

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sumber Bahan Baku Bioetanol

Indonesia sangat kaya bahan mentah untuk memproduksi bioetanol. Kita memiliki banyak tanaman berpotensi menghasilkan nira bergula, tanaman berpati, ataupun tanaman berselulosa. Kekayaan hayati Indonesia yang mengandung nira gula di antaranya tebu, nira nipah, nira sorgum manis, nira kelapa, nira aren, dan siwalan. Kekayaan hayati penghasil pati di Indonesia antara lain tepung sagu, singkong, ubi jalar, ganyong garut, dan umbi dahlia. (Erliza hambali, 2007). Selain itu, Indonesia kaya bahan berselulosa seperti kayu jerami, batang pisang dan bagas.

2.2 Nanas (*Ananas Comocus L. Mer*)

Bagian utama yang bernilai ekonomis dari nanas adalah buahnya. Buah nanas selain dikonsumsi segar juga diolah menjadi berbagai macam makanan dan minuman, seperti selai, buah dalam sirup dan lain-lain. Selain buahnya, bagian lain nanas dapat dimanfaatkan seperti kulit buah. Kulit buah nanas dapat dimanfaatkan sebagai campuran pakan ternak yang disebut silase.

Klasifikasi tanaman nenas adalah:

Kingdom : *Plantae* (tumbuh-tumbuhan)
 Divisi : *Spermatopyta* (tumbuhan berbiji)
 Kelas : *Angiospermae* (berbiji tertutup)
 Ordo : *Farinosae* (Bromeliles)
 Famili : *Bromiliaceae*
 Genus : *Ananas*
 Species : *Ananas Comosus (L.)Merr.*

(<http://id.wikipedia.org/wiki/klasifikasitanamannenas>)

Selama periode 2000 – 2005 produksi nanas Indonesia rata-rata sebesar 6.145.382 ton (www.agribisnis.deptan.go.id). Dengan semakin meningkatnya produksi nanas, maka limbah yang dihasilkan akan semakin meningkat pula. Di bawah ini merupakan tabel analisis proksimat limbah kulit nanas :

Tabel 1. Analisis proksimat kulit nanas berdasarkan berat basah

Komponen	Rata-rata berat basah (%)
Air	86,70 %
Serat basah	1,66 %
Karbohidrat	10,54 %
Protein	0,69 %
Lemak	0,02 %

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 Hasnely 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.

2.2.2 Jenis tanaman nanas

Cayenne

Jenis yang paling banyak ditanam di dataran tinggi, diitujukan untuk pegalengan. Jenis ini *heterozigot*. Contoh kulivarnya adalah *smooth cayenne* dan *cayenne lisse*. Jenis *smooth cayenne* daunnya tidak berduri, panjang 20-50cm, jumlah daunnya antara 60-80. Permukaan daun sebelah atas bewarna hijau tua, bagian bawah berwarna hijau abu-abu keperakan, tangkai buah 7,5-15cm, rata-rata berat buah 2,5 kg. Bagian pangkal buah membesar, biasanya tidak berbiji. Warna buah matang hijau sampai hijau kekuning-kuningan, rasanya agak asam.

Queen

Merupakan jenis lama, pada umumnya ditanam didaratan rendah. Jenis ini banyak ditanam di Australia dan Afrika Selatan. Buahnya lebih kecil dari pada *cayenne*. Ukuran buah 0,9-1,3 kg. Daunnya berduri tajam. Warna buah tua kuning sampai kemerahan, pada umumnya rasanya manis.

Singapore

Banyak ditanam di semenanjung malaya untuk dikalengkan. Daun berjumlah sekitar 50 helai dengan bobot buah 1,6-2,3 kg.

