



Pengaruh Konsentrasi Bakteri *Bacillus subtilis* Terhadap Kadar Bioetanol pada Substrat Kulit Nanas

*Eva Tri Kurniawati¹, Trianik Widyanigrum¹, Nur Jati Jagad²

¹Program Studi Pendidikan Biologi, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta, Indonesia

²Program Studi Bioteknologi, Institut Teknologi dan Kesehatan Muhammadiyah Kalimantan Barat, Kalimantan Barat, Indonesia

*Email: evatrikurniawati@gmail.com

Informasi Artikel:

Diterima: 27 Agustus 2024

Revisi Akhir: 10 Februari 2025

Terbit: 19 Februari 2025

Keywords:

Bacillus subtilis

Bioetanol

Fermentation

Pineapple peel

Kata Kunci:

Bacillus Subtilis

Bioetanol

Fermentasi

Kulit nanas

ABSTRACT

The development of technology and global community mobility have resulted in increased energy use. Renewable and environmentally friendly alternative energy is needed, namely the development of bioethanol. Pineapple peel can be used as a bioethanol material because it contains high cellulose with the addition of cellulase enzymes to help degrade cellulose into sugar. This study aims to determine the effect of adding *Bacillus subtilis* bacteria to pineapple peel fermentation on the levels of fermented bioethanol, and the concentration of bacteria that produce maximum bioethanol. This study is an experimental study using a Completely Randomized Design, with independent variables of *Bacillus subtilis* bacterial concentrations of 0%, 5%, 7.5%, 10%. The binding variables are the sugar reduction rate and Bioethanol content. The results showed that the addition of *Bacillus subtilis* bacteria can affect the bioethanol content of pineapple peel. The concentration of *Bacterilus subtilis* that can produce the highest bioethanol is at a bacterial concentration of 7.5% with an average sugar content of 7.0488% producing a bioethanol content of 1.262%.

ABSTRAK (Cambria Bold 10, 1 cm dari margin kiri dan kanan)

Berkembangnya teknologi dan mobilitas masyarakat global mengakibatkan meningkatnya penggunaan energi. Diperlukan energi alternatif yang terbarukan dan ramah lingkungan yaitu pengembangan bioetanol. Kulit buah nanas dapat dimanfaatkan sebagai bahan bioetanol karena mengandung selulosa yang tinggi dengan penambahan enzim selulase untuk membantu mendegradasi selulosa menjadi gula. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan bakteri *Bacillus subtilis* terhadap fermentasi kulit buah nanas terhadap kadar bioetanol hasil fermentasi, mengetahui konsentrasi bakteri yang menghasilkan bioetanol maksimal. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap, dengan variabel bebas konsentrasi bakteri *Bacillus subtilis* 0%, 5%, 7,5%, 10%. Variabel terikatnya adalah kadar gula reduksi dan kadar Bioetanol. Hasil penelitian menunjukkan penambahan bakteri *Bacillus subtilis* dapat berpengaruh terhadap kadar bioetanol kulit buah nanas. Konsentrasi bakteri *Bacillus subtilis* yang dapat menghasilkan bioetanol tertinggi adalah pada konsentrasi bakteri 7,5% dengan kadar gula rata-rata sebesar 7,0488% menghasilkan kadar bioetanol sebesar 1,262%.

PENDAHULUAN

Semakin berkembangnya jaman yang diikuti dengan berkembangnya teknologi dan mobilitas masyarakat global mengakibatkan semakin meningkatnya penggunaan energi. Faktanya cadangan energi pada saat ini semakin menipis (Aminah dan Suparti, 2009). Diperlukan energi alternative yang dapat diperbaharui yang ramah lingkungan. Salah satu energi alternatif yang dapat menggantikan sumber energi fosil yang semakin menipis adalah bioetanol. Bioetanol dihasilkan dari gula yang di fermentasi dengan

mikroorganisme *Saccharomyces cerevisiae*. Suhu yang baik untuk proses fermentasi berkisar antara 25- 30 oC. dan pH 4,5.

