

PEMANFAATAN SUSU KADALUWARSA DENGAN FORTIFIKASI KULIT NANAS UNTUK PRODUKSI BIOETANOL

N. M. Prametha, A. M. Legowo

ABSTRAK: Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi lama waktu fermentasi pada proses pembuatan bioetanol dari susu rusak yang disubstitusi dengan kulit nanas terhadap kadar alkohol, pH dan produksi gas yang dihasilkan. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 5 perlakuan dan 4 ulangan. Perlakuan yang diterapkan yaitu lama fermentasi 12 jam (T_1), 24 jam (T_2), 36 jam (T_3), 48 jam (T_4) dan 60 jam (T_5). Data yang diperoleh dianalisis dengan ANOVA dan dilanjutkan dengan Uji Wilayah Ganda *Duncan*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin lama waktu fermentasi pada bioetanol, maka semakin meningkat kadar alkohol dan produksi gas, sedangkan untuk pH semakin menurun.

Kata kunci : bioetanol, susu rusak, kadar alkohol, pH, produksi gas

PENDAHULUAN

Perkembangan kebutuhan energi di dunia dari tahun ke tahun semakin meningkat seiring bertambahnya jumlah populasi penduduk, berkembangnya teknologi dan pertumbuhan ekonomi di dunia. Akan tetapi kebutuhan energi yang meningkat bertolak belakang dengan ketersediaan bahan bakar fosil yang semakin menipis, harga minyak dunia yang tidak stabil serta berbagai permasalahan terkait dengan lingkungan seperti efek *global warming* dan *climate change* yang ditimbulkan oleh sisa proses pembakaran bahan bakar fosil. Bahan bakar fosil tidak dapat diharapkan secara terus menerus dalam jangka waktu yang lama akan memenuhi kebutuhan energi dikarenakan merupakan sumber daya alam yang tidak dapat diperbaharui. Sebagai contoh Indonesia misalnya, pada tahun 2008 tingkat kebutuhan bahan bakar minyak (BBM) mencapai 1,3 juta barrel per hari. Sedangkan Indonesia hanya mampu memproduksi BBM nasional 900 ribu barrel perhari. Pada tahun 2002 lalu cadangan terbukti minyak bumi sekitar 5 miliar barrel, gas bumi sekitar 90 TSCF, dan batubara sekitar 5 miliar. Apabila tidak ditemukan energi terbaru berdasarkan perkiraan minyak bumi hanya akan bertahan dalam kurun waktu kurang dari 10 tahun lagi, gas bumi 30 tahun, dan batubara akan habis sekitar 50 tahun. Oleh sebab itu, saatnya mengurangi ketergantungan terhadap energi bahan bakar fosil dan mengembangkan sumber energi alternatif baru sebagai pengganti bahan bakar fosil yang mampu mencukupi kebutuhan akan energi di dunia. Salah satunya dengan mengkonversi *biomassa* menjadi bioetanol.

Bioetanol (C_2H_5OH) adalah cairan dari proses fermentasi gula dari sumber karbohidrat menggunakan

bantuan mikroorganisme (Anonim, 2007). Bioetanol dapat dibuat dari bahan berkarbohidrat atau berpati seperti singkong, tebu, nira, sorgum, ubi jalar, ganyong. Salah satu alternatif bahan berkarbohidrat lain yang cukup potensial sebagai bahan baku pembuatan bioetanol adalah susu rusak. Susu rusak meliputi susu yang tidak memenuhi standar kualitas sehingga ditolak oleh koperasi, susu kadaluarsa dan susu basi yang sudah tidak bisa dikonsumsi lagi. Contoh kasusnya pada tahun 2004 di Boyolali, puluhan ribu liter susu yang diproduksi peternak ditolak oleh Gabungan Koperasi Susu Indonesia (GKSI) dengan alasan tidak memenuhi standar kualitas yang ditetapkan oleh IPS. Akhirnya puluhan ribu susu dibuang begitu saja sebagai susu rusak sehingga menjadi limbah. Laktosa adalah jenis karbohidrat utama yang terkandung di dalam susu berkisar 4,8%. Laktosa ini yang nantinya akan dikonversikan menjadi bioetanol oleh *Saccharomyces cerevisiae* melalui proses fermentasi.

