

PENGARUH VARIASI pH DAN WAKTU PADA PEMBUATAN BIOETANOL DARI SARI KULIT NANAS DENGAN MENGGUNAKAN *ZYMONONAS MOBILIS*

Cece R*, Chairul**, Yelmida**

*Mahasiswa Teknik Kimia Universitas Riau

**Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Riau

Kampus Binawidya KM 12,5 Simpang Baru Panam Pekanbaru 28293

cecerahayu82@gmail.com

*Bioethanol is an alternative energy source that has enough potential to replace fossil fuels. Bioethanol can be produced by fermentation of carbohydrate crops . One of the raw materials that can be used is a pineapple peel. Because today is still a waste of pineapple peel untapped. In pineapple peel contained 13.6 % reducing sugar , so as to have good potential to be processed into bioethanol . One way of making bioethanol is by microbial fermentation using *Zymomonas mobilis* . The fermentation process is influenced by several factors, including pH and time . This study was conducted to determine the optimum pH and time at fermentation process for bioethanol production from pineapple peel juice. The study was conducted by varying the pH of 4.5, 5.0, 5.5 and 6.0 with fermentation time 14 , 23 , 39 , 47 , 65 , and 71 hours using *Zymomonas mobilis* microbes . Bioethanol yield analysis using a gas chromatograph (GC). The result is the highest ethanol yield was 3.01% at pH 4.5 and fermentation time of 65 hours.*

Keyword: *Bioethanol, zymomonas mobilis, pineapple peel, yield, GC*

1. Pendahuluan

Sampai saat ini sumber energi masih didominasi oleh minyak bumi yang merupakan sumber daya alam yang tidak dapat diperbaharui. Cadangan minyak bumi khususnya di Indonesia semakin menipis. Sementara kebutuhan bahan bakar minyak sebagai sumber energi semakin hari semakin meningkat. Sehingga pemerintah Indonesia membuat Kebijakan Energi Nasional untuk mengembangkan sumber energi alternatif sebagai pengganti bahan bakar minyak. Kebijakan ini berupa Peraturan Presiden Nomor 5 tahun 2006 dan Instruksi Presiden No. 1 Tahun 2006. (Junaidi, 2012).

Sumber energi alternatif yang cukup potensial adalah bioetanol, yang merupakan sumber energi yang dapat diperbaharui dan ramah lingkungan. Etanol yang terbuat dari tumbuhan disebut bioetanol digunakan sebagai

bahan bakar mempunyai beberapa kelebihan, diantaranya lebih ramah lingkungan, memiliki nilai oktan yang lebih tinggi dari premium [Teresa, dkk., 2010].

Bioetanol dapat diproduksi melalui proses fermentasi dari tanaman penghasil karbohidrat dan gula. Salah satu bahan baku yang dapat digunakan untuk pembuatan bioetanol ini adalah kulit nanas. Kulit nanas mengandung 81,72% air, 17,53% karbohidrat, 4,41% protein, 13,65% gula pereduksi, dan 20,87% serat kasar. (Wijana., dkk, 1991). Kandungan gula pereduksi sebanyak 13,65% memungkinkan kulit buah nanas dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku pada pembuatan bioetanol melalui proses fermentasi.

Pemilihan kulit nanas sebagai bahan baku pembuatan bioetanol merupakan pilihan yang sangat dalam rangka pemanfaatan limbah untuk menghasilkan produk yang bermanfaat. Karena kulit nanas merupakan limbah belum dimanfaatkan secara maksimal dan potensinya cukup tinggi. Produksi buah nanas di Indonesia cukup melimpah, berdasarkan data dari Badan Pusat Statistik, produksi buah nanas di Indonesia pada tahun 2012 mencapai 1.781.899 ton.

