

Pembuatan Bioetanol dari Limbah Kulit Kopi Arabika dan Robusta dengan Variasi Waktu Fermentasi

Narisa Nur Aini Said¹, Herry Purnama^{2*}

¹Program Studi Teknik Kimia/Fakultas Teknik, Universitas Muhammadiyah Surakarta

²Program Studi Teknik Kimia/Fakultas Teknik, Universitas Muhammadiyah Surakarta

Jl. A. Yani Pabelan Kartasura, Surakarta, Indonesia 57162

*Email: hp269@ums.ac.id

Abstrak

Keywords:

Bioetanol, Limbah kulit kopi arabika, Limbah kulit kopi robusta, Fermentasi, *Zymomonas mobilis*

Bioetanol adalah salah satu bahan bakar terbarukan yang dibuat dari tumbuhan maupun limbah perkebunan yang mengandung pati, glukosa dan serat selulosa dari fermentasi gula yang bersumber dari karbohidrat dengan bantuan mikroorganisme. Kandungan glukosa pada limbah kulit buah kopi arabika sebesar 852,36 mg/100mL sedangkan kandungan glukosa pada limbah kulit buah kopi robusta sebesar 673,76 mg/100mL. Bioetanol didapatkan dari proses fermentasi dimana proses fermentasi gula hasil hidrolisis kulit kopi menjadi bioetanol menggunakan bakteri *Zymomonas mobilis*. *Zymomonas mobilis* mempunyai kemampuan untuk mencapai konversi yang lebih tinggi, tahan terhadap kadar etanol yang tinggi dan pH yang rendah. Suhu optimum proses fermentasi dengan menggunakan bakteri *Zymomonas mobilis* pada kisaran pH sebesar 4 – 7. Bioetanol hasil fermentasi masing – masing selama 5 hari, 7 hari dan 9 hari dapat dimurnikan lagi dengan proses destilasi ekstraktif pada suhu 80°C, selanjutnya hasil distilat diuji kadar etanolnya menggunakan Gas Chromatography (GC). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kulit kopi dapat digunakan sebagai bahan baku alternatif pembuatan bioetanol dengan proses fermentasi. Hasil fermentasi limbah kulit kopi arabika selama 9 hari sebesar 63,81% dan hasil fermentasi limbah kulit kopi robusta selama 9 hari sebesar 60,00%.

1. PENDAHULUAN

Sebagai negara penghasil kopi terbesar ketiga di dunia setelah Brasil dan merupakan tanaman penting secara ekonomi di banyak negara tropis dan subtropis di seluruh dunia (1). Kopi merupakan salah satu hasil komoditi perkebunan yang memiliki nilai ekonomis yang cukup tinggi di antara tanaman perkebunan lainnya. Keberhasilan agribisnis kopi membutuhkan dukungan semua pihak yang terkait dalam proses produksi pengolahan kopi dan pemasaran komoditas kopi (2).

Kopi arabika 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 (3). Kandungan gula pada kulit buah kopi arabika sebesar 21,30% dan kandungan hemiselulosa sebesar 11,60%.

Kopi robusta merupakan tanaman kopi yang dapat tumbuh di daerah tropis maupun sub tropis. Kopi robusta membutuhkan kehangatan dan iklim

lembab dari dataran rendah dan kaki tropis (100 – 1000m) dengan suhu rata-rata harian 22-26°C (4). Kandungan hemiselulosa pada kulit buah kopi robusta sebesar 7,58%.

Buah kopi terdiri dari epikarp (kulit buah) merupakan bagian terluar dari buah kopi, mesokarp (daging kulit) merupakan bagian yang beragak manis dan mempunyai kandungan air yang cukup tinggi, endokarp (kulit tanduk) merupakan kulit kopi paling keras tersusun oleh selulosa dan hemiselulosa, spermoderm disebut dengan kulit ari merupakan kulit yang paling tipis dan menempel pada kulit kopi dan endosperm (keping biji) (5). Komponen selulosa dan hemiselulosa pada limbah kulit kopi dapat digunakan sebagai bahan baku dalam berbagai industri termasuk produksi bioetanol.

