

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Durian dan Biji Durian

Durian (*Durio zibethinus* Murr.) termasuk dalam suku Bombacaceae yang hanya terdapat pada daerah tropis. Tiap pohonnya dapat menghasilkan 80 sampai 100 buah, bahkan hingga 200 buah terutama pada pohon yang tua. Tiap rongga buah terdapat 2 sampai 6 biji atau lebih. Buah durian berbentuk kapsul yang bulat, bulat telur atau lonjong, berukuran panjang mencapai 25 cm, berwarna hijau sampai kecoklatan, tertutup oleh duri-duri yang berbentuk piramid lebar, tajam dan panjang 1 cm (Rukmana,1996). Menurut Heyne (1987), klasifikasi durian, yaitu:

Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Bangsa	: Malvales
Suku	: Bombacaceae
Marga	: Durio
Jenis	: <i>Durio zibethinus</i> Murr.

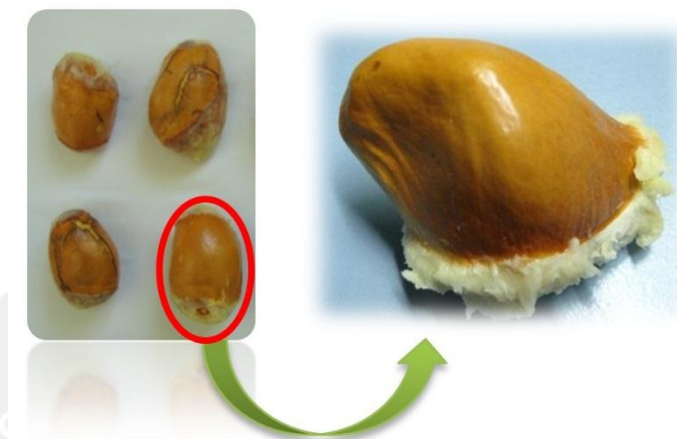
Produksi buah durian di Indonesia mengalami peningkatan setiap tahunnya. Perkembangan produksi buah durian di indonesia dapat dilihat pada Tabel 1 (Lampiran 1) bila dibandingkan dengan produksi buah yang lainnya dari tahun 2011-2014. Komoditas durian berdasarkan tabel ini merupakan komoditas dengan produksi terbesar ke 7 di Indonesia setelah pisang, manga, jeruk siam, nenas, salak dan papaya.

Tabel 1. Perkembangan produksi komoditas buah-buahan di Indonesia tahun 2011-2014 (dalam 1000 ton).

No	Jenis Tanaman (Buah)	Produksi (ton)			
		2011	2012	2013	2014
1	Pisang	6.132.695	6.189.052	6.279.290	6.862.567
2	Mangga	2.131.139	2.376.339	2.192.935	2.431.329
3	Jeruk siam/Keprok	1.721.880	1.498.396	1.548.401	1.785.264
4	Nenas	1.540.626	1.781.899	1.882.806	1.835.490
5	Salak	1.082.125	1.035.407	1.030.412	1.118.962
6	Pepaya	958.251	906.312	909.827	840.119
7	Durian	883.969	888.130	759.058	859.127
8	Rambutan	811.909	757.343	582.460	737.246
9	Nangka/ Cempedak	654.808	663.936	586.366	644.296
10	Alpukat	275.953	294.200	289.901	307.326
11	Jambu biji	211.836	208.151	181.644	187.418
12	Apel	200.173	247.075	255.245	242.915
13	Duku/ Langsat	171.113	258.457	233.125	208.426

Sumber: Badan Pusat Statistik Jakarta.

Biji durian berbentuk bulat telur, berkeping dua, berwarna putih kekuning-kuningan atau coklat muda seperti terlihat pada Gambar 1. Kandungan patinya cukup tinggi, sehingga berpotensi sebagai alternatif pengganti bahan makanan. Di Indonesia biji durian belum banyak digunakan sebagai bahan makanan. Di Thailand biji durian biasa diolah menjadi bubur dengan diberi campuran daging buahnya. Bubur biji durian ini menghasilkan kalori yang cukup potensial bagi manusia. Biasanya biji durian dapat dikonsumsi setelah direbus atau dibakar, bahkan saat ini biji durian dibuat tepung yang bisa digunakan sebagai bahan baku wajan dan berbagai produk yang lainnya (Rukmana, 1996).



Gambar 1. Biji durian basah (Sumber: Dokumentasi pribadi).

