

Pengaruh Konsentrasi Tepung Kulit Nanas Pada Fermentasi Dengan Metode Shf dan Ssf Untuk Menghasilkan Etanol

Keryanti^{1,*}, Hanafiah Herliana², Nani Anggraeni³, Rintis Manfaati⁴

^{1,2,3,4}Jurusan Teknik Kimia, Politeknik Negeri Bandung
Jl. Gegerkalong Hilir, Ds. Ciwaruga, Bandung Barat, 40012, Indonesia
*E-mail: keryanti@polban.ac.id

ABSTRAK

Limbah kulit nanas masih memiliki kandungan pati 17.53% (b/b), protein kasar 8.78% (b/b), lemak kasar 1.15% (b/b) dan gula reduksi 13.65% (b/b) sehingga dapat menjadi alternatif bahan baku fermentasi untuk menghasilkan etanol. Produksi etanol dari bahan pati dan selulosa seperti tepung kulit nanas beberapa kali telah dilakukan, namun etanol yang dihasilkan kurang optimal sehingga membutuhkan alternatif proses yang dapat meningkatkan kualitas etanol. Upaya peningkatan produksi etanol dari tepung kulit nanas dapat dilakukan dengan menggunakan dua metode yaitu *Separated Hydrolysis and Fermentation* (SHF) dan *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF). Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi tepung kulit nanas terhadap kadar etanol hasil fermentasi dengan metode SHF dan SSF. Variasi konsentrasi tepung kulit nanas yang digunakan (g/L) yaitu 20, 40, 60 dan 80. Proses fermentasi dilakukan pada reaktor 250 mL selama 96 jam dengan penambahan inokulum *Saccharomyces cerevisiae* sebanyak 20% (v/v). Pada penelitian ini digunakan enzim selulase sebesar 5% (v/v) dari bahan baku yang telah dilarutkan untuk proses hidrolisis pada metode SSF serta katalis HCl 0.1 N (b/v) pada metode SHF. Pengujian dari hasil penelitian ini analisis kadar glukosa dengan metode DNS dan analisis kadar etanol menggunakan refraktometer serta HPLC. Dari hasil penelitian ini diperoleh kadar etanol tertinggi pada konsentrasi tepung kulit nanas 80 g/L sebesar 7.99% untuk metode SHF dan 13.01% untuk metode SSF.

Kata kunci

Etanol, limbah kulit nanas, metode SHF, metode SSF, *Saccharomyces cerevisiae*

1. PENDAHULUAN

Etanol ditemukan saat proses peragian glukosa menjadi minuman beralkohol atau dikenal dengan minuman keras. Etanol banyak dimanfaatkan sebagai bahan baku dalam berbagai industri, termasuk turunan alkohol, pelarut antiseptik dan produk kosmetik. Secara umum, etanol dimanfaatkan sebagai bahan baku dalam industri kimia seperti pada komponen anti beku radiator, minuman beralkohol, bahan bakar minyak dan desinfektan (Febriasari dkk., 2021). Konsumsi etanol dalam industri makanan adalah 10%, minuman adalah 22% dan bahan bakar adalah 66% (Rama dkk., 2007).

Etanol dapat dibuat dari pati, gula dan limbah kulit nanas (*Ananas comosus L. Merr*). Produksi buah nanas di negara Indonesia menempati peringkat keempat di antara komoditas buah-buahan unggulan dengan 1,79 juta ton per tahun, menurut Badan Pusat Statistik (2017). Limbah kulit nanas dapat menimbulkan masalah lingkungan karena umumnya dibuang dan tidak dimanfaatkan

dengan baik. Kandungan yang terdapat pada kulit nanas seperti protein kasar 8.78% (b/b), lemak kasar 1.15% (b/b) dan gula reduksi 13.65% (b/b), kulit nanas dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku alternatif fermentasi untuk menghasilkan etanol.

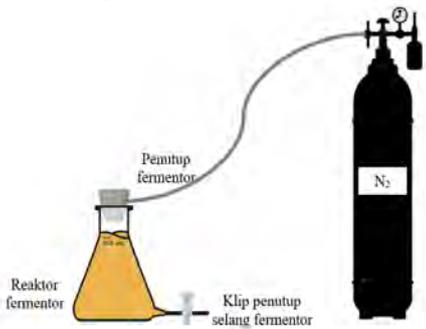
Etanol dapat dibuat dari pati, gula dan limbah kulit nanas (*Ananas comosus L. Merr*). Produksi buah nanas di negara Indonesia menempati peringkat keempat di antara komoditas buah-buahan unggulan dengan 1,79 juta ton per tahun, menurut Badan Pusat Statistik (2017). Limbah kulit nanas dapat menimbulkan masalah lingkungan karena umumnya dibuang dan tidak dimanfaatkan dengan baik. Kandungan yang terdapat pada kulit nanas seperti protein kasar 8.78% (b/b), lemak kasar 1.15% (b/b) dan gula reduksi 13.65% (b/b), kulit nanas dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku alternatif fermentasi untuk menghasilkan etanol.

Berdasarkan uraian-uraian di atas, penelitian fermentasi untuk menghasilkan etanol dengan metode SHF dan SSF dengan variasi konsentrasi tepung kulit nanas sebelumnya belum pernah

dilakukan sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut dengan judul “Pengaruh Konsentrasi Tepung Kulit Nanas pada Fermentasi dengan Metode SHF dan SSF untuk Menghasilkan Etanol”. Dari penelitian ini diharapkan dapat mengurangi limbah biomassa berupa pemanfaatan limbah kulit nanas melalui fermentasi untuk menghasilkan etanol yang dapat dimanfaatkan untuk berbagai keperluan.

