HASIL CEK_JURNAL 1

by Trianik Widyaningrum Pengaruh Konsentrasi Crude Enzim

Submission date: 01-Feb-2023 10:57AM (UTC+0700)
Submission ID: 2003836565
File name: 6097-23859-1-PB_1.pdf (579.57K)
Word count: 4584
Character count: 27272

Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi
E-ISSN 2654-4571; P-ISSN 2338-5006
Vol. 10, No. 2, December 2022; Page, 837-848
https://e-journal.undikma.ac.id/index.php/bioscientist

PENGARUH KONSENTRASI *CRUDE* ENZIM *Bacillus subtilis* IFO 13719 TERHADAP KADAR GULA DAN ETANOL FERMENTASI KULIT *Coffea arabica* MENGGUNAKAN *Zymomonas mobilis* IFO 13756

Dewi Suraningsih[1] dan Trianik Widyaningrum[2]*
[1&2]Program Studi Pendidikan Biologi, FKIP, Universitas Ahmad Dahlan, Indonesia
**E-Mail : trianik.widyaningrum@pbio.uad.ac.id*
DOI : https://doi.org/10.33394/bioscientist.v10i2.6097
Submit: 28-09-2022; Revised: 19-10-2022; Accepted: 01-11-2022; Published: 30-12-2022

ABSTRAK: Energi fosil menjadi bagian dari kebutuhan masyarakat di negara manapun, termasuk Indonesia. Kebutuhan energi fosil semakin lama semakin meningkat. Oleh karena itu, dilakukan upaya mencari bahan baku alternatif lain dari sektor non pangan untuk pembuatan etanol. Bahan selulosa memiliki potensi sebagai bahan baku alternatif pembuatan etanol. Salah satu limbah yang dapat dimanfaatkan yaitu kulit kopi arabika. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi *crude* enzim selulase *Bacillus subtilis* terhadap kadar gula dan etanol hasil fermentasi kulit kopi arabika menggunakan *Zymomonas mobilis* dan mengetahui konsentrasi *crude* enzim selulase yang menghasilkan kadar gula dan etanol tertinggi hasil fermentasi kulit kopi arabika menggunakan *Zymomonas mobilis*. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen dengan variabel bebas yaitu konsentrasi *crude* enzim selulase 0%, 2,5%, 5%, 7,5%, 10%, 12,5%, 15%, dan 17,5% (V/V), serta variabel terikat adalah kadar gula hasil hidrolisis dengan *crude* enzim selulase dan kadar etanol hasil fermentasi dengan *Zymomonas mobilis*. Hasil penelitian eksperimen dianalisis menggunakan uji regresi, ANOVA, dan uji Duncan. Penambahan *crude* enzim selulase *Bacillus subtilis* berpengaruh terhadap kadar gula dan bioetanol hasil fermentasi kulit kopi arabika menggunakan *Zymomonas mobilis*. Kadar gula tertinggi perlakuan P6 (konsentrasi *crude* enzim selulase *Bacillus subtilis* 15%) yaitu 0,93 g/mL. Kadar bioetanol tertinggi pada perlakuan P4 (konsentrasi *crude* enzim selulase *Bacillus subtilis* 10%) sebesar 4,46%.

Kata Kunci: Energi Fosil, Kulit Kopi Arabika, *Bacillus subtilis*, *Zymomonas mobilis*.

ABSTRACT: *Fossil energy is part of the needs of people in any country, including Indonesia. The need for fossil energy is increasing day by day. Therefore, efforts were made to find alternative raw materials from the non-food sector for the manufacture of ethanol. Cellulose material has potential as an alternative raw material for the manufacture of ethanol. One of the wastes that can be used is Arabica coffee skin. This study aims to determine the effect of the concentration of crude cellulase enzyme on sugar and ethanol content of fermented Arabica coffee husk using Zymomonas mobilis and to determine the concentration of crude cellulase enzyme which produces the highest sugar and ethanol content of fermented Arabica coffee husk using Zymomonas mobilis. This research is an experimental study with the independent variables, namely the concentration of crude cellulase enzymes, namely 0%, 2.5%, 5%, 7.5%, 10%, 12.5%, 15%, and 17.5% (V/V), and the dependent variable is the sugar content of hydrolysis with crude cellulase enzyme and the ethanol content of fermented with Zymomonas mobilis. The results of the experimental research were analyzed using regression test, ANOVA, and Duncan's test. The addition of crude cellulase enzyme Bacillus subtilis influence the increase sugar and bioethanol content of fermented Arabica coffee husks using Zymomonas mobilis. The highest sugar content in the P6 treatment (concentration of crude cellulase enzyme Bacillus subtilis 15%) was 0.93 g/mL. The highest levels of bioethanol in treatment P4 (crude cellulase enzyme Bacillus subtilis concentration 10%) was 4.46%.*

Keywords: *Fossil Energy, Arabica Coffee Bark, Bacillus subtilis, Zymomonas mobilis.*

Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi
E-ISSN 2654-4571; P-ISSN 2338-5006
Vol. 10, No. 2, December 2022; Page, 837-848
https://e-journal.undikma.ac.id/index.php/bioscientist

Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi *is Licensed Under a CC BY-SA Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License*.

PENDAHULUAN

Kopi merupakan salah satu hasil komoditas perkebunan yang memiliki nilai ekonomis yang cukup tinggi di antara tanaman perkebunan lainnya. Kopi arabika (*Coffea arabica*) tumbuh di bawah kanopi hutan tropis yang rimbun dan merupakan jenis tanaman berkeping dua (dikotil) yang memiliki akar tunggang. Bagian dari limbah perkebunan kopi, antara lain kulit daging buah memiliki proporsi 48% dari berat buah kopi gelondongan basah. Kandungan gula pada kulit buah kopi arabika sebesar 21,30% dan kandungan hemiselulosa sebesar 11,60% (Said & Purnama, 2020).

