

## PEMBUATAN ETANOL DARI NIRA NIPAH (*Nypa fruticans* Wurmb) DENGAN PROSES FERMENTASI

Tri Ambar Nur Hidayat, Tjiptasurasa, Suparman

Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto  
Jl. Raya Dukuwaluh, PO BOX 202, Purwokerto 53182

### ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang pembuatan etanol dari nira nipah (*Nypa fruticans* Wurm) dengan proses fermentasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bahwa etanol dapat dihasilkan dari nira nipah (*Nypa fruticans* Wurmb) dan mengetahui jumlah ragi yang dapat menghasilkan etanol yang optimum. Dalam penelitian ini metode yang digunakan adalah metode fermentasi dengan menggunakan ragi (*Saccharomyces cerevisiae*). Penetapan jumlah etanol yang dihasilkan dihitung dengan metode penyulingan yang dilakukan dengan cara menimbang bobot jenis etanol yang dihasilkan menggunakan piknometer.

Hasil penelitian ini menunjukkan etanol dapat dihasilkan dari nira nipah sebanyak 5% sampai 6% sehingga jumlah ragi yang digunakan tidak berpengaruh signifikan.

Kata kunci: Etanol, Nira nipah, Fermentasi, *Saccharomyces cerevisiae*

### ABSTRACT

*It had been conducted a study on the making ethanol from nypa sap (Nypa fruticans Wurmb) with fermentation process. This study aimed determine the amount of ethanol produced from nypa sap and to the amount of yeast that could produce the optimum ethanol. In this fermentation using yeast (Saccharomyces cerevisiae). To determine the amount of ethanol produced was carried out by weighing the gravity of ethanol distilled using piknometer.*

*The result of this study showed that ethanol could be produced from the nypa sap in the amount of 5 to 6% without significantly influence by the amoun of yeast used.*

*Key words : Ethanol, Nypa sap, fermentation, Saccharomyces cerevisiae*

### PENDAHULUAN

Nipah merupakan tumbuhan dari suku Arecaceae yang tumbuh di lingkungan hutan bakau atau daerah pasang-surut. Tumbuhan ini di daerah Cilacap biasa dikenal dengan nama daon. Nipah sering dimanfaatkan daunnya sebagai atap rumah oleh sebagian penduduk tepi laut

dengan nama welit dan kajang yang dirangkai dengan seutas tali dari bambu. Tumbuhan nipah di Indonesia sangat luas dan banyak jumlahnya, karena Indonesia merupakan negara kepulauan terbesar di dunia dengan 17.508 pulau dan garis pantai sepanjang 81.000 km (Dahuri *et al*, 2001)

Pemanfaatan nipah yang dilakukan masyarakat belum maksimal karena pada dasarnya nipah dapat menghasilkan nira. Nira nipah ini mengandung gula (sukrosa) yang kemudian dapat diolah menjadi gula nipah. Pembuatan gula nipah ini masih jarang dilakukan oleh masyarakat yang memiliki lahan nipah, Karena tidak mengetahui bahwa nipah dapat menghasilkan gula bahkan mampu menghasilkan etanol. Pengolahan nira nipah menjadi gula dilakukan seperti pada pembuatan gula aren atau gula kelapa, karena pada dasarnya kandungannya sama yaitu sama-sama mengandung gula sukrosa. Cara pengambilan nira dari ketiga bahan ini juga sama yaitu melalui penyadapan tongkol bunganya (<http://www.ristek.go.id>).

Pemanfaatan nira sebagai sumber bioetanol sangat potensial dilihat berdasar jumlah lahan tumbuh nipah yang ada di Indonesia. Pemanfaatan nira nipah sebagai sumber etanol merupakan pilihan karena penggunaan etanol yang luas. Etanol digunakan antara lain sebagai bahan baku senyawa-senyawa organik lain seperti asam asetat, eter, kloroform, iodoform, dan juga ester. Etanol juga merupakan pelarut pada

pembuatan pernis, dan bahan organik lain seperti minyak wangi, iodum tingtur, kamper spirtus, dan bran spirtus (Sa'id, 1987).