Kulit nanas (*Ananas comosus* L. Merr) yang merupakan limbah rumah tangga atau limbah industri pengolahan nanas juga merupakan bahan yang masih mengandung karbohidrat. Dari data statistik, produksi nanas di Indonesia untuk tahun 2009 adalah sebesar 1.558.296 ton dengan nilai konsumsi 16,31 kg/kapita/tahun. Dengan semakin meningkatnya produksi nanas, maka limbah yang dihasilkan akan semakin meningkat pula (Novitasari *et al.*, 2008). Kulit nanas mengandung karbohidrat sekitar 17,53%. Kulit nanas biasanya oleh masyarakat hanya dibuang dan hal itu menjadi permasalahan limbah di alam karena akan meningkatkan keasaman tanah dan mencemarkan lingkungan sehingga harus dimanfaatkan. Salah satu manfaatnya adalah dapat digunakan sebagai penghasil bioetanol. Pencampuran ekstrak kulit nanas ke dalam susu rusak diharapkan semakin banyak karbohidrat yang tersedia sehingga proses fermentasi dapat menghasilkan bioetanol dalam jumlah yang banyak. Selain itu penambahan ekstrak kulit nanas diharapkan dapat mempercepat proses fermentasi karena kandungan gula pada kulit nanas yang terdiri dari fruktosa yang merupakan monosakarida yang

Dikirim 28/12/2012, diterima 30/01/2013. Para penulis adalah dari Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia. Kontak langsung melalui email: N. M. Prametha (novikamilaprametha@yahoo.co.id)

©2013 Indonesian Food Technologist Community
Available online at www.journal.ift.or.id

lebih mudah dimanfaatkan oleh *Saccharomyces cerevisiae*. Bertambah cepatnya proses fermentasi maka proses produksi gas akan terjadi lebih cepat dan penurunan pH pun juga terjadi lebih cepat. Untuk itulah ketiga parameter tersebut yakni kadar alkohol, pH dan juga produksi gas perlu diukur. Proses fermentasi akan dilakukan oleh *Saccharomyces cerevisiae* karena mampu mengubah cairan yang mengandung gula menjadi alkohol dan gas CO₂ secara cepat dan efisien (Sudarmadji *et al.*, 1989).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui berapa banyak bioetanol yang dihasilkan dari proses fermentasi susu rusak yang disubstitusi dengan kulit nenas dan juga untuk mengetahui berapa pH dan produksi gas dalam proses pembuatan bioetanol tersebut berdasarkan lama waktu fermentasi yang berbeda. Manfaat yang didapatkan dari penelitian ini adalah dapat memanfaatkan satu alternatif bahan yang dapat digunakan sebagai penghasil bioetanol berbasis limbah, yaitu susu rusak.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan November-Desember 2011 di Laboratorium Teknologi Hasil Ternak, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang.

Materi

Materi yang digunakan adalah susu segar yang didiamkan dalam suhu kamar selama 6 jam, kulit nenas, aquades, gula, malam, ragi roti komersil dengan merk "Fermipan", kapas, aluminium foil, tissue dan alkohol 70%. Alat yang digunakan adalah *filtering flask* 1500 ml, blender, *magnetic stirrer*, inkubator, *autoclave*, piknometer, gelas ukur, gelas beker, pH meter, selang, nampan, botol, klip, timbangan analitik, bunsen, panci, kompor, pisau, talenan, saringan dan kulkas.

Metode

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 4 ulangan dan respon yang diamati adalah kadar alkohol, pH dan produksi gas pada susu rusak dengan substitusi kulit nenas yang difermentasi dengan *Saccharomyces cerevisiae* dari produk komersial "Fermipan". Adapun perlakuan yang diterapkan yaitu:

- T1= Lama Fermentasi 12 jam,
- T2= Lama Fermentasi 24 jam,
- T3= Lama Fermentasi 36 jam,
- T4= Lama Fermentasi 48 jam,
- T5= Lama Fermentasi 60 jam.

Jumlah substrat untuk tiap-tiap perlakuan adalah sebanyak 1000 ml terdiri dari susu rusak dan kulit nenas dengan perbandingan 1:1. Sedangkan untuk penambahan *starter* adalah sebanyak 10% dari jumlah substrat. Data hasil pengamatan kemudian diolah secara statistik dengan menggunakan analisis sidik ragam pada taraf signifikansi 5%. Apabila terdapat pengaruh nyata maka dilanjutkan dengan Uji Wilayah Ganda *Duncan* (Steel dan Torrie, 1995).

