

PEMANFAATAN NANAS (*Ananas comosus*) SEBAGAI BAHAN BAKU PEMBUATAN BIOETANOL DENGAN METODE SAKARIFIKASI DAN FERMENTASI SERENTAK

(*Pineapple Utilization as Raw Materials of Bioethanol Production Using Simultaneous Saccharification and Fermentation Method*)

Pramono Putro Utomo

Baristand Industri Pontianak, Jl. Budi Utomo No. 41 Pontianak

E-mail : pramono@kemenperin.go.id

ABSTRACT. *The research of pineapple utilization as raw materials of bioethanol production using simultaneous saccharification and fermentation (SSF) method has been done. The purpose of this research was to increase the utilization of pineapple as raw material for bioethanol also to obtain the effect of microbial species used and the length of fermentation on the yield of bioethanol. The treatments conducted were species of microbe and the length of fermentation. The results showed that the treatment of multiple microbial cultures of *Aspergillus niger*, *Saccharomyces cerevisiae*, and *Zymomonas mobilis* (1:1:1) with 24-hour long fermentation produce ethanol yield and the optimal concentration of 50, 680 ml / kg and 6.335%.*

Keywords: *A.niger, ethanol, S.cerevisiae, SSF, Z.mobilis*

1. PENDAHULUAN

Keterbatasan Bahan Bakar Minyak (BBM) telah menjadi isu yang sangat penting di dunia seiring dengan menipisnya bahan baku minyak yang berasal dari fosil. Berkurangnya sumber bahan bakar ini tidak diimbangi dengan laju penggunaannya yang semakin meningkat di seluruh dunia tidak terkecuali juga di Indonesia. Hal tersebut memaksa pemerintah melakukan langkah-langkah penghematan energi dan mencari sumber-sumber energi baru untuk menggantikan minyak bumi.

Pemerintah telah mengeluarkan Perpres No.5 Tahun 2006 tentang Kebijakan Energi Nasional, dimana pemanfaatan BBN (biofuel) ditargetkan 2% pada tahun 2010 dan 5% pada tahun 2025. Pengurangan konsumsi BBM jenis bensin dapat dilakukan dengan menambahkan 10% bioetanol atau sering disebut E10 (Hikmiyati dan Yanie, 2008).

Bioetanol atau juga lazim disebut etanol *fuel grade* dapat diproduksi dari bahan bergula, berpati dan berserat. Salah satu bahan bergula dan berserat untuk pembuatan bioetanol adalah dari jenis buah-buahan.

Indonesia adalah salah satu negara penghasil buah-buahan komersial yang terkenal di kawasan Asia Tenggara. Salah satu diantara jenis buah-buahan tersebut adalah nanas. Nanas telah dibudidayakan secara luas dan besar khususnya di Kalimantan Barat. Sentra penanaman nanas yang ada di Kalbar adalah di Kabupaten Pontianak dan Kabupaten Kubu Raya (Kec. Rasau Jaya).

Setiap tahun dihasilkan rata-rata 7,9 ton/ha nanas jenis *queen* dan *cayenne* dengan total area penanaman di Kabupaten Pontianak dan Kubu Raya mencapai 1.380 ha dengan masa penen rayas nanas terjadi selama 3 bulan yaitu antara bulan Maret sampai Mei dan panen biasa antara bulan Juni hingga Pebruari (Anonim, 2000).

Pemanfaatan nanas di Kalbar selama ini terbatas pada konsumsi sebagai buah meja dan produk olahan makanan yang memberikan konsekuensi terdapatnya limbah berupa bagian yang tidak dapat dimakan (terutama kulit dan nanas lewat masak) yang cukup besar yang dapat menjadi permasalahan karena tidak termanfaatkan.

