

PENGARUH pH, KADAR GULA, BERAT DAN WAKTU INKUBASI SEL RAGI IMOBIL TERHADAP EFISIENSI FERMENTASI LIMBAH NENAS MENJADI BIOETANOL

*ERFANUR ADLHANI¹, NOER KOMARI², ABDULLAH²

¹Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Politeknik Negeri Tanah Laut, Jl. A. Yani, Km 6 ,
Ds. Panggung, kec. Pelaihari, kab Tanah Laut, Kalimantan Selatan

²Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Jurusan Kimia, Universitas
Lambung Mangkurat, Jl. Jend. A. Yani Km. 35,800 Banjarbaru, Kalimantan Selatan

Naskah diterima : 4 Oktober 2014; Naskah disetujui : 24 November 2014

ABSTRAK

Etanol merupakan produk industri kimia yang kebutuhannya diperkirakan akan semakin meningkat pada masa mendatang. Bioetanol adalah etanol yang dihasilkan melalui proses fermentasi gula dari sumber karbohidrat menggunakan bantuan mikroorganisme. Salah satu sumber karbohidrat yang potensial adalah limbah nenas. Penelitian ini ingin mengetahui penggunaan limbah nenas untuk memproduksi bioetanol menggunakan sel ragi imobil. Sel ragi imobil telah terbukti dapat meningkatkan kadar bioetanol. Metode imobilisasi yang digunakan adalah entrapment (penjeratan) dalam matriks agar-agar. Beberapa parameter yang diteliti adalah pH, kadar gula dalam limbah nenas, perbandingan berat limbah nenas dan sel ragi, waktu inkubasi serta uji stabilitas sel ragi imobil. Hasil penelitian menunjukkan pH optimum sel ragi imobil berada pada pH = 6, kadar gula optimum 24,4 g (dalam 200 g limbah nenas), perbandingan berat optimum limbah nenas terhadap sel ragi 1 : 0,5, waktu inkubasi 3 hari dan sel ragi imobil tidak mengalami penurunan aktivitas yang berarti setelah penggunaan sebanyak 3 kali secara berkesinambungan dengan nilai efisiensi fermentasi sebesar 38,48% (b/b). Dalam penelitian ini dilakukan juga proses fermentasi limbah nenas dengan sel ragi tanpa diimobilisasi sebagai pembanding, dan hasil yang diperoleh menunjukkan pH optimum sel ragi berada pada pH = 5, kadar gula optimum 24,4 g (dalam 200 g limbah nenas), perbandingan berat optimum limbah nenas terhadap sel ragi 1 : 0,5, dan waktu inkubasi optimum 3 hari dengan nilai efisiensi fermentasi sebesar 37,79% (b/b).

Kata kunci: bioetanol, sel ragi imobil, limbah nenas

PENDAHULUAN

Etanol mempunyai kegunaan yang penting dalam industri minuman, bahan kimia, industri farmasi, dan juga sebagai bahan bakar bebas polusi (Maemunah *et al.*, 2005). Etanol sebagian besar terbuat dari petroleum (Volk & Wheeler, 1990) dan dari sintesis gas etilena (Johannesen, 1991). Akan tetapi semakin berkurangnya ketersediaan yang mengakibatkan semakin meningkatnya harga petroleum, perhatian mulai teralihkan pada bahan mentah yang dapat diperbaharui untuk dijadikan bahan dasar dalam pembuatan etanol (Caylak & Vardar-Sukan, 1998). Seiring dengan hal tersebut, kemudian mulai berkembang istilah bioetanol. Bioetanol adalah etanol yang diproduksi dari tumbuhan.

*Korespondensi :
Telepon/nomor faks : 0512-21537
Email : adlhani@politala.ac.id

Bioetanol dapat diproduksi dari bahan mentah seperti tebu, jagung, singkong, ubi, dan sagu (Indartono, 2005).