Tabel 2. Komposisi kimia dan beberapa sumber karbohidrat lain yang terdapat dalam 100 gram biji durian

Komponen	Biji Durian	Biji Nangka	Beras	Jagung	Singkong
Air	51,5 %	57,7 %	13,0%	60,0 %	62,5 %
Lemak	0,4 g	0,1 g	0,7 g	1,3 g	0,3 g
Protein	2,6 g	4,2 g	6,8 g	4,7 g	1,2 g
Karbohidrat	43,6 g	36,7 g	78,9 g	33,1 g	43,7 g
Kalsium	17 g	33,0 mg	6,0 g	6,0 mg	33,0 mg
Besi	1 mg	200,0 mg	140,0 g	118,0 mg	40,0 mg
Fosfor	68 mg	1,0 mg	0,8 g	0,7 mg	0,7 mg
Vitamin B ₁	0,05 mg	0,20 mg	0,12 g	0,12 mg	0.06 mg
Vitamin C	-	10,0 mg	0,0 mg	8,0 mg	30,0 mg

(Sumber: Brown, 1997).

Komposisi kimia biji durian hampir sama dengan biji-biji yang termasuk suku Bombacaceae yang lain. Kandungan karbohidrat pada biji durian cukup tinggi, yaitu 43,6 g seperti yang tercantum dalam Tabel 2. Kandungan karbohidrat dalam biji durian tersebut lebih tinggi dibanding yang terkandung dalam biji nangka dan jagung, walaupun lebih rendah dibanding beras dan tidak berbeda signifikan dengan singkong. Namun, dapat dilihat kandungan gizi dalam biji durian cukup tinggi dan hampir setara dengan kandungan gizi biji nangka, beras, jagung, dan singkong. Oleh karena itu, biji durian dapat dimanfaatkan sebagai

substrat bagi pertumbuhan kapang dan untuk produksi enzim amilase (Brown, 1997).

B. Pati Biji Durian

Pati merupakan polisakarida yang banyak ditemukan pada tanaman. Senyawa ini disimpan dalam bentuk granula dengan ukuran dan karakteristik yang spesifik untuk setiap spesies tanaman (van der Maarel dkk., 2002). Pati merupakan polimer yang tersusun dari satuan α -D-glukosa yang dihubungkan oleh ikatan α -1,4 glikosidik dan ikatan α -1,6 glikosidik pada percabangan rantainya. Secara alami, pati merupakan campuran dari amilosa dan amilopektin yang keduanya merupakan suatu polimer dari α -D-glukosa (Kunamneni dkk., 2005; van der Maarel dkk., 2002).

Amilosa merupakan suatu polimer rantai tunggal tidak bercabang, terbentuk dari 500-20.000 monomer α -D-glukosa yang dihubungkan oleh ikatan α -1,4 glikosidik (Myers dkk., 2000). Amilopektin merupakan suatu polimer rantai bercabang, terbentuk dari 100.000 monomer glukosa yang dihubungkan oleh ikatan α -1,4 glikosidik pada rantai utama dan α -1,6 glikosidik pada percabangannya (Kunamneni dkk., 2005; Myers dkk., 2000). Pemeriksaan mikroskopik menunjukkan bahwa pati pada tanaman terdapat sebagai granula-granula kecil. Lapisan luar dari setiap granula terdiri atas molekul-molekul pati yang tersusun amat rapat sehingga tidak tertembus air dingin (Gaman dan Sherrington, 1994).

Menurut Gaman dan Sherrington (1994), sifat-sifat pati, yaitu:

1. Keasaman dan kelarutan. Pati berwarna putih, berbentuk serbuk bukan kristal yang tidak larut dalam air dingin.

2. Rasa manis. Tidak seperti monosakarida dan disakarida, pati dan polisakarida lain tidak mempunyai rasa manis.
3. Hidrolisis. Hidrolisis pati dapat dilakukan oleh asam atau enzim. Hidrolisis pati dengan enzim seperti enzim amilase memecah pati menjadi maltosa. Molekul pati mula-mula pecah menjadi unit-unit rangkaian glukosa yang lebih pendek disebut dekstrin. Dekstrin kemudian dipecah menjadi maltosa dan akhirnya maltosa menjadi glukosa.
4. Pengaruh panas. Jika suspensi pati dalam air dipanaskan, air akan menembus lapisan luar granula dan granula akan mulai menggelembung. Hal ini terjadi saat suhu meningkat dari 60°C sampai 80°C. Granula-granula pati menggelembung atau membesar menyebabkan campuran pati menjadi kental. Pada suhu sekitar 85°C granula pati pecah dan isinya terdispersi merata ke seluruh air di sekelilingnya. Molekul berantai panjang mulai membuka atau terurai dan campuran pati dan air menjadi makin kental membentuk sol. Pada pendinginan, jika perbandingan pati dan air cukup besar, molekul pati membentuk jaringan dengan molekul air terkurung di dalamnya sehingga terbentuk gel. Keseluruhan proses ini disebut gelatinisasi.

