agustus 2025 di Laboratorium Biokimia dan Laboratorium Kimia Organik, Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin, analisis dengan instrumen GC-MS dilakukan di Laboratorium Riset Universitas Islam Negeri Makassar.

2.4 Prosedur Penelitian

2.4.1 Preparasi Sampel

Sampel kulit kopi robusta dibersihkan dari kotoran terlebih dahulu lalu dikeringkan menggunakan oven pada suhu 60 °C selama 48 jam, kemudian dihaluskan menggunakan blender hingga berbentuk serbuk.

2.4.2 Proses Praperlakuan Alkali (Phuong et al., 2019)

Serbuk kulit kopi robusta ditimbang masing-masing sebanyak 10 g, dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 mL, 5 buah erlenmeyer ditambahkan 100 mL larutan NaOH dengan variasi 0%, 2,5%, 5%, 7,5%, dan 10% (m/v). Erlenmeyer ditutup menggunakan aluminium foil dan di inkubasi dalam *shaker water bath* pada suhu 50 °C dengan kecepatan 100 rpm selama 6 jam. Campuran disaring menggunakan kertas dan dicuci dengan akuades sampai pH netral lalu dioven pada suhu 105 °C selama 3 jam.

2.4.3 Analisis Kadar Hemiselulosa, Selulosa dan Lignin Metode Chesson (Nurfaizin dan Hartati, 2022)

Timbang bubuk kulit kopi robusta sebanyak 1 g (a) lalu ditambahkan 150 mL akuades kemudian direfluks pada suhu 100°C selama 1 jam. Setelah selesai hasil refluks disaring, kemudian residu dicuci dengan air panas hingga netral. Selanjutnya residu dikeringkan menggunakan oven pada suhu 105°C sampai berat konstan, kemudian ditimbang hasilnya. Residu yang diperoleh (b) ditambahkan 150 mL H₂SO₄ 0,5 M, lalu direfluks yang ke-2 selama 1 jam pada suhu 100°C, hasil refluks disaring dan dicuci hingga netral, dilanjutkan pengeringan dengan oven sampai berat konstan (c). Residu kering yang diperoleh ditambahkan 10 mL H₂SO₄ 72% kemudian direndam pada suhu ruang selama 4 jam, selanjutnya ditambahkan 150 mL H₂SO₄ 0,5 M lalu direfluks yang ke-3 pada suhu 100°C dengan selama 2 jam. Residu yang didapat disaring dan dicuci menggunakan akuades hingga netral. Residu kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu 105°C sampai berat konstan dan ditimbang (d). Proses terakhir residu yang tersisa diabukan dengan menggunakan *furnace* dan ditimbang (e).

$$\text{Hemiselulosa (\%)} = \frac{b-c}{a} \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{Selulosa (\%)} = \frac{c-d}{a} \times 100\% \quad (2)$$

$$\text{Lignin (\%)} = \frac{d-e}{a} \times 100\% \quad (3)$$

2.4.4 Hidrolisis Asam (Mawaddah et al., 2022)

Endapan hasil praperlakuan ditimbang 30 g lalu ditambahkan HCl 8% sebanyak 300 mL kemudian diaduk hingga homogen. Lalu dihidrolisis pada suhu 100 °C selama 4 jam dan disaring.

2.4.5 Analisis Kadar Gula Pereduksi (Deshavath et al., 2020)

Pembuatan Larutan 3,5-Dinitrosalisilat (DNS). DNS sebanyak 1 g ditimbang, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Selanjutnya, ditambahkan NaOH 2 N (20 mL), kalium natrium tartrat (30 g), fenol (0,5 mL), dan natrium bisulfit (0,5 g). Kemudian dicukupkan volumennya menjadi 100 mL dengan akuades.

Pembuatan Larutan Induk Glukosa 1 mg/mL dan Larutan Standar. Glukosa ditimbang sebanyak 0,01 g dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Selanjutnya ditambahkan akuades hingga tanda batas dan dihomogenkan. Larutan standar dibuat dalam beberapa deret konsentrasi, yakni 0,0125 mg/mL; 0,025 mg/mL; 0,05 mg/mL; 0,1 mg/mL; dan 0,2 mg/mL. Larutan induk glukosa 1 mg/mL dipipet masing-masing sebanyak 0,025 mL; 0,05 mL; 0,1 mL; 0,2 mL; dan 0,4 mL ke dalam tabung reaksi yang berbeda. Selanjutnya, masing-masing tabung reaksi ditambahkan akuades hingga volume mencapai 2 mL dan dihomogenkan. Larutan

dimasukkan ke dalam air mendidih selama 15 menit kemudian didinginkan dalam suhu ruang. Absorbansi larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum. Larutan standar dengan konsentrasi deret tengah yaitu 0,05 mg/mL diukur absorbansinya menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 460-540 nm.

Penentuan Kadar Gula Pereduksi. Sampel hasil hidrolisis dimasukkan sebanyak 1,5 mL ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1,5 mL larutan DNS. Selanjutnya sampel dihomogenkan menggunakan *vortex* dan dimasukkan ke dalam air mendidih selama 15 menit lalu didinginkan hingga suhu ruang. Kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 514 nm. Blanko yang digunakan adalah akuades dengan penambahan larutan DNS.

2.4.6 Proses Fermentasi (Phuong et al., 2019)

Filtrat hasil hidrolisis ditambahkan NaOH 2 N hingga pH 4-5 kemudian dimasukkan sebanyak 50 mL ke dalam erlenmeyer 250 mL, lalu ditambahkan 0,05 g KH_2PO_4 ; 0,05 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dan 0,05 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ selanjutnya disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121 °C selama 15 menit lalu didinginkan hingga suhu ruang. Ditambahkan 5 g ragi *S. cerevisiae* instan dan difermentasi dengan variasi waktu 3, 5, 7, 9 dan 11 hari dalam inkubator lalu disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 10.000 rpm dan suhu 4 °C.

2.4.7 Proses Destilasi (Azrin et al., 2023)

Filtrat hasil fermentasi kemudian dimasukkan ke dalam labu destilasi untuk dilakukan pemisahan berdasarkan titik didih yaitu pada suhu 78 °C, destilasi dilakukan hingga hasil destilasi tidak lagi menetes.

2.4.8 Analisis Kualitatif Bioetanol (Kolo et al., 2024)

Kalium dikromat 2% dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 2 mL lalu ditambahkan 5 tetes H_2SO_4 pekat. Ditambahkan 1 mL filtrat hasil destilasi kemudian divorteks dan didiamkan hingga terjadi perubahan warna dari *orange* menjadi warna hijau kebiruan.

2.4.9 Analisis Kuantitatif Bioetanol Menggunakan Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC-MS) (Punia dan Kumar, 2025)

Analisis kadar bioetanol dilakukan dengan menggunakan instrument GC-MS merk *Thermo Scientific* ISQ 7000 dengan cara menginjeksi sebanyak 2 μL sampel hasil destilasi dan senyawa diidentifikasi menggunakan detektor MS. Pengujian ini menghasilkan kromatogram dan senyawa-senyawa yang terkandung dalam sampel. Bagan kerja analisis GC-MS terlampir pada Lampiran 7.