

PRODUKSI BIOETANOL DARI LIMBAH KULIT NANAS MENGGUNAKAN BAKTERI *CLOSTRIDIUM ACETOBUTYLICUM* DENGAN VARIASI KONSENTRASI INOKULUM DAN PENAMBAHAN NUTRISI

Nurriya Mayang Sari¹⁾, Sri Rezeki Muria²⁾, Elvi Yenie²⁾

¹⁾Mahasiswa Jurusan Teknik Kimia ²⁾Dosen Pembimbing Teknik Kimia

Laboratorium Teknologi Bioproses

Program Studi Teknik Kimia S1, Fakultas Teknik, Universitas Riau

Kampus Bina Widya Jl. HR. Soebrantas Km 12,5 Simpang Baru, Panam,

Pekanbaru 28293

Email : nurriyamayangsari15@gmail.com

ABSTRACT

One material that has potential as raw material for bioethanol is the pineapple peel. Pineapple peel is one of the biggest agricultural waste in Indonesia, especially in Riau derived from pineapples. Pineapple peel can be used as raw material for bioethanol production due to contains of fiber, carbohydrates and glucose. This study was conducted to produce ethanol by fermentation of pineapple peel slurry with treatment concentration inoculum at 10%, 12%, 14% and 16% with the addition nutrition of urea 0,6 g/l , ammonium sulphate 1,3 g/l and fermentation time of 2, 4, 6, 8 and 10 hours. The fermentation was conducted in batch process. The result showed that inoculum volume and substrate fermentation also ethanol increased since the population of cells improved. The highest yield of bioethanol is 9% (v/v) at inoculum concentrated 14% with addition nutrition of urea and the fermentation time 8 hours.

keywords : *volatile acid, urea, amonium sulfate, fermentation.*

1.PENDAHULUAN

Kebutuhan energi saat ini masih banyak disuplai dari bahan bakar yang berasal dari fosil. Terbatasnya sumber bahan bakar fosil dapat berakibat pada krisis energi yang akan menyebabkan terganggunya pertumbuhan perekonomian dunia. Salah satu sumber energi alternatif terbarukan yang berpotensi besar untuk dikembangkan adalah bahan bakar nabati yang merupakan bahan bakar dari sumber daya hayati yang disebut bioetanol.

Bioetanol merupakan bahan bakar alternatif yang baik sebagai pengganti bahan bakar cair yang bahan bakunya dapat diperbarui dan tidak merusak lingkungan.

Produksi bioetanol dengan metode fermentasi dapat dilakukan dengan berbagai macam bahan baku yang mengandung gula reduksi. Salah satu bahan baku yang digunakan untuk memproduksi bioetanol adalah kulit nanas. Menurut Wijana, dkk (1991) kulit nanas mengandung 81,72% air, 20,87% serat kasar, 17,53% karbohidrat, 4,41% protein dan 13,65 % gula reduksi sehingga dengan kandungan gula yang cukup tinggi limbah kulit nanas dapat di jadikan sebagai sumber bahan baku untuk memproduksi bioetanol.

Di Indonesia tanaman nanas sangat cocok untuk dibudidayakan karena sesuai

dengan iklim di Indonesia. Salah satu sentra produksi nanas terbesar di Indonesia yaitu di Provinsi Riau. Pada umumnya masyarakat hanya memanfaatkan daging nanas saja sedangkan kulit buah nanas tersebut biasanya langsung dibuang atau tidak digunakan lagi. Manfaat kulit nanas ini dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan bioetanol.

Pembuatan bioetanol ini terdiri dari fermentasi dan evaporasi. Sebelum proses pengolahan kulit nanas terlebih dahulu dibersihkan. Selain itu agar kulit nanas tidak terkontaminasi oleh mikroorganisme-mikroorganisme yang menyebabkan asam pada kulit nanas maka dijaga pada kondisi tetap dingin. Kulit nanas dibentuk menjadi partikel halus dengan cara di *blender* membentuk *slurry*. Setelah itu baru dilakukan proses fermentasi dengan bantuan mikroorganisme *Clostridium acetobutylicum*.

