

**Pembuatan Bioetanol dari Kulit Nanas (*ananas comosus* L.) Menggunakan Enzim
Selulase dan Yeast *Saccharomyces Cerevisiae* dengan Proses *Simultaneous
Sacharification and Fermentation* (SSF)**

Sally Mandari¹, Elvi Yenie², Sri Rezeki Muria²

¹Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Riau
Kampus Binawidya Jl. HR Subrantas Km. 12,5 Pekanbaru 28293

²Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Riau
Kampus Binawidya Jl. HR Subrantas Km. 12,5 Pekanbaru 28293
Telp. 083186812491; sally26mandari@gmail.com

ABSTRACT

One of energy source alternative that can be used as a substitute for fossil fuel-based energy, is bioethanol. Bioethanol is biochemistry fluid from fermentation process of sugars from carbohydrate sources by using microorganisms. The raw material of bioethanol production is very diverse, like pineapple peel. Pineapple peel can be used as raw material for bioethanol production because contain of fiber, carbohydrates and sugar. This study aims to make bioethanol from pineapple peel with Sacharification Simultaneous and Fermentation (SSF) process with cellulase enzyme variation are 1%, 3%, 5%, 7%, and 10% v / v substrate and fermentation time are 2, 3, and 4 days. From the research is obtained the highest bioethanol concentration is 8% on the addition of cellulase enzymes 10% v / v substrate with 3 days fermentation time.

Keyword: Bioethanol; Pineapple Peel; Saccharomyces Cerevisiae; Cellulase; SSF

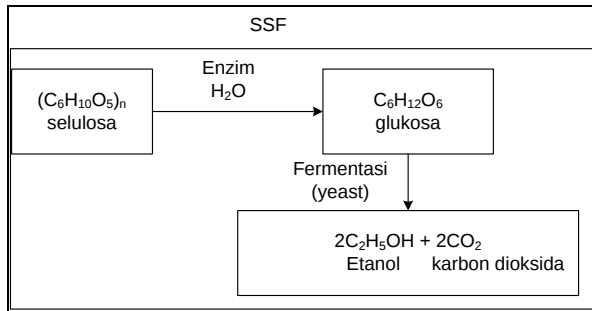
1. Pendahuluan

Seiring perkembangan zaman, kebutuhan manusia terhadap energi semakin meningkat. Sumber energi terbesar yang masih digunakan saat ini adalah sumber energi berbasis bahan bakar fosil yang sifatnya tidak dapat diperbaharui (*unrenewable*). Menurut Nurfiana dkk (2009) pada tahun 2002 lalu cadangan minyak bumi sekitar 5 miliar barrel, gas bumi sekitar 90 TSCF, dan batubara sekitar 5 miliar ton. Apabila tidak ditemukan cadangan baru, minyak bumi diperkirakan akan habis dalam waktu kurang dari 10 tahun, gas bumi 30 tahun, dan batubara akan habis sekitar 50 tahun. Untuk itu, dibutuhkan sumber energi alternatif yang dapat menggantikan sumber energi fosil dan jumlahnya tidak terbatas.

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. Keuntungan atau kelebihan

dari penggunaan bioetanol yaitu dapat diproduksi terus menerus, ramah lingkungan serta dapat digunakan sebagai bahan baku industri kimia, kosmetik, farmasi, dan sebagai bahan bakar [Masfufatun, 2012]. Salah satu bahan baku yang dapat dijadikan bioetanol adalah kulit nanas. Kulit nanas 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 nanas yang cukup tinggi maka kulit nanas memungkinkan untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku untuk pembuatan bioetanol. Salah satu metode yang dilakukan untuk pembuatan bioetanol yaitu dengan proses *simultaneous sacharification 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 *Aspergillus niger* dilakukan pada PDA secara zig-zag dengan menggunakan kawat inokulasi di dalam cawan petri secara aseptik. Mikroba diinkubasi pada suhu ruang selama 120 menit. Setelah pembenihan proses selanjutnya penyiapan inokulum dilakukan dalam media cair (media cair ini terdiri dari sari kulit nanas, $(NH_4)_2SO_4$ 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 berwarna 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]. Selanjutnya proses produksi