2.2.3 Syarat tumbuh tanaman nanas

Tidak tahan terhadap temperatur dingin. Jenis *cayenne* tumbuh dari ketinggian 100-1000 m diatas permukaan laut. Pada tempat yang lebih tinggi buahnya berukuran lebih kecil dengan kandungan asam lebih tinggi. Tanaman ini tahan kekeringan karena memiliki jaringan penyimpanan air di daunnya. Dapat tumbuh pada daerah dengan curah hujan 500-2000 mm/tahun, namun produksi optimal pada daerah dengan curah hujan 1000-1500 mm/tahun. Segala jenis tanah cocok untuk tumbuhnya nenas, asal drainase baik, karena tidak tahan terhadap genangan air, pH tanah antara 5-6,5.

2.2.4 Kulit nanas

Limbah nenas berupa kulit, ati/bonggol buah atau cairan buah/gula dapat diolah menjadi produk lain seperti sari buah atau sirup. Secara ekonomi kulit nenas masih bermanfaat untuk diolah menjadi pupuk dan pakan ternak (Kumalamingsih, 1993). Komposisi limbah kulit nanas dapat dilihat pada tabel berikut ini



Gambar 1. Kulit Nanas

Tabel 2.
Hasil analisis proksimat limbah kulit nenas berdasarkan berat basah

Komposisi	Rata-rata berat basah
Air	81,72
Protein	4,41
Serat kasar	20,87
Karbohidrat	17,53
Gula reduksi	13,65

Sumber : Wijaya, 1991

2.3 Bioetanol

Bioetanol adalah etanol yang terbuat dari sumber hayati/lebih tepatnya tanaman yang mengandung pati, gula, dan tanaman berselulosa lainnya. Dalam dunia industri, etanol umumnya digunakan sebagai bahan baku industri turunan alkohol, campuran untuk minuman keras (seperti *sake* atau *gin*) serta bahan baku farmasi, kosmetik dan sebagai bahan bakar. Etanol telah digunakan manusia sejak zaman prasejarah sebagai bahan pemabuk dalam minuman beralkohol. Residu yang ditemukan pada peninggalan keramik yang berumur 9000 tahun dari cina bagian utara menunjukkan bahwa minuman beralkohol telah digunakan oleh manusia prasejarah dari masa Neolitik.

Lavoiser menggambarkan bahwa etanol adalah senyawa yang terbentuk dari karbon, hydrogen dan oksigen. Pada tahun 1808, Saussure dapat menentukan rumus kimia etanol. Dengan demikian etanol adalah salah satu senyawa kimia yang pertama kali ditemukan rumus bangunnya. Etanol sering ditulis dengan rumus EtOH. Rumus molekul etanol adalah C_2H_5OH atau rumus empiris C_2H_6O . (Ensiklopedia bebas, tanpa tahun)

Etanol dari air membentuk larutan azeotrop. Karena itu pemurnian etanol yang mengandung air dengan cara penyulingan biasa hanya mampu menghasilkan etanol dengan kemurnian 96%. Etanol murni (absolut) dihasilkan pertama kali pada tahun 1796 oleh Johan Lowitz yaitu dengan cara menyaring alkohol hasil distilasi melalui arang.

Berdasarkan kadar alkoholnya, etanol dibagi 3 grade sebagai berikut :

(teknologi bioenergi, 2007)

1. Grade industri dengan kadar alkohol 90-94 %
2. Netral dengan kadar alkohol 90-94 % umumnya digunakan untuk minuman keras/ bahan baku farmasi
3. Grade bahan bakar dengan kadar alkohol diatas 99,5 %

Bioetanol dapat dihasilkan dari bahan-bahan yang mengandung gula dan difermentasi dengan bantuan mikroorganisme. Mengingat pemanfaat etanol/bioetanol beraneka ragam, sehingga grade etanol yang dimanfaatkan harus berbeda dengan penggunaannya.