2. ALAT

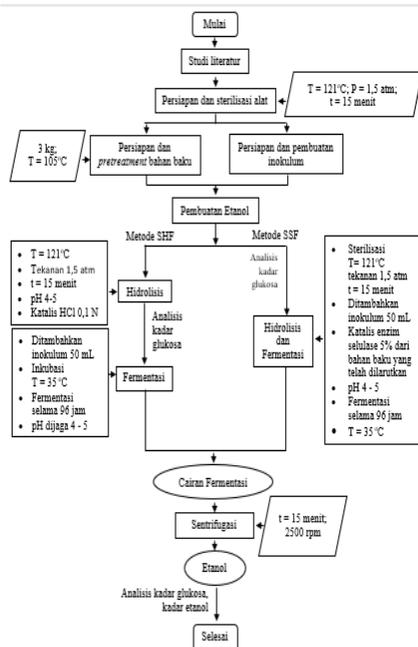
Peralatan utama yang digunakan untuk menunjang proses fermentasi. Alat utama yang digunakan untuk proses fermentasi ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Alat Utama Proses Fermentasi

3. METODE

Metode penelitian dibagi ke dalam 3 tahap, yaitu tahap persiapan seperti alat dan bahan, tahap metode pembuatan etanol dan tahap uji karakteristik produk etanol yang dihasilkan. *Flowchart* metode penelitian secara keseluruhan yang dapat ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. *Flowchart* Proses Pembuatan Etanol

3.1 Persiapan dan Sterilisasi Alat

Alat yang akan disterilisasi pada bagian dalam *autoclave* dengan kondisi suhu 121°C, tekanan 1.5 atm selama 15 menit (Febriasari dkk., 2021) adalah reaktor, gelas kimia ukuran 100, 250, 500, dan 1000 mL, gelas ukur 100 mL, pipet ukur, erlenmeyer 250 mL dan pipet tetes.

3.2 Persiapan dan *Pretreatment* Bahan Baku

Limbah kulit nanas yang akan dijadikan tepung diambil dari buah nanas sebanyak 3 kg yang dicuci sampai bersih kemudian dikeringkan dengan panas matahari selama 4 hari. Limbah kulit nanas dicacah atau dipotong sehingga bentuk kulit nanas menjadi lebih kecil dan luas permukaannya menjadi lebih besar dan di oven dengan temperatur pengeringan 105°C. Hasil pengeringan ditimbang terlebih dahulu hingga berat konstan, kemudian dihaluskan menggunakan *blender* hingga diperoleh tepung kulit nanas yang lolos ayakan yang memiliki lubang berdiameter 0.2 cm. Setelah kulit nanas menjadi tepung di simpan di dalam wadah yang tertutup dan diberi silika gel (Nugroho dan Subagyo, 2020).

3.3 Persiapan dan Pembuatan Inokulum

Komposisi pembuatan media aktivasi sebanyak 100 mL dilakukan menggunakan erlenmeyer 250 mL dengan masing – masing komposisi sukrosa 6 g, (NH₄)₂SO₂ 0.2 g dan KH₂PO₄ 0.5 g. Setelah komposisi pembuatan media aktivasi larut dilakukan pengecekan pH. Sebelum dilakukan inokulasi media aktivasi dimasukkan ke dalam *autoclave* pada kondisi suhu 121°C, tekanan 1.5 atm selama 20 menit dan dinginkan. Selanjutnya, media aktivasi didinginkan sampai mencapai suhu ruang lalu dilakukan pembuatan inokulum yaitu dengan menambahkan *yeast Saccharomyces cerevisiae* berupa Fermipan sebanyak 2 g ke dalam erlenmeyer berukuran 250 mL yang berisi media aktivasi. Setelah itu, erlenmeyer tersebut diinkubasi selama 24 jam atau 1 hari di dalam *incubator shaker* pada suhu 37°C dengan kecepatan 150 rpm (Manfaati, 2021).

3.4 Metode SHF

3.4.1 Hidrolisis

Hidrolisis bahan baku diawali dengan pencampuran semua bahan sesuai formulasi dalam Tabel III.3 ke dalam reaktor 250 mL pada kondisi suhu 121°C selama 15 menit. Selanjutnya, dilakukan pengambilan sampel sebesar 50 mL untuk pengujian kadar glukosa menggunakan metode DNS (Haryani dkk., 2021). Proses pengujian ini dilakukan secara duplo. Adapun formulasi bahan pada metode SHF yang digunakan ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Formulasi Bahan pada Metode SHF

	Variabel Bebas (Konsentrasi Tepung Kulit Nanas, g/L) [B]			
	20	40	60	80
Variabel Tetap (HCl 0,1 N:Inokulum = 200mL:50mL) [A]	A1	A1	A1	A1
	B1	B2	B3	B4

3.4.2 Fermentasi

Cairan Cairan hasil hidrolisis sebanyak 200 mL ditambahkan inokulum sebanyak 20% (v/v) kemudian dilakukan fermentasi secara anaerob atau tidak membutuhkan oksigen. Semua reaktor ditutup rapat serta dijaga pHnya pada 4-5 (asam). Kemudian campuran tersebut di *purging* menggunakan gas nitrogen, lalu diinkubasi selama 96 jam pada suhu 35°C. Pengambilan sampel dilakukan setiap 24 jam sekali hingga 96 jam dan dilakukan secara steril. Setelah waktu fermentasi selesai dilakukan *centrifuge* pada kecepatan 2500 rpm selama 15 menit kemudian diambil sampel filtrat yang nantinya akan dianalisis untuk mengetahui nilai kadar glukosa dan kadar etanol. Proses ini dilakukan secara duplo.

3.5 Metode SSF

Pada metode SSF, proses hidrolisis dan fermentasi berlangsung secara bersamaan menggunakan reaktor berukuran 250 mL dengan total volume fermentasi 239 mL. Semua campuran tanpa enzim kemudian disterilisasi di *autoclave* pada kondisi suhu 121°C, tekanan 1.5 atm selama 15 menit dan didinginkan (Haryani dkk., 2021). Adapun formulasi bahan pada metode SSF yang digunakan ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Formulasi Bahan pada Metode SSF

	Variabel Bebas (Konsentrasi Tepung Kulit Nanas, g/L) [D]			
	20	40	60	80
Variabel Tetap (Aquadess:Inokulum:Enzim selulase = 180 mL:50 mL: 9mL) [C]	C1	C1	C1	C1
	D1	D2	D3	D4

Setelah itu ditambahkan inokulum sebanyak 20% (v/v) dan enzim selulase sebanyak 5% (v/v) dari bahan baku yang telah dilarutkan, lalu dilakukan fermentasi anaerob atau tidak membutuhkan oksigen. Semua reaktor ditutup

rapat serta dijaga pHnya pada 4-5 (asam). Kemudian campuran tersebut di *purging* menggunakan gas nitrogen, lalu diinkubasi selama 96 jam pada suhu 35°C. Pengambilan sampel dilakukan setiap 24 jam sekali hingga 96 jam dan dilakukan secara steril. Setelah waktu fermentasi selesai dilakukan *centrifuge* pada kecepatan 2500 rpm selama 15 menit kemudian diambil sampel filtrat yang nantinya akan dianalisis untuk mengetahui nilai kadar glukosa dan kadar etanol. Proses ini dilakukan secara duplo.

