

PEMBUATAN BIOETANOL DENGAN BANTUAN *Saccharomyces cerevisiae* DARI GLUKOSA HASIL HIDROLISIS BIJI DURIAN (*Durio zhibetinus*)

Neni Minarni, Bambang Ismuyanto*, Sutrisno

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya
Jl. Veteran Malang 65145

*Alamat korespondensi, Tel : +62-341-575838, Fax : +62-341-575835
Email: bambangismu@ub.ac.id

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk membuat bioetanol dari biji durian yang telah dihidrolisis oleh asam klorida. Glukosa hasil hidrolisis difermentasi menjadi etanol dengan bantuan *S.cerevisiae* dengan variasi pH fermentasi. Kadar etanol yang dihasilkan ditentukan menggunakan metode cawan conway. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diperoleh kadar glukosa tertinggi dengan hidrolisis menggunakan HCl 4 M pada sirup glukosa sebesar 36400 ppm dan pada cake glukosa sebesar 20100 ppm pada hidrolisis menggunakan 1 M HCl. Dengan konsentrasi substrat glukosa 8000 ppm, kadar etanol tertinggi dihasilkan pada pH fermentasi 4 sebesar 1,61% (v/v).

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

ABSTRACT

This research aim to produce bioethanol from durian seeds that have been hydrolyzed by hydrochloric acid. Hydrolysis yield glucose fermented into ethanol by *S.cerevisiae* with variation of fermentation pH. Produced ethanol levels were determined using the method cawan conway. Based on the research that has been conducted with the highest glucose levels were obtained in glucose syrup for 36400 ppm by hydrolysis using 4 M HCl and glucose on the cake for 20100 ppm by hydrolysis using 1 M HCl. With a glucose substrate concentration 8000 ppm, the highest levels of ethanol produced for 1.61% (v/v) at fermentation pH 4.

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

PENDAHULUAN

Sejak beberapa tahun terakhir Indonesia mengalami penurunan produksi minyak nasional yang disebabkan menurunnya secara alamiah cadangan minyak serta pertambahan jumlah penduduk, meningkatnya penggunaan transportasi dan aktivitas industri yang berakibat pada peningkatan kebutuhan konsumsi Bahan Bakar Minyak (BBM) [1]. Untuk mengatasi keadaan tersebut diperlukan adanya bahan bakar alternatif yang dapat diperbaharui serta ramah lingkungan [2]. Salah satu alternatif pengganti bahan bakar minyak adalah bioetanol. Bioetanol merupakan etanol yang berasal dari sumber hayati. Bioetanol bersumber dari gula sederhana, amilum dan selulosa [3]. Amilum yang berbentuk polisakarida dapat dihidrolisis menjadi glukosa melalui pemanasan, menggunakan katalis dan pemanfaatan enzim. Glukosa selanjutnya difermentasi menghasilkan etanol [4-13].

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

Salah satu sumber hayati yang memiliki potensi besar sebagai bioetanol adalah biji durian. Biji durian (*Durio zibethinus*) terbukti mengandung karbohidrat dengan kadar tinggi yakni 43,6% [4].

Dari penelitian yang dilakukan Nurfiana, dkk pada tahun 2009 [4], selain tidak menyebutkan kadar etanol yang dihasilkan, penelitian tersebut juga melakukan hidrolisis biji durian hanya dengan pemanasan tanpa penambahan katalis. Agar kadar etanol yang dihasilkan optimal, biji durian (setelah dikukus) dan yeast *Saccharomyces cerevisiae* (merk “DK”) yang digunakan memiliki perbandingan 25:1. Produksi bioetanol dengan bantuan mikroba dipengaruhi oleh kadar glukosa sebagai substrat dan kondisi lingkungan proses fermentasi seperti suhu dan pH. Berdasarkan hal tersebut maka penelitian ini bertujuan untuk menghidrolisis biji durian menggunakan katalis asam klorida, menggunakan kultur murni *S.cerevisiae* dan mengatur pH fermentasi untuk mengetahui kadar etanol yang dihasilkan.