2. METODE PENELITIAN

2.1 Bahan dan Alat

2.1.1 Bahan

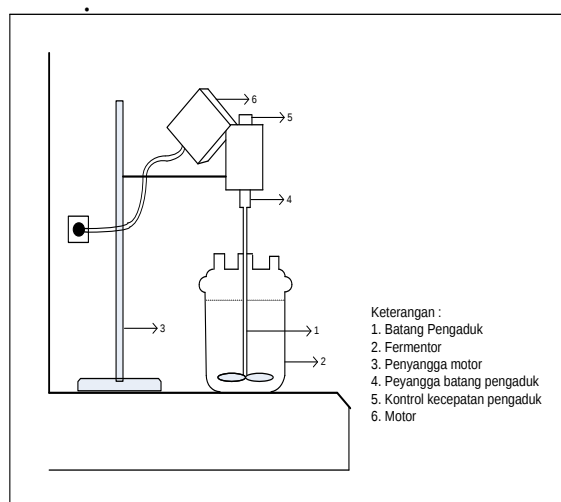
Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit nanas berasal dari Kabupaten Kampar, bakteri *Clostridium acetobutylicum*, Urea $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$, KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ sebagai sumber nutrisi bakteri, Aquadest, reagen *Nelson Somogyi*.

2.1.2 Alat

Peralatan digunakan dalam penelitian ini adalah : *Fermentor*, *autoclave*, *inkubator*, pengaduk, *rotary evaporator*, *erlenmeyer*, labu leher tiga, pH meter, jarum ose, *oven*, spatula, labu ukur, cawan petri, *shaker*, spektrofotometer, kertas saring, timbangan analitik, tabung reaksi dan rak, gelas ukur, dan peralatan gelas lainnya.

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini terbagi menjadi 2, yaitu variabel tetap dan variabel berubah. Variabel tetap pada penelitian ini adalah medium fermentasi berupa *slurry* kulit nanas, pH awal 6,5 (Sakius, 2011), suhu operasi pada suhu ruang (Kusuma, 2010), kecepatan pengadukan 150 rpm (Sakius, 2011), serta nutrisi berupa KH_2PO_4 sebanyak 0,1 g/l, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ sebanyak 0,05 g/l dan urea sebanyak 0,6 g/l (Rahmah, 2015).

Variabel berubah pada penelitian ini adalah waktu pengambilan sampel yaitu pada 2, 4, 6, 8 dan 10 hari, volume inokulum 10%, 12%, 14%, dan 16%.



Gambar 1. Rangkaian Alat Fermentasi

2.2 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian terdiri dari beberapa tahap sebagai berikut.

2.2.1 Tahap Persiapan

Tahap persiapan meliputi persiapan bahan baku dan pembuatan kurva standar glukosa.

1. Pembuatan Kurva Standar Glukosa

Kurva standar glukosa digunakan dalam penentuan konsentrasi glukosa dari substrat dengan metode Nelson-Samogyi (Sudarmadji, 1989). Kurva ini menyatakan

hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi glukosa. Dengan kurva ini larutan yang mengandung gula (gula pereduksi) dapat diketahui konsentrasinya dengan menggunakan spektrofotometer sinar tampak.

2. Penyiapan Bahan Baku (substrat)

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit nanas. Untuk menjaga kebersihan kulit nanas maka sebelum proses pengolahan dilakukan pencucian terlebih dahulu hingga bersih menggunakan air mengalir. Selain itu agar kulit nanas tidak terkontaminasi oleh mikroorganisme-mikroorganisme yang menyebabkan asam pada kulit nanas maka dijaga pada kondisi tetap dingin. Kulit nanas dibentuk menjadi partikel halus dengan cara di *blender* membentuk *slurry* dengan perbandingan kulit nanas dan aquades adalah 1 : 2. Kulit nanas di *blender* hingga menghasilkan *slurry* sebanyak 1,5 liter. Kemudian substrat kulit nanas yang telah menjadi *slurry* kemudian dimasukkan ke fermentor.

2.2.2 Tahap Penelitian

1. Persiapan Inokulum

Inokulum dibuat sesuai variabel yaitu 10%, 12%, 14% dan 16%. Tambahkan nutrisi urea ((NH₂)₂CO) sebanyak 0,6 g/l, KH₂PO₄ sebanyak 0,1 g/l, MgSO₄ 7H₂O sebanyak 0,05 g/l. Stok bakteri *Clostridium acetobutylicum* dimasukkan kedalam erlemeyer berisi media tumbuh yang telah disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit dan kemudian erlemeyer di *shaker* selama 24 jam pada kecepatan 150 rpm (Sakius, 2011). Setelah 24 jam dilakukan uji OD (*Optical Density*).