Persiapan substrat

Media yang digunakan oleh *Saccharomyces cerevisiae* untuk pertumbuhan disebut substrat, mengandung nutrisi dan berbentuk cair. Substrat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari susu rusak dan kulit nenas dengan perbandingan 1:1. Susu yang akan digunakan terlebih dahulu diletakkan diruangan bersuhu kamar 27°C selama 6 jam sedangkan kulit nenas dipotong-potong menjadi kecil-kecil, kemudian diblender. Selanjutnya sebelum digunakan substrat dipasteurisasi terlebih dahulu pada suhu 70°C selama 30 menit untuk mematikan mikroba awal. Kemudian substrat yang telah selesai dipasteurisasi dimasukkan ke dalam *filtering flask* dan dicampur sampai homogen. Jumlah substrat yang digunakan adalah 500 ml susu rusak dan 500 gram kulit nenas (Azizah *et al.*, 2012).

Persiapan starter

Starter yang digunakan adalah ragi roti dengan merk "Fermipan". Fermipan diaktifkan dengan cara menyiapkan media pertumbuhan yang berupa larutan gula 10% yang dibuat dari 1000 ml aquades yang ditambahkan dengan 100 gram gula pasir dalam sebuah gelas beker yang kemudian dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* lalu disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit dengan menggunakan *autoclave*. Setelah steril larutan gula 10% yang telah didinginkan terlebih dahulu dengan suhu sekitar 30-33°C ditambahkan fermipan sebanyak 50 gram, selanjutnya diinkubasi pada inkubator pada suhu 30°C selama 8 jam. Indikasi fermipan yang aktif akan menghasilkan gas dengan jumlah yang banyak (Widyastuti, 2009 dimodifikasi).

Inokulasi starter

Setelah selesai diinkubasi selama 8 jam, kemudian *starter* diinokulasikan kedalam substrat dengan kondisi yang aseptis. Jumlah *starter* yang digunakan adalah 10%. Menurut Sari (2010), volume *starter* yang baik untuk melakukan fermentasi adalah 1/10 bagian dari volume substrat. Hal tersebut didasarkan pada volume *starter* yang sedikit maka kecepatan fermentasi kecil, sedangkan pada volume *starter* yang besar maka keaktifan *starter* berkurang karena alkohol yang terbentuk pada awal fermentasi sangat banyak sehingga fermentasi lebih lama dan banyak glukosa yang tidak terfermentasikan.

Proses fermentasi bioetanol

Setelah *starter* dimasukkan kedalam substrat kemudian dilakukan fermentasi selama 60 jam pada ruangan khusus yang suhunya telah diatur agar tetap memenuhi persyaratan optimal pertumbuhan dari *Saccharomyces cerevisiae*. Pengujian terhadap kadar alkohol, pH dan produksi gas dilakukan setiaip 12 jam sekali sesuai perlakuan yang telah ditentukan (Richana, 2011 dimodifikasi).

Metode pengujian kadar alkohol

Metode pengujian kadar alkohol dilakukan dengan menggunakan metode piknometer, piknometer yang

digunakan adalah piknometer 50 ml. Adapun proses pengujian kadar alkohol, yaitu pertama-tama melakukan destilasi, sampel diambil sebanyak 100 ml kemudian ditambahkan dengan aquades sebanyak 100 ml. Proses selanjutnya, campuran tersebut dimasukkan dalam labu alas bulat atau labu destilasi Kjeldahl lalu labu destilasi dipasang pada alat destilasi. Destilasi alkohol dengan cara memanaskan sampel pada suhu 110°C. Destilat hasil destilasi ditampung kedalam elemeyer hingga volume mencapai 70-80 ml (Hasanah, 2008). Destilat yang didapat lalu dimasukkan kedalam piknometer yang sebelumnya telah diketahui beratnya. Piknometer diisi dengan destilat hingga memenuhi pikno kemudian keringkan kelebihan destilat pada puncak pipa kapiler dan permukaan luar piknometer dengan tissue. Piknometer yang berisi destilat ditimbang dan beratnya dicatat. Untuk kontrol, dilakukan prosedur yang sama pada aquades sebagai pembanding. Berat jenis alkohol dihitung dengan mengurangi berat piknometer + destilat dengan berat piknometer kosong lalu dibagi dengan selisih berat piknometer + aquades dan berat piknometer kosong. Dari hasil perhitungan berat jenis alkohol yang diperoleh, dapat diketahui kadar alkohol sebenarnya yang terkandung dengan mengonversikannya menggunakan tabel konversi BJ alkohol.

Metode pengujian pH

Pengukuran pH dilakukan dengan pH meter elektronik. Prinsip pengukuran pH yaitu mengetahui kondisi asam dan basa (Susilorini dan Sawitri, 2007).