Menurut Bries (2008) dan Chan (2009), bagian buah nanas terutama kulit dan bonggolnya dapat dibuat bioetanol. Berdasarkan kandungan nutrisinya, bagian kulit buah nanas mengandung karbohidrat dan gula yang cukup tinggi. Menurut Wijana dkk. (1991) kulit nanas mengandung 81,71% air, 20,87% serat kasar, 17,53% karbohidrat termasuk di dalamnya gula reduksi sebesar 13,65% dan 4,41% protein. Kulit nanas memiliki sejumlah glukosa dari golongan polisakarida. Termasuk dalam jenis ini adalah d-glucosamine, d-mannose, d-xylose, l-fructose in ratios of 2:2:1:1 (Bries, 2008). Sedangkan menurut *nutritiondata.com*, buah nanas per 100 g mengandung karbohidrat total sebesar 12,63 g dengan kadar gula sebesar 9,26 g dan serat makanan sebesar 1,4 g. Mengingat kandungan karbohidrat dan gula yang cukup tinggi tersebut maka kulit beserta daging buah dan bonggolnya dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan bioetanol.

Produksi bioetanol terdiri dari dua tahap utama, yaitu hidrolisis dan fermentasi. Pada metode terdahulu proses hidrolisis dan fermentasi dilakukan secara terpisah atau *Separated Hydrolysis dan Fermentation* (SHF) sedangkan saat ini terdapat metode lain yaitu proses *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF) atau Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak (SFS) (Samsuri, dkk, 2007). Menurut Bries (2008) teknologi SFS adalah teknologi terbaik tidak hanya dari kualitas bioetanol yang dihasilkan juga karena menghasilkan rendemen yang besar. Selain itu menurut Samsuri, dkk (2007) satu diantara beberapa keuntungan dari proses SFS adalah hidrolisis dan fermentasi dilakukan dalam satu wadah

atau reaktor, sehingga dapat berlangsung secara efisien.

Faktor-faktor yang mempengaruhi jumlah bioetanol yang dihasilkan adalah mikroorganisme dan media yang digunakan, adanya komponen media yang dapat menghambat pertumbuhan serta kemampuan fermentasi mikroorganisme dan kondisi selama fermentasi (Astuty, 1991). Selain itu hal-hal yang perlu diperhatikan selama fermentasi adalah pemilihan mikroorganisme, konsentrasi gula ($^{\circ}$ Brix) pada bahan, keasaman media (pH), ketersediaan oksigen dan suhu.

2. METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah nanas kadar brix ≥ 10 , biakan suspensi *Saccharomyces cerevisiae* dan *Zymomonas mobilis*, Kapang *Aspergillus niger*, kain saring, kertas saring, karbon aktif dan bahan untuk pembiakan dan pengujian.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah fermentor sederhana, pH meter, brix meter, hot plate, blender, Gas Chromatography (analisis), autoclave, glass ware alat destilasi alkohol, alat destilasi alkohol fuel grade.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Proses Baristand Industri Pontianak dengan menggunakan 2 variabel yaitu jenis bakteri yang digunakan (A) yaitu A1 (*S. cerevisiae*), A2 (*S. cerevisiae* dan *Z. mobilis*) dan A3 (*A. niger*, *S. cerevisiae* dan *Z. mobilis*) serta lama fermentasi (B) yaitu B1 (24 jam), B2 (48 jam), B3 (72 jam) dan B4 (96 jam).

Penelitian ini terdiri dari beberapa tahap yaitu tahap analisis nanas (kulit, bonggol dan daging buah) dan penelitian pembuatan bioetanol.

Analisis Gula Total Nanas Segar (Luff Schoorl)

Nanas dihancurkan hingga menjadi pulp menggunakan blender, kemudian ditempatkan dalam wadah steril dan diambil 50g diberi label untuk identifikasi penentuan gula total dengan Metode Luff Schoorl.

Preparasi Media dan Inokulasi *Saccharomyces cerevisiae* (Bries, 2008)

Saccharomyces cerevisiae di-*preculture* pada PDA 2%, agar (0,25 g), H₂O (50ml) dan diinkubasi selama 1-3 hari pada suhu 28°C, kemudian digunakan sebagai yeast pada proses SFS.

Saccharomyces cerevisiae dari stock di-*preculture* pada 50 ml media (glukosa 10 g/l, yeast extract 1 g/l, KH₂PO₄ 0,1 g/l, MgSO₄·7H₂O 0,1 g/l, dan (NH₄)₂SO₄ 0,1 g/l) dalam 200 ml erlenmeyer, kemudian diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam menggunakan orbital shaker dengan kecepatan 100 rpm.

