

## I. TINJAUAN PUSTAKA

### A. Limbah Nanas

Masyarakat Indonesia mengkonsumsi nanas hanya 53%, dan sisanya masih dibuang sebagai limbah. Menurut Mulyohardjo (1984), bagian kulit buah nanas masih mengandung daging yang bisa dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan Bioetanol. Saat ini banyak industri yang memanfaatkan limbah untuk pembuatan produk baru yang bermanfaat bagi makhluk hidup lainnya seperti kulit buah nanas yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan bioetanol, dimana dengan memanfaatkan kulit buah nanas dapat mengurangi pencemaran terhadap lingkungan (Harahap, 2014).

Pembuatan etanol diperlukan bahan baku dengan kadar gula yang cukup tinggi. Kulit buah nanas diketahui cukup banyak mengandung gula, sehingga bisa digunakan sebagai bahan baku dalam pembuatan bioetanol. Menurut Harahap, (2014) kandungan gizi kulit buah nanas dapat dilihat pada Tabel 1 dan hasil analisis proksimat kulit buah nanas berdasarkan berat basah dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 1. Kandungan Gizi Kulit Buah Nanas

Kandungan gizi	Jumlah (%)
Karbohidrat	17,53
Protein	4,41
Gula reduksi	13,65
Kadar air	81,72
Serat kasar	20,87

(Sumber: Harahap, 2014)

Tabel 2. Hasil Analisis Proksimat Kulit Buah Nanas Berdasarkan Berat Basah

Komposisi	Rata-rata (%bb)
Air	86,70
Protein	0,69
Lemak	0,02
Abu	0,48
Serat basah	1,66
Karbohidrat	10,54

(Sumber: Harahap, 2014).

Berdasarkan data dari tabel 2, komponen terbesar dalam kulit nanas adalah air (86,7%) dan karbohidrat (10,54%). Karbohidrat terbagi menjadi tiga yaitu : monosakarida (glukosa dan fruktosa), disakarida (sukrosa, maltosa dan laktosa) dan polisakarida (amilum, glikogen dan selulosa). Menurut Harahap (2014) kandungan gula reduksi pada filtrat kulit nanas sebesar 11,40 %. Mengingat kandungan gula yang cukup tinggi tersebut maka kulit nanas memungkinkan untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan bioetanol melalui proses fermentasi.

Kulit nanas adalah bahan organik yang mengandung karbohidrat yang dapat dijadikan alternatif bahan pembuat bioetanol. Karbohidrat ini perlu difermentasi sehingga menjadi glukosa dan ini bisa dilakukan oleh jamur atau bakteri. Pada tabel 3 kandungan gizi yang terdapat pada kulit nanas paling besar adalah kandungan vitamin A yaitu 130,00 (SI) kandungan karbohidrat 16,00 (g) dan kandungan air yang cukup tinggi yaitu 85,30 (g), Kalori 52,00 (kal), Protein 0,40 (g), Lemak 0,20 (g). Selebihnya adalah bagian yang bias dimakan yaitu daging buah 53 (%). Kandungan gizi kulit nanas disajikan pada tabel 3.

Tabel 3. Kandungan Gizi kulit buah nanas

Kandungan Gizi	Jumlah
Kalori (kal)	52,00
Protein (g)	0,40
Lemak (g)	0,20
Karbohidrat (g)	16,00
Fosfor (mg)	11,00
Zat Besi (mg)	0,30
Vitamin A (SI)	130,00
Vitamin B1 (mg)	0,08
Vitamin C(mg)	24,00
Air (g)	85,30
Bagian dapat dimakan (%)	53,00

(Sumber: Buletin Teknopro Hortikultura Edisi 71, Juli 2014)