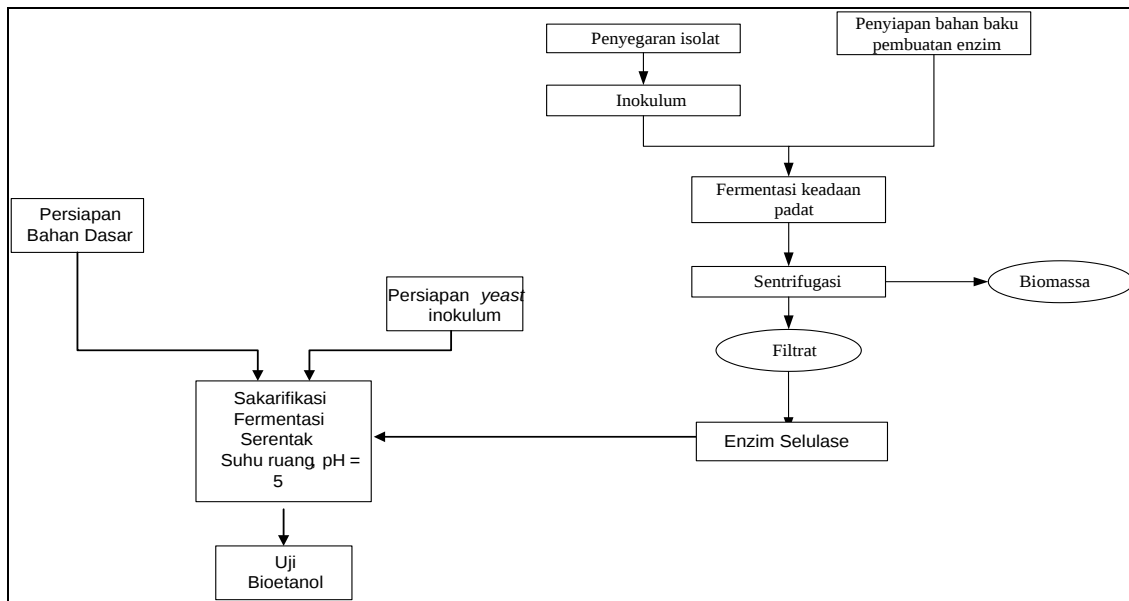
enzim. Pada proses produksi enzim selulase, Substrat yang digunakan dalam penelitian ini komposisinya mengacu pada komposisi yang digunakan oleh Carolina (2012). Substrat dimasukkan ke dalam beaker glass sesuai variabel (kadar air awal) dengan nutrisi antara lain: urea, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, KH_2PO_4 , 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 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 nanas. Kulit nanas di *blending* dengan larutan nutrisi dengan perbandingan 1:2, kemudian disterilisasi selama 15 menit pada suhu $121^\circ C$. 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 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 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 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 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 $121^\circ C$, kemudian didinginkan. Setelah dingin yeast dimasukkan 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 saccharification 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 etanol yang dihasilkan dengan menggunakan alkoholmeter.