Salah satu bahan mentah yang menjanjikan untuk produksi etanol adalah limbah nenas. Abdullah dan Mat (2001) menyatakan limbah nenas sangat potensial digunakan sebagai sumber karbon pada fermentasi asam organik karena mengandung gula. Bankoffi dan Han (1990) melaporkan bahwa komposisi gula dalam limbah nenas terdiri atas 5,2% sukrosa, 3,1% glukosa dan 3,4% fruktosa. Namun selama ini di Indonesia, khususnya pada industri rumah tangga yang berbahan dasar buah nenas, limbah nenas hanya dibuang begitu saja tanpa dilakukan pengolahan lebih lanjut. Dalam produksi etanol secara fermentasi, sel ragi ditambahkan dalam limbah nenas dan akan menyebabkan pengkhamiran, yaitu perubahan gula menjadi etanol (Gembong, 2001). Ragi yang umum digunakan adalah *Saccharomyces cerevisiae* yang berperan dalam produksi minuman beralkohol seperti bir dan anggur dan juga digunakan untuk fermentasi adonan dalam perusahaan roti (Buckle *et al.*, 1985).

Ragi yang digunakan dalam produksi etanol secara fermentasi biasanya dalam bentuk kultur ragi bebas. Metode ini dinilai kurang efektif dan efisien karena membutuhkan waktu inkubasi relatif lama dengan prosentase etanol yang rendah. Metode baru yang diharapkan dapat lebih efektif dan efisien adalah teknik imobilisasi mikroba. Harapan ini didasarkan pada sifat dan karakter mikroba terimobilisasi, yakni dapat digunakan berulang kali tanpa mengalami penurunan aktivitas yang berarti dan tahan terhadap kadar alkohol yang tinggi. Teknik imobilisasi yang digunakan adalah metode penjeratan (*entrapment*) (Mappiratu *et al.*, 1994).

Kemampuan mikroorganisme dalam melakukan fermentasi etanol dipengaruhi oleh berbagai faktor yang berhubungan dengan pertumbuhannya, antara lain suplai zat gizi, waktu, suhu, nilai pH, aktivitas air, dan ketersediaan oksigen (Buckle *et al.*, 1985). Mappiratu *et al.* (1994) melaporkan, produksi etanol dari limbah pabrik gula tebu (*molase*) menggunakan sel ragi yang diimobilkan dalam matriks alginat dengan kadar etanol tertinggi diperoleh pada pH optimum 4,7, waktu inkubasi optimum 6 jam, perbandingan sel ragi imobil dan substrat *molase* 2,5 : 1,0 dan sel ragi imobil tidak mengalami penurunan aktivitas yang berarti setelah pemakaian secara berkesinambungan sebanyak 8 kali.

Sehubungan dengan uraian di atas, maka perlu dilakukan penelitian mengenai produksi etanol dari limbah nenas menggunakan sel ragi imobil dengan mengkaji faktor-faktor seperti pH, kadar gula dalam sampel, waktu inkubasi, banyaknya penggunaan sel

ragi imobil serta kemampuan sel ragi imobil untuk digunakan secara berulang dalam proses fermentasi.

BAHAN DAN METODE

Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan berupa limbah nenas dari nenas Cayene yang berasal dari daerah Barito Kuala yang banyak dijual di pasar Banjarbaru. Sebelum digunakan, limbah nenas dicuci bersih dengan air, kemudian dihaluskan dengan blender hingga berbentuk seperti bubuk. Limbah nenas yang mengandung gula ini siap untuk difermentasi oleh ragi.

Preparasi Ragi

Ragi instan diperoleh di pasar Banjarbaru. Sebelum digunakan, ragi ini dihaluskan terlebih dahulu menggunakan lumpang porselin.

Pembuatan Sel Ragi Imobil

Sebanyak 0,36 g agar-agar dimasukkan dalam 18 mL larutan NaCl 0,9% (b/v) untuk menghasilkan konsentrasi akhir 2% (b/v). Campuran kemudian disterilkan dalam autoclave pada suhu 121⁰C selama 10 – 15 menit. Setelah suhu campuran mencapai 40⁰C ditambahkan 0,03 g ragi roti suhu diatur konstan pada 40⁰C. Campuran diaduk perlahan beberapa detik agar tidak terbentuk buih, dituang dalam cawan petri datar dan steril berdiameter 4 inci dan dibiarkan mengeras (membentuk gel). Balok agar yang mengeras kemudian dipotong sekecil-kecilnya, dimasukkan dalam buffer fosfat pH = 7,0 dan disimpan dalam lemari pendingin selama 1 jam. Setelah 1 jam, buffer fosfat didekantir dan sel ragi imobil yang terbentuk dicuci dengan akuades 3 sampai 4 kali (Adinarayana *et al.*, 2005).

