Jurnal Serambi Engineering JSE
Volume XI, No.4, Oktober 2026 Hal 21695 - 21703
p-ISSN : 2528-3561
e-ISSN : 2541-1934

Pembuatan Bioetanol dari Limbah Kulit Nanas Menggunakan Pelarut Hijau (*Deep Eutectic Solvent*) Berbasis *Choline Chloride* dan *Monoethanolamine*

Steven Hendrikus*, Muhammad Yerizam, Akbar Ismi Aziz Pramito

Program Studi Teknologi Kimia Industri, Politeknik Negeri Sriwijaya, Palembang
***Koresponden email**: stevenhendrikus20@gmail.com

Diterima: 14 Agustus 2026 Disetujui: 29 Agustus 2026

Abstract
This study investigated the utilization of pineapple peel waste as a raw material for bioethanol production due to its lignocellulosic content. Delignification was performed using a green solvent (Deep Eutectic Solvent) consisting of choline chloride as the hydrogen bond acceptor and monoethanolamine as the hydrogen bond donor at ratios of (1:2, 1:3, 1:4, 1:5, and 1:6). The lignin, cellulose, and hemicellulose contents were analyzed using the Chesson–Datta method. Enzymatic hydrolysis was conducted using cellulase at concentrations of 10%, 20%, and 30% for 3, 6, and 9 hours. Anaerobic fermentation was carried out using 5% Saccharomyces cerevisiae for 1–5 days, followed by distillation and GC–MS analysis. The results showed that the highest lignin reduction, 88.24%, was achieved at a DES ratio of 1:2, while the optimum ratio of 1:4 produced lignin, cellulose, and hemicellulose contents of 10%, 32%, and 43%, respectively. Hydrolysis using 30% (v/v) cellulase for 6 hours produced the highest soluble sugar content of 15.1 °Brix. The optimum fermentation occurred on the third day, yielding an alcohol content of 37.5%. GC–MS analysis produced 26 chromatographic peaks. Ethanol was indicated at peaks (3, 4, and 6), with quality match values of only 27, 27, and 2, respectively. Methanol was also indicated at peaks 3 and 4, with a quality match value of 2.
Keywords: *bioethanol, green solvent, pineapple peel waste, hydrolysis, optimize fermentation*

Abstrak
Penelitian ini mengkaji pemanfaatan limbah kulit nanas sebagai bahan baku bioetanol karena kandungan lignoselulosanya. Delignifikasi dilakukan menggunakan pelarut hijau (*Deep Eutectic Solvent*) berbasis choline chloride sebagai *hydrogen bond acceptor* dan monoethanolamine sebagai hydrogen bond donor dengan rasio (1:2, 1:3, 1:4, 1:5, dan 1:6). Kandungan lignin, selulosa, dan hemiselulosa dianalisis menggunakan metode Chesson–Datta. Hidrolisis enzimatik dilakukan menggunakan enzim selulase berkonsentrasi 10%, 20%, dan 30% selama 3, 6, dan 9 jam, sedangkan fermentasi anaerob menggunakan Saccharomyces cerevisiae 5% selama 1–5 hari, dilanjutkan dengan distilasi dan analisis GC–MS. Hasil penelitian menunjukkan penurunan lignin tertinggi sebesar 88,24% pada rasio DES 1:2, sedangkan rasio optimum 1:4 menghasilkan lignin 10%, selulosa 32%, dan hemiselulosa 43%. Hidrolisis dengan selulase 30% (v/v) selama 6 jam menghasilkan kadar gula terlarut tertinggi sebesar 15,1 °Brix. Fermentasi optimum terjadi pada hari ketiga dengan kadar alkohol 37,5%. Analisis GC–MS menghasilkan 26 puncak kromatogram. Etanol terindikasi pada puncak ke (3, 4, dan 6), yang memiliki nilai quality match masing-masing hanya 27, 27, dan 2. Metanol juga terindikasi pada puncak ke-3 dan ke-4 dengan quality match 2.
Kata Kunci: *bioetanol, pelarut hijau, limbah kulit nanas, hidrolisis, fermentasi optimum*

1. Pendahuluan

Indonesia ialah salah satu negara agraris yang berpotensi besar dalam sektor hortikultura, termasuk produksi buah-buahan salah satunya (*Ananas comosus* L.) buah nanas [4]. Produksi nanas di Indonesia terus menghadapi kenaikan setiap tahunnya yang diiringi dengan tingginya permintaan pasar dalam negeri maupun dari luar negeri. Hal ini berakibat pada meningkatnya jumlah limbah hasil pengolahan nanas, terutama limbah kulit buah nanas yang dapat mencapai sekitar 30–40% dari total berat buah. Limbah ini umumnya tidak termanfaatkan secara optimal dan berpotensi menimbulkan masalah terhadap lingkungan akibat kandungan organik yang tinggi serta mudah terdegradasi [1].

Limbah kulit buah nanas ialah biomassa lignoselulosa yang memiliki 3 komponen utama, yaitu: selulosa, hemiselulosa, serta lignin. Selulosa bisa dikonversi menjadi glukosa lewat hidrolisis yang akan menjadi bioetanol. hal ini diharapkan merupakan solusi sebagai sumber energi terbarukan. Adanya lignin

pada kandungan tersebut merupakan salah satu masalah utama pada tahap konversi tersebut. yang mana struktur selulosa dan hemiselulosa terlindungi dari enzim karena adanya lignin [17]. Delignifikasi salah satu cara yang berperan besar dalam menghilangkan lignin. Biasanya bahan kimia berbasis asam kuat ataupun basa kuat pada metode konvensional. Namun, memiliki resiko terhadap lingkungan sekitar. Adapun pelarut hijau digunakan sebagai alternatif ramah lingkungan untuk mengatasi masalah tersebut [16].

Berbagai inovasi penelitian dan pengembangan banyak menggunakan pelarut hijau (Deep Eutectic Solvent) yang merupakan suatu campuran HBA (hydrogen bond acceptor) dan HBD (hydrogen bond donor), yang biasanya memiliki titik leleh yang rendah, akan tetapi kemampuannya tanpa merusak struktur selulosa bisa melarutkan lignin. Keunggulan lain ialah harga yang terjangkau, biodegradable, dan mudah untuk sintesis [12].