Gambar 1.2 Blok Diagram Tahapan Penelitian

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Pengaruh Konsentrasi Enzim Terhadap Kadar Bioetanol

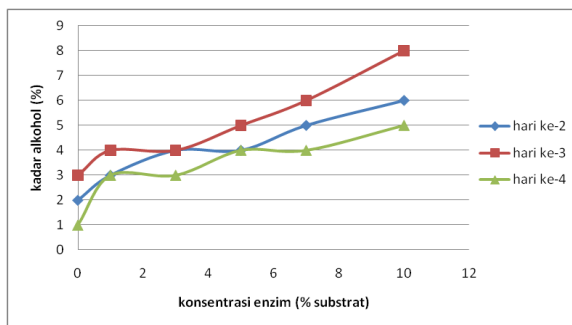
Enzim selulase merupakan enzim yang dapat mengubah selulosa menjadi glukosa. Pada penelitian ini dilakukan variasi konsentrasi enzim yaitu 1%, 3%, 5%, 7%, dan 10% v/v substrat untuk mengetahui pengaruhnya terhadap kadar bioetanol yang dihasilkan. Dari penelitian, diperoleh data sebagai berikut:

Tabel 1.1 Data Hasil Penelitian

Waktu Fermentasi	Perbandingan Kulit Nanas Dan Air	Konsentrasi Enzim	Inokulum	% Bioetanol
2 hari	1:2	0%	10%	2
		1%		3
		3%		4
		5%		4
		7%		5
		10%		6

Waktu Fermentasi	Perbandingan Kulit Nanas Dan Air	Konsentrasi Enzim	Inokulum	% Bioetanol
3 hari	1:2	0%	10%	3
		1%		4
		3%		4
		5%		5
		7%		6
		10%		8
4 hari	1:2	0%	10%	1
		1%		3
		3%		3
		5%		4
		7%		4
		10%		5

Dari data diatas, dapat dilihat grafik hubungan antara konsentrasi enzim dengan kadar alkohol yang diperoleh pada penelitian ini



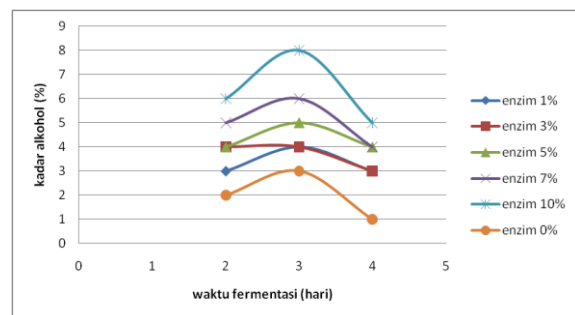
Grafik 3.1 Pengaruh Konsentrasi Enzim Terhadap Kadar Bioetanol

Pada proses fermentasi ini, media yang digunakan adalah media cair yaitu perbandingan kulit nanas dan larutan nutrisi 1:2 artinya 1 bagian kulit nanas *diblending* dengan 2 bagian air, kulit nanas sebanyak 100 gram *diblending* dengan larutan nutrisi sebanyak 200 ml. Terdapat dua reaksi yang terjadi pada proses fermentasi ini yaitu reaksi fermentasi glukosa yang terkandung pada sisa-sisa daging buah nanas oleh *Saccharomyces cerevisiae* dan reaksi enzimatis yang dilakukan oleh enzim selulase yang mengubah selulosa menjadi glukosa, selanjutnya glukosa yang dihasilkan akan difermentasi oleh *Saccharomyces cerevisiae*. *Saccharomyces cerevisiae* menghasilkan enzim zimase dan invertase. Enzim zimase berfungsi sebagai pemecah sukrosa menjadi monosakarida (glukosa dan fruktosa). Enzim invertase selanjutnya mengubah glukosa menjadi bioetanol [Judoamidjojo dkk, 1992].

Grafik 4.1 menunjukkan pengaruh konsentrasi enzim terhadap kadar etanol pada berbagai variasi konsentrasi. Dari grafik 4.1 terlihat bahwa semakin banyak enzim selulase yang ditambahkan maka kadar bioetanol yang dihasilkan semakin tinggi. Hal ini terjadi karena hidrolisa dinding selulosa oleh enzim selulase telah meningkatkan jumlah glukosa [Maemunah, 2005], sehingga *Saccharomyces cerevisiae* akan memfermentasi glukosa dengan jumlah yang lebih besar dan menghasilkan kadar bioetanol yang lebih tinggi sebagai hasil fermentasinya.