Penentuan pH Optimum

Sebanyak 250 g substrat dan 250 g sel ragi imobil dicampurkan dalam labu Erlenmeyer dan ditentukan pH awalnya. Kemudian dilakukan variasi pH masing-masing 4 ; 5 ; 6 dan 7 yang diatur dengan menambahkan HCl 1 M atau NaOH 1 M dan diukur dengan pH meter. Setelah itu difermentasi dengan waktu inkubasi 3 hari. Setelah waktu inkubasi tercapai, disaring dan kemudian dilakukan distilasi pada kisaran suhu 78–100⁰C. Distilat yang dihasilkan ditentukan kadar bioetanolnya. Kisaran pH optimum ditentukan dari kadar bioetanol tertinggi (Mappiratu *et al.*, 1994). Sebagai pembanding, penentuan pH optimum juga dilakukan terhadap sel ragi tanpa diimobilisasi.

Penentuan Kadar Gula Optimum dalam Limbah Nenas

Sebanyak 200, 250 dan 300 g limbah nenas masing-masing ditentukan kadar gulanya. Kemudian dilakukan fermentasi dengan waktu inkubasi 3 hari, perbandingan sel ragi imobil dan limbah nenas 1 : 1 dengan pH optimum. Setelah waktu inkubasi tercapai dilakukan penyaringan, cairan didistilasi dan dianalisis kadar bioetanolnya. Kadar gula optimum ditentukan berdasarkan nilai efisiensi fermentasi tertinggi yaitu banyaknya mol gula yang diubah menjadi bioetanol (Mappiratu *et al.*, 1994). Sebagai pembanding, penentuan kadar gula optimum juga dilakukan terhadap sel ragi tanpa diimobilisasi.

Penentuan Berat Optimum Sel Ragi Imobil terhadap Limbah Nenas

Pengaruh berat sel ragi imobil terhadap limbah nenas ditentukan dengan menggunakan variasi perbandingan berat sebagai berikut:

A = sel ragi imobil dan limbah nenas ; 0,5 : 1,0

B = sel ragi imobil dan limbah nenas ; 1,0 : 1,0

C = sel ragi imobil dan limbah nenas ; 1,5 : 1,0

Fermentasi dilakukan dengan waktu inkubasi 3 hari, pH dan kadar gula optimum. Setelah waktu inkubasi tercapai, dilakukan penyaringan, cairan didistilasi dan ditentukan kadar bioetanolnya (Mappiratu *et al.*, 1994). Sebagai pembanding, penentuan perbandingan berat optimum sel ragi imobil terhadap limbah nenas juga dilakukan terhadap sel ragi tanpa diimobilisasi.

Penentuan Waktu Inkubasi Optimum

Penentuan pengaruh lamanya waktu inkubasi pada proses fermentasi dilakukan dengan melakukan variasi waktu masing-masing 3, 4 dan 5 hari dengan pH, kadar gula dan perbandingan berat sel ragi imobil dengan limbah nenas optimum. Setelah waktu inkubasi tercapai, dilakukan penyaringan, cairan didistilasi dan ditentukan kadar bioetanolnya (Mappiratu *et al.*, 1994). Sebagai pembanding, penentuan waktu inkubasi optimum juga dilakukan terhadap sel ragi tanpa diimobilisasi.

Uji Stabilitas Sel Ragi Imobil

Pada uji stabilitas, sel ragi imobil dan limbah nenas yang difermentasikan pada semua kondisi optimum dipisahkan dengan melarutkan dalam akuades kemudian didekantir. Sel ragi imobil dibilas dengan akuades dan difermentasikan kembali dengan limbah nenas yang baru. Penggunaan berulang ini dilakukan sebanyak 3 kali secara

berkesinambungan. Cairan hasil fermentasi didistilasi kemudian dianalisis kadar bioetanol dan dilakukan perhitungan efisiensi fermentasinya (Mappiratu *et al.*, 1994).

