



**OPTIMASI SINTESIS BIOETANOL DARI BIJI  
DURIAN MENGGUNAKAN *SACCHAROMYCES  
CEREVISIAE* PADA PROSES FERMENTASI**

Skripsi

disajikan sebagai salah satu syarat  
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains  
Program Studi Fisika

oleh  
Saraswati Putri Budiyanto  
4211415036

**JURUSAN FISIKA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG**

**2020**

## PERSETUJUAN PEMBIMBING

Skripsi dengan judul “Optimasi Sintesis Bioetanol dari Biji Durian Menggunakan *Saccharomyces Cerevisiae* pada Proses Fermentasi” telah disetujui oleh pembimbing untuk diujikan dalam sidang panitia ujian skripsi Jurusan Fisika Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.

Hari :

Tanggal :

Semarang,

2020



Dr. Masturi, S.Pd., M.Si.

NIP. 198103072006041002

## PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa skripsi ini bebas plagiat, dan apabila di kemudian hari terbukti terdapat plagiat dalam skripsi ini, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan peraturan perundang-undangan.

Semarang,

2020



Saraswati Putri Budiyanito

4211415036

## PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul “**Optimasi Sintesis Bioetanol dari Biji Durian Menggunakan *Saccharomyces Cerevisiae* pada Proses Fermentasi**”

disusun oleh:

Saraswati Putri Budiyanto

4211415036

Panitia:



Ketua  
Dr. Sugianto, M.Si.

NIP. 196102191993031001

Sekretaris

Dr. Suharto Linuwih, M.Si.

NIP. 196807141916031005

Penguji I

Dra. Pratiwi Dwijananti, M.Si.

NIP. 196203011989012001

Penguji II

Dr. Ir. Rahmat Doni Widodo, ST, MT, IPP.

NIP. 197509272006041002

Anggota Penguji/Pembimbing

Dr. Masturi, M.Si.

NIP. 198103072006041002

## **MOTO**

Dia Semua yang di bumi itu akan binasa. Dan tetap kekal Dzat Tuhanmu yang memiliki kebesaran dan kemuliaan. Maka nikmat Tuhan kamu yang manakah yang kamu dustakan?

(QS. Ar-Rahman 55 :26-28)

## **PERSEMBAHAN**

Saya persembahkan karya ini untuk, Ayahanda Dwi Agung Budiyanto dan Ibunda Indri Ariyani. Serta seluruh keluarga besar, teman dan kerabat yang selalu memberikan semangat dan mendukung keberhasilan skripsi saya.

## PRAKATA

Puji syukur kepada Allah SWT yang telah menganugerahkan nikmat yang luar biasa kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan penelitian dan menyusun skripsi dengan judul **“Optimasi Sintesis Bioetanol dari Biji Durian Menggunakan *Saccharomyces Cerevisiae* pada Proses Fermentasi”**, sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sebagai sarjana jurusan Fisika, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang.

Keberhasilan dalam penulisan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan dan bimbingan berbagai pihak. Oleh karena itu penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. Prof. Dr. Fathur Rokhman, M.Hum, Rektor Universitas Negeri Semarang,
2. Dr. Sugianto, M.Si., Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
3. Dr. Suharto Linuwih, M.Si., Ketua Jurusan Fisika,
4. Dr. Mahardika Prasetya Aji, M.Si., Ketua Program Studi Fisika atas fasilitas yang disediakan bagi mahasiswa.
5. Dr. Masturi, S.Pd, M.Si. selaku Pembimbing yang telah membimbing saya dengan penuh perhatian dan kesabaran, meluangkan waktu, dan memberikan masukan serta motivasi selama penyusunan skripsi.
6. Dra. Pratiwi Dwijananti, M.Si., dan Dr. Ir. Rahmat Doni Widodo, ST, MT. IPP., selaku Penguji 1 dan Penguji 2.
7. Bapak Rodhotul Muttaqin yang telah memberikan bantuan dalam penggunaan fasilitas Laboratorium Fisika
8. Keluarga besar saya terutama kedua orang tua yang tidak pernah lelah memberikan semangat, dukungan, dan motivasi serta adik-adik saya yang selalu memberi tambahan semangat kepada saya dengan kebahagiaan mereka.

## ABSTRAK

**Budiyanto, Saraswati Putri.** 2020. *Optimasi Sintesis Bioetanol dari Biji Durian Menggunakan Saccharomyces Cerevisiae pada Proses Fermentasi*. Skripsi, Jurusan Fisika Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang. Pembimbing Dr. Masturi, S.Pd., M.Si.

**Kata kunci :** biji durian, bioetanol, fermentasi, dan *Saccharomyces Cerevisiae*.

Bioetanol ( $C_2H_5OH$ ) adalah cairan biokimia dari proses fermentasi gula dari sumber karbohidrat menggunakan bantuan mikroorganisme yang dapat digunakan sebagai bahan alternatif untuk bahan bakar fosil. Bioetanol dapat diperoleh dengan konversi mikroba karbohidrat yang berasal dari bahan baku biomassa seperti residu agro-industri. Bahan yang dapat menjadi bahan baku utama pembuat bioetanol diantaranya adalah sukrosa, tepung, selulosa berserat (lignoselulosa). Biji buah durian memiliki kandungan pati yang cukup tinggi karena memiliki kandungan karbohidrat yang paling tinggi sehingga dapat diolah dan dimanfaatkan dengan baik, salah satunya adalah diolah menjadi bioetanol.

Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan bioetanol dari sampah buah berupa biji durian yang melimpah di lingkungan yang mengandung glukosa untuk memberikan salah satu alternatif bahan bakar yang diproses melalui beberapa tahap penting yaitu hidrolisis, fermentasi dengan jamur *Saccharomices cerevisiae* yang mampu hidup pada lingkungan aerob atau anaerob dan tahap terakhir adalah distilasi. Variasi penelitian dilakukan pada proses fermentasi yaitu dengan beda waktu fermentasi selama 1, 3, 5, 7, 9, dan 11 hari.

Pengujian dilakukan dengan metode Kromatografi Gas mengetahui kadar etanol hasil akhir fermentasi. Berdasarkan hasil pengujian tersebut diperoleh kadar bioetanol tertinggi yaitu sebesar 14,45% (v/v) pada lama waktu fermentasi 4 hari. Dapat diketahui bahwa dari 100 gram tepung biji durian dapat menghasilkan 6,182 ml etanol.

## DAFTAR ISI

Halaman

<b>PERSETUJUAN PEMBIMBING .....</b>	<b>ii</b>
<b>PERNYATAAN.....</b>	<b>iii</b>
<b>PENGESAHAN .....</b>	<b>iv</b>
<b>MOTO .....</b>	<b>v</b>
<b>PRAKATA .....</b>	<b>vi</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>vii</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xi</b>
<b>BAB I.....</b>	<b>1</b>
<b>PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.5 Batasan Masalah.....	4
1.6 Sistematika Penulisan Skripsi .....	5
<b>BAB 2 .....</b>	<b>6</b>
<b>TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>6</b>
2.1 Buah Durian (Durio Zibethinus) .....	6
2.2 Biji Buah Durian .....	9
2.3 Pati.....	10
2.4 Bioetanol .....	12



2.5	Hidrolisis .....	17
2.6	Fermentasi .....	19
2.7	Kromatografi Gas .....	21
2.8	<i>Fourier Transform Infra Red</i> (FTIR) .....	23
2.9	<i>Scanning Electron Microscopy</i> (SEM) .....	24
<b>BAB 3</b>	.....	<b>26</b>
<b>METODE PENELITIAN</b>	.....	<b>26</b>
3.1	Diagram Alir Penelitian .....	26
3.2	Tahap Pembuatan Sampel.....	28
3.3	Tahap Pengujian dan Karakterisasi .....	30
<b>BAB 4</b>	.....	<b>32</b>
<b>HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	.....	<b>32</b>
4.1	Glukosa Hasil Hidrolisis .....	32
4.2	Etanol Hasil Fermentasi dan Distilasi .....	41
<b>BAB 5</b>	.....	<b>51</b>
<b>SIMPULAN DAN SARAN</b>	.....	<b>51</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA</b>	.....	<b>52</b>
<b>LAMPIRAN</b>	.....	<b>65</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 2.1 Buah Durian	6
Gambar 2.2 Biji Buah Durian	9
Gambar 2.3 Skema kromatografi gas	22
Gambar 2.4 Interferometer dalam FTIR	23
Gambar 3.1 Diagram Alir Penelitian	26
Gambar 4.1 Grafik Kurva kalibrasi konsentrasi larutan hasil hidrolisis biji durian	35
Gambar 4.2 Perbandingan spektral FTIR tepung durian dan hasil hidrolisis	36
Gambar 4.3 Perbandingan mikrograf SEM	38
Gambar 4.4 Perbandingan inokulum	40
Gambar 4.5 Tahap distilasi	42
Gambar 4.6 Kromatogram etanol dengan standar internal n-propanol	45
Gambar 4.7 Grafik kurva hubungan antara kadar etanol (%v/v) dengan rasio area etanol/n-Propanol	46
Gambar 4.8 Grafik hubungan kadar etanol dengan lama waktu fermentasi	48

## DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
Tabel 2.1	Kandungan gizi buah durian per 100 gram bahan	8
Tabel 2.2	Kandungan nutrisi biji durian	10
Tabel 2.3	Sifat-sifat fisika etanol anhydrous	12
Tabel 2.4	Titik beku campuran etanol dan air	13
Tabel 4.2	Perbandingan kandungan karbohidrat dan gula	33
Tabel 4.2	Kadar etanol sampel	47

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
1	Perhitungan kadar etanol hasil fermentasi	66
2	Perhitungan kadar Etanol dari hasil Uji GC	65
3	Dokumentasi penelitian	67
4	Perhitungan ukuran rata – rata diameter partikel	72
5	Perhitungan nilai teoritis pendekatan kadar etanol terhadap lama waktu fermentasi	73

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Cadangan minyak bumi dan bahan bakar cair adalah sumber energi yang ketersediaannya terbatas namun memiliki tingkat ketergantungan yang tinggi (EIA, 2017). Pemanfaatan bahan bakar berbasis fosil ini sebagai sumber energi transportasi harus berkontribusi terhadap emisi karbon dioksida (CO<sub>2</sub>) dan gas rumah kaca lainnya (Fan *et al.*, 2018). Faktor-faktor ini merangsang eksploitasi sumber energi terbarukan alternatif seperti biomassa (Sanders J. *et al.*, 2007). Salah satu penyelesaian masalah secara bertahap untuk mengurangi konsumsi bahan bakar adalah dengan menggunakan energi alternatif seperti bioetanol (Melikoglu, 2019).

Bioetanol menunjukkan beberapa keunggulan dibandingkan bahan bakar fosil konvensional yang meliputi sifatnya yang terbarukan dan berkelanjutan, kemudahan penyimpanan, kandungan oksigen yang lebih tinggi dan angka oktan yang lebih tinggi (Putra *et al.*, 2015). Salah satu solusi inovatif adalah memproduksi bioetanol dari limbah makanan (Melikoglu, 2019). Produksi bioetanol dari bahan baku berbasis gula pada pati dapat digunakan sebagai energi pengganti yang baik untuk transportasi yang berasal dari minyak bumi karena emisi polutannya lebih rendah dibandingkan dengan bioetanol berbasis gandum (Dutta *et al.*, 2014).

Bioetanol (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH) adalah cairan biokimia dari proses fermentasi gula dari sumber karbohidrat menggunakan bantuan mikroorganisme yang dapat digunakan sebagai bahan alternatif untuk bahan bakar fosil (Maryam *et al.*, 2016). Etanol atau etil hidrat biasanya ditulis menjadi EtOH merupakan alkohol rantai tunggal yang memiliki rumus kimia C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH (Gnansounou & Dauriat, 2005).

Produksi bioetanol generasi pertama memiliki beberapa keunggulan seperti rendahnya biaya produksi, stok pakan yang umum, dan metode produksi

yang hemat energi (Naik *et al.*, 2010). Bioetanol dapat diperoleh dengan konversi mikroba karbohidrat yang berasal dari bahan baku biomassa seperti residu agro-industri (Claassen *et al.*, 2009; Galbe *et al.*, 2002; Sun *et al.*, 2002; Taherzadeh *et al.*, 2007). Bahan yang dapat menjadi bahan baku utama pembuat bioetanol diantaranya adalah sukrosa, tepung, selulosa berserat (lignoselulosa) (Maryam *et al.*, 2016).

Karbohidrat dapat digolongkan berdasarkan strukturnya menjadi monosakarida, oligosakarida, dan polisakarida (Siregar, 1988). Golongan polisakarida berupa polimer anhidro yang merupakan rantai panjang yang tersusun dari rangkaian monosakarida, contohnya pati. Pati adalah salah satu karbohidrat kompleks yang paling berlimpah di alam. Gula, pati, dan selulosa termasuk dalam komponen karbohidrat yang mengandung amilosa dan amilopektin dengan rumus kimia  $C_x(H_2O)_y$  yang banyak ditemukan pada bagian tumbuhan seperti batang, buah, biji, serta umbi sebagai cadangan makanan (Chapados & Max, 2007).

Konversi etanol terdiri dari langkah *pretreatment*, hidrolisis dan fermentasi. Berbagai *pretreatment* fisik dan kimia telah dikembangkan untuk mengubah struktur substrat lignoselulosa (Mosier *et al.*, 2005).

Untuk membuat bioetanol, terlebih dahulu mengubah pati yang mengandung karbohidrat menjadi glukosa melalui proses pati degradasi (Mete *et al.*, 2015). Untuk memperoleh gula maka diperlukan pemecahan polisakarida menjadi gula sederhana. Gula ini dapat diperoleh melalui proses hidrolisis amilum dari bahan baku yang mengandung karbohidrat. Secara umum, degradasi senyawa organik kompleks dalam pati dapat dilakukan baik dengan metode hidrolisis asam atau enzimatik (Kizil *et al.*, 2002).

Untuk mempermudah hidrolisis, dibutuhkan penambahan katalisator yang berfungsi untuk memperbesar keaktifan air, sehingga reaksi hidrolisis tersebut berjalan lebih cepat. Katalisator yang sering digunakan adalah asam sulfat, asam nitrat, dan asam klorida (Agra *et al.*, 2003). Asam akan memecah molekul pati secara acak dan gula yang di hasilkan sebagian besar adalah gula pereduksi

(Judoamidjojo *et al.*, 2009). Asam HCl lebih menguntungkan karena lebih reaktif dibandingkan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Groggins, 2012).

Hidrolisis, yang sering dilakukan dengan campuran aktivitas selulolitik dan hemi-selulolitik, menghasilkan hidrolisat yang mengandung monosakarida. Sepanjang fermentasi selanjutnya, monomer ini gula dapat dikonversi menjadi etanol oleh ragi atau bakteri dengan produktivitas dan efisiensi tinggi (Chang *et al.*, 2010).

Fermentasi bertujuan untuk mengkonversi gula menjadi asam organik atau alkohol menggunakan bantuan mikroorganisme (Paulová *et al.*, 2013). Fermentasi bioetanol dapat didefinisikan sebagai proses penguraian gula menjadi bioetanol dan karbondioksida yang disebabkan enzim yang dihasilkan oleh massa sel mikroba. Glukosa yang diperoleh selanjutnya dilakukan proses fermentasi atau peragian dengan menambahkan bakteri, yeast atau ragi sehingga diperoleh bioetanol (Retno *et al.*, 2011).

*Saccharomyces cerevisiae* lebih banyak digunakan untuk memproduksi alkohol secara komersial dibandingkan dengan bakteri dan jamur lainnya. Hal ini disebabkan karena *Saccharomyces Cerevisiae* dapat memproduksi alkohol dalam jumlah besar dan mempunyai toleransi pada kadar alkohol yang tinggi.

Saat di fermentasi, pati harus dengan perawatan enzimatik dengan proses yang intensif (Mamo *et al.*, 2013). Biomassa yang digunakan memang bisa cukup terdegradasi oleh perlakuan enzimatik, dan itu berfungsi baik sebagai substrat yang dapat difermentasi maupun sebagai sumber nutrisi untuk ragi fermentasi. Ini menghasilkan produktivitas etanol lebih tinggi daripada yang dilaporkan sebelumnya (Aikawa *et al.*, 2013).

Durian adalah nama buah dari tumbuhan tropis yang dapat tumbuh baik di daerah Asia khususnya bagian Asia Tenggara yaitu Malaysia, Indonesia, Thailand, dan Filipina (Mirhosseini *et al.*, 2012). Umumnya, buah durian hanya dimanfaatkan buahnya saja yaitu sekitar sepertiga dari keseluruhan buahnya, sedangkan bijinya (20-25%) dan kulitnya biasanya dibuang (Amin, 2007) sehingga menyebabkan limbahnya cukup tinggi (Rukmana, 2009). Namun tak

hanya daging buahnya saja yang dapat dimanfaatkan, biji nya juga dapat dimanfaatkan karena memiliki banyak kandungan yang bisa dimanfaatkan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan bioetanol dari sampah buah berupa biji durian yang melimpah di lingkungan yang memiliki kandungan karbohidrat yang tinggi untuk diolah menjadi salah satu alternatif bahan bakar yang diproses melalui beberapa tahap penting yaitu hidrolisis, fermentasi dengan jamur *Saccharomyces cerevisiae* yang mampu hidup pada lingkungan aerob atau anaerob dan tahap terakhir adalah distilasi. Variasi penelitian dilakukan pada proses fermentasi yaitu dengan beda waktu fermentasi selama 1, 3, 5, 7, 9, dan 11 hari.

## **1.2 Rumusan Masalah**

1. Berapa lama proses fermentasi biji durian menggunakan bakteri *Saccharomyces Cerevisiae* pada proses sintesis untuk mendapatkan kadar bioetanol optimum ?
2. Berapa perbandingan massa awal biji durian dengan persent akhir bioetanol yang dihasilkan ?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

1. Mengetahui jangka waktu fermentasi tepung biji durian dengan menggunakan bakteri *Saccharomyces Cerevisiae* untuk memperoleh kadar optimum dalam proses sintesis bioetanol.
2. Mengetahui perbandingan massa awal biji durian dengan persentase akhir bioetanol yang dihasilkan.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

Dengan penelitian ini diharapkan dapat memberikan sumbangan ilmiah mengenai sintesis bioetanol dari bahan sampah buah dan dapat digunakan sebagai referensi untuk penelitian mengenai bioetanol selanjutnya.

## **1.5 Batasan Masalah**

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan tersebut maka dapat menimbulkan gambaran dimensi permasalahan secara luas, sehingga perlu adanya



batasan masalah dengan jelas dan terfokus. Batasan masalah dalam penelitian ini terbagi menjadi tiga poin yaitu :

1. Biji yang digunakan dalam penelitian ini merupakan semua jenis biji durian dari sampah pedagang buah pada area Kampus UNNES Sekaran.
2. Variasi yang digunakan adalah variasi waktu pada proses fermentasi biji durian menggunakan bakteri *Saccharomyces Cerevisiae*.

### **1.6 Sistematika Penulisan Skripsi**

Secara garis besar skripsi ini tersusun atas 3 bagian utama yaitu:

1. Bagian awal yang terdiri dari halaman judul, halaman kosong, pernyataan keaslian tulisan, pengesahan, persembahan, moto, prakata, abstrak, daftar isi, daftar tabel, daftar gambar dan daftar lampiran.
2. Bagian pokok yang terdiri dari :
  - BAB 1 pendahuluan yang berisi penjelasan mengenai latar belakang, rumusan masalah, tujuan, manfaat, batasan masalah dan sistematika penyusunan skripsi.
  - BAB 2 berisi tinjauan pustaka yang berisi teori dan hasil penelitian terdahulu yang menjadi kerangka berpikir serta acuan dalam penyelesaian masalah.
  - BAB 3 metode penelitian yang berisi tempat dan waktu pelaksanaan penelitian, alat bahanserta metode yang digunakan dalam penelitian
  - BAB 4 hasil dan pembahasan yang berisi analisis data dan pembahasan dengan mengacu pada manfaat penelitian.
  - BAB 5 penutup yang terdiri dari simpulan dan saran berdasarkan hasil penelitian.
3. Bagian akhir yang berisi daftar pustaka yang digunakan dalam penyusunan skripsi dan lampiran-lampiran.