Etanol dapat dibuat dengan beberapa cara sebagai berikut :

1. Etanol unruk konsumsi umunya dihasilkan dengan proses fermentasi atau peragian bahan makanan yang mengandung pati atau karbohidrat, seperti beras dan umbi. Alkohol yang dihasilkan dari proses fermentasi biasanya berkadar rendah. Untuk mendapatkan alkohol yang berkadar lebih tinggi diperlukan proses pemurnian melalui penyulingan atau distilasi.
2. Melalui sintesa kimia antara reaksi gas etilen dan uap air dengan asam sebagai katalis. Katalis yang dipakai misalkan asam fosfat. Asam fosfat dapat juga dipakai sebagai katalis, namun dewasa ini sudah jarang dipakai. (sudirman, 2007).

Hasil optimal yang diharapkan bila dinyatakan dengan persentase berat yang difermentasi adalah :

1. Etil alkohol 48,4 %
2. Karbondioksida 46,65 %
3. Gliserol 3,3 %
4. Asam suksinat 0,6 %
5. Selulosa dan lainnya 1,2 %

<http://id.wikipedia.org/wiki/bioetanoldarisarikulitnanas>

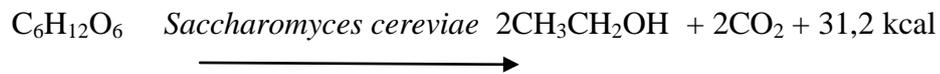
Teknologi dasar untuk memproduksi alkohol telah dikenal dan dapat diaplikasikan dengan mudah pada banyak negara berkembang. Produksi alkohol pada skala medium dapat dilaksanakan di area pedesaan dan dapat menjadi sumber utama pencairan dengan biaya yang relatif rendah.

a. Sifat-sifat fisis etanol (Pery, 1984)

- Nama : Etanol
- Rumus molekul : C_2H_5OH
- Rumus empiris : C_2H_6O
- Berat molekul : 46,07 gram / mol
- Titik lebur : 158,8 K (-114.3°C)
- Warna : Tidak Berwarna
- Bentuk : Cair
- Titik didih normal : 78,4°C (351.5 K)
- Titik triple : 159 K (-114°C)
- Titik kritis : 514 K (241 °C)
- Titik nyala : 17 °C
- Temperatur nyala sendiri : 425 °C
- Limit ledakan : 3.5 – 15%
- Titik beku : -112,°C
- *Spesific Grafity* : 0,7893 gr/cm³
- *Specific heat* : 0.780 cal/g°C pada 41 °C
- Entalpi : 275 Kcal/Kg pada 77 °C
- *Viscosity* : 0.0087 cp
- Efek kronis : ketergantungan, sirosis hati
- Efek akut : Mual, muntah, gagal nafas
- Kelarutan dalam 100 bagian
Air : Tak terhingga
Reagen lain : Tak terhingga

b. Sifat-sifat kimia etanol

- Diperoleh dari fermentasi gula oleh ragi misalnya *Saccharomyces cereviae*



(Dwidjoseputro, 1989)

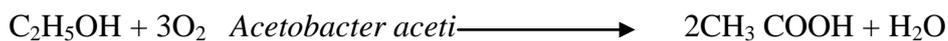
- Pembakaran etanol menghasilkan CO_2 dan H_2O



(Dwidjoseputro, 1989)

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

Acetobacter aceti menghasilkan Asam Asetat



(Winarno, 1980)

Kegunaan etanol antara lain sebagai berikut (Riawan, 1990) :

1. Campuran dalam Minuman
2. Farmasi : sebagai pelarut untuk membuat esen, ekstrak dan sebagainya.
3. Untuk sintesis : misalnya eter, yodoform, kloroform dan sebagainya.
4. Larutan 70% dipakai sebagai anti septik.
5. Dipakai sebagai pegawet contoh-contoh biologik.
6. Campuran 85% bensin dengan 15% etanol memiliki angka oktan yang lebih tinggi, hal ini berarti mesin dapat terbakar lebih panas dan lebih efisien. Karena etanol sangat korosif terhadap sistem pembakaran, meliputi selang, gasket karet, aluminum, dan ruang pembakaran maka untuk campuran etanol konsentrasi tinggi (100%), mesin perlu dimodifikasi dengan bahan *stainless steel* yang lebih mahal.

