

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Menurut Nilna (2010) dalam Utomo dan Aisyah (2013), bioetanol dapat dibuat dari bahan-bahan bergula atau bahan berpati seperti tebu, nira nipah, sagu, sorgum, umbi kayu, umbi jalar, ganyong, dan lain-lain. Bahan-bahan tersebut tersedia dalam jumlah banyak di Indonesia, sehingga berpeluang untuk digunakan sebagai bahan produksi energi alternatif. Bioetanol sangat berpotensi dikembangkan di Indonesia, karena didukung oleh potensi lahan yang luas, sumber daya manusia (petani), keanekaragaman hayati, dan sumber daya alam yang melimpah. Maryana dan Krido (2008) menuliskan, bioetanol dapat dibuat dari sumber biomassa selulosa seperti pohon, rumput, berbagai bahan dalam sampah padat perkotaan, dan hasil pertanian serta hutan. Etanol adalah pelarut yang diperlukan dalam proses industri, rumah sakit, maupun bidang pendidikan. Saat ini, etanol murni telah dijadikan sebagai bahan tambahan pada bensin. Pada tahun 1995 sekitar 93% etanol dihasilkan melalui proses fermentasi dari bahan biomasa, sedangkan 7% disintesis dari minyak bumi.

Kebutuhan bahan bakar minyak bumi (BBM) di berbagai negara pada beberapa tahun terakhir mengalami peningkatan tajam. Cara mengantisipasi terjadinya krisis bahan bakar pada masa yang akan datang, pemanfaatan etanol sebagai bahan bakar alternatif telah dikembangkan. Salah satu contohnya adalah pembuatan bioetanol untuk gasohol (campuran gasolin dan alkohol). Penggunaan etanol sebagai biofuel mempunyai beberapa keuntungan, diantaranya adalah mengurangi ketergantungan terhadap minyak bumi, menciptakan lapangan kerja

di daerah dan mengurangi polusi udara karena meminimalkan pembentukan gas CO. Pembentukan gas CO dapat diminimalisir karena etanol mempunyai atom oksigen sehingga pembakaran lebih sempurna. Beberapa variabel yang bisa memengaruhi efisiensi produksi etanol diantaranya adalah suhu, jenis mikroba dan sumber penghasil gula seperti biji-bijian, buah-buahan dan selulosa (Emily dan Sherow, TT).

Rama (2007) dalam Utomo dan Aisyah (2013) menjelaskan, bahwa cadangan minyak di Indonesia diperkirakan hanya akan cukup untuk memenuhi kebutuhan konsumsi selama 18 tahun mendatang. Sementara itu, cadangan gas cukup untuk 60 tahun dan batu bara sekitar 150 tahun. Jika pada dekade 1970-an kapasitas produksi minyak mentah Indonesia masih berada dikisaran angka 1,3 juta barel per hari (bph), pada tahun 1998 produksi minyak mentah naik hingga 1,5 juta bph, dan kini Indonesia hanya mampu memproduksi minyak mentah sebesar 1,070 juta bph atau setara dengan produksi 33 tahun lalu (1972) yaitu pada saat industri minyak nasional mulai merangkak 1,080 juta bph.

Tahun 2005 LIPI (Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia) dan BATAN (Badan Tenaga Nuklir Nasional) berusaha melakukan penelitian-penelitian untuk menggantikan bahan bakar minyak yang berasal dari fosil dengan menggunakan bahan bakar minyak dari sumber nabati dan hewani. Bahan bakar minyak dari sumber non-fosil meliputi: bioetanol, biodiesel, biosolar, biogas, dan biopertamax. Salah satu dari hasil bahan bakar non fosil adalah bioetanol. Bioetanol adalah alkohol yang diproduksi dari tumbuh-tumbuhan dengan menggunakan makroorganisme melalui proses fermentasi. Penggunaan Bioetanol merupakan

upaya untuk mengurangi penggunaan bahan bakar minyak di Indonesia (Utomo dan Aisyah, 2013).

Proses produksi bioetanol memiliki dua tahap utama yaitu, hidrolisis pati dan fermentasi. Menurut Sun dan Cheng (2002) dalam Sukaryo dkk. (2013) menjelaskan, proses hidrolisis berfungsi untuk memecah senyawa-senyawa yang ada pada biomassa atau pati yang digunakan sebagai bahan baku dengan menggunakan air. Judoamidjojo dkk. (1992), hidrolisis pati dapat dilakukan menggunakan katalis asam, kombinasi asam dan enzim, serta kombinasi enzim dan enzim. Asam akan memecah molekul pati secara acak dan gula yang di hasilkan sebagian besar adalah gula pereduksi.

