

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Nanas (*Ananas Comocus L. Mer*)

Nanas merupakan tanaman buah berupa semak yang memiliki nama ilmiah *Ananas comosus*. Di Indonesia, nanas ditanam di kebun-kebun, pekarangan, dan tempat-tempat lain yang cukup mendapat sinar matahari pada ketinggian 1-1300 m dpl. Nanas merupakan tanaman buah yang selalu tersedia sepanjang tahun. Helai daun bentuk pedang, tebal, panjang 80-120 cm, lebar 2-6 cm, ujung lancip menyerupai duri, tepi berduri tempel yang membengkok ke atas, sisi bawah bersisik putih, berwarna hijau atau hijau kemerahan.

Bagian utama yang bernilai ekonomis dari nanas adalah buahnya. Buahnya bulat panjang, berdaging, berwarna hijau, jika masak warnanya menjadi kuning. Buahnya selain di makan secara langsung, bisa juga diawetkan dengan cara direbus dan diberi gula, dibuat selai, atau dibuat sirup. Daunnya yang berserat dapat dibuat benang ataupun tali. Gambar buah nanas dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Buah nanas

Sumber : (<https://www.google.co.id/search?q=nanas+prabumulih>)

Klasifikasi tanaman nanas : (wikipedia.co.id)

Kingdom : *Plantae (tumbuh-tumbuhan)*
Divisi : *Spermatophyta (tumbuhan berbiji)*
Kelas : *Angiospermae (berbiji tertutup)*
Ordo : *Farinosae (Bromeliales)*
Famili : *Bromeliaceae*
Genus : *Ananas*
Species : *Ananas comosus (L) Merr*

Negara Indonesia merupakan negara agraris yang mempunyai sumber daya alam (hayati) sangat besar. Salah satu produk buah tropis yang potensial adalah nanas. Produksi nanas di Indonesia sangat besar yaitu 2.237.858 ton, dimana daerah produksi nanas terbesar adalah di Lampung dan Jawa Barat (Statistika Indonesia, 2007). Dengan semakin meningkatnya produksi nanas di Indonesia, maka limbah yang dihasilkan berupa kulit nanas akan semakin meningkat pula.

Limbah nanas berupa kulit, ati/bonggol buah atau cairan buah dapat diolah menjadi produk lain seperti etanol. Secara ekonomi kulit nanas masih bermanfaat untuk diolah menjadi pupuk dan pakan ternak (Kumalamingsih, 1993).

Kulit nanas memiliki pH 4,1, kadar Nitrogen 0,88%, kadar C-organik 41,11%, nilai ratio C/N organik 46,72 dan kadar air pada kulit nanas sebesar 86,24% (Sriharti, 2006). Gambar kulit nanas dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Kulit nanas

Sumber : Dokumentasi pribadi

Tabel komposisi kimia limbah nanas dan tabel komposisi analisis proksimat limbah kulit nanas dapat dilihat pada tabel 1 dan 2.

Tabel 1. Komposisi kimia limbah nanas

Analisis	Nanas	
	Daging	Flesh + Kulit
pH	3,2	4,1
Kelembaban (g/100 g)	85,61	90,50
Ash (g/100 g)	0,38	0,63
Protein (g/100 g)	0,42	0,60
Eter ekstrak (g/100 g)	0,17	0,30
Serat (g/100 g)	1,78	1,83
Karbohidrat (g/100 g)	11,64	6,14
Berat kering (g/100 g)	14,39	9,50
Magnesium (mg/100 g)	43,77	72,15
Kalsium (mg/100 g)	40,10	-
Fosfor (mg/100 g)	30,80	-

Sumber : www.unu.edu

Tabel 2. Analisis proksimat kulit nanas berdasarkan berat basah

Komposisi	Rata-rata Berat Basah
Air	86,70
Protein	0,69
Lemak	0,02
Abu	0,48
Serat basah	1,66
Karbohidrat	10,54

Sumber : Sidartha (1989)

Menurut analisa diatas 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 Hasnelly dan Dewi (1997) 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.

2.2. Sterilisasi

2.2.1 Pengertian Sterilisasi

Sterilisasi merupakan suatu proses untuk mematikan semua mikroba dan

merusak spora (sel yang tidak aktif yang lebih resisten terhadap panas dibandingkan dengan sel vegetatif mikroorganisme) sehingga tidak ada lagi mikroba yang dapat berkembang biak pada medium yang akan dipakai untuk pembuatan etanol.

2.2.2 Prosedur Sterilisasi

Prosedur sterilisasi cukup beranekaragam tergantung prosedur mana sterilisasi mungkin berhasil. Pada prinsipnya sterilisasi dapat dilakukan dengan tiga cara, yaitu :

2.2.2.1 Mekanik

Menggunakan suatu saringan yang berpori sangat kecil (0,22 mikron atau 0,45 mikron) sehingga mikroba tertahan dalam saringan tersebut. Proses ini ditujukan untuk sterilisasi bahan yang peka terhadap panas, misalnya larutan enzim dan antibiotik.

