

FERMENTASI KULIT NANAS MENGGUNAKAN *CLOSTRIDIUM ACETOBUTYLICUM* DENGAN VARIASI NUTRISI DAN INOKULUM

Sri Rezeki Muria¹, Elvie Yenie¹ dan Mayang Sari¹

¹Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Riau, Kampus Binawidya simpang baru
KM 12,5. Panam, Pekanbaru 28293, Indonesia.

E-mail : sri_muria@yahoo.co.id

ABSTRAK

Bioetanol adalah hasil ekstraksi dari tanaman yang melalui proses fermentasi. Konsumsi energi yang terus meningkat seiring meningkatnya populasi penduduk dan fokus pada polusi atmosfer yang disebabkan oleh bahan bakar fosil yang digunakan maka menarik dunia untuk menggali sumber energi yang dapat diperbaharui dalam bentuk bioenergi. Konversi limbah hasil pertanian menjadi *biofuel* saat ini menjadi satu hal yang sangat menarik. Penelitian ini mengenai produksi bioetanol dari limbah kulit nanas menggunakan *Clostridium acetobutylicum*. Penelitian ini dilakukan untuk mempelajari pengaruh konsentrasi inokulum, nutrisi dan waktu fermentasi terhadap yield produk yang dihasilkan dari fermentasi menggunakan *Clostridium acetobutylicum*. Pengerjaan penelitian dibagi menjadi tiga tahap yang termasuk preparasi inokulum, proses fermentasi dan analisa hasil. Hasil yang didapat menunjukkan bahwa konsentrasi bioetanol tertinggi adalah 9% yang didapat pada hari ke-8 waktu inkubasi, menggunakan nutrisi urea dan konsentrasi inokulum 14%. Kandungan bioetanol meningkat seiring dengan lamanya waktu fermentasi sampai hari ke-8 dan setelah itu menurun pada hari ke-10. Dan hasil yang cukup mencolok adalah bahwa konsentrasi bioetanol meningkat dengan meningkatnya konsentrasi inokulum sampai dicapainya kondisi optimum. Nutrisi yang terbaik dari penelitian ini adalah menggunakan urea daripada menggunakan amonium sulfat.

Kata Kunci : *Bioetanol, Fermentasi, Clostridium acetobutylicum, Nanas, Inokulum*

ABSTRACT

Bioethanol is a fuel extracted from plant by fermentation process. Energy consumption increases steadily as world population increases and concerns about atmospheric pollution derived from fossil fuels have resulted in a worldwide interest in exploring for renewable energy in the form of bioenergy. The conversion of agriculture waste into biofuels so interesting now. The present study describes ethanol production from ananas waste by Clostridium acetobutylicum. This study was carried out to investigate the effect of variations inoculum, nutrition and fermentation time on the product yield resulting from fermentation using Clostridium acetobutylicum. The experiment was divided into three stages which included inoculum preparations, fermentation process and analysis. The result showed that the highest bioethanol production 9% was obtained at 8 days incubation period, using urea nutrition and 14% inoculum size. Bioethanol content increased with increasing fermentation time until 8 days after that decrease at 10 days. In contrast bioethanol concentration increased with increasing inoculum concentration until optimum condition. Nutrition urea better than using amonium sulphate.

Keywords : *Bioethanol, Fermentation, Clostridium acetobutylicum, Ananas, Inoculum*

PENDAHULUAN

Bioetanol adalah adalah bahan bakar paling dikenal baik sebaik *biofuel* dan merupakan alkohol yang dihasilkan dari jagung, sorgum, kentang, gandum,

tebu, bahkan biomassa seperti batang jagung dan limbah sayuran. Hal ini biasanya dicampur dengan bensin. Kelebihan lain dari bioetanol adalah pada cara pembuatannya yang sederhana yaitu fermentasi dengan menggunakan mikroorganisme tertentu

(Mursyidin, 2007). Pembuatan bioetanol dari bahan yang mengandung gula relatif lebih mudah dan murah dibandingkan bahan berpati dan berselulosa, hal ini disebabkan karena pada bahan yang mengandung gula tidak perlu perlakuan pendahuluan (*pretreatment*) seperti proses liquifikasi, pemasakan, sakarifikasi dan hidrolisis. Tetapi jika ditinjau dari segi harga bahan baku, bahan yang mengandung gula lebih mahal dari bahan berpati dan berselulosa.