Kulit nanas mengandung karbohidrat dan gula yang cukup tinggi. Di Indonesia hasil dari tanaman nanas sangat melimpah tapi sangat disayangkan sekali kulit dari nanas hanya dibuang begitu saja dan kurang dimanfaatkan. Menurut Wijana, dkk (1991) kulit nanas mengandung 81,72 % air, 20,87 % serat kasar, 17,53 % karbohidrat, 4,41 % protein dan 13,65 % gula reduksi. Mengingat kandungan karbohidrat dan gula yang cukup tinggi maka memungkinkan untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan bioetanol. Kulit nanas mengandung selulosa yang dapat dikonversi menjadi gula dengan bantuan enzim selulase. Enzim selulase terdapat pada mikroorganisme yang salah satunya yaitu *Bacillus subtilis*. Bakteri *Bacillus subtilis* mampu menghasilkan enzim selulase bila ditempatkan pada lingkungan yang terdapat selulosa. Adanya enzim selulase pada lingkungan hidup *Bacillus* memacu bakteri untuk mensekresikan enzim selulase dan mengubah selulosa menjadi gula (Otajevwo 2010).

Bioetanol merupakan salah satu bahan bakar alternatif terbarukan yang potensial untuk dikembangkan di Indonesia. Bioetanol dihasilkan dari proses fermentasi biomassa yang dibantu oleh mikroorganisme. Syarat untuk membuat bioetanol adalah bahan hayati yang memiliki kandungan gula (glukosa, pati, dan serat) (Hambali dkk., 2007).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh konsentrasi bakteri *Bacillus subtilis* pada substrat kulit nanas terhadap kadar bioetanol hasil fermentasi, untuk mengetahui konsentrasi *Bacillus subtilis* pada substrat kulit nanas yang dapat menghasilkan kadar bioetanol tertinggi.

METODE PENELITIAN

TEMPAT DAN WAKTU PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober-November 2016. Fermentasi, pembuatan substrat dan inokulasi bakteri *Bacillus subtilis* dilakukan di Laboratorium Terpadu FMIPA Universitas Ahmad Dahlan sementara pengujian gula reduksi dan kadar bioethanol dilakukan di Laboratorium Pangan dan Gizi-Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian Universitas Gadjah Mada.

ALAT DAN BAHAN

Alat dan bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah kompor, pisau, panci, blender, botol ukuran 1-liter sebanyak 4 botol kaca, fermentor, timbangan analitik, saringan, pengaduk, destilator, inkubator, lemari pendingin, spektrofotometri, piringan, microconway, mikro pipet, pipet hisap, pipet tetes, gelas beker, jarum ose, Bakteri *Bacillus subtilis*, aquades, kalium karbonat, K₂Cr₂O₇, HCL, kertas indikator universal, larutan Mc Farland, NaCl 0,9 %, Larutan Nelson Somogyi, TSA, media NB.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan secara eksperimen dengan rancangan acak lengkap sehingga didapatkan gula reduksi dari proses sakarifikasi menggunakan bakteri *Bacillus subtilis* yang siap diolah menjadi bioetanol dengan proses fermentasi. Hasil dari fermentasi dianalisis kadar bioetanolnya dengan metode micro conway.

Kulit nanas di blender dengan menggunakan aquades dengan perbandingan 1:2. Selanjutnya diukur kandungan gula reduksinya dan dilakukan proses sakarifikasi dengan ditambahkan konsentrasi bakteri *Bacillus subtilis* dengan variasi tertentu kemudian diukur kandungan kadar gula reduksinya lagi. Selanjutnya dilakukan proses fermentasi dikerjakan pada suhu 25-30 oC, dilanjutkan proses destilasi dan dianalisis kadar bioetanolnya.