Bioetanol menjadi energi alternatif yang menjanjikan sebagai sumber bahan bakar terbarukan. Energi terbarukan diproduksi dari limbah hasil perkebunan sehingga berpotensi mengurangi ketergantungan terhadap bahan bakar minyak bumi dan memiliki keunggulan mampu menurunkan emisi gas rumah kaca (6). Bioetanol adalah salah satu bahan bakar alternatif yang dibuat dari tumbuhan yang mengandung pati, gula dan serat selulosa dari fermentasi gula yang bersumber dari karbohidrat dengan bantuan mikroorganisme. Bioetanol merupakan bahan bakar dari minyak nabati yang memiliki sifat menyerupai minyak premium.

Pembuatan bioetanol terdiri atas lima tahap yaitu tahap hidrolisis, tahap persiapan starter, tahap fermentasi, tahap distilasi dan tahap analisa. Setelah tahap destilasi selesai, maka etanol akan dianalisa lebih lanjut untuk mejadi bahan bakar minyak yang dapat digunakan sebagai bahan pengganti dari bahan bakar yang terbuat dari fosil sehingga dapat digunakan oleh masyarakat sebagai sumber bahan bakar rumah tangga (7). Limbah kopi yang merupakan hasil dari proses pembuatan bir kopi sebagai sumber gula, mineral dan serat-serat; sebagai sumber energi alternatif terbarukan (minyak biodiesel dan bioetanol) (8).

Hasil fermentasi dalam pembuatan bioetanol dipengaruhi oleh teknologi yang dipakai. Pemilihan mikroorganisme biasanya didasarkan pada jenis karbohidrat yang digunakan sebagai medium. Misalnya untuk memproduksi alkohol dari glukosa, fruktosa dan sukrosa dipergunakan *Zymomonas Mobilis* yang mampu ditumbuhkan dengan cepat dan mempunyai toleransi terhadap konsentrasi gula yang tinggi mampu menghasilkan alkohol dalam jumlah banyak. Tujuan dari penelitian ini adalah mencari waktu fermentasi yang terbaik menggunakan jenis limbah kulit kopi untuk mencari kadar bioetanol yang berkualitas dari pengolahan limbah kulit kopi.

2. METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 01 September – 10 November 2019 di Laboratorium Teknik Kimia, Universitas Muhammdiyah Surakarta. Bahan yang digunakan adalah Kulit Kopi Arabika dan Kulit Kopi Robusta, Aquadest, HCl, H₂SO₄, Glukosa, Reagen Nelson, Reagen *Arsenomolybdate*, MgSO₄.7H₂O, (NH₄)₂SO₄, KH₂PO₄, *Zymomonas mobilis*, dan Dietilen Glikol. Alat yang digunakan adalah Oven, Ayakan *Mesh*, Desikator, Seperangkat Alat Hidrolisis, Spektrofotometer, *Autoclave*, Inkubator, Fermentor, dan Seperangkat Alat Distilasi.

Prosedur Penelitian yang dilakukan meliputi :

a. Persiapan Bahan Baku (*Pre-treatment*)

Membersihkan kulit kopi yang selanjutnya dimasukkan ke dalam oven pada suhu 100°C selama 2 jam. Kemudian kulit kopi dihancurkan dengan cara diblender hingga berbentuk serbuk dan diayak pada ayakan 60 *mesh* dan dianalisa kandungan air serta kadar selulosa menggunakan metode FTIR dan *Chesson*.

b. Proses Hidrolisis

Hidrolisis asam dilakukan dengan cara menimbang serbuk kulit kopi dan ditambahkan aquadest. Kemudian

ditambahkan HCl 20%. Larutan kemudian dihidrolisis pada suhu 100°C selama 4 jam. Larutan selanjutnya disaring dan dianalisa kadar glukosa dengan metode *Nelson*.

c. Proses Fermentasi

Mengambil filtrat dari proses hidrolisis dan ditambahkan NaOH hingga pH 6 kemudian disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 120°C selama 15 menit. Selanjutnya, mendinginkan hingga suhu ruang. Memasukkan starter *Zymomonas mobilis* dan dikocok. Menutup botol fermentasi hingga rapat dan gas dialirkan ke dalam botol lain yang berisi air. Fermentasi dilakukan selama 5 hari, 7 hari dan 9 hari pada suhu ruang.

d. Proses Distilasi

Filtrat hasil fermentasi dimasukkan ke dalam labu leher 3 dan dipasang pada rangkaian alat distilasi. Proses distilasi dilakukan dengan pemanasan pada suhu 80°C. Hasil distilasi akan menghasilkan *crude* bioetanol. *Crude* bioetanol kemudian ditambahkan dietilen glikol dan dilakukan proses distilasi ekstraktif sampai titik didih etanol.

e. Pengujian Bioetanol

Cairan hasil distilasi ditampung dan dianalisis rendemen dan kadar etanolnya dengan menggunakan GC

f. Analisis Kadar Air

Memasukkan cawan petri kosong pada oven (T = 105°C), selama 1 jam. Kemudian cawan petri dimasukkan dalam desikator selama 30 menit ditimbang (Wo). Menimbang sample kulit kopi ± 2 gr (Ws) dan dimasukkan ke dalam oven (T=105°C) selama 1 jam. Sample kemudian dimasukkan dalam selama 30 menit dan ditimbang hingga konstan (Wi).