Pati biji durian berbentuk sebuk halus dan berwarna putih kecoklatan. Pati biji durian secara mikroskopik berupa butir tunggal, agak bulat atau bersegi banyak. Butir pati kecil berdiameter 8-13µm. Hilus terletak di tengah berupa titik dan lamela tidak jelas. Pati biji durian praktis tidak larut dalam air dingin dan dalam etanol. Suhu gelatinasi pati biji durian adalah 91,5°C. Kadar amilosa pati biji durian adalah 38,89%. Kandungan amilosa memengaruhi kekentalan gel yang terbentuk. Semakin rendah kandungan amilosa, maka kekentalan gel semakin besar (Soebagio dkk., 2004).

C. Amilase

Salah satu enzim yang berperan dalam menghidrolisis pati menjadi glukosa adalah enzim amilase. Berdasarkan kemampuan hidrolitiknya, enzim amilase dikelompokkan menjadi dua kelompok besar yaitu α -amilase yang mampu menghidrolisis ikatan α -1,4-glikosidik dan gluko-amilase yang mampu menghidrolisis ikatan α -1,6-glikosidik. Berdasarkan letak pemotongan ikatan, enzim amilase dikelompokkan menjadi tiga yaitu *exospliting*, *endospliting*, dan *debranching* (Pandey dkk., 2000; Moo Young, 1985). Secara umum, amilase dibedakan menjadi tiga berdasarkan hasil pemecahan dan letak ikatan yang dipecah, yaitu alfa-amilase, beta-amilase, dan glukoamilase (Richana, 2000 dalam Saidin, 2008).

Enzim α -amilase merupakan enzim amilase *endospliting* yang memutuskan ikatan glikosidik pada bagian dalam rantai pati secara acak baik pada molekul amilosa dan amilopektin. Enzim α -amilase hanya spesifik untuk memutuskan atau menghidrolisis ikatan α -1,4-glikosidik tetapi mampu melewati titik percabangan (ikatan α -1,6-glikosidik) untuk memutuskan ikatan α -1,4-glikosidik diseberangnya sehingga menghasilkan isomaltosa. Hasil hidrolisis pati dan glikogen oleh α -amilase adalah oligosakarida (maltodekstrin), maltosa, dan dekstrin. Dekstrin tersebut kemudian dipotong-potong lagi menjadi campuran antara glukosa, maltosa, maltotriosa, dan ikatan lain yang lebih panjang. Enzim α -amilase umumnya diisolasi dari *Bacillus amyloquefaciens*, *B. licheniformis*, *Aspergillus oryzae*, dan *Aspergillus niger* (Sivaramakrishnan dkk., 2006; Kunamneni dkk., 2005; Melliawati dkk., 2006 dalam Saidin, 2008).

Enzim glukoamilase memecah ikatan α -1,4 glikosida pada pati secara berturut-turut dari ujung rantai non reduksi menghasilkan β -D-glukosa, sedang α -amilase memecah ikatan α -1,4 glikosida secara acak (Bernfeld, 1955). Menurut Kombong (2004), pH optimum aktivitas enzim glukoamilase, yaitu 4,0-5,0 dan suhu optimum 40 °C. Enzim glukoamilase atau amiloglukosidase merupakan enzim ekstraselular yang mampu menghidrolisis ikatan α -1,4 pada rantai amilosa, amilopektin, glikogen, dan pullulan. Enzim glukoamilase juga dapat menyerang ikatan α -1,6 pada titik percabangan, walaupun dengan laju yang lebih rendah. Hal ini berarti bahwa pati dapat diuraikan secara sempurna menjadi glukosa (Josson dkk., 1992; Soebiyanto, 1986; Melliawati dkk., 2006 dalam Saidin, 2008).

D. Bioetanol

Bioetanol adalah etanol yang dihasilkan dari proses fermentasi gula dari bahan nabati (Nur, 2009). Etanol disebut juga etil etanol dengan rumus kimia C_2H_5OH atau CH_3CH_2OH . Titik didih etanol adalah 78,4°C. Etanol memiliki sifat tidak berwarna, volatil, dan dapat bercampur dengan air (Kartika dkk., 1997). Agus Nur, dkk. (2010) dalam Utomo dan Aisyah (2013) melengkapi, bioetanol adalah cairan biokimia, larut dalam eter, air, aseton, benzen, dan semua pelarut organik, memiliki bau khas alkohol, bioetanol memiliki berat jenis sebesar 0,7937 g/ml (15°C) dan mempunyai panas pembakaran 328 Kkal. Pada Tabel 3 berikut akan ditampilkan sifat fisik etanol:

Tabel 3. Sifat fisik etanol

Sifat fisik alkohol (Etanol)	Nilai Sifat Fisik Alkohol (Etanol)
Berat molekul	46,7
Titik beku	-114,15°C
Titik didih	78,5°C
Panas penguapan pada 70°C	4,64 kJ/kg
Panas penguapan pada 80°C	855,66 kJ/kg
Panas penguapan pada 100°C	900,83 kJ/kg
Konduktivitas panas (20°C)	18 μ w.m-1
Panas pembakaran	1.3700,82 kJ/mol
Viskositas (20°C)	1.17 mPa
Tegangan muka	22,03 mN/m
Indeks bias (20°C)	1.36048
Massa jenis	0,78942

(Sumber: Rizani, 2000).

Etanol memiliki banyak manfaat. Selama bertahun-tahun etanol diproduksi untuk konsumsi manusia sebagai bahan minuman beretanol. Namun, beberapa tahun ini perhatian mengarah pada produksi etanol sebagai bahan bakar dan pelarut kimia (Crueger dan Crueger, 1990). Etanol juga dimanfaatkan sebagai bahan cita rasa, obat-obatan, dan komponen antibeku (Nitz, 1976).

Menurut Fitriana (2009), Bioetanol dapat diperoleh dari fermentasi bahan mengandung gula. Beberapa substrat yang dapat difermentasi menjadi bioetanol dibagi dalam beberapa golongan, yaitu:

- Bahan bergula (*sugary materials*) meliputi tebu dan hasil sampingan produknya (molase, bagasse), gula bit, tapioka, kentang manis, sorgum manis dan lain sebagainya.
- Bahan berpati (*Starchy meterials*) meliputi tapioka, maizena, gandum, padi dan kentang.
- Bahan lignoselulosa (*lignosellulosic meterials*): sumber selulosa dan lignoselulosa yang berasal dari limbah pertanian dan kayu.

Secara garis besar, produksi bioetanol terdiri dari 3 proses, yaitu persiapan bahan baku, hidrolisis, fermentasi serta pemurnian (Hidayat, 2006).

1. Persiapan bahan baku (Hidayat, 2006).

Persiapan bahan baku tergantung dari jenis dari bahan bakunya, secara umum dibagi menjadi beberapa proses :

- a. Tebu dan gandum manis: digiling untuk mengekstrak gula.
- b. Tepung dan material selulosa: Dihancurkan untuk memecah susunan tepung agar bisa berinteraksi baik dengan air.
- c. Pemasakan, tepung dikonversi menjadi gula dengan proses pemecahan gula kompleks dan sakarifikasi dengan penambahan air.

2. Hidrolisis (Irawan, 2013)

Prinsip dari hidrolisis ini adalah pemutusan rantai polimer pati menjadi unit-unit dekstrosa ($C_6H_{12}O_6$).

3. Fermentasi

Prinsip fermentasi ini adalah perubahan kimia yang spesifik pada substrat karbohidrat yang diinduksi oleh enzim yang dihasilkan dari mikroorganisme (Rogers dan Cail, 1991). Dalam proses ini berlangsung pemecahan gula sederhana menjadi etanol pada suhu 27-32 °C. Gas CO_2 akan dihasilkan sebagai limbahnya (Erliza, 2008).

4. Destilasi (Hidayat, 2006).

Destilasi untuk memisahkan etanol dengan air. Titik didih etanol murni adalah 78,4 °C dan air 100 °C. Dengan memanfaatkan perbedaan titik didih, dapat dipanaskan dalam rentang suhu 78-100 °C sehingga etanol akan menguap dan dari kondensasi akan didapatkan etanol 95 %.

Dalam produksi bioetanol diperlukan proses destilasi untuk memisahkan etanol dari air dan zat pengotor lainnya. Destilasi merupakan pemisahan komponen berdasarkan titik didihnya. Titik didih etanol murni adalah 78 °C sedangkan air adalah 100 °C. Dengan memanaskan larutan pada suhu rentang 78–100 °C dapat mengakibatkan sebagian besar etanol menguap, dan melalui unit

kondensasi dapat dihasilkan etanol dengan konsentrasi 95 % volume. Etanol hasil destilasi kemudian diuji spesifikasi dan kemurniaanya. Spesifikasi dapat mengacu pada SNI 7390:2008 seperti pada Tabel 4.