2. Metode Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini, yaitu: Limbah buah kulit nanas, Choline Chloride, Monoethanolamine, Asam Sulfat, Asam Sitrat, Sodium Sitrat, Enzim Selulase (padat), Enzim Selulase (cair), Pupuk NPK, Urea, Aquadest serta alat yang digunakan pada penelitian ini, yaitu autoclave, blender, oven, spatula, SDKKAT Reflux, kertas lakmus, neraca analitik, magnetic stirrer, ayakan 60 mesh, erlenmeyer, labu ukur, saringan, gelas ukur, gelas kimia, kaca arloji, pipet tetes, pipet ukur, corong, hotplate.

Tahapan awal penelitian ini dilakukan persiapan limbah kulit nanas dengan mencuci limbah kulit buah nanas menggunakan air bersih, memotong limbah kulit buah nanas menjadi bagian-bagian kecil, mengeringkan limbah kulit buah nanas di bawah sinar matahari dalam waktu ±6 jam, mengeringkan kembali limbah kulit buah nanas menggunakan oven dalam waktu 2 x 1 jam, menghaluskan limbah kulit buah nanas yang telah dikeringkan menggunakan blender hingga menjadi bubuk, mengayak bubuk limbah kulit buah nanas yang telah dikeringkan menggunakan ayakan 60 mesh.

Tahapan kedua penelitian ini dilakukan pembuatan pelarut hijau (Deep Eutectic Solvent) dengan mencampurkan HBA (Choline Chloride) dan HBD (Monoethanolamine) dengan perbandingan (1:2; 1:3; 1:4; 1:5;1:6) dalam 25 g/ml, mereflux campuran pada temperatur 80^{o}C dalam waktu ±30 menit dengan pengadukan, mendinginkan dan menyimpan DES yang terbentuk [17].

Tahapan ketiga penelitian ini dilakukan proses delignifikasi menggunakan pelarut hijau (Deep Eutectic Solvent) dengan menimbang bubuk limbah kulit buah nanas sebanyak 10 gram, mencampurkan limbah kulit buah nanas yang telah ditimbang dengan pelarut hijau (ChCl : MEA) yang telah disiapkan ke dalam labu leher tiga, memanaskan campuran tersebut ke dalam autoklaf dan memanaskannya pada temperatur 121^{o}C dalam waktu ±1 jam, mencuci slurry hasil reaksi menggunakan aquadest hingga pH netral, mengeringkan sampel kembali pada temperatur 100^{o}C, kemudian melakukan analisis komposisi kimia menggunakan metode Chesson-Datta [5] [14].

Tahapan keempat penelitian ini dilakukan hidrolisis enzimatik dengan mensterilkan labu erlenmeyer dalam autoclave pada temperatur 121^{o}C selama ±15 menit, memasukkan sampel hasil delignifikasi sebanyak 10 gram ke dalam labu erlenmeyer 500 ml serta menambahkan buffer sitrat pH 4,8 dan aduk hingga homogen, memeriksa pH campuran larutan serta memastikan pH hidrolisis tercapai, menambahkan enzim selulase ke dalam larutan sesuai dengan variasi (%b/b) 10%, 20%, 30%, variasi (%v/v) 10%, 20%, 30%, menutup erlenmeyer dengan sumbat karet serta melakukan hidrolisis dalam waktu 3 x ±3 jam (total ±9 jam), memfiltrasi sampel hasil hidrolisis enzimatik untuk dilakukan pengukuran kadar gula terlarut menggunakan refraktometer ^{o}Brix [2] [3].

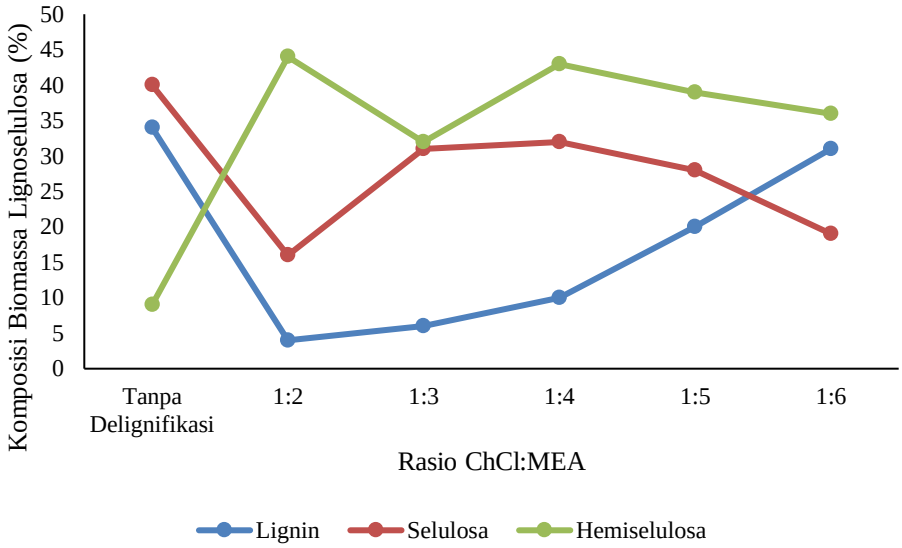
Tahapan kelima penelitian ini dilakukan fermentasi menggunakan *Saccaromyces Cerevisiae* dengan melakukan sterilisasi peralatan yang akan digunakan untuk proses fermentasi dalam autoclave pada temperatur 121^{o}C dalam waktu ±15 menit, memasukan larutan hasil hidrolisis ke dalam labu erlenmeyer 500 ml, menambahkan 5% Saccharomyces Cerevisiae (%b/v), Nutrient NPK 4% (%b/v) dan UREA 3% (%b/v) ke dalam labu erlenmeyer yang sudah diisi larutan hasil hidrolisis, melakukan fermentasi selama 5 hari dalam kondisi anaerob pada suhu kamar, mengambil sampel fermentasi setiap 24 jam sekali untuk dilakukan pengukuran kadar etanol [4] [13].

Tahapan akhir penelitian ini dilakukan analisa kadar bioetanol menggunakan gas kromatografi dengan memfiltrasi sampel hasil fermentasi untuk diambil cairannya, melakukan distilasi sampel pada temperatur 78^{o}C (titik didih bioetanol), melakukan pengambilan sampel hasil distilasi untuk dilakukan pengukuran menggunakan Gas Chromatography – Spectrometry [15].