Metode pengukuran produksi gas

Metode pengukur produksi gas dilakukan dengan prinsip menghitung penurunan permukaan air yang terdapat di dalam gelas ukur 250 ml selama proses fermentasi berlangsung. Alat untuk mengukur produksi gas yang dihasilkan selama proses fermentasi bioetanol ini adalah suatu rangkaian alat yang terdiri dari *filtering flask* 1500 ml yang dihubungkan pada sebuah gelas ukur 250 ml dengan menggunakan selang dimana gelas ukur tersebut diposisikan terbalik. Adapun prosedurnya pertama-tama gelas ukur tersebut diisi dengan air (dihitung sebagai volume awal). Pada saat proses fermentasi berlangsung akan dihasilkan gas dimana gas akan memberi tekanan sehingga air yang ada di dalam gelas ukur berangsur-angsur akan mengalami penurunan (dihitung sebagai volume akhir). Penurunan volume air tersebut menunjukkan nilai produksi gas yang dihasilkan dengan menghitung selisih antara volume awal dan volume akhir. Produksi gas dinyatakan dalam satuan ml (Datar *et al.*, 2004 dimodifikasi).

Tabel 1. Kadar Alkohol, nilai pH, dan Produksi Gas pada Proses Pembuatan Bioetanol dengan Menggunakan Susu Kadaluwarsa plus Ekstrak Kulit Nanas

Perlakuan	Kadar Alkohol (%)	pH	Produksi Gas (L)
T1	2,09 ^c	4,34 ^a	1,31 ^e
T2	2,75 ^c	4,28 ^{ab}	1,83 ^d
T3	4,08 ^{ab}	4,09 ^{abc}	2,08 ^c
T4	4,66 ^a	3,92 ^{bc}	2,30 ^{ab}
T5	4,25 ^a	3,80 ^c	2,45 ^a

Keterangan: Superskrip huruf kecil yang berbeda pada dalam kolom menunjukkan adanya perbedaan ($P < 0,05$).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian, data rerata nilai Kadar Alkohol, pH, dan Produksi Gas setiap perlakuan disajikan pada Tabel 1.

Kadar Alkohol

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa dengan perlakuan lama fermentasi (12, 24, 36, 48 dan 60 jam) pada proses pembuatan bioetanol dari susu rusak dengan substitusi kulit nanas memberikan pengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap kadar alkohol yang dihasilkan karena semakin lama waktu fermentasi maka semakin meningkat pula kadar alkohol yang dihasilkan. Hal ini disebabkan karena dengan semakin lama waktu fermentasi, khamir *Saccharomyces cerevisiae* akan memiliki waktu yang lebih lama juga untuk memfermentasi gula yang terkandung di dalam susu rusak yang disubstitusi kulit nanas untuk dikonversikan menjadi alkohol. Hal ini sesuai dengan pendapat Febriningrum (2009), bahwa makin lama waktu fermentasi, mikroba akan mengadakan kontak yang lebih lama dengan substrat dan akan mengubah konsentrasi glukosa (substrat) menjadi etanol, sehingga etanol yang dihasilkan lebih tinggi.

Selama waktu fermentasi gula akan dikonversikan menjadi bioetanol oleh khamir *Saccharomyces cerevisiae*. Kandungan gula yang terkandung di dalam susu rusak yaitu jenis laktosa, sedangkan gula yang terkandung di dalam kulit nanas yaitu jenis fruktosa dan sukrosa. Dari hasil pengukuran uji total gula yang dilakukan sebelum proses fermentasi menunjukkan bahwa kandungan gula pada susu rusak dan kulit nanas yang digunakan untuk penelitian ini masing-masing adalah 4,80% dan 12,13%. Gula-gula ini kemudian diubah menjadi bioetanol dengan proses fermentasi oleh khamir *Saccharomyces cerevisiae*. Berubahnya gula-gula ini menjadi bioetanol terjadi karena kinerja enzim zimase dan enzim invertase yang dihasilkan oleh khamir *Saccharomyces cerevisiae*, dimana kinerja dari enzim invertase yaitu menghidrolisis disakarida menjadi monosakarida. Sedangkan enzim zimase melanjutkan mengubah monosakarida menjadi alkohol dan gas CO₂. Pada penelitian ini kandungan laktosa yang terdapat pada susu rusak terlebih dahulu dihidrolisis oleh enzim invertase menjadi glukosa dan galaktosa, setelah itu enzim zimase akan mengonversikan glukosa dan galaktosa tersebut menjadi alkohol dan gas karbondioksida. Sedangkan kandungan gula yang terdapat

pada kulit nanas yaitu fruktosa langsung dikonversikan menjadi alkohol oleh enzim zimase karena merupakan gula-gula sederhana tetapi kandungan sukrosa terlebih dahulu dihidrolisis oleh enzim invertase menjadi glukosa dan fruktosa.