Pemilihan mikroorganisme sangat menentukan keberhasilan proses fermentasi. Salah satu mikroorganisme yang bisa digunakan adalah *Zymomonas mobilis*. *Zymomonas mobilis* adalah salah satu mikroorganisme yang dapat menguraikan glukosa, fruktosa dan sukrosa menjadi etanol melalui proses fermentasi. (Siti Muslihah dan Welly Nurusuli, 2010)

Fermentasi etanol skala komersial sebagian besar dilakukan oleh jamur, salah satunya *Saccaromyces cerevisiae* yang menghasilkan etanol [Yudoamijoyo dkk, 1992]. Namun *Saccaromyces cerevisiae* memiliki beberapa kekurangan, diantaranya adalah tidak tahan dengan konsentrasi tinggi dari etanol yang dihasilkan. *Zymomonas mobilis* memiliki beberapa kelebihan dibandingkan *Saccaromyces cerevisiae*, diantaranya lebih toleran terhadap suhu, pH rendah, serta tahan terhadap etanol konsentrasi tinggi [Zhang *et al.*, 2010]. Namun untuk mendapatkan *yield* bioetanol yang tinggi diperlukan kondisi lingkungan yang mendukung salah satunya adalah pH.

Pada penelitian kali ini, pH proses fermentasi akan divariasikan 4,5; 5; 5,5 dan 6, dengan waktu pengambilan sample 12, 24, 36, 48, 60 dan 72 jam. Dari variasi percobaan tersebut diharapkan, dapat mengetahui pH

dan waktu optimum pada proses pembuatan bioetanol dari sari kulit nenas dengan fermentasi menggunakan *Zymomonas mobilis*.

Tujuan dari penelitian ini adalah: menentukan pH dan waktu optimum dalam pembuatan etanol dari sari kulit nanas dengan menggunakan *Zymomonas mobilis*.

2. Metodologi

Bahan yang digunakan

Dalam penelitian ini bahan-bahan yang digunakan adalah: Sari kulit nanas, biakan murni *Zymomonas mobilis*, HCl, NaOH, *Nutrient Agar* (NA), KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, etanol *pro analysis* (pa).

Alat yang digunakan

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini adalah : *Fermentor*, *Autoclave*, *Gas Chromatograph*, *Analytical balance* Inkubator ,Cawan petri, *Bunsen*, jarum ose, pH meter, *shaker*, labu erlenmeyer,

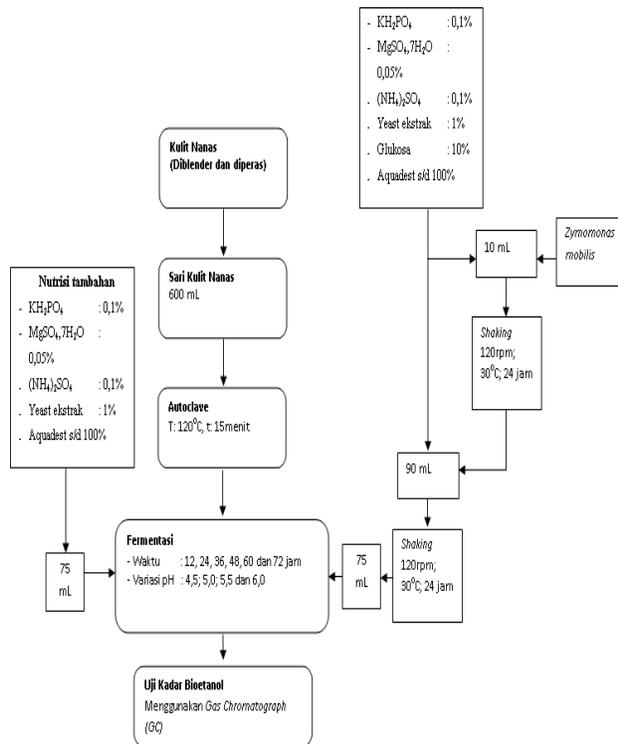
Variabel Penelitian

Variabel tetap pada penelitian yang digunakan dalam penelitian adalah volume percobaan sebanyak 750 mL, volume inokulum 10% (v/v) dari volume total percobaan, nutrisi tambahan 10% dari total volume percobaan. Temperatur percobaan temperature mengikuti temperature ruangan.

Sedangkan variabel tidak tetap pada percobaan ini adalah: variasi waktu dan pH fermentasi. Variasi waktu yang digunakan adalah: 12, 24, 36, 48,60,dan 72 jam dan variasi pH yang digunakan: 4,5; 5; 5,5 dan 6.