Dengan bantuan proses fermentasi menggunakan bantuan khamir (*Saccharomyces cerevisiae*), diharapkan nira nipah dapat menghasilkan etanol. Hasil etanol yang dihasilkan dari proses fermentasi ini dapat disebut sebagai bioetanol yaitu etanol yang dihasilkan dari proses fermentasi yang dilakukan oleh ragi (Prihandana *et al*, 2008).

#### METODE PENELITIAN

##### Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Nira nipah yang diambil dari daerah Cilacap, Khamir (*Saccharomyces cerevisiae*) yang bermerek "X", glukosa standar dan reagen anthron.

##### Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah botol ukuran 2 L, alat – alat gelas, destilator, neraca analitik, piknometer, termometer, pH meter, penangas air, penangas minyak dan spektrofotometer.

#### PROSEDUR PENELITIAN

##### 1. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan dengan menggunakan buku *Flora of Java* Vol. III (Backer & Brink, 1968).

## 2. Penyiapan bahan

Nira nipah yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari daerah Cilacap. Nira yang diperoleh disaring dengan tujuan pengotor yang ada pada nira hilang. Khamir yang telah diperoleh dari pasaran dihaluskan dan ditimbang untuk menentukan berat khamir sesuai formulasi yaitu 500 mg, 1500 mg, dan 2500 mg.

## 3. Penetapan Kadar Gula

### a. Pembuatan reagen Athron

Pembuatan reagent anthron dilakukan dengan menimbang 200 mg anthron kemudian dilarutkan dalam 100 ml  $H_2SO_4$  95% yang dingin.

### b. Penentuan panjang gelombang maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan mengambil dari larutan baku dengan konsentrasi 20 ppm kemudian diukur pada panjang gelombang 400 – 800 nm sehingga diperoleh absorbansi tertinggi.

### c. Pembuatan kurva baku

Pembuatan kurva baku dilakukan dengan cara melarutkan 0,1 g glukosa standar dalam 100 ml aquades sehingga

diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Kemudian larutan tersebut diambil sebanyak 0; 20; 40; 60 dan 80 ppm. Selanjutnya dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambah dengan 4 ml reagen anthron, kemudian ditutup dan dicampur secara merata. Setelah dipanaskan dalam penangas air  $100^\circ C$  selama 8 menit, dan didinginkan dengan air mengalir sampai seperti suhu kamar, kemudian dilakukan pembacaan pada panjang gelombang maksimum dan dibuat hubungan antara absorbansi dengan kadar.

### d. Penetapan kadar gula

Diambil 10 ml sampel yang kemudian ditambah 0,5 ml HCl 2,5 N dan dipanaskan selama 3 jam setelah itu didinginkan sesuai suhu kamar. Kemudian setelah itu dinetralkan dengan natrium karbonat sampai netral. Kemudian volume ditepatkan sampai 10 ml dengan aquades dan disentrifuge. Kemudian diambil 1 ml bagian campuran dan ditambah dengan 4 ml reagen anthron dan dipanaskan selama 8 menit pada penangas air dengan suhu  $100^\circ C$ . Kemudian diukur pada panjang gelombang maksimum dan direplikasi 3 kali. Kadar dihitung dengan persamaan regresi yang diperoleh dari kurva baku.

#### 4. Fermentasi Nira Nipah

Nira yang telah disaring kemudian dimasukkan ke dalam botol berukuran 2 L. Setelah semua botol terisi nira kemudian dimasukkan khamir kedalam masing-masing botol yang telah diisi nira sesuai formulasi. Setelah khamir dimasukkan botol ditutup rapat dan dibiarkan selama 7 hari dengan suhu sesuai suhu ruangan. Setelah 7 hari masing-masing botol dibuka dan disaring kemudian dihitung rendemen etanol yang ada pada nira yang telah difermentasi.