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{((W_o + W_s) - W_i)}{W_s} \times 100\%$$

g. Analisis Kadar Selulosa Metode Chesson

Menimbang 1 gram serbuk kulit kopi (a) dan ditambahkan dengan 150 mL aquades kemudian dipanaskan di

water batch pada temperatur 90-100°C selama 1 jam. Campuran di filter dan residu di cuci dengan air hangat 300 mL. Residu dikeringkan di oven dan timbang sampai berat konstan. Residu dicampur dengan 150 mL 1N H₂SO₄ dan dipanaskan di water batch pada temperatur 90-100°C selama 1 jam. Campuran di filter dan residu di cuci dengan aquades 300 mL lalu di oven, berat residu ditimbang sampai konstan (c). Residu kering direndam dengan H₂SO₄ 72% sebanyak 10 mL pada temperatur ruangan selama 4 jam. 150 mL 1 N H₂SO₄ ditambahkan pada campuran dan direfluks selama 1 jam. Residu dicuci dengan 400 mL aquades, di oven pada temperatur 105°C dan ditimbang hingga konstan (d).

$$\% \text{ Kadar selulosa} = \frac{(c - d)}{a} \times 100\%$$

h. Analisis Kadar Glukosa Metode Nelson

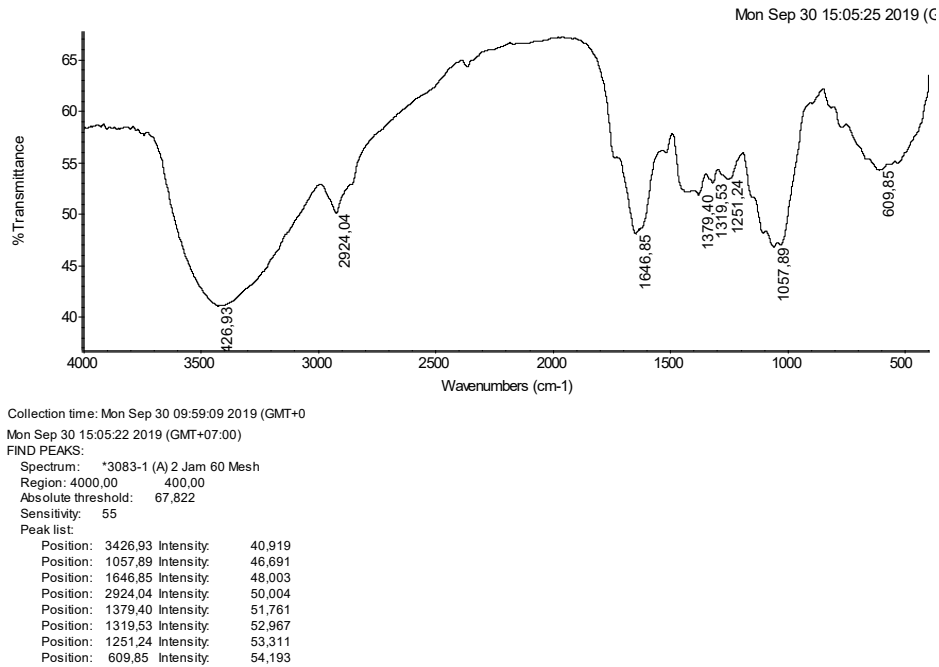
Memasukkan 1 mL sample glukosa murni ke dalam tabung reaksi, kemudian menambahkan 1 mL reagen Nelson (campuran Nelson A dan B dengan perbandingan 25 : 1). Setelah itu, memanaskan pada air mendidih selama 20 menit. Kemudian setelah larutan didinginkan, menambahkan 1 mL reagen *arsenomolybdate* dan 7 mL aquadest, kemudian dikocok dan diuji menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