Prosedur penelitian

Prosedur penelitian ini meliputi persiapan bahan baku substrat, pengembangan inokulum *Zymomonas mobilis*, proses fermentasi, dan analisa hasil. Skema diagram penelitian dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Tahap-tahap penelitian

Persiapan inokulum

Kultur murni *Zymomonas mobilis*, yang dibiakan pada *Nutrient Agar* (NA) kemudian dipindahkan ke media tumbuh bakteri yang telah diperkaya, dengan komposisi media glukosa 10%, *yeast extract* 1%, KH_2PO_4 0.1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05%, dan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 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 dishaker selama 24 jam pada kecepatan 120 rpm [Aditya, 2011].

Persiapan substrat

Substrat yang digunakan dalam produksi etanol ini adalah sari kulit nanas. Kulit nanas diblender, kemudian diperas dan diambil airnya.

Persiapan nutrisi tambahan

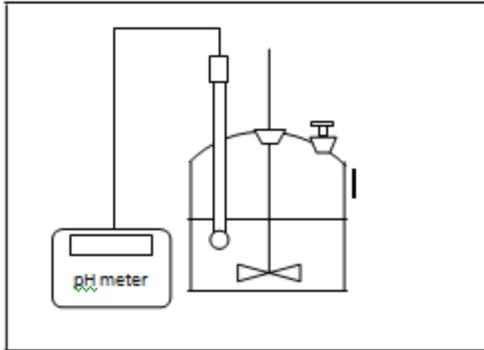
Nutrisi tambahan untuk proses fermentasi dibuat dengan dengan komposisi *yeast extract* 1%, KH_2PO_4 0.1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05%, dan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.1% [Tanaka,1999 dalam Ageng,2009]. Kemudian disterilisasi pada temperatur 121°C selama 15.

Persiapan Fermentor

Fermentor yang digunakan dalam proses fermentasi ini adalah botol kaca 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.

Inokulasi dan proses fermentasi

Sari kulit nanas yang telah disterilisasi diinokulasikan dengan inokulum *zymomonas mobilis* yang telah disiapkan secara hati-hati dan aseptik sebanyak 10% (v/v) dari jumlah substrat kemudian ditambahkan nutrisi tambahan sebanyak 10% dari volume total. pH awal diseting dengan menggunakan HCl atau NaOH sehingga didapat variasi pH yang diinginkan. Proses fermentasi berlangsung selama 72 jam dan diambil sampelnya setiap 12 jam. Setiap pengambilan sample dilakukan pengecekan pH dan *adjusting* jika diperlukan



Gambar 2. Rangkaian alat fermentasi

Analisa Bioetanol

Etanol yang dihasilkan dianalisa dengan menggunakan *gas chromatograph* (GC). Dengan tahapan analisa sebagai berikut:

a. Pembuatan Kurva Kalibrasi Standard etanol

- Buat deret standard etanol dengan konsentrasi 0.1%, 0.2%, 0.4%, 1%, 2%, 4%, 8% dan 10% dengan cara mengencerkan etanol pa menggunakan aquadest
- Standard tersebut dianalisa menggunakan *gas chromatograph* sehingga didapat data *peak area* dari masing-masing konsentrasi standar
- Buat kurva kalibrasi (konsentrasi vs *peak area*)

b. Analisis Kadar Etanol dari Sampel

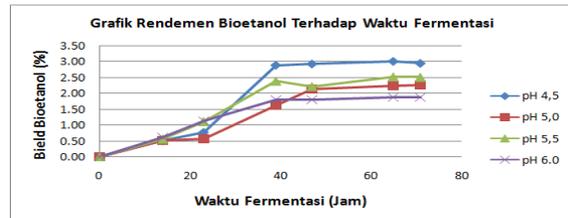
- Sampel dianalisa dengan menggunakan *gas chromatograph* sehingga didapat data *peak area*.

Kadar etanol dihitung dengan cara memplotkan *peak area* pada kurva kalibrasi.

