

**Pembuatan Bioetanol dari Glukosa Hasil Hidrolisis Biji
Durian (*Durio zibethinus*) dengan Bantuan *Saccharomyces
cerevisiae***

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains
dalam bidang kimia

oleh :

NENI MINARNI

0910923019



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2013**

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**Pembuatan Bioetanol dari Glukosa Hasil Hidrolisis Biji Durian
(*Durio zibethinus*) dengan Bantuan *Saccharomyces cerevisiae***

Oleh :
NENI MINARNI
0910923019

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji pada tanggal 23
Januari 2013 dan dinyatakan memenuhi syarat untuk
memperoleh gelar Sarjana Sains dalam bidang Kimia

Pembimbing I

Ir. Bambang Ismuvanto, MS
NIP. 196005041986031003

Pembimbing II

Drs. Sutrisno, M.Si
NIP. 196203181990021001

Ketua Jurusan Kimia
Fakultas MIPA Universitas Brawijaya

Dr. Sasangka Prasetyawan, MS
NIP. 196304041987011001

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : NENI MINARNI
NIM : 0910923019
Jurusan : Kimia
Penulis Tugas Akhir Berjudul : Pembuatan Bioetanol
dari Glukosa Hasil Hidrolisis Biji Durian (*Durio zibethinus*)
dengan Bantuan *Saccharomyces cerevisiae*

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Tugas akhir ini adalah benar-benar karya saya sendiri, dan bukan plagiat dari karya orang lain. Karya-karya yang tercantum dalam Daftar Pustaka TA ini, semata-mata digunakan sebagai acuan/referensi.
2. Apabila kemudian hari diketahui bahwa isi TA saya merupakan hasil plagiat, maka saya bersedia menanggung akibat hukum dari keadaan tersebut.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang,
Yang menyatakan,

(NENI MINARNI)
NIM. 0910923019

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



Pembuatan Bioetanol dari Glukosa Hasil Hidrolisis Biji Durian (*Durio zibethinus*) dengan Bantuan *Saccharomyces cerevisiae*

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi HCl terhadap kadar glukosa hasil hidrolisis dan mengetahui pengaruh pH fermentasi terhadap kadar etanol hasil fermentasi. Glukosa hasil hidrolisis baik cake maupun sirup glukosa ditentukan kadar glukosanya dengan metode DNS. Glukosa hasil hidrolisis difermentasi menjadi etanol dengan bantuan *Saccharomyces cerevisiae*, kadar etanol hasil fermentasi ditentukan dengan menggunakan metode cawan conway. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, perolehan kadar glukosa di pengaruhi oleh konsentrasi HCl yang digunakan pada saat hidrolisis, pada hidrolisis 2,5 g biji durian dengan suhu 70 °C dan waktu 3 jam, kadar glukosa pada sirup glukosa semakin meningkat dengan meningkatkannya konsentrasi HCl dan dihasilkan kadar glukosa tertinggi pada hidrolisis 4 M HCl sebesar 36400 ppm, namun pada cake glukosa kadar glukosa tidak berbanding lurus dengan peningkatan konsentrasi HCl, terdapat titik optimum hidrolisis yaitu pada 1 M HCl dengan kadar glukosa sebesar 20100 ppm. Selama 96 jam fermentasi dengan menggunakan substrat glukosa sebesar 8000 ppm (0,8% b/v), pH fermentasi juga tidak berbanding lurus terhadap perolehan kadar etanol, namun terdapat titik optimum pH fermentasi yaitu pada pH 4 dengan kadar etanol sebesar 1,61% (v/v).

Kata kunci : biji durian, etanol, cawan conway, fermentasi, hidrolisis

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

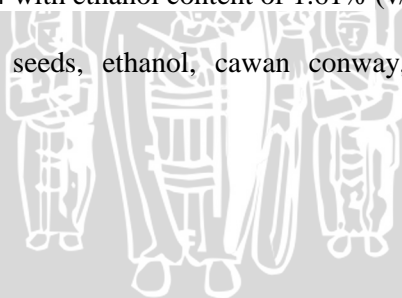


Bioethanol Production by *Saccharomyces cerevisiae* from Yield Glucose of Hydrolyzed Durian (*Durio zibethinus*) Seeds

ABSTRACT

This study aimed to determine the effect of HCl concentration on hydrolysis yield glucose levels and determine the effect of fermentation pH on fermentation yield ethanol levels. Hydrolysis yield glucose which glucose syrup and cake either glucose levels determined by the DNS method. Hydrolysis yield glucose fermented into ethanol by *Saccharomyces cerevisiae*, fermentation ethanol content was determined using the method of cawan conway. Based on the research conducted, obtaining glucose is influenced by the concentration of HCl used during hydrolysis, the hydrolysis of 2.5 g seed durian by temperature of 70 ° C and for 3 hours, glucose levels of glucose syrup is increased by increasing of concentration of HCl and the resulting glucose levels are highest in 4 M HCl hydrolysis at 36400 ppm. However the glucose cake, it glucose levels are not proportional to the increase in the concentration of HCl, there is an optimum point that hydrolysis in 1 M HCl with glucose levels at 20100 ppm. During 96 hours of fermentation with glucose substrate 8000 ppm (0.8% w / v), pH fermentation also not proportional to the acquisition of ethanol content, but there is a point that fermentation pH optimum at pH 4 with ethanol content of 1.61% (v/v).

Keywords: durian seeds, ethanol, cawan conway, fermentation, hydrolysis



UNIVERSITAS BRAWIJAYA



KATA PENGANTAR

Puji syukur saya ucapkan kepada Allah SWT, karena atas limpahan rahmat dan karunia-Nya, saya dapat menyelesaikan skripsi ini tepat waktu. Penelitian yang berjudul *Pembuatan Bioetanol dengan Bantuan Saccharomyces cerevisiae dari Glukosa Hasil Hidrolisis Biji Durian (Durio zibethinus)* bertujuan untuk memberikan solusi terhadap krisis energi yang mungkin terjadi di masa mendatang, sehingga masyarakat memiliki pengetahuan tentang pengolahan limbah menjadi energi alternatif.

Skripsi ini dapat terselesaikan berkat bantuan berbagai pihak. Untuk itu saya mengucapkan terima kasih kepada yang terhormat :

1. Supardi dan Suti'ah selaku kedua orang tua dan keluarga besar yang telah membantu mendukung baik secara materi maupun spiritual
2. Ir. Bambang Ismuyanto, MS selaku pembimbing I yang telah memberikan ilmu, saran dan pesan
3. Drs. Sutrisno, M.Si selaku pembimbing II yang telah memberikan berbagai informasi, saran dan pesan
4. Hely Z.AMd.Keb dan M. Alfian, sebagai motivator
5. Cinta Danny Wahyudi, teman-teman serta berbagai pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran dari semua pihak. Selain itu, penulis juga berharap ada pihak yang suatu hari nanti bersedia untuk melanjutkan penelitian ini dengan menggunakan metode dan alat yang lebih modern, sehingga dihasilkan suatu hasil penelitian yang jauh lebih baik dari penelitian ini.

Malang, 23 Januari 2013

Penulis

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



DAFTAR ISI

Halaman Judul.....	i
Lembar Pengesahan Skripsi	iii
Lembar Pernyataan	v
Abstrak	vii
Abstract	ix
Kata Pengantar	xi
Daftar Isi	xiii
Daftar Gambar	xvi
Daftar Tabel.....	xviii
Daftar Lampiran	xx
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	2
1.3 Batasan Masalah	2
1.4 Tujuan Penelitian	2
1.5 Manfaat Penelitian	2
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	3
2.1 Biji Durian	3
2.2 Bioetanol	4
2.3 Pembuatan Bioetanol	4
2.4 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	10
2.5 Hipotesis	11
BAB III. METODOLOGI.....	12
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	12
3.2 Bahan dan Alat Penelitian.....	12
3.3 Tahapan Penelitian.....	12
3.4 Prosedur Kerja.....	13
3.4.1 Persiapan Media Kultur Inokulum	13
3.4.2 Persiapan Bahan Baku Biji Durian.....	13
3.4.3 Hidrolisis Biji Durian dengan Asam Klorida ...	14
3.4.4 Penentuan Kadar Glukosa	14
3.4.5 Fermentasi Glukosa dengan <i>S.cerevisiae</i>	15
3.4.6 Penentuan Kadar Etanol	15
BAB IV. PEMBAHASAN.....	17
4.1 Pengaruh HCl Terhadap Kadar Glukosa.....	17
4.2 Pengaruh pH Fermentasi Terhadap Kadar Etanol.....	20

BAB V. PENUTUP	22
5.1 Kesimpulan.....	22
5.2 Saran	22
DAFTAR PUSTAKA	23
LAMPIRAN	27

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



UNIVERSITAS BRAWIJAYA



DAFTAR GAMBAR

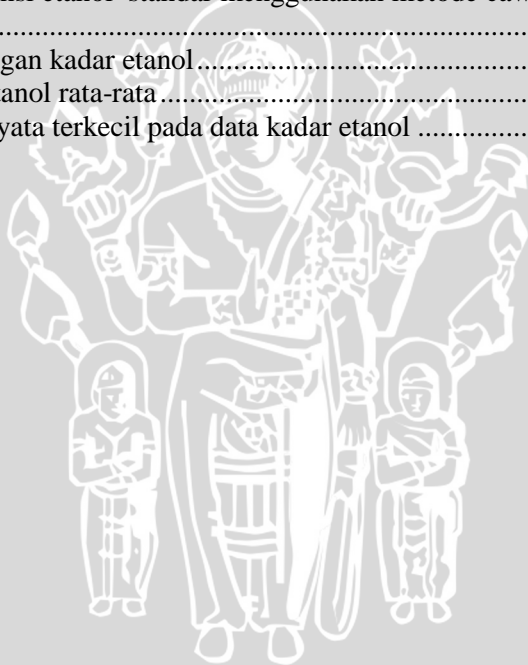
Gambar 2.3.1 Mekanisme hidrolisis polisakarida pada biji durian	6
Gambar 2.3.1 Diagram glukosa diubah menjadi hidroksimetilfurfural (HMF) , asam format dan asam levulinat	7
Gambar 2.3.5 Mekanisme pembentukan etanol melalui jalur Embden-Meyerhof-Parnas (EMP)	8
Gambar 2.4.1 Kurva pertumbuhan <i>S. cerevisiae</i>	11
Gambar 4.1 Kurva kadar glukosa dari sirup dan cake glukosa hasil hidrolisis HCl	18
Gambar 4.2 Kurva kadar etanol terhadap perubahan pH fermentasi	20
Gambar L.1.3 Kurva baku glukosa dengan metode DNS	28
Gambar L.2.2 Kurva baku etanol	34
Gambar L.4. Dokumentasi	39