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Buah Durian (*Durio Zibethinus*)



Gambar 2.1 Buah durian dari Gunungpati, Semarang (Sumber: pribadi)

Gambar 2.1 menunjukkan buah durian yang merupakan buah dari tumbuhan tropis yang dapat tumbuh baik di daerah Asia khususnya bagian Asia Tenggara yaitu Malaysia, Indonesia, Thailand, dan Filipina (Mirhosseini *et al.*, 2012). Badan Pusat Statistik Republik Indonesia menyatakan bahwa rata-rata produksi durian meningkat sebesar 15,90 persen dibandingkan tahun sebelumnya dari 859.127 ton pada tahun 2014 naik menjadi 995.734 ton pada 2015. Produksi durian tahun 2015 sebesar 995,74 ribu ton, 80,84 persen dari produksi tersebut terdapat di dua belas provinsi. Tiga provinsi dengan produksi terbesar, yaitu Provinsi Jawa Timur dengan produksi 233.715 ton (23,48 persen), Jawa Barat

sebesar 107.110 ton (10,76 persen), dan Jawa Tengah sebesar 102.452 ton (10,29 persen).

Nama durian diambil dari bentuk kulit buah durian yang memiliki ‘duri’ yang tebal dan keras. Durian memiliki nama latin *Durio zibethinus* yang termasuk sekelompok tumbuhan dari marga Durio. Dalam bahasa Jawa, durian dikenal dengan duren. Durian sangat beraneka ragam. Indonesia tercatat ada 20 spesies anggota Durio (dari hampir 30-an jenis), sembilan di antaranya dapat dimakan (Michael, 2007). Kedudukan taksonomi tanaman durian (Sumber : Rukmana, 1996 ) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae (tumbuhan)  
 Devisi : Spermatophyta (tumbuhan berbiji)  
 Sub Devisi : Sub Devisi  
 Kelas : Dicotyledonae (berkeping dua)  
 Ordo : Bombacales  
 Famili : Bombacaceae  
 Genus : *Durio*  
 Spesies : *Durio zibethinus* Murr

Pohon durian tergolong pohon tahunan, umurnya dapat mencapai puluhan hingga ratusan tahun. Tinggi pohon durian biasanya berukuran sedang hingga besar dapat mencapai ketinggian 25–50 m tergantung spesiesnya (Michael, 2017). Pada umur sekitar 8 tahun, tanaman durian sudah mulai berbunga. Musim berbunga jatuh pada waktu kemarau, yakni bulan Juni-September sehingga bulan Oktober - Februari buah sudah dewasa dan siap dipetik. Jumlah durian yang dapat dipanen dalam satu pohon adalah 60-70 butir per pohon per tahun dengan bobot rata-rata 2,7 kg. Jumlah produksi durian di Filipina adalah 16.700 ton (2.030 ha), di Malaysia 262.000 ton (42.000 ha), dan di Thailand 444.500 ton (84.700 ha)

pada tahun 1987-1988. Di Indonesia pada tahun yang sama menghasilkan 199.361 ton (41.284 ha) dan pada tahun 1990 menghasilkan 275.717 ton (45.372 ha ( Verheij, 2007).

Berat total buah durian terdiri dari tiga bagian: bagian pertama dari daging buah sekitar 20-35%; benih kedua sekitar 5-15%; dan sisanya dari berat kulit, yang mencapai 60-75% dari total berat buah (Untung, 2008). Bentuk dalam dari buah durian berupa ruas-ruas yang berisi daging buah yang membalut biji buah. Buah durian memiliki aroma yang sangat menyengat sehingga sebagian orang muak dengan aromanya namun kebanyakan orang lebih banyak yang menyukainya, karena buahnya memiliki rasa manis dan pahit yang khas namun sangat bergizi karena mengandung banyak karbohidrat, lemak, protein, dan mineral (Verheij, 2007). Umumnya daging buah dimakan dalam keadaan segar.

Beberapa peneliti sebelumnya telah melakukan penelitian terhadap kandungan gizi daging durian serta kandungan gizi albedo durian. Kandungan gizi buah durian terdapat pada Tabel 2.1 yang menjelaskan tentang kandungan gizi buah durian per 100 g bahan.

Tabel 2.1 Kandungan Gizi Buah Durian Per 100 g Bahan (Sumber: Rukmana, 1996)

Kandungan	Gizi Satuan	Jumlah
Energi	Kalori	134,0
Protein	Gram	2,4
Lemak	Gram	3,0
Karbohidrat	Gram	28,0
Kalsium	Mgram	7,4
Fosfor	Mgram	44,0
Zat Besi	Mgram	1,3
Vitamin A	SI	175,0
Vitamin B1	Mgram	0,1
Vitamin C	Mgram	53,0
Air	%	65,0
Bagian dapat dimakan	%	22,0

## 2.2 Biji Buah Durian



Gambar 2.2 Biji buah durian (Sumber: pribadi)

Umumnya, buah durian hanya dimanfaatkan buahnya saja yaitu sekitar sepertiga dari keseluruhan buahnya, sedangkan bijinya (20-25%) dan kulitnya biasanya dibuang (Amin, 2007) sehingga menyebabkan limbahnya cukup tinggi (Rukmana, 1996). Namun tak hanya daging buahnya saja yang dapat dimanfaatkan, bijinya juga memiliki banyak manfaat karena rasanya juga tak kalah enak dengan daging buahnya seperti pada Gambar 2.2 yang menunjukkan biji durian yang sudah siap diolah. Kebanyakan orang awam, biji buah durian hanya dibuat sebagai olahan makanan saja sebagai camilan setelah direbus atau dibakar.

Biji buah durian memiliki kandungan pati yang cukup tinggi, sehingga berpotensi sebagai alternatif pengganti bahan makanan atau bahan baku pengisi farmasetik, contohnya pati biji durian diketahui dapat digunakan sebagai bahan pengikat dalam formulasi tablet ketoprofen (Jufri, 2006; Hutapea, 2010).

Tak hanya buahnya saja yang memiliki banyak kandungan gizi, biji durian yang sering dianggap limbah pun memiliki beberapa kandungan yang dapat dimanfaatkan yaitu terdapat pada Tabel 2.2 yang merupakan kandungan nutrisi dalam 100 gram biji durian.

Tabel 2.2 Kandungan nutrisi biji durian (Sumber: Brown, 2007)

Komposisi	Per 100 gram biji segar (mentah)	Per 100 gram biji telah dimasak
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 mg
Pospor	68 mg	86,65-87 mg
Besi	1,0 mg	0,6-0,64 mg
Natrium	3 mg	
Kalium	962 mg	
Beta karotin	250 µg	
Riboflavin	0,05 mg	0,05-0,052mg
Thiamin		0,03-0,032mg
Niacin	0,9 mg	0,89-0,9 mg

Dari Tabel 2.2 diatas dapat terlihat bahwa kandungan yang paling tinggi pada biji durian adalah karbohidrat sehingga karbohidrat pada biji buah durian dapat diolah dan dimanfaatkan dengan baik.

### 2.3 Pati

Produksi bioetanol dari bahan baku berbasis gula pada pati dapat digunakan sebagai energi pengganti yang baik untuk transportasi yang berasal dari minyak bumi karena emisi polutannya lebih rendah dibandingkan dengan bioetanol berbasis gandum (Dutta *et al.*, 2014). Bahan baku untuk produksi bioetanol umumnya diklasifikasikan sebagai pati dari tepung, jagung, sorgum, serta gula sederhana yang berasal dari tebu, bit gula, ada pula lignoselulosa berupa

brangkasan jagung, dan jerami berdasarkan biomassa (Gawande *et al.*, 2017 ; Chen *et al.*, 2018 ; Katsimpouras *et al.*, 2018).

Karbohidrat dapat digolongkan berdasarkan strukturnya menjadi monosakarida, oligosakarida, dan polisakarida (Siregar, 1998). Golongan polisakarida berupa polimer anhidro yang merupakan rantai panjang yang tersusun dari rangkaian monosakarida, contohnya pati. Pati adalah salah satu karbohidrat kompleks yang paling berlimpah di alam.

Gula, pati dan selulosa termasuk dalam komponen karbohidrat yang mengandung amilosa dan amilopektin dengan rumus kimia  $C_x(H_2O)_y$  yang banyak ditemukan pada bagian tumbuhan seperti batang, buah, biji, serta umbi sebagai cadangan makanan (Chapados & Max, 2007). Amilosa tersusun atas satuan glukosa yang saling berkaitan melalui ikatan 1-4 glukosida, sedang amilopektin merupakan polisakarida yang tersusun atas 1-4 glikosida dan mempunyai rantai cabang 1-6 glukosida (Kirk and Othmer, 1999).

Amilosa memberikan sifat keras (*pera*) sedangkan amilopektin menyebabkan sifat lengket. Amilum terdiri dari 20% bagian yang larut air (amilosa) dan 80% bagian yang tidak larut air (amilopektin). Pati mengandung fraksi linier dan bercabang dalam jumlah tertentu. Fraksi linier berupa amilosa, sedangkan sisanya amilopektin. Hasil pengamatan amilosa pada pati 8,38-14,10% (Jane *et al.*, 1999). Smith (1992) menunjukkan pati yang berkadar amilosa tinggi mempunyai kekuatan ikatan hidrogen yang lebih besar karena jumlah rantai lurus yang besar dalam granula.

Pengolahan biji durian dimulai dengan kandungan lignin yang perlu dihapus dan polimer gula harus dilepaskan. Pra-perawatan bahan lignoselulosa membutuhkan perlakuan yang lebih banyak kompleks yaitu dengan hidrolisis asam (Aditiya *et al.*, 2016) hidrolisis termasuk dalam proses produksi bioetanol berbasis pati karena karbohidrat rantai dalam pati perlu dihidrolisis menjadi glukosa untuk selanjutnya dapat difermentasi menjadi bioetanol (Bothast dan Schlicher, 2005; Gawande dan Patil, 2018). Penelitian Gundupalli dan

Bhattacharyya (2017) menunjukkan peningkatan gula pereduksi melalui proses hidrolisis dengan penambahan asam. Pretreatment dengan asam HCl diterapkan untuk menghilangkan segmen hemiselulosa dan membuka selulosa aktivitas enzimatis (Alvira *et al.*, 2010). Ultrastruktur serat selulosa dapat diubah dengan memanaskan larutan (Xiong *et al.*, 2010) untuk mendegradasi lignin dan hemiselulosa dalam residu (Binod *et al.*, 2010). Monomer gula yang terbentuk selama hidrolisis kemudian dikonversi menjadi bioetanol oleh organisme fermentasi seperti ragi (Di *et al.*, 2019).

## 2.4 Bioetanol

Bioetanol ( $C_2H_5OH$ ) adalah cairan biokimia dari proses fermentasi gula dari sumber karbohidrat menggunakan bantuan mikroorganisme yang dapat digunakan sebagai bahan alternatif untuk bahan bakar fosil (Maryam *et al.*, 2016). Etanol atau etil hidrat biasanya ditulis menjadi EtOH merupakan alkohol rantai tunggal yang memiliki rumus kimia  $C_2H_5OH$  (Gnansounou & Dauriat, 2005). Sifat fisik etanol dapat dilihat pada Tabel 2.3

Tabel 2.3 Sifat-sifat fisika etanol anhydrous (Sumber: Logsdon, 1994).

Keterangan	Nilai
Titik didih (bp) $^{\circ}C$	78,39
Titik beku (fp) $^{\circ}C$	-114, 15
Indeks bias ( $n^{20}$ )	1,36048
Berat jenis ( $d^{20}_{20}$ )	0,79044
Tegangan permukaan pada temperatur $20^{\circ}C$ , mN/m	22,03
Kapasitas kalor (16-21 $^{\circ}C$ ), J/g K	2,415
Kalor pembentukan, KJ/MOL	277,69
Kalor penguapan pada temperatur kJ/kg	
70 $^{\circ}C$	855,66
80 $^{\circ}C$	900,83
100 $^{\circ}C$	799,05
Kalor pembakaran pada volume konstan, kJ/mol	1370,82
Konduktifitas thermal pada temperatur 20 $^{\circ}C$ , $\mu W/mL$	18
Viskositas dinamik $\eta$ , mPa s	1,19
Koefisien ekspansi volumetrik, 1/K	$1,1 \times 10^{-3}$



Kalor pencampuran etanol 30% dengan 70% air pada temperatur 17,33 °C ,J/kg	39,32
Titik kejut, °C	13
Temperatur penyalaan, °C	425
Batas eksplosit, g/m <sup>3</sup>	
Bawah, 3,5 % (volume)	67
Atas, 15 % (volume)	290
Tekanan maksimum eksploit nK/m <sup>2</sup>	736
Spesifikasi konduktifitas, 1/Ω cm	135 x 10 <sup>-11</sup>
Koefisien difusi untuk uap T 20 °C dan P = 101,3kPa, 1/cm	
Nilai kalor pembakaran, kJ/kg	0,12
Nilai kalor pembakaran netto	
Nilai kalor pembakaran bruto	29895
	29964

Menurut Seader & Kurtyka (1984), etanol memiliki sifat lainnya yaitu yang ditunjukkan pada tekanan > 0,114 bar (11,5 kPa) saat etanol dan air dapat membentuk larutan azeotrop yang dapat mendidih seperti cairan murni dengan komposisi uap dan cairan sama. Pada keadaan atmosferik (1 atm) menurut Kosaric *et al.*, (2003), campuran tersebut terdiri dari etanol 95,57% (massa) atau 97,3% (volume) atau 89,43% (mol). Kondisi tersebut membuat larutan azeotrop mendidih pada temperatur 78,15<sup>0</sup>C dan tidak dapat dengan mudah dipisahkan melalui proses distilasi sederhana. Selain konsentrasi penyusun, menurut Ghosh dan Bagchi (2016) temperatur juga dapat mempengaruhi heterogenitas transien pada formasi gugus antara etanol dan air. Tabel 2.4 menjelaskan bahwa pada konsentrasi tertentu larutan azeotrop memiliki titik beku yang berbeda sesuai kandungannya.

Tabel 2.4 Titik beku campuran etanol dan air (Sumber : Kosaric *et al.*, 2003)

Konsentrasi etanol % $\frac{v}{v}$	Titik beku, °C	Konsentrasi air % $\frac{v}{v}$	Titik beku, °C
50	-36,9	30	-15,3
45	-28,1	25	-11,3
40	-24	20	-7,6

38	-22,3	15	-5,1
32	-16,8	10	-3

Bioetanol dapat diperoleh dengan konversi mikroba karbohidrat yang berasal dari bahan baku biomassa seperti residu agro-industri (Claassen *et al.*, 2009; Galbe *et al.*, 2002; Sun *et al.*, 2002; Taherzadeh *et al.*, 2007). Bahan yang dapat menjadi bahan baku utama pembuat bioetanol diantaranya adalah sukrosa, tepung, dan selulosa berserat (lignoselulosa) (Maryam *et al.*, 2016).

Karena peranannya yang semakin penting, khususnya sebagai bahan bakar alternatif dan terbarukan, produksi bioetanol terus dikembangkan baik dari pati maupun dari selulosa (Taherzadeh dan Karimi, 2007). Meskipun bioetanol dapat dihasilkan dari dua jenis karbohidrat di atas, hingga saat ini pati masih merupakan bahan baku utama, karena karbohidrat ini lebih mudah dihidrolisis dibanding selulosa.

Bioetanol yang berasal dari sumber makanan dikenal sebagai bioetanol generasi pertama, di mana sebagian besar etanol yang digunakan untuk bahan bakar transportasi dihasilkan dari sukrosa atau pati (Elliston *et al.*, 2017). Bioetanol dianggap sebagai bahan bakar alternatif yang optimal untuk bensin. Ini adalah bahan bakar yang signifikan karena dengan mengurangi penggunaan minyak bumi, ia mendukung ekonomi yang berkelanjutan bagi negara (Srimachai *et al.*, 2015).

Bioetanol dianggap sebagai bahan bakar alternatif yang optimum untuk bensin. Ini adalah bahan bakar yang signifikan karena dengan mengurangi penggunaan minyak bumi, ia mendukung ekonomi yang berkelanjutan bagi negara (Srimachai *et al.*, 2015). Ini adalah bahan bakar yang ramah lingkungan dan memiliki potensi untuk memberikan hasil kinerja mesin yang sebanding. Produksi bioetanol dari biomassa adalah salah satu cara untuk mengurangi polusi lingkungan dan konsumsi minyak mentah. Sangat cocok untuk bahan bakar

campuran dalam mesin bensin karena jumlah cetane yang rendah, angka oktan tinggi, dan penguapan panas tinggi (Tan *et al.*, 2008).

Bioetanol menunjukkan beberapa keunggulan dibandingkan bahan bakar fosil konvensional yang meliputi sifatnya yang terbarukan dan berkelanjutan, kemudahan penyimpanan, kandungan oksigen yang lebih tinggi, dan angka oktan yang lebih tinggi (Putra *et al.*, 2015). Pada dasarnya bioetanol memiliki kandungan oksigen lebih tinggi daripada minyak bumi, yang dapat meningkatkan pembakaran dan mengurangi emisi hidrokarbon, karbon monoksida dan partikulat dan dapat diperoleh dari berbagai substrat berbiaya rendah (Zabed *et al.*, 2016).

Berbeda dengan bahan bakar lainnya, etanol digolongkan sebagai bahan yang dapat diperbarukan karena dapat dibuat dari bahan baku yang berasal dari tumbuh-tumbuhan (Farrell, 2006). Etanol murni dengan kadar 100% dapat digunakan sebagai bahan campuran bensin dan gasolin (Gardner, 2007). Hal tersebut mampu mengurangi emisi gas karbon karena etanol mempunyai angka oktan yang cukup tinggi dan dapat digunakan untuk menaikkan angka oktan pada bahan bakar fosil lainnya (Oliveira *et al.*, 2017).

Banyak peneliti yang sudah memproduksi sampah makanan menjadi bioetanol seperti Alison *et al.* (2014) yang sudah berhasil mensintesis bioetanol dari bahan rumput di Thailand yang menghasilkan 14% etanol. Ada pula penelitian Ronald (2018) yang menghasilkan 16% bioetanol dari jerami gandum. Tak hanya itu, bioetanol juga bisa dibuat dari sampah buah dari biji salak menghasilkan 12%, penelitian biji mangga menghasilkan 6,64%, ada pula dari biji nangka dengan kadar etanol 13,19% dengan waktu fermentasi 4hari, serta etanol dari biji alpukat sebesar 1,52% . (Jhonprimen *et al.*, 2016; Masturi *et al.*, 2017; Elga dan Togu, 2018; Tahjuddin *et al.*, 2012).

Variabel utama untuk memilih jenis biomassa untuk produksi bioetanol adalah persentase selulosa biomassa. Tinggi persentase selulosa berarti ada jumlah monomer glukosa yang besar pula sehingga bisa difermentasi menjadi etanol. Adapula yang mempertimbangkan persentase hemiselulosa namun dalam

biomassa lignoselulosa tidak sama pentingnya dengan tinggi persentase selulosa (Alison et al., 2014). Menurut Aditiya et al. (2015) glukosa menghasilkan 0,51 etanol, sementara 0,50 etanol diproduksi dari selulosa. Maka glukosa lebih diperhatikan dalam memilih biomassa yang akan diolah menjadi bioetanol.

Variabel lain yang mempengaruhi kadar bioetanol adalah tahap pretreatment biomassa yang digunakan. Tahap pretreatment yang sering digunakan adalah hidrolisis. Konsentrasi etanol yang dihasilkan kemungkinan karena tingginya konsentrasi glukosa yang dicapai dengan hidrolisis sebelum fermentasi (Ratsamee et al., 2012). Namun ada banyak jenis pretreatment untuk memecah glukosa seperti pretreatment fisik, kimia dan biologi (Agbor et al., 2011). Tujuan pretreatment fisik adalah meningkatkan jumlah selulosa dan hemiselulosa (Agbor et al., 2011). Pretreatment kimia termasuk perawatan biomassa menggunakan asam encer atau kuat, basa, organik pelarut, dan pelarut ionik (hijau) (Peng et al., 2012 ; Ji et al., 2012 ; Agbor et al., 2011; Brodeur et al., 2011). Penggunaan asam dapat memecah karbohidrat menjadi glukosa (Ji et al., 2012) Basa dan pelarut organik memiliki kemampuan untuk memecah lignin, tetapi keduanya mengubah komposisi lignin dan hemiselulosa belum banyak dieksplorasi sebagai pretreatment asam (Peng et al., 2012; Brodeur et al., 2011 ). Aditiya et al. (2015) menggunakan asam untuk pretreatment hidrolisis menggunakan asam menghasilkan 11,26% etanol dan pra-perawatan enzimatik hanya menghasilkan 5% etanol. Pretreatment kimia adalah penggunaan pelarut ionik. Pelarut ionik berhasil memecah selulosa pada biomassa, namun cairan ionik belum diteliti secara rinci, jadi belum bisa dieksplorasi secara luas. (Brodeur et al., 2011 ). Ishola et al. (2014) mengembangkan memilih pretreatment EFB yang untuk menghasilkan bioetanol, studi tersebut menghasilkan etanol 4,1 g / L. Jung et al., (2011) memperlakukan EFB dengan amonia pada pretreatment menghasilkan 65,5% etanol. Saha dan Cotta (2008) mengambil sekam padi sebagai bahan baku dalam produksi bioetanol melalui pretreatment dengan menggunakan bahan kapur. Perlu diingat bahwa perbedaan dalam metode untuk mengubah karbohidrat

menjadi glukosa bisa berpengaruh pada hasil akhir gula yang akan disintesis menjadi bioetanol.