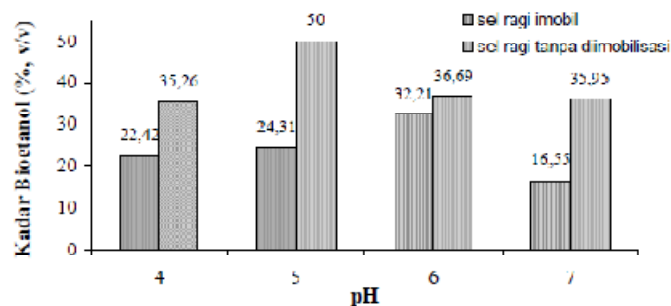
Pengolahan Data

Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel, grafik dan diagram batang. Penentuan kadar gula dilakukan menggunakan metode *Luff Schoorl* (SII 2454 – 90). Penentuan kadar bioetanol dengan metode *Specific gravity*, kadar bioetanol berdasarkan *Specific gravity* kemudian didapatkan dari Tabel Referensi AOAC (Williams, 1984). Penentuan efisiensi fermentasi menggunakan perhitungan efisiensi fermentasi (Caylak & Vardar-Sukan, 1998).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penentuan pH optimum

Penentuan pH optimum menggunakan variasi pH = 4, 5, 6 dan 7 dengan sel ragi imobil dan sel ragi tanpa diimobilisasi.



Gambar 1. Diagram Batang Hubungan Kadar Bioetanol terhadap pH

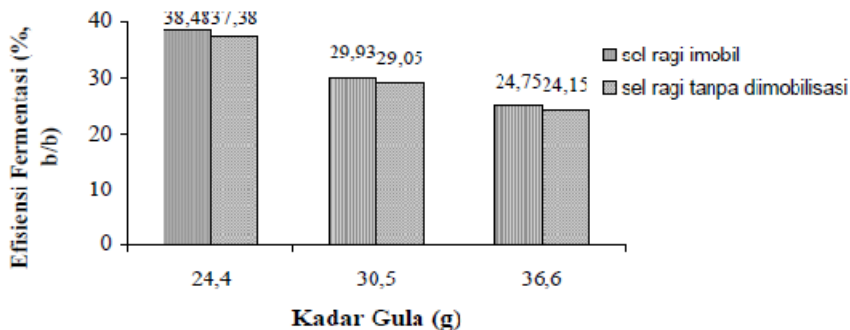
Menurut Susiana *et al.* (2005), semakin tinggi pH maka kadar alkohol yang dihasilkan akan semakin tinggi. Pada pH yang rendah fermentasi akan berlangsung lambat, karena pH rendah membatasi kemampuan berkembangbiak mikroorganismenya, sehingga alkohol yang dapat terbentuk pun lebih sedikit. Kisaran pH optimum pertumbuhan khamir berada pada range pH = 3,0 – 6,0.

Dari Gambar 1. terlihat bahwa kadar bioetanol tertinggi untuk sel ragi imobil terdapat pada pH = 6 dan untuk sel ragi tanpa diimobilisasi pada pH = 5. Mappiratu *et al.* (1994) melaporkan bahwa pH optimum sel ragi imobil menggunakan kultur murni, yang diimobilkan pada matriks alginat, yang difermentasikan pada medium molase adalah pH = 4,7.

Penentuan Kadar Gula Optimum dalam Limbah Nenas

Penentuan kadar gula optimum dilakukan berdasarkan perbedaan banyaknya limbah nenas yang digunakan untuk fermentasi, meliputi 3 variasi limbah nenas yaitu 200 g, 250 g dan 300 g. Dengan penentuan kadar gula menggunakan metode Luff Schoorl, diperoleh hasil bahwa dalam 5 g limbah nenas terdapat gula dengan kadar 12,2% (b/b). Berdasarkan nilai tersebut kemudian dapat dilakukan perhitungan untuk menentukan kadar gula dalam 200 g, 250 g dan 300 g limbah nenas yaitu secara berurutan 24,4 g, 30,5 g, dan 36,6 g. Masing-masing limbah nenas ini kemudian difermentasikan dengan sel ragi imobil dan sel ragi tanpa diimobilisasi pada perbandingan 1 : 1.