Katalisator ini bisa berupa asam maupun enzim. Katalisator asam yang biasa digunakan adalah asam klorida, asam nitrat dan asam sulfat. Dalam industri umumnya digunakan asam klorida sebagai katalisator. Pemilihan ini didasarkan bahwa garam yang terbentuk setelah penetralan hasil merupakan garam yang tidak berbahaya yaitu garam dapur (Retno dkk., 2009). Crueger dan Crueger (1982) menambahkan, proses hidrolisis pati dapat menggunakan katalisator enzim. Hidrolisis menggunakan katalisator enzim memiliki kelebihan: (1) dapat meningkatkan produk, (2) bekerja pada pH netral dan suhu rendah, dan (3) bersifat spesifik dan selektif terhadap substrat dibandingkan dengan asam.

Muljadi dkk. (2009) menambahkan, hidrolisis menggunakan enzim dalam pembuatan bioetanol dapat menggunakan enzim *alpha-amylase* (proses gelatinasi) dan enzim *gluko-amylase* (proses sakarifikasi). Darwis dan Sukara (1990) dalam Iskandar (2011) menyatakan bahwa enzim *gluko-amylase* merupakan enzim yang

dapat memecah polisakarida (pati dan glikogen) pada ikatan α -1,4 dan β -1,6 dan menghasilkan glukosa. Enzim *alfa-amilase* memotong ikatan α -1,4 pada pati secara acak dan menghasilkan dekstrin dan maltosa (Waites dkk., 2001 dalam Iskandar, 2011).

Sedangkan proses fermentasi dilakukan oleh mikroorganisme diantaranya adalah ragi atau khamir (*Saccharomyces cereviceae*), namun tidak tahan terhadap etanol konsentrasi tinggi yang dihasilkan. Penelitian yang sekarang difokuskan pada bakteri Gram negatif *Zymomonas mobilis*. Bakteri ini bersifat anaerob fakultatif dan merupakan organisme fermentatif yang memanfaatkan sukrosa, glukosa dan fruktosa dengan mengikuti jalur *Entner Doudoroff Pathway* untuk menghasilkan etanol. Menurut Triphetchul dkk. (1992) dalam Tanate dan Surya (2008), *Zymomonas mobilis* memiliki kelebihan dibandingkan *Saccharomyces cerevisiae*, diantaranya konversi yang lebih cepat, toleran terhadap suhu, pH rendah, serta tahan terhadap etanol konsentrasi tinggi.

Sumber hayati yang berpotensi untuk pembuatan bioetanol adalah tanaman durian (*Durio zibethinus* Murr.) dengan memanfaatkan bagian biji sebagai substrat. Biji durian berpotensi untuk substrat pembuatan bioetanol karena memiliki kandungan karbohidrat yang tinggi. Menurut Brown (1997) dalam Jhonprimen, dkk. (2012) di dalam biji durian segar mengandung karbohidrat sebanyak 43,6%.

Badan Litbang Pertanian menjelaskan, total produksi durian di Indonesia pada tahun 2011 adalah 500-700 ribu ton per tahun dari lahan sekitar 60 ribu ha (Badan Litbang Pertanian, 2012). Berdasarkan data Badan Pusat Statistik (BPS)

tahun 2014 (Lampiran 2), produksi buah durian Negara Indonesia pada tahun 2009-2014 secara berturut-turut sebanyak 797.798, 492.139, 883.969, 888.130, 759.058, dan 859.127 ton. Dalam hal ini dapat disimpulkan bahwa besarnya pertumbuhan dan produksi buah durian setiap tahun, berarti banyak pula sampah biji dan kulit durian yang dihasilkan.

Oleh karena itu, pada penelitian ini akan dilakukan pembuatan bioetanol menggunakan pati biji durian. Untuk menghasilkan glukosa dari pati biji durian akan dilakukan hidrolisis menggunakan katalisator enzim. Enzim yang digunakan dalam hidrolisis biji durian adalah *alpha-amylase* dan *gluco-amylase*. Selanjutnya, pati yang telah dihidrolisis digunakan sebagai substrat untuk produksi bioetanol dengan cara fermentasi. Fermentasi bioetanol dari pati biji durian dilakukan menggunakan bakteri *Zymomonas mobilis*. Bakteri ini karena memiliki keunggulan dibandingkan dengan *Saccharomyces cerevisiae*.