Preparasi Media dan Inokulasi *Zymomonas mobilis* (Letti, 2007)

Zymomonas mobilis direaktivasi dalam ZM media (20 g/l sukrosa, 10 g/l ekstrak yeast, 10 g/l pepton). Hasil *preculture* diambil 50 ml dalam 200 ml erlenmeyer, kemudian diinkubasi selama 30°C selama 24 jam menggunakan orbital shaker dengan kecepatan 120 rpm.

Preparasi inokulum kapang *Aspergillus niger* (Sa'adah, dkk, 2009)

Pembenihan inokulasi dilakukan pada PDA secara zig-zag dengan menggunakan kawat inokulasi di dalam cawan petri secara aseptik. Mikroba diinkubasi pada suhu ± 30°C selama 24 jam di ruang aseptik. Penyiapan inokulum dilakukan dalam media cair (sukrosa 12,5%, (NH₄)₂SO₄ 0,25%, KH₂PO₄ 0,2%) yang ditutup dengan kapas kemudian diinkubasi pada suhu ± 30°C selama 24 jam di ruang aseptik.

Penelitian Pembuatan Bioetanol

Nanas dipotong dan di-*pulping* hingga menjadi bubur nanas kemudian bubur ditimbang dan ditempatkan pada autoclave untuk selanjutnya dilakukan sterilisasi. Setelah sterilisasi didinginkan hingga suhu 30°C dan ditambahkan buffer asetat pH 4.

Penambahan suspensi *Aspergillus niger*, *Zymomonas mobilis* dan *Saccharomyces cereviceae* sesuai perlakuan sebanyak 30% (v/v) kemudian dilakukan fermentasi sesuai perlakuan (24,

48, 72, dan 96 jam) pada suhu 30°C dan kondisi anaerobik fakultatif.

Setelah waktu fermentasi terpenuhi, dilakukan penyaringan menggunakan kain saring dilanjutkan dengan kertas saring. Setelah itu dilakukan pemurnian campuran sari nanas sehingga didapat campuran air dan alkohol yang telah jernih. Tiap perlakuan diambil contohnya 100 mL untuk diuji kadar alkoholnya menggunakan gas kromatografi. Sisa campuran air dan alkohol dipisahkan menggunakan alat destilasi alkohol hingga kadar 95% menggunakan karbon aktif sebagai penyerap air.

Parameter yang diamati dalam pembuatan bioetanol adalah rendemen bioetanol dan kadar etanol.

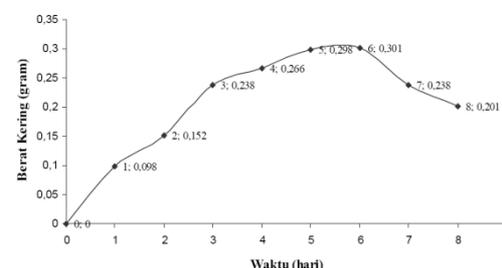
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Nanas

Hasil analisis karbohidrat total, nanas segar yang didapatkan di daerah Rasau Jaya mengandung 11,93 g/100 g nanas sehingga dapat dijadikan substrat pembuatan bioethanol.

Kurva Pertumbuhan Mikroba

Aspergillus niger menghasilkan enzim-enzim ekstraseluler yang yang dapat menguraikan pati (amilum) menjadi glukosa, yaitu amilase dan glucoamilase serta menguraikan selulosa menjadi glukosa, yaitu selulase. Enzim ekstraseluler pada umumnya diproduksi selama fase log.

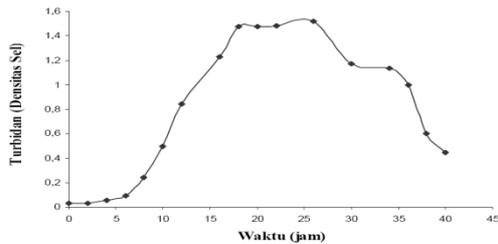


Gambar 1. Kurva Pertumbuhan *Aspergillus niger*

Berdasarkan kurva pertumbuhan *A. niger* (Gambar 1), fase log terjadi mulai hari ke-2 hingga ke-5 sehingga pemanenan *A. niger* dilakukan pada hari ke-5 yang merupakan akhir fase lag nya. Pada

kondisi ini selain jumlah sel yang diperoleh paling besar, diharapkan jumlah enzim amilase yang diproduksi juga paling tinggi.