Kadar etanol yang dihasilkan juga dipengaruhi oleh mikroba yang digunakan dalam proses sintesis glukosa menjadi etanol. Mikroba yang sering digunakan adalah jamur, namun tidak menutup kemungkinan bahwa ada mikroba lain yang bisa dimanfaatkan untuk mensintesis bioetanol. Alga dan ganggang pernah diteliti sebagai mikroba penghasil bioetanol, namun yang dihasilkan lebih ke biodiesel. Produksi bioetanol dengan menggunakan alga dan ganggang dianggap kurang berhasil karena perawatannya yang lebih rumit dan membutuhkan banyak nutrisi yang harus selalu ditambahkan (Habib et al., 1998) (Ahmed et al., 2010) (Li et al., 2008). Millati et al. (2011) menghasilkan etanol yang berbeda dengan menggunakan mikroba yang berbeda pula yaitu 2,3 g / L dengan *Mucor indicus* dan 2,4 g / L dengan *Saccharomyces cerevisiae*. Singh et al., (2014) memproduksi bioetanol dari sekam padi dengan bantuan *Scheffersomyces stipitis* menghasilkan 0,36 g-etanol, dan menghasilkan 0,4 g-etanol oleh *S. Cerevisiae*. Roslan et al., (2011) mengubah jerami padi menjadi etanol dengan bantuan *Aspergillus sp.* Menghasilkan 0,102 g etanol. Okamoto et al. (2011) menggunakan *Trametes hirsuta* untuk mengubah jerami padi dan mendapatkan kadar 3,0 g / L etanol. Choonut et al., (2014) membuat bioetanol dari kulit nanas menggunakan *E. Aerogenes* menghasilkan 1,66 g / L etanol oleh *E. Aerogenes*. Putri (2011) melakukan fermentasi dengan bantuan *Rhizopus oryzae* menghasilkan etanol 0,235.

## 2.5 Hidrolisis

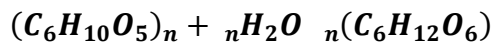
Untuk membuat bioetanol, terlebih dahulu mengubah pati yang mengandung karbohidrat menjadi glukosa melalui proses pati degradasi (Mete *et al.*, 2015). Karbohidrat dapat digolongkan berdasarkan strukturnya menjadi monosakarida, oligosakarida, dan polisakarida. Golongan tersebut memiliki istilah sakarida yang berasal dari bahasa latin *saccharum* dan berarti gula (Siregar, 1988). Monosakarida dapat digolongkan menurut jumlah atom karbonnya yaitu triosa, tetrosa, pentosa, heksosa, dan heptosa. Sementara itu oligosakarida

merupakan gabungan antara 2-3 golongan monosakarida contohnya seperti disakarida. Selain itu terdapat golongan polisakarida yang merupakan rantai panjang yang tersusun dari rangkaian monosakarida, contohnya pati. Ketiga golongan karbohidrat tersebut dapat dihubungkan satu sama lain melalui hidrolisis (Bemiller & Whistler, 2006). Untuk memperoleh gula maka diperlukan pemecahan polisakarida menjadi gula sederhana. Gula ini dapat diperoleh melalui proses hidrolisis amilum dari bahan baku yang mengandung karbohidrat. Secara umum, degradasi senyawa organik kompleks dalam pati dapat dilakukan baik dengan metode hidrolisis asam atau enzimatik (Kizil *et al.*, 2002).

Tahap *pretreatment*, yang merupakan tahapan kunci dalam produksi bioetanol dengan bahan lignoselulosa, saat ini teknologinya banyak sekali variasinya, diantaranya adalah hidrolisis, pirolisis dan autohidrolisis (Boateng *et al.*, 2007). Hidrolisis adalah reaksi kimia antara air dengan suatu zat lain yang menghasilkan satu zat baru atau lebih dan juga dekomposisi suatu larutan dengan menggunakan air. Proses ini melibatkan pengionan molekul air ataupun peruraian senyawa yang lain (Pudjaatmaka dan Qodratillah, 2002). Hasil dari proses ini diperoleh gula pereduksi seperti glukosa, fruktosa, dan maltose. Sementara itu, penelitian Gundupalli dan Bhattacharyya (2017) menunjukkan peningkatan gula pereduksi melalui proses hidrolisis dengan penambahan asam. Namun, Ibarruri dan Hernández (2017) berpendapat bahwa dalam kondisi pH yang terlalu asam dapat mempengaruhi proses fermentasi. Pirolisis merupakan suatu proses perubahan molekul biomasa secara termal (pada suhu tinggi) tanpa adanya oksigen atau dalam kondisi oksigen yang terbatas. Proses dekomposisi pada pirolisis ini juga sering disebut dengan devolatilisasi. Pirolisis dari biomasa akan menghasilkan gas, cair, dan padatan. Namun, dalam konteks pengembangan sumber energi terbarukan, proses pirolisis berlangsung secara kompleks dan simultan sehingga proses pemecahan glukosa menjadi lambat (Oladeji, 2012). Maka pada penelitian ini, tahap *pretreatment* yang digunakan adalah hidrolisis.

Reaksi hidrolisis merupakan reaksi yang berlangsung lambat karenanya untuk mempercepat laju sering ditambahkan katalis. Katalis yang dapat dipakai

pada reaksi hidrolisis pati adalah katalis asam, seperti asam mineral HCl (Nyoman, 2011). Menurut Agra *et al.*, (1973) dalam reaksi hidrolisis yang menggunakan katalis asam klorida menghasilkan persamaan reaksi yang terbentuk sebagai berikut :



Pati                      air                      glukosa

Permasalahan utama dalam sintesis karbohidrat yaitu terbentuknya warna gelap yang tidak diinginkan. Warna gelap diakibatkan oleh proses pencoklatan non enzimatis karena kandungan furfuraldehid pada pati. Penggunaan bahan baku yang berasal dari pati maupun gula-gula sederhana dalam pembuatan alkil polisakarida sangat mudah terdegradasi akibat penggunaan suhu tinggi dan keadaan asam maupun basa selama proses sintesis. Proses degradasi inilah yang menghasilkan *by-product* yang tidak diinginkan karena menghasilkan warna gelap. Perbedaan kepolaran dari bahan baku sakarida dan alkohol lemak menyebabkan ikatan antara glukosa hasil degradasi pati dengan alkohol lemak sulit berikatan, sehingga glukosa membentuk sebuah polimer (*polydextrose*) yang berwarna kuning hingga coklat tua akibat kondisi asam, panas dan kandungan air yang cukup tinggi selama proses reaksi (Eskuchen dan Nitsche, 1997).

Pati yang telah mengalami perlakuan hidrolisis asam akan lebih mudah difermentasi menjadi etanol. Semakin besar hasil hidrolisis pati menjadi glukosa diharapkan semakin besar pula etanol yang dihasilkan melalui proses fermentasi.

## 2.6 Fermentasi

Hidrolisis, yang sering dilakukan dengan campuran aktivitas selulolitik dan hemi-selulolitik, menghasilkan hidrolisat yang mengandung monosakarida. Sepanjang fermentasi selanjutnya, monomer gula ini dapat dikonversi menjadi etanol oleh ragi atau bakteri dengan produktivitas dan efisiensi tinggi (Chang. *et al.* 2010).

Fermentasi bertujuan untuk mengkonversi gula menjadi asam organik atau alkohol menggunakan bantuan mikroorganisme (Paulová *et al.*, 2013). Fermentasi bioetanol dapat didefinisikan sebagai proses penguraian gula menjadi bioethanol dan karbondioksida yang disebabkan enzim yang dihasilkan oleh massa sel mikroba. Glukosa yang diperoleh selanjutnya dilakukan proses fermentasi atau peragian dengan menambahkan yeast atau ragi sehingga diperoleh bioetanol (Dyah *et al.*, 2011).

Proses fermentasi yang terjadi pada pembentukan bioetanol adalah fermentasi anaerob atau tanpa oksigen (Minarni, 2013). Salah satu mikroorganisme yang paling umum digunakan untuk produksi bioetanol adalah *Saccharomyces cerevisiae*, yang memiliki toleransi tinggi terhadap etanol dan gula (Mohd *et al.*, 2017). *Saccharomyces cerevisiae* adalah biokatalis ideal untuk produksi bioetanol karena dapat mengolah bahan yang mengandung gula sehingga dapat digunakan pada proses fermentasi. *Saccharomyces cerevisiae* adalah ragi yang mampu tumbuh di bawah lingkungan aerob, mikroaerofilik, dan anaerob (Akhtar, 2016).

*Saccharomyces cerevisiae* lebih banyak digunakan untuk memproduksi alkohol secara komersial dibandingkan dengan bakteri dan jamur. Hal ini disebabkan karena *Saccharomyces cerevisiae* dapat memproduksi alkohol dalam jumlah besar dan mempunyai toleransi pada kadar alkohol yang tinggi. Tidak hanya itu, penggunaan *Saccharomyces cerevisiae* banyak digunakan untuk meningkatkan hasil produksi bioetanol dari gula karena tidak membutuhkan sinar matahari dalam pertumbuhannya (Purwanto *et al.*, 2012).

Loret, Franc dan Benbadis (2017) meneliti bahwa *Saccharomyces cerevisiae* mampu memproduksi 20% etanol dalam waktu 45 jam. Menurut Matsakas *et al.*, (2014) fermentasi pada fase cair dapat meningkatkan kadar etanol hingga 13,6%. *Saccharomyces cerevisiae* yang bersifat stabil, tidak berbahaya atau menimbulkan racun, mudah didapat dan malah mudah dalam pemeliharaan. Bakteri tidak banyak digunakan untuk memproduksi alkohol secara komersial,



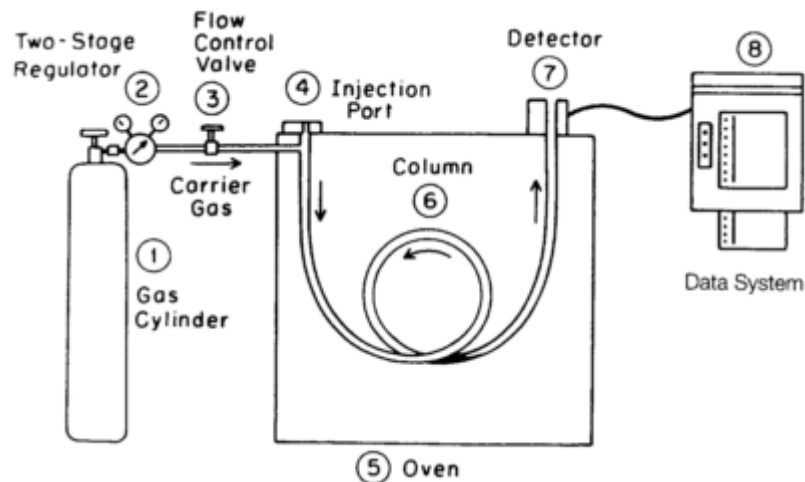
karena kebanyakan bakteri tidak dapat tahan pada kadar alkohol yang tinggi (Sudarmadji, 2003).

Dalam proses fermentasi, *Saccharomyces Cereviseae* dapat bermetabolisme dan bercampur dengan larutan yang dapat menghasilkan etanol ketika konsentrasi glukosa tersedia cukup tinggi (0,8 mM). Secara umum, produksi etanol aerobik oleh *Saccharomyces Cereviseae* tergantung pada kapasitas relatif jalur fermentasi dan pernapasan. Jamur ini tidak menghasilkan etanol dalam kondisi aerob ketika konsentrasi glukosa rendah hadir (Kappeli, 1996). Penyerapan glukosa di *Saccharomyces Cereviseae* dikendalikan oleh multi transport hexose (Ozcan dan Johnston, 1999) yang telah menunjukkan spesifisitas dan afinitas substrat yang berbeda ketika diekspresikan dalam kondisi yang berbeda dan tumpang tindih (Reifenberger *et al.*, 1997). Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa keberadaan oksigen merangsang tingkat tinggi piruvat dekarboksilase di *Saccharomyces Cereviseae* (Snoek dan Steensma, 2007; Kiers *et al.*, 2008; Weusthuis *et al.*, 2004). Oksigen diperlukan untuk biosintesis lipid dalam *Saccharomyces Cereviseae* serta sangat penting untuk pertumbuhan sel, integritas membran plasma, dan pemeliharaan tingkat produksi glikolitik dan etanol yang tinggi (Rosenfeld *et al.*, 2003).

Saat di fermentasi, pati harus dengan perawatan enzimatik dengan proses yang intensif (Mamo *et al.*, 2013). Biomassa yang digunakan memang bisa cukup terdegradasi oleh perlakuan enzimatik, dan itu berfungsi baik sebagai substrat yang dapat difermentasi maupun sebagai sumber nutrisi untuk ragi fermentasi. Ini menghasilkan produktivitas etanol lebih tinggi daripada yang dilaporkan sebelumnya (Aikawa *et al.*, 2013).

## **2.7 Kromatografi Gas**

Analisis kadar etanol pada hasil sintesis dapat diperoleh menggunakan kromatografi gas. Metode tersebut merupakan salah satu cara untuk memisahkan senyawa organik untuk menganalisis jumlah senyawa



Gambar 2.3 Skema kromatografi gas (McNair & Miller, 1998)

Prinsipnya yaitu memisahkan campuran yang terdiri dari dua macam komponen atau lebih berdasarkan distribusi diferensial diantara dua fase yaitu diam dan bergerak (McNair & Bonelli, 1988). Fase diam berupa lapisan material berbentuk film tipis dari silika cair yang akan dilewati gas pembawa sampel seperti helium sebagai fase bergerak. Prinsip kerja kromatografi gas tersebut ditunjukkan dalam bentuk skema pada Gambar 2.3.

Kromatografi gas bekerja ketika sampel menguap dan gas pembawa mengalirkannya menuju kolom, didalam kolom komponen pada sampel terabsorpsi oleh fase diam dan mengalami pemisahan. Selanjutnya komponen yang terpisah menuju detektor untuk menghasilkan sinyal listrik dengan besar proporsional. Sinyal listrik yang telah diperoleh masih lemah sehingga perlu diperkuat menggunakan amplifier. Hasil akhir yang dicatat oleh rekorder berupa kromatogram dalam bentuk puncak. Sementara itu, untuk mengidentifikasinya dengan cara membandingkan puncak sampel dan standar sesuai Persamaan 2.1

$$\text{kadar etanol(\%)} = \frac{\text{Area [pA*s] sampel}}{\text{Area [pA*s] standar}} \times 100\% \quad (2.1)$$

dengan,  $s$  = waktu retensi(menit)

$pA$  = selisih tegangan(*pico ampere*)

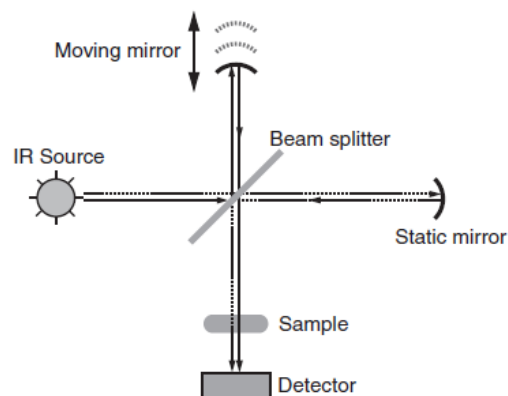
Waktu retensi merupakan waktu yang digunakan oleh senyawa sampel untuk bergerak melalui kolom menuju ke detektor. Waktu tersebut diukur pada saat sampel diinjeksikan sampai tampilan menunjukkan puncak tertinggi. Selisih

tegangan Pa diperoleh dari tegangan perekam potensiometer yang dapat memutar motor untuk mendapatkan puncak pada kromatogram (McNair & Miller, 1998).

## 2.8 *Fourier Transform Infra Red (FTIR)*

Karakterisasi kandungan gugus fungsi dalam sintesis etanol dilakukan menggunakan *FTIR Spectroscopy*. Uji FTIR adalah untuk mengetahui gugus fungsi dan interaksi antara larutan yang digunakan. Menurut penelitian Kizil *et al.* (2002), *FTIR Spectroscopy* dapat digunakan untuk mengidentifikasi pati hasil radiasi. Selain itu Nimpaiboon dan Sakdapipanich (2013) memanfaatkan cara tersebut untuk mengetahui pengaruh glukosa terhadap karakteristik bahan karet alam. Sehingga, dengan begitu teknik ini dapat digunakan untuk mengidentifikasi perubahan gugus fungsi akibat perlakuan setelah sintesis etanol berlangsung.

Teknik *FTIR Spectroscopy* yang memanfaatkan vibrasi atom hasil interaksi molekul dengan radiasi elektromagnetik yang berada pada panjang gelombang 0,75 – 1.000  $\mu\text{m}$  dan memiliki informasi tentang struktur penyusunnya (Stuart, 2004). Prinsip kerja FTIR seperti interferometer yang terdiri dari sumber IR, *beam splitter* (pembelah berkas), dua cermin dan detektor. Sementara itu, sampel yang diujikan berbentuk pelet yang telah ditambahkan KBr dan dipres menjadi padatan.



Gambar 2.4 Interferometer dalam FTIR (Blum & Jonh , 2012)

Mekanisme kerja FTIR *Spectroscopy* diilustrasikan melalui Gambar 2.4, di mana radiasi IR sebagai sumber melewati *beam splitter* berfungsi untuk memecah sinar menjadi dua bagian. Pecahan sinar yang pertama dipantulkan ke *static mirror* (cermin yang tidak bergerak) dan pecahan sinar kedua dipantulkan ke *Moving Mirror* (cermin yang dapat digerakkan). Kecepatan dari kedua pecahan sinar tersebut adalah konstan dan ketika sinar tersebut menumbuk cermin maka akan dipantulkan menuju *beam splitter*, kemudian oleh *beam splitter* dikumpulkan kembali melewati sampel. Selanjutnya sinar baru yang merupakan hasil transmisi dapat ditangkap oleh detektor dan keluar sebagai keadaan spektrum sampel berupa peak panjang gelombang (Blum & John, 2012).

Bilangan gelombang 2000-400  $\text{cm}^{-1}$  merupakan daerah yang digunakan untuk identifikasi gugus fungsional, karena pada daerah tersebut dapat menunjukkan absorpsi oleh vibrasi rengangan. Pengujian sampel menggunakan FTIR *spectroscopy* menghasilkan grafik hubungan bilangan gelombang dan transmisi (Smith, 2007). Sementara itu, nilai transmisi juga dapat menunjukkan kualitas komponen yang terdapat dalam sampel.

## 2.9 Scanning Electron Microscopy (SEM)

SEM merupakan salah satu jenis mikroskop elektron yang menggunakan berkas elektron untuk mengetahui morfologi ukuran pori pada sampel pada profil permukaan sampel. Prinsip kerja SEM adalah menembakkan berkas elektron berenergi tinggi ke permukaan sampel sehingga berkas tersebut dipantulkan atau menghasilkan elektron sekunder ke segala arah dengan intensitas yang berbeda, kemudian dideteksi oleh detektor dan divisualkan pada monitor (Abdullah & Khairurrijal, 2010).