Pada penelitian ini, sumber bahan baku kulit nanas diperoleh dari Desa Kualu Nanas, Kec. Tambang, Kab. Kampar. Luas perkebunan nanas di Desa Kualu Nanas mencapai 1.050 hektare, dengan total produksi mencapai 1.456 ton per tahun atau 121 ton per bulan (Permodalan Nasional Madani, 2012). Hal ini akan memberikan dampak terhadap banyaknya limbah padat dari buah nanas itu sendiri, seperti kulit nanas. Oleh sebab itu dalam penelitian ini memanfaatkan limbah kulit nenas sebagai bahan baku untuk produksi bioetanol dengan bantuan *Clostridium acetobutylicum* (Nolling, J., 2001). Pada penelitian Lutke-Eversloh, T; dan Bahl, H. (2011) menggunakan *Clostridium acetobutylicum* untuk memproduksi butanol dan mendapatkan hasil yang baik dimana *Clostridium acetobutylicum* cukup banyak digunakan dalam beberapa tahun terakhir ini.

BAHAN DAN METODE

Dalam penelitian ini menggunakan bahan-bahan sebagai berikut kulit nanas dari Kabupaten Kampar, bakteri *Clostridium acetobutylicum*, Aquadest, KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, Urea ($(\text{NH}_2)_2\text{CO}$), dan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dan Reagen Nelson-Somogyi. Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah antara lain fermentor, erlenmeyer, *blender*, *autoclave*, *incubator*, *shaker*, spektrofotometer, pH meter, tabung reaksi dan rak, timbangan analitik, alkohol meter, cawan petri, *rotary evaporator*, spatula, pengaduk, jarum ose, bunsen, alkoholmeter, gelas ukur dan peralatan gelas lainnya.

Prosedur yang dilakukan pada penelitian ini melalui beberapa tahapan yaitu pembuatan inokulum, tahap fermentasi dan tahap analisa hasil.

a. Pembuatan inokulum dilakukan didalam erlenmeyer yaitu dengan cara menambahkan *slurry* kulit nanas 150 ml untuk konsentras inokulum 10%, 0,1 g/l KH_2PO_4 , urea ($(\text{NH}_2)_2\text{CO}$) 0,6 g/l atau amonium sulfat ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) 1,3 g/l dan 0,05 g/l $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Tanaka, 1999) sebagai nutrisi kedalam medium, dan kemudian diukur pHnya dengan

menggunakan pH meter. Larutan tersebut disterilkan dalam *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C . Kemudian medium inokulum didinginkan pada suhu kamar. Selanjutnya ditambahkan 1 tabung biakan bakteri *Clostridium acetobutylicum* kedalam medium inokulum dan diaduk menggunakan *shaker* selama 24 jam dengan kecepatan 150 rpm.

b. Fermentor yang digunakan untuk fermentasi adalah fermentor berukuran 2 liter. Fermentasi dilakukan pada suhu kamar dengan kecepatan pengadukan 150 rpm (Ruso, S., 2011). Proses fermentasi dilakukan dengan cara menambahkan nutrisi urea ($(\text{NH}_2)_2\text{CO}$) 0,6 g/l atau amonium sulfat ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) 1,3 g/l terhadap volume media yaitu 1,5 liter dan dimasukkan kedalam fermentor. Kemudian disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah itu didinginkan pada suhu ruang. Sejumlah inokulum ditambahkan kedalam medium fermentasi dengan komposisi 10%, 12%, 14% dan 16% volume inokulum terhadap volume total media, lalu proses fermentasi dilakukan selama 10 hari dengan waktu pengambilan sampel 2, 4, 6, 8 dan 10 hari.