B. Keaslian Penelitian

Iskandar (2011) melakukan penelitian produksi bioetanol oleh *Saccharomyces cerevisiae* pada pati biji durian dengan variasi jenis jamur (*Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae* dan *Rhizopus oryzae*) dan kadar pati (2, 3 dan 4%). Dari Hasil penelitian diperoleh penggunaan kadar pati 3% dengan perlakuan *Rhizopus oryzae* menghasilkan kadar gula pereduksi paling tinggi, yaitu 0,590 mg/ml pada jam ke-96. Kadar etanol yang dihasilkan oleh *Saccharomyces cerevisiae* yaitu 0,2351% selama 72 jam inkubasi dengan efisiensi fermentasi 0,98%.

Pembuatan bioetanol dari biji durian sebagai energi alternatif dilakukan oleh Nurfiana dkk. (2009). Bioetanol dibuat dengan variabel yang diteliti meliputi waktu fermentasi, massa tepung biji durian yang digunakan, dan perbandingan jumlah ragi terhadap massa biji durian. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, fermentasi terhenti dengan waktu 75 jam (± 3 hari), massa tepung biji durian agar tercapai hasil etanol yang maksimum ialah 125 gram dan perbandingan *Saccharomyces cerevisiae* dengan massa tepung biji durian adalah 1:25.

Jhonprimen dkk. (2012), melakukan penelitian pengaruh massa ragi (5, 7, dan 10 gram), jenis ragi (ragi roti dan ragi tape), dan waktu fermentasi (3 dan 7 hari) pada bioetanol dari biji durian. Hasil penelitian yang telah dilakukan, diketahui kadar etanol tertinggi dihasilkan dengan cara hidrolisis fermentasi selama 3 hari dan menggunakan ragi tape sebanyak 10 gram. Dari penelitian ini, diperoleh kadar etanol terbesar, yaitu 24,01%.

Prastyo (2011) melakukan percobaan sintesis bioetanol dari biji durian (*Durio zibethinus* Murr.) dengan variasi pH pada proses fermentasi. Tepung biji durian dihidrolisis menggunakan larutan H_2SO_4 0,3M dengan perbandingan 1:10 pada suhu 100°C selama 1 jam. Sebelum difermentasi ekstrak hasil hidrolisis dilakukan pengaturan pH menggunakan NaOH hingga mencapai pH 4,5 dan pH 2 dengan penambahan ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*) sebanyak 9% dari volume larutan. Fermentasi dilakukan secara anaerob selama 4 hari. Larutan hasil fermentasi didistilasi pada suhu 78-88°C. Etanol yang diperoleh kemudian dilakukan uji GC-MS untuk mengetahui komponen yang terdapat dalam

bioetanol. Hasil percobaan pembuatan bioetanol dari biji durian (*Durio zibethinus* Murr.) melalui fermentasi ragi roti menghasilkan rendemen sebesar 5,8% pada variabel pH 4,5 dan 1,6% pada variabel pH 2, kadar etanol 99,21% pada variabel pH 4,5 dan kadar etanol 100% pada variabel pH 2.

Minarni, dkk. (2013) melakukan pembuatan bioetanol dari biji durian dengan cara hidrolisis menggunakan HCl (1, 2, dan 4 M) dan fermentasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* dengan variasi pH (4, 6, dan 8). Pada proses hidrolisis biji durian menggunakan HCl, semakin tinggi konsentrasi HCl maka kadar glukosa yang dihasilkan akan semakin meningkat, sedangkan peningkatan konsentrasi HCl di atas 3 M akan menyebabkan kadar glukosa stasioner atau menurun. Pada proses fermentasi pH optimum dari perubahan glukosa menjadi etanol yaitu pada pH 4.

Salsabila dkk. (2013) melakukan penelitian pembuatan bioetanol dari biji durian melalui proses fermentasi *Saccharomyces cerevisiae* dengan variasi konsentrasi glukosa awal (20, 40, 60 dan 80 ppm selama 72 jam). Pembuatan bioetanol dari biji durian bertujuan untuk penentuan model kinetika fermentasi etanol dari glukosa dan karakterisasi sifat fisik etanol yang dihasilkan. Etanol yang terbentuk dianalisis secara spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 605 nm setelah direaksikan dengan kalium dikromat dalam cawan Conway. Penentuan sifat fisik etanol meliputi massa jenis dan indeks bias. Hasil penelitian menunjukkan bahwa model kinetika fermentasi etanol mengikuti persamaan $\frac{1}{v} = 0,0011 \frac{1}{[S]} + 0,0002$ dengan konstanta *Michaelis-Menten* (K_m) 5,5 ppm⁻¹ dan kecepatan maksimum (V_{max}) 5000 ppm.jam⁻¹. Adapun sifat fisik yaitu

massa jenis dan indeks bias berturut-turut mempunyai kisaran nilai 0,9767-0,9809 dan 1,3347-1,3365 g/mL.