Menurut Mappiratu *et al.* (1994), kondisi fermentasi terbaik pada hakekatnya tidak ditentukan oleh tingginya kadar alkohol yang terbentuk, akan tetapi ditentukan oleh efisiensi fermentasi, yakni banyaknya mol gula yang diubah menjadi alkohol. Semakin tinggi efisiensi fermentasi, semakin efektif kerja mikroba dalam mengubah substrat menjadi produk fermentasi. Untuk itu kemudian dilakukan perhitungan efisiensi fermentasi dengan menggunakan persamaan perhitungan efisiensi fermentasi (Caylak & Vardar-Sukan, 1998).



Gambar 2. Diagram Batang Hubungan Efisiensi Fermentasi dengan Kadar Gula

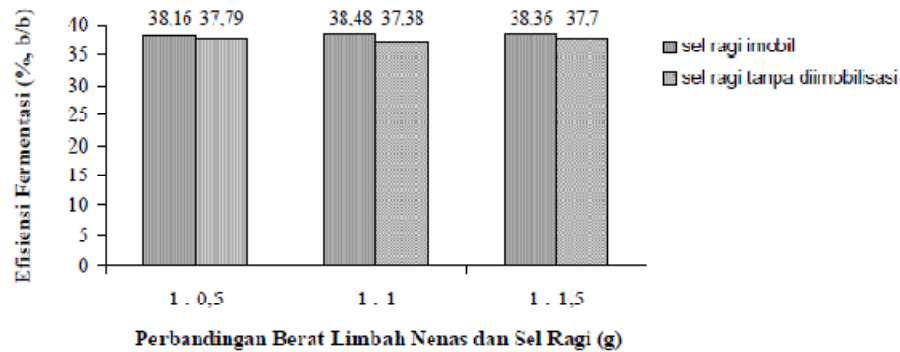
Gambar 2. menunjukkan bahwa efisiensi fermentasi cenderung menurun dengan meningkatnya kadar gula. Efisiensi tertinggi untuk sel ragi imobil dan sel ragi tanpa diimobilisasi sama-sama terdapat pada limbah nenas paling sedikit yaitu 200 g dengan kadar gula 24,4 g. Dapat diasumsikan bahwa sel ragi tidak dapat berkembang dengan baik pada kadar gula yang terlalu tinggi.

Hal ini sesuai dengan pernyataan Buckle *et al.* (1985) bahwa larutan gula dan garam yang pekat dapat menyebabkan sel mikroorganisme kekurangan air dan mati. Larutan gula atau garam yang terlalu pekat mengakibatkan tekanan osmotik pada sel mikroorganisme. Dengan menyerap air ke luar dari dalam sel akan menyebabkan sel

kekurangan air dan mati. Air berperan dalam reaksi metabolik sel mikroorganisme dan merupakan alat pengangkut zat-zat gizi atau bahan limbah ke dalam dan ke luar sel.

Penentuan Berat Optimum Sel Ragi Imobil terhadap Limbah Nenas

Penentuan berat optimum sel ragi dengan limbah nenas dilakukan menggunakan 3 variasi perbandingan berat antara limbah nenas dan sel ragi, yaitu 1 : 0,5 ; 1 : 1 dan 1 : 1,5.

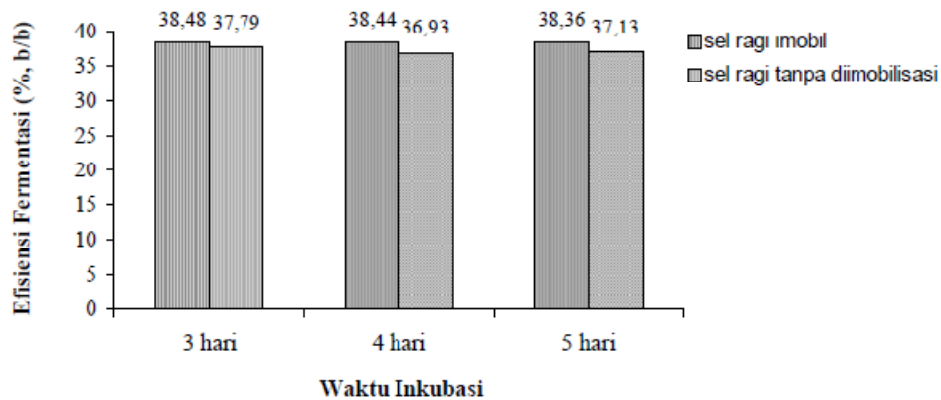


Gambar 3. Diagram Batang Hubungan Efisiensi Fermentasi dengan Perbandingan Berat Limbah Nenas dan Sel Ragi