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1.1 Kandungan nutrisi biji durian	3
Tabel 2.2.2 Sifat fisik dan kimia etanol	4
Tabel 4.2.1 Perubahan warna larutan setelah 3 jam hidrolisis menggunakan HCl pada suhu 70 °C	17
Tabel L.1.2 Data absorbansi glukosa standar metode DNS.....	28
Tabel L.1.4 Absorbansi glukosa pada sirup glukosa	29
Tabel L.1.5 Absorbansi glukosa pada cake glukosa	29
Tabel L.1.7 kadar glukosa pada 2,5 g biji durian	32
Tabel L.1.8 Perhitungan statistik uji beda nyata terkecil data hasil hidrolisis	33
Tabel L.2.1 Absorbansi etanol standar menggunakan metode cawan conway	34
Tabel L.2.3 Perhitungan kadar etanol	35
Tabel L.2.4 Kadar etanol rata-rata	36
Tabel 2.5 Uji beda nyata terkecil pada data kadar etanol	37



UNIVERSITAS BRAWIJAYA



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Data pada proses hidrolisis.....	27
L.1.1 Pengenceran HCl dari 12 M.....	27
L.1.2 Data absorbansi glukosa standar metode DNS.....	28
L.1.3 Kurva baku Glukosa.....	28
L.1.4 Tabel absorbansi glukosa pada sirup glukosa.....	29
L.1.5 Tabel absorbansi glukosa pada cake glukosa.....	29
L.1.6 Perhitungan kadar glukosa tereduksi.....	30
L.1.7 Kadar Glukosa pada 2,5 g biji durian.....	32
L.1.8 Perhitungan statistik uji beda nyata terkecil dari data hasil hidrolisis.....	33
Lampiran 2. Data pada proses fermentasi.....	34
L.2.1 Perhitungan kadar etanol pada proses fermentasi.....	34
L.2.2 Kurva baku etanol.....	34
L.2.3 Perhitungan kadar etanol.....	35
L.2.4 Kadar etanol rata-rata.....	36
L.2.5 Uji BNT pada data kadar etanol.....	37
Lampiran 3. Dokumentasi.....	39
L.3.1 Proses Hidrolisis.....	39
L.3.2 Pembiakan <i>S.cerevisiae</i>	40
L.3.3 Fermentasi dan pengukuran kadar etanol.....	41

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Sejak beberapa tahun terakhir Indonesia mengalami penurunan produksi minyak nasional yang disebabkan menurunnya secara alamiah cadangan minyak serta pertambahan jumlah penduduk, meningkatnya penggunaan transportasi dan aktivitas industri yang berakibat pada peningkatan kebutuhan konsumsi Bahan Bakar Minyak (BBM) [1]. Untuk mengatasi keadaan tersebut diperlukan adanya bahan bakar alternatif yang dapat diperbaharui serta ramah lingkungan [2]. Salah satu alternatif pengganti bahan bakar minyak adalah bioetanol. Bioetanol merupakan etanol yang berasal dari sumber hayati. Bioetanol bersumber dari gula sederhana, amilum dan selulosa [3]. Amilum yang berbentuk polisakarida dapat dihidrolisis menjadi glukosa melalui pemanasan, menggunakan katalis dan pemanfaatan enzim. Glukosa yang diperoleh selanjutnya difermentasi untuk menghasilkan etanol [4].

Fermentasi etanol merupakan aktivitas penguraian gula (karbohidrat) menjadi senyawa etanol dengan mengeluarkan gas CO₂, fermentasi ini dilakukan dalam kondisi anaerob atau tanpa adanya oksigen. Produksi bioetanol umumnya menggunakan mikroba *Saccharomyces cerevisiae*. *Saccharomyces cerevisiae* dapat mengkonversi gula menjadi etanol dengan kemampuan konversi yang baik [5], tahan terhadap etanol kadar tinggi, tahan terhadap pH rendah, dan tahan terhadap temperatur tinggi [6].

Salah sumber hayati yang memiliki potensi besar sebagai bioetanol adalah biji durian. Biji durian (*Durio zibethinus*) terbukti mengandung karbohidrat dengan kadar tinggi, yakni 43,6% [4]. Dari penelitian yang dilakukan Nurfiana dkk pada tahun 2009 [4], Agar kadar etanol yang dihasilkan optimal tanpa menggunakan katalis, biji durian (setelah dikukus) dan yeast *Saccharomyces cerevisiae* (merk "DK") yang digunakan memiliki perbandingan 25:1. Produksi bioetanol dengan bantuan mikroba dipengaruhi oleh kadar glukosa sebagai substrat dan kondisi lingkungan proses fermentasi seperti suhu dan pH [5-6]. Berdasarkan hal tersebut maka penelitian ini bertujuan untuk menghidrolisis biji durian menggunakan katalis asam klorida (HCl) untuk mengetahui

pengaruh peningkatan konsentrasi asam terhadap kadar glukosa dan mengatur pH fermentasi untuk mengetahui kadar etanol yang dihasilkan.

1.2 Perumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Bagaimana pengaruh konsentrasi HCl terhadap kadar glukosa hasil hidrolisis karbohidrat pada biji durian ?
2. Bagaimana pengaruh pH fermentasi terhadap kadar etanol hasil fermentasi ?

1.3 Batasan Masalah

Penelitian ini dibatasi pada :

1. Konsentrasi HCl pada proses hidrolisis sebesar 0, 1, 2, 3, 4 M dengan suhu pemanasan sebesar 70 °C selama 3 jam
2. Waktu yang digunakan untuk fermentasi maksimal 4 hari (96 jam) dengan keadaan anaerob pada suhu ruang
3. Menggunakan kultur murni *Saccharomyces cerevisiae* yang telah dibiakkan pada media YGA (yeast glukosa agar)

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Mengetahui pengaruh konsentrasi HCl terhadap kadar glukosa hasil hidrolisis karbohidrat pada biji durian.
2. Mengetahui pengaruh pH fermentasi terhadap kadar etanol hasil fermentasi

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah mengetahui potensi biji durian sebagai bahan baku pembuatan bioetanol yang mampu memberikan kontribusi sebagai sumbangsih terhadap solusi krisis energi beberapa tahun mendatang.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biji Durian

Biji durian merupakan benih dari pohon durian yang masih terlindungi oleh daging buah durian, durian diklasifikasi sebagai berikut menurut Dinas Pertanian Provinsi DIY [7-9] :

Kerajaan	: Plantae
Ordo	: Malvales
Famili	: Malvaceae
Genus	: <i>Durio</i>
Spesies	: <i>Durio zibethinus</i>

Selain buahnya yang memiliki banyak manfaat, biji durian juga berpotensi menghasilkan bioetanol dikarenakan kandungan karbohidrat yang dimiliki dalam 100 gram biji segarnya sebesar 43,6% sedangkan untuk biji durian masaknya sebesar 43,2 % jumlah ini cukup potensial untuk diolah menjadi etanol [4].

Dari data Michael J Brown terdapat kandungan nutrisi pada biji durian adalah [4] :

Tabel 2.1.1 Kandungan nutrisi biji durian tanpa kulit terluar

Zat	Per 100 gram biji segar	Per 100 gram biji
Kadar air	51,5 g	51,1 g
Lemak	0,4 g	0,2-0,23 g
Protein	2,6 g	1,5 g
Karbohidrat total	43,6 g	43,2 g
Serat kasar		0,7-0,71 g
Nitrogen		0,297 g
Abu	1,9 g	1,0 g
Kalsium	17 mg	3,9-88,8 g
Posfor	68 mg	86,65-87 mg
Besi	1,0 g	0,6-0,64 g
Natrium	3 mg	

2.2 Bioetanol

Alkohol merupakan senyawa hidrokarbon yang memiliki gugus hidroksil (-OH). Dalam dunia perdagangan yang umum disebut alkohol adalah etanol atau etil alkohol dengan rumus kimia C_2H_5OH . Etanol yang berasal dari bahan organik disebut bioetanol. Etanol dikelompokkan dalam dua kelompok antara lain [10] :

1. Etanol dengan kadar 95-96% v/v disebut etanol berhidrat yang dibagi menjadi tiga kelas yaitu :
 - a. Technical raw/spread grade digunakan untuk bahan bakar disinfektan, bahan bakar spiritus, pelarut dan minuman
 - b. Industrial grade digunakan untuk bahan baku industri dan pelarut
 - c. Potable grade untuk minuman berkualitas tinggi.
2. Etanol dengan kadar > 99,5% v/v digunakan untuk bahan bakar. Jika dimurnikan lebih lanjut dapat digunakan untuk keperluan farmasi dan pelarut di laboratorium analisis. Etanol ini disebut *fuel grade ethanol* (FGE) atau *anhydrous ethanol* (etanol anhidrat) atau etanol kering, yakni etanol yang bebas air atau hanya mengandung air minimal. Ada dua tahapan utama dalam pembuatan bioetanol yaitu hidrolisis polisakarida dan fermentasi gula menjadi alkohol [11].

