# Pengaruh Volume Inokulum pada Produksi Bioetanol dari Limbah Kulit Nanas Menggunakan *Zymomonas Mobilis* dengan Metode *Solid State Fermentation* (SSF)

Ikhsan Fajrin, Said Zul Amraini*, Sri Rezeki Muria
Laboratorium Rekayasa Bioproses
Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Riau
Kampus Bina Widya KM 12.5 Panam-Pekanbaru
Telp./Fax. 0761-566937
*Email : saidza@unri.ac.id

***ABSTRACT***

*Increasing of world energy consumption and depleted of availability fossil fuel caused the development of energy goes thru renewable fuel and environment-friendly. Waste of agriculture such as pineapple peel can be utilized as raw material to produce bioethanol through fermentation. The aim of this research are to know the process of bioethanol production through solid state fermentation (SSF) from pineapple peel and to determine the yield of bioethanol produced using Zymomonas mobilis with various inoculum volume 8, 9, 10, 11, and 12 % and various fermentation time 6, 12, 18, 24, 30 and 36 hours. Fermentation process conducted using Zymomonas mobilis because it has several advantages such as resistant to high concentration of ethanol,more tolerant to temperature and low pH. The result shows that the higher inoculum volume that inoculated to substrate the higher ethanol produced. The highest yield of bioethanol is 21%v at inoculum volume 10%. The optimum fermentation time obtained is 24 hours to all various inoculum volume*

**ABSTRAK**

Meningkatnya konsumsi energi dunia dan berkurangnya ketersediaan bahan bakar fosil menyebabkan perkembangan energi bergeser menjadi bahan bakar *renewable* dan ramah lingkungan. Limbah perkebunan berupa kulit nanas dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan bioetanol melalui proses fermentasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui proses pembuatan bioetanol dengan proses fementasi kultur padat dari limbah kulit nanas dan menentukan kadar bioetanol yang dihasilkan menggunakan bakteri *Zymomonas Mobilis* pada variasi volume inokulum 8, 9, 10, 11, dan 12 % dan waktu fermentasi 6, 12, 18, 24, 30 dan 36 jam. Jenis fermentasi yang dilakukan adalah fermentasi substrat padat dengan aktivitas air yang rendah. Proses fermentasi dilakukan dengan bantuan bakteri *Zymomonas mobilis* karena memiliki kelebihan yaitu tahan pada konsentrasi etanol tinggi, lebih toleran terhadap suhu dan pH rendah. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin besar volume inokulum yang diinokulasikan terhadap substrat fermentasi maka kadar bioetanol yang dihasilkan akan semakin tinggi. Konsentrasi bioetanol tertinggi yang diperoleh sebesar 21%v, pada volume inokulum 10%. Waktu fermentasi optimum yang didapatkan adalah 24 jam untuk semua variasi volume inokulum.

***Keyword* : *Bioetanol; Fermentasi; Kulit Nanas; Solid State Fermentation (SSF); Zymomonas Mobilis***

## 1. Pendahuluan

Upaya yang dilakukan untuk mendukung pengadaan energi akibat ketersediaan bahan bakar fosil yang tidak ramah lingkungan dan semakin berkurang yaitu memproduksi bioetanol dari

limbah perkebunan menjadi bahan bakar *renewable* dan ramah lingkungan.

Buah nanas (*Ananascomosus* L. Merr) merupakan jenis buah yang terdapat di Indonesia dengan penyebaran yang merata . Selama ini limbah kulit nanas belum banyak dimanfaatkan menjadi produk yang memiliki nilai tambah padahal kulit nanas memiliki kadar holoselulosa yang tinggi yaitu 80,5% [Saravanan dkk., 2013] sehingga sangat berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan bioetanol melalui proses fermentasi.

Fermentasi substrat padat *(Solid State Fermentation)* memiliki beberapa keunggulan jika dibandingkan dengan proses fermentasi substrat cair *(Liquid State Fermentation)* yaitu membutuhkan energi yang lebih sedikit karena tidak membutuhkan agitasi, aerasi, maupun pengontrolan busa. Selain itu fermentasi jenis SSF lebih ramah lingkungan dan menghasilkan limbah air yang sedikit [Manpreet dkk., 2005].