2.2.2.2 Fisik

a. Pemanasan Basah

1) Panas Lembab (Pemanasan dengan tekanan)

Proses sterilisasi dengan menggunakan panas ini sangat tergantung pada waktu dan suhu sterilisasi. Suhu sterilisasi bergantung pada tekanan uap, biasanya suhu uap adalah 100°C, mensterilkan pada suhu ini akan diperlukan waktu yang sangat lama mungkin berjam-jam. Namun apabila uap dibatasi dalam bejana yang tertutup, tekanannya akan naik, dan suhu uap akan naik dengan sebanding. Pada tekanan 15 pon setiap inci persegi (1,05 kg/cm²) suhu uap mencapai 121°C. Ini adalah suhu yang paling umum dipakai untuk sterilisasi. Kondisi yang demikian ini dipenuhi dalam autoklaf, kelayakan autoklaf dilengkapi dengan pengendali yang secara otomatis membuang udara sebelum tekanan uap meningkat sampai 15 pon/inci. Penggunaan autoklaf adalah salah satu cara sterilisasi yang paling meyakinkan, namun pengoperasian yang salah dapat menimbulkan kepercayaan meleset dalam sterilisasi peralatan. Lamanya waktu untuk mensterilkan dalam autoklaf berbeda – beda untuk tiap bahan atau peralatan instrument. Jika 20 menit pada suhu 121°C adalah waktu yang disarankan untuk muatan kecil, mungkin diperlukan 60 menit untuk muatan yang lebih besar.

2) Air Mendidih (Perebusan)

Bentuk vegetatif organisme patogen segera dirusak pada suhu air mendidih (100°C). Biasanya organisme akan mati dalam waktu beberapa menit pada suhu 80°C , namun beberapa endospora bakteri memperlihatkan ketahanan luar biasa terhadap panas dan mungkin bertahan hidup pada suhu air mendidih sampai 20 jam.

3) Tyndalisasi (Sterilisasi Fraksi)

Tyndalisasi dilakukan dengan memanaskan medium atau larutan dengan menggunakan uap selama satu jam setiap hari selama tiga hari berturut – turut. Waktu inkubasi diantara dua proses sengaja diadakan agar spora dapat bergemini menjadi sel vegetatif sehingga mudah dihancurkan.

4) Pasteurisasi

Pasteurisasi yaitu proses pemanasan pada suhu dan waktu tertentu dimana semua patogen yang berbahaya bagi manusia akan terbunuh. Pasteurisasi dapat dilakukan pada suhu yang relatif rendah dalam waktu yang lama yaitu 65°C selama 30 menit, atau pada suhu tinggi dalam waktu singkat yaitu 72°C selama 15 detik. Setelah pasteurisasi, produk harus didinginkan dengan cepat untuk mencegah pertumbuhan bakteri yang masih hidup.

b. Pemanasan Kering (Sterilisasi Panas-Kering)

Sterilisasi ini kurang efektif untuk membunuh bakteri karena menyebabkan dehidrasi sel. Pemanasan ini sering menggunakan oven dengan sistem udara statis. Sterilisasi panas-kering memerlukan suhu yang lebih tinggi untuk keefektifan penuh dari sterilisasi uap.

c. Radiasi

Radiasi didefinisikan sebagai transmisi energi melalui ruangan. Radiasi dapat merusak mikroorganisme, yang dapat menyebabkan kematian atau mutasi. Radiasi yang telah digunakan untuk mengendalikan mikroorganisme adalah radiasi pengionan (sinar-X, sinar Gamma, dan sinar Katode) dan sinar Ultra violet.

2.2.2.3 Kimia

Menggunakan senyawa desinfektan misalnya alkohol (Elina Margaretty, 2007). Pada penelitian ini sterilisasi yang digunakan adalah sterilisasi dengan cara pemanasan basah yaitu sterilisasi.

2.2.2 Pengertian Autoklaf

Autoklaf adalah alat untuk mensterilkan berbagai macam alat dan bahan. Autoklaf merupakan salah satu metode sterilisasi pemanasan basah atau bisa disebut dengan sterilisasi uap, dengan prinsipnya memakai uap air dalam tekanan 15 psi (1,02 atm) dan suhu 121°C. Suhu dan tekanan tinggi yang diberikan kepada alat dan media yang disterilisasi memberikan kekuatan yang lebih besar untuk membunuh sel dibanding dengan udara panas. Biasanya untuk mesterilkan media digunakan suhu 121°C dan tekanan 15 lb/in² (SI = 103,4 Kpa) selama 15 menit. Alasan digunakan suhu 121°C atau 249,8 °F adalah karena air mendidih pada suhu tersebut jika digunakan tekanan 15 psi. Untuk tekanan 0 psi pada ketinggian di permukaan laut (*sea level*) air mendidih pada suhu 100°C, sedangkan untuk autoklaf yang diletakkan di ketinggian sama, menggunakan tekanan 15 psi maka air akan mendidih pada suhu 121°C. Ingat kejadian ini hanya berlaku untuk *sea level*, jika di laboratorium terletak pada ketinggian tertentu, maka pengaturan tekanan perlu disetting ulang. Misalnya autoklaf diletakkan pada ketinggian 2700 kaki dpl, maka tekanan dinaikkan menjadi 20 psi supaya tercapai suhu 121°C untuk mendidihkan air. Semua bentuk kehidupan akan mati jika dididihkan pada suhu 121°C dan tekanan 15 psi selama 15 menit.