3.6 Prosedur Pengujian

3.6.1 Uji Kadar Air

Metode ini bekerja diawali dengan cara cawan petri kosong yang dipanaskan dalam *oven* pada suhu 105°C selama 30 menit, lalu didinginkan dalam desikator selama 15 menit, kemudian ditimbang. Selanjutnya, sampel 5 g dimasukkan ke dalam cawan petri dengan bobot yang sudah diketahui, ditimbang dan dikeringkan dalam *oven* pada suhu 105°C selama 1 jam dan didinginkan dalam desikator selama 15 menit. Kemudian, cawan petri dan isinya ditimbang. Lakukan selama 5 jam atau sampai berat tepung nanas tetap sama.

3.6.2 Uji Kadar Glukosa

Filtrat larutan hasil hidrolisis dan fermentasi metode SHF dan SSF dianalisis dengan metode DNS menggunakan spektrofotometer-Vis Shimadzu pada panjang gelombang 540 nm.

3.6.3 Uji Kadar Etanol

Filtrat larutan hasil fermentasi metode SHF dan SSF dilakukan pengujian menggunakan refraktometer dan HPLC.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Fermentasi pada penelitian ini dilakukan dengan kondisi *liquid fermentation* dan secara anaerob pada suhu 35°C dengan 2 jenis metode fermentasi yaitu *Separated Hydrolysis and Fermentation* (SHF) dan *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF) yang dimulai dari proses *pretreatment* bahan baku hingga analisa sampel. Hasil fermentasi diamati dan dianalisis setiap 24 jam hingga 96 jam. Analisa yang dilakukan yaitu pengujian kadar air tepung kulit nanas, pengujian kadar glukosa dan pengujian kadar etanol.

4.1 Penentuan Kadar Air Bahan Baku

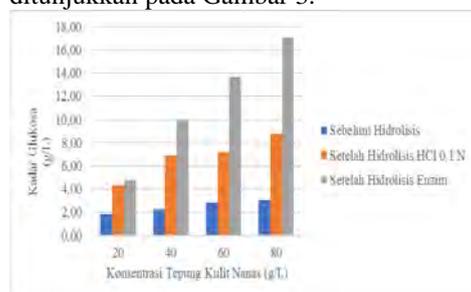
Setelah bahan baku dilakukan *pretreatment* lalu bahan baku tersebut dianalisis kadar airnya menggunakan metode gravimetri yaitu proses pemanasan bahan baku di dalam *oven* dengan suhu 105°C yang bertujuan untuk menunjukkan berapa banyaknya air yang masih terkandung dalam bahan baku tersebut, sehingga diperoleh nilai kadar air bahan baku sebesar 5.54%. Nilai

dari hasil tersebut menunjukkan bahwa kadar air yang terkandung pada bahan baku sudah memenuhi syarat untuk waktu simpan lama yaitu maksimal sebesar 10% (U. Fikriyah dan S. Nasution, 2021). Bahan kering dapat menjadi lebih awet dikarenakan kandungan kadar airnya berkurang sampai batas tertentu, jika kandungan kadar airnya tinggi maka akan menyebabkan mudahnya bakteri, kapang dan khamir untuk berkembang biak dan tumbuh, sehingga mengakibatkan adanya perubahan kondisi pada bahan kering tersebut (Raskita, 2014).

4.2 Pengaruh Proses Hidrolisis Asam dan Hidrolisis Enzimatis terhadap Kadar Glukosa

Pada proses hidrolisis dapat dilakukan secara hidrolisis asam dan hidrolisis enzimatis. Kedua metode hidrolisis tersebut, untuk perlakuan yang sama, konsentrasi bahan baku yang tinggi menghasilkan kadar glukosa yang tinggi, hal tersebut menunjukkan konsentrasi asam dan enzim masih bisa mengakomodasi konsentrasi bahan baku.

Proses hidrolisis dilakukan dengan 4 konsentrasi yang berbeda yaitu 20 g/L, 40 g/L, 60 g/L, 80 g/L. Hasil sebelum hidrolisis sudah mengandung glukosa sebesar 1.86 g/L, 2.26 g/L, 2.89 g/L, 3.03 g/L sedangkan setelah dilakukan hidrolisis baik secara hidrolisis asam maupun hidrolisis enzimatis mengalami peningkatan kadar glukosa. Hal tersebut menunjukkan bahwa proses hidrolisis berhasil karena peningkatan kadar glukosa pada proses hidrolisis asam dan hidrolisis enzimatis diakibatkan oleh adanya proses degradasi berkelanjutan dari suatu molekul bahan baku (Nasrulloh, dkk., 2013). Adapun di bawah ini diperoleh data hasil hidrolisis yang ditunjukkan pada Gambar 3.