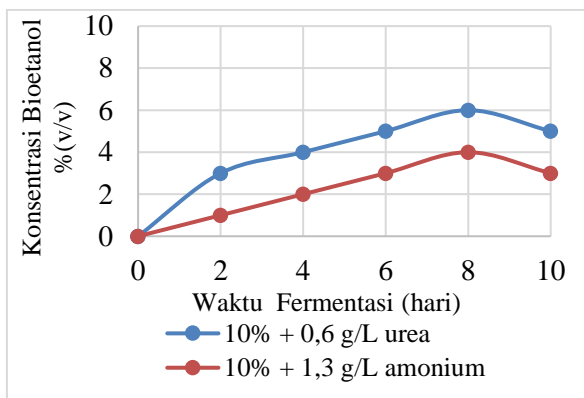
c. Analisa bioetanol hasil fermentasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

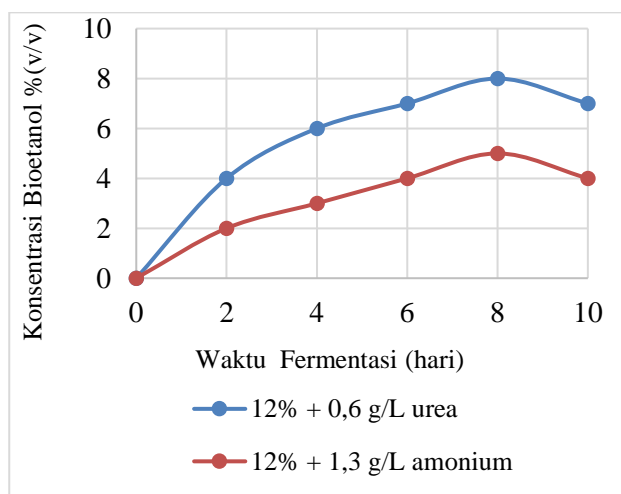
Pengaruh Penambahan Urea, Amonium Sulfat dan Waktu Fermentasi Terhadap Perolehan Bioetanol

Penambahan urea dan amonium sulfat di dalam media fermentasi pada penelitian ini memberikan hasil yang dapat dilihat pada gambar 1, 2, 3 dan 4. Dari grafik hasil penelitian tersebut terlihat perbedaan hasil yang didapat dengan menggunakan urea dan amonium sulfat. Perolehan bioetanol pada penambahan nutrisi urea lebih tinggi dibandingkan dengan penggunaan nutrisi amonium sulfat. Urea dan Amonium sulfat berfungsi sebagai sumber nitrogen bagi mikroorganisme untuk pertumbuhan dan memproduksi metabolit. Dengan semakin lamanya waktu fermentasi dari hari ke-0 sampai dengan hari ke-10 terlihat dengan bertambahnya waktu fermentasi terjadi peningkatan kadar bioetanol yang dihasilkan dan hal ini dapat dilihat pada gambar 1, 2, 3 dan 4, hal ini sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Fahriza, dkk (2013) yang menyatakan bahwa dengan bertambahnya waktu fermentasi maka bioetanol yang dihasilkan juga terjadi peningkatan. Gambar 1 memperlihatkan konsentrasi bioetanol yang terus meningkat dengan bertambahnya waktu fermentasi menggunakan inokulum 10%. Kenaikkan konsentrasi bioetanol

terus meningkat dari hari ke-0 sampai hari ke-8, selanjutnya pada hari ke-10 terjadi penurunan konsentrasi bioetanol yang dihasilkan. Dan juga dapat dilihat penggunaan nutrisi urea lebih baik daripada penggunaan nutrisi amonium sulfat dimana pada hari ke-8 dengan penggunaan nutrisi urea menghasilkan bioetanol dengan konsentrasi 6% sebaliknya dengan menggunakan nutrisi amonium sulfat hanya menghasilkan bioetanol dengan konsentrasi 4% di hari yang sama.

