

**PENGARUH PENAMBAHAN INOKULUM *Aspergillus niger*, *Saacharomyces cereviceae* DAN *Zymomonas mobilis* TERHADAP KADAR BIOETANOL LIMBAH NANAS (*Ananas comosus*)**

Aditya Yudha Ramdhoni (20110210058)  
Prodi Agroteknologi Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

**INTISARI**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian khamir *Aspergillus niger* terhadap kadar bioetanol yang dihasilkan dari fermentasi kulit nanas fermentasi 7 hari. Penelitian ini dilaksanakan di. Penelitian ini disusun dalam RAL (Rancangan Acak Lengkap) dengan rancangan percobaan Faktor Tunggal, sehingga pada perlakuan ini terdapat tiga perlakuan, yaitu *Saccaromyces cereviciae*, *Saccaromyces cereviciae* dan *Zymomonas mobilis*, serta *Saccaromyces cereviciae* + *Zymomonas mobilis* + *Aspergillus niger*. Analisa kimia yang diuji adalah uji mikrobiologi, gula reduksi, asam titrasi dan pH. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan khamir *Aspergillus niger* dapat menghasilkan kadar etanol tertinggi pada proses fermentasi kulit nanas selama 7 hari. Perlakuan terbaik dengan kadar etanol tertinggi pada fermentasi 7 hari adalah perlakuan *Saccaromyces cereviciae* + *Zymomonas mobilis* + *Aspergillus niger* sebesar 9,8 %.

Kata kunci : kulit nanas, *S. cereviciae*, *Z. mobilis*, *A. niger*, *bioethanol*

**PENDAHULUAN**

Pertambahan jumlah penduduk telah meningkatkan kebutuhan sarana transportasi dan aktivitas industri yang berakibat pada peningkatan kebutuhan dan konsumsi Bahan Bakar Minyak (BBM), untuk memenuhi kebutuhan BBM tersebut, pemerintah mengimpor sebagian BBM. Besarnya ketergantungan Indonesia terhadap BBM impor semakin memberatkan pemerintah karena harga minyak dunia yang semakin tinggi. Beberapa dari bahan bakar nabati yang sekarang ini sedang dikembangkan adalah bioetanol. Indonesia mempunyai potensi yang sangat besar untuk menghasilkan bioetanol mengingat bahan bakar nabati ini dapat memanfaatkan kondisi geografis dan sumber bahan baku minyak nabati dari berbagai tanaman yang tersedia di Indonesia (Elisabet, 2012).

Bioetanol adalah pelarut yang serbaguna, larut dalam air dan sebagai pelarut bahan organik lainnya, meliputi asam asetat, aseton, benzena, karbon tetraklorida, kloroform, dietil eter, etilena glikol, gliserol, nitrometana, piridina, dan toluena. Etanol juga larut dalam hidrokarbon alifatik yang ringan, seperti pentana dan heksana, dan juga larut dalam senyawa klorida alifatik seperti trikloroetana dan tetrakloroetilena (Wikipedia, 2013a). Bioetanol dapat juga dibuat dengan beberapa

substrat seperti, ubi jalar, ubi kayu, sorgum manis (cantal), jagung, molasse (tetes tebu - hasil samping produksi gula), dan aren (nira, aren) (Edmond, 2009). Berdasarkan kandungan nutriennya, ternyata kulit buah nanas mengandung karbohidrat dan gula yang cukup tinggi. Kulit nanas mengandung 81,72% air; 20,87% serat kasar; 17,53% karbohidrat; 4,41% protein; dan 13,65% gula reduksi (Harahap, 2014).

Tujuan penelitian: 1) Mengetahui pengaruh mikroba *Aspergillus niger* dan *Saccharomyces cereviceae*, dan *Zymomonas mobilis*, pada bahan baku bioetanol dari limbah nanas. 2) Menentukan kadar bioetanol terbaik yang dihasilkan dari fermentasi limbah nanas.