Tabel 4. Spesifikasi uji bioetanol sesuai SNI 7390:2008

No.	Sifat	Unit. Min/maks	Spesifikasi
1	Kadar etanol	%-v, min	99,5 (sebelum denaturasi)
			94,0 (setelah denaturasi)
2	Kadar methanol	mg/l, maks	300
3	Kadar air	%-v, maks	1
4	Kadar Denaturasi	%-v, min	2
		%-v, maks	5
5	Kadar Tembaga (Cu)	mg/kg, maks	0,1
6	Densitas 25 °C	g/mL	0,790
7	Keasaman sebagai CH ₂ COOH	mg/l, maks	30
8	Tampakan		Jernih dan terang, tidak ada endapan dan kotoran
9	Kadar ion klorida (Cl)	mg/l,maks	40
10	Kandungan belerang (S)	mg/l,maks	50
11	Kadar getah (gum), dicuci	mg/100 mL, maks	5,0
12	pH		6,5-9,0

(Sumber: Prihandana dkk, 2007)

E. Fermentasi Etanol dengan Substrat Pati

Etanol dapat dihasilkan melalui proses fermentasi. Pati dapat digunakan sebagai bahan mentah untuk fermentasi etanol. Fermentasi etanol dengan substrat pati terjadi dalam dua tahap. Tahap pertama adalah sakarifikasi dan tahap kedua adalah fermentasi. Tahap sakarifikasi pati lebih dulu dihidrolisis menjadi gula sederhana yang dapat difermentasi oleh khamir (Pelczar dan Chan, 1988).

Sebelum tahap sakarifikasi, pati terlebih dahulu mengalami likuifikasi. Pada tahap likuifikasi pati terjadi pemecahan ikatan α -1,4 glikosidik oleh enzim α -amilase pada bagian dalam rantai polisakarida secara acak sehingga dihasilkan glukosa, maltosa, maltodekstrin dan α -limit dekstrin (Nikolov dan Reilly, 1991).

Alfa limit dekstrin adalah oligosakarida yang terdiri dari empat atau lebih residu gula yang semuanya mengandung ikatan alfa-1,6 dan tidak dapat dihidrolisis oleh enzim α -amilase (Pudjaatmaka, 2002). Enzim α -amilase merupakan enzim yang menghidrolisis secara khas melalui bagian dalam dengan memproduksi oligosakarida dari konfigurasi alfa yang memutus ikatan α -1,4 glikosidik pada amilosa, amilopektin, dan glikogen. Ikatan α -1,6 glikosidik tidak dapat diputus oleh α -amilase, tetapi dapat dibuat menjadi cabang-cabang yang lebih pendek (Nikolov dan Reilly, 1991).

Setelah terjadi likuifikasi, selanjutnya bahan akan mengalami proses sakarifikasi oleh enzim glukamilase. Glukamilase merupakan eksoenzim yang terutama memecah ikatan α -1,4 dengan melepaskan unit-unit glukosa dari ujung non reduksi molekul amilosa dan amilopektin untuk memproduksi β -D-glukosa (Nikolov dan Reilly, 1991).

Madigan dkk. (2000) mengatakan, tahap fermentasi gula menjadi etanol biasanya dilakukan oleh khamir. Khamir yang penting dalam proses fermentasi etanol adalah *Saccharomyces cerevisiae*. Khamir mempunyai kemampuan fermentasi etanol menggunakan gula-gula sederhana seperti glukosa, maltosa, sukrosa, laktosa, dan rafinosa. Produksi etanol dari glukosa oleh *Saccharomyces cerevisiae* terjadi melalui jalur *Embden-Meyerhof-Parnas* (EMP) yang terbagi dalam 3 tahap, dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Jalur *Embden-Meyerhof-Parnas* (Sumber: Madigan dkk., 2000).

Tahap pertama merupakan tahap perubahan glukosa (C6) menjadi 2 molekul gliseraldehid-3-fosfat (C3) menggunakan ATP. Reaksi oksidasi-reduksi dan pelepasan energi tidak terjadi pada tahap pertama. Kedua reaksi tersebut baru terjadi dalam tahap kedua dan menghasilkan energi berupa ATP. Piruvat sebanyak 2 mol juga dihasilkan dalam tahap ini. Tahap ketiga merupakan tahap terjadinya reaksi oksidasi-reduksi yang ke-2 dan pembentukan produk fermentasi (Madigan dkk., 2000). Etanol yang dihasilkan pada tahap ketiga bersifat ekstraselular karena dikeluarkan dari sel melalui membran sel (Guerzoni dkk., 1997).

Menurut Rogers, dkk. (1982); Swings dan De Lay (1997), fermentasi etanol dapat juga dilakukan menggunakan bakteri *Zymomonas mobilis*. Osman dkk. (1987) menjelaskan, jalur glikolisis yang digunakan *Zymomonas mobilis* adalah lintasan *Entner-Doudoroff* (ED), lihat Gambar 4.