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Efektivitas rasio (ChCl:MEA) pelarut hijau terhadap kandungan biomassa lignoselulosa

Adapun efektivitas rasio (ChCl:MEA) pelarut hijau terhadap kandungan biomassa lignoselulosa dapat dilihat pada **Gambar 1.**



Gambar 1. Rasio (ChCl:MEA) terhadap Kandungan Biomassa Lignoselulosa

Berdasarkan data yang diberikan, terlihat bahwa variasi rasio berpengaruh terhadap hasil analisa residu maupun komposisi lignin, selulosa, dan hemiselulosa yang diperoleh. Pada kondisi awal dengan kandungan lignin 34%, selulosa 40%, dan hemiselulosa 9% [17]. Perbedaan komposisi yang dihasilkan menunjukkan bahwa rasio merupakan salah satu faktor penting yang memengaruhi efektivitas pretreatment dalam memisahkan komponen lignoselulosa dan meningkatkan fraksi karbohidrat yang dapat dimanfaatkan pada tahap berikutnya [11].

Pada rasio ChCl:MEA 1:2, perlakuan ini menghasilkan penurunan lignin yang sangat signifikan hingga hanya 4%. Penurunan lignin tersebut menunjukkan bahwa perlakuan pada rasio ChCl:MEA 1:2 mampu melarutkan atau menghilangkan sebagian besar lignin dari biomassa. Di sisi lain, kandungan hemiselulosa meningkat menjadi 44%, sedangkan selulosa turun menjadi 16%. Rendahnya kandungan lignin mengindikasikan bahwa struktur lignoselulosa telah mengalami pembukaan yang signifikan sehingga ikatan antara lignin dan karbohidrat menjadi lebih mudah diputus.

Pada rasio ChCl:MEA 1:3, komposisi lignin sedikit meningkat menjadi 6%, sedangkan kandungan selulosa meningkat tajam menjadi 31%. Hal ini menunjukkan bahwa rasio 1:3 mulai memberikan keseimbangan yang lebih baik antara proses delignifikasi dan preservasi selulosa. Lebih tinggi dibandingkan rasio 1:2. Kondisi tersebut menunjukkan bahwa sebagian besar lignin masih berhasil dihilangkan tanpa menyebabkan kehilangan selulosa yang terlalu besar sehingga berpotensi meningkatkan efisiensi hidrolisis dan produksi gula fermentabel.

Perlakuan rasio ChCl:MEA 1:4, menunjukkan hasil yang cukup optimal. Kandungan lignin tetap rendah yaitu 10%, sementara selulosa dan hemiselulosa masing-masing sebesar 32% dan 43%. Rendahnya lignin dengan tingginya fraksi karbohidrat menunjukkan bahwa rasio 1:4 efektif dalam membuka struktur biomassa sehingga komponen selulosa dan hemiselulosa lebih tersedia untuk proses lanjutan seperti hidrolisis. Penurunan lignin yang disertai tingginya kandungan karbohidrat umumnya menjadi indikator keberhasilan pretreatment biomassa lignoselulosa.

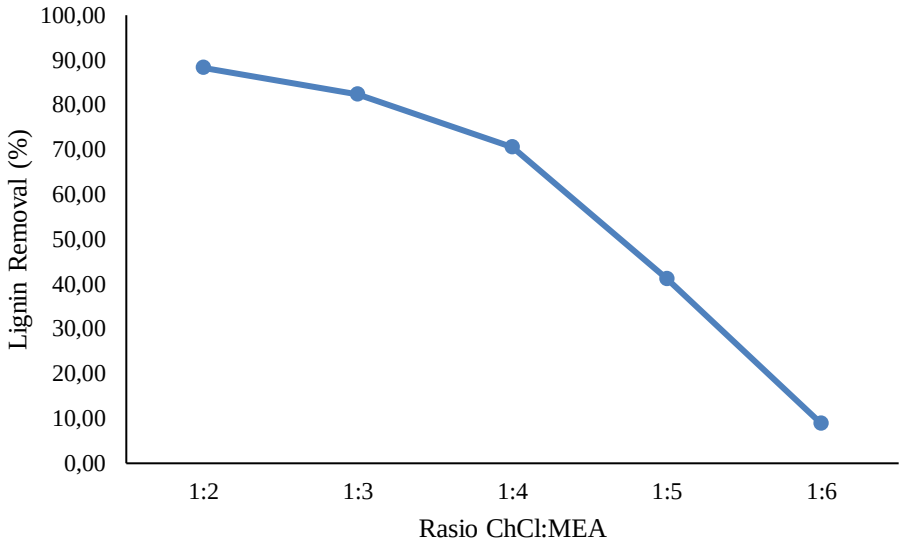
Pada rasio ChCl:MEA 1:5, kandungan lignin meningkat menjadi 20%, sedangkan selulosa sedikit menurun menjadi 28% dan hemiselulosa sebesar 39%. Peningkatan lignin mengindikasikan bahwa efektivitas delignifikasi mulai menurun dibandingkan rasio 1:4. Oleh karena itu, rasio ChCl:MEA 1:5 belum tentu menjadi kondisi terbaik. Fenomena ini menunjukkan bahwa peningkatan jumlah reagen tidak selalu berbanding lurus dengan efektivitas pretreatment karena dapat terjadi kondisi optimum pada rasio tertentu.

Pada rasio ChCl:MEA 1:6, kandungan lignin meningkat cukup besar hingga 31%, mendekati kondisi awal. Sebaliknya, kandungan selulosa turun menjadi 19%. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan rasio yang terlalu tinggi dapat mengurangi efektivitas perlakuan terhadap pemisahan lignin dan menyebabkan

kualitas hasil menjadi kurang baik. Dengan demikian, rasio 1:4 dapat dianggap sebagai kondisi yang paling optimal dibandingkan perlakuan lainnya. Rasio ini menghasilkan lignin yang relatif rendah (10%), serta kandungan selulosa dan hemiselulosa yang masih tinggi sehingga berpotensi memberikan hasil terbaik pada tahap hidrolisis dan fermentasi berikutnya [9].