Proses fermentasi dilakukan dengan bantuan mikroorganisme seperti bakteri. Bakteri *Zymomonas mobilis* mempunyai kemampuan untuk meningkatkan kemurnian etanol. Kemampuan tumbuh dalam keadaan anaerob, tahan terhadap konsentrasi etanol dari pada enzim lain, dapat menghasilkan produk lebih tinggi dan mempunyai kemampuan fermentasi yang lebih spesifik dibandigkan dengan *yeast* [Ismail, 2009]. Kusumaningati dkk [2013] telah mempelajari pertumbuhan bakteri *Zymomonas mobilis* untuk memproduksi etanol pada medium sampah sayur dan buah dimana besar laju pertumbuhan terbesar yaitu $\mu$= 0,476 generasi/jam dengan waktu doubling time tercepat 80,56 menit

Pada penelitian ini akan menggunakan limbah kulit nanas sebagai bahan baku pembuatan bioetanol melalui proses fermentasi kultur padat menggunakan bakteri *Zymomonas mobilis* dengan variasi volume inokulum dan waktu fermentasi.

Penelitian tentang pembuatan bioetanol telah dilakukan oleh Sutikno [2011] dengan bahan baku *Reject* nanas menggunakan *Saccharomyces Cerevisiae* dengan variasi konsentrasi glukosa 13%, 14%, 15%, 16%, dan 17% dan waktu fermentasi selama 12, 24, 36, 48, 72, 84, 96, 108 dan 120 jam, didapatkan kadar etanol dan yield tertinggi yaitu 17% dan 11,3% yang diperoleh pada konsentrasi glukosa 16% dengan waktu fermentasi selama 84 jam. Hossain dan Fazliny [2010], melakukan fermentasi limbah nanas menjadi etanol menggunakan *yeast Sacharomycess Sereviciae* dengan variasi pH 4, 5 dan 6, variasi konsentrasi ragi 1, 3 dan 5 g/L, dan variasi suhu 28, 30 dan $32^0$ C, dihasilkan etanol optimum sebesar 8,7% pada kondisi pH 4 dengan suhu $30^0$ C dan konsentrasi ragi 3 g/L.

## 2. Metodologi

### 2.1 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit nanas yang diblender dalam bentuk *slurry*, *Nutrient Agar* (NA), bakteri *Zymomonas mobilis* FNCC-0056 dari Laboratorium PAU Universitas Gajah Mada, *buffer* sitrat, glukosa, *yeast exstract*, $KH_2PO_4$, $MgSO_4,7H_2O$, $(NH_4)_2SO_4$, dan akuades.

### 2.2 Mikroorganisme dan Penyiapan Inokulum

Mikroorganisme *Zymomonas Mobilis* diperoleh dari Laboratorium Pengembangan Mikrobiologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta yang dibiakkan dalam biakan agar miring, bakteri dibiakan pada *Nutrient Agar* (NA) yang kemudian dipindahkan ke media tumbuh bakteri yang telah diperkaya dengan komposisi media glukosa 10%, *yeast exstract* 1%, $KH_2PO_4$ 0.1%, $MgSO_4.7H_2O$ 0.05%, dan $(NH_4)_2SO_4$ 0.1% [Tanaka,1999 dalam Ageng,2009]. Stok bakteri *zymomonas mobilis* dimasukkan ke dalam Erlenmeyer berisi media tumbuh diperkaya yang telah disterilisasi pada temperatur 121°C selama 15 menit dan kemudian Erlenmeyer di *shaker* selama 24 jam pada kecepatan 120 rpm [Aditya, 2011].

### 2.3 Persiapan Fermentor

Fermentor yang digunakan dalam proses fermentasi ini adalah erlenmeyer ukuran 1 Liter. Sebelum digunakan, fermentor serta kulit nanas sebagai substrat yang akan digunakan disterilisasi terlebih dahulu pada temperatur 121°C selama 15 menit di dalam *autoclave* untuk menghilangkan mikroorganisme kontaminan.

### 2.4 Inokulasi dan Proses Fermentasi

Fermentor dan kulit nanas yang telah disterilisasi diinokulasikan dengan inokulum *zymomonas mobilis* yang telah disiapkan secara hati-hati dan aseptik. pH awal dan temperatur proses fermentasi diatur 5 dan 30°C serta kondisi anaerob. Proses fermentasi berlangsung selama 36 jam dan diambil sampelnya berdasarkan variabel penelitian, setelah itu sampel dipisahkan dan dimurnikan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada temperature $78^oC$ untuk mendaptkan bioetanol.