2.2.3 Prinsip Kerja Autoklaf

Sterilisasi uap dengan menggunakan autoklaf prinsipnya adalah memakai uap air dalam tekanan sebagai pensterilnya. Temperatur sterilisasi biasanya 121°C, tekanan yang biasa digunakan antara 15-17,5 psi (pound per square inci) atau 1 atm. Pada saat sumber panas dinyalakan, air dalam autoklaf lama kelamaan akan mendidih dan uap air yang terbentuk mendesak udara yang mengisi autoklaf. Setelah semua udara dalam autoklaf diganti dengan uap air, katup uap atau udara ditutup sehingga tekanan udara dalam autoklaf naik. Pada saat tercapai tekanan dan suhu yang sesuai, maka proses sterilisasi dimulai dan *timer* mulai menghitung waktu mundur. Setelah proses sterilisasi selesai, sumber panas

dimatikan dan tekanan dibiarkan turun perlahan hingga mencapai 0 psi. Autoklaf tidak boleh dibuka sebelum tekanan mencapai 0 psi.

Untuk mendeteksi bahwa autoklaf bekerja dengan sempurna dapat digunakan mikroba penguji yang bersifat termofilik dan memiliki endospora yaitu *Bacillus stearothermophilus*, lazimnya mikroba ini tersedia secara komersial dalam bentuk *spore strip*. Kertas *spore strip* ini dimasukkan dalam autoklaf dan disterilkan. Setelah proses sterilisasi lalu ditumbuhkan pada media. Jika media tetap bening maka menunjukkan autoklaf telah bekerja dengan baik. Beberapa media atau bahan yang tidak disterilkan dengan autoklaf adalah :

- a. Bahan tidak tahan panas seperti serum, vitamin, antibiotik, dan enzim
- b. Pelarut organik, seperti fenol
- c. Buffer dengan kandungan detergen
- d. Untuk mencegah terjadinya presipitasi, pencoklatan (media menjadi coklat) dan hancurnya substrat dapat dilakukan pencegahan sebagai berikut :
 - e. Glukosa disterilkan terpisah dengan asam amino (*peptone*) atau senyawa fosfat
 - f. Senyawa fosfat disterilkan terpisah dengan asam amino (*peptone*) atau senyawa garam mineral lain
 - g. Senyawa garam mineral disterilkan terpisah dengan agar
 - h. Media yang memiliki pH > 7,5 jangan disterilkan dengan autoklaf
 - i. Jangan mensterilisasi larutan agar dengan pH < 6,0
 - j. Erlenmeyer hanya boleh diisi media maksimum $\frac{3}{4}$ dari total volumenya, sisa ruang dibiarkan kosong. Jika mensterilkan media 1 liter yang ditampung pada erlenmeyer 2 liter maka sterilisasi diatur dengan waktu 30 menit.

Sterilisasi perlu dilakukan karena kontaminasi mikroba lain akan menghambat pada saat proses fermentasi yaitu akan memberikan dampak yang tidak menguntungkan sebagai berikut :

- a. Kontaminan meningkatkan persaingan didalam mengkonsumsi substrat
- b. Kontaminan dapat menghambat proses metabolisme sel.

2.3 Fermentasi

2.3.1 Pengertian fermentasi

Fermentasi merupakan proses unik yang dilakukan oleh mikroba, yakni cepat, murah, aman, hemat energi dan nilai organoleptik (nilai yang dapat dirasakan oleh lidah) rata-rata sesuai dengan selera (Waluyo, 2004).

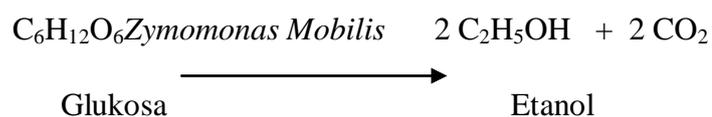
Fermentasi adalah proses mikrobiologi yang dikendalikan oleh manusia untuk memperoleh produk, dimana terjadi pemecahan karbohidrat dan asam amino secara anaerob (Perry, 1996).

Proses fermentasi yang dilakukan adalah proses fermentasi yang tidak menggunakan oksigen atau proses anaerob. Cara pengaturan produksi etanol dari gula cukup kompleks, konsentrasi substrat, oksigen, dan produk etanol, semua mempengaruhi metabolisme khamir, daya hidup sel, pertumbuhan sel, pembelahan sel, dan produksi etanol. Seleksi galur khamir yang cocok dan mempunyai toleransi yang tinggi terhadap baik konsentrasi, substrat ataupun alkohol merupakan hal yang penting untuk peningkatan hasil (Isroi, 2008).