Sifat fisik dan sifat kimia dari etanol [12]:

Tabel 2.2.1 Sifat fisik dan kimia etanol

Sifat kimia dan fisika	Keterangan
Berat molekul	46 g/mol
Kerapatan	0,791 g/mL
Titik lebur	-117,3 °C
Titik didih	78,3 °C
Titik bakar	21 °C
Titik nyala	372 °C

2.3 Pembuatan bioetanol

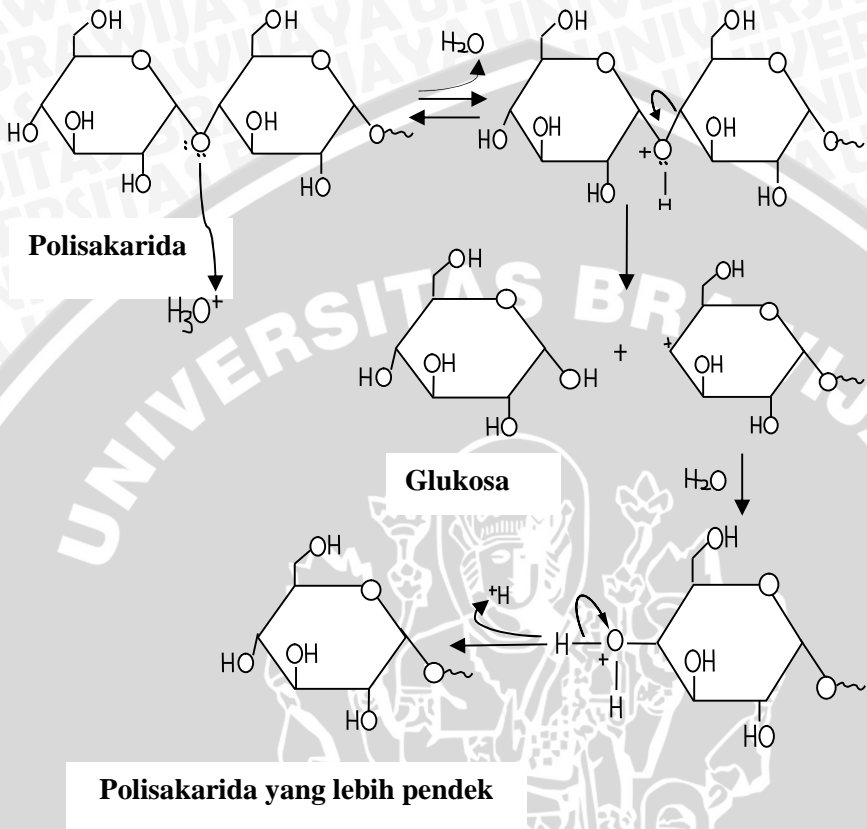
Pembuatan etanol dapat dilakukan dengan dua cara yaitu dengan cara sintesis melalui reaksi hidrasi etilena yang menghasilkan etanol sebagai hasil samping minyak bumi. Selanjutnya melalui cara

fermentasi dengan menggunakan aktivitas mikroba, bahan yang mengandung gula (sakarida) sederhana langsung diubah menjadi etanol sedangkan yang masih dalam bentuk polisakarida dihidrolisis terlebih dahulu untuk memperoleh gula sederhana. Tahapan pada pembuatan etanol dari bahan yang mengandung pati yaitu [12] :

1. Hidrolisis pati

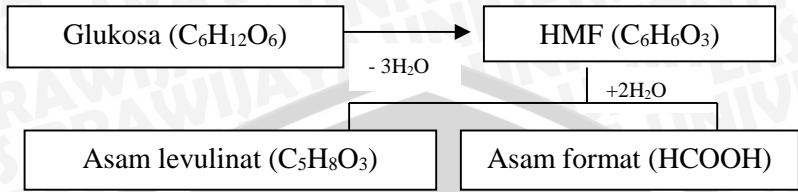
Hidrolisis pati (polisakarida) merupakan pemecahan polisakarida kompleks menjadi gula yang lebih sederhana akibat penambahan molekul air [13-14]. Pembuatan bioetanol dari bahan berselulosa harus melalui proses hidrolisis terlebih dahulu dengan menggunakan senyawa asam seperti asam sulfat (H_2SO_4) dan asam klorida (HCl) namun bahan tersebut menghasilkan yield etanol yang kecil dan tidak ramah lingkungan serta biaya produksi cukup tinggi [15]. Perkembangan proses hidrolisis tersebut untuk skala industri dapat diganti dengan menggunakan enzim yang sering disebut dengan *Enzymatic Hydrolysis* yaitu hidrolisis menggunakan enzim jenis selulase atau jenis yang lain. Keuntungan hidrolisis dengan enzim dapat mengurangi penggunaan asam dan ramah lingkungan [16].

Pati banyak diperoleh dari tanaman khususnya pada biji dan batang rumus molekul pati adalah $(C_6H_{10}O_5)_n$ "n" merupakan banyaknya glukosa yang terikat pada glukosa [17], komponen penyusun pati sekitar 20-25% amilosa dan 75-80% amilopektin. Proses hidrolisis menggunakan asam yang berperan penting adalah ion H^+ , ion H^+ akan menyerang ikatan glikosidik pada pati sehingga terbentuklah monomer karbohidrat yaitu glukosa [17]. Hidrolisis asam dapat dilakukan dengan dua kategori pendekatan yaitu hidrolisis menggunakan asam pekat pada suhu ruang dan dengan katalis asam encer dengan peningkatan suhu [18,19]. Konsentrasi asam pekat yang digunakan pada suhu ruang umumnya HCl 42% sedangkan untuk pemanasan $100^\circ C$ dapat menggunakan HCl 1%. Mekanisme hidrolisis polisakarida dengan katalis asam [19,31] :



Gambar 2.3.1. Mekanisme reaksi hidrolisis polisakarida pada biji durian

Penggunaan asam kuat dan asam pekat mampu mendegradasi karbohidrat atau polisakarida, namun karena asam merupakan katalis non spesifik asam kuat juga mampu mendegradasi glukosa hasil hidrolisis lebih sehingga terbentuk 5-hidroksimetil-2-2furfuraldehida atau disebut juga hidroksimetilfurfural (HMF) kemudian HMF ini akan terus membentuk asam-asam organik pada suhu tinggi yaitu asam levulinat dan asam format. Mekanisme asam kuat membentuk HMF, asam format dan asam levulinat [18]:



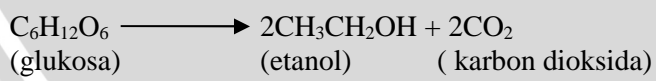
Gambar 2.3.2 Diagram glukosa diubah menjadi hidroksimetilfurfural (HMF), asam format dan asam levulinat oleh asam kuat.

2. Fermentasi

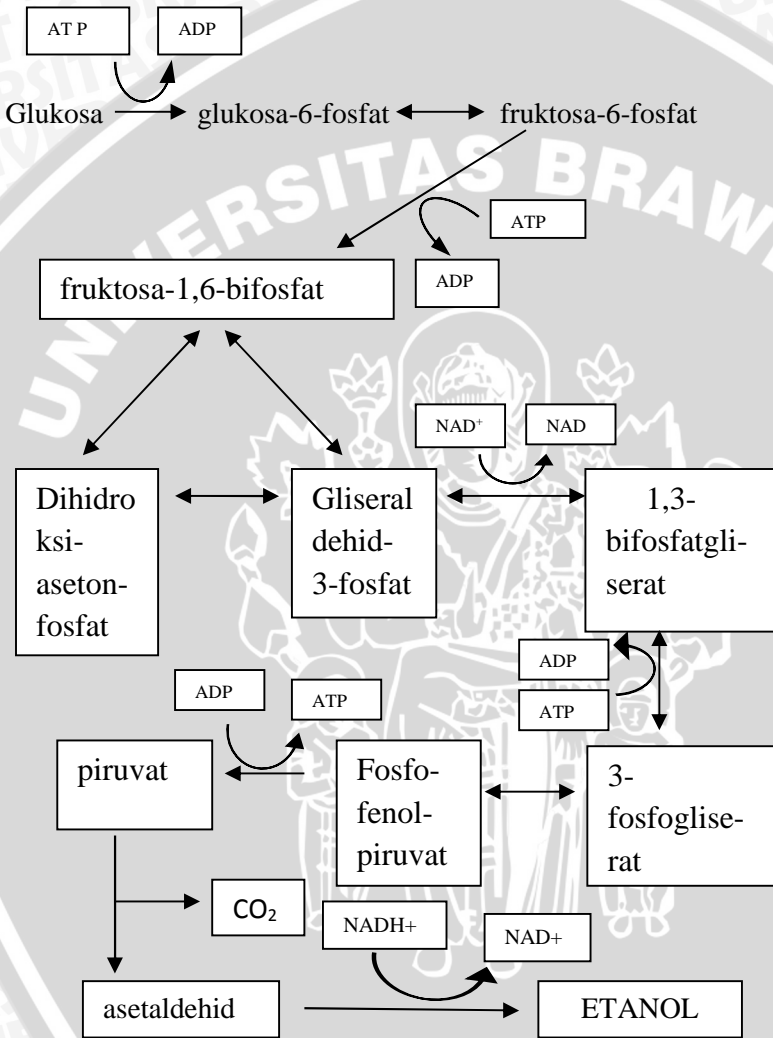
Fermentasi berasal dari bahasa latin *ferfere* yang diartikan sebagai mendidihkan yaitu terbentuknya gas-gas (gelembung) sehingga dikatakan mendidih, namun berbeda seperti air mendidih pada umumnya, gas yang terbentuk tersebut diantaranya gas karbon dioksida (CO₂) [20]. Sedangkan Dalam istilah mikrobial menurut Rachman (1989) fermentasi merupakan kegiatan atau aktivitas suatu mikroorganisme untuk memperoleh energi dengan memecah substrat untuk keperluan pertumbuhan dan metabolisme dari mikroorganisme tersebut [21]. Keberhasilan suatu fermentasi tergantung pada kondisi lingkungan biomassa dan produk yang terbentuk, sehingga perlu dilakukan pengaturan optimasi kondisi fermentasi dan penentuan komponen-komponen yang terbentuk pada hasil akhir fermentasi [13]. Ada beberapa faktor yang mempengaruhi kehidupan suatu mikroorganisme yaitu pH, suhu, konsentrasi oksigen, tekanan, kelarutan dan aktivitas air [22]. Pati dapat diubah menjadi alkohol melalui proses biokimia [3] :



Pada proses fermentasi etanol dan gas CO₂ dihasilkan ketika gula diserap oleh bakteri dengan reaksi [3, 6, 13]:



Mekanisme pembentukan etanol oleh mikroba melalui jalur EMP (Embden-Meyerhof-Parnas) proses ini meliputi [6][23][24] :



Gambar 2.3.5 Mekanisme pembentukan etanol melalui jalur Embden-Meyerhof-Parnas (EMP)

