Pembuatan Bioetanol dari Kulit Nenas Menggunakan Enzim Selulase dan Yeast S*accharomyces Cerevisiae* dengan Proses *Simultaneous Sacharificatian and Fermentation* (SSF) terhadap Variasi Konsentrasi Inokulum dan Waktu Fermentasi

Dwi Laura Pramita, Elvi Yenie, Sri Rezeki Muria
Laboratorium Rekayasa Bioproses Jurusan Teknik Kimia Universitas Riau
Jl. HR Subrantas Km 12,5 Kampus Bina Widya Panam Pekanbaru 28293
Email : dwilaura.pramita@gmail.com, No. Hp: 085658200632

ABSTRACT

One of potential material that could be the raw material of bioethanol is pineapple peels. Pineapple peels is one of the biggest agricultural wastes in Indonesia, especially for Riau Province. Pineapple peels could be raw material for bioethanol production due to contains of fiber, carbohydrate and glucose. The purposes of this research are for making bioethanol from pineapple peel by using Simultaneous Sacharification and Fermentation Process (SSF) for finding the maximum inoculums concentration and the best time for fermentation process. The variations of inoculums are 5%, 7%, 10%, 12% and 15%. Then the variations for fermentation time are 2, 3, 4 and 5 days. The consists of bioethanol were tested by using alcoholmeter. From this research, the highest value of bioethanol is 14% or equal to 110,502 mg/ml, for variations at 10% inoculums and 4 days fermentation process.

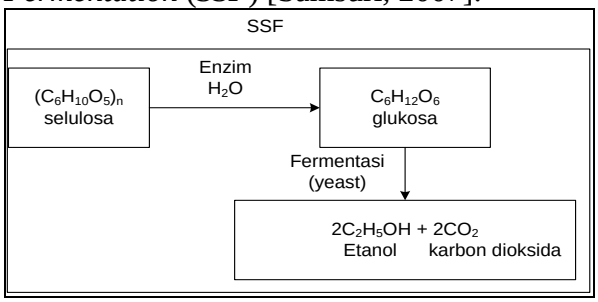
Keyword: Bioethanol; Pineapple peels; Saccharomyces Cerevisiae; Cellulose; SSF

1. Pendahuluan

Dengan berkembangnya zaman, kecenderungan pemakaian bahan bakar terus meningkat sedangkan sumber bahan bakar minyak bumi yang digunakan semakin menipis. Kebutuhan bahan bakar atau energi sekarang ini masih banyak disuplai dari bahan bakar yang berasal dari fosil. Oleh karena itu, perlu adanya bahan alternatif yang dapat digunakan sebagai pengganti minyak bumi. Peningkatan kebutuhan bahan bakar mendorong kita untuk mencari sumber bahan baku yang dapat digunakan untuk memproduksi bahan bakar. Saat ini sedang diusahakan secara intensif pemanfaatan bahan-bahan yang mengandung serat kasar dengan karbohidrat yang tinggi, dimana semua bahan yang mengandung karbohidrat dapat diolah menjadi bahan bakar [Retno, 2011].

Salah satu energi alternatif yang dapat menggantikan sumber energi fosil adalah bioetanol. Bioetanol adalah cairan biokimia dari proses fermentasi gula dari sumber karbohidrat menggunakan bantuan mikroorganisme. Bioetanol merupakan sumber energi alternatif yang mempunyai prospek yang baik sebagai pengganti bahan bakar cair dengan bahan baku yang dapat diperbaharui, ramah lingkungan serta sangat menguntungkan secara ekonomi makro terhadap komunitas pedesaan terutama petani. Banyak bahan nabati yang dapat dijadikan sebagai bahan baku bioetanol, salah satunya yaitu kulit nenas. Kulit nenas mengandung 43,54% air, 20,87% serat kasar, 17,53% karbohidrat, 4,41% protein dan 13,65% gula reduksi [Wijana dkk, 1991]. Dilihat dari jumlah serat kasar, karbohidrat dan glukosa yang dikandung kulit nenas yang cukup tinggi maka kulit nenas memungkinkan untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku untuk pembuatan bioetanol. Salah satu metode yang dilakukan untuk pembuatan bioetanol yaitu dengan proses *simultaneous sacharificatian and fermentation* (SSF) atau dikenal dengan proses sakarifikasi fermentasi serentak (SFS). Proses SSF yaitu kombinasi antara hidrolisis menggunakan enzim selulase dan *yeast Saccharomyces. cerevisiae* untuk fermentasi gula menjadi etanol secara simultan. Proses SSF