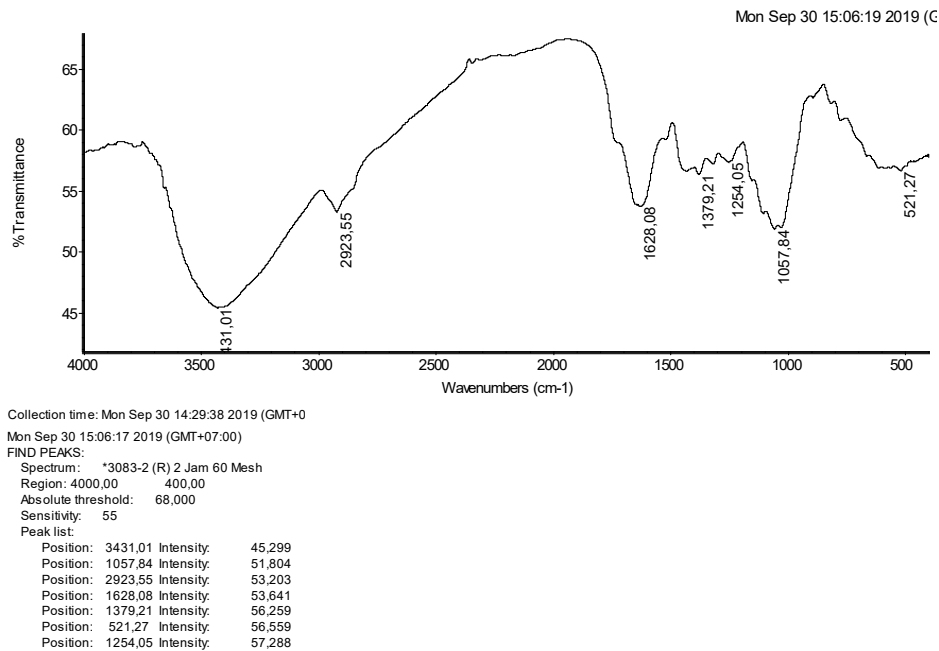
Etanol dapat diproduksi dari setiap bahan baku biologis yang mengandung jumlah yang cukup dari gula atau bahan yang dapat dikonversi menjadi gula seperti pati atau selulosa (9). Bioetanol (C₂H₅OH) adalah *biofuel* berbentuk cair, yang dihasilkan dari beberapa bahan baku biomassa yang berbeda, menggunakan berbagai teknologi konversi. Salah satu bahan baku biomassa adalah hasil limbah perkebunan seperti limbah kulit kopi. Ini merupakan bahan bakar alternatif yang menarik, seperti teknologi terbarukan, *bio-based*, dan oksigen sehingga memberikan

potensi untuk mengurangi partikulat dan NO_x emisi di mesin (10). Kelebihan gula dari pra-hidrolisis telah habis dan laju fermentasi tergantung pada jumlah gula yang dilepaskan oleh hidrolisis (11). Pada

penelitian ini, dilakukan pembuatan bioetanol dari limbah kulit kopi arabika dan robusta menggunakan variasi waktu fermentasi yang berbeda, yaitu 5 hari, 7 hari dan 9 hari.



Gambar 1. Spektrum FTIR Kulit Kopi Arabika



Gambar 2. Spektrum FTIR Kulit Kopi Robusta

Tabel 1. Analisis Kadar Air

Jenis Kulit Kopi	Kadar Air (%)
Arabika	8,502
Robusta	12,056

Tabel 2. Analisis Selulosa Metode FTIR

Struktur	Literatur (cm ⁻¹) (12)	Serapan Hasil Uji (cm ⁻¹)	
		Arabika	Robusta
O – H	3600 – 3100	3426,93	3431,01
C – H	2800 – 3000	2924,04	2923,55
CH ₂	1410	-	-
C – C	1310 – 1360	1379,40	1379,21
C – O	1200	1251,24	1254,05
C – O	1170	-	-
C-OH	1110	-	-
C – O – C	1080	-	-
C – O	1030	1057,89	1057,84
C – O	990	-	-
C = C	1620 &	1646,85	1628,08
C = O	1700		

Tabel 3. Analisis Kadar Glukosa (mg/100mL)

Jenis Kulit Kopi	Absorbansi	Kadar Glukosa (mg/100mL)
Arabika	3,586	852,362
Robusta	3,222	673,765

Tabel 4. Analisis Rendemen dan Kadar Etanol dari Bioetanol (%)