3.2 Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Bioetanol

Waktu fermentasi adalah waktu yang dibutuhkan oleh *Saccharomyces cerevisiae* mengubah atau memfermentasi glukosa menjadi bioetanol. Pada proses fermentasi, waktu fermentasi mempengaruhi kadar bioetanol yang dihasilkan. Lama fermentasi pada proses produksi bioetanol sangat mempengaruhi kadar bioetanol yang dihasilkan. Jika bioetanol yang terkandung di dalam 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 hari, 3 hari dan 4 hari pada berbagai variasi konsentrasi enzim. Tujuannya yaitu untuk mengetahui dan memperoleh data pengaruh waktu fermentasi terhadap kadar bioetanol yang dihasilkan. Grafik 4.2 berikut memperlihatkan pengaruh waktu terhadap kadar bioetanol yang dihasilkan pada berbagai konsentrasi enzim.



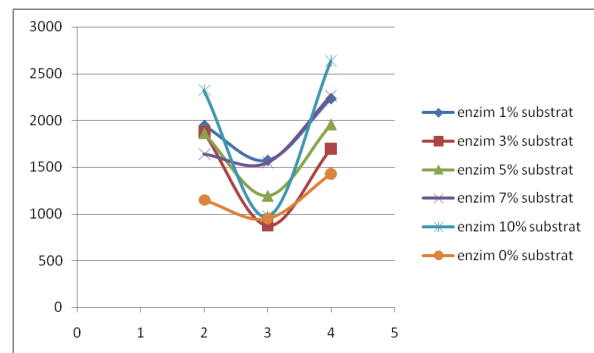
Grafik 3.2 Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Bioetanol

Dari grafik diatas terlihat bahwa lama fermentasi mempengaruhi hasil yang diperoleh. Pada grafik terlihat bahwa waktu optimum untuk proses fermentasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* adalah 3 hari. Namun, pada waktu fermentasi 4 hari, kadar alkohol menurun. Menurut Sari dkk (2008), menyatakan bahwa lama fermentasi yang paling optimal untuk proses pembuatan bioetanol adalah 3 hari. Jika fermentasi dilakukan lebih dari 3 hari, justru kadar alkoholnya dapat berkurang.

Berkurangnya kadar alkohol disebabkan karena alkohol telah dikonversi menjadi senyawa lain, misalnya ester. 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.

Seperti mikroorganisme yang lain, pertumbuhan dari *Saccharomyces cerevisiae* dapat digambarkan dengan kurva pertumbuhan yang menunjukkan masing-masing fase pertumbuhan. Ada 4 fase pertumbuhan yang meliputi fase adaptasi, fase tumbuh cepat, fase stasioner, dan fase kematian. Fase adaptasi digambarkan dengan garis kurva dari keadaan nol kemudian sedikit ada kenaikan. Di dalam fase ini *Saccharomyces cerevisiae* mengalami masa adaptasi dengan lingkungan dan belum ada pertumbuhan. Fase tumbuh cepat yang digambarkan dengan garis kurva yang mulai menunjukkan adanya peningkatan yang tajam. Pada fase ini *Saccharomyces cerevisiae* mengalami pertumbuhan yang sangat cepat. Di dalam fase ini terjadi pemecahan gula secara besar-besaran guna memenuhi kebutuhan pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae*. Hasil pemecahan gula oleh *Saccharomyces cerevisiae* dalam keadaan anaerob menghasilkan alkohol. Kemungkinan dihasilkan alkohol paling tinggi pada fase ini. Fase stasioner digambarkan dengan garis kurva mendatar yang menunjukkan jumlah *Saccharomyces cerevisiae* yang hidup sebanding dengan jumlah yang mati. Fase kematian digambarkan dengan penurunan garis kurva. Pada fase ini jumlah *Saccharomyces cerevisiae* yang mati jumlahnya lebih banyak sampai akhirnya semua *Saccharomyces cerevisiae* mati [Azizah, 2012].