F. Morfologi dan Sifat-Sifat *Zymomonas mobilis*

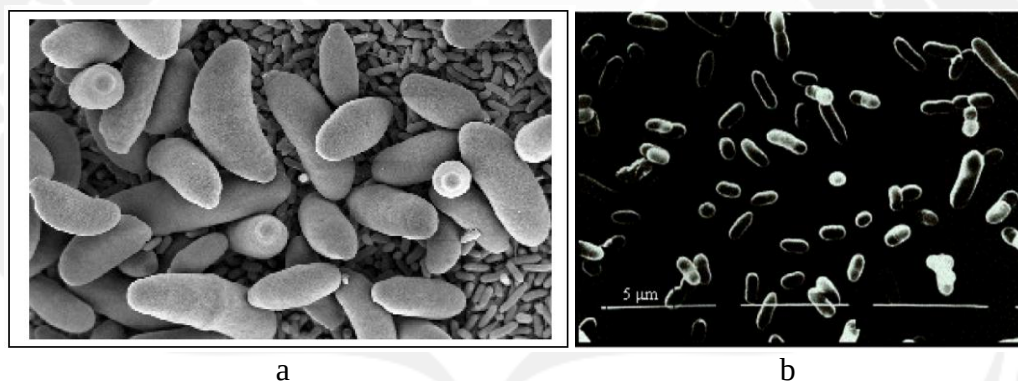
Menurut Swings dan De Lay (1997), bakteri *Zymomonas mobilis* sebagai penyebab fermentasi pada sejenis tuak mexico (“*pluque*”). Bakteri ini mampu memfermentasi sukrosa, glukosa dan fruktosa menjadi etanol, CO₂ dan beberapa asam laktat, mikroorganisme ini dinamakan *Termobacterium mobile* (sekarang: *Zymomonas mobilis*, sub sp: *mobilis*).

Bakteri *Zymomonas mobilis* memiliki ciri-ciri: sel diplobasil, ukuran 4-5 µm dan 1,4-2,0 µm, motil dengan polar flagella, gram negatif, tidak membentuk endospora dalam *beer wort*; koloni bakteri berwarna putih, sirkuler konveks, mempunyai diameter 1 mm, dan tumbuh baik dengan penambahan 2 % CaCO₃F, pH medium pepton glukosa sebesar 6,5, suhu optimum 30°C. Organisme ini bersifat anaerob fakultatif, tetapi kondisi anaerob diperlukan untuk memfermentasi gula (Swings dan De Lay, 1997).

Genus *Zymomonas* termasuk dalam bakteri Gram negatif yang bersifat anaerobik fakultatif. *Z. mobilis* mempunyai bentuk seperti tangkai dengan ukuran lebar 1,0 – 2,0 µm dan panjang 2,0 – 6,0 µm dan selalu berpasangan serta termasuk bakteri yang tidak *mobil*. Bakteri ini dapat tumbuh baik dengan sumber nitrogen berbentuk amonium (Buchanan dan Gibbon, 1975; Ly, 2007). Karena

bersifat anaerobik fakultatif maka bakteri ini dapat tumbuh dalam lingkungan yang aerob maupun anaerob (Levett, 1990; Mastroeni *et al*, 2003).

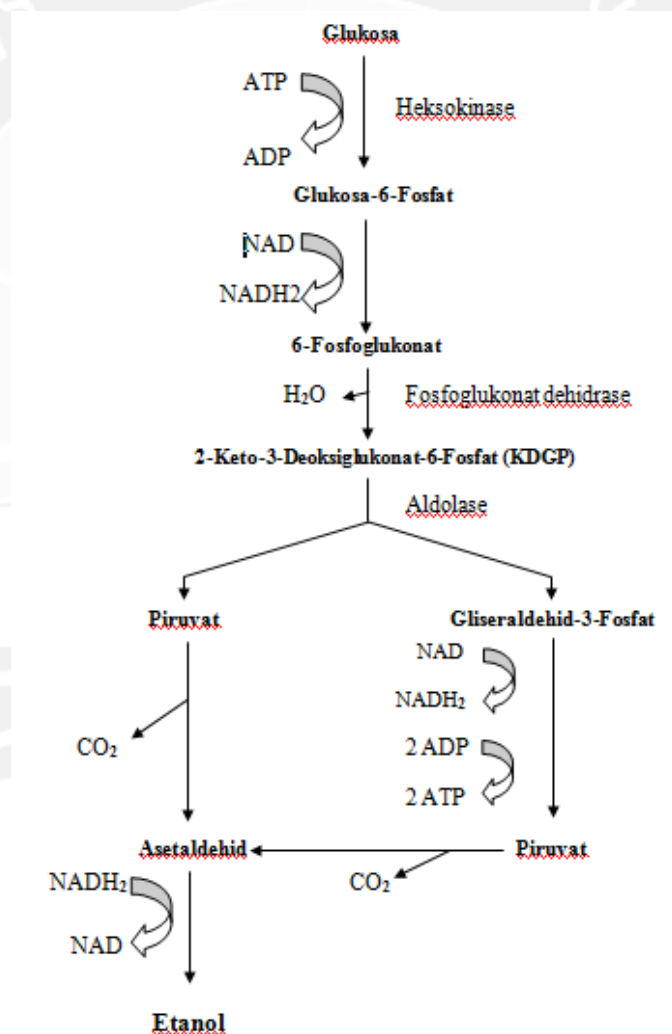
Spesies *Z. mobilis* termasuk kelompok bakteri dalam divisi proteobacteria kelas alpha probacteria, ordo sphingomonadales, famili sphingomonadaceae, dan genus *Zymomonas*. Genus *Zymomonas* memiliki satu spesies dengan dua subspecies yaitu *Z. mobilis* subsp. *mobilis* dan *Z. Mobilis* subsp. *pomaceae* (Gunasekaran dan Raj, 2002). Bentuk dari bakteri ini terlihat pada Gambar 3 berikut:



Gambar 3. Morfologi *Z. mobilis*; a). *Z. mobilis* dengan menggunakan mikroskop elektron (NCBI, 2008), b). *Z.mobilis* dengan perbesaran 5600X (Sumber: de los Angeles, 2002).

Bakteri *Zymomonas mobilis* juga mempunyai sifat osmotoleran sampai kadar 40%, alkohol toleran dengan kadar alkohol 2-10 %, kisaran pH optimum 5,0-7,0. Sel kadang-kadang membentuk rantai pendek (koloni), pada fermentasi sukrosa biasanya diawali dengan fase adaptasi yang lama (Swings dan De Lay, 1997). Penggunaan *Zymomonas mobilis* dalam fermentasi etanol banyak mengalami keberhasilan. Bakteri ini menunjukkan produktifitas etanol lebih tinggi 3-5 kali lipat dari *yeast* (Rogers dkk., 1982) dengan hasil etanol dari glukosa mencapai nilai maksimum 95-98 % secara teori. Jalur glikolisis yang

digunakan *Zymomonas mobilis* adalah lintasan *Entner-Doudoroff* (ED). Ciri khas jalur ini adalah terdapatnya enzim 2-keto-3-deoksiglukonat-6-fosfat (Dawes, 1986). Dalam jalur ED tidak terdapat enzim pengatur reaksi kunci seperti pada jalur EMP yaitu allosterik heksokinase dan fosfofruktokinase (Osman dkk., 1987). Dari senyawa ini akan dihasilkan asam piruvat dan gliseraldehida 3-fosfat dengan bantuan enzim aldolase, dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Skema Jalur 2-keto-3-deoksiglukonat-6-fosfat pada fermentasi etanol oleh bakteri *Zymomonas mobilis* (Sumber: Timotius, 1992).

G. Faktor-Faktor yang Memengaruhi Fermentasi Etanol

Etanol merupakan produk metabolisme primer yang proses pembentukannya berlangsung bersamaan dengan fase pertumbuhan yang dihasilkan secara ekstraseluler. Menurut Madigan dkk. (2000), hubungan produksi etanol dengan pertumbuhan sel berjalan secara paralel dan berbanding terbalik dengan jumlah gula pada medium. Pembentukan etanol meningkat bersamaan dengan pertumbuhan jumlah sel diiringi dengan penurunan gula akibat penggunaan oleh mikrobia dalam medium fermentasi. Kuswanto (1994) menjelaskan bahwa dalam proses fermentasi terjadi perubahan gula menjadi etanol sehingga menyebabkan penurunan gula seiring dengan meningkatnya produksi etanol.

Faktor-faktor yang memengaruhi fermentasi etanol, antara lain sumber karbon, pH, suhu, sumber nitrogen, faktor tumbuh, oksigen, etanol dan CO₂. Selain itu, kondisi fisiologi inokulum dan kualitas substrat pertumbuhan juga berpengaruh terhadap hasil fermentasi. Kondisi fisiologi inokulum tergantung pada faktor-faktor lingkungan, adanya mikrobia kontaminan akan sangat berpengaruh terhadap produk metabolit yang dihasilkan dan menghambat proses fermentasi (Najafpour dkk., 2004).

Faktor-faktor yang mempengaruhi fermentasi etanol oleh *Zymomonas mobilis* meliputi: pH, temperatur, sumber karbon, faktor tumbuh, sumber nitrogen, oksigen, dan alkohol. Disamping itu, kondisi inokulum serta kualitas substrat juga mempengaruhi hasil yang diperoleh dan efisiensi fermentasi. Kondisi inokulum

tergantung pada faktor-faktor lingkungannya, adanya mikrobia kontaminan akan sangat menghambat fermentasi (Swings dan De Lay, 1977).