Fermentasi pertama kalinya dilakukan perlakuan dasar terhadap bibit fermentasi atau persiapan *starter*. Dimana *starter* diinokulasikan sampai benar-benar siap menjadi umpan fermentasi, baru dimasukkan ke dalam substrat yang akan difermentasi.

Fermentasi dapat terjadi karena adanya aktivitas mikroba penyebab fermentasi pada substrat organik yang sesuai. Terjadinya fermentasi ini dapat menyebabkan perubahan sifat bahan pangan, sebagai akibat dari pemecahan kandungan-kandungan bahan tersebut. Sebagai contoh misalnya buah atau sari buah dapat menghasilkan rasa dan bau alkohol, ketela pohon dan ketan dapat berbau alkohol atau asam, susu menjadi asam dan lain-lainnya. (Winarno, 1980)

Fermentasi glukosa oleh bakteri *Zymomonas Mobilis* dapat menghasilkan etil alkohol (etanol) dan CO₂ melalui reaksi sebagai berikut:



2.3.2 Metode Fermentasi

a. Fermentasi media cair (Liquid State Fermentation)

Fermentasi media cair diartikan sebagai fermentasi yang melibatkan air sebagai fermentasi yang melibatkan air sebagai fase kontinu dari sistem pertumbuhan sel bersangkutan atau substrat baik sumber karbon maupun mineral terlarut atau tersuspensi sebagai partikel-partikel dalam fase cair.

Fermentasi cair dengan teknik tradisional tidak dilakukan pengadukan, berbeda dengan teknik fermentasi cair modern melibatkan fermentor yang dilengkapi dengan pengaduk agar medium tetap homogen, aerasi, pengatur suhu (pendingin dan pemanasan) dan pengaturan pH. Proses fermentasi cair modern dapat di kontrol lebih baik dan hasil uniform dan dapat diprediksi. Juga tidak dilakukan sterilisasi, namun pemanasan, perebusan dan pengukusan mematikan banyak mikroba kompetitor.

b. Fermentasi media padat (*Solid State Fermentation*)

Fermentasi media padat merupakan proses fermentasi yang berlangsung dalam substrat tidak larut, namun mengandung air yang cukup sekalipun tidak mengalir bebas. *Solid State Fermentation* mempunyai kandungan nutrisi per volum jauh lebih pekat sehingga hasil per volum dapat lebih besar.

Keuntungan Fermentasi media padat (*SSF*) adalah sebagai berikut :

- 1) Medium yang digunakan relatif sederhana
- 2) Ruang yang diperlukan untuk peralatan fermentasi relatif kecil, karena air yang digunakan sedikit.
- 3) Inokulum dapat disiapkan secara sederhana
- 4) Kondisi medium tempat pertumbuhan mikroba mendekati kondisi habitat alaminya
- 5) Produk yang dihasilkan dapat dipanen dengan mudah.

Faktor-faktor yang mempengaruhi Fermentasi Media Padat (*SSF*)

a. Kadar air

Kadar optimum tergantung pada substrat, organisme dan tipe produk akhir. Kisaran kadar air yang optimal adalah 50-75%. Kadar air yang tinggi akan mengakibatkan penurunan porositas, pertukaran gas, difusi oksigen, volume gas, tetapi meningkatkan resiko kontaminasi dengan bakteri.

b. Temperatur

Temperatur berpengaruh terhadap laju reaksi biokimia selama proses fermentasi.

c. Pertukaran gas

Pertukaran gas antara fase gas dengan substrat padat mempengaruhi proses fermentasi.

Pada Penelitian ini menggunakan metode *Solid State Fermentasi (SSF)* atau fermentasi media padat dengan menggunakan bakteri *Zymomonas Mobilis* untuk menguraikan gula reduksi (glukosa) menjadi etanol.

2.4 *Zymomonas Mobilis*

2.4.1 *Zymomonas Mobilis*

Zymomonas mobilis merupakan bakteri fakultatif anaerob bersifat anaerob tapi juga toleran terhadap oksigen. Bakteri ini berbentuk batang dengan panjang 2-6 μm dan lebarnya sekitar 1-1.4 μm , tidak berspora, ada yang bersifat motil bercemeti polar dengan 1 sampai 4 flagel, merupakan bakteri Gram-negatif.

Klasifikasi bakteri *Zymomonas mobilis*

Kingdom : *Bacteria*
Phylum : *Proteobacteria*
Class : *Alpha Proteobacteria*
Order : *Sphingomonadales*
Family : *Sphingomonadaceae*
Genus : *Zymomonas*
Species : *Zymomonas mobilis*

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.

Bakteri ini secara alami ditemukan pada tanaman yang mengandung gula-gula yang dapat terfermentasi seperti anggur (Swings dan De Ley, 1977).