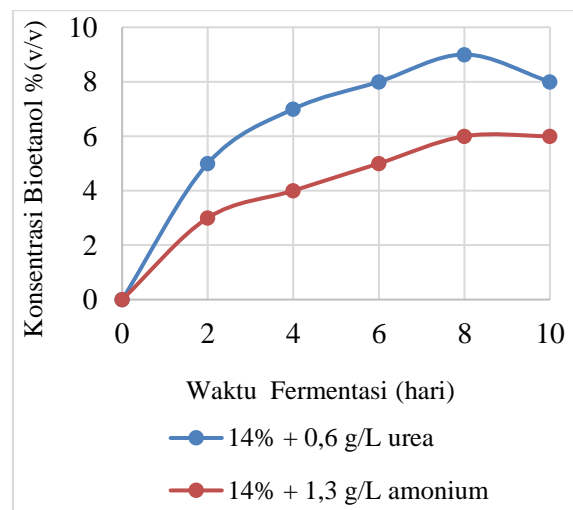


Gambar 1. Pengaruh penambahan urea dan amonium sulfat dan waktu fermentasi terhadap perolehan bioetanol pada konsentrasi inokulum 10%



Gambar 2. Pengaruh penambahan urea dan amonium sulfat dan waktu fermentasi terhadap perolehan bioetanol pada konsentrasi inokulum 12%
 Gambar 2 memperlihatkan hasil fermentasi kulit nanas menggunakan *Clostridium acetobutylicum* pada inokulum 12%. Jika dibandingkan dengan penggunaan inokulum 10% pada Gambar 1 terlihat hasil fermentasi yang menggunakan inokulum 12% mengasilkan bioetanol dengan konsentrasi yang lebih tinggi. Dari grafik terlihat dari hari ke-0 terjadi peningkatan konsentrasi bioetanol sampai hari ke-8 selanjutnya terjadi penurunan konsentrasi bioetanol pada hari ke-10. Hal tersebut sama pada penggunaan nutrisi urea maupun nutrisi amonium sulfat.

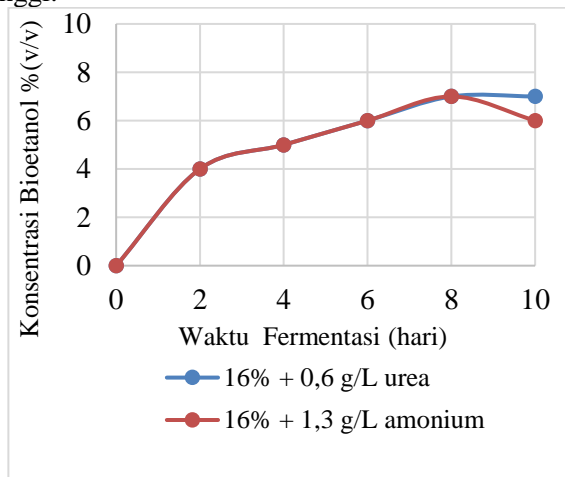
Konsentrasi bioetanol yang tertinggi terjadi pada hari ke-8 yaitu 8% untuk penggunaan nutrisi urea dan 5% untuk penggunaan amonium sulfat. Gambar 1, 2, 3 dan 4 juga menerangkan hasil dari penggunaan inokulum yang berbeda-beda yaitu dengan konsentrasi 10%, 12%, 14% dan 16%, dari grafik tersebut dapat dilihat konsentrasi bioetanol tertinggi terdapat pada konsentrasi inokulum 14% dan pada penggunaan nutrisi urea serta waktu fermentasi 8 hari dengan perolehan konsentrasi bioetanol sebesar 9% v/v. Kusumaningati dkk (2013) menyatakan bahwa peningkatan konsentrasi inokulum bisa meningkatkan konsentrasi bioetanol yang dihasilkan karena mikroorganisme memanfaatkan gula reduksi yang banyak didalam media fermentasi. Menurut Prescott and Dunn (1959), faktor yang mempengaruhi peningkatan kadar bioetanol selama proses fermentasi adalah ketersediaan substrat gula reduksi dan jumlah mikroorganisme.