Analisis data pada penelitian ini menggunakan analisis regresi dengan analisis varian (ANOVA) dan uji BNT 5% untuk mengetahui perbedaan perlakuan dan apabila terdapat perbedaan nyata.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Substrat kulit nanas sebelum di sakarifikasi di ukur kadar gula reduksinya menggunakan metode Nelson somogyi setelah diuji kadar gula reduksi kemudian di tambahkan dengan variasi konsentrasi bakteri untuk meningkatkan kadar gula reduksi yaitu dengan konsentrasi 0%, 5%, 7,5%, dan 10% dan disakarifikasi selama 6 hari dan di uji kembali kadar gula reduksinya. Menurut (Biorata dkk., 2012) Genus *Bacillus* merupakan salah satu kelompok bakteri yang mampu mendegradasi selulosa.

Hasil gula reduksi yang didapatkan setelah proses sakarifikasi yaitu terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi bakteri maka semakin pula kadar gula reduksi yang dihasilkan. Kondisi optimum yang didapat

adalah pada kadar konsentrasi bakteri *Bacillus subtilis* 7,5% dengan kadar gula reduksi rata-rata sebesar 7,4088%. Pengujian kadar gula reduksi dilakukan sebelum dan sesudah pemberian konsentrasi bakteri. Perlakuan konsentrasi bakteri atau disebut juga dengan kontrol dihasilkan rata-rata gula reduksi sebesar 3,4242%. Setelah diberi perlakuan konsentrasi bakteri dengan variasi konsentrasi 5%, 7,5%, dan 10% dan diuji kembali kadar gula reduksinya setiap substrat mengalami peningkatan kadar gula reduksinya, yaitu dihasilkan pada konsentrasi 0% (T0) tetap mendapatkan hasil rata-rata sebesar 3,4242%, pada konsentrasi bakteri 5% (T1) mendapatkan hasil rata-rata gula reduksi sebesar 5,4031%, pada konsentrasi bakteri 7,5% (T2) mendapatkan hasil rata-rata sebesar 7,4088%, dan pada konsentrasi bakteri 10% (T3) mendapatkan hasil rata-rata sebesar 5,3137%. Namun pada pemberian bakteri dengan konsentrasi 10% mengalami penurunan yaitu dihasilkan kadar gula reduksi rata-rata sebesar 5,3137% hal ini dimungkinkan karena pemberian konsentrasi 10% dengan kondisi selulosa yang sedikit dan bakteri yang terlalu banyak maka mengakibatkan bakteri yang ada didalamnya itu mati karena kekurangan selulosa. Hasil ini sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Sari (2012) yaitu kondisi optimum bakteri yang diberikan yaitu sebesar 7,5%. Menurut Winarni (2014) Salah satu faktor yang mempengaruhi kadar gula reduksi adalah pada penambahan konsentrasi bakteri yang terlalu tinggi terjadi penurunan kadar gula reduksi hal ini disebabkan karena selulosa yang merupakan substrat untuk pertumbuhan bakteri sudah diubah menjadi gula.

Tabel 1. Hasil uji gula reduksi yang belum diberi bakteri

Sampel	Ulangan.1	Ulangan.2	Rata-rata
T0	3,3828	3,4656	3,4242
T1	3,3828	3,4656	3,4242
T2	3,3828	3,4656	3,4242
T3	3,3828	3,4656	3,4242