## **METODE PENELITIAN**

**Bahan:** a) Bahan inokulasi: isolat *Zymomonas mobilis*, *Saccaromyces cereviceiae* dan *Aspergillus niger*. b) Bahan pembiakan kultur: media Pepton Glukosa Yeast Ekstrak Agar (PGYA), media Pepton Glukosa Yeast Ekstrak cair (PGYC), dan media PDA. c) Bahan baku bioetanol: limbah kulit nanas. d) Bahan sterilisasi : Desinfektan, spirtus, alkohol 70%, kapas, plastik, kertas payung. e) Bahan analisis: NaOH 0,01 N, indikator PP, NaOH 15% , reagen Nelson, reagen Arsenomolidat, aquades.

**Alat :** a) Alat sterilisasi: lampu Bunsen, autoclaf b) Alat inokulasi: jarum ose, jarum driglasky, lampu Bunsen, *micropipet*, faintips, tabung reaksi, *petridish*, *shaker*, *vortex*. c) Alat hidrolisi: *Autoclafe*, boiler. d) Alat fermentasi: botol selai, blender, plastik. e) Alat pengukur: pH meter, *Alkoholmeter*, gelas ukur, pipet ukur, timbangan analitik. f) Alat analisis: statip, biuret, corong, tabung reaksi, *colony counter*, *Spektrofotometer*, Erlenmeyer, cawan porselen, pipet tetes, labu ukur. g) Mesin bioetanol: alat distilasi, kompor listrik.

Penelitian ini akan dilakukan dengan menggunakan metode percobaan yang disusun dalam Rancangan Acak Lengkap dengan rancangan percobaan faktor tunggal yaitu macam inokulum yang terdiri dari 3 perlakuan. Adapun perlakuannya adalah : Perlakuan A. S. *Cereviceae*, Perlakuan B. S. *Cereviceae* + *Zymomonas mobilis* dan Perlakuan C. S. *Cereviceae* + *Zymomonas mobilis* + *A. niger*. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali dan setiap ulangan terdiri dari 3 sampel korban untuk hari ke 0 sampai hari ke 7 yang diuji mikrobiologis, kimia dan rendemen etanol, sehingga total keseluruhan adalah  $3 \times 3 \times 7 = 63$  unit percobaan.

Parameter yang diamati adalah karakterisasi kulit nanas dan fermentasi bioethanol dari kulit nanas.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### a. Karakterisasi Kulit Nanas

Karakterisasi kulit nanas dilakukan untuk mendapatkan data yang akan digunakan dalam menentukan *treatment* dalam menunjang penelitian. Karakterisasi kulit nanas memiliki tekstur lunak dan berair. Kulit nanas mengandung 81,72 % air, 20,87 % serat kasar, 17,53 % karbohidrat, 4,41 % protein dan 13,65 % gula reduksi pada hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Harahap dkk., (2014). Mengingat kandungan karbohidrat dan gula yang cukup tinggi tersebut maka kulit nanas memungkinkan untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan bahan kimia, salah satunya adalah bioetanol melalui proses fermentasi (Harimbi dkk., 2010). Hasil analisa proksimat kulit nanas disajikan pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil Analisis Proksimat Kulit Nanas

Analisa	Hasil Analisa
Karbohidrat (%)	3,89
Serat Kasar (%)	4,92
Glukosa (%)	2,64
Protein (%)	0,64
Air (%)	85,06

Sumber : Lab. Chem-Mix Pratama (2016)

### b. Fermentasi bioethanol dari Kulit Nanas

Proses fermentasi merupakan proses biokomia dimana terjadi perubahan-perubahan atau reaksi-reaksi kimia dengan pertolongan jasad renik penyebab fermentasi yang berhubungan dengan zat makanan yang sesuai dengan pertumbuhannya. Akibat terjadinya fermentasi sebagian atau seluruhnya akan berubah menjadi alkohol setelah beberapa waktu lamanya.