Kurva pertumbuhan *S. cerevisiae* ditunjukkan pada Gambar 2. Fase log yang ditandai dengan peningkatan jumlah sel yang tinggi teramati mulai jam ke-10 dan jam ke-16.



Gambar 2. Kurva Pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae*

Selama fase log perangkat sel termasuk enzim-enzim yang terlibat dalam metabolisme sel sudah sempurna, sehingga perkembangbiakan sel sangat cepat. *Saccharomyces cerevisiae* digunakan untuk tahap fermentasi kemampuannya menggunakan glukosa sebagai sumber energi dalam keadaan aerob menghasilkan etanol. Pemanenan dilakukan pada akhir fase log yaitu sekitar jam ke-16 untuk mendapatkan sel paling banyak.

Kurva pertumbuhan *Z. mobilis* tidak berbeda jauh dengan *A. niger* dan *S. cerevisiae*. Menurut Letti (2007), umur kultur memberikan pengaruh yang nyata terhadap produksi etanol. Pada percobaan menggunakan kultur berumur 15 dan 21 jam secara fermentasi aerobik, sel bakteri dari kultur yang lebih tua (21 jam) berada dalam akhir fase eksponensial, sementara kultur yang lebih muda (15 jam) belum. Kultur yang lebih tua memberikan keuntungan dalam hal produksi alkohol yang lebih banyak dan waktu fermentasi yang lebih pendek.

Pengaruh Kultur Tunggal dan Variasi Waktu Fermentasi

Pengaruh kultur tunggal *S. cerevisiae* dan variasi waktu fermentasi terhadap rendemen dan kadar etanol dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengaruh kultur tunggal *Sacharomyces cerevisiae* dan variasi waktu fermentasi terhadap rendemen dan kadar etanol

No	Perlakuan <i>S. cerevisiae</i>	Rendemen Alkohol (mg/kg)	Kadar Etanol (%)
1.	24 jam	27,48	3,435
2.	48 jam	8	1,000
3.	72 jam	11,48	1,435
4.	96 jam	19,488	2,436

Kadar etanol tertinggi didapat pada lama fermentasi 24 jam. Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi jumlah etanol yang dihasilkan dari fermentasi adalah mikroorganisme dan media yang digunakan, adanya komponen media yang dapat menghambat pertumbuhan serta kemampuan fermentasi mikroorganisme dan kondisi selama fermentasi (Astuty, 1991). Selain itu hal-hal yang perlu diperhatikan selama fermentasi adalah pemilihan khamir, konsentrasi gula, keasaman, ketersediaan oksigen dan suhu sari buah.

Pemilihan sel khamir didasarkan pada jenis karbohidrat yang digunakan sebagai medium untuk memproduksi alkohol dari pati dan gula digunakan *Saccharomyces cerevisiae*. Suhu yang baik untuk proses fermentasi berkisar antara 25-30°C. Derajat keasaman (pH) optimum untuk proses fermentasi sama dengan pH optimum untuk proses pertumbuhan khamir yaitu pH 4,0-4,5.

Penurunan kadar alkohol hingga waktu fermentasi 92 jam menandakan terjadi perubahan alkohol menjadi fraksi lain diantaranya asam asetat. Jumlah asam asetat yang tinggi dapat terjadi akibat kegiatan bakteri sebelum, selama dan sesudah fermentasi. Bertambahnya asam asetat ini karena terjadinya oksidasi alkohol dan perombakan bakteri terhadap gula, asam sitrat gliserol dan bahan lainnya.