(www.id.wikipedia.org)

2.4 Fermentasi 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.

2.4.1 Keuntungan

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. Aerasi dihasilkan dengan mudah karena ada ruang di antara tiap partikel substratnya
6. Produk yang dihasilkan dapat dipanen dengan mudah

2.4.2 Faktor-faktor yang mempengaruhi

1. 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, volum gas, tetapi meningkatkan resiko kontaminasi dengan bakteri
2. Temperatur
Temperatur berpengaruh terhadap laju reaksi biokimia selama proses fermentasi
3. Pertukaran gas
Pertukaran gas antara fase gas dengan substrat padat mempengaruhi proses fermentasi

2.5 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.

Sterilisasi perlu dilakukan karena kontaminasi mikroba lain akan memberikan dampak yang tidak menguntungkan sebagai berikut :

1. Kontaminan meningkatkan persaingan didalam mengkonsumsi substrat
2. Kontaminan dapat menghambat proses metabolisme sel

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

1. Mekanik

Menggunakan suatu saringan yang berpori sangat kecil (0,22 mikron atau 0,42 mikron) sehingga mikroba tertahan dalam saringan tersebut. Proses ini ditujukan untuk sterilisasi bahan peka terhadap panas, misalnya larutan enzim dan antibiotik.

2. Fisik

a. Pemanasan Basah

- 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 tertutup, tekanannya akan naik, dan suhu 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 autoclaf, kelayakan autoclaf dilengkapi dengan pengendali secara automatic membuang udara sebelum tekanan uap meningkat sampai 5 pon/inci. Penggunaan autoclaf adalah salah satu cara sterilisasi yang paling meyakinkan, namun pengoperasian yang salah dapat menimbulkan kepercayaan meleset dalam sterilisasi peralatan.

Lamanya waktu untuk mensterilkan dalam autoclaf 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.

- 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.

- Pasteurisasi

Proses pasteurisasi merupakan proses pemanasan dengan suhu yang relatif cukup rendah (di bawah 100°C) dengan tujuan untuk membunuh semua mikroba patogen (penyebab sakit). (Winarno, 1980)

3. Kimia

Menggunakan senyawa desinfektan misalnya alkohol. (Elina Margaretty.2007).

Pada penelitian ini sterilisasi yang digunakan adalah sterilisasi dengan cara pemanasan basah yaitu pasteurisasi.

2.6 Pembuatan starter

Starter untuk membuat bioetanol biasanya menggunakan biakan murni *Saccharomyces Cerevisiae*, selain itu juga dapat digunakan ragi. Starter ini dibuat menurut Kastini, 1992 yaitu dengan menambahkan mikroba yang telah dibiarkan dalam media pembiakan kedalam fermentasi. Starter yang ditambahkan pada substrat atau media fermentasi sebanyak 10 % dari volume substrat (Judoamidjojo, 1992). Makin banyak jumlah starter yang ditambahkan makin baik, karena hal ini akan dapat mempersingkat fase adaptasi.

2.7 Fermentasi

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) .

Faktor-faktor yang mempengaruhi fermentasi etanol : (Agustina, 2000)

1. Jenis mikroorganisme

Bila dilihat dari jenisnya, maka terdapat beberapa jenis mikroorganisme yang banyak digunakan dalam proses fermentasi diantaranya adalah khamir, kapang dan bakteri, tetapi tidak semua mikroorganisme tersebut dapat digunakan secara langsung masih diperlukan seleksi untuk menjamin berlangsungnya proses fermentasi. Pemilihan mikroorganisme biasanya didasarkan pada jenis substrat (bahan) yang digunakan sebagai medium, misalnya untuk menghasilkan bioetanol digunakan khamir *saccharomyces cereviae* untuk mengoksidasi alkohol menjadi asam asetat digunakan bakteri acetobacter. Seleksi ini bertujuan untuk mendapatkan mikroorganisme yang mampu tumbuh dengan cepat dan mempunyai toleransi tinggi terhadap konsentrasi gula yang tinggi, sehingga dapat menghasilkan kadar bioetanol yang dikehendaki.