Zymomonas mobilis juga didapatkan melalui isolasi minuman beralkohol seperti pulque Meksiko, kontaminan bir dan sari buah apel Eropa (Gunasekaran dan Raj, 1999). Bakteri *Zymomonas mobilis* hanya mampu mengubah glukosa, fruktosa dan sukrosa menjadi etanol sebagai produk utama dan beberapa produk samping seperti asam asetat, gliserol, sorbitol dan levan (Gunasekaran dan Raj, 1999).

2.4.2 Bagaimana *Zymomonas mobilis* menghasilkan etanol

Pada fermentasi sukrosa menggunakan *Zymomonas mobilis*, pertama kali sukrosa akan terhidrolisis oleh enzim sukrase. Enzim ini dihasilkan oleh bakteri *Zymomonas mobilis* yang memutus ikatan α (1 2) pada sukrosa sehingga menghasilkan 2 macam monosakarida yaitu glukosa dan fruktosa. Fruktosa difosforilasi oleh enzim fruktokinase menjadi fruktosa-6-fosfat kemudian diisomerisasi oleh enzim fosfoheksosa isomerase menjadi glukosa-6-fosfat yang kemudian diubah menjadi etanol, sedangkan glukosa akan diuraikan melalui jalur 2-keto-3-deoksi-6-fosfoglukonat dan memecah piruvat dengan enzim piruvat dekarboksilase menjadi asetaldehida dan CO₂. Asetaldehida yang terbentuk kemudian direduksi menjadi etanol (Swings dan De Ley, 1977).

Glukosa dan fruktosa juga diubah oleh enzim GFOR (*Glucose Fructose Oksidoreductase*) yang ada di dalam periplasma sel menjadi glukonolakton dan sorbitol. Glukonolakton kemudian diubah menjadi glukonat oleh enzim gluconolactonase. Glukonat dan sorbitol yang terbentuk di dalam periplasma sel kemudian dibawa oleh gluconate carrier dan sorbitol carrier melalui membran sitoplasma ke dalam sitoplasma bakteri *Zymomonas mobilis*. Glukonat akan diubah oleh enzim glukonatkinase menjadi 6-fosfoglukonolakton mengikuti jalur Entner Doudoroff dan pada akhirnya diubah menjadi etanol.

Kemampuan Bakteri *Zymomonas mobilis* dalam menghasilkan etanol maka, diyakini sebagai mikroorganisme paling ideal dalam memproduksi etanol terbanyak,

toleran terhadap etanol konsentrasi tinggi dan pH rendah yang dapat digunakan sebagai alternatif sumber energi bahan bakar fosil untuk mengatasi krisis minyak bumi. Etanol berfungsi sebagai penambah volume Bahan Bakar Minyak (BBM), peningkatan angka oktan, dan sebagai sumber oksigen untuk pembakaran yang lebih bersih pengganti Metil Tersier-Butil Eter (MTBE). Etanol dapat juga meningkatkan efisiensi pembakaran karena mengandung 35% oksigen, disamping itu ramah lingkungan karena emisi gas buangnya rendah kadar karbon monoksida, nitrogen oksida, dan gas-gas rumah kaca yang lain.

2.4.3. faktor-faktor yang mempengaruhi kehidupan bakteri dalam proses fermentasi :

a. Nutrisi (zat gizi)

Dalam kegiatannya bakteri memerlukan penambahan nutrisi untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan, misalnya :

- 1) Unsur C : Ada pada karbohidrat
- 2) Unsur N : Dengan penambahan pupuk yang mengandung nitrogen, ZA, Urea, Anomia, Pepton.
- 3) Unsur P : Penambahan pupuk fosfat dari NPK, TSP.

b. Keasaman (pH)

Untuk fermentasi alkoholis, ragi memerlukan media suasana asam, yaitu antara pH 4,0-5,0. Pengaturan pH dilakukan penambahan asam sulfat jika substratnya alkalis atau natrium bikarbonat jika substratnya asam.

c. Temperatur

Temperatur optimum untuk dan pengembangbiakan adalah 28-30⁰C pada waktu fermentasi, terjadi kenaikan panas, karena ekstrem. Untuk mencegah agar suhu fermentasi tidak naik, perlu pendinginan supaya suhu dipertahankan tetap 28-30⁰C.