1. Glikolisis dengan pemecahan glukosa menjadi senyawa glukosa-6-fosfat, reaksi tersebut membutuhkan 1 ATP dengan melepas 1 ADP yang dikatalisis oleh enzim heksokinase atau glukokinase
 2. Senyawa glukosa-6-fosfat di ubah menjadi senyawa isomernya yaitu fruktosa-6-fosfat yang dikatalisis oleh enzim fosfoheksosa isomerase
 3. Fruktosa-6-fosfat diubah menjadi fruktosa-1,6-bifosfat dengan bantuan enzim fosfofruktokinase dengan menggunakan 1 ATP dan melepas 1 ADP
 4. Selanjutnya adalah pemecahan senyawa fruktosa-1,6-bifosfat menjadi 2 senyawa yaitu dihidroksiasetonfosfat (DHAP) dan gliseraldehid-3-fosfat (GA-3P) dengan bantuan enzim aldolase. Senyawa DHAP dan GA-3P merupakan senyawa dengan penyusun yang sama, GA-3P langsung digunakan untuk tahap glikolisis selanjutnya, sedangkan untuk senyawa DHAP di ubah terlebih dahulu dalam bentuk GA-3P dengan bantuan enzim triosefosfat isomerase
 5. GA-3P dioksidasi dengan penambahan fosfat inorganik (Pi) menjadi 1,3-difosfo-gliserat (1,3-dP-GA) oleh enzim gliseraldehid-3-fosfat-dehidrogenase.
 6. 1,3-difosfo-gliserat melepaskan satu grup fosfatnya oleh enzim 3-fosfoglisaratkinase dengan membentuk ADP dan senyawa 3-fosfoglisarat (3P-GA)
 7. 3P-GA dikonversi menjadi 2P-GA dengan bantuan 3-fosfoglisarat mutase
 8. 2P-GA didehidrasi menjadi fosfofenol piruvat dengan bantuan enzim enolase
 9. Tahap terakhir adalah pada glikolisis terbentuknya piruvat dari defosforilasi fosfofenol piruvat dengan bantuan enzim piruvat kinase dengan melepas 1 ATP
- Pada tahap glikolisis dari pembentukan senyawa DHAP dan GA-3P terjadi dua kali reaksi untuk membentuk piruvat sehingga didapatkan 2 molekul ATP dan 2 molekul piruvat dengan reaksi keseluruhan yaitu :
- $$\text{Glukosa} + 2\text{ADP} + 2\text{NAD}^+ + 2\text{pi} \longrightarrow 2\text{piruvat} + 2\text{ATP} + 2(\text{NADH} + \text{H}^+)$$

Setelah melalui tahapan glikolisis piruvat yang dihasilkan di ubah menjadi asetaldehid dan CO₂ dengan menggunakan enzim dekarboksilase, asetaldehid yang terbentuk diubah menjadi etanol oleh enzim alkohol dehidrogenase.

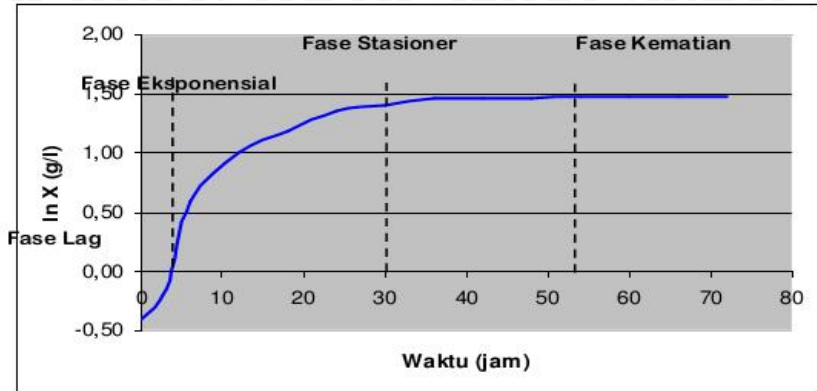
2.4 *Saccharomyces cerevisiae*

Klasifikasi ilmiah dari *Saccharomyces cerevisiae* menurut Reed dan Nagodawithana sebagai berikut [21]:

Kingdom	: Fungi
Divisi	: Eumicotina
Kelas	: Hemiascomycetes
Ordo	: Endomycetales
Famili	: Saccharomycetaceae
Genus	: <i>Saccharomyces</i>
Spesies	: <i>Saccharomyces cerevisiae</i>

Saccharomyces cerevisiae merupakan mikroorganisme yang penting dalam bio-industri dikarenakan mikroorganisme ini mampu bertahan hidup ketika ada etanol, hal ini merupakan karakteristik utama yang dapat digunakan untuk fermentasi etanol [6] [25]. *Saccharomyces cerevisiae* merupakan mikroorganisme yang dapat hidup dengan cepat pada kondisi aerob maupun anaerob atau disebut sebagai mikroba anaerob fakultatif, sifat yang dimiliki tersebut merupakan kemampuan unik *Saccharomyces cerevisiae* yang dibutuhkan dalam suatu industri [6, 13]. *Saccharomyces cerevisiae* sering digunakan dalam dalam proses fermentasi etanol dikarenakan karakteristik dari mikroba ini mampu hidup pada kadar etanol yang tinggi, merupakan mikroba yang termofilik, stabil saat fermentasi, mampu bertahan pada pH rendah. *Saccharomyces cerevisiae* termasuk dalam golongan khamir [18][26].

Kurva pertumbuhan dari *Saccharomyces cerevisiae* [6] :



Gambar 2.4.1 Kurva pertumbuhan *S.cerevisiae*

Khamir memerlukan media pertumbuhan yang baik untuk perkembangbiakan dan pertumbuhannya. Unsur yang umum yang ada pada pertumbuhan khamir adalah karbon, fosfor, nitrogen, magnesium, zat besi, hidrogen, dan oksigen. Kondisi suhu dan pH pun berpengaruh terhadap pertumbuhan optimal khamir. Suhu optimum pada pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* adalah berkisar antara 25-30 °C suhu maksimal yang mungkin digunakan adalah berkisar 37-47 °C sedangkan pH pertumbuhannya antara 3-5 [6, 18].

Komposisi makanan bagi setiap mikroba berbeda-beda, namun sumber utama yang dibutuhkan adalah sumber karbon. Pada skala industri sumber karbon diperoleh dari karbohidrat. Karbohidrat dapat diperoleh dari jagung, singkong, kentang dan sagu. Sumber karbon juga dapat berasal dari hasil pertanian yang mengandung selulosa contohnya bagas dan jerami. Sumber nitrogen dari mikroba dapat berupa ekstrak khamir, urea, amonium sulfat, protein dan tepung ikan [6].

2.5 Hipotesis

Peningkatan konsentrasi HCl pada proses hidrolisis akan meningkatkan kadar glukosa hasil hidrolisis dan variasi pH akan mempengaruhi optimasi kerja mikroba *Saccharomyces cerevisiae* pada proses fermentasi.

BAB III METODOLOGI

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Fisika, Laboratorium Biokimia, dan Laboratorium Instrumen Jurusan Kimia, FMIPA, serta Laboratorium Sentral Ilmu Hayati (LSIH), Universitas Brawijaya Malang pada bulan September sampai dengan bulan November 2012

3.2 Bahan dan Alat Penelitian

3.2.1 Bahan Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji durian lokal yang diambil dari Dinoyo, kota Malang. *Saccharomyces cerevisiae* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Brawijaya Malang, bahan kimia yang digunakan adalah pepton, Glukosa, Aquades, NaOH, Urea (nutrien), HCl, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, $(NH_4)_2SO_4$, KH_2PO_4 , bacto Agar, H_2SO_4 pekat, Na_2CO_3 , Alkohol (pa), Reagen DNS (asam dinitrosalisilat), $K_2Cr_2O_7$.

3.2.2 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pipet tetes, pipet volume (10 ml, 5 ml), erlenmeyer, gelas kimia, tabung reaksi, jarum ose, botol semprot, cawan conway, penangas air, autoclave, shaker, sentrifuge, pH meter, spektrofotometer UV-Vis.

3.3 Tahapan Penelitian

Tahapan metode penelitian pada penelitian ini adalah :

1. Persiapan media kultur *Saccharomyces cerevisiae*
2. Persiapan bahan baku biji durian
3. Hidrolisis biji durian dengan berbagai konsentrasi HCl
4. Penentuan kadar glukosa menggunakan metode DNS

5. Fermentasi konsentrasi tertentu biji durian menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* dengan mengatur pH fermentasi
6. Penentuan kadar etanol menggunakan metode cawan conway

3.4 Prosedur Kerja

3.4.1 Persiapan Media kultur Inokulum

Saccharomyces cerevisiae ditumbuhkan pada media nutrisi agar miring, ekstrak yeast, glukosa, bacto agar dan pepton (media YGA). Bacto agar 2 % (w/v) dipanaskan terlebih dahulu kemudian glukosa 2 % (w/v), ekstrak yeast 0,5% (w/v), dan pepton 1% (w/v) dimasukkan ke dalam larutan bacto agar hingga mendidih. Lalu media agar disterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121° C selama 15 menit menggunakan tekanan 15 psi, selanjutnya dibiarkan selama 1 hari pada tabung reaksi dengan dimiringkan. Satu ose sel *Saccharomyces cerevisiae* ditumbuhkan selama 20 jam pada media agar miring. Media cair yang mengandung glukosa 8% (w/v), yeast ekstrak 0,1 %, (w/v) KH_2PO_4 0,2% (w/v), Urea 0,4 % (w/v), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,1% (w/v) dalam 150 ml air lalu disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit menggunakan *autoclave*. Dengan menggunakan nutrisi ose sel *Saccharomyces cerevisiae* pada media nutrisi agar miring dipindahkan ke dalam 10 mL larutan media cair, kemudian diinkubasi pada suhu ruang dengan di kocok menggunakan shaker 100 rpm selama 20 jam. Selanjutnya starter 10 mL yang telah diinkubasi tersebut dipindahkan ke dalam 140 ml media cair diinkubasi pada suhu ruang selama 20 jam dengan pengkocokan pada shaker 100 rpm (cairan stok biomassa) kemudian media cair tersebut disentrifugasi pada 6000 rpm selama 5 menit [27]. Hasil mikroba yang diperoleh disimpan dalam lemari pendingin (Freezer) untuk digunakan pada saat fermentasi.

3.4.2 Persiapan Bahan Baku Biji Durian

Kulit terluar dari biji durian dikupas sampai benar-benar putih, kemudian biji durian dipotong membentuk kotak-kotak kecil.

3.4.3 Hidrolisis Biji Durian dengan Asam Klorida (HCl)

Biji durian yang telah dipotong-potong ditimbang sebanyak 2,5 g lalu ditambahkan HCl 0 M sebanyak 20 ml kemudian dipanaskan selama 3 jam dengan suhu 70° C. lalu dipisahkan cake biji durian dengan larutannya secara dekantasi, setelah dipisah larutan dan cake dipindahkan kedalam botol sampel yang berbeda, kemudian masing-masing diukur kadar glukosanya.

Dilakukan hal yang sama dengan konsentrasi HCl 1, 2, 3, 4 M

3.4.4 Penentuan Kadar Glukosa

Penentuan kadar glukosa pereduksi dilakukan dengan menggunakan metode DNS.