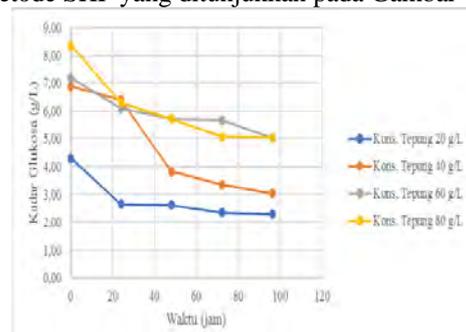
Gambar 3. Diagram Pengukuran Kadar Glukosa Proses Hidrolisis

Berdasarkan Gambar 3. di atas menunjukkan bahwa hidrolisis dengan menggunakan enzim selulase menghasilkan nilai kadar glukosa lebih tinggi dibandingkan dengan menggunakan HCl 0.1 N. Kadar glukosa tertinggi didapatkan dengan menggunakan enzim selulase konsentrasi 80 g/L sebesar

17.11 g/L. Hal ini sesuai dengan salah satu teori yaitu *Lock and Key* pada enzim. Enzim yang digunakan akan bekerja pada kondisi spesifik, yaitu kondisi substrat yang sesuai, pH dan temperatur optimum. Enzim selulase bekerja pada substrat selulosa dengan pH 4-5 dan suhu ruangan. Sedangkan hidrolisis asam memiliki keuntungan dapat bekerja pada suhu yang tinggi dan waktu proses yang cepat, karena jika proses hidrolisis asam dilakukan pada waktu yang cukup lama dan penambahan konsentrasi asam maka akan terjadinya penurunan kadar glukosa hal ini dapat disebabkan karena adanya dehidrasi glukosa atau timbulnya reaksi *browning* (Devita, dkk., 2015). Sehingga untuk proses fermentasi lebih baik menggunakan hidrolisis enzimatis karena menghasilkan kadar glukosa lebih banyak.

4.3 Pengaruh Variasi Konsentrasi Bahan Baku Fermentasi terhadap Kadar Glukosa dan Kadar Etanol pada Metode SHF

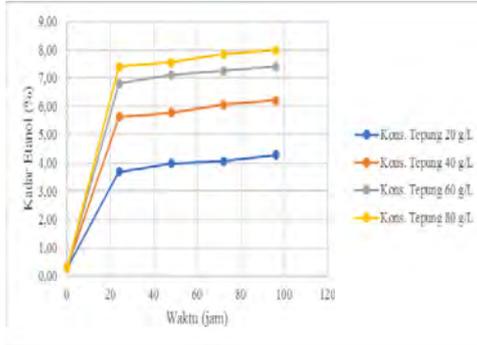
Salah satu metode dari proses fermentasi yang dilakukan untuk menghasilkan etanol yaitu dengan metode *Separated Hydrolysis and Fermentation* (SHF). Proses hidrolisis pada metode ini bertujuan untuk memecah molekul polisakarida menjadi monosakarida sehingga dapat berlangsungnya fermentasi yang dilakukan oleh yeast *Saccharomyces cerevisiae* menjadi etanol. Dapat dilihat kurva antara konsentrasi bahan baku dengan kadar glukosa yang pada metode SHF yang ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Kurva Pengaruh Konsentrasi Bahan Baku antara Waktu terhadap Kadar Glukosa pada Metode SHF

Berdasarkan Gambar 4. menunjukkan bahwa kadar glukosa yang dihasilkan mengalami penurunan. Hal tersebut menunjukkan bahwa kadar glukosa hasil hidrolisis yang telah difermentasi secara sempurna menjadi etanol. Menurut Campbell (1983) menyatakan bahwa fermentasi oleh *Saccharomyces cerevisiae* merupakan proses perubahan sebagian besar energi dari glukosa ke dalam bentuk etanol dengan tingkat efisiensi perubahannya sekitar 97%. Hasil kadar glukosa ini akan diurai menjadi etanol oleh *Saccharomyces cerevisiae* pada proses fermentasi. Berdasarkan Gambar 4.

juga dapat dilihat bahwa penurunan nilai kadar glukosa disebabkan oleh kelarutan konsentrasi bahan baku sehingga saat konsentrasi bahan baku lebih tinggi kandungan yang terdapat pada bahan baku sudah melewati fase jenuh atau biasanya disebut dengan inhibisi substrat sehingga kadar glukosa yang dihasilkan menurun. Dapat dilihat kurva antara konsentrasi bahan baku dengan kadar etanol yang pada metode SHF yang ditunjukkan pada Gambar 5.



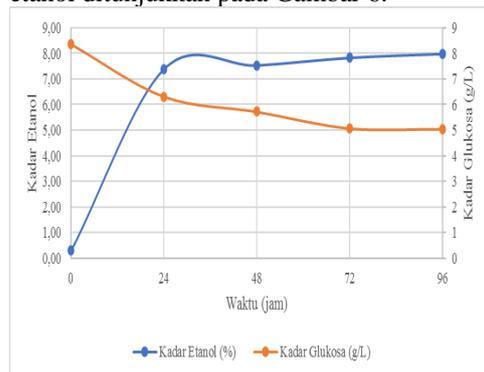
Gambar 5. Kurva Pengaruh Konsentrasi Bahan Baku antara Waktu terhadap Kadar Etanol pada Metode SHF

Berdasarkan Gambar 5. menunjukkan bahwa semakin tinggi nilai konsentrasi bahan baku yang digunakan maka akan semakin tinggi pula kadar etanol yang dihasilkan di akhir fermentasi. Hal tersebut dapat ditunjukkan pada konsentrasi 80 g/L menghasilkan kadar etanol sebesar 7.99%. Ternyata konsentrasi 80 g/L masih bisa diakomodasi oleh *Saccharomyces cerevisiae* untuk menghasilkan metabolit primer etanol, hal tersebut menunjukkan bahwa dengan konsentrasi 80 g/L belum menjadi konsentrasi substrat penghambat pertumbuhan mikroba. Tetapi jika konsentrasi bahan bakunya terlalu tinggi sehingga konsentrasi glukosanya terlalu tinggi akan menyebabkan pertumbuhan dari mikroba terhambat. Pembentukan etanol mengikuti pola pembentukan produk yang akan berasosiasi bersamaan dengan kecepatan pertumbuhan mikroba. Pertumbuhan mikroba dari *Saccharomyces cerevisiae* dapat digambarkan dengan kurva pertumbuhan mikroba yang menunjukkan masing-masing fase pertumbuhan dari mikroba tersebut. Proses pertumbuhan terdiri dari 4 fase yaitu dimulai dari fase adaptasi, pertumbuhan cepat, stasioner sampai kematian mikroba. Garis kurva yang dimulai dengan nol dan berakhir dengan kenaikan kecil menunjukkan fase adaptasi. Di titik ini, *Saccharomyces cerevisiae* belum berkembang dengan lingkungannya. Pada fase pertumbuhan cepat mikroba, *Saccharomyces cerevisiae* mengalami pertumbuhan yang sangat cepat. Hal ini ditunjukkan dengan adanya garis kurva