sebenarnya hampir sama dengan dengan proses yang terpisah antara hidrolisis dengan enzim dan proses fermentasi, hanya dalam proses SSF hidrolisis dan fermentasi dilakukan dalam satu reaktor. Secara singkat reaksi yang terjadi melalui proses *Simultaneous Sacharification and Fermentation* (*SSF*) [Samsuri, 2007].



Gambar 1.1 Skema reaksi dalam proses *Simultaneous Sacharification and Fermentation (SSF)*

2. Metodologi

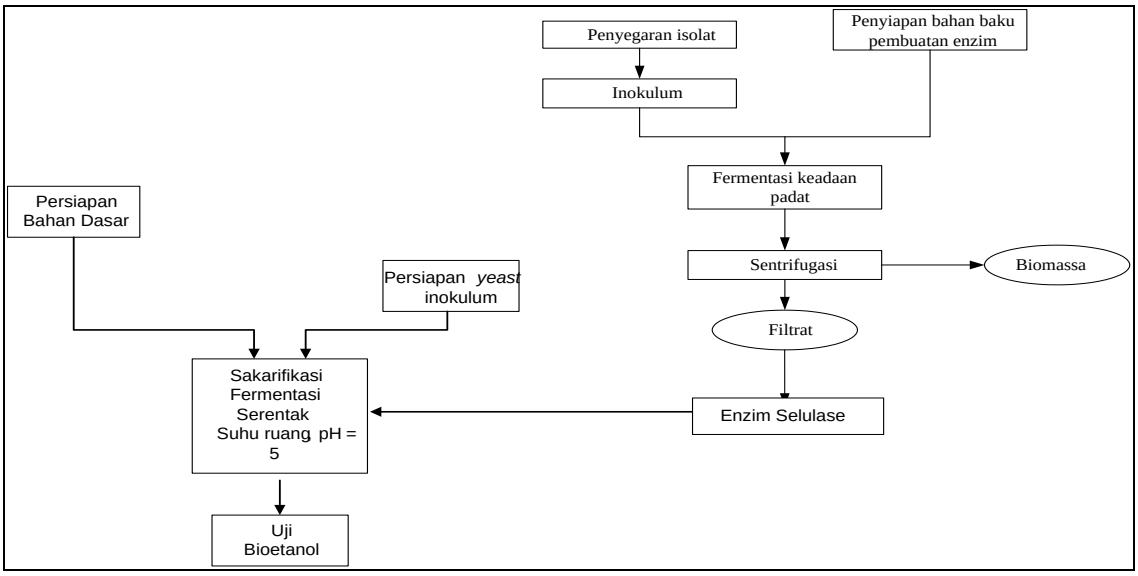
2.1 Produksi Enzim Selulase

Tahap awal pembuatan enzim yaitu persiapan bahan baku. Kemudian tahap selanjutnya yaitu pembuatan starter yang diawali dengan pembenihan *Aspergilus niger* dilakukan pada PDA secara zig-zag dengan menggunakan kawat inokulasi di dalam cawan petri secara aseptik. Mikroba diinkubasi pada suhu ruang selama 120 jam. Setelah pembenihan proses selanjutnya penyiapan inokulum dilakukan dalam media cair (media cair ini terdiri dari kulit nenas, $(NH_4)_2SO_4$ 0,25%, KH_2PO_4 0,2%). Api bunsen dan kawat ose disiapkan. pH media cair diatur dengan HCl hingga pH=5. Ujung kawat ose dicelupkan ke dalam alkohol 96% lalu dipanaskan pada api bunsen sampai berwana merah. Biakan Aspergillus niger dari media PDA diambil dengan menggunakan kawat ose sebanyak 1 ose untuk 10 ml media cair lalu dicelupkan beberapa saat pada media cair hingga tampak keruh. Media cair ditutup dengan kapas dan diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam (pekerjaan ini dilakukan di ruang aseptik), setelah 24 jam dilakukan pengecekan nilai optikal density pada OD = 1 dan panjang gelombang maksimum yang diperoleh. [Carolina,2012]. Selanjutya proses produksi enzim. Pada proses produksi enzim selulase, Substrat yang digunakan dalam penelitian ini komposisinya mengacu pada komposisi yang digunakan oleh Carolina (2012). Substrat dimasukkan ke dalam beaker glass sesuai variabel (kadar air awal) dengan nutrisi antara lain: urea, $MgSO_4.7H_2O$, KH_2PO_4, dalam media padat. Akuades ditambahkan dalam substrat dengan perbandingan 1:1. pH diatur menjadi 3. Media yang telah disterilkan kemudian didinginkan. Kemudian suspensi spora ditambahkan dan disebar merata pada media tersebut sesuai