#### 5. Penetapan Kadar Etanol

Penetapan kadar etanol yang dilakukan berdasarkan dari bobot jenis. Adapun cara penetapan kadar etanol yang kurang dari 30 % dilakukan dengan memipet 25 ml cairan uji ke dalam alat penyuling dengan penangas minyak, suhu dicatat pada waktu pemipetan, kemudian ditambahkan air dengan volume yang sama, lakukan penyulingan sampai diperoleh sulingan lebih kurang 23 ml. Atur suhu hasil sulingan hingga sama dengan suhu pemipetan. Ditambahkan air secukupnya hingga diperoleh volume sama dengan volume cairan uji yaitu 25 ml, dicampur. Sulingan yang diperoleh harus jernih atau

beropalesensi lemah. Kemudian densitas relatif cairan ditentukan. Kadar etanol dihitung dengan tabel bobot jenis dan kadar etanol. Perhitungan densitas cairan dilakukan dengan cara piknometer dibersihkan terlebih dahulu dengan menggunakan aseton dan dikeringkan barulah ditimbang. Aquades didinginkan sampai dibawah suhu percobaan ( $\pm 15^{\circ}\text{C}$ ). Piknometer diisi dengan akuades secara hati-hati hingga penuh dan termometer dimasukkan. Suhu dalam piknometer ditunggu mencapai suhu percobaan ( $20^{\circ}\text{C}$ ), adanya kelebihan akuades pada puncak kapiler dibersihkan. Piknometer yang berisi akuades segera ditimbang dan dicatat beratnya. Cara yang sama dilakukan pada sampel. Berat jennis dihitung dengan rumus sebagai berikut :

Bobot jenis sampel :

$$\frac{\text{Bobot sampel}}{\text{Bobot akuades}} \times \text{Berat larutan sampel-berat piknometer}$$

Kemudian setelah diketahui bobot jenis cairan kadar etanol dihitung dengan table konversi BJ-etanol (Putri dan Sukandar ; 2008)

#### 6. Analisis Data

Data yang diperoleh adalah kadar etanol yang dihasilkan dari fermentasi

kemudian di analisis menggunakan *one way anova* dengan taraf kepercayaan 95% dan jika ada perbedaan dilakukan uji lanjutan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Determinasi

Hasil determinasi spesimen tumbuhan merupakan *Nypa fruticans* Wurmb, yang termasuk dalam Familia Arecaceae dan di Indonesia dikenal dengan nama Nipah

### Penyiapan Bahan

Nira nipah yang digunakan diambil dari penyadap nira di daerah Cilacap pada tanggal 27 Mei 2010. Nira ini mulai disadap pada sore hari dan dimasukkan dalam wadah sampai pagi hari kemudian diambil hasil sadapannya. Setelah hasil sadapan ini diambil kemudian tongkol tersebut masih disadap kembali, namun jika penyadapan pagi hari maka hasil sadapan diambil sore hari. Penyadapan nira yang dilakukan sore hari kemudian diambil pagi hari adalah untuk menghasilkan jumlah sadapan nira lebih banyak. Dari penyadapan nira penyadap biasanya ditambahkan kapur sirih untuk mencegah nira cepat basi (rasa asam). Nira nipah yang didapat kemudian disaring agar kotoran yang terdapat

pada nira berkurang. Kemudian nira tersebut dibagi menjadi dalam tiga wadah dimana tiap wadah tersebut berisi masing-masing 2 liter nira nipah.

Penyiapan bahan selanjutnya adalah penyiapan *khamir* (*Saccharomyces cerevisiae*). Khamir yang digunakan disini adalah khamir yang berada di pasaran di daerah Cilacap. Pengambilan khamir yang dilakukan di daerah Cilacap ini bertujuan untuk memudahkan peneliti dalam mengembangkan hasil penelitian. Khamir yang digunakan bermerek "X". Khamir ini sering digunakan oleh masyarakat sekitar dalam pembuatan tape. Penyiapan khamir ini dilakukan dengan cara menghaluskan khamir yang didapat dengan menggunakan mortir. Tujuan dari penghalusan ini adalah untuk memudahkan penyebaran khamir pada medium (nira nipah). Khamir yang telah dihaluskan kemudian di timbang sesuai formulasi yaitu 500 mg, 1500 mg dan 2500 mg. pemilihan formulasi dilakukan secara acak karena peneliti belum mengetahui jumlah khamir yang optimum untuk fermentasi nira nipah.