### 2.5 Analisa Hasil

Analisa hasil yang dilakukan adalah analisa kadar bioetanol. Bioetanol yang telah dimurnikan dengan cara distilasi diuji kadar etanolnya dengan menggunakan alkohol meter

## 3. Hasil dan Diskusi

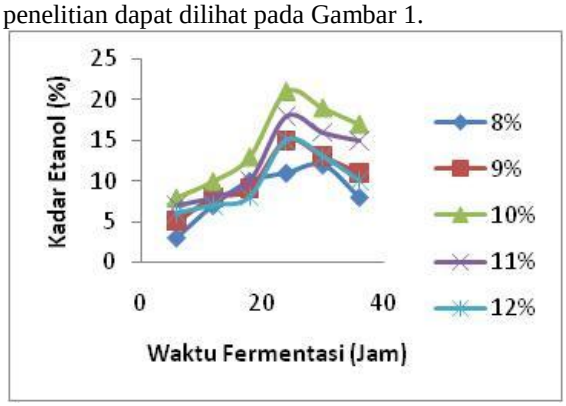
### 3. 1 Fermentasi Bioetanol

Fermentasi bioetanol dari limbah kulit nanas menggunakan bakteri *Zymomonas Mobilis*

dilakukan dengan berbagai variasi, yaitu variasi waktu fermentasi dan variasi konsentrasi inokulum. Fermentasi bioetanol dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya adalah konsentrasi inokulum. Inokulum merupakan mikroorganisme yang diinokulasikan ke dalam medium fermentasi. Inokulum memiliki peran yang paling penting dalam menunjang keberhasilan proses fermentasi. Pada fermentasi kulit nanas ini digunakan inokulum bakteri *Zymomonas Mobilis* karena memiliki banyak kelebihan, diantaranya adalah lebih toleran terhadap suhu, pH rendah [Ismail, 2009], serta tahan terhadap etanol konsentrasi tinggi [Rogers dkk, 2007]. Fermentasi limbah kulit nanas ini dilakukan selama 30 jam dengan variasi waktu fermentasi dan konsentrasi inokulum *Zymomonas Mobilis* yang ditambahkan yaitu 8 %, 9 %, 10 %, 11%, dan 12 %, pada kondisi pH awal fermentasi 5 dan temperatur 30$^{o}$C.

### 3.2 Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Bioetanol

Fermentasi bioetanol pada kondisi anaerob ini dilakukan pada konsentrasi inokulum yang berbeda yaitu 8 %, 9 %, 10 %, 11%, dan 12 %, pada kondisi pH awal fermentasi 5 dan temperatur 30$^{o}$C. Hasil yang diperoleh berdasarkan variabel penelitian dapat dilihat pada Gambar 1.



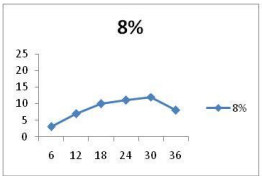

**Gambar 1** Pengaruh Waktu Fermentaasi dan Volume Inokulum Terhadap Kadar Bioetanol

Berdasarkan Gambar 1 kadar bioetanol tertinggi diperoleh pada waktu fermentasi selama 24 jam yaitu sebesar 21% volume. Sedangkan konsentrasi bioetanol terendah diperoleh pada waktu fermentasi 6 jam yaitu sebesar 3%. Kadar bioetanol diperoleh setelah hasil dari fermentasi dipisahkan dan dimurnikan dengan menggunakan *rotary evaporator*. Semakin lama waktu fermentasi semakin tinggi kadar bioetanol yang dihasilkan. Pengaruh waktu fermentasi juga berpengaruh pada penelitian yang dikaji oleh Sulfahri, dkk [2011] yang melakukan variasi waktu fermentasi 0, 24, 48, 72, 96 dan 120 jam dihasilkan kadar bioetanol tertinggi yaitu 2,18% akan tetapi waktu fermentasi yang dibutuhkan adalah 96 jam. Hal ini menunjukkan bahwa semakin lama waktu fermentasi semakin tinggi kadar bioetanol yang dihasilkan.

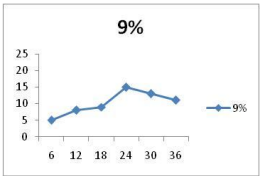
Penelitian ini melakukan variasi waktu fermentasi yaitu 6, 12, 18, 24, 30 dan 36 jam dan dihasilkan kadar bioetanol tertinggi yaitu 21% pada waktu fermentasi 24 jam. Kadar bioetanol mengalami penurunan pada waktu fermentasi 30 jam sampai dengan 36 jam hal ini disebabkan karena mikroorganisme yang berperan dalam mengurai substrat menjadi bioetanol telah mengalami fase kematian. Semakin lama waktu fermentasi, maka konsentrasi sel mikroorganisme akan semakin menurun dan menuju pada fase kematian karena konsentrasi bioetanol yang dihasilkan semakin tinggi dan konsentrasi nutrien sebagai makanan mikroorganisme semakin menurun [Setyawati, 2010].