Pengaruh Kultur Ganda dan Variasi Waktu Fermentasi

Pengaruh kultur ganda *Sacharomyces cerevisiae* dan *Zymomonas mobilis* serta variasi waktu fermentasi

terhadap rendemen dan kadar etanol dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Pengaruh kultur ganda *Sacharomyces cerevisiae* dan *Zymomonas mobilis* serta variasi waktu fermentasi terhadap rendemen dan kadar etanol

No	Perlakuan <i>S. cerevisiae</i> : <i>Z. mobilis</i> (1:1)	Rendemen Alkohol (mg/kg)	Kadar Etanol (%)
1.	24 jam	39,136	4,592
2.	48 jam	40,736	5,092
3.	72 jam	36,072	4,509
4.	96 jam	30,760	3,845

Penggunaan kultur ganda *S. cerevisiae* dan *Z. mobilis* telah nyata meningkatkan kadar dan rendemen etanol bila dibandingkan dengan penggunaan kultur tunggal *S. cerevisiae* yang menghasilkan kadar etanol 3,435% dan rendemen 27,48 ml/kg (Tabel 1). Masing-masing mikroba adalah mikroba penghasil alkohol. Kelebihan *S. cerevisiae* adalah mampu memproduksi enzim selulase untuk merombak polisakarida yang berasal dari kulit nanas.

Pada penelitian ini, konsentrasi tertinggi etanol didapat pada lama fermentasi 48 jam setelah itu terjadi penurunan kadar etanol hingga waktu fermentasi 96 jam sebesar 3,845%. Penurunan ini disebabkan oleh perubahan alkohol menjadi fraksi lain diantaranya asam asetat. Jumlah asam asetat yang tinggi dapat terjadi akibat kegiatan bakteri sebelum, selama dan sesudah fermentasi. Bertambahnya asam asetat ini karena terjadinya oksidasi alkohol dan perombakan bakteri terhadap gula, asam sitrat gliserol dan bahan lainnya.

Penggunaan *S. cerevisiae* bersamaan dengan *Z. mobilis* adalah karena *S. cerevisiae* juga dapat berfungsi sebagai agen pen-sakarifikasi dari komponen polisakarida yang terdapat pada kulit nanas. Sedangkan *Z. mobilis* hanya sebagai mikroba penghasil alkohol/etanol. Khamir tersebut memproduksi enzim selulase, namun kecepatan pengubahan polisakarida menjadi glukosa oleh khamir ini diduga tidak optimal karena menurut Folakemi, dkk (2008) produksi glukosa dari nanas

menggunakan khamir *S. cerevisiae* untuk waktu fermentasi selama dua hari adalah sebesar 0,18 mg/0,5 ml.

Pengaruh Kultur Majemuk dan Variasi Waktu Fermentasi

Pengaruh kultur majemuk *S. cerevisiae*, *Z. mobilis* dan *A. niger* serta variasi waktu fermentasi terhadap rendemen dan kadar etanol dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Pengaruh kultur majemuk *S. cerevisiae*, *Z. mobilis* dan *A. niger* serta variasi waktu fermentasi terhadap rendemen dan kadar etanol

No	Perlakuan <i>S. cerevisiae</i> : <i>Z. mobilis</i> : <i>A. niger</i> (1:1:1)	Rendemen Alkohol (mg/kg)	Kadar Etanol (%)
1.	24 jam	50,680	6,335
2.	48 jam	1,104	0,138
3.	72 jam	47,568	5,946
4.	96 jam	31,776	3,972

Pada penelitian ini, konsentrasi tertinggi etanol didapat pada lama fermentasi 24 jam setelah itu terjadi penurunan kadar etanol hingga waktu fermentasi 96 jam sebesar 3,972%. Penurunan ini disebabkan oleh perubahan alkohol menjadi fraksi lain diantaranya asam asetat. Jumlah asam asetat yang tinggi dapat terjadi akibat kegiatan bakteri sebelum, selama dan sesudah fermentasi. Bertambahnya asam asetat ini karena terjadinya oksidasi alkohol dan perombakan bakteri terhadap gula, asam sitrat gliserol dan bahan lainnya.