Untuk fermentasi etanol, mikrobia membutuhkan media dengan suasana pH yang optimal. pengaturan pH dapat dilakukan dengan penambahan asam sulfat jika substratnya alkalis atau dengan natrium bikarbonat jika substratnya asam. Waluyo (2004) menjelaskan, nilai pH medium sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan mikrobia tersebut maksimum sekitar pH 6,5-7,5 dan pH di bawah 5,0 atau di atas 8,5 bakteri tidak dapat tumbuh dengan baik kecuali bakteri asam asetat. Garrity (2005) menjelaskan, *Zymomonas mobilis* mampu tumbuh dan melakukan fermentasi dengan baik pada pH 3,85 dan 7,55 sedang di bawah pH 3,05, fermentasi agak terhambat.

Suhu merupakan salah satu faktor yang sangat mempengaruhi pertumbuhan, perbanyakan, dan daya tahan hidup jasad renik, sehingga dibutuhkan suhu yang optimal untuk dapat digunakan dalam fermentasi etanol. Masing-masing mikrobia memiliki suhu optimal, minimum dan maksimum untuk pertumbuhannya maupun untuk memproduksi metabolit. Hal ini disebabkan apabila suhu di bawah minimum dan di atas maksimum aktivitas enzim akan berhenti bahkan pada suhu yang terlalu tinggi akan menyebabkan terjadinya denaturasi enzim (Waluyo, 2004). Pertumbuhan terbaik *Zymomonas mobilis* pada medium fermentasi yaitu pada suhu 25°C dan 30°C. Namun umumnya proses fermentasi dilakukan pada suhu 10-30°C (Rahayu, 1991).

Faktor pertumbuhan adalah senyawa-senyawa organik yang sangat dibutuhkan oleh jasad renik, tidak dapat disintesis oleh sel itu sendiri, dan

dibutuhkan dalam jumlah sedikit. Senyawa-senyawa organik yang berfungsi sebagai faktor pertumbuhan dapat digolongkan dalam tiga golongan yaitu: asam amino, purin, pirimidin, dan vitamin. Fungsi dalam faktor tumbuh adalah sebagai koenzim, atau prekursor enzim atau senyawa lain yang penting dalam metabolisme.

Kualitas substrat pertumbuhan yang terdiri dari sumber karbon, nitrogen, oksigen dan CO₂. Kebutuhan jasad renik akan karbon dapat dibagi dalam dua golongan, yaitu: karbon anorganik (misalnya karbondioksida dan karbonat) dan karbon organik contoh sumber C adalah sukrosa. Senyawa-senyawa karbon umumnya berfungsi sebagai sumber energi. Sumber nitrogen diperlukan dalam jumlah besar, kira-kira 10-15 % dari berat kering sel mikrobia, senyawa nitrogen organik yang biasanya digunakan adalah asam amino dan protein, contoh sumber N adalah ekstrak taoge, ekstrak sawi dan air kelapa. Pada umumnya fermentasi alkohol berlangsung secara anaerobik (tanpa udara). Namun demikian O₂ diperlukan pada proses pembibitan sebelum fermentasi untuk perkembangbiakan mikrobia aerob. Produksi etanol metabolit primer dipengaruhi oleh pertumbuhan sel mikrobia yang digunakan. Nutrien digunakan untuk kehidupan dan pertumbuhan sel termasuk faktor pertumbuhan seperti vitamin dan mineral. Nutrien dibutuhkan untuk membentuk energi dan menyusun komponen-komponen sel. Komponen organik yang mengandung sumber karbon digunakan sebagai sumber energi bagi mikrobia dan kebanyakan menggunakan komponen organik yang mengandung protein sebagai sumber nitrogen maupun sumber nitrogen organik (Waluyo, 2004).

H. Hipotesis

Berdasarkan rumusan masalah yang telah diuraikan, dengan merujuk pada penelitian terdahulu dan literatur, hipotesis dari rencana penelitian ini adalah:

1. Enzim amylase (α -amylase dan glucoamylase) dapat digunakan untuk menghidrolisis pati biji durian dan memberikan pengaruh yang berbeda untuk penambahan setiap enzim terhadap kadar gula reduksi yang dihasilkan.
2. Bacteri *Zymomonas mobilis* dapat digunakan untuk memproduksi etanol pada pati durian terhidrolisis. Konsentrasi pati biji durian terhidrolisis dan lama waktu fermentasi yang digunakan dalam produksi etanol mempengaruhi jumlah kadar etanol.