METODA PENELITIAN

Bahan dan alat

Bahan yang digunakan adalah Pepton, Glukosa anhidrat, NaOH, Urea (nutrien), HCl 37% (v/v), MgSO₄.7H₂O, (NH₄)₂SO₄, KH₂PO₄, bacto Agar, Asam Dinitrosalisilat (DNS), H₂SO₄ pekat, Na₂CO₃ masing-masing dengan spesifikasi sama (dari merk), Aquades dan Etanol (pa). Peralatan yang digunakan adalah cawan conway, pH meter (Schott-gerate tipe CG-820), autoclave (Delixi), penangas listrik (Janke-Kunkel), Spektrofotometer UV-Vis Simadzu 1601A

Prosedur pembiakan *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae ditumbuhkan pada media padat YGA yaitu media yang mengandung nutrien agar, ekstrak yeast, glukosa, dan pepton. Kemudian dipindahkan ke dalam media cair yang mempunyai kandungan yang sama dengan media padat tanpa agar.

Hidrolisis biji durian dengan variasi konsentrasi HCl

Sampel biji durian yang telah dikupas sampai benar-benar putih dipotong-potong membentuk kotak-kotak kecil ditimbang sebanyak 2,5 g lalu ditambahkan aquades sebanyak 20 ml kemudian dipanaskan pada suhu 70 °C selama 3 jam menggunakan penangas air. Dipisahkan antara biji durian matang (cake biji durian) dengan larutannya kemudian masing-masing diukur kadar glukosanya menggunakan metode DNS. Dilakukan hal yang sama dengan variasi konsentrasi HCl 1, 2, 3, dan 4 M.

Penentuan kadar glukosa menggunakan metode DNS

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

Fermentasi menggunakan *S. cerevisiae* dengan variasi pH

Stok cake dan sirup glukosa diambil kemudian diencerkan menjadi 8000 ppm, dilakukan fermentasi dengan kultur murni *S. cerevisiae* sebanyak 0,2 g ditambah KH_2PO_4 sebanyak 0,1 g, urea 0,1 g dilarutkan dalam 20 ml aquades kemudian diatur pH menjadi 2 dengan penambahan NaOH. Dilakukan hal yang sama untuk pH 4, 6, 8. Masing-masing dilakukan triplo. Lalu dilakukan fermentasi dengan keadaan anaerob dengan mengatur sedemikian sehingga agar tidak masuk udara. Fermentasi dilakukan pada suhu ruang dengan bantuan shaker selama 96 jam. Kemudian diukur kadar etanol yang dihasilkan.

Penentuan kadar etanol hasil fermentasi

Kadar etanol hasil fermentasi dilakukan dengan menggunakan metode cawan conway, dengan pengaturan panjang gelombang pada spektrofotometer UV-Vis 605 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

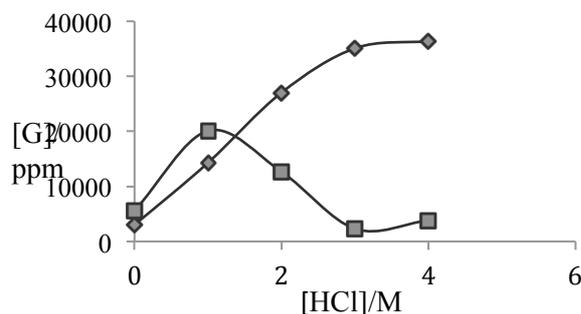
Pembiakan kultur murni *S. cerevisiae*

Pembiakan *S. cerevisiae* diperoleh 5,8 g sel basah dari 600 ml media cair yang digunakan.