Konsentrasi bioetanol yang semakin menurun diakibatkan terjadinya inhibisi dalam proses fermentasi, akumulasi produk bioetanol dengan konsentrasi yang tinggi akan bersifat racun bagi mikroorganisme penghasil bioetanol sehingga secara perlahan-lahan akan menurunkan konsentrasi bioetanol yang dihasilkan dan menghentikan pertumbuhan mikroorganisme serta produksi bioetanol itu sendiri. Selain itu, konsentrasi bioetanol yang menurun juga disebabkan adanya bioetanol yang terkonversi menjadi asam-asam organik dan bereaksi balik menjadi asetaldehid [Santos dkk, 2009].

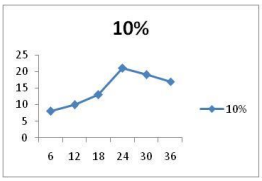
### 3.3 Pengaruh Konsentrasi Volume Inokulum Terhadap Kadar Bioetanol Yang Dihasilkan



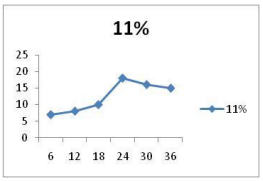

(a) Inokulum 8%



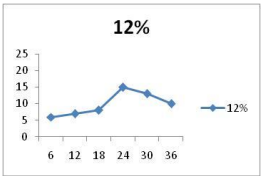

(b) Inokulum 9%




(c) Inokulum 10%




(d) Inokulum 11%




(e) Inokulum 12%

**Gambar 2** Pengaruh Volme Inokulum Terhadap Kadar Bioetanol

Gambar 2 menunjukkan bahwa kadar bioetanol juga dipengaruhi oleh volume inokulum. Hasil yang diperoleh dari variasi volume inokulum cenderung mengalami peningkatan, seperti yang dapat dilihat pada Gambar 2 (a) volume inokulum 8%. Kadar bioetanol yang tertinggi diperoleh pada waktu fermentasi 30 jam yaitu 12%. Sedangkan pada Gambar 2 (b) dan (c) volume inokulum 9% dan 10% kadar bioetanol tertinggi diperoleh pada waktu fermentasi 24 jam dengan kadar masing-masing 15% dan 21%. Apabila dibandingkan dengan Gambar 2 (a) waktu fermentasi yang dibutuhkan pada Gambar 2 (b) dan (c) lebih cepat, yaitu 24 jam untuk menghasilkan kadar bioetanol tertinggi yaitu 15% dan 21%. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan volme inokulum bisa meningkatkan kadar bioetanol yang dihasilkan dan bisa mempercepat waktu fermentasi.

Kusumaningati dkk [2013] menyatakan bahwa penambahan inokulum bisa meningkatkan kadar etanol karena mikroorganisme bisa memanfaatkan gula reduksi yang banyak akibat adanya penambahan inokulum. Selain itu, semakin lama waktu fermentasi maka nutrisi dalam medium semakin berkurang dengan adanya jumlah sel yang semakin bertambah dapat mengakibatkan kompetisi dan akhirnya akan memasuki fase kematian.

Untuk Gambar 2 (d) dan (e) pada volume inokulum 11% dan 12% kadar bioetanol cenderung mngalami penurunan yaitu 18% dan 15% pada fermentasi 24 jam, hal ini disebabkan karena selama fermentasi, gula reduksi telah habis digunakan bakteri *Zymomonas* mobilis untuk dikonversi menjadi bioetanol [Kusumaningati dkk, 2013].

Apabila dibandingkan dengan penelitian yang telah diteliti oleh Hossain dan Fazliny [2010] serta Sutikno [2011] yang menggunakan mikroorganisme *Sacharomyces cerevisiae* konsentrasi bioetanol yang dihasilkan berbeda jauh. Konsentrasi bioetanol yang dihasilkan dari penelitian Hossain dan Fazliny [2010] serta Sutikno [2011] yaitu 8,7% dan 17%. Sedangkan pada penelitian ini konsentrasi etanol yang dihasilkan yaitu 21%, hal tersebut disebabkan karena *Zymomonas mobilis* memiliki ketahanan terhadap bioetanol dalam konsentrasi yang cukup tinggi, sedikit terjadi inhibisi dan represi, serta dapat menguraikan sukrosa, fruktosa, dan glukosa, sedangkan *Sacharomyces cerevisiae* memiliki sifat tidak begitu tahan terhadap konsentrasi bioetanol diatas 10% serta mudah terjadi inhibisi [Roehr,2001].