3.2 Efektivitas Rasio (ChCl:MEA) Pelarut Hijau Terhadap Penghilangan Kadar Lignin.

Adapun efektivitas rasio (ChCl:MEA) terhadap penghilangan kadar lignin dapat dilihat pada **Gambar 2.**



Gambar 2. Rasio (ChCl:MEA) Terhadap Penghilangan Kadar Lignin.

Data lignin removal menunjukkan bahwa peningkatan rasio ChCl:MEA memberikan pengaruh yang cukup signifikan terhadap kemampuan proses dalam menghilangkan lignin dari biomassa. Persentase lignin removal tertinggi diperoleh pada rasio ChCl:MEA 1:2 yaitu sebesar 88%, kemudian menurun secara bertahap pada rasio 1:3 sebesar 82%, 1:4 sebesar 71%, 1:5 sebesar 41%, dan mencapai nilai terendah pada rasio 1:6 yaitu hanya 9%. Tren ini menunjukkan bahwa semakin besar rasio ChCl:MEA yang digunakan, efektivitas delignifikasi cenderung menurun. Hasil tersebut mengindikasikan bahwa rasio ChCl:MEA merupakan salah satu faktor penting yang memengaruhi kemampuan pelarut dalam mendegradasi dan melarutkan lignin dari struktur lignoselulosa [10].

Pada rasio ChCl:MEA 1:2, proses delignifikasi berlangsung sangat efektif dengan kemampuan menghilangkan 88% lignin dari biomassa awal. Tingginya lignin removal menunjukkan bahwa pelarut atau reagen yang digunakan pada rasio ini memiliki kemampuan yang sangat baik dalam memutus ikatan lignin dan melarutkannya dari matriks lignoselulosa. Kondisi ini menyebabkan struktur biomassa menjadi lebih terbuka sehingga komponen selulosa dan hemiselulosa lebih mudah diakses pada tahap berikutnya. Semakin rendah kandungan lignin yang tersisa, semakin tinggi pula potensi peningkatan aksesibilitas enzim terhadap substrat selulosa.

Ketika rasio ChCl:MEA ditingkatkan menjadi 1:3, lignin removal mengalami sedikit penurunan menjadi 82%. Penurunan sebesar 6%, nilai tersebut masih tergolong tinggi dan menunjukkan bahwa proses delignifikasi masih berlangsung secara efektif. Penurunan yang relatif kecil ini mengindikasikan bahwa sistem masih berada pada kondisi yang mendukung pelarutan lignin, meskipun efisiensinya mulai berkurang dibandingkan rasio 1:2. Tingkat penghilangan lignin yang tinggi pada tahap pretreatment umumnya berkorelasi dengan peningkatan ketersediaan selulosa untuk proses hidrolisis selanjutnya.

Pada rasio ChCl:MEA 1:4, persentase lignin removal turun lebih jauh menjadi 71%. Walaupun masih mampu menghilangkan lebih dari dua pertiga lignin awal, penurunan ini menunjukkan bahwa kemampuan reagen dalam melarutkan lignin mulai berkurang secara nyata. Namun demikian, nilai 71% masih dapat dianggap cukup baik untuk proses pretreatment biomassa karena sebagian besar lignin telah berhasil dihilangkan sehingga aksesibilitas enzim terhadap selulosa tetap meningkat. Menurut beberapa penelitian, delignifikasi yang berada pada kisaran menengah hingga tinggi masih mampu memberikan peningkatan efisiensi hidrolisis apabila fraksi karbohidrat tetap terjaga.

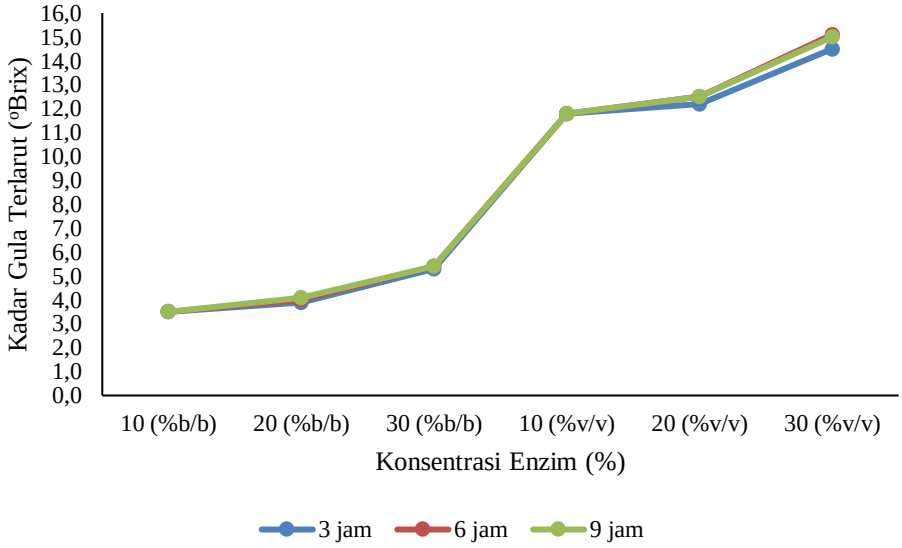
Penurunan yang paling mencolok terjadi pada rasio ChCl:MEA 1:5, dimana lignin removal hanya mencapai 41%. Dibandingkan rasio 1:4, terjadi penurunan sebesar 30 poin persentase. Kondisi ini mengindikasikan bahwa peningkatan rasio ChCl:MEA telah menyebabkan efektivitas sistem delignifikasi menurun secara drastis. Kemungkinan terjadi perubahan sifat pelarut, kejenuhan sistem, atau berkurangnya interaksi yang efektif antara reagen dan lignin sehingga proses pelarutan lignin tidak berlangsung optimal. Fenomena tersebut menunjukkan bahwa peningkatan jumlah komponen penyusun pelarut tidak selalu menghasilkan delignifikasi yang lebih baik karena terdapat kondisi optimum yang bergantung pada karakteristik biomassa dan sistem pelarut yang digunakan.

Pada rasio ChCl:MEA 1:6, lignin removal hanya sebesar 9%, yang berarti hampir seluruh lignin tetap berada di dalam biomassa. Nilai ini menunjukkan bahwa kondisi tersebut merupakan kondisi yang paling tidak efektif untuk proses delignifikasi. Jika dibandingkan dengan rasio 1:2, efisiensinya turun hingga sekitar 79 poin persentase.