Penentuan kadar glukosa dengan metode DNS

Metode yang digunakan pada tahap ini adalah dengan menghidrolisis biji durian menggunakan asam klorida untuk memperoleh monomer pati yaitu glukosa, pada penelitian ini terjadi perubahan warna pada masing-masing larutan variasi konsentrasi HCl. Hal tersebut mengindikasikan banyaknya glukosa hasil hidrolisis. Ketika parameter suhu dan waktu

ditingkatkan dimungkinkan perubahan warna masing-masing konsentrasi akan lebih pekat, hal tersebut berhubungan dengan laju reaksi hidrolisis masing-masing larutan. Dengan waktu dan suhu hidrolisis yang sama dengan perbedaan konsentrasi HCl pada masing-masing larutan hidrolisis, dapat disimpulkan semakin cepat laju reaksi, semakin pekat perubahan warna untuk waktu dan suhu reaksi yang sama. Dari hasil pengukuran kurva baku glukosa dengan metode DNS, diperoleh persamaan garis yaitu $y = 0,001x$ dengan $R^2 = 0,986$, persamaan tersebut digunakan untuk menghitung kadar glukosa hasil hidrolisis, kadar glukosa hasil hidrolisis dengan variasi konsentrasi HCl ditunjukkan pada Gambar 3.

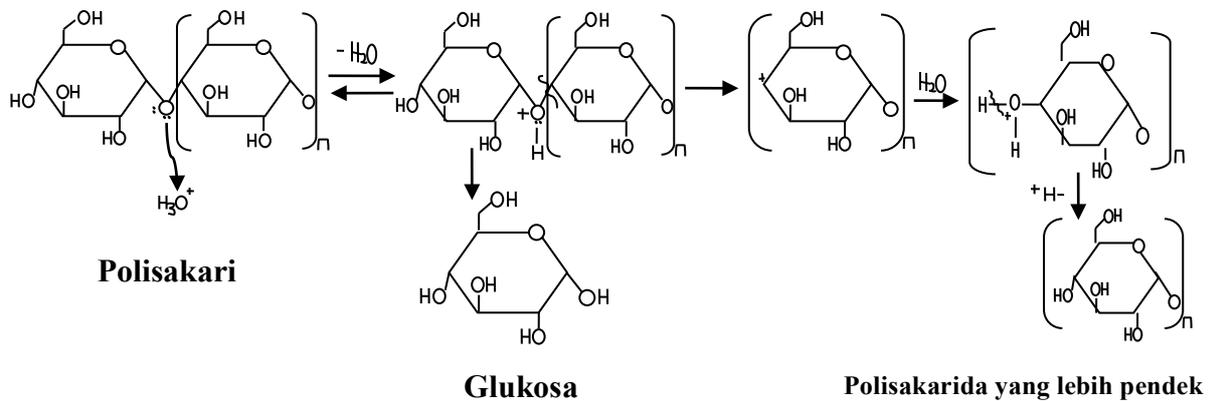


Gambar 1. Kurva variasi konsentrasi HCl terhadap kadar glukosa hasil hidrolisis pada sirup glukosa dan cake glukosa —■— cake glukosa —◆— sirup glukosa

Pada suhu 70 °C dan waktu tiga jam, laju reaksi hidrolisis dengan tanpa asam lebih lambat dibandingkan dengan adanya asam. Penambahan HCl sangat bermanfaat untuk mempercepat waktu dan mengurangi suhu hidrolisis dengan kadar etanol yang lebih tinggi, pada grafik terlihat pada konsentrasi HCl 3 M menuju 4 M peningkatan kadar glukosa tidak terlalu signifikan. Untuk optimasi kadar glukosa sebaiknya dilakukan pada konsentrasi HCl 3 M untuk mengurangi glukosa yang nantinya mampu terdegradasi lebih lanjut akibat tingginya konsentrasi HCl.

Hasil hidrolisis pada cake glukosa dapat dikatakan sebagai sisa hidrolisis atau merupakan padatan biji durian yang belum terkonversi langsung menjadi sirup glukosa. Kadar glukosa tertinggi pada cake glukosa pada hidrolisis 1 M HCl sebesar 20100 ppm. Cake maupun sirup glukosa dapat digunakan sebagai sumber bioetanol karena keduanya memiliki kadar glukosa yang cukup tinggi dan mampu diubah menjadi etanol oleh mikroba dengan kondisi yang sesuai.