Sampel pengujian menggunakan SEM harus bersifat sebagai pemantul elektron atau dapat melepaskan elektron sekunder ketika ditembak dengan berkas elektron, sehingga untuk material bukan logam maka permukaannya dilapisi terlebih dahulu dengan logam menggunakan metode pelapisan seperti evaporasi dan *sputtering*. Metode evaporasi dilakukan dengan meletakkan sampel serbuk seperti tepung yang memiliki ukuran mesh pada ruang vakum bersama dengan

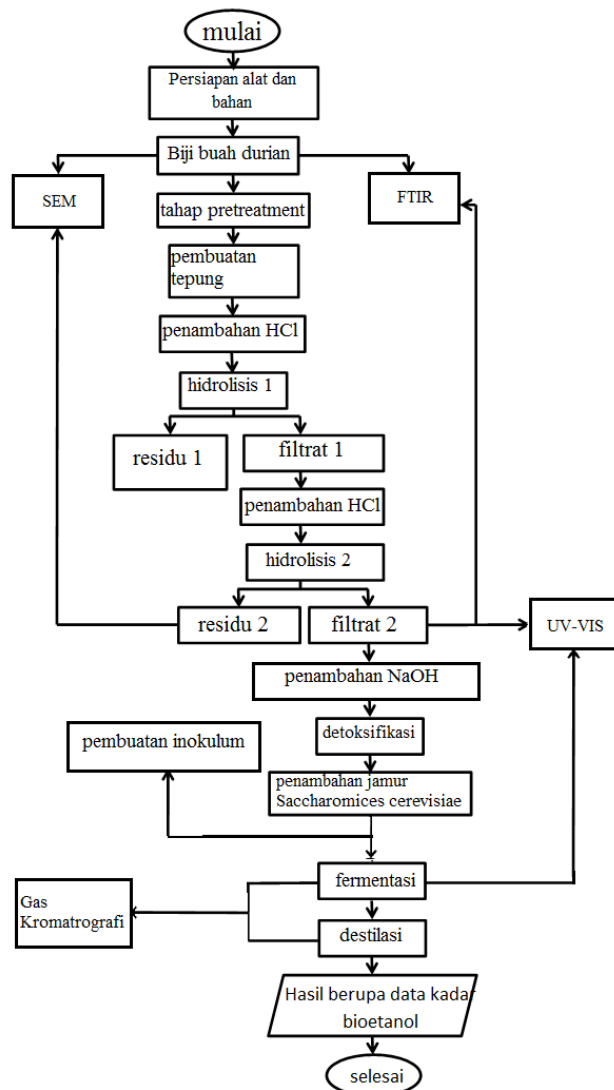
logam pelapis diatas filamen pemanas dengan suhu mendekati titik leleh logam. Atom-atom logam tersebut menguap dan terkondensasi membentuk lapisan film tipis yang melapisi permukaan sampel. metode *sputtering* memiliki prinsip kerja mirip dengan evaporasi namun dilakukan dalam suhu rendah dan memanfaatkan gas inert seperti argon untuk menembak lepas atom logam sebelum membentuk film tipis. Ketebalan lapisan logam dapat diatur dengan mengontrol waktu pelapisan.

Perangkat SEM memiliki tiga peralatan utama yaitu; pistol elektron, lensa magnetik, dan sistem vakum. Pistol elektron berupa filamen tungsten yang mudah melepaskan elektron ketika dipanaskan. Elektron yang terlepas dari filamen kemudian dipercepat dengan anoda untuk selanjutnya difokuskan oleh lensa magnetik dengan cara membelokkan elektron bermuatan negatif menuju sampel. Berkas elektron yang terfokuskan memindai keseluruhan bagian sampel dan ketika elektron tersebut mengenai sasaran maka sampel akan mengeluarkan elektron baru yang akan diterima oleh detektor dan dikirimkan ke monitor. Elektron sekunder menghasilkan topografi dari sampel, dimana permukaan yang tinggi berwarna lebih cerah dari permukaan rendah. Yang *et al.*(2016) dalam penelitiannya menggunakan karakterisasi SEM untuk mengetahui perubahan morfologi granula pati akibat treatment hidrotermal terhadap kandungan amilosa tertinggi. Karakterisasi ini juga digunakan untuk mendapatkan informasi ukuran partikel pada sampel yang dianalisa selain menganalisis bentuk permukaan sampel.

### BAB 3 METODE PENELITIAN

#### 3.1 Diagram Alir Penelitian

Secara garis besar metode penelitian yang akan dilaksanakan seperti diagram alir pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Diagram alir penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental untuk mengetahui pengaruh fraksi massa tepung biji durian dan jamur *Saccharomyces Cerevisiae* yang digunakan pada sintesis untuk mendapatkan kadar bioetanol

optimum. Penelitian dilakukan dalam tiga tahapan yaitu tahap persiapan, pembuatan sampel hingga menghasilkan sampel yang dapat diuji persentase kadar bioetanol. Tahap pengujian dilakukan di tiap langkah dalam metode sintesis bioetanol. Tahap persiapan yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi persiapan alat dan bahan serta tahap *pretreatment* sebelum memulai tahapan berikutnya.

Bahan dalam penelitian ini adalah biji durian yang didapatkan dari limbah pedagang durian di sekitar area kampus UNNES Sekaran. Selain itu digunakan pula jamur *Saccharomyces cerevisiae* sebagai bakteri yang dapat mengkonversi gula menjadi bioetanol dalam proses fermentasi.

Tahap *pretreatment* dilakukan bertujuan untuk mengubah biji durian ke dalam spesimen yang memiliki ukuran lebih kecil yaitu tepung. Perubahan bentuk biji durian menjadi tepung akan mempermudah pemanfaatan biji durian menjadi bahan setengah jadi yang fleksibel dan tahan lama.

Tahap ini melalui langkah-langkah sebagai berikut:

1. Pemilihan Kualitas

Pemilihan dilakukan dengan memilih biji durian yang keadaannya baik, tidak terserang hama maupun penyakit. Biji durian dipilih yang masih terlihat segar dan warnanya tidak hitam atau sudah busuk.

2. Pencucian

Biji durian yang sudah dipilih dengan kualitas yang baik kemudian dicuci berulang kali sampai bersih untuk melepaskan segala kotoran yang melekat pada biji durian, terutama untuk menghilangkan daging buah durian yang masih melekat pada bijinya (Afif, 2006; Hutapea, 2010).

3. Pengirisan

Biji durian yang sudah bersih, kemudian diiris tipis untuk mempercepat proses pengeringan (Afif, 2007; Hutapea, 2010).

4. Pengeringan

Pengeringan dilakukan secara langsung dengan menggunakan tenaga matahari, proses penjemuran dilakukan sampai kering kisaran 2 hingga 4 hari.

Daging biji yang kering dapat mempermudah dalam proses penepungan pada biji durian (Afif, 2006 ; Hutapea, 2010).

Selain itu pengeringan juga dilakukan unruk menghilangkan atau mengurangi kadar air bahan agar mikroba penyebab penyakit tidak bisa hidup, sehingga tepung menjadi awet.

#### 5. Pembuatan tepung

Irisan biji durian yang sudah kering dihaluskan dengan menggunakan blender untuk memperkecil ukuran partikel, hingga menjadi bubuk halus/tepung. Kemudian diayak sehingga diperoleh hasil berupa tepung yang halus dan homogen (Rukmana, 1996 ; Hutapea, 2010).

### 3.2 Tahap Pembuatan Sampel

#### 3.2.1 Hidrolisis

Setelah sampel berupa tepung siap, tahap selanjutnya adalah hidrolisis. Hidrolisis dilakukan untuk memecah polisakarida menjadi senyawa gula turunannya yang kemudian dapat dikonversikan pada tahap berikutnya. Pemecahan tersebut dilakukan dengan metode sederhana menggunakan asam berupa HCl yang dapat dengan mudah melarutkan gula khususnya monosakarida.

Sebanyak 200 g fraksi massa tepung biji durian dicampurkan dengan 1000 ml HCl dan dimasukkan ke dalam gelas beker 1500 mL. Pencampuran larutan HCl diberikan sedikit demi sedikit serta larutan diaduk sehingga tepung biji durian dapat larut sempurna yang ditandai dengan tidak adanya gumpalan pada larutan tersebut. Karena kandungan pati yang sangat pekat maka setelah larutan diaduk sekian lama kira-kira 30 menit dengan pengaduk manual. Setelah larutan sudah bercampur dengan sempurna, kemudian kedua larutan dimasukkan pada penangas air yang telah diatur suhunya sebesar 70°C lalu dilakukan pemanasan selama 3 jam (Usyqi *et al.*, 2013).

Larutan yang telah dihidrolisis dengan dipanaskan kemudian didiamkan selama 15 menit sampai terlihat filtrat dan residunya. Fase padat yang merupakan



endapan disebut dengan residu, yang kemudian dipisahkan secara manual (tanpa alat) menggunakan kain saring guna memisahkan antara filtrat dan residu dari proses hidrolisis. Hasil proses yang dimanfaatkan dalam tahap berikutnya adalah filtrat biji buah durian.

### 3.2.2 Detoksifikasi

Filtrat hasil hidrolisis selanjutnya didetoksifikasi untuk menghilangkan racun pada larutan yang sudah tercampur asam di hasil hidrolisis. Hal tersebut dilakukan agar jamur dapat hidup pada larutan di proses selanjutnya yaitu fermentasi. Sampel akan didetoksifikasi menggunakan basa.

Pertama, membuat larutan basa NaOH 3M sebagai katalis. Kemudian larutan NaOH 3M ditambahkan ke filtrat hasil hidrolisis, banyaknya penambahan basa disesuaikan agar filtrat memiliki pH 4.5 hingga 5.5 yaitu pH di mana jamur *Saccharomyces cerevisiae* bisa hidup. Filtrat yang sudah bercampur dengan basa, akan mengalami kenaikan suhu karena basa memiliki sifat yang panas. Karena larutan panas, maka ditunggu hingga suhu normal terlebih dahulu. Kemudian larutan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* pada suhu dibawah ruang selama 45 menit. Setelah tercampur, larutan sudah siap difermentasi. Namun, terlebih dahulu didiamkan selama 24 jam.

### 3.2.3 Fermentasi

Fermentasi merupakan proses konversi gula pereduksi menjadi bioetanol menggunakan bantuan mikroorganisme. Umumnya, produksi bioetanol menggunakan jamur *Saccharomyces cerevisiae*. Jamur ini dapat digunakan untuk konversi gula menjadi etanol dengan kemampuan konversi yang baik (I. Nyoman W. 2011). Sebelum melakukan tahap fermentasi, terlebih dahulu membuat inokulum yang bertujuan untuk memperpendek fase lag (penyesuaian) yaitu dengan cara mengadaptasikan sel ke dalam media fermentasi.

Larutan yang digunakan untuk membuat inokulum yaitu 100 ml akuades yang sudah ditambah 5 g glukosa, 0,5 g ekstrak ragi (*yeast extract*), 0,5 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,15 g NH<sub>4</sub>Cl, 0,07 g MgSO<sub>4</sub>, dan 0,17 g KCl yang kemudian

dicampur sampai homogen dan ditutup rapat dengan kapas/kain katun steril. Medium inokulum disterilisasi kedalam *autoclave* dengan temperatur 121°C selama 15 menit, setelah itu medium inokulasi didinginkan hingga mencapai temperatur ruang. Setelah temperatur medium inokulasi mencapai temperatur ruang, *Saccharomyces cerevisiae* dimasukkan sebanyak 2-3 oase, lalu diinokulasikan dalam *rotary shaker* pada 180 rpm selama 24 jam (Amalia, 2014) (Siburian *et al.*,2015).

Dalam tahap ini digunakan variasi waktu fermentasi yaitu selama 1, 3, 5, 7, 9, dan 11 hari untuk mengetahui kadar bioetanol yang didapatkan dari proses fermentasi.

Proses fermentasi dimulai dengan mencampur 600ml fase cair hasil hidrolisis yang mengandung gula dengan pH 4 dengan jamur *Saccharomyces cerevisiae* sebanyak 2-3 oase dan ditambahkan 12 ml inokulum. Larutan yang telah tercampur homogen siap di fermentasi selama 1, 3, 5, 7, 9, dan 11 hari serta setiap variasi waktu tersebut sampel diambil kemudian diekstrak (distilat) dan disimpan dalam *freezer*. Setelah menunggu hingga waktu maksimal pada variasi, larutan hasil fermentasi sudah siap di distilasi. (Alegre, *et al.* 2003; Karimi, *et al.* 2006; Rouhollah, *et al.* 2007).

#### **3.2.4 Distilasi**

Hasil fermentasi dengan variasi waktu 1, 3, 5, 7, 9, dan 11 hari kemudian didistilasi untuk memisahkan bagian etanol dari senyawa lainnya. Proses ini biasa disebut dengan proses pemurnian dengan memanfaatkan perbedaan titik didih senyawa.

Distilasi untuk memisahkan bioetanol dalam penelitian ini dilakukan dengan pengaturan suhu pemanggang pada 78<sup>0</sup>C selama ±180 menit. Hasil yang didapatkan memiliki fase cair dengan bau menyengat untuk diuji kadar etanolnya.

### **3.3 Tahap Pengujian dan Karakterisasi**

Ada beberapa tahap pengujian yang dilakukan pada setiap prosesnya. Pengujian yang dilakukan pada bahan yaitu karakterisasi FTIR, SEM, serta

*Moisture Content*. Pada proses hidrolisis, pengujian yang dilakukan adalah Tes Molis dan Tes Barfood serta *Moisture Content* dan karakterisasi dengan UV-Vis. Pengujian juga dilakukan pada residu yang sudah dikeringkan yaitu karakterisasi FTIR, SEM, serta *Moisture Content*. Proses detoksifikasi, pengujian yang dilakukan adalah kandungan gula serta *Moisture Content*.

Uji di tahap selanjutnya adalah pada proses distilasi yaitu uji Gas Chromatography. Diperlukan senyawa tambahan sebagai standar internal ditujukan agar terjadi pemisahan sempurna antar *peak* sampel, sehingga pengukuran kadar setiap senyawa tidak dipengaruhi oleh senyawa lain. Serta selain itu optimasi juga digunakan agar *peak* sampel tidak bertumpuk juga dengan standar internal. Senyawa yang digunakan sebagai standar internal yaitu n-propanol.

Larutan baku etanol dibuat dengan cara melarutkan sejumlah etanol p.a dengan pelarut dmsol dan digunakan standar internal n-propanol. Dalam pembuatannya, etanol dibuat dengan konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 % (v/v) dengan menambahkan standar internal berupa n-propanol sebanyak 5%(v/v) ke masing-masing larutan baku. Satuan persen volume-volume memiliki arti bahwa larutan tersebut relatif terhadap volume larutan, atau bisa ditulis dengan rumus:

$$\frac{v}{v}\% = \frac{\text{Volume zat terlarut}}{\text{Volume larutan}} \times 100\%$$

## **BAB 4**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **4.1 Glukosa Hasil Hidrolisis**

Hidrolisis adalah proses penting dalam produksi etanol. Efisiensi proses hidrolisis merupakan faktor utama yang dibutuhkan untuk konversi pati menjadi etanol. Salah satu cara efisiensi tersebut yaitu dengan mengetahui bentuk dan struktur pati dari bahan baku yang digunakan (Murthy *et al.*, 2011). Selain itu, komposisi bahan baku dalam proses hidrolisis juga dapat mempengaruhi hasil akhir dari produksi etanol (Masturi *et al.*, 2017). Keduanya termasuk dalam kajian mikroskopik dan makroskopik yang saling berkaitan dan akan dibahas lebih lanjut dalam penelitian ini untuk menghasilkan etanol dari bahan baku biji durian.

Karbohidrat dapat digolongkan berdasarkan strukturnya menjadi monosakarida, oligosakarida, dan polisakarida (Siregar, 1988). Pati adalah salah satu karbohidrat kompleks yang paling berlimpah di alam. Golongan polisakarida berupa polimer anhidro yang merupakan rantai panjang yang tersusun dari rangkaian monosakarida, contohnya pati.

Gula, pati, dan selulosa termasuk dalam komponen karbohidrat yang mengandung amilosa dan amilopektin dengan rumus kimia  $C_x(H_2O)_y$  yang banyak ditemukan pada bagian tumbuhan seperti batang, buah, biji, serta umbi sebagai cadangan makanan (Chapados & Max, 2007).

Setelah diuji, karbohidrat yang terkandung pada tepung biji durian sebesar 11,541%. Karbohidrat tersebut merupakan kandungan yang paling tinggi pada biji durian. Namun, struktur pati pada biji durian tersebut tidak bisa langsung difermentasi, sehingga hidrolisis perlu dilakukan untuk mendapatkan glukosa (Devarapalli & Atiyeh, 2015). Setelah dilakukan hidrolisis, kandungan karbohidrat naik menjadi seperti pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Perbandingan kandungan karbohidrat dan gula

Sampel	Karbohidrat (%)	Gula (%)
Bubuk biji durian	11,541	
Filtrat Hidrolisis 1	15,681	9,698
Residu Hidrolisis 1	15,520	8,073
Filtrat Hidrolisis 2	15,658	9,415
Residu Hidrolisis 2	15,677	9,276
Detoksifikasi	15,670	

Analisis kualitatif karbohidrat yang sering dilakukan adalah uji Molisch untuk mengetahui adanya karbohidrat dengan menghasilkan warna cincin ungu (Andarwulan *et al.*, 2011). Molisch digunakan untuk membedakan karbohidrat dan bukan karbohidrat.

Tes Molisch adalah tes kimia yang sensitif untuk semua karbohidrat, dan beberapa senyawa yang mengandung karbohidrat dalam bentuk gabungan yang kemudian menghasilkan senyawa berwarna merah atau ungu (Kaminska *et al.*, 2009). Uji molisch dilakukan pada bubuk biji durian dan hasil hidrolisis dengan menambahkan beberapa tetes molisch pada sampel yang sudah disiapkan. Hasil uji molisch menunjukkan senyawa yang berwarna ungu, sehingga kedua sampel tersebut mengandung positif karbohidrat.

Sebelum melakukan tahap awal untuk membuat bioetanol, terlebih dahulu dilakukan tahap persiapan yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi persiapan alat dan bahan serta tahap *pretreatment* sebelum memulai tahapan berikutnya.

Bahan dalam penelitian ini adalah biji durian yang didapatkan dari limbah pedagang durian di sekitar area kampus UNNES Sekaran. Selain itu digunakan pula jamur *Saccharomyces cerevisiae* sebagai jamur yang dapat mengkonversi gula menjadi bioetanol dalam proses fermentasi.

Tahap *pretreatment* dilakukan bertujuan untuk mengubah biji durian kedalam spesimen yang memiliki ukuran lebih kecil yaitu tepung. Perubahan bentuk biji durian menjadi tepung akan mempermudah pemanfaatan biji durian menjadi bahan

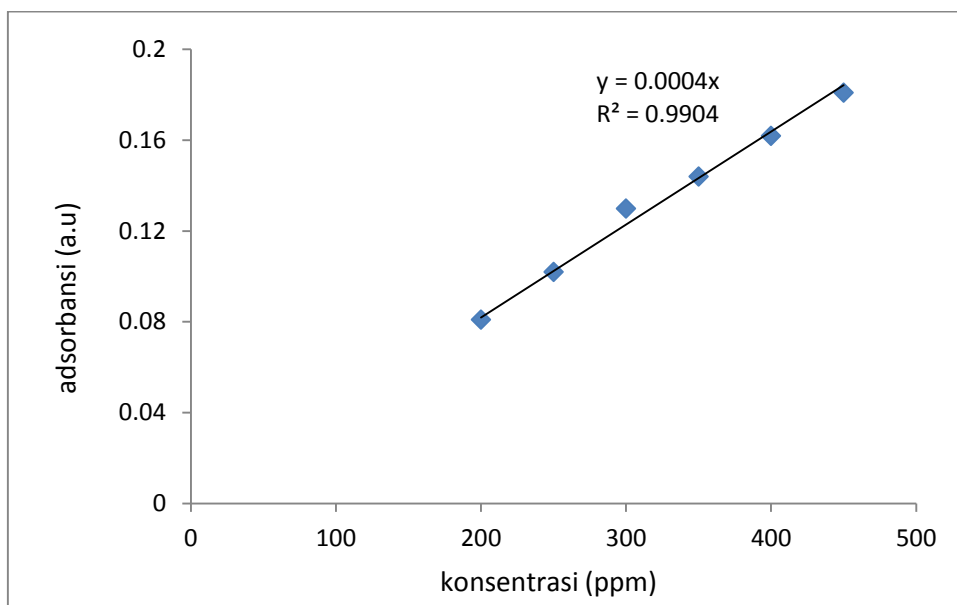
setengah jadi yang fleksibel dan tahan lama. Yaitu pemilihan kualitas, pencucian, pengirisan, pengeringan, dan penepungan. Namun, karena kompleksnya sifat biomassa lignoselulosa yang ada pada biji durian, langkah-langkah *pretreatment* seperti hidrolisis penting untuk pelepasan gula yang kemudian dapat difermentasi dengan untuk mikroorganisme penghasil bioetanol (Oh *et al.*, 2019; Han *et al.*, 2013).