Limbah kulit kopi memiliki potensi sebagai bahan baku pembuatan bioetanol karena mengandung gula dan selulosa. Ada beberapa tahapan dalam proses pembuatan bioetanol yaitu *pretreatment*, hidrolisis, fermentasi, dan destilasi. *Pretreatment* adalah proses pemecahan ikatan lignin yang menutupi selulosa dan hemiselulosa. *Pretreatment* bertujuan agar struktur lignoselulosa yang mengandung lignin, selulosa, dan hemiselulosa dapat pecah, sehingga enzim yang akan digunakan dapat mendelegnifikasi selulosa dengan lebih mudah, dan membuat interaksi antara selulosa dan enzim dapat berjalan (Febriana, 2020). Rusaknya struktur selulosa akan mempermudah terurainya selulosa menjadi glukosa. Secara umum dikenal berbagai jenis metode hidrolisis yang dibedakan menjadi hidrolisis asam dan enzimatik. Hidrolisis asam adalah reaksi pemecahan molekul polisakarida dengan air yang dikatalisis oleh asam. Jenis asam yang sering digunakan untuk proses ini adalah asam klorida dan asam sulfat. Hidrolisis secara enzimatik dilakukan menggunakan aktivitas mikroba.

Biodegradasi limbah di lingkungan oleh mikroba melibatkan serangkaian aktivitas enzimatik. Pemanfaatan enzim yang dihasilkan dari bakteri, lebih banyak dipergunakan bila dibandingkan dengan enzim dari tanaman atau hewan karena pertumbuhan bakteri yang cepat dan mudah. Salah satu contoh bakteri yang menghasilkan enzim adalah *Bacillus subtilis*. *Bacillus subtilis* memiliki aktivitas selulase yang lebih tinggi dibandingkan dengan bakteri lainnya (Melati *et al*., 2014). Selanjutnya, kulit kopi yang telah dihidrolisis digunakan sebagai substrat untuk produksi bioetanol dengan cara fermentasi. Fermentasi bioetanol dari kulit kopi dapat menggunakan bakteri *Zymomonas mobilis* dan khamir *Saccharomyces cerevisiae* (Setyoko & Utami, 2016). Menurut Saisa & Syabriana (2018), bakteri *Zymomonas mobilis* ini banyak digunakan di perusahaan bioetanol karena mempunyai kemampuan yang dapat melampaui ragi dalam beberapa aspek. *Zymomonas mobilis* memiliki beberapa kelebihan dibandingkan dengan *Saccharomyces cerevisiae* yaitu dapat tumbuh secara anaerob fakultatif dan mempunyai toleransi suhu yang tinggi, mempunyai kemampuan untuk mencapai konversi yang lebih tinggi, tahan terhadap kadar etanol yang tinggi dan pH yang rendah, mampu menghasilkan *yield* etanol 92% dari nilai teoritisnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi *crude* enzim selulase

Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi
E-ISSN 2654-4571; P-ISSN 2338-5006
Vol. 10, No. 2, December 2022; Page, 837-848
https://e-journal.undikma.ac.id/index.php/bioscientist

terhadap kadar gula dan etanol hasil fermentasi kulit kopi arabika (*Coffea arabica*) menggunakan *Zymomonas mobilis*.

METODE

Penelitian ini dimulai bulan Februari sampai April tahun 2022 di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta. Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL), yang terdiri dari 8 perlakuan dan 3 kali ulangan.

Sterilisasi Alat

Alat-alat yang digunakan pada proses eksperimen harus disterilisasi menggunakan oven. Tujuan sterilisasi alat ini adalah mencegah kontaminasi pada saat eksperimen yang dapat mempengaruhi hasil. Sterilisasi alat menggunakan oven pada suhu 170°C selama 2 jam.

Penumbuhan *Bacillus subtilis* IFO 13719

Penumbuhan *Bacillus subtilis* menggunakan NA dengan cara melarutkan NA instan sebanyak 2-gram ke dalam erlenmeyer dan menambahkan 100 mL aquades. Kemudian larutan NA homogen disterilisasikan menggunakan *autoclave* selama 15 menit dengan suhu 121°C. Larutan NA kemudian dimasukkan ke dalam 20 tabung reaksi dengan volume 5 mL per tabung reaksi dan inkubasi selama 24 jam. Masing-masing media NA diinokulasi dengan *Bacillus subtilis* menggunakan kawat ose, setelah itu diinkubasi selama 24 jam (Maryanty *et al*., 2020).

Penumbuhan *Zymomonas mobilis* IFO 13756

Isolat *Zymomonas mobilis* disubkultur dengan membuat media 2-gram NA dan 100 ml aquades ke dalam erlenmeyer. Setelah larutan NA homogen disterilisasikan menggunakan *autoclave* selama 15 menit dengan suhu 121°C. Larutan NA kemudian dimasukan ke dalam 20 tabung reaksi dengan volume 5 mL per tabung reaksi dan diinkubasi selama 24 jam. Masing-masing media NA diinokulasi dengan *Zymomonas mobilis* menggunakan kawat ose, setelah itu diinkubasi pada suhu ruang selama 48 jam.

Pretreatment Sampel

Limbah kulit kopi arabika dibersihkan dan dicuci, kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50°C selama 2 jam. Kulit kopi dihancurkan dengan menggunakan blender sehingga diperoleh hasil berbentuk bubuk. Bubuk kulit kopi arabika lalu diayak dan ditimbang sebanyak 300 gram serta dimasukkan ke dalam tabung Erlenmeyer 2.000 mL. Selanjutnya direndam selama 12 jam menggunakan NaOH konsentrasi 6% sebanyak 800 mL. Kemudian dicuci menggunakan aquades sebanyak 5-liter sampai pH 7 dan dikeringkan di bawah sinar matahari dan ditutup menggunakan kain hitam. Pengukuran kadar gula reduksi sebelum dan setelah *pretreatment* untuk melihat perbandingan kadar gula reduksi yang dihasilkan. Pengukuran kadar gula reduksi menggunakan metode DNS (Widyaningrum & Parahadi, 2020).

Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi
E-ISSN 2654-4571; P-ISSN 2338-5006
Vol. 10, No. 2, December 2022; Page, 837-848
https://e-journal.undikma.ac.id/index.php/bioscientist

Penyiapan Larutan Nutrisi

Pembuatan larutan nutrisi dengan menyiapkan KH_2PO_4 (3 g/L), urea (3 g/L), $MgSO_4.7H_2O$ (0,5 g/L), $(NH_4)_2SO_4$ (10 g/L), dan $CaCl.H_20$ (0,5 g/L) yang ditimbang menggunakan timbangan analitik. Bahan-bahan tersebut dimasukkan dalam gelas *beaker* dan ditambah *aquadest* 100 mL. Semua bahan diaduk dengan menggunakan pengaduk kaca steril (Safaria *et al*., 2013).

Pembuatan Larutan *Tween* 80%

Larutan *tween* 80% disiapkan sebanyak 3 mL dimasukkan ke dalam labu ukur dan ditambahkan aquades 300 mL, kemudian digojog sampai homogen. Larutan *tween* berfungsi sebagai sufraktan non ionik yang dapat menurunkan tegangan antara air dan enzim (Safaria *et al*., 2013).

Tahap Produksi *Crude* Enzim

Sebanyak 20 gram bubuk kulit kopi arabika dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 500 mL dan ditambahkan larutan nutrisi sebanyak 100 mL dan ditutup. Campuran media disterilisasi pada temperatur 121°C selama 15 menit dan didinginkan. Bibit *Bacillus subtilis* diinokulasikan pada media dan diinkubasi dalam inkubator selama 6 hari dengan suhu 37°C (Tohamy *et al*., 2019). Setelah 6 hari dituangkan 300 mL larutan *tween* 80% ke dalam serbuk kulit kopi yang telah difermentasikan dan diaduk pada 150 rpm selama 16 menit pada suhu ruangan. Selanjutnya larutan tersebut disentrifugasi pada 3000 rpm selama 10 menit dan diperoleh ekstrak enzim kasar (Safaria *et al*., 2013).

Hidrolisis Kulit Kopi Arabika (*Coffea arabica*)

Ekstrak kulit kopi arabika ditambahkan aquades dengan perbandingan 1:10 (300 gram kulit kopi dalam 3-liter aquades), kemudian direbus sampai mendidih dan disaring menggunakan kain. Ekstrak kulit kopi sebanyak 100 mL dimasukkan ke dalam botol ukuran 100 mL (24 botol) dan disterilisasi menggunakan *autoclave* selama 15 menit dengan suhu 121°C. Kemudian ditambahkan *crude* enzim *Bacillus subtilis* sesuai perlakuan konsentrasi 0%, 2,5%, 5%, 7,5%, 10%, 12,5%, 15%, dan 17,5% (V/V) menggunakan pipet ukur secara aseptik dan dibuat tiga kali ulangan (24 botol) lalu diaduk menggunakan pengaduk kaca steril. Botol fermentasi ditutup dengan kapas dan dilapisi dengan aluminium *foil*, selanjutnya diinkubasi selama 6 hari pada kondisi pH 5 dan suhu 50°C (Vyas *et al*., 2016).

Pembuatan Larutan DNS

Larutan DNS dibuat dengan melarutkan 1-gram DNS, 0,1-gram Sodium sulfat, 2-gram NaOH, dan 100 mL aquades dilarutkan sampai homogen (Julaeha *et al*., 2016).

Pengukuran Gula Reduksi

Pengukuran kadar gula menggunakan metode *Dinitrosalicylic acid*. Dimasukkan sebanyak 500 microliter sampel kulit kopi dari hasil hidrolisis dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan 500 microliter aquades dan reagen DNS sebanyak 1 mL dan di*waterbath* pada suhu 90°C selama 15 menit (agar terjadi reaksi antara glukosa dalam sampel dengan DNS). Tabung didinginkan dan ditambah 500 microliter garam *Rochelle* 40% kemudian di*vortex*

Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi
E-ISSN 2654-4571; P-ISSN 2338-5006
Vol. 10, No. 2, December 2022; Page, 837-848
https://e-journal.undikma.ac.id/index.php/bioscientist

dan diukur kadar gulanya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm (Kodri *et al*., 2013).

Perlakuan dengan *Zymomonas mobilis* IFO 13756

Penumbuhan *Zymomonas mobilis* menggunakan NB (*Nutrient broth*). Media NB sebanyak 5-gram dan aquades 250 mL, lalu disterilisasi menggunakan *autoclave* selama 15 menit dengan suhu 121°C. Kemudian dimasukan ke dalam botol ukuran 100 mL sebanyak 50 mL. Setelah dingin dimasukkan biakan *Zymomonas mobilis* dan diinkubasi selama 48 jam. Bubur kulit kopi hasil hidrolisis ditambahkan kultur *Zymomonas mobilis* sebanyak 10% (Kusumaningati *et al*., 2013). Selanjutnya dilakukan fermentasi selama 7 hari (Junaini *et al*., 2019).