2. Penyiapan Medium Fermentasi (substrat)

a. Persiapan medium fermentasi

Medium fermentasi ditambahkan nutrisi yaitu KH₂PO₄ sebanyak 0,1 g/l, MgSO₄ 7H₂O sebanyak 0,05 g/l dan (NH₂)₂CO sebanyak 0,6 g/l, lalu diaduk hingga merata (homogen). Selanjutnya medium fermentasi disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit, lalu dinginkan sampai suhu kamar.

b. Proses Fermentasi

Proses fermentasi dilakukan dengan cara menambahkan sejumlah inokulum kedalam medium fermentasi dengan komposisi 10%, 12%, 14% dan 16%. Fermentasi dilakukan pada suhu kamar. Waktu fermentasi divariasikan pada 2, 4, 6, 8 dan 10 hari untuk mengamati pengaruh waktu fermentasi terhadap bioetanol yang dihasilkan.

2.2.3 Tahap Analisa

Pada penelitian ini parameter yang dianalisa yaitu konsentrasi bioetanol dan konsentrasi gula substrat. konsentrasi bioetanol hasil fermentasi dianalisa menggunakan alkoholmeter. Konsentrasi gula substrat berupa kadar gula awal dan kadar gula akhir dianalisa dengan metode *Nelson-Somogyi* menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis (Sudarmadji, 1997).

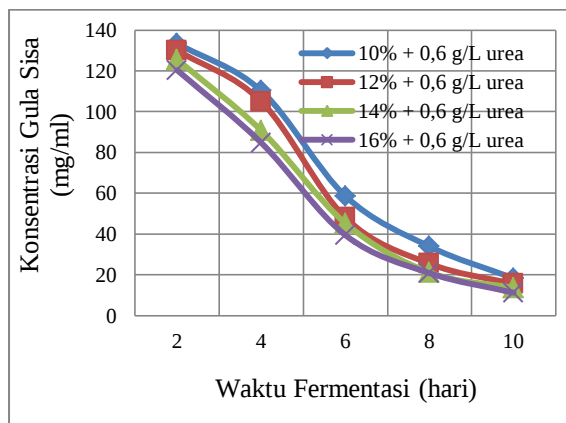
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Pengaruh Waktu Fermentasi

Terhadap Konsentrasi Gula Sisa Hasil Fermentasi

Setelah proses fermentasi selesai, dilakukan analisa terhadap konsentrasi gula sisa dengan metode *Nelson-Somogyi* menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis. Gula sisa yang diuji merupakan sampel dengan pengambilan 2, 4, 6, 8 dan 10 hari. Data konsentrasi gula sisa didapatkan dengan memasukkan nilai

absorbansi kedalam persamaan kurva standar glukosa. Data yang diperoleh kemudian ditampilkan dalam bentuk hubungan waktu fermentasi terhadap konsentrasi gula sisa. Analisa gula sisa bertujuan untuk melihat efektivitas sel dalam mengkonversi gula menjadi bioethanol. Pengaruh waktu terhadap konsentrasi gula sisa dapat dilihat pada Gambar 2.



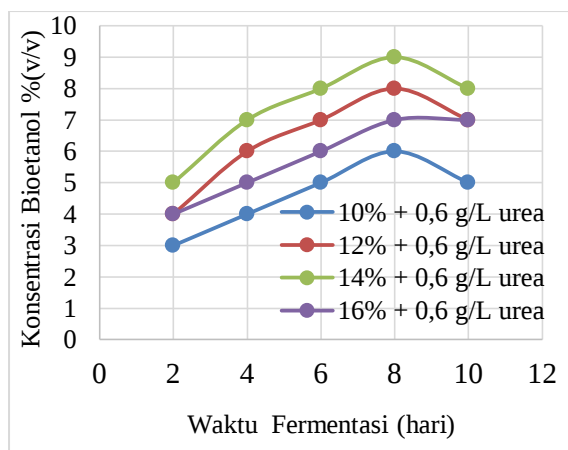
Gambar 2. Hubungan Waktu Fermentasi Terhadap konsentrasi Gula Sisa Fermentasi