dengan inokulum yang diinginkan yaitu 15%, 15% inokulum maksudnya adalah 15 ml spora dalam 100 gr substrat dengan waktu fermentasi selama 4 hari. Hasil fermentasi diekstrak dengan penambahan akuades dengan perbandingan 5 bagian akuades per 1 bagian massa. Endapan dan cairan hasil fermentasi dipisahkan dengan menggunakan centrifuge dengan kecepatan 2500 rpm selama 15 menit [Carolina,2012].

2.2 Produksi Bioetanol

Tahap awal produksi bioetanol yaitu persiapan bahan baku kulit nenas. Kulit nenas di*blending* dengan larutan nutrisi dengan perbandingan 1:2, kemudian disterilisasi selama 15 menit pada suhu 121°C. Medium untuk SSF sebanyak 200 ml dan nutrisi substrat atau medium antara lain 0,04 gr/L $(NH_4)_2PO_4$; 0,002 gr/L $MgSO_4.7H_2O$ dan 0,08 gr/L *yeast extract*. Tahap selanjutnya yaitu persiapan *yeast* inokulum. Pembuatan *yeast* inokulum bertujuan untuk mengadaptasikan sel yeast terhadap media fermentasi. Dengan adanya adaptasi diharapkan fase lambat sebagai tahap awal fermentasi terlewati. *Saccharomyces cerevisiae* diinokulasi dalam 150 ml medium (5 gr glukosa; 0,5 gr *yeast extract*; 0,05 gr KH_2PO_4; 0,05 gr $MgSO_4.7H_2O$ dan 0,05 gr $(NH_4)_2SO_4$, aquades) dalam erlenmeyer 250 ml. Sebelum diinokulasi, medium disterilisasi uap dalam *autoclave* selama 15 menit pada temperatur 121^oC, kemudian didinginkan. Setelah dingin *yeast* dimasukan ke dalam medium lalu diaduk menggunakan *shaker* selama 24 jam. Fungsi *shaker* adalah mempermudah

difusi oksigen ke dalam medium dan campuran menjadi homogen. Tahap selanjutnya yaitu proses pembuatan bioetanol dengan metode *simultaneous sacharificatian and fermentation* (SSF). Proses sakarifikasi dan fermentasi dilakukan serentak dalam satu labu erlenmeyer 250 ml. Semua bahan kecuali enzim dan inokulum disterilisasikan selama 15 menit pada 121°C menggunakan *autoclave*. Enzim dan inokulum ditambahkan setelah media steril dan dingin. Kemudian diaduk dengan menggunakan *shaker* dengan kecepatan 200 rpm selama waktu yang divariasikan. Cairan dipisahkan dari sampel dengan proses evaporasi dan dilakukan analisa konsentrasi bioetanol yang dihasilkan dengan menggunakan alkoholmeter.