Gambar 3. Pengaruh penambahan urea dan amonium sulfat dan waktu fermentasi terhadap perolehan bioetanol pada konsentrasi inokulum 14%

Pengaruh penggunaan konsentrasi inokulum sebanyak 14% dapat dilihat pada Gambar 3. Dari grafik Gambar 3 dapat dilihat konsentrasi bioetanol tertinggi adalah pada penggunaan inokulum 14%, dimana pada penggunaan nutrisi urea didapat bioetanol dengan konsentrasi tertinggi 9% dan penggunaan amonium sulfat mendapat hasil bioetanol 6%. Bioetanol tertinggi didapatkan pada hari ke-8 dan selanjutnya terjadi penurunan pada hari ke-10. Dari hasil ini dapat dikatakan penggunaan inokulum 14% adalah yang paling tepat untuk bakteri *Clostridium acetobutylicum* pada fermentasi kulit nanas yang menghasilkan bioetanol dengan konsentrasi tertinggi. Dan jika dibandingkan dengan hasil pada Gambar 1 dan Gambar 2 terlihat bahwa fermentasi kulit nanas menggunakan *Clostridium acetobutylicum* mencapai konsentrasi bioetanol

tertinggi pada hari ke-8. Bisa dikatakan bahwa gula reduksi yang terdapat pada kulit nanas sudah habis setelah melewati hari ke-8. Amadi dan Ifeanacho (2016) juga mendapatkan hasil yang sama dimana dengan bertambah banyaknya penggunaan mikroorganisme pada proses fermentasi maka konsentrasi bioetanol yang dihasilkan semakin tinggi.



Gambar 4. Pengaruh penambahan urea dan amonium sulfat dan waktu fermentasi terhadap perolehan bioetanol pada konsentrasi inokulum 16%

Pengaruh penambahan nutrisi urea dan amonium sulfat pada Gambar 4 menunjukkan kecenderungan yang hampir sama, bisa dilihat dari grafik yang berhimpitan, hanya terjadi perbedaan pada hari ke-10. Gambar 4 adalah hasil fermentasi dari penggunaan inokulum sebanyak 16%. Pada inokulum 16% penggunaan nutrisi urea maupun amonium sulfat mencapai konsentrasi bioetanol tertinggi sama-sama dihari ke-8 dengan konsentrasi yang sama yaitu 7%. Penggunaan nutrisi yang berbeda pada konsentrasi inokulum yang tinggi tidak memberikan dampak yang berbeda hal ini karena banyaknya jumlah mikroorganisme yang ada sehingga tingkat konsumsinya cukup tinggi. Dari hasil konsentrasi bioetanol yang didapat sebanyak 7% pada inokulum 16% ini dapat dikatakan jumlah inokulum yang digunakan harus sesuai dengan konsentrasi substrat yang digunakan. Dimana pada inokulum 10%, 12% dan 14% terjadi peningkatan konsentrasi bioetanol yang didapatkan, selanjutnya pada konsentrasi inokulum 16% terjadi penurunan konsentrasi bioetanol. Hal ini sesuai dengan penelitian Hosny dkk (2016) yang mendapatkan hal yang sama dimana dengan meningkatnya konsentrasi inokulum didapatkan hasil fermentasi bioetanol yang juga meningkat, tetapi setelah tercapai kondisi puncak selanjutnya dengan penambahan konsentrasi inokulum hasil bioetanol yang didapatkan menjadi menurun hal ini

disebabkan karena penurunan jumlah nutrisi yang ada yang tak sesuai dengan jumlah mikroorganisme.

Setelah kondisi optimum tercapai dan proses fermentasi tetap dilanjutkan maka bioetanol yang dihasilkan cenderung mengalami penurunan. Seperti terlihat pada gambar 1, 2, 3 dan 4 pada hari ke-10 fermentasi, kadar bioetanol mengalami penurunan. Hal ini disebabkan karena glukosa yang terkonversi menjadi produk oleh mikroorganisme semakin sedikit dan mendekati habis sehingga mikroba kehabisan nutrisi untuk bertahan hidup dan mengalami fase stasioner (Garbutt, 1997). Adanya penurunan konsentrasi bioetanol juga disebabkan karena bioetanol yang dihasilkan terkonversi menjadi asam-asam organik seperti asam asetat, asam cuka dan ester (Purwoko, 2007).