Uinna (2013) melakukan penelitian pembuatan bioetanol dari kulit durian menggunakan *Zymomonas mobilis* yang bertujuan untuk mendapatkan volume starter dan waktu fermentasi terbaik untuk mendapatkan bioetanol. Proses fermentasi kulit durian dilakukan dengan volume starter *Zymomonas mobilis* 10, 11, dan 12 % (v/v) dengan lama fermentasi 5, 6, 7, 8, dan 9 hari. Kadar etanol terbaik yang dihasilkan dari limbah kulit durian pada volume starter 11% dengan lama fermentasi 8 hari yaitu sebesar 10,04%. Kemudian hasil etanol terbaik ini didestilasi pada suhu 80°C sehingga menghasilkan bioetanol dengan konsentrasi 40,59%.

Ernes dkk. (2014) melakukan penelitian optimasi fermentasi pada tepung bagas tebu menggunakan *Zymomonas mobilis* untuk produksi bioetanol. Dari model percobaan diperoleh konsentrasi optimum inokulum adalah 15% (v/v), konsentrasi optimum urea 0,3% (b/v), dan lama fermentasi 45 jam, dengan respon etanol sebesar 1,257% (v/v). Berdasarkan hasil penelitian, kadar etanol optimal diperoleh sebesar 1,213% (v/v), yang menunjukkan hasil yang tidak berbeda jauh dengan prediksi model. *Yield* etanol yang diperoleh sebesar 0,479 dengan efisiensi fermentasi 93,9%. Hasil penelitian ini membuktikan bahwa strain *Zymomonas mobilis* CP4 memiliki potensi yang cukup menjanjikan sebagai mikroba penghasil etanol.

C. Rumusan Masalah

Dari latar belakang di atas maka diperoleh rumusan masalah, yaitu sebagai berikut:

1. Apakah enzim *alpha-amylase* dan *gluco-amylase* dapat digunakan untuk menghidrolisis pati biji durian?
2. Berapakah konsentrasi pati yang digunakan untuk hidrolisis pati biji durian yang paling optimum menggunakan enzim *alpha-amylase* dan *gluco-amylase*?
3. Apakah bakteri *Zymomonas mobilis* dapat digunakan dalam fermentasi pati biji durian untuk menghasilkan bioetanol?
4. Berapakah konsentrasi dan lama waktu yang dibutuhkan untuk menghasilkan bioethanol dari pati biji durian menggunakan bakteri *Zymomonas mobilis* paling optimum?

D. Tujuan

Dari rumusan masalah di atas maka dapat ditarik beberapa tujuan penelitian, yaitu sebagai berikut:

1. Mengetahui potensi enzim *alpha-amylase* dan *gluco-amylase* untuk menghidrolisis pati biji durian.
2. Mengetahui konsentrasi pati biji durian paling optimum untuk digunakan dalam hidrolisis menggunakan enzim *alpha amylase* dan *gluco amylase*.
3. Mengetahui potensi bakteri *Zymomonas mobilis* dalam produksi bioetanol dari pati biji durian.
4. Mengetahui konsentrasi dan lama waktu yang dibutuhkan bakteri *Zymomonas mobilis* untuk menghasilkan bioetanol dari pati biji durian yang paling optimum.

E. Manfaat

Penelitian ini diharapkan masyarakat dapat mengetahui dan memanfaatkan potensi limbah durian (biji durian), terutama dalam hal pembuatan bioetanol. Memberikan informasi ilmiah tentang penggunaan bakteri *Zymomonas mobilis* dan pemanfaatan pati biji durian dalam pembuatan bioetanol. Memberikan peluang penggunaan bakteri *Zymomonas mobilis* dan biji durian untuk produksi bioetanol skala industri sehingga dapat digunakan untuk mengurangi ketergantungan bahan bakar minyak bumi. Selain itu, diharapkan juga melalui penelitian ini, dilakukan penelitian ilmiah lainnya untuk mengembangkan bakteri *Zymomonas mobilis* dalam produksi bioetanol yang optimal dengan memanfaatkan substrat karbohidrat yang cenderung menjadi sampah (pencemar) seperti biji durian.