Fardiaz (1989) dalam Kusumaningrum (2004) menyatakan bahwa jumlah ragi mempengaruhi persaingan dalam mendapatkan nutrisi yang digunakan untuk metabolisme sel. Menurut Page (1997), laju reaksi akan meningkat secara linear dengan bertambahnya konsentrasi enzim, selama konsentrasi enzim jauh lebih sedikit daripada konsentrasi substrat. Berdasarkan pernyataan tersebut, maka perbandingan berat optimum limbah nenas dan sel ragi untuk sel ragi imobil dan sel ragi tanpa diimobilisasi adalah 1 : 0,5.

Penentuan Waktu Inkubasi Optimum

Penentuan waktu inkubasi optimum menggunakan 3 variasi waktu yaitu 3 hari, 4 hari dan 5 hari. Gambar 4. menunjukkan waktu inkubasi optimum untuk sel ragi imobil dan sel ragi tanpa diimobilisasi adalah 3 hari.

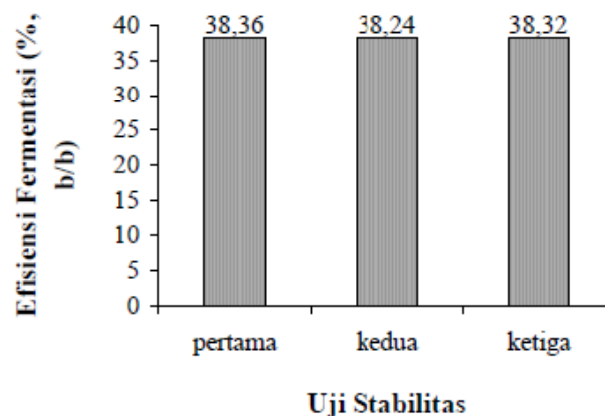


Gambar 4. Diagram Batang Hubungan Efisiensi Fermentasi dengan Waktu Inkubasi

Hal ini diduga, setelah 3 hari mikroba mengalami fase pertumbuhan tetap, dimana pada fase ini kecepatan pertumbuhan menurun dan pertumbuhan akhirnya terhenti. Hal ini terjadi karena habisnya kandungan nutrisi dalam limbah nenas. Habisnya nutrisi kemungkinan karena adanya kompetisi antara enzim dalam ragi dengan enzim *bromelain* dalam limbah nenas dan enzim *proteolitik* yang juga memerlukan nutrisi untuk memecah protein dan komponen nitrogen lainnya. Selain itu juga ada kemungkinan terdapatnya mikroba *lipolitik* yang menghidrolisa lemak, fosfolipid dan turunannya.

Uji Stabilitas Sel Ragi Imobil

Dalam uji stabilitas, sel ragi imobil digunakan secara berulang untuk mengetahui tingkat penurunan aktivitasnya. Uji stabilitas dilakukan 3 kali, setiap selesai fermentasi sel ragi imobil dipisahkan dari limbah nenas dan dicuci dengan akuades kemudian difermentasikan kembali dengan limbah nenas yang baru. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa sel ragi imobil tidak mengalami penurunan aktivitas yang berarti setelah digunakan 3 kali secara berkesinambungan.