## B. Fermentasi Bioetanol

Bioetanol adalah proses fermentasi gula dari sumber karbohidrat dengan menggunakan bantuan mikroorganisme dilanjutkan dengan proses destilasi. Sebagai bahan baku digunakan tanaman yang mengandung pati, lignoselulosa dan sukrosa. Dalam perkembangannya produksi bioetanol yang paling banyak digunakan adalah metode fermentasi dan destilasi (Harahap, 2014). Bioetanol atau etil alkohol yang dipasaran lebih dikenal sebagai alkohol merupakan senyawa organik dengan rumus kimia  $C_2H_5OH$ . Dalam kondisi kamar, etanol berwujud cairan yang tidak berwarna, mudah menguap, mudah terbakar, mudah larut dalam air dan tembus cahaya. Etanol adalah senyawa organik golongan alkohol primer. Sifat fisik dan kimia etanol bergantung pada gugus hidroksil (Harahap, 2014).

Bioetanol dapat dibuat dari tiga jenis bahan baku, yaitu:

**1. Sakarin.** Sakarin adalah material yang di dalamnya terdapat karbohidrat dalam bentuk sederhana, enam dan dua belas molekul gula karbon seperti *glukosa*, *fruktosa*, dan *maltose* yang dapat langsung difermentasikan. Beberapa

material yang mengandung sakarin, seperti : tebu, bit gula (*sugar beets*), buah-buahan segar dan kering, tetes dan lain-lain.

**2. Saripati.** Saripati merupakan bagian yang mengandung karbohidrat yang lebih kompleks seperti pati dan inulin yang dapat dipecah menjadi enam dan dua belas molekul gula karbon dengan proses hidrolisis dengan asam atau enzim di dalam proses yang disebut *malting*. Beberapa material yang mengandung saripati, seperti : nanas, Jagung, biji Sorghum, Jawawut (*Barley*), gandum, kentang, ubi jalar, ubi kayu, dan lain-lain.

**3. Selulosa,** Contoh selulosa seperti kayu, limbah kayu, kertas, jerami, batang jagung, tongkol jagung, kapas dan lain-lain, yang mengandung material yang dapat dihidrolisis dengan asam, enzim atau dengan kata lain dirubah menjadi gula yang dapat difermentasikan. Penggunaan paling besar dari gula untuk fermentasi adalah molasesnya yang mengandung sekitar 35-40% berat sukrosa, 15-20% berat gula invers seperti glukosa dan fruktosa, dan 28-35% berat padatan bukan gula. Molases diencerkan untuk memperoleh 10-20% berat gula. Setelah pH dijadikan 4-5 dengan asam mineral kemudian diinokulasikan dengan *yeast* dan difermentasi pada suhu 20-32<sup>0</sup>C selama kira-kira 1-3 hari. Fermentasi langsung nira gula tebu, nira gula bit, molases gula bit, buah segar, sorghum, whey, susu skim digunakan untuk mendapatkan ethanol, tapi molasses adalah bahan terbaik untuk menghasilkan ethanol (Harahap, 2014).

### C. Proses pembuatan bioetanol

#### Tahap Pengolahan

##### 1. Persiapan bahan baku

Kulit nanas yang merupakan ampas dari nanas ditambahkan dengan aquadest untuk diambil sarinya setelah itu dilanjutkan proses Ekstraksi.

##### 2. Ekstraksi

Proses ekstraksi dilakukan dengan menghancurkan kulit nanas yang telah ditambah aquadest dengan perbandingan berat kulit nanas: aquadest = 3:1 dengan cara di blender.

##### 3. Penyaringan.

Filtrasi adalah proses pemisahan dari campuran heterogen yang mengandung cairan dan partikel-partikel padat dengan menggunakan medium filter yang hanya meloloskan cairan dan menahan partikel-partikel padat.

##### 4. Proses pasteurisasi

Proses pasteurisasi merupakan proses pemanasan dengan suhu yang relatif cukup rendah (di bawah 100°C) dengan tujuan untuk membunuh semua mikroba patogen.

##### 5. Pendinginan

Pendinginan dapat dianggap sebagai proses penurunan suhu bahan dari suhu awal ke suhu tertentu di atas titik beku.