yang mulai menunjukkan peningkatan yang terlihat tajam. Pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* pada fase ini terjadi penguraian kadar glukosa yang signifikan. Dalam keadaan anaerob, pemecahan glukosa *Saccharomyces cerevisiae* menghasilkan alkohol. Hal ini menunjukkan fase yang menghasilkan jumlah alkohol tertinggi. Garis mendatar yang terdapat pada kurva menggambarkan fase stasioner yang menunjukkan bahwa jumlah *Saccharomyces cerevisiae* yang hidup berbanding lurus dengan jumlah mikroba yang mengalami kematian. Penurunan garis kurva menunjukkan fase kematian. Pada tahap ini, jumlah *Saccharomyces cerevisiae* yang mengalami kematian lebih banyak sampai akhirnya semua *Saccharomyces cerevisiae* mati (Azizah, 2012). Secara umum, pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* mulai mengalami peningkatan sampai pada jam ke 24 yang kemudian mengalami kecenderungan konstan, hal ini dipengaruhi oleh ketersediaan substrat kadar glukosa yang didapatkan dari proses hidrolisis selulosa serta hemiselulosa (Daud, dkk. 2012). Berdasarkan Gambar 5. menunjukkan pada jam ke 24 merupakan puncak metabolisme yang akhirnya akan menghasilkan etanol yang relatif tinggi. Sedangkan setelah jam ke 24 kadar etanol yang dihasilkan cenderung mulai mengalami konstan, hal ini menunjukkan bahwa *Saccharomyces cerevisiae* sudah memasuki fase stasioner yang dimana digambarkan dengan garis mendatar pada kurva yang menunjukkan bahwa *Saccharomyces cerevisiae* yang hidup berbanding lurus dengan yang mengalami kematian. Hal ini sesuai pada penelitian Suyandra (2007), yang dikatakan bahwa fase stasioner *Saccharomyces cerevisiae* mulai terjadi di jam ke 30 yang menyebabkan pada jam inkubasi sebelum jam ke 30 termasuk ke dalam fase pertumbuhan yang kondisinya dipercepat.

Analisis kadar etanol dilakukan pada penelitian ini menggunakan refraktometer dan HPLC. Refraktometer memiliki prinsip kerja dengan cara menyerap cahaya yang terdapat pada sampel yang akan diuji. Selain itu, salah satu dari kelebihan refraktometer dilihat dengan nilai indeks bias antara 1.300 dan 1.700, dimana nilai tersebut dapat dibaca langsung dengan faktor ketelitian yang mencapai 0.001 (Mulyono, 1997). Kadar etanol yang dihasilkan dari konsentrasi 80 g/L sebesar 7.99% sedangkan menggunakan HPLC hasilnya 5.50% karena salah satu prinsip kerja dari HPLC yaitu memisahkan komponen analit berdasarkan tingkat kepolarannya, karena pada setiap campuran yang keluar akan terdeteksi pada detektor dan direkam dalam bentuk kromatogram. Hal tersebut menunjukkan bahwa hasil analisis kedua alat tersebut tidak jauh berbeda yang

menandakan sampel fermentasi dengan bahan baku tepung kulit nanas berhasil. Adapun kurva perbandingan kadar glukosa dan kadar etanol ditunjukkan pada Gambar 6.



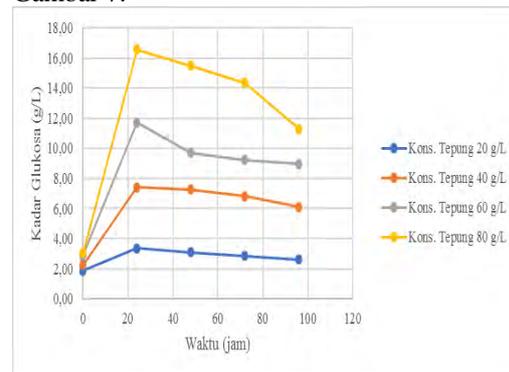
Gambar 6. Kurva Perbandingan Kadar Glukosa dan Kadar Etanol pada Konsentrasi 80 g/L Metode SHF

Berdasarkan Gambar 6. menunjukkan bahwa semakin tinggi nilai kadar glukosa maka nilai kadar etanol yang dihasilkan juga akan semakin tinggi, hal tersebut dikarenakan kandungan glukosa pada substrat yang telah difermentasi oleh *Saccharomyces cerevisiae* semakin meningkat. Hal tersebut dapat ditunjukkan pada konsentrasi 80 g/L akhir proses fermentasi menghasilkan kadar glukosa 5.05 g/L diperoleh kadar etanol 7.99%. Hal ini juga sesuai dengan penelitian Anif, dkk., (2021) dimana hasil fermentasi tepung kulit nanas ditunjukkan dengan nilai kadar glukosa sebesar 24,12% yang diperoleh bioetanol dengan kadar 41,61%, hal tersebut menunjukkan bahwa meningkatnya nilai kadar glukosa maka nilai kadar bioetanol yang dihasilkan juga akan mengalami peningkatan. Hal ini diakibatkan karena substrat yang berupa glukosa, dinilai dapat mencukupi nilai kebutuhan pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae*. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Kargi dan Ozmichi (2005), dimana etanol yang dihasilkan dalam suatu larutan akan meningkat apabila kebutuhan glukosanya sudah terpenuhi.