Penggunaan kultur ganda *S. cerevisiae*, *Z. mobilis* dan *A. niger* telah nyata meningkatkan kadar dan rendemen etanol bila dibandingkan dengan penggunaan kultur ganda *S. cerevisiae* dan *Z. mobilis* yang menghasilkan kadar etanol 5,092% dan rendemen 40,736 ml/kg (Tabel 2). Khamir *S. cerevisiae* dan *Z. mobilis* adalah mikroba penghasil etanol sedangkan *A. niger* dan *S. cerevisiae* adalah mikroba yang menjalankan proses sakarifikasi dengan menghasilkan enzim selulase sehingga dalam perlakuan ini terdapat 2 mikroba untuk proses

sakarifikasi dan juga terdapat dua mikroba untuk proses pembentukan etanol.

Masih rendahnya rendemen dan kadar alkohol yang dihasilkan karena selulosa tidak sempurna dirombak oleh *A. niger* dan *S. cerevisiae*. Kecepatan perubahan polisakarida (selulosa) menjadi glukosa oleh kedua bakteri ini diduga tidak optimal karena menurut Folakemi, dkk (2008) produksi glukosa dari nanas untuk waktu fermentasi selama satu hari menggunakan khamir *S. cerevisiae* sebesar 0,13 mg/0,5 ml sedangkan kapang *A. niger* sebesar 0,1 mg/0,5 ml.

4. KESIMPULAN

Dari hasil percobaan dapat disimpulkan bahwa penggunaan tiga bakteri memberikan jumlah rendemen bioetanol yang lebih tinggi dan konsentrasi awal etanol yang tertinggi. Pengaplikasian dua jenis bakteri pen-Sakarifikasi menghasilkan rendemen yang lebih baik dibandingkan pengaplikasian satu jenis bakteri pen-sakarifikasi. Perlakuan terbaik pembuatan bioetanol adalah 3 bakteri (*Saccharomyces cerevisiae*-*Zymomonas mobilis*-*Aspergillus niger*) selama 24 jam fermentasi dengan rendemen 50, 680 ml/kg dan kadar alkohol 6,335 %.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2000, *Pengembangan Kawasan Nanas Kab. Kubu Raya dan Kab. Pontianak Prov. Kalbar*, www.ditbuah.hortikultura.deptan.go.id
- Astuty, E. D., 1991, *Fermentasi Etanol Kulit Buah Pisang*. UGM. Yogyakarta.
- Bries A.R, 2008, *The Extraction of Bioethanol from Pineapple Peelings Through Simultaneous Saccharification and Fermentation Using the Yeast Saccharomyces cerevisiae*. Republic of the Philippines Cumhyriyet Filipinler
- Chan, S, 2009, *Power Your Car – From Your Dinner Table*
- Folakemi, P., Omojosola, Jilani, Priscilla, O., Ibiyemi, S.A., 2008, Cellulase Production by Some Fungi Cultured on Pineapple, *Nature and Science*, 6(2), Nigeria.
- Hikmiyati, N dan Yanie N.S., 2009, *Pembuatan Bioetanol dari Limbah Kulit Singkong Melalui Proses Hidrolisa Asam dan Enzimatis*, Skripsi, Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro, Semarang.
- Letti, L.A. J., 2007, *Production of bioethanol by Soybean Molasses Fermentation by Zymomonas mobilis*, University of Provence-University of the Mediterranean Sea, Curitiba.
- Saadah, Z., Ika, N.S., dan Abdullah, 2009, *Produksi Enzim Selulase oleh Aspergillus niger Menggunakan Substrat Jerami dengan Sistem Fermentasi Padat*.
- Samsuri, M., Gozan, M., Mardias, R., Baiquni, M., Hermansyah, H., Wijanarko, A., Prasetya, B., dan Nasikin, M., 2007, Pemanfaatan Selulosa Bagas untuk Produksi Ethanol Melalui Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak dengan Enzym Xylanase, *Jurnal Makara Teknologi*, Vol. 11-01, 17-24
- Wijana, S., Kumalaningsih, A. Setyowati, U. Efendi dan N. Hidayat, 1991, *Optimalisasi Penambahan Tepung Kulit Nanas dan Proses Fermentasi pada Pakan Ternak terhadap Peningkatan Kualitas Nutrisi*, ARMP (Deptan), Universitas Brawijaya, Malang.