##### 6. Fermentasi

Proses fermentasi berlangsung secara *anaerob* pada pH 4-5 dengan menggunakan yeast *Saccharomyces cerevisiae* dan *Zymomonas mobilis* sebagai

mikroorganisme yang akan menguraikan glukosa menjadi etanol minimal 36 jam sampai tidak muncul buihnya lagi. Konsentrasi etanol tertinggi yang dihasilkan adalah 33% V pada variasi ukuran partikel substrat berupa *slurry* dengan laju pertumbuhan spesifik maksimum 0,43/jam (Oktaviani, 2015).

#### 7. Distilasi

Distilasi adalah suatu metode operasi yang digunakan pada proses pemisahan suatu komponen dari campurannya berdasarkan titik didih masing-masing komponen dengan menggunakan panas sebagai tenaga pemisah.

8. Setelah proses ini berlangsung maka akan dihasilkan Bioetanol.

### **D. Fermentasi Alkohol**

Fermentasi adalah proses pembebasan energi tanpa adanya oksigen yang bersifat anaerob. Fermentasi dilakukan dalam tangki fermentasi, pada kepekatan tetes 24° Brix dengan kadar gula total  $\pm 15\%$ . Apabila kadar gula substrat rendah maka dibutuhkan kondisi anaerob, sehingga sel-sel ragi dapat melakukan fermentasi yang akan mengubah tetes yang mengandung gula menjadi alkohol.

Proses fermentasi ini menyebabkannya terjadi peningkatan panas. Agar panas yang timbul dapat diserap maka diperlukan pendingin untuk menjaga suhu yang tetap pada 30°C selama proses fermentasi yang berlangsung selama 30-40 jam.

Etanol merupakan zat cair, tidak berwarna, berbau spesifik, mudah terbakar dan menguap, dapat bercampur dalam air dengan segala perbandingan.

a. Sifat - sifat fisik etanol

Rumus molekul:  $C_2H_5OH$ ; BM 46,07 gram/mol; Titik didih pada 760 mm Hg  $78,4^\circ C$ ; Titik beku  $-112^\circ C$ ; Densitas, 789 g/ml pada  $20^\circ C$ ; Kelarutan dalam 100 bagian air : sangat larut, eter: sangat larut (Harahap, 2014).

b. Sifat kimia



2) untuk minuman diperoleh dari peragian karbohidrat, ada dua tipe yaitu tipe pertama mengubah karbohidratnya menjadi glukosa kemudian menjadi etanol, tipe yang lain menghasilkan cuka (asam asetat).

3) Pembentukan etanol



4) Pembakaran etanol



Pada proses reaksi hidrolisis disakarida konversi gula menjadi alkohol dengan cara fermentasi dimana disakarida terdiri dari sukrosa dan maltosa yang dapat difermentasikan dengan cepat oleh khamir karena mempunyai enzim *sukrase* atau *invertase* dan *maltase* untuk mengubah maltosa menjadi heksosa. khamir dapat menfermentasikan glukosa, manosa, dan galaktosa dan tidak memecah pentosa (Harahap, 2014).

## **E. Destilasi**

Fermentasi yang berlangsung cepat dengan hasil sangat diperlukan di dalam pembuatan alkohol hasil distilasi. Adapun kecepatan fermentasi sangat tergantung pada komposisi bahan dasar, kecepatan pemindahan nutrisi ke dalam membran sel, kondisi suhu, pH dan oksigen terlarut, tingkat inokulasi, kondisi fisiologi inokulum khamir, aktivitas enzim yang penting di dalam jalur dan toleransi khamir pada kondisi ekstrem yaitu terhadap kadar gula tinggi pada awal fermentasi dan konsentrasi alkohol tinggi pada akhir fermentasi (Elisabeth, 2012).