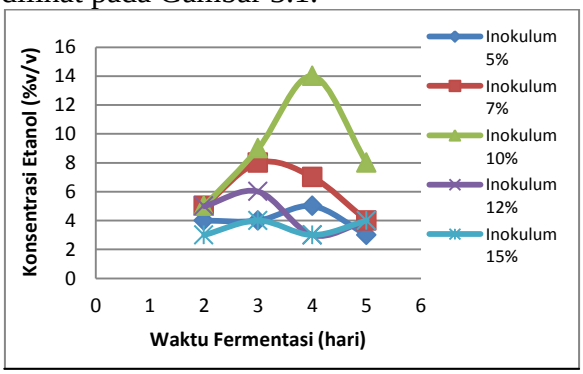
Gambar 2.1 Blok Diagram Tahapan Penelitian

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Pengaruh Variasi Konsentrasi Inokulum Terhadap Bioetanol yang Dihasilkan

Penelitian pendahuluan yang dilakukan adalah pembuatan enzim selulase dengan bahan baku kulit nenas dan jamur *aspergillus niger*. Untuk kondisi operasi, peneliti mengikuti kondisi optimum peneliti sebelumnya yaitu fermentasi pada pH 3, jumlah inokulum 15% (v/v) dengan waktu fermentasi selama 4 hari [Carolina, 2012], pembuatan inokulum dan nutrisi untuk proses fermentasi bioetanol. Setelah itu dilakukan pembuatan bioetanol dengan metode sakarifikasi dan fermentasi secara serentak, penelitian ini dilakukan untuk menentukan pengaruh konsentrasi inokulum terhadap konsentrasi bioetanol yang dihasil dengan variasi konsentrasi inokulum 5%, 7%, 10%, 12% dan 15% terhadap volume substrat. Proses hidrolisis dibantu dengan enzim selulase dan proses fermentasi dilakukan dengan penambahan *yeast Saccharomyces cerevisiae.*

Penentuan konsentrasi bioetanol yang dihasilkan dari proses fermentasi kulit nenas dilakukan dengan alkoholmeter. Hasil fermentasi dilakukan distilasi terlebih dahulu (metode guymon) untuk memisahkan impuritis dari hasil fermentasi berupa sisa-sisa nutrisi, biomassa dan lain-lain. Perolehan konsentasi bioetanol (% v/v) dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1. Hubungan Konsentrasi Inokulum dan Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Bioetanol %(v/v) yang Dihasilkan.

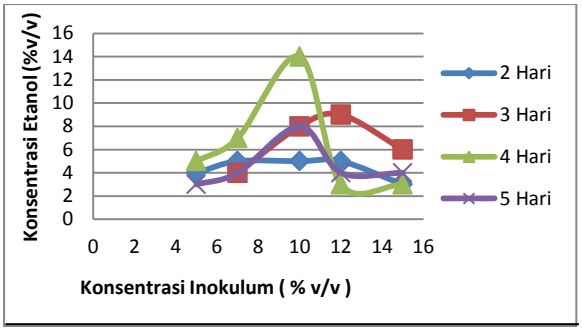
Dari Gambar 3.1, dapat dilihat grafik hubungan konsentrasi inokulum dan waktu fermentasi terhadap kadar bioetanol yang diperoleh. Pada awalnya bertambahnya konsentrasi inokulum akan meningkatkan kadar bioetanol hasil fermentasi, hal ini terjadi karena dengan semakin banyaknya konsentrasi inokulum (*Saccharomyces cerevisiae*) yang berfungsi sebagai biokatalisator dalam mengkonversi substrat (gula) menjadi produk (bioetanol), maka bioetanol yang dihasilkan juga semakin banyak [Suyandra, 2007]. Hal ini dikarenakan % konsentrasi inokulum dipengaruhi fase lag (fase adaptasi), dimana semakin besar inokulum maka semakin pendek fase lag sehingga cepat mencapai fase eksponensial yaitu *yeast* tumbuh dengan sempurna dan mampu beradaptasi dengan baik, sehingga glukosa dapat terkonversi dengan maksimal dan mulai terbentuk produk. Fungsi dari pembuatan inokulum adalah mengurangi fase lag, sehingga waktu fermentasi semakin cepat dan kadar alkohol yang dihasilkan semakin besar pula [Sari, 2009].