3.4.4.1 Pembuatan Kurva Baku

Glukosa anhidrat ditimbang sebanyak 0,5 g kemudian dilarutkan dalam 100 ml air (5000 ppm) merupakan stok larutan glukosa. Kemudian larutan tersebut diencerkan masing-masing menjadi 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm, 800 ppm. Selanjutnya masing-masing dipipet sebanyak 2 ml, ditambah larutan DNS 2 ml, ditambah aquades 2 ml kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi selanjutnya di panaskan pada air mendidih selama 5 menit. Lalu diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 550 nm.

3.4.4.2 Penentuan Kadar Glukosa

Cake (direndam dalam 20 ml aquades) dan larutan hidrolisat hasil hidrolisis masing-masing diambil 1 ml, diencerkan dalam 50 ml kemudian dipipet 2 ml lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi selanjutnya ditambah larutan DNS 2 ml lalu ditambah aquades 2 ml dipanaskan dalam air mendidih selama 5 menit kemudian diukur absorbansinya pada 550 nm setelah itu dibandingkan dengan kurva baku.

3.4.5 Fermentasi Glukosa dengan *Saccharomyces cerevisiae*

Karbohidrat yang telah dihidrolisis menggunakan asam dan tanpa asam dibuat sebagai stok sirup glukosa dan cake glukosa. Stok tersebut diambil kemudian diencerkan menjadi 8000 ppm, dilakukan fermentasi dengan kultur murni *Saccaromyces cerevisiae* sebanyak 0,2 g ditambah KH_2PO_4 sebanyak 0,2 g, urea 0,2 g dilarutkan dalam 20 ml aquades kemudian diatur pH 2 dengan penambahan NaOH. Dilakukan hal yang sama untuk pH 4, 6, 8. Masing-masing dilakukan triplo. Lalu dilakukan fermentasi dengan keadaan anaerob dengan mengatur sedemikian sehingga agar tidak masuk udara. Fermentasi dilakukan pada suhu ruang dikocok menggunakan shaker selama 96 jam. Kemudian diukur kadar etanol yang dihasilkan.

3.4.6 Penentuan Kadar etanol

Kadar etanol hasil fermentasi dilakukan dengan menggunakan metode cawan conway [10, 28-29, 30], metode ini menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Metode cawan conway dilakukan sebagai berikut :

1. Pembuatan larutan

Larutan A : Natrium Karbonat (Na_2CO_3) jenuh

Larutan B : 0,37 g $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ dilarutkan dalam 15 ml aquades. Kemudian ditambahkan 28 ml H_2SO_4 pekat secara perlahan-lahan sambil diaduk perlahan menggunakan magnetic stirrer. Kemudian diencerkan dalam 50 ml

Larutan C : larutan stok alkohol dibuat dengan mengencerkan 1 ml etanol PA dengan aquades hingga 250 ml

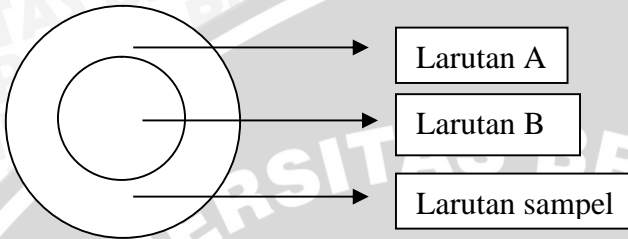
2. Pembuatan kurva baku etanol

- 2 ml larutan B + 1 ml aquades
- 2 ml larutan B + 0,2 ml larutan C + 0,8 ml aquades
- 2 ml larutan B + 0,4 ml larutan C + 0,6 ml aquades
- 2 ml larutan B + 0,6 ml larutan C + 0,4 ml aquades
- 2 ml larutan B + 0,8 ml larutan C + 0,2 ml aquades
- 2 ml larutan B + 1 ml larutan C

Diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 605 nm.

3. Pengukuran sampel

Sampel diencerkan terlebih dahulu, diambil 5 ml kemudian diencerkan menjadi 50 ml. Lalu 1 ml larutan sampel, 1 ml larutan B dan 2 ml larutan A ditempatkan pada cawan conway sebagai berikut :



Kemudian cawan conway ditutup rapat, lalu larutan A dan larutan sampel hasil fermentasi dicampur dengan memutar cawan conway secara perlahan. Cawan conway yang telah berisi larutan dibiarkan selama 2 jam kemudian pada bagian tengah larutan diambil kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 605 nm. Hasil yang diperoleh kemudian dibandingkan dengan kurva baku etanol.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Konsentrasi HCl Terhadap Kadar Glukosa

Pengaruh konsentrasi HCl terhadap kadar glukosa pada proses hidrolisis dapat ditentukan baik secara kualitatif maupun kuantitatif. Hidrolisis dilakukan untuk memperoleh monomer karbohidrat yaitu glukosa. Terhidrolisisnya karbohidrat umumnya terlihat dengan adanya perubahan warna pada larutan hasil hidrolisis, berikut tabel perubahan warna yang terjadi akibat perubahan konsentrasi HCl pada proses hidrolisis :

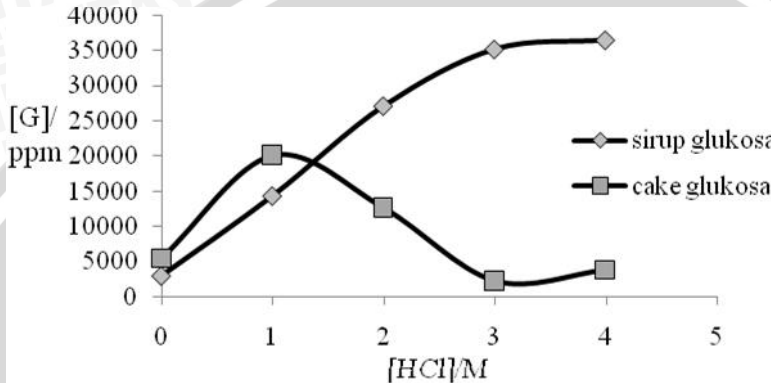
Tabel 4.2.1 Tabel perubahan warna larutan setelah 3 jam hidrolisis menggunakan HCl pada suhu 70°C

No	Konsentrasi larutan HCl (M)	Perubahan warna
1	0 (aquades)	Tidak berubah
2	1	Sedikit jingga
3	2	Jingga
4	3	Jingga kecoklatan
5	4	coklat

Kepekatan perubahan warna mengindikasikan banyaknya karbohidrat yang terhidrolisis menjadi glukosa. Ketika parameter suhu dan waktu ditingkatkan dimungkinkan perubahan warna masing-masing larutan akan lebih pekat disebabkan H^+ atau proton sebagai katalis pergerakannya akan semakin cepat, terhidrolisisnya karbohidrat pun akan semakin cepat sehingga perubahan warna akan menjadi semakin pekat. Secara kualitatif dapat terlihat bahwa perubahan konsentrasi HCl berpengaruh terhadap kadar glukosa hasil hidrolisis.

Kadar glukosa hasil hidrolisis diukur menggunakan metode DNS. DNS merupakan senyawa aromatis yang mampu bereaksi dengan gula reduksi yang akan membentuk asam 3-amino-5-nitrosalisilat yang menyerap kuat panjang gelombang 550 nm. Semakin tinggi nilai serapan maka gula pereduksi akan semakin

meningkat. Kadar glukosa dari sirup maupun cake glukosa dihitung berdasarkan persamaan garis dari kurva baku glukosa yaitu $y = 0,01x$. Berikut kurva kadar glukosa sirup dan cake glukosa :



Gambar 4.1 Kurva kadar glukosa dari sirup dan cake glukosa hasil hidrolisis oleh HCl

Pada Gambar 4.1 terlihat bahwa kadar glukosa pada larutan hidrolisis (sirup glukosa) meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi HCl. Hidrolisis menggunakan aquades kandungan glukosanya tidak terlalu tinggi yaitu sebesar 2950 ppm, dimungkinkan aquades pada suhu 70 °C dengan waktu 3 jam belum mampu menghidrolisis sempurna karbohidrat pada biji durian, hal ini berhubungan langsung dengan laju reaksi, laju reaksi hidrolisis dengan tanpa asam (aquades) lebih lambat dibandingkan dengan adanya asam. Suhu meningkat mampu meningkatkan kecepatan tumbukkan pada molekul sehingga reaksi hidrolisisnya akan semakin cepat, boleh jadi ketika suhu dan waktu hidrolisis ditingkatkan pada proses hidrolisis menggunakan aquades, akan meningkatkan kadar glukosa yang diperoleh, namun hal tersebut tidak efisien, selain membutuhkan waktu yang lebih lama energi yang digunakan untuk meningkatkan suhu pun akan semakin tinggi. Penambahan HCl sangat bermanfaat untuk mempercepat waktu dan mengurangi suhu hidrolisis. Kadar glukosa tertinggi dihasilkan pada hidrolisis dengan konsentrasi HCl 4 M sebesar 36400 ppm, pada konsentrasi HCl 3 M

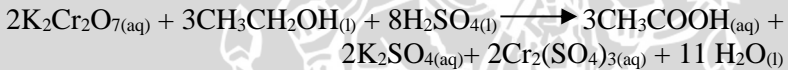
menuju 4 M peningkatan kadar glukosa tidak terlalu signifikan, terbukti dengan menggunakan perhitungan statistik uji beda nyata terkecil (BNT) (Lampiran 1.8), kadar glukosa akan meningkat sejalan dengan peningkatan konsentrasi larutan HCl namun pada saat 4 M konsentrasinya terlalu pekat, menyebabkan ion H^+ pada HCl akan mendegradasi glukosa lebih lanjut sehingga sebagian glukosa terhidrolisis menjadi turunan furfural dan tidak terbaca oleh spektrofotometer pada panjang gelombang 605 nm yang merupakan serapan panjang gelombang dari kromium(III)sulfat. Optimasi kadar glukosa sebaiknya dilakukan pada konsentrasi HCl 3 M untuk mengurangi kadar glukosa yang nantinya mampu terdegradasi lebih lanjut akibat tingginya konsentrasi HCl, pada larutan HCl 3 M pun kadar etanol yang dihasilkan perbedaannya tidak terlalu jauh dengan hidrolisis pada 4 M larutan HCl. Dari data yang diperoleh baik penentuan secara kualitatif maupun kuantitatif perubahan konsentrasi HCl terhadap kadar glukosa pada sirup glukosa hasil hidrolisis sangat berpengaruh yakni semakin tinggi konsentrasi HCl semakin tinggi kadar glukosa yang diperoleh.