Distilasi merupakan proses pemurnian dengan memisahkan dua atau lebih komponen berdasarkan perbedaan titik didih. Adapun jenis-jenis dari distilasi (Elisabeth, 2012) adalah:

- a. Distilasi sederhana, prinsipnya memisahkan dua lebih komponen cairan berdasarkan perbedaan titik didih yang jauh berbeda.
- b. Distilasi Fraksonasi (bertingkat), sama prinsipnya dengan distilasi sederhana, hanya distilasi bertingkat ini memiliki rangkaian alat kondensor yang lebih baik, sehingga mampu memisahkan dua komponen yang memiliki perbedaan titik didih yang berdekatan.
- c. Distilasi Azeotrop, memisahkan campuran azeotrop (campuran dua atau lebih komponen yang sulit dipisahkan), biasanya dalam prosesnya digunakan senyawa lain yang dapat memecah ikatan azeotrop tersebut, atau dengan menggunakan tekanan tinggi.

- d. Distilasi kering memanaskan material padat untuk mendapatkan fase uap dan cairannya. Biasanya digunakan untuk mengambil cairan bahan bakar dari kayu atau batu bata.
- e. Distilasi vakum: memisahkan dua komponen yang titik didihnya sangat tinggi, metode yang digunakan adalah dengan menurunkan tekanan permukaan lebih rendah dari 1 atm, sehingga titik didihnya juga menjadi rendah, dalam prosesnya suhu yang digunakan untuk mendistilasinya tidak perlu terlalu tinggi.

Proses distilasi dikembangkan sejak dahulu kala dan pertama kalinya digunakan untuk membuat minuman beralkohol seperti anggur, kosmetik, obat-obatan, dan bahan bakar bioetanol (Rahayu dan Rahayu, 1998). Pada umumnya distilasi digunakan secara *batch*, yaitu cara distilasi yang dikerjakan dengan menempatkan cairan fermentasi ke dalam *still* (*Pot still*), kemudian didistilasi tanpa dilakukan penambahan cairan fermentasi yang baru. Distilasi dinyatakan selesai apabila komponen yang mudah menguap dalam cairan fermentasi sudah habis atau tinggal sedikit sehingga tidak menguntungkan lagi untuk didistilasi lebih lanjut.

Distilasi dilakukan untuk memisahkan etanol dari beer (sebagian besar adalah air dan etanol). Titik didih etanol murni adalah  $78^{\circ}\text{C}$  sedangkan air adalah  $100^{\circ}\text{C}$  (kondisi standar). Dengan memanaskan larutan pada suhu rentang  $78^{\circ}\text{C}$ - $100^{\circ}\text{C}$  akan mengakibatkan sebagian besar etanol menguap, dan melalui unit kondensasi akan bisa dihasilkan etanol menguap, dan melalui unit kondensasi akan bisa dihasilkan etanol dengan konsentrasi 95% volume (Rahayu dan Rahayu,

1998). Dan untuk proses pembuatan bioetanol dengan menggunakan bahan baku limbah nanas pada penelitian ini sistem pemurnian yang digunakan adalah dengan cara distilasi.

## **F. Mikroba pada proses Fermentasi**

### 1. *Saccharomyces cerevisiae*

*Saccharomyces* adalah genus dalam kerajaan jamur yang mencakup banyak jenis ragi. *Saccharomyces* adalah dari berasal dari bahasa Latin yang berarti gula jamur. *Saccharomyces* merupakan mikroorganisme bersel satu tidak berklorofil, termasuk termasuk kelompok *Eumycetes*. Tumbuh baik pada suhu 30°C dan pH 4,8. Beberapa kelebihan *Saccharomyces cerevisiae* dalam proses fermentasi yaitu mikroorganisme ini cepat berkembang biak, tahan terhadap kadar alkohol yang tinggi, tahan terhadap suhu yang tinggi, mempunyai sifat stabil dan cepat mengadakan adaptasi. Pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* dipengaruhi oleh adanya penambahan nutrisi yaitu unsur C sebagai sumber carbon, unsur N yang diperoleh dari penambahan urea, ZA, amonium dan pepton, mineral dan vitamin. Suhu optimum untuk fermentasi antara 28 – 30°C (Swiss, 2011). Hasil penelitian yang diperoleh adalah kadar etanol tertinggi sebesar 3,96% pada penambahan 30 gram *Saccharomyces cerevisiae* dan waktu fermentasi 10 hari (Oktaviani, 2015).