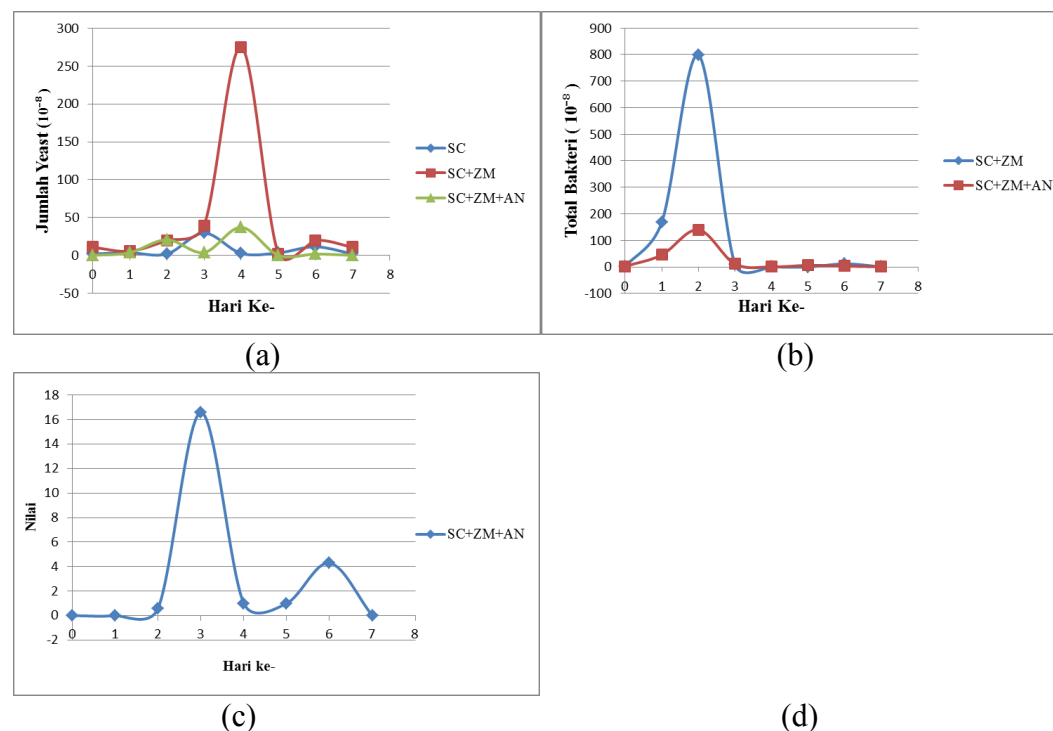
Pada proses fermentasi, untuk mengetahui dinamika perubahan kimia pada bahan, pembentukan etanol serta aktivitas mikroba maka dilakukan pengujian-pengujian kimia yang meliputi gula reduksi, asam titrasi, pH dan uji mikrobiologi (Lia, 2012).

#### 1. Uji mikrobiologi

Uji mikrobiologi dimaksudkan untuk mengetahui dinamika populasi mikrobia dan aktivitasnya dalam proses sakarifikasi dan fermentasi Menurut Fardiaz (1988), konsentrasi inokulum yang terlibat dalam fermentasi sangat mempengaruhi efektivitas

penghasilan produk. Jumlah inokulum akan mempengaruhi persaingan pengambilan nutrisi, sehingga sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan sel ragi dan kadar alkohol yang dihasilkan.

Metode yang dilakukan yaitu dengan menghitung jumlah total mikroba yang tumbuh pada media PGYP untuk *yeast*, bakteri dan jamur dengan seri pengenceran  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-9}$  dengan metode *plate count* yang diinkubasi selama 2x24 jam. Adapun aktivitas mikroba dapat dilihat dengan gambar 1.



Gambar 1. Pertumbuhan Mikrobiologi (a) Total Pertumbuhan *Yeast* (b) Total bakteri *Zymomonas mobilis* (c) Total Jamur *Aspergillus niger*

## 2. Hasil Analisa Kimia

Pada proses fermentasi, untuk mengetahui dinamika perubahan kimia pada bahan, pembentukan etanol maka dilakukan pengujian-pengujian kimia yang meliputi, gula reduksi, asam titrasi dan pH selama proses fermentasi berlangsung. Hasil pengamatan gula reduksi dan asam titrasi selama proses fermentasi 7 hari disajikan pada tabel 5.