Pengukuran Kadar Bioetanol

Hasil destilat diukur kadar etanolnya menggunakan alkohol meter. Untuk pengukurannya yaitu alkohol meter akan tenggelam dan batas yang tercelup yang akan menunjukkan berapa kandungan alkohol pada sampel yang diuji.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar Gula Reduksi Kulit *Coffea arabica* Sebelum dan Setelah *Pretreatment*

Pretreatment adalah proses pemecahan ikatan lignin yang menutupi selulosa dan hemiselulosa. Proses *pretreatment* bertujuan untuk mengkondisikan bahan-bahan lignoselulosa, baik dari segi struktur maupun ukurannya. Rusaknya struktur kristal selulosa akan mempermudah terurainya selulosa menjadi glukosa yang dapat mendegradasi selulosa dan melepaskan ikatan lignin.

Tabel 1. Kadar Gula Reduksi Sebelum dan Setelah *Pretreatment*.

Perlakuan	Kadar Gula Reduksi (g/mL)			Rerata Kadar Gula Reduksi (g/mL)
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
Sebelum	1.01	0.93	0.91	0.95
Setelah	0.32	0.32	0.31	0.32

Tabel 2. Pengukuran pH Kontrol Sebelum dan Setelah *Pretreatment*.

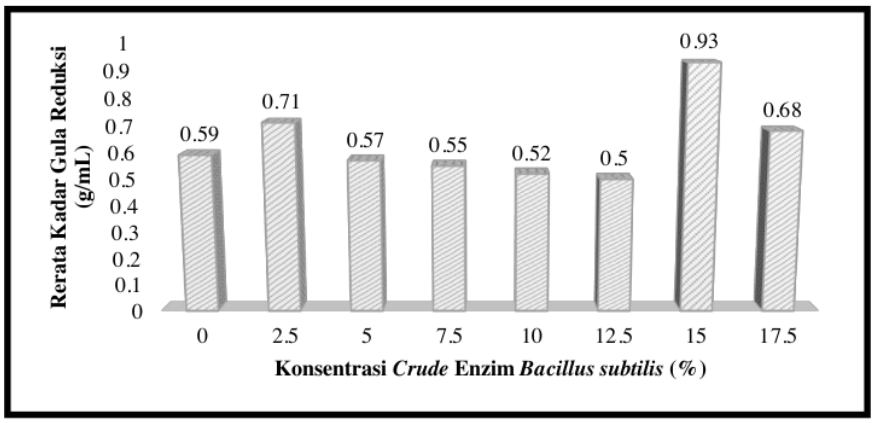
Perlakuan	Hasil Pengukuran pH			Rerata
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
Sebelum	7	7	7	7
Setelah	7	7	7	7

Hasil pengukuran kadar gula reduksi sebelum *pretreatment* diperoleh 0,95 g/mL dengan rerata pH 7 (normal), dan 0,32 g/mL dengan rerata pH 7 (normal) setelah *pretreatment*. Kadar gula reduksi setelah *pretreatment* mengalami penurunan. Berdasarkan penelitian Kodri *et al*. (2013), penurunan kadar gula reduksi setelah *pretreatment* terjadi karena penambahan NaOH 6% menyebabkan tingginya konsentrasi ion hidroksil dalam larutan, sehingga mempercepat pemutusan ikatan intra molekul lignin saat *pretreatment* dan mempercepat delignifikasi. Selama proses *pretreatment* dengan larutan NaOH 6%, polimer lignin akan terdegradasi dan kemudian larut. Larutnya lignin ini disebabkan oleh terjadinya transfer ion hidrogen dari gugus hidroksil pada lignin ke ion hidroksil (Ana & Kusuma, 2013).

Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi
E-ISSN 2654-4571; P-ISSN 2338-5006
Vol. 10, No. 2, December 2022; Page, 837-848
https://e-journal.undikma.ac.id/index.php/bioscientist

Kadar Gula Reduksi Kulit *Coffea arabica* Menggunakan *Crude* Enzim *Bacillus subtilis* IFO 13719

Hasil pengukuran kadar gula reduksi setelah perlakuan *crude* enzim selulase *Bacillus subtilis* berdasarkan Gambar 1 tertinggi pada perlakuan P6 (konsentrasi *crude* enzim *Bacillus subtilis* 15%) yaitu 0,93 g/mL dan rerata pH 6. Sedangkan rerata kadar gula reduksi terendah yaitu 0,50 g/mL dan rerata pH 7 pada perlakuan P5 (konsentrasi *crude* enzim *Bacillus subtilis* 12,5%). Kadar gula reduksi setelah perlakuan *crude* enzim *Bacillus subtilis* mengalami kenaikan dari 0,32 g/mL menjadi 0,93 g/mL. Berdasarkan penelitian Safaria *et al*. (2013) peningkatan yang dihasilkan pada waktu hidrolisis menggunakan enzim terjadi karena adanya interaksi antara enzim selulase dengan substrat yang tinggi. Interaksi antara enzim selulase dengan substrat selulosa akan membentuk komplek enzim-substrat yang menghasilkan glukosa sebagai produk etanol, sehingga kadar gula meningkat. Peningkatan kadar gula setelah fermentasi menggunakan *crude* enzim menunjukkan bahwa *Bacillus subtilis* mendegradasi selulase menjadi gula sederhana hingga menunjukkan kadar gula reduksi yang lebih tinggi dibandingkan sebelum perlakuan dengan *Bacillus subtilis*.



Gambar 1. Diagram Konsentrasi *Crude* Enzim *Bacillus subtilis* IFO 13719 terhadap Kadar Gula Reduksi dari Kulit *Coffea arabica*.

Tabel 3. Hasil Uji *One Way* ANOVA Kadar Gula Reduksi setelah Perlakuan *Crude* Enzim *Bacillus subtilis* IFO 13719.