3. Hasil dan Pembahasan

Tabel 1. Rendemen bioetanol berdasarkan waktu fermentasi pada masing-masing pH

pH Fermentasi	Rendemen bioetanol (% b/v), berdasarkan waktu fermentasi (jam)						
	0	14	23	39	47	65	71
4,5	0,00	0,50	0,77	2,88	2,92	3,01	2,94
5,0	0,00	0,50	0,57	1,62	2,14	2,24	2,26
5,5	0,00	0,56	1,11	2,38	2,21	2,51	2,50
6,0	0,00	0,61	1,13	1,80	1,79	1,88	1,88



Gambar 3. Grafik rendemen bioetanol vs waktu pada masing-masing pH fermentasi

Gambar 3 menunjukkan grafik hubungan antara rendemen bioetanol yang didapatkan dari proses fermentasi dan waktu fermentasi pada masing-masing pH. Variasi waktu fermentasi pada penelitian ini adalah 0, 14, 23, 39, 47, 65 dan 71 jam. Sedangkan variasi pH proses fermentasi adalah 4,5 (percobaan ke-1); 5,0 (percobaan ke 2); 5,5 (percobaan ke-3); dan 6,0 (percobaan ke-4). Pada awal proses fermentasi, dimana bahan baku masih *fresh* dan belum ada monosakarida yang terkonversi menjadi bioetanol, rendemen bioetanol pada sample masing-masing percobaan masih 0%. Pada pengamatan 14 jam proses fermentasi, rendemen bioetanol yang dihasilkan pada masing-masing percobaan adalah: pada percobaan ke-1 (pH 4,5) kadar bioetanol: 0,50%, percobaan ke-2 (pH 5,0) kadar bioetanol: 0,50%, percobaan ke-3 (pH 5,5) kadar bioetanol: 0,56%, dan percobaan ke-4 (pH 6,0) kadar bioetanol: 0,61%. Pada waktu fermentasi 14 jam bioetanol yang dihasilkan cenderung seragam.

Pada pengamatan 23 jam proses fermentasi, bioetanol yang dihasilkan mulai bervariasi dengan rendemen tertinggi diperoleh dari percobaan ke-4 dengan rendemen bioetanol sebesar 1,13%. Untuk percobaan lain dengan pH fermentasi 4,5; 5,0 dan 5,5 masing-masing diperoleh rendemen etanol 0,77%; 0,57%, dan 1,11%.

Kenaikan rendemen bioetanol yang cukup signifikan terjadi pada periode jam ke-23 sampai dengan jam ke-39, rendemen bioetanol meningkat tajam, dengan rendemen tertinggi dicapai oleh percobaan ke-1 (pH 4,5) dengan rendemen bioetanol mencapai 2,88%. Untuk percobaan lain diperoleh rendemen bioetanol masing-masing: 1,62% untuk percobaan ke-2 (pH 5,0), 2,38% untuk percobaan ke-3 (pH 5,5), dan 1,80% untuk percobaan ke-4 (pH 6,0). Periode ini dinamakan fase *exponential*, dimana mikroorganisme sudah dapat menyesuaikan diri dengan lingkungannya sehingga pertumbuhan mikroorganisme terjadi dengan cepat (Ahmad, 2009). Pada periode ini energy yang dibutuhkan cukup banyak, sehingga nutrient yang dibutuhkan dan etanol yang dihasilkan cukup banyak. Hasil metabolisme monosakarida oleh mikroorganisme adalah etanol, CO₂ dan energy. Pada periode ini pertumbuhan mikroorganisme sangat dipengaruhi oleh ketersediaan nutrient dan pH (Ahmad, 2009). Sehingga kondisi pH yang cocok dengan mikroorganisme *zymomonas mobilis* akan menghasilkan yield bioetanol yang tinggi.

Pengamatan selanjutnya dilakukan pada jam ke-47. Pada pengamatan ini semua percobaan menunjukkan kenaikan rendemen bioetanol yang tidak signifikan dibandingkan dengan pengamatan sebelumnya (jam ke-39). Begitu juga untuk pengamatan selanjutnya (jam ke-65), kenaikan rendemen yang signifikan. Periode ini dinamakan fase stasioner (*stationery fase*), dimana pertumbuhan mikroorganisme mencapai keadaan yang maksimum, mikroorganisme yang aktif dan yang mati relative setimbang karena makanan substrat relative sedikit. Pertumbuhan sel tersebut tua dan kemudian mati sedangkan sel yang muda akan bertahan hidup sampai nutrisi habis (Ahmad, 2009). Untuk percobaan ke-2 (pH 5,0) dan ke-4 (pH 6,0), pada pengamatan selanjutnya (jam ke-71), masih terjadi kenaikan rendemen bioetanol tetapi tidak begitu signifikan (masih dalam fase stasioner). Untuk percobaan ke-1 (pH 4,5) dan ke-3 (pH 5,0), pengamatan pada jam ke-71 menunjukkan penurunan rendemen bioetanol dibandingkan pengamatan sebelumnya (jam ke-65). Periode ini dinamakan fase kematian atau *logarithmic death fase* dimana sebagian populasi mikroorganisme telah banyak yang mati karena bahan nutrisi di dalam medium sudah habis dan energy cadangan di dalam sel pun sudah habis. Kecepatan kematian bergantung pada kondisi nutrient, lingkungan dan jenis mikroorganisme. (Ahmad, 2009). Penurunan kadar bioetanol disebabkan oleh reaksi lanjutan etanol menjadi senyawa asam karboksilat.