Hal ini sesuai dengan pendapat Retno dan Nuri (2011) yang menyatakan bahwa, fermentasi bioetanol dapat didefinisikan sebagai proses penguraian gula menjadi bioetanol dan karbondioksida yang disebabkan enzim yang dihasilkan oleh massa sel mikroba. Disebutkan oleh Judoamidjojo *et al.* (1992), bahwa bioetanol dihasilkan dari gula yang merupakan hasil aktivitas fermentasi sel khamir. *Saccharomyces cerevisiae* menghasilkan enzim zimase dan invertase. Enzim invertase berfungsi sebagai pemecah disakarida menjadi monosakarida (glukosa dan fruktosa). Enzim zimase selanjutnya mengubah glukosa menjadi bioetanol.

Dalam beberapa penelitian mengatakan bahwa galaktosa tidak dapat dikonversikan menjadi etanol oleh khamir *Saccharomyces cerevisiae*, sehingga hanya glukosa saja yang dirubah menjadi etanol oleh khamir *Saccaromyces cerevisiae* pada proses fermentasi alkohol yang berasal dari laktosa (susu rusak). Hal ini diungkapkan oleh O'leary *et al.* (2004), yang menyatakan bahwa *Saccharomyces cerevisiae* menghidrolisis laktosa menjadi glukosa dan galaktosa. Kemudian glukosa akan dikonversi menjadi etanol sedangkan galaktosa tidak mampu diubah menjadi etanol. Hal yang sama juga diungkapkan oleh Rubio dan Texeira (2005), yang menyatakan bahwa *Saccharomyces cerevisiae* lebih mampu beradaptasi dalam substrat yang mengandung glukosa dari pada galaktosa.

Peningkatan kadar alkohol terjadi pada T_1 sampai dengan T_4 dan mengalami penurunan pada T_5 hal ini disebabkan karena semakin lama waktu fermentasi, khamir *Saccharomyces cerevisiae* juga berkembang biak semakin banyak dan kadar alkohol yang dihasilkan juga semakin meningkat tetapi hal ini berbanding terbalik dengan kandungan gula yang ada di dalam susu rusak dengan substitusi kulit nanas yang semakin menurun sehingga khamir *Saccharomyces cerevisiae* kekurangan makanan dan berakibat kinerja khamir *Saccharomyces cerevisiae* dalam memfermentasi gula juga menurun hal ini mengakibatkan kadar alkohol yang dihasilkan juga mengalami penurunan. Menurut pendapat Admianta (2001), bahwa semakin lama proses fermentasi, dan semakin banyak dosis ragi *Saccharomyces cerevisiae* yang diberikan maka kadar alkohol semakin meningkat. Semakin lama waktu fermentasi maka mikroba berkembang biak dan jumlahnya bertambah sehingga kemampuan untuk memecah glukosa yang ada menjadi alkohol semakin besar. Disebutkan oleh Kunaepah (2008), bahwa 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 Setyawati dan Rahman (2011), waktu fermentasi berpengaruh terhadap hasil karena semakin lama waktu fermentasi akan meningkatkan kadar bioetanol. Namun bila fermentasi terlalu lama nutrisi dalam substrat

akan habis dan khamir *Saccharomyces cerevisiae* tidak lagi dapat memfermentasi bahan. Hal ini dikarenakan jumlah nutrisi yang tersedia tidak sebanding dengan jumlah *Saccharomyces cerevisiae* yang lebih banyak, sehingga *Saccharomyces cerevisiae* kekurangan makanan yang mengakibatkan kinerja *Saccharomyces cerevisiae* menurun dan mengakibatkan kadar bioetanol yang dihasilkan akan menurun juga.