Selain konsentrasi bioetanol yang dihasilkan pada penelitian ini lebih tinggi apabila dibandingkan dengan peneliti sebelumnya, waktu fermentasi untuk memproduksi bioetanol lebih cepat apabila dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan Sutikno (2011). Waktu fermentasi yang diperoleh Sutikno [2011] untuk menghasilkan konsentrasi bioetanol tertinggi adalah 84 jam. Sedangkan pada penelitian ini waktu fermentasi untuk menghasilkan konsentrasi bioetanol tertinggi yaitu 24 jam. Hal tersebut disebabkan *Zymomonas mobilis* memiliki laju pertumbuhan yang cepat.

## 4. Kesimpulan

1. Fermentasi bioetanol dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya adalah waktu fermentasi dan volume inokulum.
2. Waktu optimum yang dibutuhkan pada proses fermentasi kulit nanas dengan metode *solid state fermentation* (SSF) adalah 24 jam untuk semua volume inokulum. Konsentrasi bioetanol tertinggi yang diperoleh sebesar 21% V, pada volume inokulum 10%.
3. Penambahan volume inokulum yang semakin besar berpengaruh terhadap kadar bioetanol yang dihasilkan, semakin besar volume inokulum yang diinokulasikan terhadap substrat fermentasi maka kadar bioetanol yang dihasilkan juga akan bertambah.

**Ucapan Terima Kasih**

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada Bapak Said Zul Amraini dan Ibu Sri Rezeki Muria, ST, MP, M.sc selaku pembimbing yang telah mengarahkan dan membimbing penulis selama penelitian sampai penyusunan laporan penelitian ini, kepada kedua orang tua yang selalu mendoakan dan memberi dukungan kepada penulis, Helena Rouhillahi orang yang sangat spesial yang selalu memotivasi dan selalu menginspirasi penulis, serta semua pihak yang telah ikhlas membantu penelitian ini

**Daftar Pustaka**

A.B.M.S. Hossain, dan A.R Fazliny 2010. *Creation of Alternative Energy by Bioetanol Production From Pineapple Waste and The Usage of It's Properties for Engine*. *African Journal of Microbiology Research Vol 4 (9)*. 4 *May 2010.*

Aditya, F.L 2011. Pembuatan Bioetanol Dari Nira Sorgum menggunakan Bakteri *Zymomonas mobilis* Dengan Variasi Volume Inokulum, Laporan Penelitian, Teknik Kimia Universitas Riau, Pekanbaru.

Ageng, D dan S.R Putra 2009. Profil Fermentasi Sukrosa Menjadi Etanol Menggunakan *Zymomonas Mobilis* Yang Dikoamobilkan Dengan Ekstrak Kasar Invertase, Skripsi,

Institut Teknologi Sepuluh November, Surabaya.

Ismail, Silviana., M, Puspita. 2009, Fermentasi Etanol dari Molases dengan *Zymomonas Mobilis A3* yang Diamobilisasi Pada k-Karagian

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, (2013)

Manpreet, S., Sawraj, S., Sachin, D., Pankaj, S. dan Banerjee, U.C., 2005, *Influence of Process Parameters on The Production of Metabolites in Solid-State Fermentation. Malaysian Journal of Microbiology*, *Vol.* 1(2)
1-9.

Roehr, M., 2001, *Potential Source of Energy and Chemical Products, The Biotechnology of Ethanol*, Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, 100-101.

Rogers, P.L., Jeon, Y.J., Lee, dan K.J,,Lawford, H.G., 2007, *Zymomonas Mobilis For Fuel Ethanol and Higher Value Products*. Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.

Santos, D., dkk 2009, Ethanol *Production from Sugarcane Bagasse by Zymomonas mobilis Using Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF) Process* Appl Biochem Biotechnol. 161:93–105

Setyawati. H dan N.A Rahman., 2010, Bioetanol Dari Kulit Nanas Dengan Variasi Massa *Saccharomyces Cerevicea*e Dan Waktu Fermentasi, Skripsi, Institut Teknologi Nasional, Malang.

Sulfahri., Nurhatika S., Nurhidayati T., 2011, *Aerobic and Anaerobic Processes of Spirogyra Extract Using Different Doses of Zymomonas Moblis*. *Journal of Aplied Enviromental and Biological Sciences*. 1 (10) 420-425.

Sutikno, B., Ahmad, A., dan Amraini, S.Z., 2012, Pengaruh Konsentrasi Glukosa Terhadap Biokonversi *Reject* Nanas Menjadi Bioetanol. Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan". Yogyakarta.