Hasil hidrolisis pada cake glukosa dapat dikatakan sebagai sisa hidrolisis atau merupakan padatan biji durian yang belum terkonversi langsung menjadi sirup glukosa. Kadar glukosa yang diperoleh tidak berbanding lurus dengan peningkatan konsentrasi HCl namun terdapat titik optimum hidrolisis yaitu pada konsentrasi HCl 1 M dengan kadar glukosa 20100 ppm keadaan ini menunjukkan bahwa glukosa yang ada pada cake masih berada dalam padatnya atau belum larut menjadi sirup glukosa, untuk melarutkannya dibutuhkan waktu lebih lama lagi, jadi untuk 3 jam hidrolisis dengan 1 M HCl pada suhu 70 °C masih belum mampu membentuk sirup glukosa dengan kandungan glukosa yang lebih tinggi. Hidrolisis menggunakan aquades (0 M HCl) pada suhu 70 °C selama 3 jam diperoleh kadar glukosa pada cake glukosa sebesar 5500 ppm, lebih besar dibandingkan dengan kadar glukosa pada sirup glukosa yang sama-sama dihidrolisis menggunakan aquades. Cake maupun sirup glukosa dapat digunakan sebagai stok glukosa untuk fermentasi karena keduanya memiliki kadar glukosa yang mampu diubah menjadi etanol oleh mikroba dengan kondisi yang sesuai. Dengan diketahuinya kadar glukosa maksimum pada hasil hidrolisis maka dapat ditentukan berapapun konsentrasi yang dibutuhkan untuk

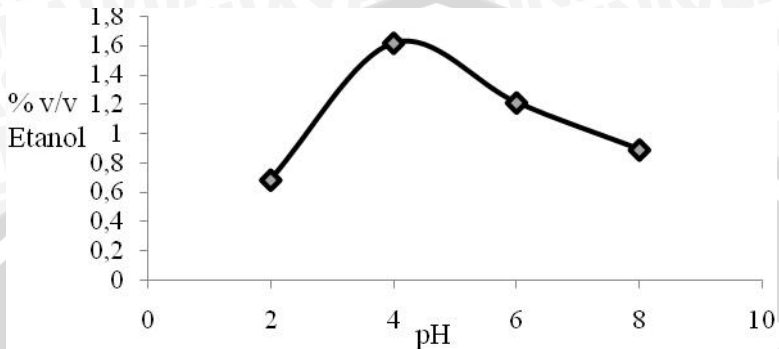
melakukan suatu fermentasi selama konsentrasi glukosa yang digunakan lebih kecil atau sama dengan batas maksimum kadar glukosa yang diperoleh, sehingga pengaturan jumlah biomassa atau mikroba menjadi lebih efisien.

4.2 Pengaruh pH Fermentasi Terhadap Kadar Etanol

Pengaruh pH Fermentasi terhadap kadar etanol yang diperoleh ditentukan secara kuantitatif dengan mengukur kadar etanol hasil fermentasi dengan menggunakan metode cawan conway. Metode tersebut menggunakan prinsip kolorimetri dan reaksi redoks. Pada larutan hasil hidrolisis dilakukan dengan penambahan larutan natrium karbonat jenuh (Na_2CO_3). Natrium karbonat jenuh akan membantu menguapkan atau melepaskan etanol pada larutan hasil fermentasi yang menguap disekitar dinding cawan conway, karena pada bagian tengah cawan conway telah terisi oleh larutan $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ dan larutan H_2SO_4 maka akan terjadi reaksi dengan uap etanol [30], reaksi yang terjadi adalah :



Dari hasil reaksi ini kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 605 nm yang merupakan panjang gelombang kromium(III)sulfat ($\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3$). Selanjutnya hasil pengukuran dibandingkan dengan kurva baku dengan persamaan garis $y = 5,275x + 0,045$. Dari hasil perhitungan diperoleh kurva kadar etanol terhadap perubahan pH fermentasi :



Gambar 4.2 Kurva kadar etanol terhadap perubahan pH fermentasi

Berdasarkan kurva pada Gambar 4.2 untuk waktu fermentasi 96 jam pH fermentasi tidak berpengaruh linear terhadap kadar etanol yang dihasilkan, pH optimum fermentasi terlihat pada pH 4 dengan kadar etanol sebesar 1,61 %. pada pH yang sedikit basa, mikroba masih mampu mengubah glukosa menjadi etanol namun dengan kadar yang lebih sedikit dibandingkan dengan kadar etanol yang diperoleh pada pH 4. Untuk keadaan asam, pada pH 2 kadar etanol yang mampu diubah sangat kecil dibandingkan pada perubahan glukosa pada pH 4, hal tersebut dikarenakan pada pH sangat asam akan menyebabkan kemampuan mikroba menurun dalam mengubah glukosa, diperkirakan mikroba mati dan tidak mampu mengubah glukosa lebih lanjut lagi. Keadaan yang terlalu asam dapat mendenaturasi protein-protein yang ada pada tubuh mikroba, enzim yang juga merupakan suatu protein akan terdenaturasi dan rusak, karena adanya pengaruh tersebut maka jalur Embden-Mayerhof-Parnas (EMP) yang setiap tahapannya dikatalisis oleh enzim akan terhambat, sehingga etanol tidak dapat terbentuk.

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Perolehan kadar glukosa di pengaruhi oleh konsentrasi HCl yang digunakan pada saat hidrolisis, pada hidrolisis 2,5 g biji durian dengan suhu 70 °C dan waktu 3 jam, kadar glukosa pada sirup glukosa semakin meningkat dengan meningkatkannya konsentrasi HCl dan dihasilkan kadar glukosa tertinggi pada hidrolisis 4 M HCl sebesar 36400 ppm, namun pada cake glukosa kadar glukosa tidak berbanding lurus dengan peningkatan konsentrasi HCl, terdapat titik optimum hidrolisis yaitu pada 1 M HCl dengan kadar glukosa sebesar 20100 ppm. Selama 96 jam fermentasi dengan menggunakan substrat glukosa sebesar 8000 ppm (0,8% b/v), pH fermentasi juga tidak berbanding lurus terhadap perolehan kadar etanol, namun terdapat titik optimum pH fermentasi yaitu pada pH 4 dengan kadar etanol sebesar 1,61% (v/v).

5.2 Saran

Sebaiknya dilakukan lagi penelitian dengan menggunakan variasi suhu hidrolisis untuk mendapatkan suhu optimal hidrolisis. Jika dilihat dari kadar glukosa yang dihasilkan pada penelitian ini, biji durian sangat potensial sebagai bahan baku bioetanol, yang perlu dilakukan adalah pematangan kembali pada proses fermentasi, baik waktu dan suhu fermentasi serta menggunakan variasi mikroba pada proses fermentasi.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Budi, M., Sasongko, 2007, **Prospek Pengembangan Ubi Kayu sebagai Bahan Baku Bioetanol Daerah Istimewa Yogyakarta**, <http://distan.pemda-diy.go.id/index.php?option=content&task=view&id=269&Itemid=2> diakses tanggal 3 September 2012
- [2] Joelianto, E., Dananjaya, A., 2008, **Perancangan dan Analisis Sistem Otomasi pada Proses Produksi Bioetanol Menggunakan Jala Petri Sinyal Terinterpretasi (JPST)**, Gematek Jurnal Teknik Komputer, Volume 10 No.1, Maret 2008
- [3] Ardian, N.D., Endah, R.D., Sperisa, D., 2007, **Pengaruh Kondisi Fermentasi terhadap Yield Etanol pada Pembuatan Bioetanol dari Pati Garut**, *Journal*, Gema Teknik-No.2/Tahun X, Juli 2007
- [4] Nurfiana,F.,Umi, M., Vicki, C.J., Putra, S., 2009, **Pembuatan Bioethanol dari Biji Durian sebagai Energi Alternatif**, *Artikel*, Seminar Nasional V, SDM Teknologi Nuklir Yogyakarta, ISSN 1978-0176, November 2009
- [5] I Nyoman,Winjaya,Putra, I Gusti,Bagus,Wijaya, I Nyoman, Suprpta, Winaya, 2011, **Proses Treatment dengan Menggunakan NaOCl dan H₂SO₄ untuk Mempercepat Pembuatan Etanol dari Limbah Rumpuk Laut Eucheuma Cottonii**, *jurnal imiah*, vol. 3 No. 1. Hal. 64-68, April 2011
- [6] Suyandra, Dharma, Isra, 2007, **Pemanfaatan Hidrolisat Pati Sagu (*Metroxylon*, sp) sebagai Sumber Karbon pada Fermentasi Etanol oleh *Saccharomyces cerevisiae***, *Skripsi*, Fakultas Teknologi Pertanian, IPB
- [7] Santoso, J.P., 2012, **1001 Manfaat Durian untuk Kesehatan**, <http://balitbu.litbang.deptan.go.id/ind/index.php/berita-mainmenu-26113-info-aktual/339-1001-manfaat-durian-untuk-kesehatan> diakses tanggal 3 September 2012

- [8] Baurekso, 2011, **Durian**, <http://distan.pemda-diy.go.id/distan11/index.php?option=com-content&view=article&id=8008=durian&catid=6=produk-unggulan> diakses tanggal 3 september 2012
- [9] Santoso, J.P., 2012, **Lai, Durian Berwarna Daging Atraktif**, <http://balitbu.litbang.deptan.go.id/ind/index.php/berita-mainmenu-26/13-info-aktual-345-lai> diakses tanggal 3 september 2012
- [10] Yuniarsih, Nur, Fitria, 2009, **Pembuatan Bioetanol dari Dextrin dan Sirup Glukosa Sagu (*Metroxilon,sp*) Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus*, *skripsi***, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor
- [11] Macarie, Amalia, Corina, *et al*, 2011, **Comparative Study on Microorganism Used for the Bioethanol Production**, *Scientific Research*, vol.2 : 224-229
- [12] Khamdiyah, Nur, 2010, **Pembuatan Etanol dari Alga Merah Jenis *Eucheuma spinosum* dengan Sakarifikasi dan Tanpa Sakarifikasi pada Variasi Lama Fermentasi**, *skripsi*, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Malang
- [13] Sukairi, Mohd, B.M.H., 2008, **Bath Ethanol Fermentation Using Glucose Desired from Tapioca Flour Starch by *Saccharomyces cerevisiae*: Effect of Inoculum Age and Speed Agnitation**, *thesis*, Faculty of Chemical and Natural Resources Engineering, Universiti Malaysia Pahang
- [14] Murni, Yuniwati, Dian, Ismiyati, Reny, Kurniasih, 2011, **Kinetika Reaksi Hidrolisispati Pisang Tanduk dengan Katalisator Asam Chlorida**, *jurnal teknologi*, vol.4. No. 2, hal. 107-112, desember 2011
- [15] Kusmiyati, Wildan, Maulana, 2011, **Perbandingan Umbi Iles-iles (*Amorphophallus muelleri* blume) dan Jagung (*Zea***

mays) sebagai Bahan Baku Bioetanol dengan Proses Hidrolisis Enzim dan Fermentasi Menggunakan *Zymomonas mobilis*, *Journal*, Simposium Nasional RAPI X FT UMS