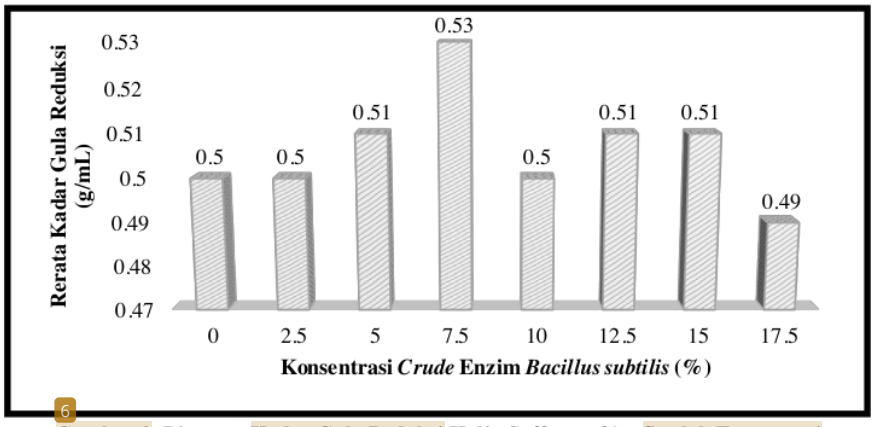
	Jumlah Kuadrat	df	Rata-rata Tengah	F	Sig.
Antara Kelompok	.406	7	.058	2.732	.045
Dalam Kelompok	.340	16	.021		
Jumlah	.746	23			

Hasil analisis kadar bioetanol setelah fermentasi *Bacillus subtilis* dilakukan uji *One Way* ANOVA hasil uji berdasarkan Tabel 3 menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,045 < 0,05, sehingga H1 ditolak dan H0 diterima. H0 diterima menandakan terdapat beda nyata pada kadar gula reduksi setelah diberi

Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi
E-ISSN 2654-4571; P-ISSN 2338-5006
Vol. 10, No. 2, December 2022; Page, 837-848
https://e-journal.undikma.ac.id/index.php/bioscientist

perlakuan perlakuan dengan *crude* enzim. Oleh karena itu, dilakukan uji lanjut menggunakan uji Duncan untuk melihat beda nyata pada tiap perlakuan. Berdasarkan uji Duncan menunjukkan hasil bahwa terdapat perbedaan nyata antara perlakuan *crude* enzim *Bacillus subtilis* terhadap kadar gula reduksi yang dihasilkan. Perlakuan yang berbeda nyata adalah perlakuan 6 (konsentrasi *Bacillus subtilis* 15%), karena perlakuan 6 (konsentrasi *Bacillus subtilis* 15%) memiliki kadar gula yang paling tinggi, sehingga berbeda nyata dengan perlakuan yang lain.

Kadar Gula Reduksi Kulit *Coffea arabica* Setelah Fermentasi *Zymomonas mobilis* IFO 13756



Gambar 2. Diagram Kadar Gula Reduksi Kulit *Coffea arabica* Setelah Fermentasi *Zymomonas mobilis* IFO 13756.

Hasil pengukuran kadar gula reduksi kulit kopi arabika setelah fermentasi menggunakan *Zymomonas mobilis* selama 7 hari dengan suhu 37°C, rerata kadar gula tertinggi didapatkan pada pada P3 (konsentrasi *crude* enzim *Bacillus subtilis* 7,5%) sebesar 0,53 g/mL dan rerata terendah didapatkan pada P7 (konsentrasi *crude* enzim *Bacillus subtilis* 17,5%) sebesar 0,49 g/mL. Kadar gula yang dihasilkan sebelum dan sesudah fermentasi dengan *Zymomonas mobilis* mengalami penurunan terbesar pada P6 (konsentrasi *crude* enzim *Bacillus subtilis* 15%) dari 0,93 g/mL menjadi 0,51 g/mL. Penurunan kadar gula reduksi setelah proses fermentasi menggunakan *Zymomonas mobilis* disebabkan kadar gula yang dimanfaatkan oleh mikroorganisme untuk pertumbuhan.

Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Kurniawan *et al*. (2012), bahwa penurunan konsentrasi kadar gula reduksi terjadi karena gula yang tersedia setiap waktunya terkonversi menjadi bioetanol akibat dari aktivitas mikroorganisme dan juga digunakan untuk makanan mikroorganisme dalam mempertahankan hidupnya, untuk pertumbuhan dan bereproduksi. Penelitian dilakukan memiliki relevansi dengan penelitian yang dilakukan Sandika *et al*. (2020) yang menyatakan bahwa perolehan kadar gula sisa yang berbeda di setiap waktu fermentasi menunjukkan adanya pengaruh waktu fermentasi terhadap

Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi
E-ISSN 2654-4571; P-ISSN 2338-5006
Vol. 10, No. 2, December 2022; Page, 837-848
https://e-journal.undikma.ac.id/index.php/bioscientist

konsumsi gula. Penurunan kadar gula reduksi terjadi karena adanya konsumsi gula oleh bakteri *Zymomonas mobilis* untuk metabolisme dan menghasilkan bioetanol.

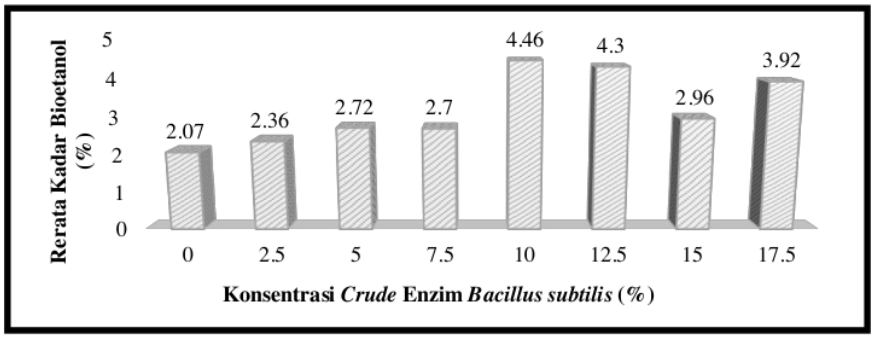
Tabel 4. Pengukuran pH Kulit *Coffea arabica* setelah Fermentasi *Zymomonas mobilis* IFO 13756.