### Penetapan Kadar Gula

Penetapan kadar gula yang dilakukan adalah penetapan kadar gula pada nira yang digunakan sebagai media

fermentasi (nira nipah). Penetapan kadar gula bertujuan untuk memastikan bahwa nira nipah mengandung gula, karena gula dalam nira nipah yang akan diubah menjadi etanol dengan proses fermentasi menggunakan bantuan khamir (*S. cerevisiae*). Pada penetapan kadar gula nira metode yang digunakan adalah pengkoplingan dengan pereagen athron. Pada metode athron ini memiliki prinsip monosakarida akan mengalami dehidrasi oleh asam sulfat menjadi furfural atau hidroksi metil furfural. Selanjutnya senyawa metil furfural ini dengan athron akan membentuk kompleks yang berwarna biru kehijauan. Dengan adanya warna yang terbentuk maka dapat diukur dengan menggunakan spektrofotometer visibel. Dengan menggunakan prinsip di atas pada penetapan gula hal yang dilakukan pertama kali adalah pembuatan reagen athron. Setelah itu dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum, ini dilakukan untuk mengetahui absorbansi maksimum. Dari penentuan panjang gelombang maksimum yang dilakukan diperoleh  $\lambda$  maksimum berada pada 596,5 nm. Panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh digunakan untuk mengukur kurva baku dan sampel.

Pembuatan kurva baku dilakukan sebagai pembanding sampel. Dari pembuatan kurva baku dapat diperoleh persamaan regresi yang didapat digunakan untuk menghitung kadar gula nira nipah. Kurva baku dibuat dengan menggunakan glukosa standar, dari pengukuran kurva baku diperoleh persamaan  $Y = 8,99 \cdot 10^{-3}X + 0,1195$  dan R 0,9651. Dari persamaan yang diperoleh ini maka dapat diketahui kadar gula nipah.

Tabel.1 Absorbansi dan kadar gula nira nipah

Replikasi	Absorbansi	Kadar gula (mg/mL)
I	0,5166	441,7
II	0,5151	440,0
III	0,5168	441,9
Rata-rata	0,5161	441,2

#### Fermentasi Nira Nipah

Formulasi dilakukan untuk memvariasikan jumlah khamir yang digunakan dalam fermentasi. Variasi jumlah khamir ini bertujuan untuk mengetahui jumlah khamir yang tepat dalam fermentasi ini. Karena dalam hal ini peneliti belum mengetahui jumlah khamir yang tepat untuk fermentasi nira nipah. Jumlah nira yang digunakan 2 L bertujuan untuk mencukupi uji-uji selanjutnya dari proses penelitian ini, selain itu banyaknya nira ini juga untuk memudahkan peneliti dalam melakukan

penelitian ini. Lamanya fermentasi 7 hari dilakukan sesuai pustaka yang didapatkan peneliti dari penelitian sebelumnya tentang pembuatan etanol yang proses fermentasi maksimalnya adalah 7 hari (Sari, 2009).

Fermentasi merupakan proses pemecahan glukosa menjadi alkohol dan gas CO<sub>2</sub> akibat dari enzim yang dihasilkan oleh aktivitas sel khamir (khamir). Ada banyak hal yang perlu diperhatikan dalam proses fermentasi yaitu pemilihan khamir (khamir), nutrient, jumlah gula, keasaman, pemberian O<sub>2</sub> dan suhu. Faktor-faktor tersebut merupakan faktor yang dapat mempengaruhi proses fermentasi. Walaupun demikian faktor-faktor tersebut diabaikan, karena dari penelitian ini diharapkan dapat diketahui kadar etanol yang benar-benar dihasilkan dari nira nipah.