- [16] Samsuri, M, 2007, **Pemanfaatan Selulosa Bagas untuk Produksi Ethanol Melalui Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak dengan Enzim Xylanase**, *Journal*, Makara Teknologi Vol.11 No.1: 17-24, April 2007
- [17] Diah,Suci,Perwitasari, 2009, **Pembuatan Glukosa Cair dari Bahan Baku Rebung(Production of Liquid Glucose from Bamboo Shoots)**, *jurnal kimia dan teknologi*, ISSN 0216 – 163 X
- [18] Hendro, Subekti, 2006, **Produksi dari Hidrolisat Fraksi Selulosa Tongkol Jagung oleh *Saccharomyces Cerevisiae***, *skripsi*, fakultas teknologi pertanian, IPB
- [19] Prof. Dr.L.Broto. s., Kardono,2010, **Teknologi Pembuatan Etanol Berbasis Lignoselulosa Tumbuhan Tropis untuk Produksi Biogasoline**, *laporan akhir*, LIPI
- [20] Afrianti, H.L., 2004, **Fermentasi**, <http://forumsains.com/index.php?cat=650:PHPSESSID=ao576o5ofmpbte9atll2e8san4>, diakses tanggal 5 September 2012
- [21] Nurfajarwati, Wita, 2006, **Produksi -Glukan dari *Saccharomyces cerevisiae* dengan Variasi Sumber Nitrogen**, *skripsi*, FMIPA, Institut Pertanian Bogor
- [22] Prescott, L.M., 2005, *Microbiology*, Edisi ke-6, Mc. Graw Hill, New York
- [23] Didu, Nurhidayah, 2010, **Produksi Bioetanol dari Sirup Glukosa Ubi Jalar (*Ipomomea batatas L*) secara Fed Batch dengan Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae***, *Tesis*, ITB
- [24] Sebayagg, Firman, 2006, **Pembuatan Etanol dari Molase secara Fermentasi Menggunakan sel *Saccharomyces***

cerevisiae yang Terimobilisasi pada Kalsium Alginat, *Jurnal Teknologi Proses*, vol. 5 No. 2 hal 68-74, Juli 2006

- [25] Camelia, B., Cristiana, T., Gabriela B., 2010, **Yeasts Isolation and Selection for Bioethanol Production from Inulin Hidrolysates**, *Research Article*, Innovative Romanian Food Biotechnology, Vol.6, Februari 2010
- [26] Parmijit S panesar, Satwinder S marwaha, john F kennedy, 2007, **comparison of ethanol and temperature tolerance of zymomonas mobilis strain in glucose and molasses medium**, *indian journal of technology*, pp. 74-77, januari 2007
- [27] Eleveri, A.P., dan Surya R.P., 2006, **Produksi Etanol Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* yang Diamobilisasi dengan Agar Batang**, *Journal*, Akta kimindo, vol.1 No.2 p:105-114, April 2006
- [28] Pinata, Dian, 2012, **Uji Kualitatif Etanol yang Diproduksi secara Enzimatis Menggunakan *Z. mobilis* Permeabel**, *skripsi*, ITS
- [29] Agung, N.H.P, Sherviena, A.A., 2010, **Proses Pengambilan Kembali Bioetanol Hasil Fermentasi dengan Metode Adsorpsi Hidrofobik**, *skripsi*, Teknik Kimia, Universitas Diponegoro
- [30] Dhani, 2010, **Produksi Cider Teh dari Daun Melinjo dengan Kandungan Resveratrol**, *skripsi*, Fakultas Teknobiologi, Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya Jakarta
- [31] Parmadi, Wakitya, Jati, 2006, **Pengaruh Waktu Hidrolisis Dan Konsentrasi HCl Terhadap Nilai Dextrose Equivalent (DE) dan Karakterisasi Mutu Pati Termodifikasi dari Pati Tapioka dengan Metode Hidrolisis Asam**, *skripsi*, Fakultas Teknologi Pertanian, IPB

LAMPIRAN

Lampiran 1. Data pada Proses Hidrolisis

1.1 Pengenceran HCl dari 12 M HCl

- menjadi 1 M HCl sebanyak 100 ml

$$M1.V1=M2.V2$$

$$12 \text{ M}.V1 = 1 \text{ M}. 100 \text{ ml}$$

$$V1 = 8,3 \text{ ml}$$

- menjadi 2 M HCl sebanyak 100 ml

$$M1.V1=M2.V2$$

$$12 \text{ M}.V1 = 2 \text{ M}. 100 \text{ ml}$$

$$V1 = 16,6 \text{ ml}$$

- menjadi 3 M HCl sebanyak 100 ml

$$M1.V1=M2.V2$$

$$12 \text{ M}.V1 = 3 \text{ M}. 100 \text{ ml}$$

$$V1 = 25 \text{ ml}$$

- menjadi 4 M HCl sebanyak 100 ml

$$M1.V1=M2.V2$$

$$12 \text{ M}.V1 = 4 \text{ M}. 100 \text{ ml}$$

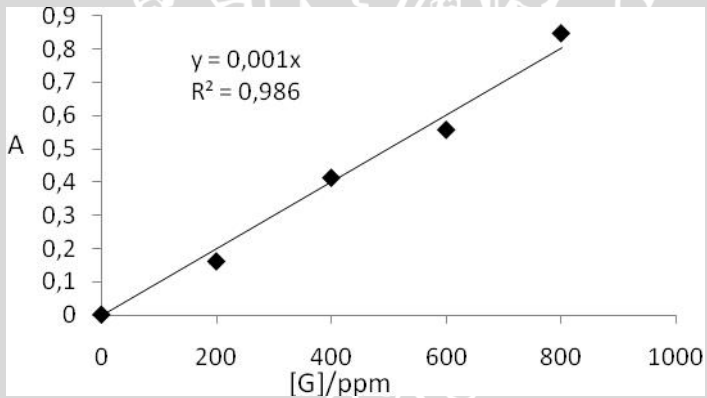
$$V1 = 33,3 \text{ ml}$$



1.2 Data Absorbansi Glukosa Standar Metode DNS

konsentrasi glukosa (ppm)	Absorbansi
0	0
200	0,16
400	0,411
600	0,555
800	0,845

1.3. Kurva Baku Glukosa dengan Metode DNS



1.4 Tabel Absorbansi Glukosa pada Sirup Glukosa

Hidrolisis menggunakan	Absorbansi
Aquades	0,059
HCl 1 M	0,286
HCl 2 M	0,541
HCl 3 M	0,702
HCl 4 M	0,728

1.5 Tabel Absorbansi Glukosa pada Cake Glukosa

Hidrolisis menggunakan	Absorbansi
Aquades	0,11
HCl 1 M	0,402
HCl 2 M	0,253
HCl 3 M	0,046
HCl 4 M	0,077

1.6 Perhitungan Kadar Glukosa Tereduksi

-Sirup glukosa

1. Aquades

$$Y = 0,001x \quad x = Y/0,001$$

$$x = 0,059/0,001 = 59 \text{ ppm}$$

$$M1.V1 = M2.V2$$

$$M1 \times 1 \text{ ml} = 59 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml}$$

$$M1 = 2950 \text{ ppm}$$

2. HCl 1 N

$$Y = 0,001x$$

$$x = Y/0,001$$

$$x = 0,286/0,001 = 286 \text{ ppm}$$

$$M1.V1 = M2.V2$$

$$M1 \times 1 \text{ ml} = 286 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml}$$

$$M1 = 14300 \text{ ppm}$$

3. HCl 2 N

$$Y = 0,001x$$

$$x = Y/0,001$$

$$x = 0,541/0,001 = 541 \text{ ppm}$$

$$M1.V1 = M2.V2$$

$$M1 \times 1 \text{ ml} = 541 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml}$$

$$M1 = 27050 \text{ ppm}$$

4. HCl 3 N

$$Y = 0,001x$$

$$x = Y/0,001$$

$$x = 0,702/0,001 = 702 \text{ ppm}$$

$$M1.V1 = M2.V2$$

$$M1 \times 1 \text{ ml} = 702 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml}$$

$$M1 = 35100 \text{ ppm}$$

5. HCl 4 N

$$Y = 0,001x$$

$$x = Y/0,001$$

$$x = 0,728/0,001 = 728 \text{ ppm}$$

$$M1.V1 = M2.V2$$

$$M1 \times 1 \text{ ml} = 728 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml}$$

$$M1 = 36400 \text{ ppm}$$

- Cake

$$x = 0,253/0,001 = 253 \text{ ppm}$$

1. Aquades

$$Y = 0,001x$$

$$x = Y/0,001$$

$$x = 0,110/0,001 = 110 \text{ ppm}$$

$$M1.V1 = M2.V2$$

$$M1 \times 1 \text{ ml} = 253 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml}$$

$$M1 = 12650 \text{ ppm}$$

$$M1.V1 = M2.V2$$

$$M1 \times 1 \text{ ml} = 110 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml}$$

$$M1 = 5500 \text{ ppm}$$

4. HCl 3 N

$$Y = 0,001x$$

$$x = Y/0,001$$

$$x = 0,046/0,001 = 46 \text{ ppm}$$

2. HCl 1 N

$$Y = 0,001x$$

$$x = Y/0,001$$

$$x = 0,402/0,001 = 402 \text{ ppm}$$

$$M1.V1 = M2.V2$$

$$M1 \times 1 \text{ ml} = 46 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml}$$

$$M1 = 2300 \text{ ppm}$$

$$M1.V1 = M2.V2$$

$$M1 \times 1 \text{ ml} = 402 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml}$$