Pada Gambar 3.1, dapat terlihat bahwa kondisi terbaik pada konsentrasi inokulum 10% menghasilkan kadar bioetanol yang tertinggi yaitu 14% (v/v) pada waktu fermentasi selama 4 hari. Sedangkan kadar bioetanol yang dihasilkan pada kondisi lain yaitu konsentrasi inokulum 5%, 7%, 12% dan 15% yaitu bervariasi pada rentang waktu fermentasi 2 hari sampai 5 hari. Setelah kondisi optimum fermentasi tercapai, bertambahnya konsentrasi inokulum akan menurunkan kadar bioetanol hasil fermentasi, hal ini disebabkan karena selain sebagai proses metabolisme yaitu mengkonversi substrat menjadi produk, mikroorganisme juga membutuhkan sebagian substrat dan nutrisi untuk pertumbuhan, baik dalam reproduksi membentuk sel-sel baru maupun memperbesar ukuran sel, sehingga tidak semua substrat terkonversi menjadi produk. Jadi setelah kondisi optimum fermentasi tercapai, bertambahnya konsentrasi inokulum menyebabkan jumlah substrat yang dipakai untuk perkembangan mikroorganisme juga semakin besar, sehingga jumlah produk yang dihasilkan semakin sedikit. Bioetanol dapat bersifat racun terhadap mikroorganisme, sehingga dengan terbentuknya produk berupa bioetanol akan mengakibatkan produktivitas menurun [Yuni, 2013].

3.2 Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Bioetanol yang Dihasilkan

Waktu fermentasi adalah waktu yang dibutuhkan oleh *Saccharomyces cerevisiae* untuk mengubah atau memfermentasi glukosa menjadi bioetanol. Pada proses fermentasi, waktu fermentasi mempengaruhi kadar bioetanol yang dihasilkan. Lamanya waktu fermentasi pada proses produksi bioetanol sangat mempengaruhi kadar bioetanol yang dihasilkan. Semakin lama waktu fermentasi maka semakin tinggi kadar bioetanol yang dihasilkan. Jika bioetanol yang terkandung didalam substrat tinggi maka hal ini justru akan berpengaruh buruk terhadap pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae*. Oleh karena itu dibutuhkan lama fermentasi yang tepat untuk proses fermentasi bioetanol agar didapatkan kadar etanol dalam jumlah yang tinggi [Azizah, 2012].

Pada penelitian ini, variasi waktu yang dilakukan adalah 2, 3, 4 dan 5 hari pada berbagai variasi konsentrasi inokulum. Tujuannya yaitu untuk mengetahui dan memperoleh data pengaruh waktu fermentasi terhadap kadar bioetanol yang dihasilkan. Pada Gambar 3.2 berikut memperlihatkan pengaruh waktu terhadap kadar bioetanol yang dihasilkan pada berbagai konsentrasi inokulum.



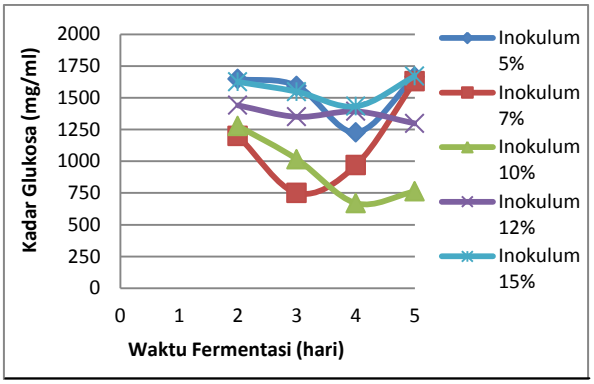
Grafik 3.2 Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Bioetanol