Jenis Kulit Kopi	Hari	Rendemen (%)	Kadar Etanol (%)
Arabika	5	15,008	52,8871
	7	22,050	59,4749
	9	23,574	63,8126
Robusta	5	14,618	46,1588
	7	21,370	58,4101
	9	22,304	60,0024

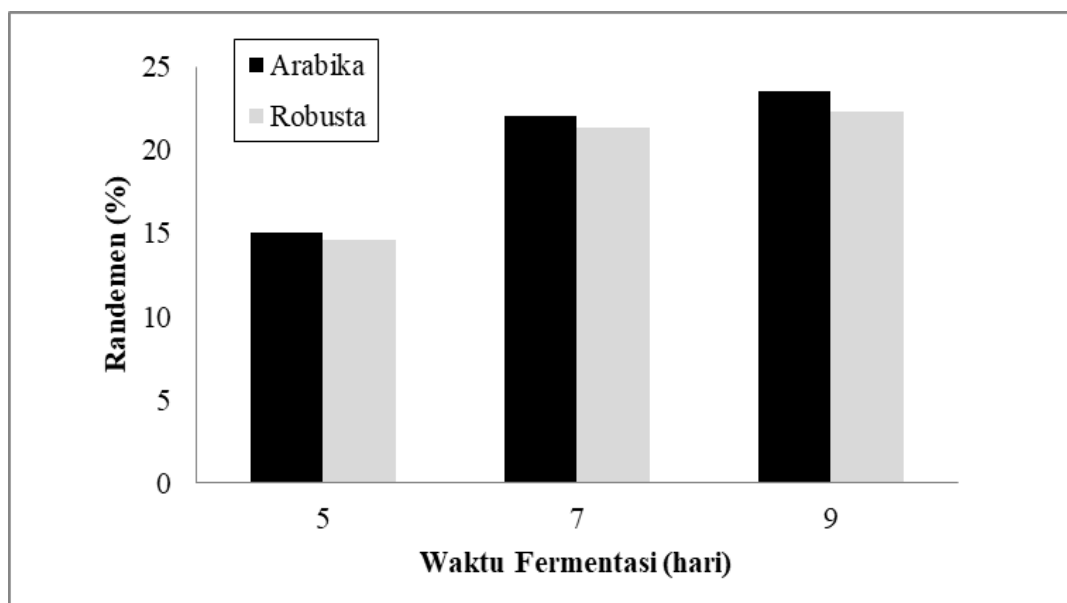
3.1 Penentuan Kadar Air dan Analisis Selulosa pada *Pretreatment* Kulit Kopi Arabika

Proses pembuatan bioetanol dengan bahan baku berupa limbah kulit kopi arabika dan robusta harus melalui *pre-treatment*, seperti pengeringan, analisis