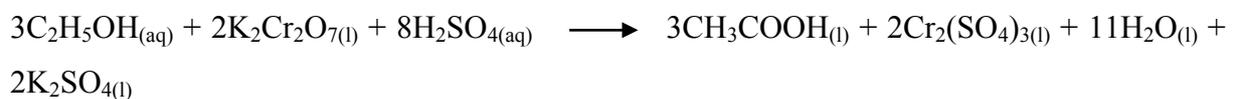
Mekanisme reaksi hidrolisis karbohidrat pada biji durian adalah :



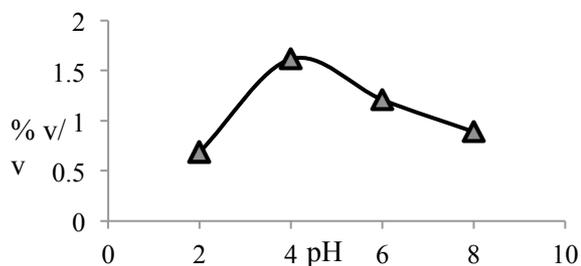
Skema 1. Mekanisme reaksi hidrolisis karbohidrat pada biji durian

Fermentasi variasi pH

Dari 96 jam fermentasi dengan variasi pH terjadi perbedaan kekeruhan pada masing-masing larutan fermentasi, hal tersebut mengindikasikan banyaknya biomassa yang dihasilkan. Semakin keruh larutan maka biomassa yang dihasilkan semakin banyak. Penentuan etanol pada larutan menggunakan metode cawan conway, prinsip kerjanya berdasarkan reaksi reduksi-oksidasi berikut:



Dengan metode cawan conway dibuat kurva baku etanol dengan persamaan garis $y = 5,257x + 0,045$ dengan $R^2 = 0,996$, dari persamaan tersebut dapat ditentukan kadar etanol yang dihasilkan setelah mengalami fermentasi. Kadar etanol yang dihasilkan pada variasi pH fermentasi ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Kurva etanol hasil fermentasi terhadap variasi pH fermentasi

Pada Gambar 2 terlihat bahwa pH 4 merupakan pH optimum yang dimiliki *S.cerevisiae* untuk melakukan fermentasi. Pada pH 2 kadar etanol yang mampu diubah sangat kecil

dibandingkan pada perubahan glukosa pada pH lainnya (4, 6, 8), hal tersebut dikarenakan pada keadaan yang terlalu asam dapat mendenaturasi enzim-enzim yang dibutuhkan untuk melakukan proses glikolisis didalam tubuh mikroba, Karena adanya pengaruh tersebut maka jalur glikolisis atau jalur Embden-Mayerhof-Parnas (EMP) yang setiap tahapannya dikatalisis oleh enzim akan terhambat, yang kemudian akan berpengaruh terhadap konsumsi dan perubahan glukosa menjadi etanol [6,14-15]. Pada kadar glukosa 8000 ppm, *S. cerevisiae* mampu mengubah glukosa menjadi etanol sekitar 1,61% (v/v).

KESIMPULAN

Pada sirup glukosa untuk selang 0-3 M HCl pada proses hidrolisis dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi HCl maka kadar glukosa yang dihasilkan akan semakin meningkat, sedangkan peningkatan konsentrasi HCl diatas 3 M akan menyebabkan kadar glukosa stasioner atau menurun. Proses fermentasi dengan peningkatan pH, tidak menghasilkan etanol yang berbanding lurus dengan peningkatan pH, namun terdapat titik optimum pH dari perubahan glukosa menjadi etanol yaitu pada pH 4.