Bioetanol dibuat dengan terlebih dahulu mengubah pati yang mengandung karbohidrat menjadi glukosa melalui proses pati degradasi (Mete., *et al* 2019). Untuk memperoleh gula maka diperlukan pemecahan polisakarida menjadi gula sederhana. Gula ini dapat diperoleh melalui proses hidrolisis amilum dari bahan baku yang mengandung karbohidrat. Secara umum, degradasi senyawa organik kompleks dalam pati dapat dilakukan baik dengan metode hidrolisis asam atau enzimatik (Kizil R., *et al.* 2002).

Reaksi hidrolisis merupakan reaksi yang berlangsung lambat karenanya untuk mempercepat laju sering ditambahkan katalis. Katalis yang dapat dipakai pada reaksi hidrolisis pati adalah katalis asam, seperti asam mineral HCl (Nyoman, 2011).

Hidrolisis diawali dengan mencampurkan tepung biji durian dengan katalisator HCl. Namun antara tepung dan air pada katalisator masih belum bisa bercampur dengan sempurna. Hal tersebut terjadi akibat ketidakseimbangan antara pati dan air, sehingga amilosa tidak dapat terlarut secara optimal setelah keluar dari granula (Devarapalli & Atiyeh, 2015). Larutan tersebut mengental dan terjadi gelatinisasi. Maka agar larutan dapat tercampur sempurna, perlu dilakukan proses untuk mencapai suhu gelatinisasi dengan memanaskan larutan pada suhu 70<sup>0</sup>C (Presecki *et al.*, 2013). Kemudian hasil dari tahap hidrolisis berupa larutan yang kemudian disaring dan dipisahkan antara residu biji durian dengan filtrat biji durian.

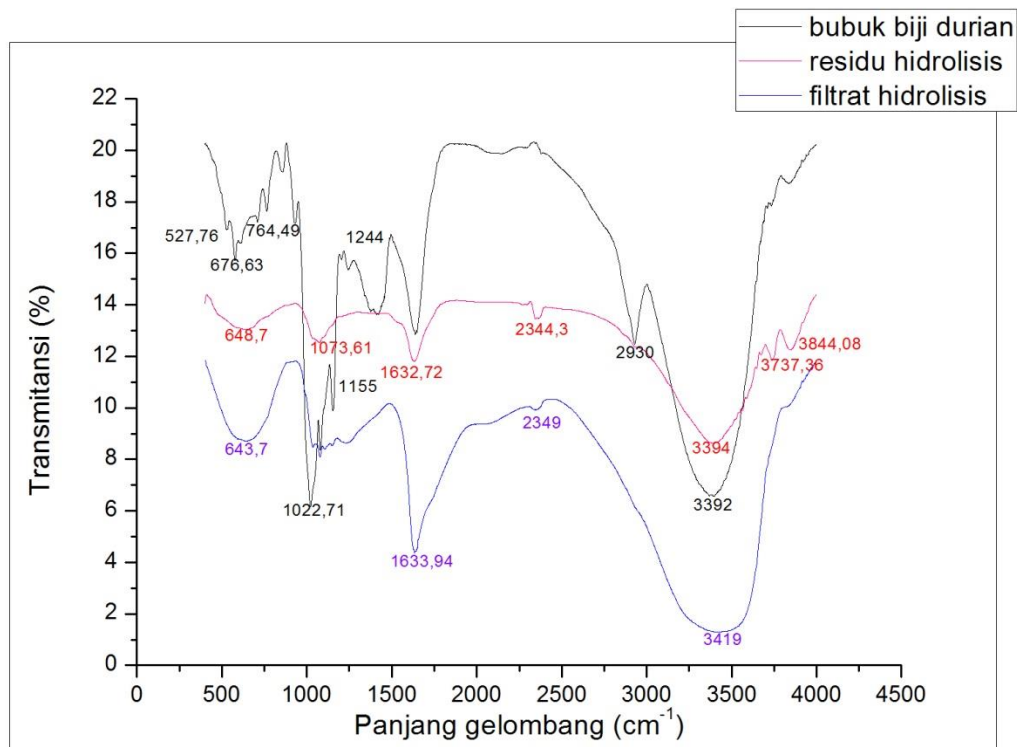
Gambar 4.1 menunjukkan kurva pengukuran absorbansi hasil hidrolisis biji durian dapat dilakukan dengan spectroscopy UV-Vis. Pengujian UV-Vis dilakukan untuk mengetahui kandungan glukosa pada larutan hasil hidrolisis sebelum disintesis menjadi bioetanol.



Gambar 4.1 Grafik Kurva kalibrasi konsentrasi larutan hasil hidrolisis biji durian

Kurva kalibrasi konsentrasi larutan hasil hidrolisis biji durian diperoleh dari delapan data absorbansi larutan hasil hidrolisis biji durian dengan konsentrasi minimal 200 ppm dan konsentrasi maksimal 450 ppm. Nilai absorbansi dikonversikan pada persamaan kurva standar glukosa pada persamaan garis yaitu  $y = 0,0004x$  dengan  $R^2 = 0,9904$ . Dari persamaan tersebut dapat diketahui besarnya kadar glukosa hasil hidrolisis biji durian. Kadar glukosa tertinggi pada hasil hidrolisis biji durian sebesar 367 ppm dengan adsorbansi 0,147. Sehingga diketahui kandungan glukosa pada hasil hidrolisis biji durian sebesar 36,7%. Sehingga glukosa pada hasil hidrolisis biji durian dapat digunakan sebagai sumber bioetanol karena memiliki kadar glukosa yang cukup tinggi dan mampu diubah menjadi etanol oleh jamur dengan kondisi yang sesuai.

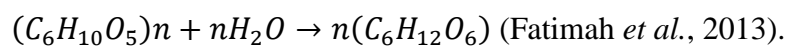
Kandungan glukosa akibat retrogradasi juga dapat diidentifikasi melalui kandungan gugus kimianya dengan pengujian menggunakan FTIR (Wang *et al.*, 2015). Karakterisasi FTIR membuktikan bahwa proses hidrolisis hanya akan memecah kandungan karbohidratnya saja namun tidak akan merubah senyawa yang ada pada larutan karena senyawa pada tepung biji durian serta hasil hidrolisis berupa filtrat dan residu adalah tetap.



Gambar 4.2. Perbandingan spektral FTIR serbuk biji durian dan hasil hidrolisis

Gambar 4.2 menunjukkan data spektral FTIR yang digunakan untuk menganalisis getaran dari kelompok fungsional dari bubuk biji durian serta residu dan filtrat setelah dilakukan hidrolisis dan modifikasi dengan kandungan asam yaitu HCl dengan proses pemanasan sederhana.

Secara umum glukosa mempunyai daerah serapan inframerah yang khas di sekitar bilangan gelombang dibawah 800cm<sup>-1</sup>, 800-1500cm<sup>-1</sup> (*the fingerprint region*), 2800-3000cm<sup>-1</sup> (C—H *stretch region*), dan daerah diantara 3000-3600cm<sup>-1</sup> (O—H *stretch region*) (Kizil *et al.*, 2002), sehingga sesuai dengan reaksi yang terjadi dalam proses hidrolisis yang mengacu pada persamaan



Pati            Air            Glukosa

Mode vibrasi kompleks di bawah 800 cm<sup>-1</sup> adalah getaran mode skeletal dari cincin pyranose glukosa (Kizil *et al.*, 2002). Daerah serbuk biji durian ini ditampilkan pada 527,76 cm<sup>-1</sup>, 576,63 cm<sup>-1</sup>, dan 764,49 cm<sup>-1</sup>, residu hidrolisis ditunjukkan pada 648,7



$\text{cm}^{-1}$ , sedangkan pada residu dan filtrat hasil hidrolisis masing-masing menunjukkan bilangan gelombang pada  $648,7 \text{ cm}^{-1}$  dan  $643,7 \text{ cm}^{-1}$ .

Deformasi kompleks molekul secara bersamaan menghasilkan puncak daerah *fingerprint* (Pascaud *et al.*, 2017). Pada daerah ini tepung biji durian memiliki bilangan gelombang  $1022,71 \text{ cm}^{-1}$  dan  $1080,11 \text{ cm}^{-1}$  yang menunjukkan pita C—H serta C—O—H (Pavlovic & Brandao, 2003). Sementara itu, daerah *fingerprint* residu hidrolisis menunjukkan pergeseran puncak bilangan gelombang dengan gugus fungsi  $1073,61 \text{ cm}^{-1}$  dan daerah *fingerprint* residu hidrolisis  $1078,2 \text{ cm}^{-1}$ .

Wilayah antara  $2800\text{-}3000 \text{ cm}^{-1}$  menunjukkan mode stretching C—H untuk mengamati variasi amilosa dan amilopektin dalam pati dengan perubahan transmitansi (Movasaghi *et al.*, 2008). Ikatan C-H (dimana hidrogen tersebut menempel pada karbon yang mempunyai ikatan tunggal dengan unsur-unsur lainnya) menyerap sinar pada jangkauan sekitar  $2853\text{-}2962 \text{ cm}^{-1}$  tepatnya di  $2929,5 \text{ cm}^{-1}$ . Ikatan rangkap antara karbon-oksigen, C=O, adalah salah satu penyerapan yang sangat berguna, yang bisa ditemukan pada daerah sekitar  $1680\text{-}1750 \text{ cm}^{-1}$  tepatnya di  $1632,72 \text{ cm}^{-1}$  pada residu dan  $1633,97 \text{ cm}^{-1}$  pada filtrat hasil hidrolisis. (Zambare & Christopher, 2012)

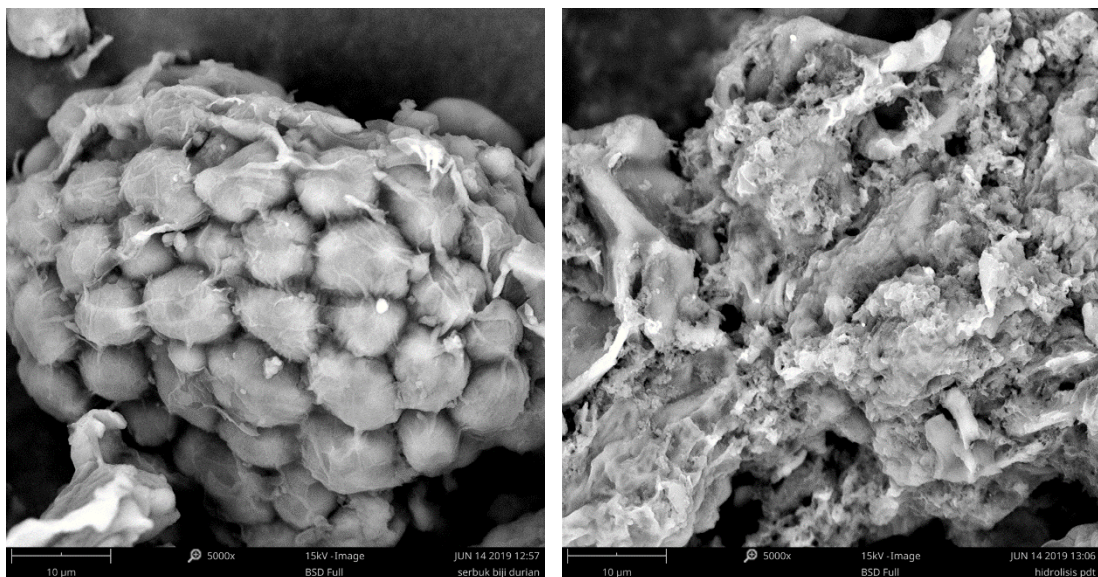
Modus peregangan O—H pati dalam bubuk biji durian berpusat pada  $3392 \text{ cm}^{-1}$  yang mempunyai ciri absorpsi infra merah karena stretching C-O di daerah  $1050\text{-}1200 \text{ cm}^{-1}$ . Maka tepatnya C-O berada di  $1244 \text{ cm}^{-1}$ . Munculnya puncak di daerah bilangan gelombang  $1154,94 \text{ cm}^{-1}$  pada spektral tepung biji durian disebabkan oleh adanya ikatan antara C—O dan C—C (Leopold *et al.*, 2011). Sedangkan ikatan O-H dalam golongan asam timbul pada daerah sekitar  $2300\text{-}3300 \text{ cm}^{-1}$ , sedangkan yang terikat pada rantai pada residu hasil hidrolisis terdapat pada daerah  $2344,3 \text{ cm}^{-1}$ , dan pada filtrat terdapat pada  $2349 \text{ cm}^{-1}$ .

Senyawa eter memberikan serapan kuat di daerah sidik jari. Akan tetapi kerana serapan tersebut disebabkan oleh vibrasi-vibrasi kerangka yang meliputi ikatan C-O, maka frekuensi serapan itu nilainya variabel ( $1000 - 1250 \text{ cm}^{-1}$ ). Karakterisasi glukosa dalam residu dikaitkan pada  $648,7 \text{ cm}^{-1}$  (cincin pyranose glukosa),  $1073,61 \text{ cm}^{-1}$  (C—O—H bending) dan  $1632,72 \text{ cm}^{-1}$  ( $\text{CH}_2$  bending mode). Sedangkan dalam

filtrat dikaitkan pada  $643,7 \text{ cm}^{-1}$  (cincin pyranose glukosa),  $1078,2 \text{ cm}^{-1}$  (C—O—H bending) dan  $1633,97 \text{ cm}^{-1}$  ( $\text{CH}_2$  bending mode). (Pavlovic & Brandao, 2003). Spektrum ini didominasi oleh komponen air, ada mode peregangan O—H dan air yang diadsorpsi dan dapat terlihat dari hasil residu pada  $3394,04 \text{ cm}^{-1}$ ,  $3737,36 \text{ cm}^{-1}$  dan  $3844,08 \text{ cm}^{-1}$  serta hasil filtrat pada  $3418,9 \text{ cm}^{-1}$ , sehingga menjadi O-H lentur (air) yang dapat menjelaskan tentang molekul air getaran dalam larutan berair (Czarneck, 2015).

Interaksi antara air dan pati setelah pemanasan sederhana yang dilakukan menyebabkan beberapa puncak memiliki tugas serupa dengan spektra bubuk biji durian dan residu hasil hidrolisis, sehingga dapat menunjukkan glukosa yang dapat terikat dengan molekul air.

Ketiga data spektral dari bubuk biji durian dan hasil hidrolisis berupa residu dan filtrat memiliki hampir daerah dalam transmitansi yang berbeda. Hal ini disebabkan kandungan bubuk biji durian berkurang setelah hidrolisis tetapi kandungannya masih serupa pada fungsional, kimia, dan struktur pati dan lainnya.



(a)

(b)

Gambar 4.3 Perbandingan mikrograf SEM (a) serbuk biji durian, dan (b) hasil hidrolisis

Karakterisasi menggunakan *Scanning Electron Microscope* dilakukan pada tepung biji durian dan residu hasil hidrolisis tepung biji durian. Analisis morfologi sebelum dan sesudah dihidrolisis menunjukkan perbedaan yang ditunjukkan oleh Gambar 4.3 hasil morfologi dengan perbesaran 5000x tersebut dianalisis untuk mendapatkan informasi bentuk dan ukuran granula pati. Karakterisasi SEM menunjukkan bahwa morfologi dari tepung biji durian yang mengandung karbohidrat akan berubah setelah dihidrolisis karena polisakarida berupa pati akan terpecah menjadi glukosa, sehingga dapat diketahui bahwa langkah hidrolisis sudah tepat dilakukan sebelum proses sintesis bioetanol.

Dapat dilihat pada serbuk biji durian (Gambar 4.3 (a)). yang memiliki bentuk oval dengan ikatan yang rapat dengan ukuran yang hampir sama dan juga tidak homogen serta bentuk granula nya masih mulus dan tidak pecah. Hal ini dikarenakan serbuk biji durian masih terikat oleh amilosa dan amilopektin dan komponen lain yang mengikat selulosa, hal tersebut membentuk susunan struktur granula pati yang akan terpengaruh ketika proses hidrolisis berlangsung (Campanha & Franco, 2011).

Analisis dilakukan menggunakan bantuan program aplikasi paint dan MS excel dengan definisi rata-rata ukuran vertikal dan horizontal (Abdullah & Khairurrijal, 2010). Analisis rata-rata ukuran granula pati tersebut dilakukan dengan mengambil 45 cuplikan granula pada dua gambar hasil yang berbeda namun masih dalam bentuk utuh pada mikrograf SEM tepung biji durian.

Besar ukuran butir pada hasil analisis SEM tersebut memiliki korelasi terhadap kandungan pada granula pati (Cui *et al.*, 2014). Data hasil analisis menunjukkan bahwa rata-rata ukuran granula tepung biji durian adalah sebesar 7,03723  $\mu\text{m}$  dengan nilai maksimum 10,908  $\mu\text{m}$  dan minimum 1,01905  $\mu\text{m}$  .

Sedangkan pada Gambar 4.3(b) merupakan gambar dari serbuk biji durian yang sudah dihidrolisis dengan asam HCl 3M pada suhu 70°C selama 3 jam. Asam sebagai katalisator, akan merusak rantai polimer dari selulosa dan hemiselulosa untuk membentuk gula fermentasi (Laopaiboon, 2010). Pengaruh hidrolisis asam terhadap beberapa sifat pati pada biji buah durian memberikan hasil yang tidak konsisten, diantaranya perubahan kadar amilosa dan daya cerna. Menurut Wurzburg (1989)

jumlah amilosa atau fraksi linier meningkat pada tahap awal proses hidrolisis asam, demikian juga dengan penelitian Faridah *et al.* (2011). Peneliti lain melaporkan bahwa hidrolisis asam menurunkan kadar amilosa seperti dilaporkan Jyoti *et al.* (2005). Daya cerna pati dilaporkan meningkat akibat hidrolisis asam (Faridah *et al.*, 2011; Srichuwong *et al.*, 2005)

Pada permukaan granula hasil hidrolisis mulai terlihat pengerutan, lekukan atau retakan, beberapa granula pati terpecah menjadi lebih kecil karena terjadinya erosi yang berat pada permukaan granula, sebagaimana dilaporkan Hoover (2000) dan Miao *et al.* (2011) dan Li *et al.*, 2010). Permukaan granula terdapat pori-pori dan rongga yang merupakan hasil meningkatnya difusi dalam interior granula (Hoover, 2000). Dilaporkan oleh Miao *et al.* (2011) bahwa dari SEM granula yang terpecah dapat disimpulkan bahwa granula pati membentuk lubang atau terowongan yang berkembang pada interior granula sebelum mereka terpecah.

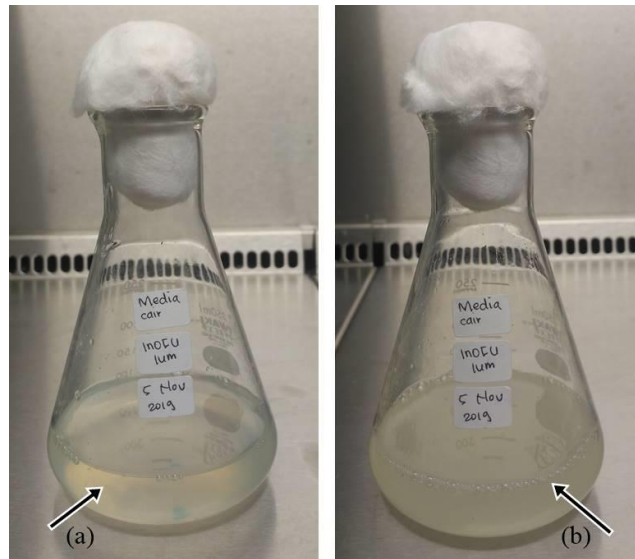
Monomer gula yang terbentuk selama hidrolisis kemudian dikonversi menjadi bioetanol oleh organisme fermentasi seperti *Saccharomyces cerevisiae* (Donato *et al.*, 2019). Tidak hanya itu, pra-perawatan detoksifikasi juga di perlukan karena dapat menjadi pendekatan yang paling efektif dalam memutuskan ikatan antara hemiselulosa, selulosa, dan lignin, menghindari fragmentasi polimer hemiselulosa (Gaspar *et al.*, 2007).

Pembentukan gula pada tahap *pretreatment* harus efektif agar kandungan gula yang akan diproses menjadi bioetanol dapat meningkat (Chen *et al.*, 2017). Telah diteliti bahwa tahap *pretreatment* basa juga diperlukan (Chaturvedi dan Verma, 2013). Beberapa peneliti juga mengatakan bahwa NaOH menghasilkan gula padi lebih tinggi di tahap pra-perawatan yaitu detoksifikasi (Prasad *et al.*, 2019). Detoksifikasi dilakukan dengan mencampur filtrat hasil hidrolisis dengan NaOH sampai pH netral (Gaspar, 2007). Hasil detoksifikasi ditunggu hingga 24 jam hingga terlihat endapan pada larutan. Kemudian larutan disaring dan siap di fermentasi dengan jamur.