$$M1 = 20100 \text{ ppm}$$

5. HCl 4 N

$$Y = 0,001x$$

$$x = Y/0,001$$

$$x = 0,077/0,001 = 77 \text{ ppm}$$

3. HCl 2 N

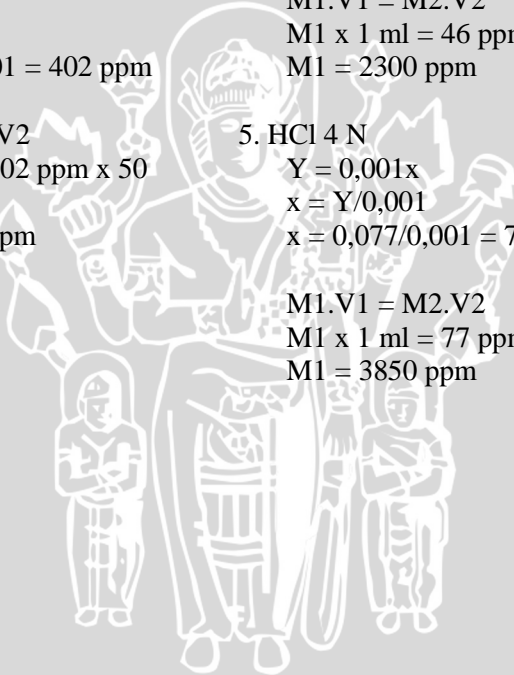
$$Y = 0,001x$$

$$x = Y/0,001$$

$$M1.V1 = M2.V2$$

$$M1 \times 1 \text{ ml} = 77 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml}$$

$$M1 = 3850 \text{ ppm}$$



1.7 Kadar Glukosa pada 2,5 Gram Biji Durian

Hidrolisat cair (sirup glukosa) :

Hidrolisis menggunakan	Kadar glukosa (ppm)
Aquades	2950
HCl 1 M	14300
HCl 2 M	27050
HCl 3 M	35100
HCl 4 M	36400

Cake :

Hidrolisis menggunakan	Kadar glukosa (ppm)
Aquades	5500
HCl 1 M	20100
HCl 2 M	12650
HCl 3 M	2300
HCl 4 M	3850

1.8 Perhitungan Statistik Uji Beda Terkecil Dari Data Hasil Hidrolisis

Untuk sirup glukosa dikatakan berubahannya signifikan jika 30% dari perubahan kadar glukosa / kadar glukosa terbesar

Konsentrasi HCl/M	kadar glukosa /ppm	konsentrasi HCl/M				
		0	1	2	3	4
		kadar glukosa/ppm				
		2950	14300	27050	35100	36400
	0	2950				
	1	14300	11350			
	2	27050	24100	12750		
	3	35100	32150	20800	8050	
	4	36400	33450	22100	9350	<u>1300</u>

Keterangan : angka tebal = beda nyata

Untuk cake glukosa :

konsentrasi HCl/M	kadar glukosa /ppm	konsentrasi HCl/M				
		3	4	0	2	1
		kadar glukosa/ppm				
		2300	3850	5500	12650	20100
	3	2300				
	4	3850	<u>1550</u>			
	0	5500	3200	1650		
	2	12650	10350	8800	7150	
	1	20100	17800	16250	14600	7450

Keterangan : angka tebal = beda nyata

Kadar glukosa optimum pada hidrolisis 1 M HCl

Lampiran 2. Data pada Proses Fermentasi

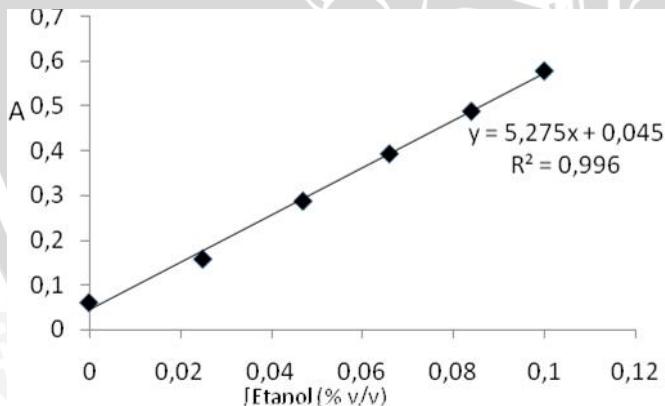
2.1 Perhitungan Kadar Etanol Menggunakan Metode Cawan Conway:

Tabel serapan pada 605 nm pada konsentrasi baku alkohol:

Konsentrasi etanol (% v/v)	Absorbansi
0	0,0615
0,025	0,1588
0,047	0,2882
0,066	0,394
0,084	0,4889
0,1	0,5791

Keterangan : glukosa yang digunakan sebanyak 0,8% (b/v) atau 8000 ppm

2.2 Kurva Baku Etanol



2.3 Perhitungan Kadar Etanol

1. Untuk pH 2

pengulangan	Absorbansi	Konsentrasi Etanol (% v/v)
1	0,0876	0,400
2	0,1187	0,695
3	0,1464	0,960
	Rata-rata	0,685

Dengan perhitungan :

1. $x = (0,0875 - 0,045) / 5,275$

$x = 0,00875 \%$

konsentrasi sampel : $0,00875 \times 50 = 0,40 \%$

2. $x = (0,1187 - 0,045) / 5,275$

$x = 0,0139 \%$

konsentrasi sampel : $0,0139 \times 50 = 0,695 \%$

3. $x = (0,1464 - 0,045) / 5,275$

$x = 0,0192 \%$

konsentrasi sampel : $0,0192 \times 50 = 0,96 \%$

dengan menggunakan perhitungan rata-rata diperoleh kadar etanol sebesar : $0,68 \%$

2. Untuk pH 4

Pengulangan	Absorbansi	Kadar etanol (% v/v)
1	0,2151	1,61
2	0,2426	1,87
3	0,1897	1,70
	Rata-rata	1,61

1. Untuk pH 6

Pengulangan	Absorbansi	Kadar etanol (% v/v)
1	0,1422	0,92
2	0,1652	1,385
3	0,1870	1,345
	Rata-rata	1,21

2. Untuk pH 8

pengulangan	Absorbansi	Kadar etanol (% v/v)
1	0,149	0,98
2	0,132	0,82
3	0,1385	0,88
	Rata-rata	0,89

Keterangan : perhitungan untuk kondisi fermentasi pH 4,6 dan 8 untuk menentukan kadar etanol sama dengan perhitungan pada pH 2

2.4 Kadar Etanol Rata-Rata

pH	kadar etanol %v/v
2	0,68
4	1,61
6	1,21
8	0,89

2.5 Uji BNT (Beda Nyata Terkecil) pada Data Kadar Etanol

pH	kadar etanol % v/v			total
	pengulangan 1	pengulangan 2	Pengulangan 3	
2	0,40	0,69	0,96	2,05
4	1,61	1,87	1,37	4,85
6	0,92	0,13	1,34	2,38
8	0,98	0,82	0,88	2,68
total	3,91	3,51	4,55	11,97

Uji F untuk mengetahui pengaruh dari perubahan pH terhadap kadar etanol yang diperoleh :

Jika $F_H > F_{tabel}$ maka H_0 ditolak (perubahan pH berpengaruh terhadap kadar etanol hasil fermentasi)

Jika $F_H < F_{tabel}$ maka H_0 diterima (perubahan pH tidak berpengaruh terhadap kadar etanol hasil fermentasi)

Perhitungan :

$$FK = \frac{(\sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^n y_{ij})^2}{n \cdot p}$$

$$FK = \frac{143,2809}{4 \times 3} = 11,94$$

$$JKT = \sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^n (y_{ij})^2 - FK$$

$$JKT = 16,4772 - 11,94 = 4,5322$$

$$JKP = \left[\frac{\sum_{i=1}^p (\sum_{j=1}^n y_{ij})^2}{n} \right] - FK$$

$$JKP = 48,157/3 = 16,052 - 11,94 = 4,1122$$

$$JKG = JKT - JKP$$

$$JKG = 4,5322 - 4,1122 = 0,42$$

$$DBT = 4 \times 3 = 12 - 1 = 11$$

$$DBP = 4 - 1 = 3$$

$$DBG = 11 - 3 = 8$$

$KTP = JKP/DBP = 4,1122/3 = 1,3707$
 $KTG = JKG/DBG = 0,42/8 = 0,052$
 $FHP = KTP/KTG = 1,3707/0,052 = 26,359$
 $FHP > FTABEL$

Ho ditolak artinya perubahan pH sangat berpengaruh terhadap kadar etanol yang dihasilkan pada proses fermentasi.

$$KK = (0,053)^{0,5}/1,01 \times 100\% = 22,7\%$$

Uji beda nyata terkecil :

		pH			
		2	8	6	4
kadar etanol		kadar etanol % v/v			
pH	% v/v	0,68	0,89	1,21	1,61
2	0,68				
8	0,89	0,21 ^{ns}			
6	1,21	0,53*	0,32 ^{ns}		
4	1,61	0,93**	0,72*	0,4 ^{ns}	

Keterangan : angka tebal = beda nyata

*=signifikan

**=sangat signifikan

ns= tidak signifikan

$$Sd = [2 \times KTG/n]^{0,5} = [2 \times 0,053/3]^{0,5} = 0,187$$

$$BNT(8,5\%) = 0,187 \times 2,306 = 0,431$$

$$BNT(8,1\%) = 0,187 \times 3,355 = 0,6273$$

Lampiran 3. Dokumentasi

3.1 Proses Hidrolisis



Biji durian setelah dikupas



setelah hidrolisis berbagai konsentrasi HCl selama 3 jam suhu 70 °C



Biji durian setelah dipotong kecil-kecil



Sirup glukosa hasil hidrolisis beda konsentrasi HCl (dari kiri-kekanan, konsentrasi HCl meningkat)



Biji durian sebelum proses hidrolisis

3.2 Pemiakan *Saccharomyces cerevisiae*



S.cerevisiae pada media padat setelah 20 jam peremajaan



S.cerevisiae dipisahkan dari media cair menggunakan sentrifuge 6000 rpm selama 5 menit



S.cerevisiae pada media cair selama 20 jam

3.3 Fermentasi dan pengukuran kadar etanol



Sirup glukosa 8000 ppm setelah diencerkan dari stok glukosa hasil hidrolisis



Persiapan fermentasi setelah pengaturan pH



Setelah fermentasi selama 96 jam



persiapan kurva baku etanol



Pengukuran kadar etanol dengan Metode cawan conway

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