Perubahan nilai pH

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa dengan perlakuan lama fermentasi (12, 24, 36, 48 dan 60 jam) pada proses pembuatan bioetanol dari susu rusak dengan substitusi kulit nanas memberikan pengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap nilai pH bioetanol susu rusak dengan substitusi kulit nanas yang dihasilkan karena semakin lama waktu fermentasi mengakibatkan pH bioetanol semakin menurun. Hal ini disebabkan karena dengan semakin lama waktu fermentasi, semakin meningkat pula kadar alkohol yang didapatkan dan hasil samping (*by product*) yaitu gas CO_2 dari proses fermentasi tersebut. Dimana nilai pH dipengaruhi oleh produk yang dihasilkan selama proses fermentasi. Pada fermentasi susu rusak yang disubstitusikan dengan kulit nanas oleh khamir *Saccharomyces cerevisiae* produk fermentasi yang dihasilkan yaitu alkohol yang bersifat asam sebagai metabolit primer dan gas CO_2 yang juga memiliki sifat asam sehingga sering disebut gas asam (*acid whey*) sebagai matabolit sekunder. Maka ketika waktu fermentasi semakin lama akan semakin banyak alkohol yang terbentuk dan produksi gas CO_2 juga semakin bertambah. Kondisi ini menyebabkan pH bioetanol susu rusak yang disubstitusikan dengan kulit nanas semakin menurun dengan bertambahnya waktu fermentasi. Sesuai dengan pendapat Kartohardjono *et al.* (2007), bahwa gas CO_2 sering disebut gas asam (*acid whey*) karena gas CO_2 memiliki sifat asam. Oleh karena itu gas CO_2 juga berkontribusi terhadap nilai pH. Pada hasil pengujian pH yang dilakukan sebelum proses fermentasi menunjukkan bahwa pH awal pada susu rusak dan kulit nanas yang digunakan untuk penelitian ini masing-masing adalah 5,8 dan 4,2. Menurut Irfandi (2005), pH awal substrat perlu diketahui agar fermentasi dapat berlangsung secara optimal. Roukas (1994), menyatakan bahwa kisaran pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* adalah pada pH 3,5-6,5.

Selain alkohol dan gas CO_2 yang mempengaruhi nilai pH. Pada awal proses glikolisis dan fermentasi setiap satu mol glukosa ($C_6H_{12}O_6$) yang melalui lintasan *Embden Meyerhoff Parnas* (EMP) akan dipecah menjadi dua mol asam piruvat ($CH_3COCOOH$) dan melepaskan dua mol ion H^+ , pelepasan dua mol ion H^+ ini juga mempengaruhi penurunan pH bioetanol yang disubstitusi kulit nanas selama proses fermentasi. Hal ini sesuai dengan pendapat Arnata *et al.* (2008), bahwa asam piruvat merupakan senyawa yang terbentuk selama proses glikolisis pada siklus *Embden Meyerhof Parnas* (EMP). Selama proses glikolisis, setiap satu mol glukosa akan dipecah menjadi dua mol asam piruvat dan melepaskan dua mol ion H^+ . Adanya ion H^+ ini dapat menurunkan pH larutan fermentasi. Disebutkan oleh Maiorella (1993), produk yang dihasilkan dalam fermentasi alkohol selain etanol dengan CO_2 adalah 2,3 butanediol,

gliserol, asam asetat, asam butirat, asam format, asam suksinat, asetaldehid, 1-propanol dan 2-metil butanol.

Produksi Gas

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa dengan perlakuan lama fermentasi (12, 24, 36, 48 dan 60 jam) pada proses pembuatan bioetanol dari susu rusak dengan substitusi kulit nanas memberikan pengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap produksi gas CO_2 pada bioetanol susu rusak dengan substitusi kulit nanas yang dihasilkan karena semakin lama waktu fermentasi mengakibatkan produksi gas CO_2 bioetanol semakin meningkat. Hal ini disebabkan karena pada proses fermentasi glukosa selain alkohol dihasilkan pula produk samping (*by product*) yaitu gas CO_2 , dimana setiap pemecahan satu mol glukosa akan dihasilkan dua mol alkohol dan dua mol gas CO_2 . Proses glikolisis pada siklus *Embden Meyerhof Parnas* dimulai dengan proses pemecahan satu mol glukosa ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$) menjadi dua mol asam piruvat ($\text{CH}_3\text{COCO}_2\text{H}$) dan melepaskan dua mol H^+ , kemudian dua mol asam piruvat akan dikarboksilasi yang menjadi dua mol asetaldehid dan dua mol gas CO_2 sebagai produk samping. Setelah itu dua mol asetaldehid ini oleh alkoholdehidrogenase akan direduksi menjadi dua mol etanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) yaitu menerima elektron hasil oksidasi asam gliseraldehid 3-phosphat. Sehingga pada proses fermentasi ini glukosa akan dirubah menjadi etanol dan gas CO_2 dengan perbandingan 1:1. Dapat dilihat pada Ilustrasi 4. semakin lama waktu fermentasi, produksi alkohol dan gas CO_2 sama-sama semakin meningkat. Menurut Hambali *et al.* (2008), 1 molekul glukosa tersedia maka akan dipecah oleh *Saccharomyces cerevisiae* menjadi 2 molekul alkohol dan 2 molekul gas CO_2 . Gas CO_2 yang dihasilkan memiliki perbandingan stoikiometri yang sama dengan etanol yang dihasilkan yaitu 1:1. Dinyatakan oleh Richana (2011), meskipun secara teori perbandingan antara produksi gas dan produksi alkohol adalah 1:1, namun pada kenyataannya hanya 70-80% gas yang dapat diukur.