## 4.2 Etanol Hasil Fermentasi dan Distilasi

Fermentasi bertujuan untuk mengkonversi gula menjadi asam organik atau alkohol menggunakan bantuan mikroorganisme (Paulová *et al.*, 2013). Glukosa yang diperoleh selanjutnya dilakukan proses fermentasi atau peragian dengan menambahkan yeast sehingga diperoleh bioetanol (Dyah *et al.*, 2011). Yeast yang digunakan untuk produksi bioetanol adalah *Saccharomyces cerevisiae*, yang memiliki toleransi tinggi terhadap etanol dan gula (Mohd *et al.*, 2017). Fermentasi dilakukan pada pH 4,5 karena menurut Yingling *et al.* (2011) yang mempelajari efek dari pH pada konsentrasi bioetanol dan menunjukkan bahwa pH awal yang rendah yaitu 4,5 mencegah bakteri terkena kontaminasi. Pada media fermentasi dengan tingkat pH lebih tinggi dari 4,5, respon dan pertumbuhan sel pada *Saccharomyces cerevisiae* akan terjadi fase jeda yang lama (Liu *et al.*, 2018; Klerk *et al.*, 2018). Jadi, pH adalah salah satu faktor terpenting untuk memproduksi bioetanol.

Sebelum melakukan tahap fermentasi, terlebih dahulu membuat inokulum yang bertujuan untuk memperpendek fase lag yaitu dengan cara mengadaptasikan sel ke dalam media fermentasi. Proses pembuatan inokulum dilakukan di bawah tudung biosafety untuk melindungi *Saccharomices cerevisiae* dari kontaminasi dengan jamur lain.



Gambar 4.4 Perbandingan warna larutan inokulum (a) larutan inokulum sebelum didiamkan selama 24jam; (b) inokulum setelah 24jam dan siap ditambahkan pada larutan fermentasi

Gambar 4.4 (a) menunjukkan inokulum yang baru saja dibuat dan sudah ditambah 3 oase jamur *Saccharomices cerevisiae* sedangkan Gambar 4.4 (b) menunjukkan inokulum yang sudah diinkubasi pada suhu  $30^{\circ}\text{C}$  selama 12 jam dalam *rotary shaker* pada 180 rpm. Terlihat pada Gambar 4.4 (b) bahwa warna larutan inokulum berubah menjadi keruh karena jamur didalamnya sudah berkembang biak dan beradaptasi sehingga siap digunakan untuk proses fermentasi.

Fermentasi hasil hidrolisis tepung biji durian dilakukan dengan memvariasikan lama waktu fermentasi yaitu selama 1, 3, 5, 7, 9, dan 11 hari untuk mendapatkan etanol optimal. Analisis Monir *et al.*, (2019) menunjukkan pertumbuhan jamur maksimum pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$ . Oleh karena itu, seluruh proses fermentasi dilakukan pada suhu ruang  $37^{\circ}\text{C}$  untuk mencapai hasil bioetanol yang maksimum.

Inokulum sebanyak 12 ml ditambahkan pada 600 ml larutan yang siap difermentasi sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Tan *et al.*, (2019) yang

mengatakan bahwa diperlukan 2 ml inokulum pada setiap 100 ml larutan yang akan difermentasi.

Mekanisme fermentasi dilakukan pada fermentor tertutup tanpa udara karena menurut Carrasco *et al.*, (2010) yang telah meneliti efek dari menggunakan fermentor tertutup pada jamur *Saccharomococ cerevisiae* akan menghasilkan etanol yang lebih tinggi.

Kadar etanol hasil fermentasi masih mengandung ikatan dengan air sebesar 95% dan juga masih mengandung berbagai macam senyawa dan pengotor, untuk itu perlu dilakukan tahap pemisahan khusus seperti distilasi (Rohman *et al.*, 2013; San *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2010).



Gambar 4.5 Tahap distilasi

Saat proses distilasi, sangat penting menentukan parameter suhu titik didih etanol yaitu kisaran  $78,39^{\circ}\text{C}$ , sehingga etanol dapat mendidih dan menguap meninggalkan senyawa lainnya yang memiliki titik didih di atasnya (Gao *et al.*, 2019). Suhu panas tersebut dapat menghasilkan kadar kemurnian etanol yang tinggi hingga mencapai 96% dan jika suhu panas tinggi kadar kemurnian etanol akan menurun (Rawung, 2019). Penelitian ini menggunakan suhu dengan kisaran  $78^{\circ}\text{C}$  sampai  $80^{\circ}\text{C}$  karena secara teknis pemanas tidak dapat secara presisi mempertahankan suhu tetapnya.

Prinsip proses distilasi pada Gambar 4.5 didasari oleh perbedaan titik didih masing-masing zat yang terkandung dari hasil fermentasi. Etanol dalam cairan fermentasi menguap setelah suhu melewati nilai titik didih nya. Pada proses pemanasan, uap yang mengandung etanol naik ke kolom dan mengembun, nantinya menetes ke bawah menuju botol penampungan. Hasil distilasi tak berwarna dan memiliki aroma yang menyengat seperti tape.

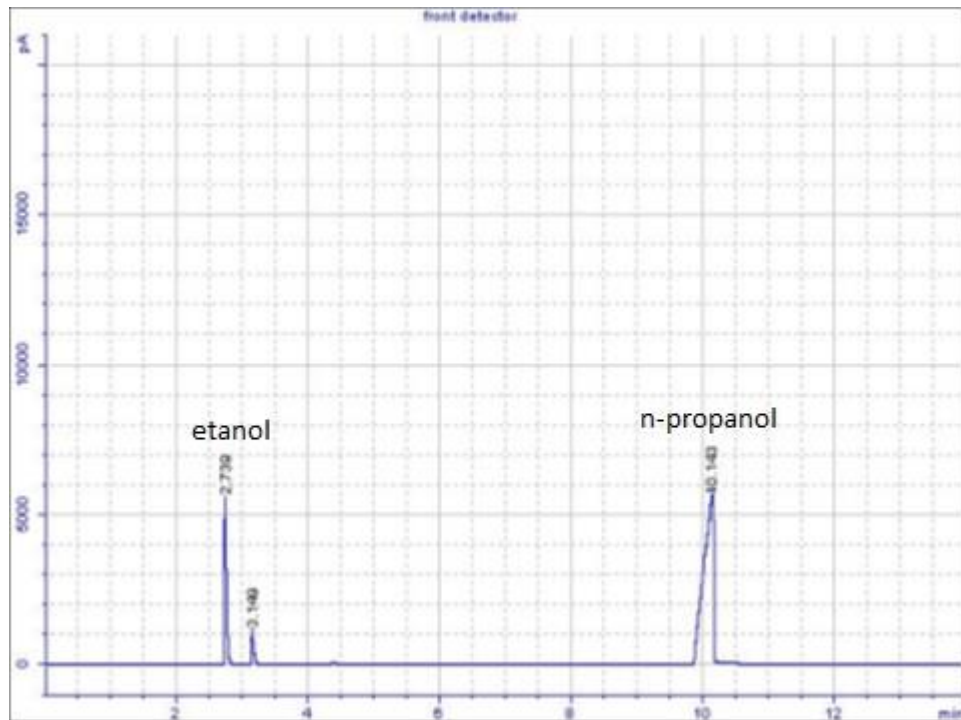
Pasca fermentasi, larutan hasil distilasi yang mengandung bioetanol dianalisis menggunakan gas kromatografi (Trivedi *et al.*, 2016). Gas Kromatografi merupakan metode yang dinamis untuk pengesahan dan deteksi senyawa-senyawa yang mudah menguap serta stabil pada pemanasan tinggi secara kualitatif dan kuantitatif dalam suatu campuran (Bintang, 2010., Gandjar, 2007). Hasil pada uji gas kromatografi digunakan untuk menentukan persentase etanol (% v / v) (Lee dan Halim 2014).

Diperlukan senyawa tambahan sebagai standar internal ditujukan agar terjadi pemisahan sempurna antar *peak* sampel, sehingga pengukuran kadar setiap senyawa tidak dipengaruhi oleh senyawa lain. Selain itu optimasi juga digunakan agar *peak* sampel tidak bertumpuk juga dengan standar internal. Senyawa yang digunakan sebagai standar internal yaitu n-propanol.

Kadar senyawa etanol diketahui dengan menghitung luas area kromatogram (Dean, 1995). Analisis kualitatif dilakukan dengan membandingkan waktu retensi (tR) sampel dengan waktu retensi (tR) etanol dengan menggunakan standar internal n- butanol. Analisis kualitatif ini dilakukan untuk membuktikan bahwa di dalam sampel yang diuji terdapat etanol. Hal tersebut ditunjukkan dengan adanya (tR) sampel dengan (tR) baku pembanding yang sama.

Pengujian larutan standar dilakukan untuk mengetahui jenis alkohol yang digunakan berdasarkan waktu retensi sehingga dapat dilihat pada hasil kromatogram yang memperoleh kurva kalibrasi etanol yang dipreparasi dengan n-propanol dapat dilihat pada Gambar 4.6





Gambar 4.6 Kromatogram etanol dengan standar internal n-propanol

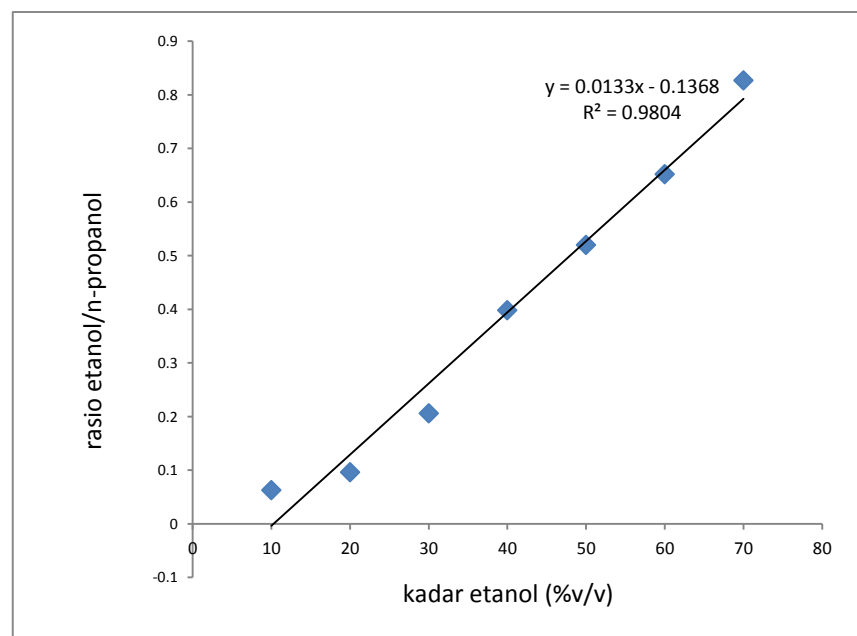
Pengujian larutan standar dilakukan untuk mengetahui jenis alkohol yang digunakan berdasarkan waktu retensi. Kadar alkohol secara kualitatif ditentukan oleh waktu retensi puncak standart (etanol), dimana apabila waktu retensi puncak sampel mendekati waktu retensi puncak standart, maka sampel tersebut dapat diduga mengandung etanol.

Kromatogram diatas menunjukkan waktu retensi untuk etanol adalah 2,5 hingga 3 atau yang mendekatinya, dan peak kedua merupakan n-propanol dengan waktu retensi 10 hingga 10,5 atau yang mendekatinya. Maka dapat dilihat bahwa etanol keluar lebih dahulu dibanding n-propanol, karena memiliki waktu retensi yang lebih pendek. Sedangkan n-propanol tertahan lebih lama sehingga keluar lebih lambat. Hasil kromatogram gas menunjukkan bahwa etanol muncul pada waktu retensi 2,739 menit atau yang mendekatinya dan n-propanol muncul pada waktu retensi 10,143 menit atau mendekatinya sama seperti penelitian yang dilakukan oleh Shudaker & Jain (2016).

Dapat dilihat pula etanol dan n-propanol memiliki pemisahan puncak yang baik. Setelah didapat kromatogram dapat dihitung luas area puncak etanol dan n-propanol dari kromatogram kemudian dicari rasio luas area puncak untuk komponen etanol dan n-propanol dengan perhitungan :

$$Luas\ area = \frac{Luas\ area\ etanol}{Luas\ area\ n-propanol} \quad (4.1)$$

Nilai koefisien korelasi dapat digunakan sebagai parameter untuk menentukan linearitas sehingga perhitungan hasil analisis memperoleh persamaan garis regresi senyawa standar. Berdasarkan hasil analisis dengan menggunakan data uji Kromatografi Gas dapat dilihat pada Gambar 4.6 yang menunjukkan persamaan regresi linear  $y = 0,0133x - 0,1368$  dan nilai koefisien korelasi sebesar 0,9804. Hal ini menunjukkan bahwa instrumen kromatografi gas yang digunakan dalam keadaan baik dan memberikan hasil yang baik dalam pengukuran etanol dan n-propanol.



Gambar 4.7 Grafik kurva hubungan antara kadar etanol (%v/v) dengan rasio area etanol/n-Propanol

Gambar 4.7 menunjukkan hubungan linear antara jumlah analit dengan respon rasio area etanol/n-propanol. Kurva tersebut menggambarkan terjadinya peningkatan respon rasio area etanol/n-Propanol proporsional sesuai dengan meningkatnya jumlah analit di dalam sampel.

Berdasarkan perhitungan dengan cara mensubstitusikan nilai  $x$  (konsentrasi) dan  $y$  (area count etanol/area count n-propanol) pada sampel, maka dapat diketahui kadar (konsentrasi) sampel dengan cara mensubstitusikan nilai  $y$  sehingga diperoleh kadar etanol seperti pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 kadar etanol sampel

lama waktu fermentasi (hari)	hasil etanol (%v/v)
1	10,93
3	14,23
5	14,33
7	14,37
9	14,72
11	14,54

Kadar etanol terendah 10,93%(v/v) terdapat pada hasil fermentasi pada hari pertama sedangkan etanol tertinggi adalah 14,72%(v/v) dengan lama waktu fermentasi 9 hari. Maka dapat dihitung sebanyak 100 ml larutan hasil distilasi mengandung 14,72 ml etanol.

Proses fermentasi akan mengubah kandungan glukosa larutan menjadi etanol sehingga kandungan glukosa akan mengalami penurunan. Laju berkurangnya glukosa terhadap waktu fermentasi  $\frac{dC}{dt}$  sebanding dengan  $C$  jumlah glukosa saat itu, sehingga dapat ditulis

$$-\frac{dC}{dt} \propto C \quad (4.2)$$

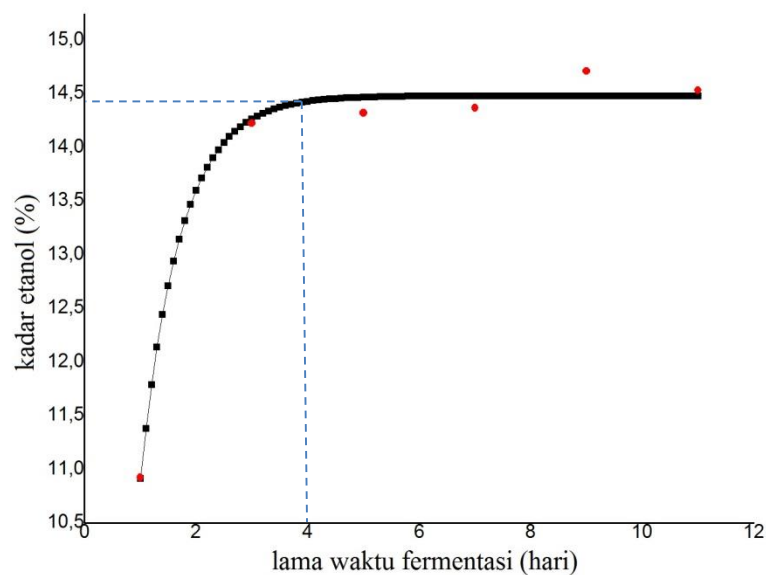
Fenomena laju pertumbuhan kandungan etanol  $C_{etanol}(t)$  yang terbentuk selama proses fermentasi sebesar:

$$C_{etanol}(t) = C_0(1 - e^{-kt}) \quad (4.3)$$

Dapat dilihat bahwa besar kadar etanol sama dengan besar kadar awal glukosa  $C_0$  dikurangi kadar glukosa selama proses fermentasi, yaitu:

$$C_{etanol} = C_0 - C_{glukosa}(t) \quad (4.5)$$

Lebih lanjut, persamaan (4.3) digunakan untuk fitting grafik yang ditunjukkan pada Gambar 4.8, didapat kadar awal etanol 14,49 dan konstanta produksi etanol 1,41. Lebih lanjut, Gambar 4.8 menunjukkan pendekatan kadar etanol hasil fermentasi dengan rentang waktu 2,4 jam dengan kadar etanol hasil penelitian selama 11 hari dengan rentang 2 hari..



Gambar 4.8 Grafik hubungan kadar etanol dengan lama waktu fermentasi

*Saccharomyces cerevisiae* dapat tumbuh dengan cepat pada larutan yang memiliki kadar glukosa yang tinggi dan dapat memfermentasi glukosa langsung ke etanol (Rolfe *et al.*, 2012). Dapat dilihat pada Gambar 4.8 bahwa aktifitas *Saccharomyces cerevisiae* untuk memproduksi etanol sudah terlihat meningkat

pada hari pertama selama fermentasi. Kandungan etanol mengalami kenaikan secara eksponensial berdasarkan fungsi waktu yang dapat dilihat pada hari pertama hingga mencapai kadar maksimal etanol pada hari ke-4 dengan kadar 14,45%,

Berdasarkan Tabel 4.2 dengan menganalogikan peluruhan glukosa menjadi etanol melalui Persamaan 4.3 yang menghasilkan pendekatan pada Gambar 4.8 berupa fitting, dapat disimpulkan bahwa setelah fermentasi lebih dari 4 hari, kecenderungan naiknya kadar etanol sangat lambat, sehingga waktu fermentasi hanya butuh waktu 4 hari saja. Hal ini disebabkan karena pada waktu tersebut, *Saccharomyces cerevisiae* mulai memasuki fase ekponensial etanol sebagai metabolit primer, selanjutnya *Saccharomyces cerevisiae* mulai memasuki fase stasioner.

Setelah kada etanol mencapai maksimal pada hari ke-4, kadar etanol mengalami penurunan yang sangat lambat terjadi karena peristiwa oksidasi pada saat proses fermentasi, sehingga glukosa yang seharusnya terkonversi menjadi etanol melalui jalur glikolisis justru sebagian berubah menjadi asam asetat dan air (Sebayang, 2006). Berkurangnya kadar etanol juga dapat disebabkan karena etanol telah dikonversi menjadi senyawa lain, misalnya ester (Sari *et al.*, 2018). Kondisi ini mengakibatkan media fermentasi semakin asam dan dapat menghambat fase pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* (Wardani & Nurtyastuti, 2013). Turunnya kadar etanol juga dikarenakan kandungan glukosa mengalami penurunan karena adanya aktivitas fermentasi oleh *Saccharomyces cerevisiae* yang menggunakan glukosa sebagai sumber nutrisi dan energi (Masturi *et al.*, 2017), maka kadar etanol yang terbentuk selama proses fermentasi dapat dipengaruhi oleh lama waktu fermentasi.

Menurut Prihandana (2007), etanol dikategorikan dalam dua kelompok utama, yaitu:

1. Etanol 95-96%, disebut dengan “etanol berhidrat”, yang dibagi dalam:
  - a. Technical/raw spirit grade, digunakan untuk bahan bakar spiritua, minuman, desinfektan, dan pelarut.
  - b. Industrial grade, digunakan untuk bahan baku industri dan pelarut.

- c. Potable grade, untuk minuman berkualitas tinggi.
- 2. Etanol > 99,5%, digunakan untuk bahan bakar. Jika dimurnikan lebih lanjut dapat digunakan untuk keperluan farmasi dan pelarut di laboratorium analisis. Etanol ini disebut dengan dengan Fuel Grade Ethanol (FGE) atau anhydrous ethanol (etanol anhidrat) atau etanol kering, yakni etanol yang bebas air atau hanya mengandung air minimal.