Tabel 5. Rerata Gula Reduksi dan Asam Titrasi fermentasi hari ke 3 dan 7

Perlakuan	Rata-ratagula reduksi Hari ke 3	Rata-ratagula reduksi Hari ke 7	Rata-rata asam titrasi Hari ke 3	Rata-rata asam titrasi Hari ke 7
Sc	0,60 a	0,016 a	5,90 a	10,1 b
Sc+Zm	0,19 c	0,023 a	7,30 a	13,7 a
Sc+Zm+An	0,39 b	0.005 a	8,17 a	15,3 a

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama tidak menunjukkan beda nyata Pada jenjang nyata 5% berdasarkan uji sidik ragam.

Sc : *Saccaromyces cereviciae*

Sc + Zm : *Saccaromyces cereviciae* + *Zymomonas mobilis*

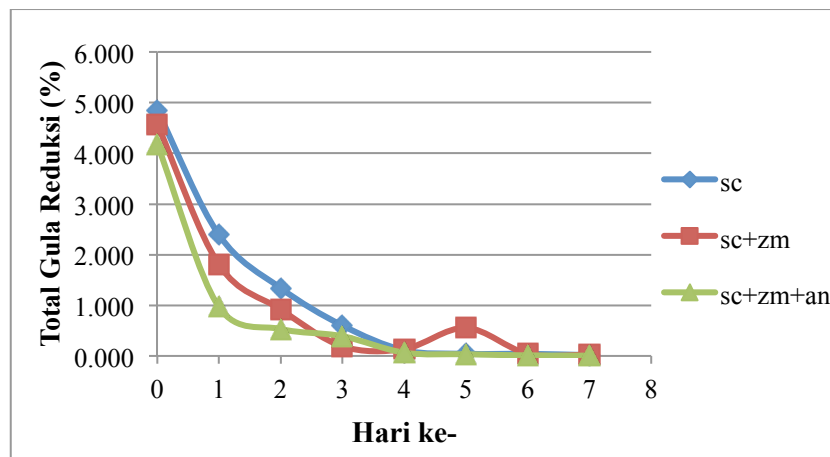
Sc + Zm + An : *Saccaromyces cereviciae* + *Zymomonas mobilis* + *Aspergillus niger*

#### a. Uji Gula Reduksi

Pengukuran kadar gula reduksi ini ialah bertujuan untuk mengetahui kecukupan nutrisi bagi mikroba selama memproduksi etanol. Selain itu, menurut Wignyanto dkk., (2001), peningkatan jumlah sel *Sacchromyces cerevisiae* dan penurunan konsentrasi gula reduksi diikuti dengan peningkatan konsentrasi etanol. Dengan demikian, pengukuran gula reduksi pada proses fermentasi ialah untuk mengetahui seberapa banyak gula reduksi yang terkandung pada limbah kulit nanas tersebut dimanfaatkan oleh mikroba untuk melakukan metabolisme.

Reduksi gula atau perombakan gula merupakan proses yang tergolong dalam glikolisi yaitu pemecahan gula secara anaerob sampai asam piruvat yang dilakukan oleh kebanyakan jasad daritingkat tinggi hingga tingkat rendah. Reaksi glikolisis terjadi dalam sitoplasma dan tidak menggunakan oksigen sebagai aseptor elektornya, melainkan zat lain. Asam piruvat mempunyai kedudukan yang penting karena merupakan titik pusat dari berbagai reaksi pemecahan maupun pembentukan. Fermentasi adalah proses metabolisme karena dalam proses fermentasi terjadi reaksi-reaksi biokimia dan reaksi tersebut tergolong dalam reaksi metabolit dengan kondisi anaerob.

Perubahan kadar gula reduksi fermentasi selama 7 hari dapat dilihat dalam gambar 2.



Gambar 2. Grafik Persentase Gula Reduksi pada proses fermentasi.