Peningkatan kadar alkohol terjadi pada T_1 sampai dengan T_4 dan mengalami penurunan pada T_5 sedangkan produksi gas terus mengalami peningkatan dari T_1 sampai dengan T_5 . Hal ini disebabkan karena pada saat T_4 menuju T_5 , pH dari substrat sudah mengalami penurunan yaitu berkisar antara 3,80-3,92. Penurunan pH ini akan mempengaruhi proses fermentasi menjadi tidak optimal yaitu kerja dari enzim pada saat proses glikolisis siklus *Embden Meyerhof Parnas* (EMP) menjadi lebih lambat, dimana enzim hanya akan mampu mengkonversikan glukosa sampai tahap memproduksi gas CO_2 tetapi tidak sampai menghasilkan alkohol. Pada siklus EMP gas CO_2 akan dihasilkan terlebih dahulu dari pada alkohol (Ilustrasi 1). Kinerja enzim sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungannya, kondisi lingkungan pada saat T_4 menuju T_5 sudah bukan kondisi yang optimum untuk kerja enzim dimana pH optimum untuk fermentasi yaitu berkisar antara 4-4,5. Menurut Budiman dan Setyawan (2006), enzim merupakan suatu protein yang memiliki aktifitas biokimiawi sebagai katalis suatu reaksi. Karena merupakan suatu protein, enzim ini sangat rentan terhadap kondisi lingkungan. Adanya perubahan konsentrasi substrat

atau pH lingkungan akan mengakibatkan aktivitas enzim ikut mengalami perubahan. Karena itu tiap enzim yang mempunyai pH dan temperatur tertentu yang menyebabkan aktifitasnya mencapai keadaan optimum. Kondisi pH dan temperatur yang optimum akan mendukung enzim dalam melakukan katalisa suatu reaksi dengan baik. Sedangkan temperatur dan pH yang kurang sesuai akan mengakibatkan kerusakan atau tidak aktifnya protein dalam suatu enzim sehingga menyebabkan fungsi dan aktifitas dari enzim tersebut berkurang. Disebutkan oleh Utami dan Kindriari (2008), bahwa pH 4,5-5,0 pH merupakan pH optimum untuk fermentasi, pada pH di bawah 3,0 proses fermentasi akan berkurang kecepatannya.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa lama fermentasi berpengaruh terhadap kadar alkohol, pH dan produksi gas pada bioetanol dari susu rusak dengan substitusi kulit nanas. Semakin lama waktu fermentasi pada proses pembuatan bioetanol dari susu rusak yang disubstitusi kulit nanas, maka semakin meningkat kadar alkohol dari jam ke 12 sampai jam ke 48 namun turun pada jam ke 60, untuk pH semakin menurun seiring dengan lama waktu fermentasi sedangkan produksi gas mengalami laju peningkatan selama waktu fermentasi.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Bapak A. N. Al-Baarri, SPT., MP., PhD., yang telah membimbing secara intensif selama penelitian dan penulisan artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Admianta, N. Z. dan Fitriani. 2001. Pengaruh Jumlah Yeast Terhadap Kadar Alkohol Pada Fermentasi Kulit Nanas dengan Menggunakan Fermentor. Teknik Kimia ITN, Malang.
- Arnata, W. I., Setyaningsih, D. dan N. Richana. 2008. Produksi Bioetanol dari Ubi Kayu Melalui Proses Sakarifikasi Fermentasi Simultan Menggunakan Kultur Campuran *Trichoderma viride*, *Aspergillus niger* dan *Saccharomyces cerevisiae*. Jakarta.
- Anonim. 2007. Apa itu Bioetanol ?. <http://www.nusantara-agro-industri.com>. Diakses tanggal 20 April 2009.
- Azizah, N., Al-Baarri, A. N., dan S. Mulyani. 2012. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kadar Alkohol, pH dan Produksi Gas Pada Proses Fermentasi Bioetanol dari Whey dengan Substitusi Kulit Nanas. Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan. 1 (2) : 72-77.
- Budiman, A. dan S. Setyawan. 2006. Pengaruh Konsentrasi Substrat, Lama Inkubasi dan pH dalam Proses Isolasi Enzim Xylanase dengan Menggunakan Media Jerami Padi. Universitas Diponegoro, Semarang. (Makalah Penelitian).
- Datar, R. P., R. M. Shenkman, B. G. Cateni, R. L. Huhnke, R. S. Lewis. 2004. Fermentation of Biomass-Generated Producer Gas to Ethanol. Biotechnology and Bioengineering. 86 (5) : 587-594.