Berdasarkan keseluruhan data, dapat disimpulkan bahwa rasio ChCl:MEA 1:2 merupakan kondisi terbaik untuk menghilangkan lignin karena menghasilkan lignin removal tertinggi sebesar 88%, sedangkan peningkatan rasio ChCl:MEA di atas nilai tersebut justru menyebabkan penurunan kemampuan delignifikasi secara bertahap hingga mencapai kondisi yang sangat tidak efektif pada rasio 1:6 [9]. Fenomena ini menunjukkan bahwa terdapat rasio ChCl:MEA optimum dalam proses pretreatment, dan penggunaan reagen dalam jumlah yang lebih besar tidak selalu menghasilkan penghilangan lignin yang lebih baik [7].

3.3 Efektivitas Konsentrasi Enzim dan Waktu terhadap Kadar Gula Terlarut yang Dihasilkan Melalui Hidrolisis Enzimatik.

Adapun efektivitas konsentrasi enzim dan waktu terhadap kadar gula terlarut yang dihasilkan melalui hidrolisis enzimatik dapat dilihat pada **Gambar 3.**



Gambar 3. Konsentrasi Enzim dan Waktu terhadap Kadar Gula Terlarut yang Dihasilkan Melalui Hidrolisis Enzimatik

Berdasarkan data hasil hidrolisis enzimatik, terlihat bahwa konsentrasi enzim dan waktu hidrolisis memberikan pengaruh terhadap kadar gula terlarut yang dihasilkan. Secara umum, peningkatan konsentrasi enzim dari 10% menjadi 30% menyebabkan peningkatan nilai °Brix pada kedua metode penambahan enzim, yaitu berdasarkan persen berat terhadap berat (%b/b) maupun persen volume terhadap volume (%v/v). Hal ini menunjukkan bahwa semakin banyak enzim yang tersedia, semakin besar kemampuan sistem dalam menghidrolisis selulosa dan hemiselulosa menjadi gula sederhana yang terlarut dalam media. Peningkatan konsentrasi enzim umumnya akan meningkatkan jumlah situs aktif yang tersedia untuk mengkatalisis pemutusan ikatan glikosidik pada polisakarida.

Pada perlakuan hidrolisis enzimatik dengan konsentrasi 10% (%b/b), nilai kadar gula terlarut tetap berada pada angka 3,5°Brix untuk seluruh waktu hidrolisis, yaitu 3, 6, dan 9 jam. Hasil ini menunjukkan bahwa penambahan enzim sebesar 10% belum cukup untuk menghasilkan peningkatan gula terlarut yang signifikan dalam rentang waktu pengamatan. Kemungkinan jumlah enzim yang tersedia masih terbatas

sehingga laju hidrolisis berlangsung relatif lambat dan belum mampu menghasilkan akumulasi gula yang terukur secara nyata menggunakan refraktometer. Kondisi serupa sering ditemukan pada hidrolisis lignoselulosa ketika jumlah enzim lebih rendah dibandingkan jumlah substrat yang tersedia.

Pada konsentrasi enzim 20% (%b/b), terjadi peningkatan kadar gula terlarut dari 3,9°Brix pada waktu 3 jam menjadi 4,0°Brix pada 6 jam dan 4,1°Brix pada 9 jam. Peningkatan ini menunjukkan bahwa penambahan jumlah enzim mampu meningkatkan pemecahan polisakarida menjadi gula terlarut. Namun, kenaikan yang terjadi relatif kecil sehingga mengindikasikan bahwa sebagian substrat mungkin mulai mengalami keterbatasan akses atau aktivitas enzim mulai mendekati kondisi keseimbangan reaksi. Penurunan laju hidrolisis seiring bertambahnya waktu sering dikaitkan dengan berkurangnya substrat yang mudah terhidrolisis dan akumulasi produk hasil reaksi.

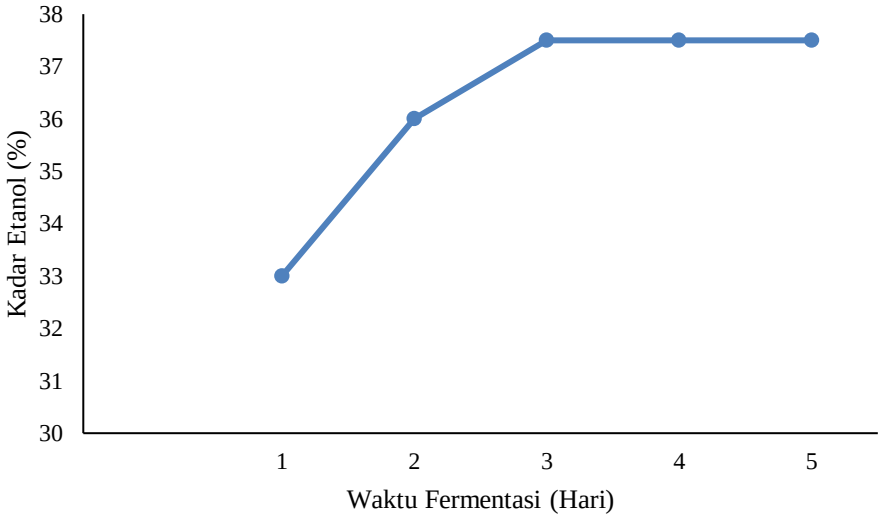
Perlakuan terbaik pada kelompok %b/b diperoleh pada konsentrasi enzim 30%. Nilai kadar gula terlarut meningkat menjadi 5,3°Brix pada 3 jam, kemudian 5,4°Brix pada 6 jam dan tetap 5,4°Brix pada 9 jam. Data ini menunjukkan bahwa sebagian besar proses hidrolisis telah berlangsung pada enam jam pertama, sedangkan penambahan waktu hingga 9 jam tidak lagi menghasilkan peningkatan gula yang berarti. Kondisi tersebut mengindikasikan bahwa laju reaksi mulai menurun akibat berkurangnya substrat yang mudah dihidrolisis atau mulai terjadinya inhibisi produk terhadap aktivitas enzim. Fenomena inhibisi produk oleh glukosa dan selobiosa telah banyak dilaporkan pada proses hidrolisis enzimatik biomassa lignoselulosa.