Konsentrasi *Crude* Enzim (%)	Hasil Pengukuran pH			Rerata pH
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
0	6	6	6	6
2.5	6	6	6	6
5	6	6	6	6
7.5	6	6	6	6
10	6	6	6	6
12.5	6	6	6	6
15	6	6	6	6
17.5	6	6	6	6

Salah satu faktor yang berpengaruh dalam proses fermentasi gula menjadi bioetanol oleh *Zymomonas mobilis* adalah pH. Jika lingkungan hidup mikroorganisme sesuai, maka mikroorganisme tersebut dapat tumbuh dan melakukan metabolisme dengan baik. pH optimum yang digunakan oleh *Saccharomyces cerevisiae* dalam proses fermentasi adalah pada kisaran pH 4,0-5,5, sedangkan pH optimum yang digunakan oleh *Zymomonas mobilis* dalam proses fermentasi adalah pada kisaran pH 4,0-7,0 (Ramadhani, 2015). Hasil pengukuran pH pada penelitian setelah proses fermentasi mengalami perubahan dari pH 7,5 menjadi pH 6 (asam). Berdasarkan penelitian Ernes & Wardani (2014), menurunnya nilai pH ini dikarenakan pada produksi etanol oleh *Zymomonas mobilis* juga dihasilkan produk samping lainnya seperti asam laktat dan asam format sebagai hasil lain pemecahan piruvat.

Kadar Etanol Kulit *Coffea arabica* setelah Fermentasi dengan *Zymomonas mobilis*

Hasil pengukuran kadar etanol kulit *Coffea arabica* dengan konsentrasi *crude* enzim selulase *Bacillus subtilis* yang berbeda-beda menunjukkan rata-rata berkisar antara 2,07-4,46 (%), seperti yang dapat dilihat pada Gambar 3.

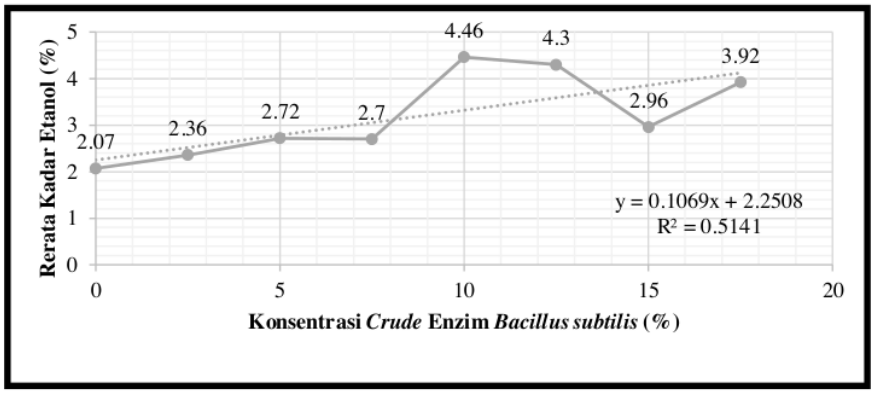


Gambar 3. Diagram Hasil Uji Kadar Bioetanol Kulit *Coffea arabica* Menggunakan *Zymomonas mobilis* IFO 13756.

Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi
E-ISSN 2654-4571; P-ISSN 2338-5006
Vol. 10, No. 2, December 2022; Page, 837-848
https://e-journal.undikma.ac.id/index.php/bioscientist

Berdasarkan uji kadar bioetanol kulit kopi arabika menggunakan *Zymomonas mobilis*. Bioetanol didapatkan melalui proses destilasi dan etanol yang dihasilkan dilakukan pengukuran dengan menggunakan alat alkohol meter. Hasil pengukuran kadar bioetanol diperoleh rerata kadar bioetanol tertinggi sebesar 4,46% pada perlakuan P4 (konsentrasi *crude* enzim selulase 10%), dan diperoleh rerata kadar bioetanol terendah sebesar 2,07% pada perlakuan kontrol (konsentrasi *crude* enzim selulase 0%). Perlakuan P4 (konsentrasi *crude* enzim selulase 10%) menghasilkan kadar etanol tertinggi memiliki relevansi dengan penelitian Kusumaningati *et al*. (2013) hasil etanol tertinggi juga diperoleh pada konsentrasi 10% dan kadar etanol terendah pada konsentrasi 0%. Hal tersebut disebabkan karena bakteri *Zymomonas mobilis* mampu menguraikan glukosa, fruktosa, atau sukrosa sebagai sumber karbon melalui jalur metabolik *Entner-Doudoroff*.

Jalur metabolisme ini hanya menghasilkan 1 mol ATP tiap mol glukosa atau fruktosa, sehingga *Zymomonas mobilis* menguraikan glukosa dengan kecepatan tinggi supaya menghasilkan cukup energi untuk pertumbuhannya. Oleh karena hanya menghasilkan satu molekul ATP, maka *Zymomonas mobilis* harus menguraikan glukosa dengan cepat untuk memenuhi kebutuhan ATP. Pada Gambar 4 dapat dilihat bahwa konsentrasi *crude* enzim 0% sebagai kontrol, menunjukkan hasil etanol terendah artinya tidak dapat memperoleh kadar etanol maksimal, karena tidak ada *crude* enzim *Bacillus subtilis* yang ditambahkan. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Widyaningrum & Parahadi (2020) kadar etanol terkecil terdapat pada perlakuan kontrol, tanpa perlakuan enzim selulase. Sehingga pemecahan selulosa menjadi glukosa tidak dapat terjadi secara maksimal.