Dari Gambar 2 menunjukkan semakin lama waktu fermentasi konsentrasi gula yang tersisa semakin kecil. Hal ini disebabkan gula yang terdapat pada substrat terkonversi menjadi bioetanol dan sebagian digunakan sebagai sumber karbon (C) untuk proses pertumbuhan mikroorganisme (Retno dan Nuri, 2011). Seiring berjalannya waktu, konsentrasi gula akan berkurang sejalan dengan bertambahnya konsentrasi bioetanol yang terbentuk, selain terkonversi menjadi bioetanol, gula berfungsi sebagai bahan makanan bagi bakteri untuk mempertahankan hidupnya dan bereproduksi (Bailey dan David, 1986). Menurut Rachman (1991) penurunan konsentrasi gula terjadi karena *Clostridium acetobutylicum* membutuhkan substrat untuk pertumbuhan, baik memperbanyak

maupun mempertahankan hidup sel. *Clostridium acetobutylicum* mengkonsumsi gula untuk beraktivitas sehingga menghasilkan bioetanol sebagai metabolit primer.

3.2 Pengaruh Konsentrasi Inokulum dan Waktu Fermentasi terhadap Kadar Bioetanol

Fermentasi bioetanol dipengaruhi oleh beberapa factor, salah satunya adalah konsentrasi inokulum. Inokulum merupakan biakan bakteri *Clostridium acetobutylicum* yang ditumbuhkan di dalam substrat atau medium fermentasi. Inokulum memiliki peran yang penting dalam menunjang keberhasilan proses fermentasi. Pada fermentasi kulit nanas ini digunakan inokulum bakteri *Clostridium acetobutylicum* karena memiliki banyak kelebihan, diantaranya adalah, tahan pada pH rendah (Sakius, 2011), tahan terhadap suhu yang tinggi (Cato, 1986), serta merupakan bakteri yang dapat menghasilkan enzim selulase untuk menghidrolisis selulosa menjadi glukosa (Riyanti, 2009). Dimana pada penelitian ini konsentrasi inokulum divariasikan yaitu 10%, 12%, 14% dan 16% dan pada setiap variasi konsentrasi inokulum akan ditambah dengan nutrisi yang berbeda yaitu urea dan amonium sulfat, untuk pengambilan sampel pada 2, 4, 6, 8 dan 10 hari. Kondisi optimum pada fermentasi ini ditentukan dengan cara mengukur konsentrasi bioetanol hasil fermentasi yang telah di *rotary evaporator* terlebih dahulu untuk memisahkan impuritis-impuritis dari hasil fermentasi. Konsentrasi bioetanol diukur dengan menggunakan alkoholmeter. Konsentrasi bioetanol yang diperoleh pada masing-masing variabel penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Hubungan Variasi Konsentrasi Inokulum dan Waktu Fermentasi Terhadap Perolehan Bioetanol

Berdasarkan Gambar 3 dapat dilihat bahwa pada variasi konsentrasi inokulum 12% konsentrasi bioetanol cenderung meningkat hingga mencapai puncaknya pada waktu fermentasi 8 hari yakni sebesar 8% (v/v). Waktu fermentasi berpengaruh terhadap aktivitas bakteri karena semakin lama fermentasi, maka bakteri semakin aktif berkembangbiak, artinya semakin banyak jumlahnya, sehingga mempunyai kemampuan untuk memecah substrat semakin besar (Wibowo, 2015). Setelah waktu fermentasi melewati 8 hari, terjadi penurunan kadar bioetanol. Menurut Kunaepah (2008) semakin lama waktu fermentasi maka jumlah mikroba semakin menurun, dan akan menuju ke fase kematian karena bioetanol yang dihasilkan semakin meningkat dan nutrisi yang ada sebagai makanan mikroba semakin berkurang.

Kondisi terbaik pada fermentasi ini diperoleh pada konsentrasi inokulum 14% dimana konsentrasi bioetanol cenderung meningkat hingga mencapai puncaknya pada waktu fermentasi 8 hari, yakni sebesar 9% (v/v). Perolehan bioetanol ini lebih besar dibandingkan dengan konsentrasi inokulum 12%. Kusumaningati dkk (2013)

menyatakan bahwa penambahan inokulum bisa meningkatkan kadar bioetanol karena mikroorganisme bisa memanfaatkan gula reduksi yang banyak akibat adanya penambahan inokulum. Menurut Prescott and Dunn (1959), faktor yang mempengaruhi peningkatan kadar bioetanol selama proses fermentasi adalah ketersediaan substrat gula reduksi dan jumlah mikroorganisme *Clostridium acetobutylicum*.