Gambar 5. Diagram Batang Hubungan Efisiensi Fermentasi dengan Uji Stabilita

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah. & H. Mat. 2001. Daur Ulang Limbah Nanas Menggunakan *Lactobacillus delbrueckii* menjadi Asam Laktat, abstr. Dalam *Jurnal Reaktor*, Vol. 5, No.2, hal:79-83.
- Adinarayana, K., B. Jyothi, & P. Ellaiah. 2005. Productions of Alkaline Protease With Immobilized Cells of *Bacillus subtilis* PE-11 in Various Matrices by Entrapment Technique. *AAPS PharmSciTech*, 6(3). Article 48. Ban-Koffi, L. & Y.W. Han. 1990. Alcohol Production from Pineapple Waste, abstr. In: *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 6 : 281-284.
- Ban-Koffi, L. & Y.W. Han. 1990. Alcohol Production from Pineapple Waste, abstr. In: *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 6 : 281-284.
- Buckle, K.A., R.A. Edwards, G.H. Fleet, & M. Wooton. 1985. *Ilmu Pangan*. Terjemahan Hari Purnomo & Adiono. UI-Press, Jakarta. Caylak, B. & F. Vardar-Sukan. 1998. Comparison of Different Production Processes for Bioethanol. *Turk.J.Chem.* 22 : 351-359.
- Caylak, B. & F. Vardar-Sukan. 1998. Comparison of Different Production Processes for Bioethanol. *Turk.J.Chem.* 22 : 351-359.
- Gembong, T. 2001. *Taksonomi Tumbuhan*. UGM-Press, Yogyakarta. Indartono, Y.S. 2005. Krisis Energi di Indonesia : Mengapa dan Harus Bagaimana. *Inovasi*. Vol.5, XVII.
- Indartono, Y.S. 2005. Krisis Energi di Indonesia : Mengapa dan Harus Bagaimana. *Inovasi*. Vol.5, XVII.
- Johannesen, R. 1991. *Alcohol Production From Biomass*. Energy Efficiency & Environmental News, Florida Cooperative Extension Service, Gainesville.
- Kusumaningrum, E.V. 2004. Pembuatan Minuman Soygurt dari Sari Tempe dengan Menggunakan Bakteri *Lactobacillus plantarum*. *Jurnal Matematika, Sains dan Teknologi*. 5(1) : 64-75. Maemunah, S., T.A. Priatna, & A.A. Sjamsuriputra. 2005. Aplikasi Enzim Selulase Dari *Trichoderma reesei* QM 9414 Untuk Peningkatan Produksi Etanol dari Singkong melalui Proses Sakarifikasi Fermentasi Simultan. *Jurnal JTKI*, Vol.4, No.2, Hal:1-10.
- Maemunah, S., T.A. Priatna, & A.A. Sjamsuriputra. 2005. Aplikasi Enzim Selulase Dari *Trichoderma reesei* QM 9414 Untuk Peningkatan Produksi Etanol dari Singkong melalui Proses Sakarifikasi Fermentasi Simultan. *Jurnal JTKI*, Vol.4, No.2, Hal:1-10.
- Mappiratu., Murhadi, & N. Alam. 1994. Penerapan Sel Ragi Amobil Untuk Memproduksi Alkohol dari Limbah Pabrik Gula Tebu. *Jurnal Agroland*, No.4, Th.1, hal:13-17. Page, D.S. 1997. *Prinsip-prinsip Biokimia*. Edisi Kedua. Alih Bahasa R. Soendoro. Erlangga. Jakarta. hal 122-123.

- Page, D.S. 1997. *Prinsip-prinsip Biokimia*. Edisi Kedua. Alih Bahasa R. Soendoro. Erlangga. Jakarta. hal 122-123.
- SII. 2454 – 90, Cara Uji Makanan dan Minuman (Cara Uji Gula). hal 1-8.
- Susiana, P., N. Rossana, I. Susanti, & J.R. Witono. 2005. Pengaruh Temperatur, pH dan Kadar Inokulum serta Penentuan Kondisi Optimum Fermentasi Alkohol Untuk Mendapatkan “Cider” Sari Hati Buah Nanas. Presentasi ORAL 2005, SRKP. Volk, W.A & M.F. Wheeler. 1990. *Mikrobiologi Dasar*. Jilid 2. Edisi kelima. Terjemahan Soenartono Adisoemarto. Erlangga, Jakarta. hal 309.
- Volk, W.A & M.F. Wheeler. 1990. *Mikrobiologi Dasar*. Jilid 2. Edisi kelima. Terjemahan Soenartono Adisoemarto. Erlangga, Jakarta. hal 309.
- Williams, S. 1984. *Official Methods of Analysis*. 4th ed. Association of Official Analytical Chemists Inc, USA.