Keterangan:

sc = *Saccaromyces cereviciae*

sc+zm = *Sacaaromyces cereviciae* + *Zymomonas mobilis*

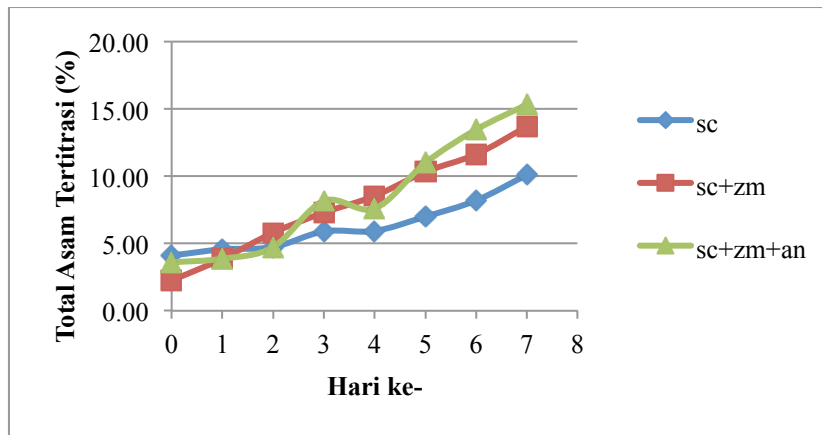
sc+zm+zn = *Sacaaromyces cereviciae* + *Zymomonas mobilis* + *Aspergillus niger*

#### b. Total Asam

Titration merupakan salah satu teknik analisa kuantitatif yang dipergunakan untuk menentukan konsentrasi suatu larutan tertentu, dimana penentuannya menggunakan suatu larutan standar yang diketahui konsentrasinya secara tepat. Pengukuran volume dalam titrasi memegang peranan yang amat penting sehingga ada kalanya sampai saat ini banyak orang yang menyebut titrasi dengan nama analisa volumeteri.

Dalam proses fermentasi alkohol, terbentuk pula asam-asam organik seperti asam laktat, asam asetat, dan juga dihasilkan  $\text{CO}_2$ .  $\text{CO}_2$  tersebut akan bereaksi dengan air dalam medium fermentasi yang akan membentuk asam karbonat. Asam organik tersebut akan terakumulasi pada medium dan akan menurunkan pH medium (Lia, 2012). Uji asam tertitrasi adalah jumlah asam laktat yang terbentuk selama proses fermentasi yang merupakan hasil pemecahan laktosa oleh bakteri asam laktat.

Perubahan derajat keasaman fermentasi selama 7 hari disajikan pada gambar 3.



Gambar 3. Grafik Total Asam Titrasi

Keterangan :

Sc = *Saccaromyces cereviciae*

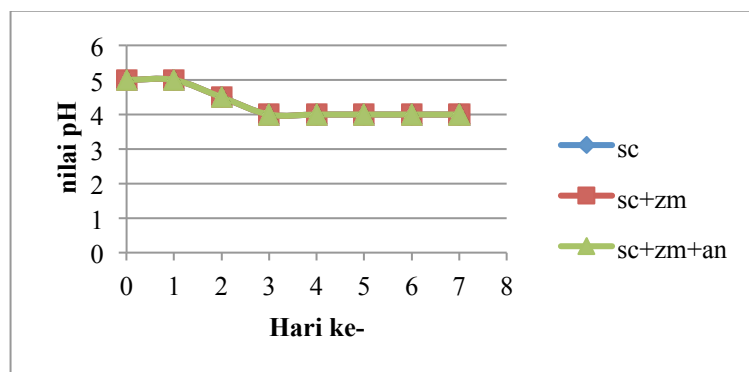
Sc+zm = *Sacaaromyces cereviciae* + *Zymomonas mobilis*

Sc+Zm+An = *Sacaaromyces cereviciae* + *Zymomonas mobilis* + *Aspergillus niger*

### c. Tingkat Keasaman (pH)

Anna dkk., (2015) *Power of Hydrogen* (pH) adalah derajat keasaman yang digunakan untuk menyatakan tingkat keasaman atau kebasaaan yang dimiliki oleh suatu larutan. Pengukuran pH digunakan untuk mengukur tingkat keasaman pada suatu larutan yang bergantung pada konsentrasi sifat asam yang diikat oleh ion  $H^+$ .