4.4 Pengaruh Variasi Konsentrasi Bahan Baku Fermentasi terhadap Kadar Glukosa dan Kadar Etanol pada Metode SSF

Salah satu metode dari proses fermentasi yang dilakukan untuk menghasilkan etanol yaitu dengan metode *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF) atau lebih dikenal dengan metode Sakarifikasi Fermentasi Serentak (SFS). Pada hidrolisis pada metode ini bertujuan untuk memecahkan molekul polisakarida menjadi monosakarida sehingga dapat berlangsungnya fermentasi oleh yeast *Saccharomyces cerevisiae* menjadi etanol

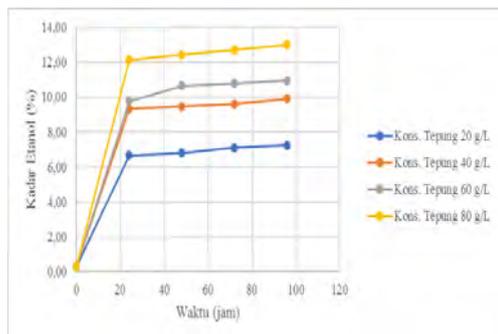
secara simultan. Dapat dilihat kurva antara konsentrasi bahan baku dengan kadar glukosa yang pada metode SSF yang ditunjukkan pada Gambar 7.



Gambar 7. Kurva Pengaruh Konsentrasi Bahan Baku antara Waktu terhadap Kadar Glukosa pada Metode SSF

Berdasarkan Gambar 7. menunjukkan bahwa kadar glukosa yang dihasilkan mengalami penurunan. Hal tersebut menunjukkan bahwa kadar glukosa hasil hidrolisis yang telah difermentasi secara sempurna menjadi etanol. Proses hidrolisis selulosa dengan menggunakan enzim selulase dapat mengurai selulosa menjadi kadar glukosa. Metode SSF ini berlangsung secara perlahan dan bertahap untuk menghasilkan unit-unit kadar glukosa. Nilai efisiensi dan efektivitas dari hasil proses hidrolisis dapat diukur dengan tingkat produk kadar glukosa yang dihasilkan. Nilai kadar glukosa yang terus menurun menunjukkan bahwa penguraian kadar glukosa tersebut terbentuk menjadi etanol oleh *Saccharomyces cerevisiae*. Menurut Campbell (1983) menyatakan bahwa fermentasi oleh *Saccharomyces cerevisiae* merupakan proses perubahan sebagian besar energi dari glukosa ke dalam bentuk etanol dengan tingkat efisiensi perubahan energinya sekitar 97%.

Dalam proses fermentasi, *Saccharomyces cerevisiae* menghasilkan enzim zimase dan invertase. Enzim zimase memecah sukrosa menjadi monosakarida, yaitu glukosa dan fruktosa, dan enzim invertase mengubah selulosa menjadi glukosa. Dalam proses fermentasi, glukosa yang dihasilkan oleh *Saccharomyces cerevisiae* difermentasi oleh enzim selulase (Judoamidjojo, dkk. 1992). Berdasarkan Gambar 7. juga dapat dilihat bahwa penurunan nilai kadar glukosa disebabkan oleh kelarutan konsentrasi bahan baku sehingga saat konsentrasi bahan baku lebih tinggi kandungan yang terdapat pada bahan baku sudah melewati fase jenuh atau biasanya disebut dengan inhibisi substrat sehingga kadar glukosa yang dihasilkan menurun. Dapat dilihat kurva antara konsentrasi bahan baku dengan kadar etanol yang pada metode SSF yang ditunjukkan pada Gambar 8.

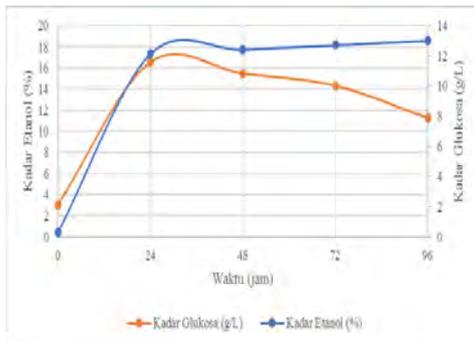


Gambar 8. Kurva Pengaruh Konsentrasi Bahan Bakantara Waktu terhadap Kadar Etanol pada Metode SSF

Berdasarkan Gambar 8. menunjukkan bahwa semakin tinggi nilai konsentrasi bahan baku yang digunakan maka semakin tinggi pula nilai kadar etanol yang dihasilkan di akhir fermentasi. Hal tersebut dapat ditunjukkan pada konsentrasi 80 g/L menghasilkan kadar etanol sebesar 13.01%. Ternyata konsentrasi 80 g/L masih bisa diakomodasi oleh *Saccharomyces cerevisiae* untuk menghasilkan metabolit primer etanol, hal tersebut menunjukkan bahwa dengan konsentrasi 80 g/L belum menjadi konsentrasi substrat penghambat pertumbuhan mikroba. Tetapi jika konsentrasi bahan bakunya terlalu tinggi sehingga konsentrasi glukosanya terlalu tinggi akan menyebabkan pertumbuhan dari mikroba terhambat. Pembentukan etanol mengikuti pola pembentukan produk yang akan berasosiasi bersamaan dengan kecepatan pertumbuhan mikroba. Pertumbuhan mikroba dari *Saccharomyces cerevisiae* dapat digambarkan dengan kurva pertumbuhan mikroba yang menunjukkan masing-masing fase pertumbuhan dari mikroba tersebut. Proses pertumbuhan terdiri dari 4 fase yaitu dimulai dari fase adaptasi, pertumbuhan cepat, stasioner sampai kematian mikroba. Garis kurva yang dimulai dengan nol dan berakhir dengan kenaikan kecil menunjukkan fase adaptasi. Di titik ini, *Saccharomyces cerevisiae* belum berkembang dengan lingkungannya. Pada fase pertumbuhan cepat mikroba, *Saccharomyces cerevisiae* mengalami pertumbuhan yang sangat cepat. Hal ini ditunjukkan dengan adanya garis kurva yang mulai menunjukkan peningkatan yang terlihat tajam. Pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* pada fase ini terjadi penguraian kadar glukosa yang signifikan. Dalam keadaan anaerob, pemecahan glukosa *Saccharomyces cerevisiae* menghasilkan alkohol. Hal ini menunjukkan fase yang menghasilkan jumlah alkohol tertinggi. Garis mendatar yang terdapat pada kurva menggambarkan fase stasioner yang menunjukkan bahwa jumlah *Saccharomyces cerevisiae* yang hidup