Pada variasi konsentrasi inokulum 16% konsentrasi bioetanol cenderung meningkat hingga mencapai puncaknya pada waktu fermentasi 8 hari, yakni sebesar 7% (v/v). Perolehan bioetanol pada variasi inokulum 16% lebih rendah dibandingkan dengan perolehan bioetanol pada variasi inokulum 14%. Hal ini diduga setelah kondisi optimum tercapai, bertambahnya konsentrasi inokulum akan menurunkan kadar bioetanol hasil fermentasi. Semakin besar konsentrasi inokulum semakin banyak jumlah *Clostridium acetobutylicum* yang terdapat pada inokulum. Selain sebagai proses metabolisme (mengkonversi substrat menjadi produk) *Clostridium acetobutylicum* juga semakin banyak mengkonsumsi substrat dan nutrisi untuk pertumbuhan, baik dalam reproduksi membentuk sel-sel baru maupun memperbesar ukuran sel, sehingga tidak semua substrat terkonversi menjadi produk, dan produk yang dihasilkan menurun (Pramita, 2013).

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa Kondisi terbaik dari fermentasi kulit nanas ini adalah pada variabel konsentrasi inokulum 14% dan waktu fermentasi 8 hari dengan perolehan konsentrasi bioetanol sebesar 9% v/v.

DAFTAR PUSTAKA

- Ruso, S. (2011). Pembuatan Bioetanol Dari Batang Rumput Gajah (*Pennisetum purpureum schumach*) Dengan Sistem Fermentasi Simultan Menggunakan Bakteri *Clostridium acetobutylicum*. *Skripsi*. Jurusan Kimia Fakultas MIPA. UNHAS : Makassar.
- Cato, E.P; George, W.L; dan Finegold. (1986). *Genus Clostridium*, pp. 1141-1200. In: P.H.A Sneath et al, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol. 2. Williams and Wilkins, Baltimore, M.D.
- Bailey, J.E; David, F.O. (1986). *Biochemical Engineering Fundamentals*. Singapura : Mc.Graw Hill Chemical Engineering Series.
- Garbutt J. (1997). *Essentials of Food Microbiology*, London: Arnold.
- Kunaepah, U. (2008). Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Glukosa Terhadap Aktivitas Anti Bakteri, Polifenol Total dan Mutu Kimia Kefir Susu Kacang Merah, *Tesis*. Universitas Diponegoro: Semarang.
- Kusumaningati, A.M., 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 Pomits*. Vol. 2, No.2
- Prescott, S.C; dan Dunn, C.G.(1981). *Industrial Microbiology*, New York: Mc. Grow-Hill Book Co Ltd.
- Rachman, A. K., dan Sudarto, Y. (1991). *Nipah Sumber Pemanis Baru*, Yogyakarta: Kanisius.
- Rahmah, Y. (2015). Fermentasi Nira Nipah Menjadi Bioetanol Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* dengan Penambahan Urea Sebagai Sumber Nitrogen, *Skripsi*, Universitas Riau. Pekanbaru
- Retno, D.T; dan Nuri, W. (2011). Pembuatan Bioetanol dari Kulit Pisang, *Skripsi*, Jurusan Teknik Kimia. UPN "Veteran".
- Sudarmadji, S., Bambang Haryono., Suhardi., 1997. *Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan Dan Pertanian*. Liberty. Yogyakarta.
- Riyanti, E.I. (2009). *Biomassa Sebagai Bahan Baku Bioetanol*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian : Bogor.
- Wijana, S; Kumalaningsih, S; Setyowati, A; Efendi, U; dan Hidayat, N. (1991). Optimalisasi Penambahan Tepung Kulit Nanas dan Proses Fermentasi pada Pakan Ternak terhadap Peningkatan Kualitas Nutrisi. *Laporan Penelitian Hibah Agricultural Research Management Project (ARMP) Departemen Pertanian Republik Indonesia*. Universitas Brawijaya : Malang.
- Kusuma, I.G.B.W. (2010). Pengolahan Sampah Organik Menjadi Etanol dan Pengujian Sifat Fisika Biogasoline. *Skripsi*. Universitas Udayana
- Wibowo, F. (2015). Pengaruh Kecepatan Pengaduk dan Waktu Fermentasi Terhadap Konsentrasi Bioetanol pada Fermentasi Nira Nipah Kental Menggunakan *Saccharomyces Cerevisiae*, *Jurnal Online Mahasiswa*, 2 (1), 1-6.