Gambar 4. Uji Regresi Pengaruh Konsentrasi *Crude* Enzim *Bacillus subtilis* terhadap Kadar Etanol.

Uji regresi (Gambar 4) diperoleh nilai y = 0,1069x + 2,2508 dengan koefisien regresinya 0,5141. Hal tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi *crude* enzim *Bacillus subtilis* yang diberikan, maka semakin tinggi kadar etanol yang dihasilkan, meskipun pengaruhnya hanya 50%. Hal tersebut

Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi
E-ISSN 2654-4571; P-ISSN 2338-5006
Vol. 10, No. 2, December 2022; Page, 837-848
https://e-journal.undikma.ac.id/index.php/bioscientist

sesuai dengan pernyataan Widyaningrum & Parahadi (2020) bahwa semakin banyak enzim selulase yang ditambahkan, maka kadar etanol yang diperoleh akan semakin tinggi. Konsentrasi enzim akan sangat berpengaruh terhadap kadar etanol yang didapat pada proses fermentasi. Semakin besar enzim yang digunakan pada saat proses hidrolisis, maka semakin banyak kadar etanol yang dihasilkan.

Tabel 5. Hasil Uji *One Way* ANOVA Kadar Etanol Kulit Kopi Arabika.

	Jumlah Kuadrat	df	Rata-rata Tengah	F	Sig.
Antara Kelompok	17.288	7	2.470	2.911	.036
Dalam Kelompok	13.572	16	.848		
Jumlah	30.860	23			

Hasil analisis kadar bioetanol setelah fermentasi *Zymomonas mobilis* dilakukan dengan uji *One Way* ANOVA (Tabel 5) hasil uji menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,036 < 0,05, sehingga H1 ditolak dan H0 diterima. H0 diterima menandakan terdapat beda nyata kadar etanol tiap perlakuan. Oleh karena itu, dilakukan uji lanjut menggunakan uji Duncan untuk melihat beda nyata pada tiap perlakuan. Berdasarkan uji Duncan menunjukkan hasil bahwa ada perbedaan nyata antara perlakuan *crude* enzim *Bacillus subtilis* terhadap kadar bioetanol yang dihasilkan. Perlakuan yang berbeda nyata adalah perlakuan 4 (konsentrasi *Bacillus subtilis* 10%), karena perlakuan 4 (konsentrasi *Bacillus subtilis* 10%) memiliki kadar gula yang paling tinggi, sehingga berbeda nyata dengan perlakuan yang lain.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, konsentrasi *crude* enzim selulase *Bacillus subtilis* berpengaruh terhadap kenaikan kadar gula dan etanol hasil fermentasi kulit kopi arabika (*Coffea arabica*). Perlakuan P6 (konsentrasi *crude* enzim selulase *Bacillus subtilis* 15%) menghasilkan kadar gula tertinggi yaitu 0,93 g/mL. Perlakuan P4 (konsentrasi *crude* enzim selulase *Bacillus subtilis* 10%) menghasilkan kadar etanol tertinggi yaitu 4,46%.

SARAN

Penulis berharap bagi para peneliti selanjutnya yang ingin melakukan penelitian tentang pengaruh konsentrasi *crude* enzim selulase terhadap kadar gula dan etanol hasil fermentasi kulit kopi arabika (*Coffea arabica*) menggunakan *Zymomonas mobilis*, disaranan untuk penelitian lanjutan mengenai variasi waktu yang berbeda pada fermentasi menggunakan *Zymomonas mobilis*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Ahmad Dahlan dan Ibu Dr. Trianik Widyaningrum, M.Si., serta pihak-pihak yang terlibat dalam pelaksanaan penelitian.

Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi
E-ISSN 2654-4571; P-ISSN 2338-5006
Vol. 10, No. 2, December 2022; Page, 837-848
https://e-journal.undikma.ac.id/index.php/bioscientist

DAFTAR RUJUKAN

Ana, A.D., dan Dewi, B.K. (2013). Metode Hidrolisis Asam dan Fermentasi dengan Menggunakan Ragi Tape. *Jurnal Industri Inovatif*, *3*(2), 9-13.

Ernes, A., dan Wardani, A.K. (2014). Pembuatan Bioetanol dari Pati Biji Nangka oleh *Zymomonas mobilis* CP4 (Kajian Konsentrasi Inokulum dan Amonium Sulfat). *Jurnal Agrina*, *39*(1), 1-15.

Febriana. (2020). Pengaruh Variasi Massa Ragi *Saccharomyces cerevisiae* dan Waktu Fermentasi terhadap Kadar Bioetanol Berbahan Dasar Limbah Kulit Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.). *AMINA*, *2*(1), 19-25.

Julaeha, E., Rustiyaty, S., Fajri, N.N., Ramdani, F., dan Tantra, R. (2016). Pemanfaatan Tepung Gadung (*Dioscorea Hispida* Dennst.) pada Produksi Amilase Menggunakan *Bacillus* Sp. *Edufortech*, *1*(1), 45-52.

Junaini, Elvinawati, dan Sumpono. (2019). Pengaruh Kadar *Aspergillus niger* terhadap Produksi Bioetanol dari Bonggol Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* L.). *Alotrop*, *3*(2), 176-184.

Kodri, Argo, B.D., dan Yulianingsih, R. (2013). Pemanfaatan Enzim Selulase dari *Trichoderma Reseei* dan *Aspergillus niger* sebagai Katalisator Hidrolisis Enzimatik Jerami Padi dengan *Pretreatment Microwave*. *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis*, *1*(1), 36-43.

Kusumaningati, M.A., Nurhatika, S., dan Muhibuddin, A. (2013). Pengaruh Konsentrasi Inokulum Bakteri *Zymomonas mobilis* dan Lama Fermentasi pada Produksi Etanol dari Sampah Sayur dan Buah Pasar Wonokromo Surabaya. *Jurnal Sains dan Seni ITS*, *2*(2), 218-223.