Berdasarkan hasil analisa pH selama proses fermentasi kulit nanas selama 7 hari terdapat pada gambar 4.



Gambar 4. Hasil analisa pH selama fermentasi 7 hari.

### c. Hasil Etanol

Etanol dipisahkan dari media fermentasi melalui proses destilasi. Proses destilasi merupakan proses pemisahan larutan berdasarkan pada perbedaan titik didihnya. Hasil dari proses destilasi dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil etanol dari Fermentasi Kulit nanas dengan satu tingkat

Perlakuan	Volume destilat		Kadar etanol (%)
	(ml/300ml)	(% v/v)	
<i>Saccaromyces cereviciae</i>	36	12,0	9,1
<i>Saccaromyces cereviciae</i> + <i>Zymomonas mobilis</i>	41	13,6	9,3
<i>Saccaromyces cereviciae</i> + <i>Zymomonas mobilis</i> + <i>Aspergillus niger</i>	30	10,10	9,9

Sc : *Saccaromyces cereviciae*

Sc + zm : *Saccaromyces cereviciae* + *Zymomonas mobilis*

Sc + Zm + An : *Saccaromyces cereviciae* + *Zymomonas mobilis* + *Aspergillus niger*

#### d. Hasil Standar Mutu Bioetanol

Hasil Bioetanol dilakukan perbandingan sifat fisik dan kimia hasilnya belum sesuai dengan referensi yang ada yaitu menurut SNI. Hasil perbandingan sifat fisik etanol yang dihasilkan ditunjukkan pada Tabel 7.

Tabel 7. Syarat Mutu SNI dan Hasil Penelitian Etanol

No	Parameter Uji	Satuan Min/Maks	SNI	Perlakuan		
				SC	SC+ZM	SC+ZM+AN
1	Kadar Etanol	%-v,min	99,5 (setelah di denaturasi dengan denatorium benzoate) 94,0 (setelah didenaturasi dengan hidrokarbon)	9,1	9,3	9,9
2	Tampakan	Kualitatif	Jernih dan terang tidak ada endapan	Jernih (-)	Jernih (-)	Jernih (-)

#### Keterangan :

Perlakuan A : *Saccaromyces cereviciae*

Perlakuan B : *Saccaromyces cereviciae* + *Zymomonas mobilis*

Perlakuan C : *Saccaromyces cereviciae* + *Zymomonas mobilis* + *Aspergillus niger*

Hasil etanol yang diperoleh dipengaruhi oleh kandungan substrat kulit nanas, yaitu karbohidrat, kadar air, glukosa, serat kasar dan protein (tabel 4). Dari hasil uji proksimat tersebut didapatkan etanol yang berbeda pada tiap perlakuan. Selain dari kandungan kulit nanas, hasil analisa kimia seperti gula reduksi, asam titrasi dan pH berpengaruh hasil etanol yang didapatkan.

Beberapa faktor penting yang mempengaruhi hasil etanol dan efisiensinya, yaitu (1) kondisi fisiologis inokulum mikroba yang ditambahkan ke dalam media, (2) kondisi lingkungan selama proses fermentasi berlangsung, dan (3) kualitas bahan



media. Kondisi fisiologis (*seed*) tergantung pada kondisi pertumbuhan optimal yang spesifik bagi mikroba yang di gunakan. Faktor lingkungan yang palig penting, yaitu ph dan suhu sedangkan factor lain (1) *buffer capacity*, (2) tingkat kontaminasi di awal pertumbuhan, (3) kepekatan gula, (4) konsentrasi alkohol, (5) pemilihan strain khamir, (6) kebutuhan nutrisi bagi pertumbuhan khamir (7) jumlah oksigen yang tersedia (Alico, 1982).