Pada hidrolisis enzimatik dengan dasar perhitungan %v/v, pola yang serupa juga terlihat namun dengan nilai °Brix yang jauh lebih tinggi dibandingkan perlakuan %b/b. Pada konsentrasi enzim 10%, kadar gula terlarut mencapai 11,8°Brix dan tidak mengalami perubahan selama 3–9 jam. Ketika konsentrasi enzim ditingkatkan menjadi 20%, kadar gula meningkat dari 12,2°Brix menjadi 12,5°Brix. Sementara itu, pada konsentrasi 30%, diperoleh nilai tertinggi yaitu 14,5°Brix pada 3 jam, meningkat menjadi 15,1°Brix pada 6 jam, dan sedikit menurun menjadi 15,0°Brix pada 9 jam. Hasil ini menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi enzim memberikan pengaruh yang lebih dominan dibandingkan penambahan waktu hidrolisis. Konsentrasi enzim yang lebih tinggi umumnya meningkatkan efisiensi konversi substrat selama jumlah substrat masih mencukupi untuk mendukung aktivitas enzim tersebut.

Secara keseluruhan, konsentrasi enzim terbukti menjadi faktor yang lebih berpengaruh terhadap naiknya kadar gula terlarut dibandingkan waktu hidrolisis dalam rentang 3–9 jam. Pada kedua metode penambahan enzim, peningkatan konsentrasi dari 10% menjadi 30% selalu menghasilkan peningkatan kadar gula terlarut yang signifikan. Sedangkan, penambahan waktu hidrolisis dari 6 jam menjadi 9 jam cenderung stagnan. Berdasarkan data yang diperoleh, kondisi optimum terdapat pada konsentrasi enzim 30% dengan waktu hidrolisis 6 jam, yang menghasilkan kadar gula terlarut tertinggi sebesar 5,4°Brix pada perlakuan %b/b dan 15,1°Brix pada perlakuan %v/v. Hasil ini menunjukkan bahwa peningkatan dosis enzim lebih efektif dalam meningkatkan produksi gula dibandingkan memperpanjang waktu hidrolisis setelah reaksi mendekati kondisi optimum [2].

3.4 Efektivitas Waktu Fermentasi terhadap Kadar Etanol

Adapun efektivitas pengaruh waktu fermentasi terhadap kadar etanol dapat dilihat pada **Gambar 4.**



Gambar 4. Efektivitas Waktu Fermentasi terhadap Kadar Etanol

Berdasarkan data hasil fermentasi menggunakan Saccharomyces cerevisiae dengan konsentrasi inokulum 5% (b/v), terlihat bahwa waktu fermentasi memberikan pengaruh terhadap kadar etanol yang dihasilkan. Kadar etanol meningkat dari 33% pada hari pertama menjadi 36% pada hari kedua, kemudian mencapai 37,5% pada hari ketiga. Setelah hari ketiga, kadar etanol tidak mengalami peningkatan lagi dan tetap berada pada nilai 37,5% hingga hari kelima. Hasil ini menunjukkan bahwa proses fermentasi berlangsung aktif pada awal fermentasi, kemudian memasuki fase stabil setelah hari ketiga. Lama fermentasi merupakan salah satu faktor utama yang memengaruhi konversi gula menjadi etanol oleh khamir [13].

Pada hari pertama fermentasi, kadar etanol yang dihasilkan sebesar 33%. Nilai ini menunjukkan bahwa sel khamir telah mampu memanfaatkan gula hasil hidrolisis sebagai substrat untuk menghasilkan etanol melalui jalur fermentasi anaerob. Pada tahap awal fermentasi, sel Saccharomyces cerevisiae umumnya berada pada fase adaptasi dan mulai memasuki fase pertumbuhan eksponensial, sehingga konversi gula menjadi etanol telah berlangsung tetapi belum mencapai kondisi maksimum. Oleh karena itu, kadar etanol yang diperoleh pada hari pertama masih lebih rendah dibandingkan hari-hari berikutnya.

Peningkatan kadar etanol yang cukup nyata terjadi pada hari kedua, yaitu menjadi 36%. Kenaikan sebesar 3% dibandingkan hari pertama menunjukkan bahwa aktivitas metabolisme khamir semakin meningkat seiring bertambahnya populasi sel yang aktif. Pada fase ini, sebagian besar gula yang tersedia masih dapat dimanfaatkan secara efektif sehingga produksi etanol berlangsung dengan laju yang relatif tinggi. Kondisi tersebut menunjukkan bahwa proses fermentasi masih berada dalam fase produktif dan belum mengalami hambatan yang berarti.

Pada hari ketiga fermentasi, kadar etanol meningkat kembali hingga mencapai 37,5%. Meskipun kenaikannya tidak sebesar hari sebelumnya, hasil ini menunjukkan bahwa proses konversi gula menjadi etanol masih berlangsung. Nilai 37,5% merupakan kadar etanol tertinggi yang diperoleh selama fermentasi. Pencapaian nilai maksimum pada hari ketiga mengindikasikan bahwa sebagian besar gula yang dapat difermentasi telah dikonsumsi oleh khamir dan diubah menjadi etanol serta produk samping lainnya seperti karbon dioksida. Produksi etanol maksimum umumnya terjadi ketika ketersediaan gula mulai menurun dan sistem mendekati keseimbangan fermentasi.