2. Lama fermentasi

Lama fermentasi biasanya ditentukan pada jenis bahan dan jenis ragi serta gula. Pada umumnya diperlukan waktu 4-12 hari untuk memperoleh hasil fermentasi yang sempurna. Menurut amerine (1982) fermentasi berlangsung 1 sampai 2 minggu dan ditandai dengan tidak diproduksinya CO₂

3. Derajat keasaman

Pada umumnya pH untuk fermentasi buah – buahan dibutuhkan keasamaan optimun antara 5 sampai 3,0 jika pH 5 atau pH dibawah 3. Maka pertumbuhan mikroba akan terganggu.

4. Kadar gula

Gula yang ditambahkan pada sari kulit nanas bertujuan untk memperoleh kadar etanol yang lebih tinggi, tetapi bila kadar gula terlalu tinggi maka aktifitas

khamir dapat terhambat. Kadar gula yang optimum untuk aktifitas pertumbuhan khamir adalah 10 sampai 18 persen.

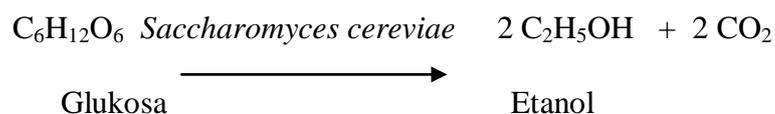
5. Suhu

Suhu untuk tiap – tiap golongan mikroba memiliki suhu pertumbuhan yang optimum yang berbeda-beda, untuk mikroba ini suhu optimumnya 19 sampai 32 °C.

Media yang digunakan didalam fermentasi harus memenuhi syarat – syarat sebagai berikut :

1. Mengandung nutrisi yang dibutuhkan bagi pertumbuhan sel *saccharomyces cereviae*
2. Mengandung nutrisi yang dapat digunakan sebagai sumber energi bagi sel *saccharomyces cereviae*.
3. Tidak mengandung zat yang menghambat pertumbuhan sel
4. Tidak terdapat kontaminan yang dapat meningkatkan persaingan dalam penggunaan substrat

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



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

Klasifikasi bakteri *Saccharomyces cereviae*

- a. Kingdom : *Bacteria*
- b. Phylum : *Proteobacteria*

- c. Class : *Alpha Proteobacteria*
- d. Order : *Sphingomonadales*
- e. Family : *Sphingomonadaceae*
- f. Genus : *Saccharomyces*
- g. Species : *Saccharomyces cereviae*

Saccharomyces cereviae mampu menghasilkan yield etanol sekurang-kurangnya 12% (w/v) dan diatas 97 % dari nilai teoritisnya. Ketika dibandingkan dengan yeast, *Saccharomyces cereviae* 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). *Saccharomyces cereviae* juga didapatkan melalui isolasi minuman beralkohol seperti pulque Meksiko, kontaminan bir dan sari buah apel Eropa (Gunasekaran dan Raj, 1999). Bakteri *Saccharomyces cereviae* hanya mampu mengubah glukosa, fruktosa dan sukrosa menggunakan jalur Entner Doudoroff menjadi etanol sebagai produk utama dan beberapa produk samping seperti asam asetat, gliserol, sorbitol dan levan (Gunasekaran dan Raj, 1999).