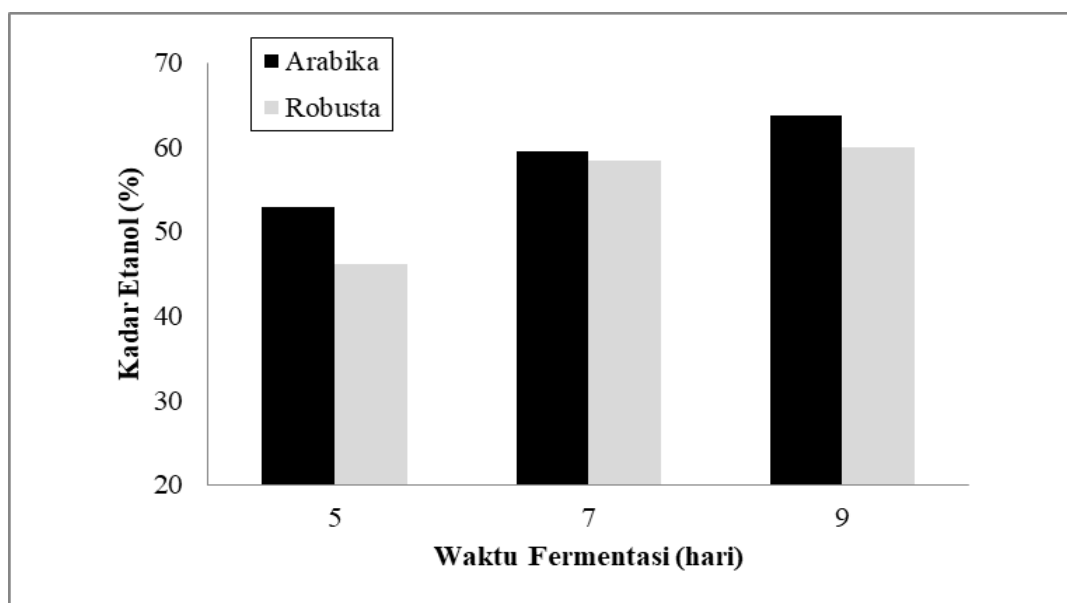
selulosa baik kuantitatif dan kualitatif, serta pengecilan ukuran. Semakin halus kulit kopi yang akan difermentasikan maka akan semakin cepat untuk terurai (13). Proses pengeringan dilakukan dalam oven pada suhu 100°C selama 2 jam, guna mengurangi kadar air yang tersisa, sehingga proses konversi menjadi glukosa lebih optimal. Dari hasil yang diperoleh, kadar air kulit kopi arabika sebesar 8,502 % dan kadar air kulit kopi robusta sebesar 12,056 %. Analisis kualitatif selulosa menggunakan FTIR dengan hasil seperti pada Tabel 2, dimana menunjukkan bahwa kulit kopi diyakini mempunyai komponen penyusun selulosa, terlihat pada hasil serapan ulur yang sebagian besar gugus fungsi mendekati rentang serapan ulur literatur yang digunakan. Hasil yang diperoleh diperkuat dengan pernyataan Kinney (2012), yang juga menyatakan gugus fungsi C–H ialah kerangka selulosa yang tampak pada bilangan gelombang 2800 – 3000 cm⁻¹ (14). Selain itu, serapan ulur pada kulit kopi arabika sebesar 3426,93 cm⁻¹ dan serapan ulur pada kulit kopi robusta sebesar 3431,01 cm⁻¹ menunjukkan adanya gugus hidroksil (O–H) dari selulosa. Sedangkan secara kuantitatif, dilakukan dengan metode *Chesson*, yang merupakan metode gravimetri setiap komponen setelah dihidrolisis. Sehingga didapatkan kadar selulosa yang terkandung dalam bahan baku kulit kopi arabika sebesar 38,5075% dan kadar selulosa yang terkandung dalam bahan baku kulit kopi robusta sebesar 35,8061%.

3.2 Penentuan Kadar Glukosa Hasil Hidrolisis

Setelah melalui proses *pretreatment*, dilanjutkan dengan proses hidrolisis secara asam menggunakan HCl. Perlu untuk melaksanakan hidrolisis asam untuk meningkatkan kandungan gula yang difermentasi (15). Pengujian kadar glukosa hasil hidrolisis menggunakan metode *Nelson* sehingga didapatkan hasil kadar glukosa pada kulit kopi arabika sebesar 852,362 mg/100mL dan kadar glukosa pada kulit kopi robusta sebesar 673,765 mg/100mL.



Gambar 3. Grafik Hubungan Waktu Fermentasi Terhadap Rendemen



Gambar 4. Grafik Hubungan Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Etanol

3.3 Penentuan Rendemen dan Kadar Etanol dari Bioetanol

Berdasarkan Gambar 3 dimana nilai rendemen yang diperoleh relatif kecil. Hal tersebut dapat dimungkinkan karena bahan baku kulit kopi yang digunakan mengandung selulosa, namun tidak banyak mengandung karbohidrat. Bahan baku atau biomassa pembuat bioetanol akan memiliki nilai rendemen tinggi apabila biomassa tersebut berkarbohidrat tinggi sehingga dapat dilihat sebagai bahan baku potensial untuk produksi

bioetanol (16). Banyak dari biomassa tanaman adalah selulosa dan hemiselulosa, hidrolitik enzim selulosa dan hemiselulosa sangat penting untuk proses biomassa ke etanol (17). Selulosa dan hemiselulosa dapat dikonversi menjadi gula, namun prosesnya akan lebih sulit jika dibandingkan dengan pati (9). Berdasarkan Tabel 4, bahan baku limbah kulit kopi arabika yang difermentasi selama 9 hari menghasilkan rendemen paling tinggi adalah sebesar 23,574 %.