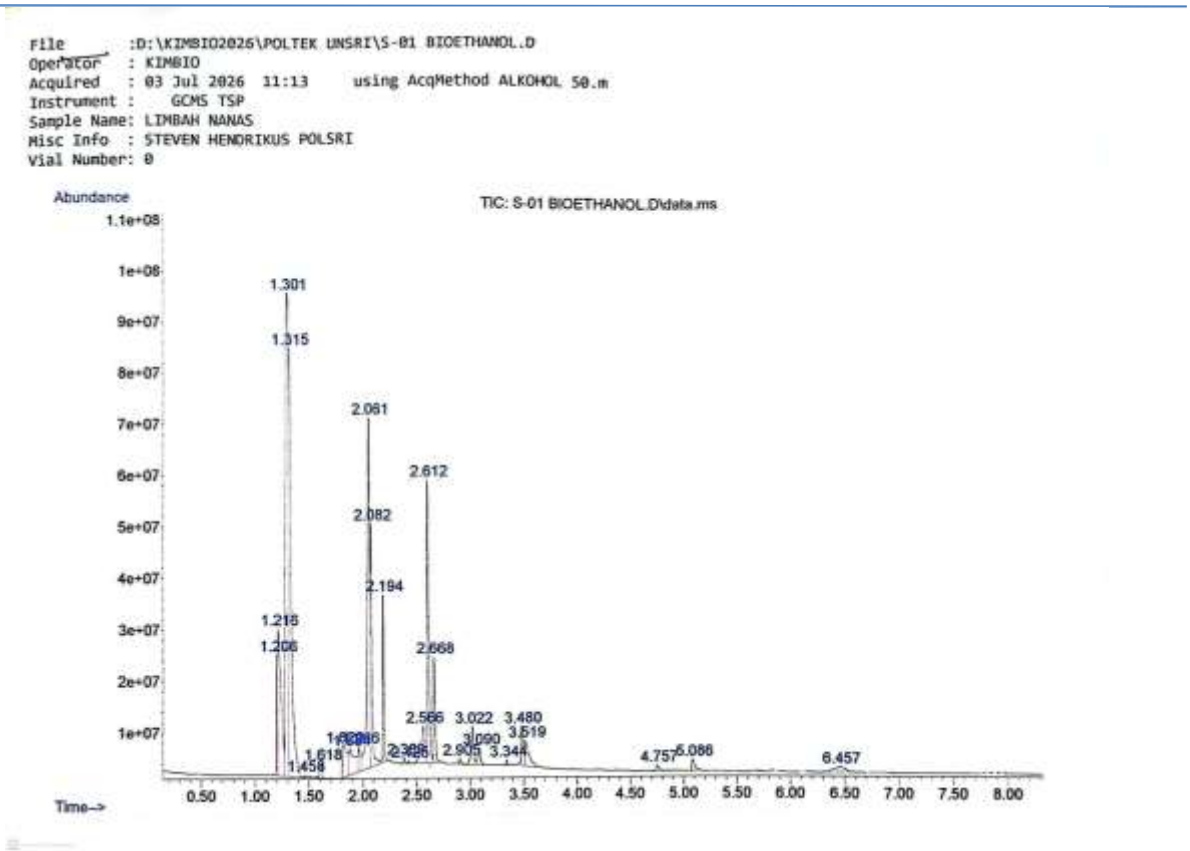
Pada hari keempat dan kelima, kadar etanol tidak mengalami peningkatan dan tetap berada pada angka 37,5%. Kondisi ini menunjukkan bahwa sistem fermentasi telah mencapai fase stasioner. Akibatnya, penambahan waktu fermentasi tidak lagi memberikan peningkatan hasil yang signifikan.

Secara keseluruhan, hasil penelitian menunjukkan bahwa waktu fermentasi berpengaruh terhadap produksi etanol hingga hari ketiga, namun setelah itu peningkatan hasil tidak lagi terjadi. Kadar etanol meningkat dari 33% pada hari pertama menjadi 37,5% pada hari ketiga dan kemudian stabil hingga hari kelima. Berdasarkan data tersebut, waktu fermentasi optimum pada penelitian ini dapat ditetapkan pada hari ketiga karena telah menghasilkan kadar etanol maksimum dengan waktu proses yang lebih singkat dibandingkan hari keempat dan kelima [4].

3.5 Analisa hasil GC-MS (Gas Chromatography – Mass Spectrometry)

Adapun grafik analisa hasil GC-MS dapat dilihat pada **Gambar 5.** Berdasarkan hasil analisis Gas Chromatography–Mass Spectrometry (GC-MS) terhadap bioetanol yang diperoleh dari limbah kulit nanas menggunakan pelarut hijau *Deep Eutectic Solvent* (DES) berbasis Choline Chloride dan Monoethanolamine, diperoleh sebanyak 26 puncak pada kromatogram. Hasil identifikasi menggunakan library search menunjukkan bahwa senyawa yang diindikasikan sebagai etanol terdeteksi pada puncak ke-3 (RT 1,301 menit), puncak ke-4 (RT 1,315 menit), dan puncak ke-6 (RT 1,618 menit) dengan nilai Quality Match masing-masing sebesar 27, 27, dan 2 [8].

Selain itu, library juga memberikan indikasi adanya metanol pada puncak ke-3 dan puncak ke-4 dengan nilai Quality Match sebesar 2. Sementara itu, 23 puncak lainnya tidak berhasil diidentifikasi karena tidak ditemukan kecocokan yang memadai dengan database (*No Matches Found*). Berdasarkan luas area kromatogram, puncak ke-3 merupakan komponen dominan dengan luas area relatif sebesar 21,22% pada waktu retensi 1,301 menit, diikuti oleh peak ke-4 dengan luas area 18,96% pada waktu retensi 1,315 menit, sedangkan peak ke-6 memiliki luas area relatif sebesar 0,51% pada waktu retensi 1,618 menit [18].



Gambar 5. Hasil Analisa GC-MS (Gas Chromatography – Mass Spectrometry)

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian mengenai pembuatan bioetanol dari limbah kulit nanas menggunakan pelarut hijau (Deep Eutectic Solvent) berbasis Choline Chloride dan Monoethanolamine, dapat disimpulkan bahwa: Rasio (ChCL:MEA) pelarut hijau yang paling efektif pada proses delignifikasi adalah Rasio (1:4) yang memberikan keseimbangan terbaik antara penghilangan lignin dengan preservasi selulosa dan hemiselulosa sehingga memperoleh kandungan lignin 10%, selulosa 32%, dan hemiselulosa 43%; Kombinasi konsentrasi enzim dan waktu hidrolisis enzimatik yang terbaik diperoleh pada konsentrasi enzim selulase 30% (%v/v) dengan waktu hidrolisis 6 jam. Kondisi ini menghasilkan kadar gula terlarut tertinggi yaitu 15,1°Brix; Waktu fermentasi terbaik menggunakan Saccharomyces cerevisiae dengan konsentrasi inokulum 5% (b/v) adalah 3 hari, karena menghasilkan kadar etanol tertinggi sebesar 37,5%; Etanol terdeteksi pada peak ke-3 (RT 1,301 menit), peak ke-4 (RT 1,315 menit), dan peak ke-6 (RT 1,618 menit) dengan nilai Quality Match masing-masing sebesar 27, 27, dan 2. Dan metanol pada peak ke-3 dan peak ke-4 dengan nilai Quality Match sebesar 2.