Faktor-faktor yang menyebabkan berhentinya pertumbuhan mikroba antara lain :

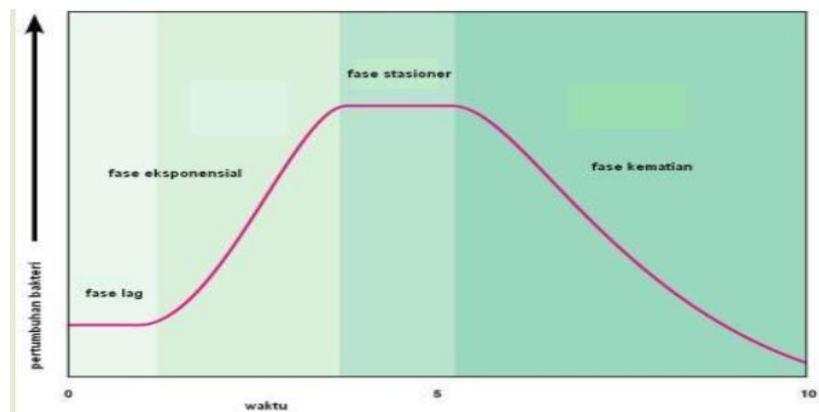
1. Penyusutan konsentrasi nutrisi yang dibutuhkan dalam pertumbuhan mikroba karena habis terkonsumsi
2. Produk akhir metabolisme yang menghambat pertumbuhan mikroba karena terjadinya inhibisi dan represi

Beberapa contoh hasil fermentasi adalah etanol, asam laktat, dan hidrogen. Akan tetapi beberapa komponen lain dapat juga dihasilkan dari fermentasi seperti asam butirat dan aseton.

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

1. Mikroorganisme harus dapat tumbuh dengan cepat dalam suatu media

2. Mikroorganismen 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 mikroorganismen maksimum
4. Mikroorganismen harus mempunyai sifat stabil
5. Mikroorganismen harus mampu dengan cepat beradaptasi terhadap media yang difermentasi.



Gambar 2. Kurva pertumbuhan mikroba

1. Fasa *stationer* (fasa adaptasi). Pada fasa ini mikroba menyesuaikan diri dengan lingkungannya dan medium baru dari pada tumbuhan 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.
2. Fase pertumbuhan awal, setelah mengalami fasa adaptasi sel mulai membelah dengan kecepatan yang semakin rendah karena baru selesai tahap penyesuaian diri.
3. Fasa pertumbuhan lambat, pada fasa ini pertumbuhan populasi mikroba diperlambat karena zat nutrisi didalam 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.

4. Fasa pertumbuhan tetap (statis), pada fasa ini jumlah sel tetap karena jumlah sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati.
5. Fasa menuju kematian dan fasa kematian, pada fasa ini bagian populasi jasad renik mulai mengalami kematian karena nutrisi didalam medium sudah habis dan energi cadangan didalam sel sudah habis. Jumlah sel yang mati semakin lama akan semakin banyak, dan kecepatan kematian dipengaruhi oleh kondisi nutrien, lingkungan, dan jenis jasad renik.

2.8 Distilasi

Distilasi 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 distilasi 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)

Dalam pembuatan bioetanol dari slurry kulit nanas, pemurnian atau destilasi merupakan tahapan akhir proses. Secara umum, produksi etanol mencakup 3 rangkaian proses, yaitu : pemisahan bahan baku, fermentasi, dan pemurnian atau distilasi. Distilasi dilakukan untuk memisahkan etanol dari beer (sebagian besar adalah air dan etanol) titik didih etanol murni adalah 78 °C sedangkan air adalah 100 °C (kondisi standar). Dengan memanaskan larutan pada suhu rentang 78-90 °C akan mengakibatkan sebagian besar etanol menguap, dan melalui unit kondensasi akan bisa dihasilkan etanol dengan konsentrasi 95% volume.