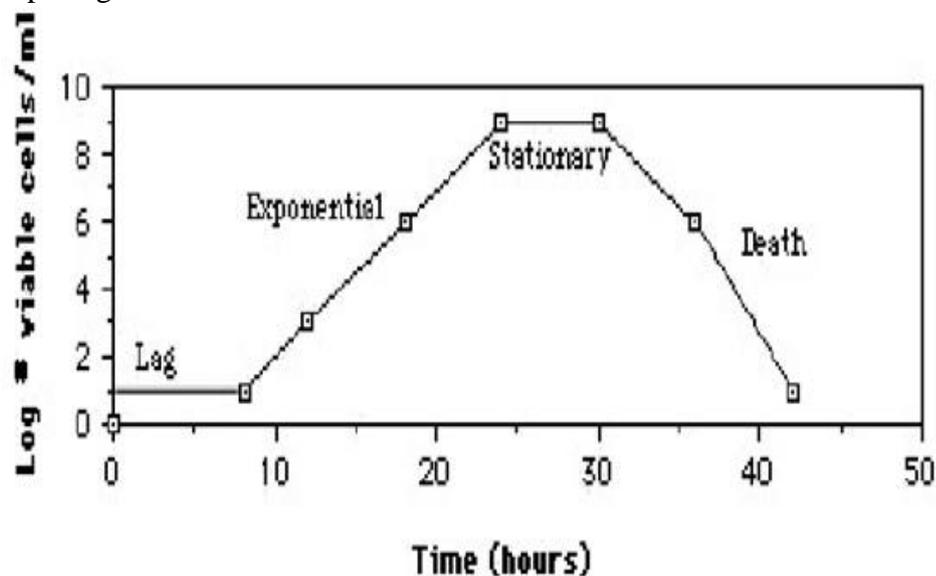
d. Udara

Fermentasi alkohol berlangsung secara anaerobic (tanpa udara). Namun demikian, udara diperlukan pada proses pembibitan sebelum fermentasi, untuk pengembangbiakan ragi sel. (Ahmad Tabah, 2010)

Tahapan penting yang harus dimiliki mikroorganisme bila digunakan dalam fermentasi yaitu :

- 1) Mikroorganisme harus dapat tumbuh dengan cepat dalam suatu media.
- 2) Mikroorganisme harus memiliki suatu kemampuan untuk mengatur ketahanan fisiologis agar perubahan-perubahan kimia yang diinginkan dapat terjadi.
- 3) Kondisi lingkungan yang diperlukan bagi pertumbuhan dan produksi mikroorganisme maksimum.
- 4) Mikroorganisme harus mempunyai sifat yang stabil.
- 5) Mikroorganisme harus mampu dengan cepat beradaptasi terhadap media yang difermentasikan. (Prabu wijaya, 2007).

Gambar kurva pertumbuhan mikroorganisme *Zymomonas Mobilis* dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Kurva Pertumbuhan Mikroorganisme *Zymomonas Mobilis*

- a. Fasa stationer (fasa adaptasi). Pada saat ini mikroba menyesuaikan diri dengan lingkungan dan medium baru dari pada tumbuh atau berkembang biak. Mikroba berusaha merombak materi-materi dalam medium agar dapat digunakan sebagai nutrisi untuk pertumbuhan. Bila dalam medium komponen

yang tidak dikenal mikroba, mikroba akan memproduksi enzim ekstraseluler untuk merombak komponen tersebut.

- b. Fasa pertumbuhan awal, setelah mengalami fasa adaptasi sel mulai membelah dengan kecepatan yang semakin rendah karena baru selesai tahap penyesuaian diri.
- c. Fasa pertumbuhan lambat, pada fasa ini pertumbuhan populasi mikroba diperlambat karena zat nutrisi di dalam medium sudah banyak berkurang dan adanya hasil metabolisme yang beracun. Pada fasa ini pertumbuhan sel tidak stabil tetapi jumlah populasi masih naik karena jumlah sel yang tumbuh lebih banyak dari pada jumlah sel yang mati.
- d. Fasa pertumbuhan tetap (statis), pada fasa ini jumlah sel tetap karena jumlah sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati.
- e. Fasa menuju kematian dan fasa kematian, pada fasa ini sebagian populasi jasad renik mulai mengalami kematian karena nutrisi di dalam medium sudah habis dan energi cadangan di dalam sel sudah habis. Jumlah sel yang mati semakin lama akan semakin banyak, dan kecepatan kematian dipengaruhi oleh kondisi nutrisi, lingkungan, dan jenis jasad renik.

2.5 Etanol

Etanol adalah senyawa organik yang terdiri dari karbon, hidrogen dan oksigen, sehingga dapat dilihat sebagai derivat senyawa hidrokarbon yang mempunyai gugus hidroksil dengan rumus C_2H_5OH .

Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi jumlah etanol yang dihasilkan dari fermentasi adalah mikroorganisme dan media yang digunakan, adanya komponen media yang dapat menghambat pertumbuhan serta kemampuan fermentasi mikroorganisme dan kondisi selama fermentasi (Astuty, 1991).

Selain itu hal-hal yang perlu diperhatikan selama fermentasi adalah pemilihan khamir, konsentrasi gula, keasaman, ada tidaknya oksigen dan suhu dari perasan buah. Bahan baku pembuatan bioetanol ini dibagi menjadi tiga kelompok yaitu :

- 1) Bahan sukrosa Bahan-bahan yang termasuk dalam kelompok ini antara lain

nira, tebu, nira pati, nira sargum manis, nira kelapa, nira aren, dan sari buah mete, dan sari kulit nanas.

2) Bahan berpati Bahan-bahan yang termasuk kelompok ini adalah bahan-bahan yang mengandung pati atau karbohidrat. Bahan-bahan tersebut antara lain : tepung- tepung ubi ganyong, sorgum biji, jagung, cantel, sagu, ubi kayu, ubi jalar, dan lain-lain.