3.3 Konsentrasi Glukosa Akhir (sisa) Kulit Nanas



Grafik 3.3 Hubungan Konsentrasi Enzim dan Waktu Fermentasi Terhadap Konsentrasi Glukosa Akhir (sisa)

Dari gambar 4.4 terlihat bahwa memasuki hari ke tiga kadar glukosa mengalami penurunan. Hal ini menunjukkan bahwa glukosa hasil hidrolisis telah difermentasi secara sempurna menjadi etanol. Namun pada waktu fermentasi lebih dari 3 hari, kadar glukosa mengalami kenaikan. Kenaikan jumlah glukosa disebabkan karena kecepatan reaksi dipengaruhi oleh banyaknya selulosa yang ada. Sementara selulosa semakin lama semakin berkurang disebabkan pecah menjadi unit glukosa. [Melwita, 2001]. Selain itu yang menyebabkan glukosa makin meningkat karena jumlah nutrisi yang tersedia tidak sebanding dengan dengan jumlah *Saccharomyces cerevisiae* yang lebih banyak, sehingga *Saccharomyces cerevisiae* kekurangan makanan yang mengakibatkan kinerja *Saccharomyces cerevisiae* untuk mengubah glukosa menjadi bioetanol menurun dan jumlah glukosa sisa menjadi lebih banyak.

4. Kesimpulan

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa penambahan enzim dapat mempengaruhi kadar bioetanol yang diperoleh. Semakin banyak enzim yang ditambahkan maka kadar bioetanol yang dihasilkan semakin besar karena semakin banyak glukosa yang dikonversi menjadi bioetanol. Sedangkan pengaruh waktu

fermentasi, dari penelitian diperoleh waktu fermentasi dengan kadar alkohol tertinggi yang dihasilkan adalah 3 hari karena waktu terbaik *Saccharomyces cerevisiae* bekerja mengubah glukosa menjadi bioetanol adalah 3 hari.

5. Saran

Pada penelitian selanjutnya diharapkan 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 (Ananas Comosus L Merr) Untuk Produksi Enzim Selulase*, Skripsi, Universitas Riau, Pekanbaru.
- Judoamidjojo, M., A. A. Darwis, dan E. G. Sa'id. 1992. *Teknologi Fermentasi*. Edisi 1. Rajawali Press, Jakarta.
- 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](http://pdfsearchpro.com/pengaruh_lama_fermentasi_dan_konsentrasi_glukosa_terhadap.pdf) (April 2011).
- Maemunah, Siti, dkk. 2005. Aplikasi Enzim Selulase dari *Trichoderma Reesei* QM 9414 untuk Peningkatan Produksi Etanol dari Singkong Melalui Proses Sakarifikasi Fermentasi Simultan. Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri ITB. Bandung
- Melwita, Elda. 2011." Ionic Liquid Sebagai Katalisator Potensial Untuk Meningkatkan Produksi Biofuel" Fakultas Teknik Universitas Sriwijaya. Palembang
- Masfufatun. 2012. *Produksi Etanol dari Hidrolisat Carboxy Methyl Cellulose (CMC)*, Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma. Surabaya
- Nurfiana, Fifi, dkk. 2009. *Pembuatan Bioethanol dari Biji Durian sebagai Sumber Energi Alternatif*. Teknokimia Nuklir, Sekolah Tinggi Teknologi Nuklir Badan Tenaga Nuklir Nasional (STTN-BATAN). 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 Biotechnology, 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, I. M., Noverita dan Yulneriwarni. 2008. Pemanfaatan jerami padi dan alang---alang dalam fermentasi etanol menggunakan kapang *Trichoderma viride* dan khamir *Saccharomyces cerevisiae*. Vis Vitalis. 5 (2): 55---62.
- 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