Distilasi dapat dilakukan dengan 2 cara yaitu : (Sudirman, 2007)

1. Pembentukan uap dengan cara mendidihkan larutan yang akan dipisahkan dimana uap kemudian diembunkan tanpa dikembalikan ke kolom distilasi

2. Pembentukan uap dengan cara mendidihkan larutan uyang akan dipisahkan dimana uap kemudian diembunkan dan dikembalikan sebagian kekolom agar terjadi kontak antara uap yang akan naik keatas dengan embun yang dikembalikan.

Distilasi atau penyulingan adalah suatu metode pemisahan bahan kimia berdasarkan perbedaan kecepatan atau kemudahan menguap (volatilitas) bahan. Dalam penyulingan, campuran zat dididihkan sehingga menguap, dan uap ini kemudian didinginkan kembali kedalam bentuk cairan. Zat yang memiliki titik didih lebih rendah akan menguap lebih dulu.

Uap yang dikeluarkan dari campuran disebut uap bebas, kondensat yang jatuh sebagai didilat dan bagian cairan yang tidak menguap sebagai residu. Apabila yang diinginkan adalah bagian campuran yang tidak teruapkan dan bukan destilat, maka prose tersebut biasanya dinamakan evaporasi. Dalam hal ini seringkali pemisahan sempurna yang dikehendaki melainkan penngkatan konsentrasi bahan – bahan yang terlarut dengan cara megnuapkan sebagian pelarut.

Jika suatu larutan yang terdiri dari dua buah larutan komponen yang cukup mudah menguap misalnya larutan benzene-toluene dididihkan, maka fase uap yang akan terbentuk akan mengandung kompnen yang lebih mudah menguap dalam jumlah yang relatif banyak dibandingkan dengan fase cair. Jadi ada perbedaan titik didih merupakan syarat utama supaya pemisahan dengan distilasi dapat dilakukan.

Titik didih suatu cairan bergantung pada tekanan. Apabila tekanan disekeliling meningkat, titik didih akan naik dan apabila tekanan sekeliling berkurang, titik didih akan turun (sifat ini dimanfaatkan pada penguapan pada kondisi vakum, misalnya pada distilasi vakum).

Distiasi pada umumnya dilakukan secara kontinyu atau tak kontinyu. Pada tekanan normal atau vakum. Pada distilasi atmospheric, yang paling sering dilakukan adalah operasi tak kontinyu. Dalam hal ini campuran yang akan dipisahkan dimasukkan kedalam alat penguap (umumnya alat penguap labu) dan dididihkan.

Pendidihan terus dilangsungkan hingga sejumlah tertentu komponen yang mudah menguap terpisahkan. Selama pendidihan, fraksi komponen yang mudah menguap dalam cairan bertambah besar, sehingga komposisi distilat yang dihasilkan juga berubah terus.

Peristiwa yang terjadi pada distilasi atmosferic adalah : (Sudirman, 2007)

1. Penguapan komponen yang mudah menguap dari campuran dalam alat penguap.
2. Pengeluaran uap yang terbentuk melalui sebuah pipa uap yang lebar dan kosong, tanpa perpindahan panas dan perpindahan massa yang disengaja atau dipaksakan, yang dapat menyebabkan kondensat mengalir kembali ke alat penguap.
3. Tetes cairan yang suka menguap yang ikut terbawa dalam uap dipisahkan dengan bantuan siklon dan disalurkan kembali kedalam alat penguap.
4. Kondensasi uap dalam sebuah kondenser
5. Pendinginan lanjut dari distilat panas dalam sebuah alat pendingin
6. Penampungan distilat dalam sebuah bejana (penampung)
7. Pengeluaran residu (secara pertaian atau kontinyu)dari alat penguap.
8. Pendinginan lanjut dari residu yang dikeluarkan.
9. Penampungan residu dalam sebuah bejana.

2.9 Karakteristik pengujian bioetanol

2.9.1 Indeks bias

Indek bias pada medium didefinisikan sebagai perbandingan antara cepat rambat cahaya di udara dengan ceapt rambat cahaya di medium tersebut.