5. Referensi

[1] Alhaviz, A., Pratiwi, E. E., Sumbari, A., I., Lestari, S. U., Ibrahim, R., & Ihsan, F. (2025). Pemberdayaan Kelompok Tani Senyerang melalui Pelatihan Pembuatan Pupuk Organik Cair dari Limbah Kulit Nanas. *JDISTIRA: Jurnal Pengabdian Inovasi dan Teknologi kepada Masyarakat, 5*(1) 212-216.

[2] Annindya, P. A., Rachmanto, T. A., & Novembrianto, R., (2025). Kinetika Hidrolisis Selulosa Menjadi Glukosa pada Limbah Kulit Nanas (Ananas Comosus) Menggunakan Enzim Selulase. *Journal of Natural Sciences, 6*(3), 301-312.

[3] Aprilyanti, S., Suryani, F., & Pratiwi, I. (2020). Optimasi Waktu Hidrolisis dan Volume Enzim pada Proses Hidrolisis Enzimatis Selulosa Jerami Padi. *Prosiding Seminar Nasional II Hasil Litbangyasa Industri*, 78-86.

[4] Cahyaningtiyas, A., & Sindhuwati, C. (2021). Pengaruh Penambahan Konsentrasi Saccharomyces cerevisiae pada Pembuatan Etanol dari Air Tebu dengan Proses Fermentasi. *Distilat: Jurnal Teknologi Separasi, 7*(2), 89–94.

[5] Hanifah, A., Permana, D., Mardawati, E., & Masruchin, N. (2025). Isolasi Selulosa Limbah Kulit Bawang Putih dan Black Garlic dengan Menggunakan Metode Deep Eutectic Solvent (DES).

Metana: Media Komunikasi Rekayasa Proses dan Teknologi Tepat Guna, 21(2), 55–64.

[6] Ihtifazhuddin, F., Yerizam, M., & Yuliati, S., (2024). Preparation of Bioethanol from Pineapple Peel Waste for Blending Pertalite into Alternative Fuel (Gasohol). *Jurnal Sumberdaya Alam dan Lingkungan, 11*(2), 54-63.

[7] Jin, S., Meng, Y., Miao, D., Shi, C., Yang, J., Shi, Z., & Yang, H. (2026). Third-Component-Regulated Choline Chloride-Monoethanolamine-Based Solvent Systems for Enchanced Valorization of Bamboo Toward Concurrent Bioethanol and Carbon Dot Production. *Molecules, 3*(11), 1832.

[8] Marampung, W., Simbala, H. E. I., & Rumondor, E. M. (2024). Analisis GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectometry) dari Ekstrak Etanol Daun Gedi Hijau (Abelmoschus manihot L.). *Jurnal Lentera Farma, 3*(1), 7-13.\

[9] Miftah, A. K., Sittijunda, S., Imai, T., Salakkam, A., & Reungsang, A. (2022). Biohydrogen and Methane Production from Sugarcane Leaves Preteated by Deep Eutectic Solvents and Enzymatic Hydrolisis by Cellulolytic Consortia. *Fermentation, 8*(8), 396.

[10] Nurwahdah, Naini, A. A., Nadia, A., Lestari, R. Y., & Sunardi. (2018). Pretreatment Lignoselulosa dari Jerami Padi dengan Deep Eutectic Solvent untuk Meningkatkan Produksi Bioetanol Generasi Dua. *Jurnal Riset Industri Hasil Hutan, 10*(1), 43–54.

[11] Rahmi, H. Y., Kusumastuti, Y., & Hidayat, M. (2024). Isolasi Selulosa dari Tandan Kosong Kelapa Sawit menggunakan Deep Eutectic Solvent (DES) Berbasis Kolin Klorida dan Asam Laktat. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat, 7*(1), 57–64.

[12] Roslan, M. F., Luthfi, A. A. I., Mat Salleh, M. Z., Abdul Manaf, S. F., Nasoha, N. Z., Hariz, H. B., Tan, J. P., & Abdul, P. M. (2024). Deep Eutectic Solvent Pretreatment for Enhanced Enzymatic Hydrolysis of Pineapple Biomass via Response Surface Methodology. *Biomass Conversion and Biorefinery*.

[13] Salim, M., A., Zulnazri, Azhari, ZA, N., & Bahri, S. (2024). Pemanfaatan Limbah Kulit Nanas Sebagai Bahan Baku Pembuatan Bioetanol Menggunakan Ragi Saccharomyces Cereviceae. *Chemical Engineering Journal Storage, 4*(3) 433-441.

[14] Shobib, A., Da Silva, T., Pramudono, B., Rokhati, N., & Kasmiyatun, M. (2023). Analisis Komposisi Selulosa, Hemiselulosa, dan Lignin dalam Berbagai Jenis Kayu: Metode Chesson-Datta. *Inovasi Teknik kimia, 8*(4), 318-323.

[15] Ulfa, M., Astuti, R. Y., Alam, R. B., & Suharsanti, R. (2019). Kadal Iran (Ethanol Content Nira Siwalan (*Borassus flabellifer*)) with GC-MS (*Gas Chromatography Mass Spectrometry*) Analisis. *Media Farmasi Indonesia, 14*(2). 1522-1524

[16] Yerizam, M., Jannah, A. M., Aprianti, N., Yandriani, Y., Rendana, M., Ernas, A. Q., & Tamba, J. L. (2023). Bioethanol Production from Coconut Husk Using DES-NADES Pretreatment and Enzymatic Hydrolysis Method. *Comptes Rendus Chimie.*

[17] Yerizam, M., Ramayanti, C., Puspa, D., Tamara, A., Chairunisa, H., & Jannah, A. M. (2026). The Influence of Deep eutectic Solvent Pretreatment on Pineapple Peel Delignification. *Journal of Ecological Engineering, 27*(5), 87–95.

[18] Zafitri, R., Roanisca, O., & Arsyadi, A. (2025). Pengaruh Variasi Waktu pada Fermentasi Limbah Serai Wangi (Cymbopogon nardus) Menjadi Bioetanol Menggunakan Saccharomyces cerevisiae. *Seminar Nasional Penelitian dan Pengabdian pada Masyarakat 2025*. Fakultas Sains dan Teknik Universitas Bangka Belitung. 246-251.