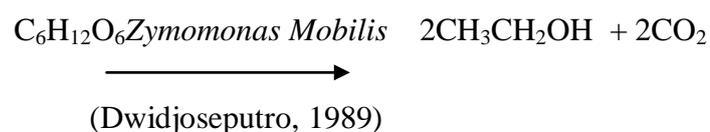
3) Bahan berselulosa (lignoselulosa) Bahan berselulosa (lignoselulosa) artinya adalah bahan tanaman yang mengandung selulosa (serat), antara lain kayu, jerami, batang pisang, dan lain-lain. Berdasarkan ketiga jenis bahan baku tersebut, bahan berselulosa merupakan bahan yang jarang digunakan dan cukup sulit untuk dilakukan. Hal ini karena adanya lignin yang sulit dicerna sehingga proses pembentukan glukosa menjadi lebih sulit.

2.5.1 Sifat-sifat fisis etanol

- a. Berat molekul : 46,07 gram / mol
- b. Warna : Tidak Berwarna
- c. Bentuk : Cair
- d. Titik didih normal : 78,4°C
- e. Titik beku : -112,°C
- f. Spesific Grafity : 0,7893
- g. Kelarutan dalam 100 bagian
Air : Tak terhingga
Reagen lain : Tak terhingga (Pery, 1984)

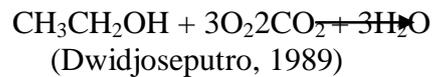
2.5.2 Sifat-sifat kimia etanol

- a. Diperoleh dari fermentasi gula oleh ragi misalnya *Zymomonas Mobilis*



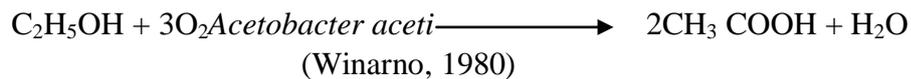
- b. Pembakaran etanol menghasilkan CO₂ dan H₂O

Pembakaran Etanol



- c. Etanol yang berasal dari fermentasi ragi atau bakteri, dengan adanya oksigen akan mengalami fermentasi lebih lanjut oleh bakteri misalnya :

Acetobacter aceti menghasilkan Asam Asetat



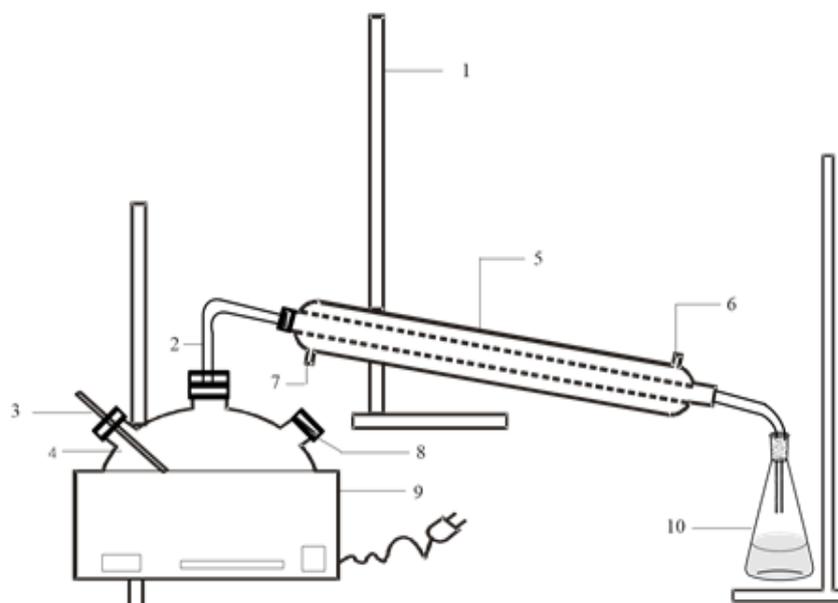
2.5.3 Kegunaan etanol

Etanol yang dihasilkan dari proses fermentasi dapat digunakan sebagai campuran dalam minuman, dalam farmasi dapat digunakan sebagai pelarut untuk membuat esen, ekstrak dan sebagainya, untuk sintesis misalnya (eter, yodoform, kloroform dan sebagainya), larutan 70% dipakai sebagai anti septik, dipakai sebagai pengawet contoh-contoh biologik. (Riawan, 1990)

2.6 Destilasi

Destilasi 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. (Brown, 1987)

Pada proses destilasi konvensional (tanpa *molecular sieve*) umpan/feed molasses yang mengandung 10% massa etanol akan dihasilkan etanol sebesar 76% massa saja. Sedangkan dengan menggunakan *molecular sieve* akan didapatkan kadar kemurnian tertinggi 98% massa. (Andri, dkk, 2009)



Gambar 4. Destilasi sederhana

2.7 Kromatografi Gas

2.7.1 Pengertian kromatografi gas

Kromatografi gas adalah suatu proses dari suatu campuran menjadi komponen-komponen oleh fase gas yang bergerak melewati suatu lapisan serapan (sorben) yang stasioner. Jadi teknik ini mirip dengan kromatografi cairan-cairan kecuali bahwa fase cair yang bergerak diganti oleh fase gas yang bergerak. Ada dua kategori utama kromatografi yaitu kromatografi gas-cair, dimana pemisahan terjadi oleh dibaginya contoh antara fase gas yang bergerak dan lapisan tipis cair yang tak-atsiri, yang disalutkan pada suatu penopang yang tak aktif, dan kromatografi gas-padat menggunakan permukaan padat yang luas sebagai fase stasioner.