- Febriningrum, P. N. 2009. Produksi Etanol Proses Sinambung Dengan *Schizosaccharomyces Pombe*. Jurnal Rekayasa kimia dan Lingkungan. 7 (2) : 64-69.
- Hambali, Eliza, S. M., Armansyah H. T., Abdul. W. P. dan R. Hendroko. 2008. Teknologi Bioenergi. Agromedia, Jakarta.
- Hasanah, H. 2008. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kadar Alkohol Tape Ketan Hitam (*Oryza sativa* L var forma *glutinosa*) dan Tape Singkong (*Manihot utilissima* Pohl). Universitas Islam Negeri, Malang. (Skripsi).
- Irfandi. 2005. Karakteristik Morfologi Lima Populasi Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.). Institut Pertanian Bogor, Bogor. (Skripsi).
- Judoamidjojo, M., A. A. Darwis, dan E. G. Sa'id. 1992. Teknologi Fermentasi. Edisi 1. Rajawali Press, Jakarta.
- Kunaepah, U. 2008. Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Glukosa Terhadap Aktivitas Antibakteri, Polifenol Total dan Mutu Kimia Kefir Susu Kacang Merah. Universitas Diponegoro, Semarang. (Tesis).
- Maiorella, B. L. 1986. Ethanol. Comprehen Sive Biotechnology. Pergamon Press, III, 862-909.
- Novitasari, E. W., E. Rosaliana, I. Susanti dan N. E. Jayanti. 2008. Pembuatan Bioetanol dari Kulit Nanas. (<http://bioindustri.blogspot.com/>). Diakses tanggal 25 November 2011.
- O'Leary V. S., R. Green, B. C. Sullivan and V. H. Holsinger. 2004. Alcohol Production by Selected Yeast Strains in Lactase-Hydrolyzed Acid Whey. Biotechnol Bioeng. 19 (10) : 19-35.
- Retno, D. T. dan W. Nuri. 2011. Pembuatan Bioetanol dari Kulit Pisang. Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan" ISSN 1693-4393 Pengembangan Teknologi Kimia Untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia. UPN Veteran, Yogyakarta.
- Richana, N. 2011. Bioetanol: Bahan Baku, Teknologi, Produksi dan Pengendalian Mutu. Penerbit Nuansa, Bandung.
- Roukas T. 1994. Continuous Ethanol Productions from Carob Pod Extract by Immobilized *Saccharomyces cerevisiae* in a Packed Bed Reactor. J. Chem Technol Biotechnol. 59: 387-393.
- Rubio, D. dan M. A. Texeira. 2005. Comparative Analisis of the Gal Genetic Switch between Not-So-Distant Cousins: *Saccharomyces cerevisiae* versus *Kluyveromyces lactis*. FEMS Yeast Res. 5 : 1115-1128.
- Sari, I. K. 2009. Pembuatan Bioetanol dari Rumput Gajah dengan Distilasi Batch. Jurnal Teknik Kimia. 8 (3) : 93-103.
- Setyawati, H. dan Rahman N. A. 2011. Bioetanol dari Kulit Nanas dengan Variasi Massa *Saccharomyces Cereviceae* dan Waktu Fermentasi. Berkala Ilmiah Teknik Kimia Vol. 1 (1). Institut Teknologi Nasional Malang, Malang.
- Steel, R. G. D. dan J. H. Torrie. 1995. Prinsip dan Prosedur Statistika Suatu Pendekatan Biometrik. Cetakan ke 4. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta. (Diterjemahkan oleh B. Sumantri).
- Sudarmadji, S., Haryono B., dan Suhardi. 1989. Mikrobiologi Pangan. PAU Pangan dan Gizi Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
- Susilorini, T. E. dan M. E. Sawitri. 2007. Produk Olahan Susu. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Utami, I. dan Kindriari. 2008. Pembuatan Etanol dari Biji Kapas dengan Proses Hidrolisa dan Fermentasi. Jurnal Penelitian Ilmu Teknik. 8 (2): 129-138.
- Widyastuti. 2009. Pembuatan Bioetanol dari Limbah Buah Pisang (*Musaceae*) dengan Proses Hidrólisis dan Fermentasi. Jurnal Kimia dan Teknologi ISSN 0216-163 X. Universitas Setia Budi, Surakarta.