KESIMPULAN

Fermentasi kulit nanas menggunakan *Clostridium acetobutylicum* mendapatkan hasil konsentrasi bioetanol tertinggi yaitu 9% pada konsentrasi inokulum 14% dengan nutrisi urea pada hari ke-8. Nutrisi urea yang digunakan memberikan hasil fermentasi yang lebih baik daripada nutrisi amonium sulfat. Dengan bertambahnya waktu fermentasi terjadi peningkatan jumlah konsentrasi bioetanol yang didapatkan sampai waktu optimum selanjutnya terjadi penurunan konsentrasi bioetanol yang didapatkan. Begitu juga untuk jumlah inokulum yang digunakan dengan semakin meningkatnya konsentrasi inokulum maka terjadi kenaikan konsentrasi bioetanol yang didapatkan sampai mencapai kondisi optimumnya selanjutnya terjadi penurunan hasil bioetanol dengan naiknya konsentrasi inokulum.

DAFTAR PUSTAKA.

- Amadi, P.,U & Ifeanacho, M.,O., 2016. Impact of changes in fermentation time, volume of yeast, and mass of plantain pseudo-stem substrate on the simultaneous saccharification and fermentation potentials of African land snail digestive juice and yeast. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 14, pp. 289-297.
- Fahrizal, Abubakar, Y., Muzaiifa, M. & Muslim., 2013. The Effects of Temperature and Length of Fermentation on Bioethanol Production from Arenga Plant (*Arenga pinnata* MERR). *International Journal on Advanced Science and Engineering Information Technology*. 3(3).
- Garbutt, J., 1997. *Essentials of Food Microbiology*, London:Arnold.
- Hosny, M.,Mervat A. Abo-State.,El-Sheikh., H.,H., El-Temtamy, S.,A., 2016. Factors Affecting

- Bioethanol Production from Hydrolyzed Bagasse. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences*. 3(9), pp. 130-138.
- Kusumaningati, A.M., Nurhatika, S., dan Muhibuddin, A., 2013. Pengaruh Konsentrasi Inokulum Bakteri *Zymomonas Mobilis* dan Lama Fermentasi Pada Produksi Etanol dari Sampah Sayur dan Buah Pasar Wonokromo Surabaya. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. Vol. 2, No.2
- Lutke-Eversloh, T; dan Bahl, H., 2011. Metabolic engineering of *Clostridium acetobutylicum*: recent advances to improve butanol production. *Current Opinion in Biotechnology*, 22(5), 634-647.
- Mursyidin, D., 2007. *Ubi kayu dan bahan bakar terbarukan*. Banjarmasin. (Online). Available : <http://www.banjarmasin.net/pedoman/Bahan/bakar/terbarukan>. Diakses pada 10 Desember 2016.
- Nolling, J., 2001. Genome sequence and comparative analysis of the solvent-producing bacterium *Clostridium acetobutylicum*. *J Bacteriol*, 183(16) pp. 4823-4838.
- Permodalan Nasional Madani, 2012. *PNM Laksanakan Klasterisasi Industri UKM Keripik Nenas di Desa Kualu Nenas, Riau*. (Online). Available : <http://www.pnm.co.id/>. Dikases tanggal 10 Desember 2016
- Prescott, S.C., dan Dunn, C.G., 1981. *Industrial Microbiology*, New York: Mc. Grow-Hill Book Co Ltd.
- Purwoko, T., 2007. *Fisiologi Mikroba*. Bumi Aksara: Jakarta
- Ruso, S., 2011. *Pembuatan Bioetanol Dari Batang Rumput Gajah (Pennisetum purpureum schumach) Dengan Sistem Fermentasi Simultan Menggunakan Bakteri Clostridium acetobutylicum*. Skripsi. Jurusan Kimia Fakultas MIPA. UNHAS: Makassar.
- Tanaka, K., Hilary, Z.D., dan Ishizaky., 1999. A Investigation of the Utility of Pineapple Juice and Pineapple Waste Material as Low-Cost Substrate for Ethanol Fermentation by *Zymomonas mobilis*. *J.Biosci Bioeng*, 87(5), pp. 642-646.