2.7.2Komponen dalam Kromatografi Gas

Komponen-komponen dalam kromatografi gas adalah sebagai berikut :

- a. Tangki gas pembawa. Gas yang bertindak sebagai fase gerak disebut gas pembawa (*carrier gas*). Gas-gas pembawa yang biasa digunakan seperti helium dan nitrogen. Pemilihan gas bergantung pada faktor seperti ketersediaan, kemurnian yang diinginkan, konsumsi dan tipe detektor yang digunakan.
- b. Alat pengatur tekanan (*regulator*), *regulator* digunakan untuk mengatur tekanan gas-gas yang digunakan.
- c. *Injection port* adalah cabang untuk memasukan cuplikan dengan cara penyuntikan yang menggunakan spuit mikro dengan jarum hipodermik. Jarum

tersebut ditusukkan pada sekat karet silikon yang menggendap sendiri dan cuplikan diinjeksikan secara merata kedalam blok logam yang dipanaskan pada ujung kolom.

- d. Kolom. Tempat terjadinya proses pemisahan komponen–komponen cuplikan. Kolom ini ditempatkan di dalam oven bersuhu tinggi, sehingga komponen-komponen cuplikan tetap berupa uap. Biasanya kolom analisis dibuat dari pipa kaca berdiameter 2-6 mm atau pipa logam berdiameter 3- 10 mm, yang biasanya dikumpar agar tidak memakan tempat. Kolom kaca harus digunakan jika komponen dalam contoh itu akan terurai bila bertemu dengan logam.
- e. *Detector*. Untuk mendeteksi komponen-komponen yang keluar kolom. *Detector* ini akan mengirimkan isyarat listrik ke alat pencatat (*recorder*). Keluaran dari detektor diumpun ke sebuah perekam yang menghasilkan suatu jejak pena yang disebut kromatogram. Pilihan detektor akan tergantung pada faktor seperti tingkat konsentrasi yang harus diukur dan sifat-sifat dasar komponen-komponen yang akan dipisahkan. Jadi, untuk analisis dalam jangka mikrogram detektor yang kebanyakan digunakan adalah sel konduktivitas termal, sedangkan untuk pekerjaan yang lebih rendah sampai tingkat pikrogram (misalnya, analisis ultraunutan dari logam-logam), diperlukan detektor yang lebih peka seperti seperti yang didasarkan pada fenomena pengionan. Detektor yang paling sering digunakan dalam kromatografi gas dari senyawaan seperti logam adalah detektor konduktivitas termal, pengionan nyala dan penangkapan elektron.
- f. *Recorder* adalah alat pencatat yang berfungsi untuk mencatat isyarat-isyarat. (Rusdianasari, 2012).

2.7 Refraktometer

Refraktometer adalah alat yang digunakan untuk mengukur indeks bias bahan terlarut. Misalnya minyak, gula, garam, protein, dan lain-lain. Prinsip kerja dari refraktometer sesuai dengan namanya adalah memanfaatkan refraksi cahaya. Refraktometer ditemukan oleh Dr. Ernest Abbe seorang ilmuwan dari German pada permulaan abad 20. Indeks bias adalah perbandingan kecepatan cahaya dalam

udara dengan kecepatan cahaya dalam zat tersebut. Indeks bias berfungsi untuk identifikasi kemurnian zat.

Refraktometer adalah alat yang digunakan untuk mengukur indeks bias cairan, padatan dalam cairan atau serbuk dengan indeks bias dari 1,300 sampai 1,700 dan persentase padatan 0 sampai 95%, alat untuk menentukan indeks bias minyak, lemak, gelas optis, larutan gula, dan sebagainya, indeks bias antara 1,300 dan 1,700 dapat dibaca langsung dengan ketelitian sampai 0,001 dan dapat diperkirakan sampai 0,0002 dari gelas skala di dalam.

Pengukurannya didasarkan atas prinsip bahwa cahaya yang masuk melalui prisma cahaya hanya bisa melewati bidang batas antara cairan dan prisma kerja dengan suatu sudut yang terletak dalam batas-batas tertentu yang ditentukan oleh sudut batas antara cairan dan alas.

Pengukuran indeks bias penting untuk :

- a. Menilai sifat dan kemurnian suatu medium salah satunya berupa cairan.
- b. Mengetahui konsentrasi larutan-larutan.
- c. Mengetahui nilai perbandingan komponen dalam campuran dua zat cair.