### 2. *Zymomonas mobilis*

*Zymomonas mobilis* ini memiliki karakteristik sebagai bakteri Gram negatif, anaerob tetapi toleran terhadap oksigen atau biasa disebut anaerob fakultatif, dapat memfermentasi glukosa, fruktosa dan sukrosa menghasilkan

sejumlah etanol dan CO<sub>2</sub>, tetapi tidak dapat memfermentasikan manitol dan laktosa, mampu menghasilkan enzim katalase, tidak dapat menggunakan sitrat sebagai sumber karbon serta tidak memiliki enzim triptofanase dan gelatinase (Tanate dan Putra, 2015).

*Zymomonas mobilis* mampu menghasilkan *yield* etanol sekurang-kurangnya 12% (w/v) dan diatas 97 % dari nilai teoritisnya. Ketika dibandingkan dengan yeast, *Zymomonas mobilis* mampu menghasilkan 5-10 *yield* yang lebih tinggi dan menghasilkan produktivitas lima kali lebih besar. *Yield* tinggi yang dihasilkan oleh bakteri ini dihubungkan dengan reduksi biomassa selama fermentasi, dan dibatasi oleh ketersediaan ATP (Wulan, 2013). Menggunakan jamur, bakteri *Zymomonas mobilis* juga dapat digunakan sebagai starter. *Zymomonas mobilis* serta konsentrasi etanol yang dihasilkan dipengaruhi oleh ukuran partikel substrat. Konsentrasi etanol tertinggi yang dihasilkan adalah 33% (Oktaviani dkk.,2015).

### 3. *Aspergillus niger*

*Aspergillus niger* merupakan [fungi](#) dari filum [Ascomycetes](#) yang berfilamen, mempunyai [hifa](#) berseptat, dan dapat ditemukan [melimpah](#) di [alam](#). Fungi ini biasanya diisolasi dari [tanah](#) dan sisa [tumbuhan](#). [Koloninya](#) berwarna putih pada [Agar Dekstrosa Kentang](#) (PDA) 25 °C dan berubah menjadi hitam ketika [konidia](#) dibentuk. Kepala [konidia](#) dari *Aspergillus niger* berwarna hitam, bulat, [cenderung](#) memisah menjadi bagian-bagian yang lebih longgar seiring dengan bertambahnya umur (Wikipedia, 2015c).

*Aspergillus niger* dikenal sebagai kapang penghasil asam sitrat, Anilin, Pektinase, Selulase,  $\beta$ -1,4-glikan Hidrolase, Protease,  $\alpha$ -amilase, glukoamilase, maltase,  $\beta$ -galaktosidase,  $\alpha$ -glukosidase,  $\beta$ -glukosidase, asam glukonat, glukosa oksidase, asam oksalat, fosfodiesterase, Ribonuklease, pupulan 4-Glukanohidrolase,  $\beta$ -xilosidase, xilanase dan Lipase. Glukoamilase dari *Aspergillus niger* menunjukkan bobot molekul berkisar 54-112 k D dan pH optimum berkisar antara 4,0-5,0. Temperatur optimum aktivasi berkisar antara 40–65°C (Arnata, 2015). Dari hasil penelitian Nugroho dkk., (2008) menunjukkan bahwa presentase etanol yang terbentuk dari hasil fermentasi yang dilakukan adalah 2,48% diperoleh dengan penambahan 10% fungi *Aspergillus niger* dan *Saccharomyces cerevisiae* secara mix culture pada limbah padat tapioka seberat 50 gram. Pada perlakuan itu diperoleh biomassa sebanyak 6,14E+17 koloni/gram, pada pH 4,36; dengan nilai rasio C/N 3,4.

### **G. Hipotesis**

Diduga penambahan *Aspergillus niger*, pada fermentasi *Saccharomyces cerevisiae* dan *Zymomonas mobilis* dari limbah kulit nanas, akan mempercepat proses fermentasi dan menghasilkan kadar bioethanol yang tinggi.