Setelah proses fermentasi, dilakukan distilasi untuk menghentikan pertumbuhan *Zymomonas mobilis* serta untuk mengambil etanol dari larutan hasil fermentasi. Dalam proses ini, mikroorganisme yang direkayasa secara metabolik seperti bakteri mengubah etanol (11). *Z. mobilis* mampu memproduksi etanol permol glukosa difermentasi, hal ini dilaporkan menunjukkan toleransi etanol yang lebih tinggi, toleransi glukosa yang lebih tinggi dan fermentasi lebih cepat daripada *Saccharomyces Cerevisiae*, organisme digunakan untuk produksi etanol (18). Distilasi yang dilakukan sebanyak dua kali, yaitu distilasi sederhana dan distilasi ekstraktif. Distilasi ekstraktif dilakukan dengan mencampurkan solven dietilen glikol pada distilat distilasi sederhana dengan suhu 80°C. Waktu ekstraksi tidak memengaruhi kadar senyawa bioaktif maupun aktivitas antioksidan dari ekstrak (19). Dietilen glikol bertugas untuk mengikat air yang terkandung dalam distilat hasil distilasi sederhana sehingga distilat yang dihasilkan pada distilasi ekstraktif ini adalah etanol yang mengandung sedikit kandungan air.

Sebuah kombinasi dari selulosa, produksi selulosa yang dihidrolisis dan fermentasi ke dalam satu langkah, yang dianggap sebagai alternatif pendekatan dengan potensi yang luar biasa (20). Hasil akhir dari penelitian ini menghasilkan bioetanol dengan kenampakan jernih, terang, tidak ada endapan dan kotoran, yang kemudian dianalisa kadar etanolnya menggunakan *Gas Chromatography* (GC). Pengujian kadar etanol menggunakan GC menggunakan larutan standart berupa propanol yang digunakan sebagai pembanding ketika proses analisa GC. Berdasarkan Gambar 4 menunjukkan bahwa masing – masing sampel dengan variasi waktu fermentasi selama 5 hari, 7 hari dan 9 hari mengalami peningkatan seiring dengan semakin lama waktu fermentasi terhadap bahan baku. Semakin lama waktu fermentasi maka semakin tinggi kadar etanol yang dihasilkan.

Fermentasi gula pereduksi memainkan peran utama dalam hasil

etanol (21). Peningkatan kadar etanol disertai dengan menurunnya kadar glukosa dalam substrat, hal ini menunjukkan adanya konsumsi gula oleh *Zymomonas mobilis*. Kandungan lemak dalam *Zymomonas mobilis* menghasilkan konsentrasi etanol yang tinggi (22). Sejalan dengan peneliti terdahulu oleh Luluk (23), sehingga didapatkan kondisi terbaik untuk proses fermentasi adalah pada limbah kulit kopi arabika dengan waktu fermentasi selama 9 hari yang menghasilkan kadar etanol sebesar 63,8126 % dan pada limbah kulit kopi robusta dengan waktu fermentasi selama 9 hari yang menghasilkan kadar etanol sebesar 60,0024 %. Hal tersebut sejalan dengan hasil glukosa yang diperoleh setelah proses hidrolisis dan rendemen yang dihasilkan, dimana menunjukkan bahwa limbah kulit kopi arabika yang telah difementasi selama 9 hari memiliki rendemen tertinggi dibandingkan kondisi yang lain.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa kulit kopi dapat digunakan sebagai bahan baku alternatif pembuatan bioetanol dengan proses hidrolisis dan fermentasi. Hasil fermentasi limbah kulit kopi arabika berbagai variasi waktu fermentasi, diperoleh hasil kadar etanol tertinggi pada fermentasi selama 9 hari sebesar 63,8126% dan hasil fermentasi limbah kulit kopi robusta diperoleh hasil kadar etanol tertinggi pada fermentasi selama 9 hari sebesar 60,0024%. Hal ini disebabkan kadar glukosa yang terkandung dalam kulit kopi arabika lebih besar dibandingkan kadar glukosa dalam kulit kopi robusta sehingga proses fermentasi berjalan sejalan dengan konversi glukosa menghasilkan kadar etanol yang maksimal.