Dari Gambar 3.2, dapat dilihat waktu fermentasi optimum adalah pada waktu fermentasi hari ke-4, dengan menghasilkan bioetanol tertinggi 14% (v/v). Awalnya semakin lama waktu fermentasi, kadar bioetanol yang dihasilkan juga semakin tinggi, akan tetapi setelah kondisi optimum tercapai, kadar bioetanol yang diperoleh menurun, dan apabila proses fermentasi tetap dilanjutkan maka bioetanol yang dihasilkan cenderung mengalami penurunan. Hal ini disebabkan karena substrat yang dikonversi menjadi produk oleh mikroorganisme telah habis. Adanya penurunan kadar etanol yang didapatkan disebabkan karena etanol yang dihasilkan berubah menjadi asam-asam organik seperti asam cuka.

Menurut Kunaeph [2008], semakin lama waktu fermentasi maka jumlah mikroba semakin menurun, dan akan menuju ke fase kematian karena alkohol yang dihasilkan semakin banyak dan *nutrient* yang ada sebagai makanan mikroba semakin menurun. Menurut Roukas [1996], penurunan bioetanol terjadi pada konsentrasi glukosa berlebih sebagai efek inhibisi substrat dan produk.

3.3 Konsentrasi Glukosa Akhir dari Fermentasi Kulit Nenas

Setelah proses fermentasi selesai, dilakukan analisa terhadap konsentrasi gula sisa dengan metode Nelson-Somogyi. Tujuan dari analisis ini adalah untuk melihat efektifitas mikroorganisme dalam mengkonversi gula (substrat) menjadi bioetanol (produk). Pada penelitian ini kulit nenas digunakan sebagai substrat atau medium fermentasi dan *Saccharomyces cerevisiae* adalah jamur yang digunakan untuk mengubah glukosa menjadi bioetanol. Konsentrasi gula sisa, gula yang habis selama proses fermentasi ditunjukkan dalam Gambar 3.3.



Gambar 3.3. Hubungan Konsentrasi Inokulum dan Waktu Fermentasi Terhadap Konsentrasi Glukosa Akhir

Dari Gambar 3.3, dapat dilihat grafik hubungan konsentrasi inokulum dan waktu fermentasi terhadap kadar glukosa akhir yang diperoleh. Pada waktu fermentasi hari ke-3 kadar glukosa pada penelitian ini mengalami penurunan. Ini menunjukkan bahwa glukosa telah mengalami fermentasi secara sempurna menjadi bioetanol. Namun pada waktu fermentasi lebih dari 3 hari, kadar glukosa meningkat. Kenaikan jumlah glukosa disebabkan karena kecepatan reaksi dipengaruhi oleh banyaknya selulosa yang ada. Sementara selulosa semakin lama semakin berkurang disebabkan pecah menjadi unit glukosa. Oleh karena itu kecepatan reaksi semakin lama semakin kecil sehingga kenaikan kadar selulosa yang terhidrolisa persatuan waktu semakin kecil. Hal ini mengakibatkan kenaikan glukosa yang terbentuk persatuan waktu [Melwita, 2001].

4. Kesimpulan

Dari penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa bioetanol dapat diproduksi dari bahan baku kulit nenas dengan proses Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak menggunakan enzim selulase serta *yeast Sacharomyces cereviceae.* Konsentrasi inokulum, waktu fermentasi dan kandungan gula pada kulit nenas sangat mempengaruhi hasil akhir

fermentasi (konsentrasi bioetanol) yang didapat.