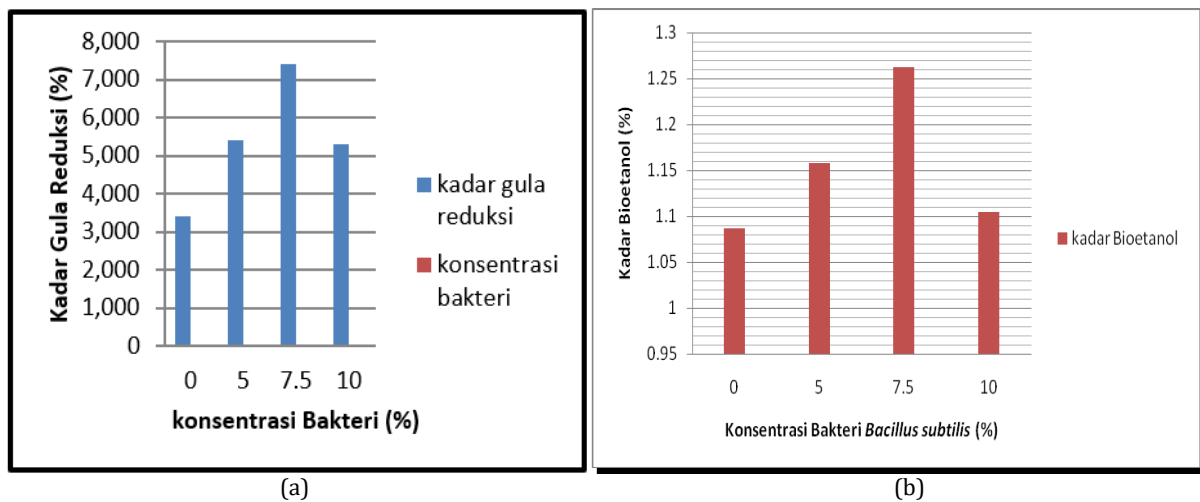
Tabel 2. Rataan jumlah buku (dari tunas vigor) per perlakuan konsentrasi sukrosa

Sampel	Ulangan.1	Ulangan.2	Rata-rata
T0	3,3828	3,4656	3,4242
T1	5,3378	5,4685	5,4031
T2	7,3689	7,4488	7,4088
T3	5,2136	5,4138	5,3137

Hasil substrat yang sudah disakarifikasi dan diuji kadar gula reduksinya kemudian masuk ke dalam tahap fermentasi. Pada penelitian ini proses fermentasi menggunakan bantuan mikroorganisme yaitu *Saccharomyces cereviceae* yang berfungsi untuk mengubah gula menjadi bioetanol. Pada proses fermentasi ini dilakukan selama 4 hari dan menggunakan *Saccharomyces cereviceae* sebesar 15 gram. Berdasarkan dari hasil pengukuran bioetanol didapat semakin tinggi penambahan konsentrasi bakteri dan kandungan gula reduksinya maka semakin besar bioetanol yang didapatkan. Penambahan bakteri sebesar 0% (K0) menghasilkan bioetanol rata-rata sebesar 1,085% ini merupakan kadar bioetanol terendah karena tidak diberi perlakuan bakteri *Bacillus subtilis* sehingga pada substrat ini tidak mengalami proses sakarifikasi dan hanya mengandung gula reduksi yang sedikit yaitu rata-rata gula reduksi sebesar 3,4242%. Pada (S1) penambahan bakteri *Bacillus subtilis* dengan konsentrasi sebesar 5% mengandung gula reduksi rata-rata sebesar 5,403% dapat menghasilkan bioetanol rata-rata sebesar 1,158%. Pada T3 konsentrasi bakteri 7,5% merupakan konsentrasi bakteri yang optimum untuk menghasilkan kadar bioetanol dengan rata-rata kadar gula reduksi sebesar 7,4088% dan menghasilkan kadar etanol rata-rata sebesar 1,262%. Dari Tabel 4 dapat dinyatakan bahwa konsentrasi 7,5% kadar etanol meningkat dibandingkan dengan pada konsentrasi 0% dan 5% karena pada konsentrasi gula yang tinggi menyebabkan kadar kadar etanol yang dihasilkanpun meningkat. Namun pada penambahan konsentrasi bakteri 10% (S3) mengalami penurunan kandungan gula reduksinya yaitu dengan rata-rata gula reduksi sebesar 5,3137% dapat menghasilkan bioetanol rata-rata sebesar 1,105% karena semakin sedikit kandungan gula yang dihasilkan pada substrat maka semakin sedikit pula etanol yang dihasilkan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Widjaja dkk, (2009) konsentrasi glukosa yang tinggi akan menyebabkan kadar bioetanol meningkat.