REFERENSI

1. Galvão E, Menezes T. Use of Different Extracts of Coffee Pulp for the Production of Bioethanol. 2013;673–87.
2. Marhaenanto B, Soedibyo DW, Farid

- M. Penentuan lama Sangrai Kopi Terhadap Variasi Derajat Sangrai. *J Agroteknologi*. 2015;09(02):1–10.
3. Lim TK, Lim TK. *Coffea arabica*. *Edible Med Non-Medicinal Plants*. 2013;614–79.
 4. Baumann TW. *Espresso Coffee – Chapter 2: The Plant*. 2015;(May).
 5. Raudah E. Pemanfaatan kulit kopi arabika dari proses. 2012;10(21):12–21. Available from: [,Jurusan%5CnTeknik%5CnKimia%5CnPoliteknik%5CnNegeri%5CnLhokseumawe](http://www.jurusan%5CnTeknik%5CnKimia%5CnPoliteknik%5CnNegeri%5CnLhokseumawe).
 6. Harsono SS, Fauziah RR. Produksi Bioetanol dari Limbah Kopi Rakyat Untuk Memperkuat Ketahanan Energi di Kawasan Ijen Kabupaten Bondowoso – Jawa Timur Oleh : Soni Sisbudi Harsono Jl . Kalimantan 37 Jember – Jawa Timur 68121 IbM Kelompok Tani Memanfaatkan Limbah Cair Kopi Sebagai. 2015;1–22.
 7. Kimia JT, Negeri P, Pandang U. *Pembuatan Bioetanol Sebagai Bahan Bakar Rumah Tangga*. 2018;
 8. Narita Y, Inouye K. Review on utilization and composition of coffee silverskin. *Food Res Int [Internet]*. 2014;61:16–22. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2014.01.023>
 9. Rutz D, Janssen R. *Biofuel Technology Handbook*. 2nd Vers. Germany: WIP Renewable Energies; 2008. 40–71 p.
 10. Nair RB, Lennartsson PR, Taherzadeh MJ. *Bioethanol Production From Agricultural and Municipal Wastes [Internet]*. *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering: Solid Waste Management*. Elsevier B.V.; 2017. 157–190 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-444-63664-5.00008-3>
 11. Pardo A, Natalense P. Edited by Marco Aurelio Pinheiro Lima.
 12. Pastorova I, Botto RE, Arisz PW. Cellulose char structure: a combined analytical Py-GC-MS , F IR , and NMR study. 1994;262:27–47.
 13. Juwita AI, Mustafa A, Tamrin R. *Studi Pemanfaatan Kulit Kopi Arabika (Coffee Arabica L.) Sebagai Mikro Organisme Lokal (MOL)*. *Agrotek*. 2017;11(1):1.
 14. Kinney TJ, Masiello CA, Dugan B, Hockaday WC, Dean MR, Zygourakis K, et al. Hydrologic properties of biochars produced at different temperatures. *Biomass and Bioenergy*. 2012;41:34–43.
 15. Sisbudi S, Fauzi M. *Second Generation Bioethanol from Arabica Coffee Waste Processing at Smallholder Plantation in Ijen Plateau Region of East Java PB*. *Procedia Chem [Internet]*. 2015;14:408–13. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.proche.2015.03.055>
 16. Franca AS, Gouvea BM, Torres C, Oliveira LS, Oliveira ES. Feasibility of ethanol production from coffee husks. *J Biotechnol*. 2008;136:S269.
 17. Chisti Y. Book review: *Drunken dreams*. *Biotechnol Adv [Internet]*. 1998;16(2):385–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24492210>
 18. Carey VC, Ingram LO. Lipid composition of *Zymomonas mobilis*: Effects of ethanol and glucose. *J Bacteriol*. 1983;154(3):1291–300.
 19. Costa ASG, Alves RC, Vinha AF, Barreira SVP, Nunes MA, Cunha LM, et al. Optimization of antioxidants extraction from coffee silverskin, a roasting by-product, having in view a sustainable process. *Ind Crops Prod [Internet]*. 2014;53:350–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.01.006>
 20. He MX, Wu B, Qin H, Ruan ZY, Tan FR, Wang JL, et al. *Zymomonas mobilis*: A novel platform for future biorefineries. *Biotechnol Biofuels*. 2014;7(1):1–15.
 21. Shenoy D, Pai A, Vikas RK, Neeraja HS, Deeksha JS, Nayak C, et al. A study on bioethanol production from cashew apple pulp and coffee pulp waste. *Biomass and Bioenergy [Internet]*. 2011;35(10):4107–11. Available from:

- <http://dx.doi.org/10.1016/j.biombioe.2011.05.016>
22. Baratti JC, Bu'lock JD. *Zymomonas mobilis*: A bacterium for ethanol production. *Biotechnol Adv.* 1986;4(1):95–115.
 23. Luluk E, P DS, S ND, Tri W, Ali A, Domas C, et al. Bioethanol Quality Improvement of Coffee Fruit Leather. 2016;01004:2015–7.