Bertambahnya konsentrasi inokulum akan meningkatkan kadar bioetanol hasil fermentasi, hal ini terjadi karena dengan semakin banyaknya konsentrasi inokulum (*Saccharomyces cerevisiae*) yang berfungsi sebagai biokatalisator dalam mengkonversi substrat (gula) menjadi produk (bioetanol). Kondisi optimum dari fermentasi kulit nenas dengan menggunakan proses *Simultaneous Sacharificatian and Fermentation* (SSF) adalah pada konsentrasi inokulum 10% dan waktu fermentasi 4 hari. Kadar etanol yang diperoleh sebesar 14% (v/v) atau 110,502 mg/ml.

5. Saran

Pada penelitian selanjutnya diharapkan proses pengerjaan dalam keadaan steril dan *shaker* diharapkan tidak pernah mati selama proses SSF dan melakukan pre-treatment terhadap bahan baku seperti delignifikasi yang bertujuan untuk menghilangkan kadar lignin yang terkandung didalam bahan baku.

6. Ucapan Terimakasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Ibu Elvi Yenie, ST., M.Eng dan Ibu Sri Rezeki Muria, ST, MP., MSc selaku pembimbing yang membantu peneliti selama penelitian ini. . Terima kasih kepada kedua orang tua dan keluarga yang telah memberikan dukungan dan motivasi selama ini. Terima kasih kepada rekan-rekan Teknik Kimia Angkatan 2009 yang telah banyak membantu penulis dalam skripsi ini.

Daftar Pustaka

Azizah, dkk, 2012. *Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kadar Alkohol, ph, dan Produksi Gas pada Proses Fermentasi Bioetanol dari Whey Dengan Substitusi Kulit Nanas*. Institut Pertanian Bogor. Bogor

Carolina, Fransiska., 2012, *Pengaruh pH dan Inokulum Pada Pemanfaatan Limbah Kulit Nenas (Anenas Comosus L Merr) Untuk Produksi Enzim Selulase*, Skripsi, Universitas Riau, Pekanbaru.

Kunaepah, Uun. 2008. *"Pengaruh Lama Konsentrasi dan Konsentrasi Glukosa Terhadap Aktivitas Antibakteri, Polifenol Total dan Mutu Kimia Kefir Susu Kacang Merah".* Tersedia pada: http://pdfsearchpro.com/pengaruh lama fermentasi dan konsentrasi glukosa terhadappdf. html (April 2011).

Melwita, Elda. 2011." Ionic Liquid Sebagai Katalisator Potensial Untuk Meningkatkan Produksi Biofuel" Fakultas Teknik Universitas Sriwijaya. Palembang

Retno, D.T. dan W. Nuri. 2011. Pembuatan Bioetanol dari Kulit Pisang. UPN "Veteran" : Yogyakarta.

Roukas T. 1996, "*Continuous Bioetanol Production from Nonsterilized Carob Pod Extract by Immobilized Saccharomyces cerevisiae on Mineral Kissiris Using A Tworeactor System*", Journal Applied Biochemistry and Biotechnolo-gy, Vol. 59, No. 3.

Samsuri, M, dkk, 2007. Pemanfaatan *Sellulosa Bagas untuk Produksi Ethanol Melalui Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak dengan Enzim Xylanase*. Fakultas Teknik Universitas Indonesia. Depok.

Sari, R.P.P. 2009. *Pembuatan Etanol dari Nira Sorgum dengan Proses Fermentasi*. Teknik Kimia Universitas Diponegoro, Semarang.

Suyandra D. I. 2007. Pemanfaatan Hidrolisa Pati Sagu (Metroxylon, sp) sebagai Sumber Karbon pada Fermentasi Etanol oleh Saccharomyces cerevisiae, Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian, IPB.

Wijana S, Kumalaningsih A, Setyowati U, Efendi dan Hidayat N. 1991. *"Optimalisasi Penambahan Tepung Kulit Nanas dan Proses Fermentasi*

pada Pakan Ternak terhadap Peningkatan Kualitas Nutrisi". ARMP (Deptan). Universitas Brawijaya. Malang.

Yuni, 2013, *Pengaruh Variasi pH Pada Pembuatan Bioetanol dari Pati Sorgum dengan Proses Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak*, Skripsi, Universitas Riau, Pekanbaru.