4 Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan sebagai adalah: Kondisi optimum pada proses pembuatan bioetanol dari sari kulit nanas dengan menggunakan mikroba *Zymomonas mobilis* pada penelitian ini adalah pada pH 4,5 dan waktu fermentasi 65 jam dengan rendemen bioetanol yang didapat sebanyak 3.01% (b/v).

Ucapan Terimakasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Bapak Chairul, ST., MT, dan Ibu Dra. Yelmida, M.Si selaku dosen pembimbing, kedua orangtua, istri tercinta, teman diskusi dalam penelitian ini: Shinta dan Nadhira, serta rekan-rekan Teknik Kimia non regular 2008 atas semua dukungan dalam penelitian ini.

Daftar Pustaka

Ahmad, A. (2009) *Dasar-dasar Teknologi Fermentasi*, Hal 32, Unri Press, Riau Pekanbaru

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

Badan Pusat Statistik, 2012, Produksi Buah-buahan Menurut Provinsi, [Http://www.bps.go.id/produksi](http://www.bps.go.id/produksi), diakses pada 20 September 2013, pukul 20.00 WIB.

Ismail, K.S. Ku, (2008). *Thermo-enzymatic Hydrolysis of Cassava Starch by α -amilase and amyloglucosidase*, Malaysian Technical Universities Conference on Engineering and Technology.

Junaidi, B.A, Abdullah, dan Gunawan. (2012). Kajian Produksi Biodiesel dan Bioetanol Berbasis Mikroalga Secara Simultan, Laporan Penelitian, Fakultas MIPA, Universitas Lampung, Lampung.

Nurdyastuti, I. (2006). *Teknologi Proses Produksi Bio-Ethanol*, Prospek Pengembangan Bio-Fuel Sebagai Substitusi Bahan Bakar Minyak, hal 73-65. Pusat Pengkajian dan penerapan Teknologi Konversi dan Konservasi Energi BPPT

Rogers, P.L., dkk (2007), *Zymomonas mobilis for Fuel Ethanol and Higher Value Products*, Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.

Springer, 2007, *Improvement of Crop Plants for Industrial End Uses*. Netherlands

Supriyanto, 2010. Proses Produksi Etanol oleh *Saccharomyces Cerevisiae* Dengan Operasi Kontinyu Pada Kondisi Vakum.

http://eprints.undip.ac.id/13474/4/Halaman_Angka.pdf, diakses pada 20 September 2013.

Tahir, I. 2008. Kajian Penggunaan Limbah Buah Nenas Lokal (*Ananas Comosus L*) Sebagai Bahan Baku Pembuatan Nata, Makalah Seminar Nasional Kimia XVIII, Jurusan Kimia FMIPA UGM.

- Teresa M. M., Antonio A. M. dan Caetano, N.S. 2010. *Microalgae for Biodiesel Production and Other Applications: A Review, Renewable and Sustainable Energy*, 14 217-232.
- Wijana, dkk 1998. Optimalisasi Penambahan Tepung Kulit Nanas dan Proses Fermentasi pada Pakan Ternak terhadap Peningkatan Kualitas Nutrisi. ARMP (Deptan). Universitas Brawijaya. Malang.
- Zhang, K. dan Feng, H. (2010). *Fermentation Potentials of Zymomonas mobilis and its Application in Ethanol Production from Low-cost Raw Sweet Potato. African Journal of Biotechnology*. Vol. 9. 38. 6122-6128.