Maryanty, Y., Saputra, F.L.W., dan Prasetyo, R. (2020). Pembuatan Asam Laktat dari Selulosa oleh Bakteri *Lactobacillus delbrueckii* dengan Selulase dari Bakteri *Bacillus subtilis* dan *Bacillus circulans*. *Jurnal Teknik Kimia dan Lingkungan*, *4*(2), 153-161.

Melati, I., Mulyasari, M., Sunarno, M.T.D., Bintang, M., dan Kurniasih, T. (2014). Produksi Enzim Selulase dari Bakteri TS2B yang Diisolasi dari Rumput Laut dan Pemanfaatannya dalam Menghidrolisis Kulit Ubi Kayu dan Daun Ubi Kayu sebagai Bahan Baku Pakan Ikan. *Jurnal Riset Akuakultur*, *9*(2), 263-270.

Ramadhani, P. (2015). *Mikrobiologi Industri*. Yogyakarta: Plantaxia.

Safaria, S., Idiawati, N., dan Zaharah, T.A. (2013). Efektivitas Campuran Enzim Selulase dari *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei* dalam Menghidrolisis Substrat Sabut Kelapa. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, *3*(1), 46-51.

Said, N.N.A., dan Purnama, H. (2020). Pembuatan Bioetanol dari Limbah Kulit Kopi Arabika dan Robusta dengan Variasi Waktu Fermentasi. In *Prosiding Bidang Sains dan Teknologi* (pp. 220-228). Yogyakarta, Indonesia: Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta.

Saisa dan Syabriana, M. (2018). Produksi Bioetanol dari Limbah Kulit Kopi Menggunakan Enzim. *Serambi Engineering*, *III*(1), 271-278.

Sandika, A.S., Muria, S.R., dan Yenti, S.R. (2020). Fermentasi Kulit Nanas Menjadi Bioetanol Menggunakan *Zymomonas mobilis* dengan Variasi

Waktu Pemekatan Medium dan Waktu Fermentasi. *JOM FTEKNIK*, *7*(2), 9-19.

Setyoko, H., dan Utami, B. (2016). Isolasi dan Karakterisasi Enzim Selulase Cairan Rumen Sapi untuk Hidrolisis Biomassa. In *Proceeding Biology Education Conference* (pp. 863-867). Surakarta, Indonesia: Universitas Sebelas Maret.

Tohamy, E.Y., El-Gamal, A.D., dan Abouelwafa, A.M. (2019). Biokonversi Jerami Padi Menjadi Bioetanol dengan Hidrolisis Enzimatik *Bacillus subtilis*. *Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, *14*(1), 9-29.

Vyas, A., Putatunda, C., Singh, J.R., and Vyas, D. (2016). Cellulase Production by *Bacillus subtilis* M1 Using Pretreated Groundnut Shell Based Liquid State Fermentation. *Biotropia*, *23*(1), 28-34.

Wardana. (2012). Retrieved September, 20, 2022, from Pengaruh Jenis dan Kecepatan Pengaduk pada Fermentasi Etanol Secara Sinambung dalam Bioreaktor Tangki Berpengaduk Sel Tertambat. Interactwebsite: http://lib.itenas.ac.id/kti/?p=14.

Widyaningrum, T., dan Parahadi, M. (2020). Kadar Bioetanol Kulit Mangga (*Mangifera indica*) dengan Perlakuan Enzim Selulase dari *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger*. *Life Science*, *9*(2), 194-203.

HASIL CEK_JURNAL 1

ORIGINALITY REPORT

19%	18%	6%	1%
SIMILARITY INDEX	INTERNET SOURCES	PUBLICATIONS	STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	vdocuments.site Internet Source	2%
2	digilib.its.ac.id Internet Source	2%
3	publikasiilmiah.ums.ac.id Internet Source	2%
4	media.neliti.com Internet Source	1%
5	www.scribd.com Internet Source	1%
6	jurnaltarbiyah.uinsu.ac.id Internet Source	1%
7	journal.unesa.ac.id Internet Source	1%
8	journal2.uad.ac.id Internet Source	1%
9	ejournal.upnjatim.ac.id Internet Source	1%

10	jsal.ub.ac.id Internet Source	1 %
11	ejournal.unp.ac.id Internet Source	1 %
12	enviro.its.ac.id Internet Source	1 %
13	jurnalserambiengineering.net Internet Source	1 %
14	unim.ac.id Internet Source	1 %
15	fe.ummetro.ac.id Internet Source	1 %
16	idoc.pub Internet Source	1 %
17	e-journal.undikma.ac.id Internet Source	1 %
18	Trianik Widyaningrum, Listiatie Budi Utami, Indro Prastowo, Vita Meylani, Adi Permadi. "Comparison of Bioethanol Production Using Saccharomyces cerevisiae and Zymomonas mobilis in Fermented Jackfruit Peel Treated with Blend Crude Cellulose Enzymes", International Journal of Design & Nature and Ecodynamics, 2022 Publication	1 %

19	Muhammad Rijal, Abajaidun Mahulauw, Adila Rumbaru. "Pengaruh Konsentrasi Saccharomyces cereviceae Terhadap Produksi Bioetanol Berbahan Dasar Batang Jagung", Biosel: Biology Science and Education, 2019 Publication	1 %
20	qdoc.tips Internet Source	1 %
21	journal.unnes.ac.id Internet Source	1 %
22	jurnal.unimus.ac.id Internet Source	1 %
23	snp2m.poliupg.ac.id Internet Source	1 %

Exclude quotes	On	Exclude matches	< 1%
Exclude bibliography	On		