Dari hasil tabel 8 menunjukkan hasil fermentasi 7 hari kulit nanas diperoleh perlakuan *Saccaromyces cereviciae* dengan didapatkan hasil etanol sebesar 9,1 %. Perlakuan *Saccaromyces cereviciae* dan *Zymomonas mobilis* dihasilkan etanol sebesar 9,3 % dan perlakuan *Saccaromyces cereviciae* dan *Zymomonas mobilis* ditambah dengan *Aspergillus niger* yaitu 9,9 %. Meskipun pada penelitian ini belum didapatkan hasil yang sesuai dengan apa yang menjadi syarat dan mutu dari SNI. Namun, penelitian ini menunjukkan hasil yang berbeda dengan yang didapatkan dari penelitian dari Harimbi dkk., (2010) menunjukkan hasil penelitian diperoleh: kadar glukosa awal sari kulit nanas 8,5325%, kadar glukosa tertinggi dari fermentasi adalah 8,4275%, pada penambahan 30 g *Saccaromyces cerevisiae* dan waktu fermentasi 2 hari. Kadar bioetanol tertinggi yang diperoleh 3,965% pada penambahan 30 g *Saccaromyces cerevisiae* dan waktu fermentasi 10 hari.

Tampakan bioetanol bebas dari endapan dan zat terlarut apabila dilihat dari pencahayaan ruang, sehingga terlihat jernih. Tidak ada endapan dan terlihat jernih menandakan bioethanol yang didapatkan hasil dari destilasi sangat baik. Hasil dari penelitian kejernihan dan endapan dari bioethanol cukup baik, apabila dilihat dari pencahayaan ruang dan suhu ruang, sesuai dengan standart hasil tampakan dari SNI..

## **KESIMPULAN**

1. Penambahan mikroba *Aspergillus niger*, *Saccaromyces cereviciae* dan *Zymomonas mobilis* berpengaruh dalam menghasilkan kadar etanol yang didapatkan dari fermentasi selama 7 hari dari limbah nanas.
2. Perlakuan terbaik didapatkan dari perlakuan *Saccaromyces cereviciae* dan *Zymomonas mobilis* dengan volume destilat 41 ml kadar etanol 9,3% dan rendemen etanol 13,6 (%  $v/v$ ).

### Daftar Pustaka

- Anna, P., Titin, S., dan P. Soemodimedjo. 2005. Dasar-Dasar Biokimia. Universitas Indonesia. Jakarta. 469 hal.
- Elisabeth, S. 2012. bioethanol dari kulit nanas. [http:// siskaelisabets.blogspot. Com/2012/06/bioetanol-dari-kulit-buah-nanas.html](http://siskaelisabets.blogspot.Com/2012/06/bioetanol-dari-kulit-buah-nanas.html). Diakses tanggal 23 April 2015.
- Fardiaz, D. 1988. Pengenalan Proses Hulud Milk dalam Fermentasi Pangan Industrial. Pusat antar Universitas Pangan dan Gizi, IPB
- Harahap. E. 2014. Makalah Pemanfaatan Kulit Nanas Jadi Bioetanol. [http:// emmakhairaniharahap.blogspot.com/2014/06/makalah-pemanfaatan-kulit - nanas-jadi.html](http://emmakhairaniharahap.blogspot.com/2014/06/makalah-pemanfaatan-kulit-nanas-jadi.html). Diakses tanggal Desember 2014.
- Harimbi. S. dan Nanik. A.R. 2010. Bioetanol Dari Kulit Nanas Dengan Variasi Massa *Saccharomyces Cereviceae* Dan Waktu Fermentasi. Institut Teknologi Nasional, Malang
- Lia. 2012. Pembuatan Bioetanol dari Limbah Kulit Kakao melalui Proses Fermentasi menggunakan *S. cerevisiae* dan *Z. mobilis*. Yogyakarta. 64 hal. Skripsi
- Wignyanto dkk. 2001. Pengaruh Konsentrasi Gula Reduksi Sari Hati Nanas dan Inokulum *Saccharomyces Cerevisiae* pada Fermentasi Etanol. Jurnal Teknologi Pertanian 2 (1).