DAFTAR PUSTAKA

1. Budi M., Sasongko, 2007, *Prospek Pengembangan Ubi Kayu sebagai Bahan Baku Bioetanol Daerah Istimewa Yogyakarta*, <http://distan.pemda-diy.go.id/index.php?option=content&task=view&id=269&Itemid=2> diakses tanggal 3 September 2012
2. Joelianto E., dan Dananjaya A., 2008, Perancangan dan Analisis Sistem Otomasi pada Proses Produksi Bioetanol Menggunakan Jala Petri Sinyal Terinterpretasi (JPST), *Gematek Jurnal Teknik Komputer*, 10, pp.1
3. Ardian, N.D., Endah, R.D., dan Sperisa, D., 2007, Pengaruh Kondisi Fermentasi terhadap Yield Etanol pada Pembuatan Bioetanol dari Pati Garut, *J. Gema Teknik*, 2, pp.1
4. Nurfiana F., Umi, M., Vicki, C.J., dan Putra S., 2009, Pembuatan Bioethanol dari Biji Durian sebagai Energi Alternatif, *Artikel Seminar Nasional V, SDM Teknologi Nuklir Yogyakarta*, ISSN 1978-0176.
5. I Nyoman W. P., I Gusti B. W., dan I Nyoman, S. W., 2011, Proses Treatment dengan Menggunakan NaOCl dan H₂SO₄ untuk Mempercepat Pembuatan Etanol dari Limbah Rumput Laut *Eucheuma Cottonii*, *jurnal imiah*, 3, pp. 64-68.

6. Suyandra D. I., 2007, *Pemanfaatan Hidrolisat Pati Sagu (Metroxylon, sp) sebagai Sumber Karbon pada Fermentasi Etanol oleh Saccharomyces cerevisiae*, Skripsi, Fakultas Teknologi Pertanian, IPB.
7. Yuniarsih N. F., 2009, *Pembuatan Bioetanol dari Dextrin dan Sirup Glukosa Sagu (Metroxylon, sp) Menggunakan Saccharomyces cerevisiae Saccharomyces cerevisiae var. ellipsoideus*, skripsi, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor
8. Kusmiyati W. M., 2011, *Perbandingan Umbi Iles-iles (Amorphophallus muelleri blume) dan Jagung (Zea mays) sebagai Bahan Baku Bioetanol dengan Proses Hidrolisis Enzim dan Fermentasi Menggunakan Zymomonas mobilis*, Simposium Nasional RAPI X FT UMS
9. Samsuri M., 2007, *Pemanfaatan Selulosa Bagas untuk Produksi Ethanol Melalui Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak dengan Enzim Xylanase*, *J. Makara Teknologi*, 11, pp. 17-24.
10. Diah S. P., 2009, *Pembuatan Glukosa Cair dari Bahan Baku Rebung (Production of Liquid Glucose from Bamboo Shoots)*, *J. kimia dan teknologi*, ISSN 0216 – 163 X
11. Hendro S., 2006, *Produksi dari Hidrolisat Fraksi Selulosa Tongkol Jagung oleh Saccharomyces cerevisiae*, Skripsi, Fakultas Teknologi Pertanian, IPB
12. Broto S. K., 2010, *Teknologi Pembuatan Etanol Berbasis Lignoselulosa Tumbuhan Tropis untuk Produksi Biogasoline*, Laporan Akhir, LIPI
13. Parmadi W. J., 2006, *Pengaruh Waktu Hidrolisis Dan Konsentrasi HCl Terhadap Nilai Dextrose Equivalent (DE) dan Karakterisasi Mutu Pati Termodifikasi dari Pati Tapioka dengan Metode Hidrolisis Asam*, skripsi, Fakultas Teknologi Pertanian, IPB
14. Didu N., 2010, *Produksi Bioetanol dari Sirup Glukosa Ubi Jalar (Ipomomea batatas L) secara Fed Batch dengan Menggunakan Saccharomyces cerevisiae*, Tesis, ITB.
15. Sebayang F., 2006, *Pembuatan Etanol dari Molase secara Fermentasi Menggunakan sel Saccharomyces cerevisiae yang Terimobilisasi pada Kalsium Alginat*, *Jurnal Teknologi Proses*, 5, pp. 68-74.