Tabel 3. Hasil Uji Bioetanol

Sampel	Ul.1	Ul.2	Rata-rata
K0	1,087	1,087	1,087
S1	1,158	1,158	1,158
S2	1,261	1,264	1,262
S3	1,087	1,152	1,105



Gambar 1. (a) Diagram Hasil Pengukuran Kadar Gula Reduksi dan (b) Diagram Hasil Pengukuran Kadar Bioetanol

KESIMPULAN

Berdasarkan tujuan penelitian yang telah diuraikan, maka didapatkan kesimpulan yaitu, Penambahan bakteri *Bacillus subtilis* dapat berpengaruh terhadap kadar bioetanol kulit buah nenas serta dapat menghasilkan bioetanol tertinggi adalah pada konsentrasi bakteri 7,5 % dengan kadar gula rata-rata sebesar 7,0488 % menghasilkan kadar bioetanol sebesar 1,262 %.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada seluruh pihak diantaranya kepala laboratorium FMIPA UAD Drs. Hadi Sasongko, M.Si. dan juga pembimbing skripsi Prof. Dr. Trianik Widya Ningrum. M.Si. yang telah membantu menyelesaikan artikel ini.

REFERENCES

- Aminah, Asngad dan Suparti. 2009. Lama Fermentasi dan Dosis Ragi Yang Berbeda Pada Fermentasi Gaplek Ketela Pohon (Manihot utilissima, pohl) Varietas Mukibat Terhadap Kadar Glukosa dan Bioetanol. Jurnal penelitian Sains dan Teknologi. Vol.10, No.1, 2009:1-9.
- Biorata, A. M. 2012. Pengaruh Produksi Selulase dari *Bacillus* sp. BPPT CC RK 2 Menggunakan Metode Reson Permukaan dengan Variasi Rasio C/N dan Waktu Fermentasi. Jakarta: Skripsi Teknologi Bioproses Universitas Indonesia.
- Hambali, E, Siti Mujdalifah, A. Halomoan, Tambunan, A.W. Pattiwiri, & R. Hendroko. 2007. Teknologi Bioenergi. Agro Media Pustaka. Jakarta.
- Otajewwo, F. ., & Aluyi, H. S. . (2010). Cultural Conditions Necessary For Optimal Cellulase Yield By Cellulolytic Bacterial Organisms As They Relate To Residual Sugars Released In Broth Medium. Nigerian Journal of Microbiology, 24(1), 2168 - 2182.
- Sari, Ni Ketut., K. Y. Dharmawan., A. Gitawati. 2012. Pemanfaatan Limbah Biji Jagung Dari Industri Pembibitan Benih Jagung Menjadi Bioetanol. Seminar Nasional Teknik Kimia Soebardjo Brotohardjono IX.
- Widjaja, H. 2009. Bioteknologi. Jakarta: EGC. 128.

*Eva Tri Kurniawati (Corresponding Author)

Universitas Ahmad Dahlan
Jl. Ringroad Selatan, Bantul, Yogyakarta, Indonesia
Email: evatrikurniawati@gmail.com

Trianik Widyaningrum

Universitas Ahmad Dahlan
Jl. Ringroad Selatan, Bantul, Yogyakarta, Indonesia
Email: trianik.widyaningrum@pbio.uad.ac.id

Nur Jati Jagad

Institut Teknologi dan Kesehatan Muhammadiyah Kalimantan Barat
Jl. Sungai Raya Dalam, Kubu Raya, Kalimantan Barat, Indonesia
Email: nurjatijagad@itekesmukalbar.ac.id