berbanding lurus dengan jumlah mikroba yang mengalami kematian. Penurunan garis kurva menunjukkan fase kematian. Pada tahap ini, jumlah *Saccharomyces cerevisiae* yang mengalami kematian lebih banyak sampai akhirnya semua *Saccharomyces cerevisiae* mati (Azizah, 2012). Secara umum, pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* mulai mengalami peningkatan sampai pada jam ke 24 yang kemudian mengalami kecenderungan konstan, hal ini dipengaruhi oleh ketersediaan substrat kadar glukosa yang didapatkan dari proses hidrolisis selulosa serta hemiselulosa (Daud, dkk. 2012). Menurunnya kemampuan enzim selulase untuk menghidrolisis selulosa dan hemiselulosa berbanding lurus dengan bertambahnya lama kultivasi. Berdasarkan Gambar 8. menunjukkan pada jam ke 24 merupakan puncak metabolisme yang akhirnya akan menghasilkan etanol yang relatif tinggi. Sedangkan setelah 24 jam kadar etanol yang dihasilkan cenderung konstan, hal ini menunjukkan bahwa *Saccharomyces cerevisiae* terjadi memasuki fase stasioner yang dimana digambarkan dengan garis mendatar pada kurva yang menunjukkan bahwa *Saccharomyces cerevisiae* yang hidup berbanding lurus dengan yang mengalami kematian. Hal ini sesuai pada penelitian Suyandra (2007), yang dikatakan bahwa fase stasioner *Saccharomyces cerevisiae* mulai terjadi di jam ke 30 yang menyebabkan pada jam inkubasi sebelum jam ke 30 termasuk ke dalam fase pertumbuhan yang kondisinya dipercepat.

Analisis kadar etanol dilakukan pada penelitian ini menggunakan refraktometer dan HPLC. Refraktometer memiliki prinsip kerja dengan cara menyerap cahaya yang terdapat pada sampel yang akan diuji. Selain itu, salah satu dari kelebihan refraktometer dilihat dengan nilai indeks bias antara 1.300 dan 1.700, dimana nilai tersebut dapat dibaca langsung dengan faktor ketelitian yang mencapai 0.001 (Mulyono, 1997). Kadar etanol yang dihasilkan dari konsentrasi 80 g/L sebesar 13.01% sedangkan menggunakan HPLC hasilnya 11.29% karena salah satu prinsip kerja dari HPLC yaitu memisahkan komponen analit berdasarkan tingkat kepolarannya, karena pada setiap campuran yang keluar akan terdeteksi pada detektor dan direkam dalam bentuk kromatogram. Hal tersebut menunjukkan bahwa hasil analisis kedua alat tersebut tidak jauh berbeda yang menandakan sampel fermentasi dengan bahan baku tepung kulit nanas berhasil. Adapun kurva perbandingan kadar glukosa dan kadar etanol ditunjukkan pada Gambar 9.

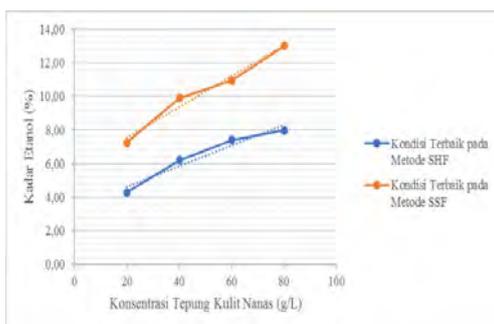


Gambar 9. Kurva Perbandingan Kadar Glukosa dan Kadar Etanol pada Konsentrasi 80 g/L Metode SSF

Berdasarkan Gambar 9. menunjukkan bahwa semakin tinggi nilai kadar glukosa maka nilai kadar etanol yang dihasilkan juga akan semakin tinggi, hal tersebut dikarenakan glukosa pada substrat yang difermentasi oleh *Saccharomyces cerevisiae* semakin meningkat. Hal tersebut dapat ditunjukkan pada konsentrasi 80 g/L akhir proses fermentasi menghasilkan kadar glukosa 11,28 g/L diperoleh kadar etanol 13,02%. Hal ini juga sesuai dengan penelitian Anif, dkk., (2021) dimana hasil fermentasi tepung kulit nanas ditunjukkan dengan nilai kadar glukosa sebesar 24.12% yang diperoleh bioetanol dengan kadar 41.61%, hal tersebut menunjukkan bahwa meningkatnya nilai kadar glukosa maka nilai kadar bioetanol yang dihasilkan juga akan mengalami peningkatan. Hal ini diakibatkan karena substrat yang berupa glukosa, dinilai dapat mencukupi nilai kebutuhan pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae*. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Kargi dan Ozmichi (2005), dimana etanol yang dihasilkan dalam suatu larutan akan meningkat apabila kebutuhan glukosanya sudah terpenuhi.

4.5 Penentuan Metode Terbaik pada Fermentasi Tepung Kulit Nanas untuk Menghasilkan Etanol

Perbandingan kadar etanol dapat dilihat bahwa kondisi optimum untuk kedua metode pada jam ke 96 ditunjukkan pada Gambar 10.



Gambar 10. Kurva Kadar Etanol pada Kondisi Terbaik

Berdasarkan hasil penelitian dari kedua metode fermentasi tepung kulit nanas untuk menghasilkan etanol pada metode SHF dapat menghasilkan nilai kadar etanol yang paling tinggi sebesar 7.99% dan untuk metode SSF dapat menghasilkan nilai kadar etanol yang paling tinggi sebesar 13.01%. Dari hal tersebut konsentrasi tepung nanas yang menghasilkan kadar etanol tertinggi diperoleh pada konsentrasi 80 g/L dengan lama waktu fermentasi 96 jam. Dapat disimpulkan, bahwa fermentasi tepung kulit nanas untuk menghasilkan etanol lebih baik menggunakan metode SSF dengan menggunakan hidrolisis enzimatis, konsentrasi bahan baku 80 g/L dengan lama waktu fermentasi 96 jam.