Jika digunakan sebagai bahan bakar, etanol memiliki kelebihan dan kekurangan masing-masing bila dibandingkan dengan bahan bakar biasa seperti bensin dan diesel. Bahan bakar etanol ini membutuhkan rasio kompresi yang tinggi agar mesin bisa menyala. Etanol ini memiliki angka oktan yang tinggi, dengan angka oktan 109. (angka oktan bahan bakar Premium standar di Indonesia adalah 88) (Owen, 2015).

Kementerian Energi dan Sumber Daya Mineral (KESDM) sudah merilis Peraturan Menteri ESDM Nomor 12 Tahun 2015 yang di dalamnya menyebutkan bahwa penggunaan bioetanol di Indonesia diwajibkan pada 2020 dengan formulasi 5% etanol dan 95% bensin.

Keterbelakangan penelitian ini adalah hasil etanol yang didapat belum bisa langsung digunakan sebagai campuran bahan bakar sehingga penelitian bioetanol ini masih perlu dikaji serta diuji lebih lanjut mengenai teknik pembuatan, kelayakan secara ekonomi, serta kelayakannya sebagai bahan bakar.

## **BAB 5**

### **SIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Simpulan**

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa pemberian variasi lama waktu fermentasi tepung biji buah durian mempengaruhi kadar bioetanol yang dihasilkan sehingga dapat memproduksi bioetanol dengan nilai tertinggi yaitu 14,45%(v/v) pada lama waktu fermentasi 4 hari. Pembuatan bioetanol dari 100 gram tepung biji durian dapat menghasilkan 6,182 ml etanol.

#### **5.2 Saran**

Penelitian lebih lanjut mengenai modifikasi teknis fermentasi perlu dilakukan untuk mengurangi oksidasi yang terjadi sehingga bisa didapatkan kadar etanol yang tinggi. Memodifikasi tahap *pretreatment* agar mendapatkan glukosa yang tinggi sehingga dapat dikonversi oleh jamur dan menghasilkan etanol yang diharapkan. Setiap langkah perawatan dan pembuatan sampel harus dilakukan dengan teliti dan steril.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, M. & Khairurrijal 2010. *Karakterisasi Nanomaterial : Teori, Penerapan, dan Pengolahan Data*. Bandung: CV Rezeki Putera.
- Abdullah, Z., Md. Som, A. & Hidzir, N.S. 2015. Ethanol Production via Direct Hydration of Ethylene: A review. *International Conference on Global Sustainability and Chemical Engineering (ICGSE)*, 56(7): 8–13.
- Aditiya, H.B., Mahlia, T.M.I., Chong, W.T., Nur, H., Sebayang, A.H., 2016. Second generation bioethanol production: a critical review. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 66, 631e653. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.07.015>.
- Agbor VB, Cicek N, Sparling R, Berlin A, Levin DB. 2011. Biomass pretreatment: fundamentals toward application. *Biotechnol Adv* 29:675–685
- Agra I.B., Wairniyati, S. Dan Pujiyanto. 1973. Hidrolisis ketela rambat pada suhu lebih dari 100°C, *Forum Teknik* Jilid 3. UGM: Yogyakarta
- Ahmed, A.S., Khan, S., Hamdan, S., Rahman, R., Kalam, A., Masjuki, H.H., Mahlia, T.M.I., 2010. Biodiesel production from macro algae as a green fuel for diesel engine. *J. Energy Environ.* 2, 1–5.
- Aikawa S, Joseph A, Yamada R, Izumi Y, Yamagishi T, Matsuda F, Kawai H, Chang J-S, Hasunuma T, Kondo A: Direct conversion of Spirulina to ethanol without pretreatment or enzymatic hydrolysis processes. *Energy Environ Sci* 2013, 6:1844–1849.
- Akhtar MN. Biofuel: a stepping stone towards sustainable development. *Int J Technol BioSci* 2016;5:1e12.
- Alison Banka & Tidarat Komolwanich. Sujitra Wongkasemjit. 2014. *Potential Thai grasses for bioethanol production*. Springer Science+Business Media Dordrecht 2014
- Alvira P, Tomás-Pejó E, Ballesteros M, Negro MJ. Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review. *Bioresour Technol* 2010;101(13):4851-4861.
- Binod P, Sindhu R, Singhanian RR, Vikram S, Devi L, Nagalakshmi S, Kurien N,



- Sukumaran RK, Pandey A. Bioethanol production from rice straw: An overview. *Bioresour Technol* 2010; 101:(13)4767–4774.
- Bemiller, J.N. & Whistler, R.L. 1996. Carbohydrates. O.R. Fennema, ed., *Food Chemistry*, 3 ed. America: CRC Press Tylor & Francis Group, hal.157–223.
- Blum, M.-M. & John, H. 2012. Historical Perspective and Modern Applications of Attenuated Total Reflectance - Fourier Transform Infrared Spectroscopy (ATR-FTIR). *Drug Testing and Analysis*, 4(3–4): 298–302. Tersedia di <http://doi.wiley.com/10.1002/dta.374>.
- Boateng AA, Hicks KB, Flores RA, dan Gutsol A. 2007. Pyrolysis of hull-enriched byproducts from the scarification of hulled barley. *Journal of analytical and applied pyrolysis*, 78(1)
- Bothast, R.J., Schlicher, M. A, 2005. Biotechnological processes for conversion of corn into ethanol. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 67, 19–25. doi:10.1007/s00253-004-1819-8
- Brodeur G, Yau E, Badal K, Collier J, Ramachandran KB, Ramakrishnan S (2011) Chemical and physicochemical pretreatment of lignocellulosic biomass: a review. *Enzyme Res* 2011:787532
- Campanha, R.B. & Franco, C.M.L. 2011. Gelatinization Properties of Native Starches and their Nægeli Dextrins. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 106(3): 799–804.
- Chandra, A. & Ingrid, H.M. 2013. *Pengaruh pH dan Jenis Larutan Perendam pada Perolehan dan Karakterisasi Pati dari Biji Alpukat*. Bandung. Tersedia di <http://journal.unpar.ac.id/index.php/rekayasa/article/viewFile/253/238>.
- Chapados, C. & Max, J.-J. 2007. IR Spectroscopy of Glucose And Fructose Hydrates in Aqueous Solutions. *J.Phys.Chem.A*, 111: 2679–2689.
- Chen, H., Liu, J., Chang, X., Chen, D., Xue, Y., Liu, P., Lin, H., Han, S., 2017. A review on the pretreatment of lignocellulose for high-value chemicals. *Fuel Process. Technol.* 160, 196–206. doi:10.1016/j.fuproc.2016.12.007
- Choonut, A., Saejong, M., Sangkharak, K., 2014. The production of ethanol and hydrogen from pineapple peel by *Saccharomyces cerevisiae* and *Enterobacter aerogenes*. In: 2013 International Conference on Alternative Energy in Developing Countries and Emerging Economies. *Energy Procedia*,

- Claassen PAM 1999. Galbe M., 2002. Sun Y., 2002. Taherzadeh MJ 2007.
- Claassen PAM, van Lier JB, Lopez Contreras AM, van Niel EWJ, Sijtsma L, Stams AJM, de Vries SS, Weusthuis RA. Utilisation of biomass for the supply of energy carriers. *Appl Microbiol Biotechnol* 1999, 52:741-755.
- Cui, L., Dong, S., Zhang, J. & Liu, P. 2014. Starch Granule Size Distribution and Morphogenesis in Maize (*Zea mays* L.) Grains with Different Endosperm Types. *Australian Journal of Crop Science*, 8(11): 1560–1565.
- De Klerk C, Fosso-Kankeu E, Du Plessis L, Marx S. Assessment of the viability of *Saccharomyces cerevisiae* in response to synergetic inhibition during bioethanol production. *Curr Sci* 2018;115:1124e32.
- Di Donato, P., Finore, I., Poli, A., Nicolaus, B., Lama, L., 2019. The production of second generation bioethanol: The biotechnology potential of thermophilic bacteria. *J. Clean. Prod.* 233, 1410–1417. doi:10.1016/j.jclepro.2019.06.15
- Devarapalli, M. & Atiyeh, H.K. 2015. A Review of Conversion Processes for Bioethanol Production with A Focus on Syngas Fermentation. *Biofuel Research Journal*, 2(3): 268–280.
- Dutta, K., Daverey, A., Lin, J., 2014. Evolution retrospective for alternative fuels : First to fourth generation. *Renew. Energy* 69, 114–122. doi:10.1016/j.renene.2014.02.044
- Dyah Tri dan Wasir Nuri . Pembuatan Bioetanol dari Kulit Pisang. 2011. Pengembangan Teknologi Kimia untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia, Jurusan Teknik Kimia FTI UPN : Yogyakarta.
- E.N. Oh, N. Wei, S. Kwak, H. Kim, Y.–S. Jin, Overexpression of RCK1 improves acetic acid tolerance in *Saccharomyces cerevisiae*, *J. Biotechnol.* 292 (2019) 1–4.
- Elga, Sonia Purba & Togu Gultom. 2018. Determination Of Optimum Time In Fermentation For Producing Ethanol From Avocado Seeds : Yogyakarta
- Elliston, S.R.A. Collins, D.R. Wilson, I.N. Roberts, K.W. Waldron, High concentrations of cellulosic ethanol achieved by fed batch semi simultaneous saccharification and fermentation of waste-paper, *Bioresour. Technol.* 134 (2013) 117–126. doi:10.1016/j.biortech.2013.01.084.

- Eskuchen, R., Nitsche, M. 1997. Technology and production of alkyl polyglycolides. In Ribinski W, Hill K (eds) alkyl polyglycolides. Technology Properties and applications Wiley-VCH. Weinheim
- Farrell, A.E. 2006. Ethanol can Contribute to Energy and Environmental Goals. *Science*, 311(5760): 506–508. Tersedia di <http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.1121416>.
- Fatimah, Lia, F.G. & Rahmasari, L.G. 2013. Kinetika Reaksi Fermentasi Alkohol dari Buah Salak. *Jurnal Teknik Kimia USU*, 2(2): 16–20. Tersedia di <http://download.portalgaruda.org/article.php?article=110946&val=4138>.
- Galbe M, Zacchi G. A review of the production of ethanol from softwood. *Appl Microbiol Biotechnol* 2002, 59:618–628.
- Gardner, B. 2007. Fuel Ethanol Subsidies and Farm Price Support. *Journal of Agricultural & Food Industrial Organization*, 5(2): 1–20. Tersedia di <http://www.degruyter.com/view/j/jafio.2007.5.2/jafio.2007.5.2.1188/jafio.2007.5.2.1188.xml>.
- Gaspar M, Kalman G, Reczey K. Corn fiber as a raw material for hemicellulose and ethanol production. *Process Biochem* 2007; 42: 1135–1139.
- Gawande, S.B., Patil, I.D., 2018. Experimental Investigation and Optimization for Production of Bioethanol from Damaged Corn Grains. *Mater. Today Proc.* 5, 1509–1517. doi:10.1016/j.matpr.2017.11.240
- Ghosh, R. & Bagchi, B. 2016. Temperature Dependence of Static and Dynamic Heterogeneities in a Water–Ethanol Binary Mixture and a Study of Enhanced, Short-Lived Fluctuations at Low Concentrations. *The Journal of Physical Chemistry B*, 120(49): 12568–12583. Tersedia di <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.jpcc.6b06001>.
- Gnansounou, E. & Dauriat, A. 2005. Ethanol Fuel from Biomass: A Review. *Journal of Scientific and Industrial Research*, 64(11): 809–821.
- Gundupalli, M.P. & Bhattacharyya, D. 2017. Ethanol Production from Acid Pretreated Food Waste Hydrolysate using *Saccharomyces cerevisiae* 74D694 and Optimizing the Process using Response Surface Methodology. *Waste and Biomass Valorization*, 5(4): 1–8. Tersedia di

<http://link.springer.com/10.1007/s12649-017-0077-9>.

- Habib, M., Yusoff, F., Phang, S., Kamarudin, M., Mohamad, S., 1998. Chemical characteristics and essential nutrients of agroindustrial effluents in Malaysia. *Asian Fish J.* 11, 279–286.
- Hoover, R., Hughes, T., Chung, H.J. & Liu, Q. 2010. Composition, Molecular Structure, Properties, and Modification of Pulse Starches: A Review. *Food Research International*, 43(2): 399–413. Tersedia di <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.001>.
- Hughes, S.R., Hector, R.E., Rich, J.O., Qureshi, N., Bischoff, K.M., Dien, B.S., Saha, B.C., Liu, S., Cox, E.J., Jackson, J.S., Sterner, D.E., Butt, T.R., Labaer, J. & Cotta, M.A. 2009. Automated Yeast Mating Protocol Using Open Reading Frames from *Saccharomyces cerevisiae* Genome to Improve Yeast Strains for Cellulosic Ethanol Production. *Journal of Laboratory Automation*, 14(4): 190–199. Tersedia di <http://dx.doi.org/10.1016/j.jala.2008.12.009>.
- Hutapea P. 2010. Pembuatan Tepung Biji Durian dengan Variasi Perendaman dalam Air Kapur dan Uji Mutunya. Medan : Universitas Sumatera Utara
- Ibarruri, J. & Hernández, I. 2017. *Rhizopus oryzae* as Fermentation Agent in Food Derived Sub-products. *Waste and Biomass Valorization*, 5(1): 1–9.
- Ishola, M.M., Isroi, Taherzadeh, M.J., 2014. Effect of fungal and phosphoric acid pretreatment on ethanol production from oil palm empty fruit bunches (OPEFB). *Bioresour. Technol.* 165, 9–12.
- Jane, J., Y.Y. Chen, L.F. Lee, A.E. McPherson, K.S. Wong, M. Radosavljevic, and T. Kasemsuwan. 1999. Effect of amylopectin branch chain length and amylose content on the gelatinization and pasting properties of starch. *Cereal Chem.* 76(5): 629 – 637.
- Jhonprimen H.S. dkk. 2016. Pengaruh Masa Ragi Pada Bioetanol Biji Buah Durian. Universitas Brawijaya : Palembang.
- Ji XJ, Huang H, Nie ZK, Qu L, Xu Q, Tsao GT (2012) Fuels and chemicals from hemicellulose sugars. *Adv Biochem Eng Biotechnol* 128:199–224
- Jufri, A. 2006. Studi Kemampuan Pati Biji Durian Sebagai Bahan Pengikat dalam Tablet Ketoprofen. *Majalah Ilmu Kefarmasian*

- Katsimpouras, C., Dedes, G., Bistis, P. 2018. Aceton/Water oxidation of corn stover for the production of bioethanol and prebiotic oligosaccharides. *Bioresource Technology*.
- Kiers, J., Zeeman, A.M., Luttik, M., et al., 1998. Regulation of alcoholic fermentation in batch and chemostat cultures of *Kluyveromyces lactis* CBS 2359. *Yeast* 14, 459–469.
- Kirk and Othmer . 1991. *Encyclopedia of Chemical Technology, A to Alkaloids*. Willey : Univesitas Michigan
- Kizil, R., Irudayaraj, J. & Seetharaman, K. 2002. Characterization of Irradiated Starches by using FT-Raman and FTIR Spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(14): 3912–3918.
- Kosaric, N., Duvnjak, Z., Farkas, A., Sahm, H., Meyer, B.O. & Goebel 1993. Ethanol. Weinheim, ed., Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, 5 ed. Jerman: Verlag-Chemie, hal.587–653.
- Laos, K., Kirs, E., Kikkas, A. & Paalme, T. 2006. Crystallization of Sugar Solutions. *Journal of Food Physics*, 69–74. Tersedia di [http://epa.niif.hu/02400/02408/00001/pdf/EPA02408\\_journal\\_of\\_food\\_physics\\_2006\\_69-74.pdf](http://epa.niif.hu/02400/02408/00001/pdf/EPA02408_journal_of_food_physics_2006_69-74.pdf).
- Le Man, H., Behera, S.K. & Park, H.S. 2010. Optimization of Operational Parameters for Ethanol Production from Korean Food Waste Leachate. *International Journal of Environmental Science & Technology*, 7(1): 157–164. Tersedia di <http://link.springer.com/10.1007/BF03326127>.
- Leopold, L.F., Leopold, N., Diehl, H.-A. & Socaciu, C. 2011. Quantification of Carbohydrates in Fruit Juices using FTIR Spectroscopy and Multivariate Analysis. *Spectroscopy*, 26(2): 93–104. Tersedia di <http://dx.doi.org/10.3233/SPE20110529%5Cnhttp://www.hindawi.com/journals/spectroscopy/2011/285890/abs/>
- Li, Y., Horsman, M., Wang, B., Wu, N., Lan, C., 2008. Effects of nitrogen sources on cell growth and lipid accumulation of green alga *Neochloris oleoabundans*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 81, 629–636.
- Liu C, Luo G, Wang W, He Y, Zhang R, Liu G. The effects of pH and

- temperature on the acetate production and microbial community compositions by syngas fermentation. *Fuel* 2018;224:537e44.
- Logsdon, J. 1994. Ethanol. M. Howe-Grant, ed., *Encyclopedia of Chemical Technology*, 9 ed. New York: John Wiley & Sons, hal.812–860.
- Loret, M., Franc, J. & Benbadis, L. 2007. Physiological Behaviour of *Saccharomyces cerevisiae* in Aerated Fed-Batch Fermentation for High Level Production of Bioethanol. *FEMS Yeast Research*, 7(September): 22–32.
- M. Han, K.E. Kang, Y. Kim, G.-W. Choi, High efficiency bioethanol production from barley straw using a continuous pretreatment reactor, *Process Biochem.* 48 (3) (2013) 488–495.
- M. Lainez, H.A. Ruiz, M. Arellano-Plaza, S. Martínez-Hernandez, Bioethanol production from enzymatic hydrolysates of *Agave salmiana* leaves comparing *S. cerevisiae* and *K. marxianus*, *Renew. Energy* 138 (2019) 1127e1133.
- Mamo G, Faryar R, Karlsson EN: Microbial glycoside hydrolases for biomass utilization in biofuels applications. In *Biofuel Technologies*. Edited by Gupta VK, Tuohy MG. Heidelberg: Springer; 2013:171–188.
- Maryam, Kasim, A. & Santosa 2016. Utilization Starch of Avocado Seed (*Persea Americana* Mill.) as A Raw Material for Dextrin. *Journal of Food Science and Engineering*, 6: 32–37.
- Masturi, Cristina, A., Istiana, N. & Dwijananti, P. 2017. Ethanol Production from Fermentation of Arum Manis Mango Seeds (*Mangifera Indica* L.) using *Saccharomyces cerevisiae*. *Jurnal Bahan Alam Terbarukan*, 6(1): 56–60.
- Matsakas, L., Kekos, D., Loizidou, M. & Christakopoulos, P. 2014. Utilization of Household Food Waste for The Production of Ethanol At High Dry Material Content. *Biotechnology for Biofuels*, 7(1): 4. Tersedia di <http://biotechnologyforbiofuels.biomedcentral.com/articles/10.1186/1754-6834-7-4>.
- Max JJ, Chapados C (2007) Glucose and fructose in aqueous solution by IR

- spectroscopy. *Journal of Physical Chemistry A*.
- McNair, H.M. & Bonelli, E.J. 1988. *Dasar Kromatografi Gas*. 5 ed. Bandung: ITB.
- McNair, H.M. & Miller, J.M. 1998. *Basic Gas Chromatography*. 1 ed. United States of America: John Wiley & Sons.
- Mehmet Melikoglu, Burcu Turkmen Department of Chemical Engineering, Gebze Technical University, 41400, Gebze, Kocaeli, Turkey. 2019. Food waste to energy: Forecasting Turkey's bioethanol generation potential from wasted crops and cereals till 2030.
- Mete Altıntaş, M., Ülgen, K.Ö., Kirdar, B., Ilsen Önsan, Z. & Oliver, S.G. 2002. Improvement of Ethanol Production from Starch by Recombinant Yeast Through Manipulation of Environmental Factors. *Enzyme and Microbial Technology*, 31(5): 640–647.
- Michael J. Brown. 2007. Durio- A Bibliographic Review. Department Of Plant Science: Canada
- Millati, R., Wikandari, R., Trihandayani, E.T., Cahyanto, M.N., Taherzadeh, M.J., Niklasson, C., 2011. Ethanol from Oil Palm Empty Fruit Bunch via Dilute-Acid Hydrolysis and Fermentation by *Mucor indicus* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Agric. J.* 6, 54–59.
- Minarni, N., Ismuyanto, B., dan Sutrisno. 2013. Pembuatan Bioetanol dengan bantuan *Saccharomyces Cerevisiae* dari glukosa hasil hidrolisis biji durian. *Kimia Student Journal*, 1(1).
- Mirhosseini, H.; Tabatabaee Amid, B. Shear flow behaviour and emulsion stabilizing effect of natural polysaccharide-protein gum in aqueous system and oil/water (O/W) emulsion. Selangor, Malaysia: Department of Food Technology, University Putra Malaysia, 2012.
- Mohapatra S, Ray RC, Ramachandran S. Chapter 1 – Bioethanol From Biorenewable Feedstocks: Technology, Economics, and Challenges. In: Ray RC, Ramachandran SBT-BP from FC, editors, Academic Press; 2019, p. 3–27. doi: 10.1016/B978-0-12-813766-6.00001 1.
- Mohd Azhar, R. Abdulla, S.A. Jambo, H. Marbawi, J.A. Gansau, A.A. Mohd