Pengujian indek bias digunakan untuk menentukan kemurnian bioetanol dan dapat menentukan dengan cepat terjadinya hidrogenasi katalis. Makin panjang rantai karbon dan makin banyak ikatan rangkap maka indek bias semakin besar. Indek bias juga dipengaruhi faktor-faktor proses oksidasi dan suhu. Alat yang digunakan untuk menentukan indek bias adalah refraktometer. (<http://id.wikipedia.org/wiki/indekbias>).

2.9.2 Kromatografi gas

Kromatografi gas adalah proses suatu campuran menjadi komponen-komponennya 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 digantikan oleh fase gas yang bergerak. Kromatografi dibagi menjadi dua kategori utama : kromatografi gas – cairan, diaman 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, yang menggunakan permukaan padat yang luas sebagai fase stasioner.

2.9.3 Viskositas

Viskositas suatu cairan murni atau larutan merupakan indeks hambatan aliran cairan. Viskositas dapat diukur dengan menggunakan laju aliran yang melalui tabung berbentuk silinder. Cara ini merupakan salah satu cara yang paling mudah dan dapat digunakan baik untuk cairan maupun gas. Menurut hukum Poiseuille, jumlah volume cairan yang mengalir melalui pipa persatuan waktu dirumuskan :

$$\frac{V}{t} = \frac{\pi P t R^4}{8 \eta L}$$

Ada beberapa viskometer yang sering digunakan untuk menentukan viskositas suatu larutan yaitu :

1. Viskometer Oswald : untuk menentukan laju alir kapiler
2. Viskometer Hopper : untuk menentukan laju bola dalam cairan
3. Viskometer silinder putar : untuk memutar satu dari dua silinder yang konsentris pada kecepatan sudut tertentu (*jobsheet Instrumen dan Pengukuran*).

2.9.4 Titik Nyala dan Titik Api

Titik nyala (flash point) adalah suhu dimana uap yang berada diatas minyak dapat menyala sementara atau akan meledak seketika kalau ada api. Sedangkan

titik api (fire point) adalah suhu dimana uap yang berada diatas minyak akan cepat terbakar seluruhnya secara terus menerus.

Titik nyala dan titik api menunjukkan indikasi jarak titik didih, dimana pada suhu tersebut minyak akan aman untuk dibawa tanpa adanya bahaya terhadap api (titik terjadi kebakaran). Peralatan yang umum dipakai untuk pemeriksaan titik nyala dan titik api adalah Open Cup (ASTM-D92) dan Pensky-Marten (ASTM-D93) untuk pemeriksaan minyak-minyak berat, sedangkan peralatan Tag-Tester (ASTM-D56) dipakai untuk pemeriksaan minyak-minyak ringan.

Minyak-minyak berat yang akan diperiksa dipanaskan pada kecepatan 10°F per menit, sedangkan untuk minyak-minyak ringan pada kecepatan 1,8°F per menit. Pada tiap pemeriksaan, nyala api dimasukkan kedalam uap selama selang waktu 30 detik, lalu suhu dicatat (*jobsheet Hidrokarbon*).

2.9.5 Berat Jenis (Density) Zat Cair

Berat jenis didefinisikan sebagai massa suatu bahan per satuan volume bahan tersebut. Bentuk persamaannya adalah :

$$\text{Berat jenis} = \frac{\text{massa}}{\text{volume}} \text{ atau } \frac{m}{v}$$

Satuan dari berat jenis adalah kg/dm³, g/cm³ atau g/ml. Berat jenis mempunyai harga konstan pada suatu temperatur tertentu dan tidak tergantung pada bahan cuplikan (sample). Dikenal beberapa alat yang digunakan untuk menentukan berat jenis yaitu aerometer, piknometer dan neraca *whestphaal*.