5. KESIMPULAN

Dari hasil pembahasan maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

- 5.1 Berdasarkan kedua metode fermentasi secara SHF dan SSF diperoleh pengaruh terhadap konsentrasi tepung kulit nanas untuk menghasilkan kadar etanol yaitu semakin tinggi nilai konsentrasi bahan baku maka semakin tinggi pula nilai kadar etanol yang dihasilkan. Nilai konsentrasi tepung kulit nanas untuk menghasilkan kadar etanol tertinggi diperoleh pada konsentrasi 80 g/L dengan lama waktu fermentasi 96 jam pada metode SHF dan SSF
- 5.2 Metode yang terbaik adalah metode SSF dengan hasil kadar etanol 13.01% dibandingkan dengan metode SHF dengan kadar etanol 7.99% pada konsentrasi tepung kulit nanas yang sama yaitu sebesar 80 g/L.

6. SARAN

- 6.1 Berdasarkan penelitian ini, pada konsentrasi bahan baku yang lebih besar dari 80 g/L dengan volume yang lebih besar masih dapat dilakukan fermentasi untuk menghasilkan etanol.
- 6.2 Pada penelitian selanjutnya mengenai proses fermentasi secara SSF untuk menghasilkan etanol dapat memanfaatkan enzim selulase dengan konsentrasi yang lebih tinggi.
- 6.3 Pada penelitian lebih lanjut disarankan *pretreatment* bahan baku limbah kulit nanas yang lebih banyak agar mendapatkan jumlah tepung limbah kulit nanas yang lebih banyak pula.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Anif, Riska. dkk., 2021. Pemanfaatan Kulit Nanas (*Ananas Comosus L. Merr*) Sebagai Bahan Baku Bioetanol. Teknik Kimia : Universitas 17 Agustus 1945 Semarang. Semarang.
- [2] Azizah, N., Al-Barri A. N., Mulyani S. (2012). Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kadar Alkohol, pH, Dan Produksi Gas Pada Proses

- Fermentasi Bioetanol Dari Whey Dengan Substitusi Kulit Nanas. Semarang : Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro. *Journal Indonesia Food Technologist*. 2(1) in press.
- [3] Campbell IM. 1983. Biomass, Catalysts and Liquid Fuel. Pennsylvania: Technomic Publishing Co. Inc.
- [4] Daud, M., W. Syafii dan K. Syamsu. 2012. Biokonversi Bahan Berlignoselulosa menjadi Bioetanol Menggunakan *Aspergillus niger* dan *Saccharomyces cerevisiae*. *Jurnal Perennial* 8 (1):43-51.
- [5] Devita, C. 2013. Perbandingan Metode Analisis Menggunakan Enzim Amilase dan Asam dalam Pembuatan Sirup Glukosa dari Pati Ubi Jalar Ungu. Skripsi. Fakultas MIPA. Universitas Negeri Semarang.
- [6] Febriasari, A., Mujimi, A., Irawan, N., Candra, R., & Arlofa, N. (2021). Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Ragi (*Saccharomyces cerevisiae*) Terhadap Kadar Etanol dari Kulit Nanas Madu dengan Metode SHF dan SSF. Dalam *Jurnal Chemtech Teknik Kimia Universitas Serang Raya* (Vol. 7).
- [7] Haryani, K., Handayani, A., Harles, H., & Putri, S. A. (2021). Pengaruh Konsentrasi Pati dan Yeast pada Pembuatan Etanol dari Pati Sorgum Melalui Proses Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF) dan Separated Hydrolysis Fermentation (SHF). Dalam *Jurnal Rekayasa Mesin* (Vol. 16, Issue 2).
- [8] Judoamidjojo, R.M., Darwis, A.A., dan Said, E.G. 1992. Teknologi Fermentasi. Bogor: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Pusat Antar Universitas Bioteknologi Institut Pertanian Bogor.
- [9] Kargi, F. dan S. Ozmichi. 2005. Utilization of Cheese Powder (CWP) for Ethanol Fermentation: Effects of Operating Parameters. *J. Enzyme and Microbial M Technology* 38,711-718.
- [10] Manfaati, R. (2021). *FERMENTASI AEROB SECARA BATCH*.
- [11] Mulyono. 1997. Kamus Pintar Kimia. Jakarta: Erlangga.
- [12] Nugroho, R., & Subagyo, R. (2020). ANALISIS VARIASI WAKTU FERMENTASI PEMBUATAN BIOETANOL DENGAN BAHAN AMPAS TEBU DAN KULIT PISANG. 2, 219–234.
- [13] Nasrulloh, dkk. 2013. Hidrolisis Asam dan Enzimatis Pati Ubi Jalar (*Ipomoea batatas*) menjadi Glukosa sebagai Substrat Fermentasi Etanol. Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- [14] Rama, dkk. 2007. Bioetanol Ubi kayu; bahan Bakar Masa Depan. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- [15] Raskita, S. (2014). Uji Kesukaan Panelis Pada Teh Daun Torbangun (*Coleus amboinicus*). *Jurnal WIDYA Kesehatan Dan Lingkungan*. Vol 1. No 1.
- [16] Suyandra, I. S. 2007. Manfaat Hidrolisat Pati Sagu (*Metroxylon sp.*) sebagai Sumber Karbon pada Fermentasi Etanol oleh *Saccharomyces cerevisiae*. Skripsi Sarjana Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- [17] Ulul. Fikriyah. Yuka. & Silvia. Nasution. Reni. 2021. Analisis Kadar Air dan Kadar Abu pada Teh Hitam yang Dijual di Pasaran dengan Menggunakan Metode Gravimetri. Fakultas Sains dan Teknologi : Universitas Islam Negeri Ar-Raniry..
- [18] Widyastuti, F., & Fitri, A. (2020). *Perbandingan Proses SHF & SSF dalam Produksi Bioetanol dari Bonggol Pisang Kepok*. 3, 1–4. <https://pro.unitri.ac.id/index.php/sentikuin>.