- Faik, K.F. Rodrigues, Yeasts in sustainable bioethanol production: a review, *Biochem. Biophys. Rep.* 10 (2017) 52e61. Akhtar MN. Biofuel: a stepping stone towards sustainable development. *Int J Technol BioSci* 2016;5:1e12.
- Moreno, J. & Peinado, R. 2012. *Ecological Chemistry*. United States of America: Academic Press : Elsevier. Tersedia di <https://books.google.co.id/books?id=bqIVHFF52sAC&printsec=frontcover&hl=id#v=onepage&q&f=false>.
- Movasaghi Z, Rehman S and Rehman I U 2008 Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy of biological tissues *Appl. Spectrosc. Rev.* 43 134–79
- Murthy, G.S., Johnston, D.B., Rausch, K.D., Tumbleson, M.E. & Singh, V. 2011. Starch Hydrolysis Modeling: Application to Fuel Ethanol Production. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 34(7): 879–890.
- Naik, S.N., Goud, V. V., Rout, P.K., Dalai, A.K., 2010. Production of first and second generation biofuels: A comprehensive review. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 14, 578– 597. doi:10.1016/j.rser.2009.10.003
- Nimpaiboon, A. & Sakdapipanich, J. 2013. A Model Study on Effect of Glucose on The Basic Characteristics and Physical Properties of Natural Rubber. *Polymer Testing*, 32(8): 1408–1416. Tersedia di <http://dx.doi.org/10.1016/j.polymertesting.2013.09.003>.
- Oladeji. 2011. Comparative Fuel Characterization Of Briquettes Produced From Two Species Cprncop. *Journal Of Energy Technologies and Policy*
- Okamoto, K., Nitta, Y., Maekawa, N., Yanase, H., 2011. Direct ethanol production from starch, wheat bran and rice straw by the white rot fungus *Trametes hirsuta*. *Enzyme Microb. Technol.* 48, 273–277.
- Oliveira, A.V. da S., Alegre, G.H.M. & Santos, R.G. dos 2017. A Comprehensive Experimental Study on Nucleate Boiling in Gasoline and Gasoline-Ethanol Blends. *Experimental Thermal and Fluid Science*, 88: 134–144. Tersedia di <http://dx.doi.org/10.1016/j.expthermflusci.2017.05.003>.
- Owen, K., Coley., C.S. Weaver, "Automotive Fuels Reference Book", SAE International, ISBN 978-1-56091-589-8
- Ozcan, S., Johnston, M., 1999. Function and regulation of yeast hexose



- transporters. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 63, 554–569.
- Pascaud, G., Soubrand, M., Lemee, L., Laduranty, J., El-Mufleh, A., Rabiet, M. & Joussein, E. 2017. Molecular Fingerprint of Soil Organic Matter as An Indicator of Pedogenesis Processes in Technosols. *Journal of Soils and Sediments*, 17(2): 340–351. Tersedia di <http://dx.doi.org/10.1007/s11368-016-1523-1>.
- Paulová, L., Patáková, P. & Brányik, T. 2013. Advanced Fermentation Processes. J. Teixeira & A.A. Vicente, ed., *Engineering Aspects of Food Biotechnology*. Taylor & Francis Group, hal.89–110. Tersedia di <http://www.crcnetbase.com/doi/abs/10.1201/b15426-6>.
- Pavlovic, S. & Brandao, P.R.G. 2003. Adsorption of Starch, Amylose, Amylopectin and Glucose Monomer and their Effect on The Flotation of Hematite and Quartz. *Minerals Engineering*, 16(11): 1117–1122.
- Peng F, Peng P, Xu F, Sun RC (2012) Fractional purification and bioconversion of hemicelluloses. *Biotechnol Adv* 30:879–903
- Presecki, A.V., Blazevic, Z.F. & Vasic-Racki, D. 2013. Complete Starch Hydrolysis by The Synergistic Action of Amylase and Glucoamylase: Impact of Calcium Ions. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 36(11): 1555–1562.
- Pudjaatmaka, A.H., dan Qodratillah, M.T., 2002. *Kamus Kimia*. Balai Pustaka : Jakarta
- Purwanto. 2012. *Metodelogi Penelitian Kuantitatif*. Yogyakarta
- Putri, A.I., 2011. *Produksi Bioethanol oleh Saccharomyces cerevisiae dari Biji Durian (Durio zibethinus Murr.) dengan Variasi Jenis Jamur dan Kadar Pati*. Faculty of Biotechnology, Programme of Biology. Universitas Atma Jaya Yogyakarta, Yogyakarta.
- Prihadana, Rama. 2007. *Bioenergi Ubi Kayu Bahan Bakar Masa Depan* . Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Putra, M.D., Abasaed, A.E., Atiyeh, H.K., Al-Zahrani, S.M., Gaily, M.H., Sulieman, A.K., Zeinelabdeen, M.A., 2015. Kinetic modeling and enhanced production of fructose and ethanol from date fruit extract. *Chem. Eng.*

Commun. 202, 1618–1627.

- Ratsamee S, Akaracharanya A, Leepipatpiboon N, Srinorakutara T, Kitpreechavanich V, Tolieng V (2012) Purple guinea grass: pretreatment and ethanol fermentation. *BioResources* 7:1891–1906
- Reifenberger, E., Boles, E., Ciriacy, M., 1997. Kinetic characterization of individual hexose transporters of *Saccharomyces cerevisiae* and their relation to the triggering mechanisms of glucose repression. *Eur. J. Biochem.* 245, 324–333.
- Rohman, I., Sonjaya, Y. & Priyanka, P.C. 2013. Performa Adsorben SG dan KS dalam Pemurnian Bioetanol Hasil Fermentasi Singkong (. *Jurnal Sains dan Teknologi Kimia*, 4(2): 147–158.
- Ronald HW Maas, Robert R Bakker, Arjen R Boersma, Iemke Bisschops, Jan R Pels, Ed de Jong, Ruud A Weusthuis and Hans Reith. 2008. Pilot-scale conversion of lime-treated wheat straw into bioethanol: quality assessment of bioethanol and valorization of side streams by anaerobic digestion and combustion
- Roslan, A.M., Yee, P.L., Shah, U.K.M., Aziz, S.A., Hassan, M.A., 2011. Production of bioethanol from rice straw using cellulase by local *Aspergillus* sp. *Int. J. Agric. Res.* 6, 188–193.
- Saha, B.C., Cotta, M.A., 2008. Lime pretreatment, enzymatic saccharification and fermentation of rice hulls to ethanol. *Biomass Bioenergy* 32, 971–977.
- Seader, J. & Kurtyka, Z. 1984. Distillation. R. Perry, D. Green & J. Maloney, ed., *Perry's Chemical Engineer's Handbook*, 6 ed. Singapore: McGraw Hill.
- Sebayang, F. 2006. Pembuatan Etanol dari Molase Secara Fermentasi Menggunakan Sel *Saccharomyces cerevisiae* yang Terimobilisasi pada Kalsium Alginat. *Jurnal Teknologi Proses*, 5(2): 75–80.
- Singh, A., Bajar, S., Bishnoi, N.R., 2014. Enzymatic hydrolysis of microwave alkali pretreated rice husk for ethanol production by *Saccharomyces cerevisiae*, *Scheffersomyces stipitis* and their co-culture. *Fuel* 116, 699–702.
- Siregar, M. 1988. *Dasar-dasar Kimia Organik*. Jakarta: P2LPTK.
- Smith, C.A. 2007. *Chemical Characterisation of Materials in Electronic Systems*

- using Infrared Spectroscopy. *Circuit World*, 33(3): 38–47.  
<http://www.emeraldinsight.com/journals.htm?articleid=1621766&show=htm>
- Snoek, I.S.I., Steensma, H.Y., 2007. Factors involved in anaerobic growth of *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast* 24, 1–10.
- Stuart, B.H. 2004. *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications. Methods*, Wiley. Tersedia di <http://doi.wiley.com/10.1002/0470011149>.
- Sudarmadji, S. 2003. Mikrobiologi Pangan. Yogyakarta: PAU Pangan dan Gizi UGM.
- Srimachai, K. Nuithitikul, S. O-Thong, P. Kongjan, K. Panpong. Optimization and Kinetic Modeling of Ethanol Production from Oil Palm Frond Juice in Batch Fermentation. Elsevier B.V., 2015. doi:10.1016/j.egypro.2015.11.490.
- Sun Y, Cheng J: Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production. a review. *Bioresour Technol* 2002, 83:1-11.
- Srimachai, K. Nuithitikul, S. O-Thong, P. Kongjan, K. Panpong. Optimization and Kinetic Modeling of Ethanol Production from Oil Palm Frond Juice in Batch Fermentation. Elsevier B.V., 2015. doi:10.1016/j.egypro.2015.11.490.
- Tadjuddin, Naid. 2012. Produksi Bioetanol dari Biji Buah Nangka melalui Proses Hidrolisis Asam Sulfat dan Fermentasi : UMI
- Taherzadeh MJ, Karimi K. Acid-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials: a review. *BioRes* 2007, 2:472-499.
- Trivedi, Nikhilesh., Sachin A Mandavgane, Sayaji Mehetre, dan Bhaskar D Kulkarni. 2016. Characterization and Valorization of Biomass Ashes. Springer Berlin Heidelberg : India
- Uji, T. 2005. Keanekaragaman Jenis dan Sumber Plasma Nutfah Durio (*Durio spp.*) di Indonesia. *Buletin Plasma Nutfah* 11:28-33.
- Untung, O. 2008. Durian untuk Kebun Komersial dan Hobi. Penebar Swadaya. Jakarta: 122.
- Wang, S. & Copeland, L. 2013. Molecular Disassembly of Starch Granules during Gelatinization and Its Effect on Starch Digestibility: A Review. *Food & Function*, 4(11): 1564. Tersedia di <http://xlink.rsc.org/?DOI=c3fo60258c>.
- Wang, S., Li, C., Copeland, L., Niu, Q. & Wang, S. 2015. Starch Retrogradation: A Comprehensive Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and*

- Food Safety, 14(5): 568–585.
- Wardani, A.K. & Nurtyastuti, F. 2013. Produksi Etanol dari Tetes Tebu oleh *Saccharomyces cerevisiae* Pembentuk Flok (NRRL-Y 265). *Agritech*, 33(2): 131–139.
- Xiong J, Ye J, Liang WZ, Fan PM. Influence of microwave on the ultrastructure of cellulose I. *J South China Uni Technol* 2010; 28(1): 84-9.
- Yang, J., Xie, F., Wen, W., Chen, L., Shang, X. & Liu, P. 2016. Understanding The Structural Features of High-Amylose Maize Starch through Hydrothermal Treatment. *International Journal of Biological Macromolecules*, 84: 268–274. Tersedia di <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.12.033>.
- Yingling, Y. Zongcheng, W. Honglin, C. Li, Optimization of bioethanol production during simultaneous saccharification and fermentation in very highgravity cassava mash, *Antonie Leeuwenhoek* 99 (2011) 329e339.
- Zabed, H., Sahu, J.N., Suely, A., Boyce, A.N. & Faruq, G. 2017. Bioethanol Production from Renewable Sources: Current Perspectives and Technological Progress. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 71: 475–501. Tersedia di <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2016.12.076>.
- Zambare, V.P. & Christopher, L.P. 2012. Optimization of Enzymatic Hydrolysis of Corn Stover for Improved Ethanol Production. *Energy Exploration & Exploitation*, 30(2): 193–205. Tersedia di <http://journals.sagepub.com/doi/10.1260/0144-5987.30.2.193>.
- Zhang, H., Yoshimura, M., Nishinari, K., Williams, M.A.K., Foster, T.J. & Norton, I.T. 2001. Gelation behaviour of konjac glucomannan with different molecular weights. *Biopolymers*, 59(1): 38–50.

## LAMPIRAN

### LAMPIRAN 1

#### Perhitungan Hasil Akhir Kadar Etanol

Kandungan Etanol : 14,72 %v/v

%v/v adalah  $\left(\frac{\text{volume zat terlarut}}{\text{volume larutan}}\right) \times 100\%$

Maka dapat dihitung:

$$\frac{v}{v} \% = \frac{Vt}{Vl} \times 100\%$$

$$14,72 = \frac{Vt}{1ml} \times 100\%$$

$$Vt = \frac{14,72}{100}$$

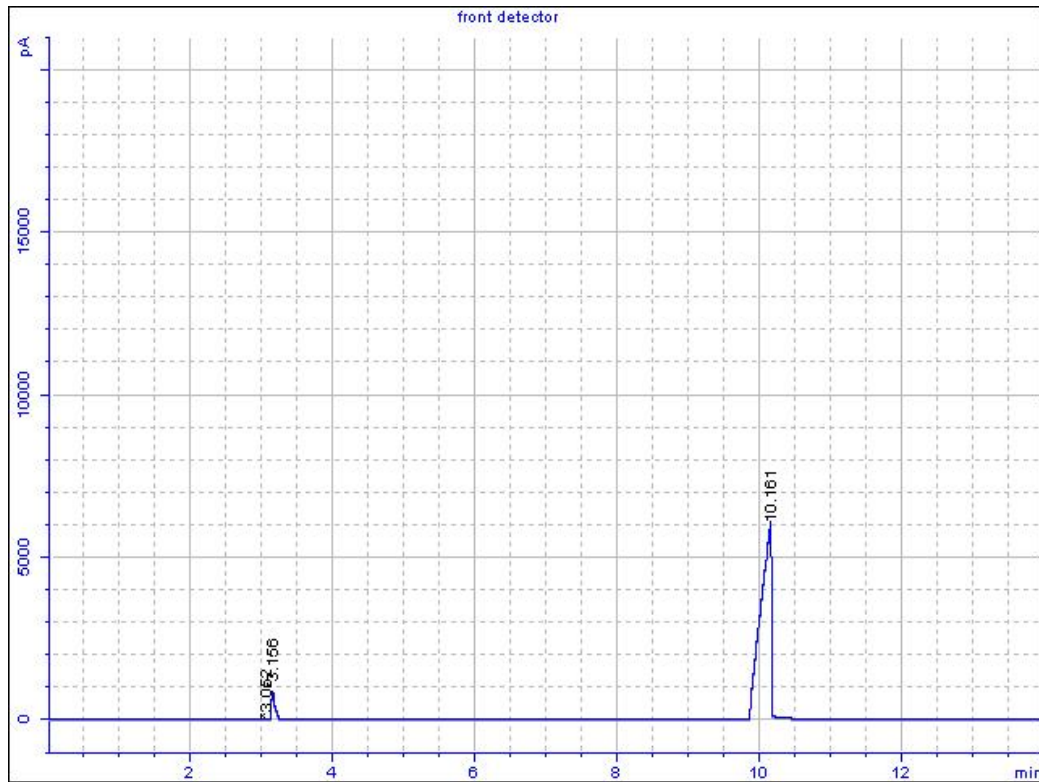
$Vt = 0,1472 \text{ ml etanol per } 1 \text{ ml larutan}$

100 gram tepung biji durian → ditambah HCl → 500ml larutan → di hidrolisis → menjadi 300ml larutan → ditambah NaOH untuk detoksifikasi → 500 ml larutan hasil detoksifikasi → diberi HCl untuk menurunkan pH → larutan menjadi 600ml → larutan di fermentasi sesuai variasi, masing-masing variasi menggunakan 100ml larutan → 100ml larutan hasil fermentasi di distilasi → menghasilkan masing-masing 7ml larutan akhir atau  $7ml \times 6 \text{ sampel} = 42ml \text{ larutan}$

Jika pada 100gr tepung biji durian menghasilkan 42ml larutan yang tiap ml nya mengandung 0,1472 ml etanol. Maka dengan 100gr tepung biji durian bisa menghasilkan  $0,1472 \text{ ml} \times 42 \text{ ml} = 6,1824 \text{ ml}$  larutan etanol.

## LAMPIRAN 2

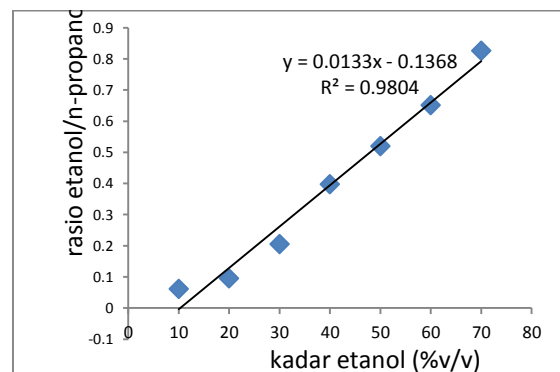
## Perhitungan Kadar Etanol dari hasil Uji GC



Signal	Retention Time [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Area %
1	3.052	MM m	0.499	3748.60240	5.39970
1	3.156	MM m	0.037	2066.77444	2.97710
1	10.161	PB	0.131	63607.09417	91.62321

$$\frac{\text{Area [pA * s] sampel}}{\text{Area [pA * s] standar}} = \frac{3748,60240}{63607,09417} = 0,058933716$$

0,058934 dimasukkan pada persamaan kurva kalibrasi



$$y = 0,0133x - 0,1368$$

$$y = 0,058934$$

Maka




$$x = \frac{0,058934 + 0,1368}{0,0133}$$

$$x = 14,71682072$$


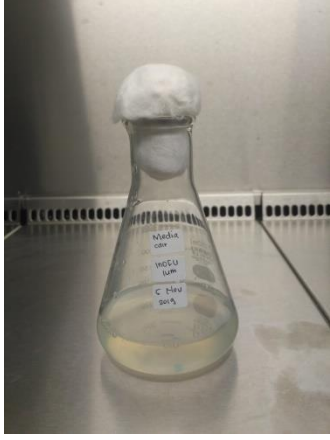

### LAMPIRAN 3




#### Dokumentasi Penelitian

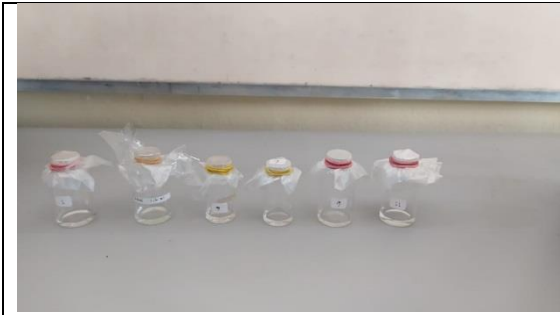
Foto Dokumentasi	Keterangan
	<p>Tahap persiapan:</p> <p>Biji durian yang sudah dipotong dijemur di bawah sinar matahari selama 2 hingga 3 hari.</p>
	<p>Biji durian kering yang sudah dihaluskan menggunakan mortar dan diayak</p>
	<p>200gram tepung biji durian yang sudah dicampur HCl 3M dihidrolisis selama 3jam dengan suhu 70°C</p>

		Pemisahan antara filtrat dan residu hasil hidrolisis
		Filtrat hasil hidrolisis dengan pH awal 5.6 ditambah dengan NaOH sampai dengan pH netral
		Larutan terdetoksifikasi dengan pH 7



	<p>Jamur <i>Saccharomices cerevisiae</i> yang digunakan untuk fermentasi</p>
	<p>Larutan inokulum yang berisi 5 g glukosa, 0,5 g ekstrak ragi (yeast extract), 0,5 g <math>\text{KH}_2\text{PO}_4</math>, 0,15 g <math>\text{NH}_4\text{Cl}</math>, 0,07 g <math>\text{MgSO}_4</math>, dan 0,17 g KCl</p>
	<p><i>Saccharomyces cerevisiae</i> dimasukkan sebanyak 2-3 oase, lalu diinokulasikan selama 24 jam pada <i>rotary shaker</i> 180 rpm</p>

	<p>Larutan yang sudah siap di fermentasi dengan tambahan inokulum dan jamur</p>
	<p>Larutan hasil fermentasi disaring dan siap di distilasi</p>
	<p>Proses distilasi</p>



Sampel siap di uji GC