Pada proses fermentasi yang dilakukan, nira nipah yang telah disaring kemudian dimasukkan dalam wadah fermentasi (fermentor) yang masing-masing wadah tersebut berisi 2 L nira nipah. Setelah semua wadah diisi dengan 2 L nira nipah. Kemudian dilakukan pengukuran pH. Pengukuran pH dilakukan untuk mengetahui pH awal fermentasi

walaupun pada selanjutnya tidak dilakukan kontrol pH. pH yang digunakan untuk proses fermentasi yang baik adalah 4 - 4,5 (Fardiaz, 1992). Penggunaan pH pada awal penelitian ini adalah 7. Penggunaan pH 7 dilakukan adalah karena peneliti berharap mengetahui jumlah etanol yang dihasilkan dari nira nipah yang belum tercampur zat selain dari penyadapan. Kemudian faktor selanjutnya yang diukur adalah penggunaan suhu fermentasi. Penggunaan suhu fermentasi adalah suhu kamar yang berkisar antara 25-28°C.

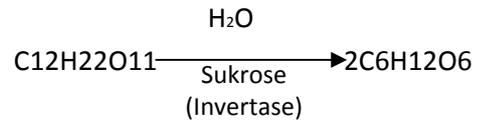
Penutupan pada fermentor yang sedemikian rapat dilakukan agar proses fermentasi ini berjalan secara anaerob. Anaerob adalah suatu proses respirasi yang terjadi tanpa adanya oksigen. Suasana anaerob dibutuhkan supaya proses fermentasi yang terjadi mampu menghasilkan etanol. Jika terjadi kebocoran pada penutupan ini dapat mengurangi kadar etanol yang dihasilkan, selain itu juga dapat menghasilkan senyawa lain selain etanol yaitu senyawa asam asetat.

Wadah yang telah tertutup dimasukkan dalam ruang gelap selama 7 hari bertujuan supaya proses fermentasi

yang terjadi tidak terpapar oleh cahaya yang dapat mengganggu proses fermentasi yang diinginkan. Proses fermentasi yang dilakukan ini setiap hari dipantau untuk mengetahui perkembangan proses fermentasi. Perkembangan proses fermentasi ini dapat dilihat dari gelembung yang terjadi, terjadinya gelembung menunjukkan adanya proses fermentasi karena gelembung tersebut merupakan CO<sub>2</sub> yang dikeluarkan dari tempat fermentasi. Gas CO<sub>2</sub> dapat dikeluarkan melewati selang yang ada pada tutup wadah. Gas CO<sub>2</sub> yang dikeluarkan dari tempat fermentasi akan melewati penampung air yang berperan untuk menahan gas dari luar. Gas yang dikeluarkan ini merupakan gas CO<sub>2</sub> yang dihasilkan dari proses fermentasi, oleh sebab itu adanya gas yang dikeluarkan ini merupakan indikasi adanya proses fermentasi yang terjadi. Adapun proses reaksi fermentasi yang terjadi secara umum adalah sebagai berikut :



Namun sebelum mengalami proses diatas sukrosa yang terdapat pada nira mengalami pemecahan terlebih dahulu menjadi glukosa proses sebagai berikut :



Sukrosa pada bahan mula-mula dihidrolisa menjadi glukosa dan fruktosa oleh enzim invertase kemudian oleh aktivitas beberapa enzim glukosa dan fruktosa dirubah menjadi alkohol, selain senyawa alkohol (etanol) yang dihasilkan proses fermentasi juga mengasilkan senyawa sampingan seperti gliserol, asam laktat, asam asetat, asetaldehid, dan 2,3 butilen glikol (Sa'id, 1987).

#### Perhitungan Kadar Etanol

Perhitungan kadar etanol dilakukan untuk mengetahui berapa banyak etanol yang dapat dihasilkan dari nira nipah. Perhitungan etanol ini dilakukan berdasarkan Farmakope Indonesia edisi IV.

Tabel 2. Data hasil kadar etanol yang dihasilkan

Repli kasi	Kadar etanol yang dihasilkan (%)		
	Formula I	Formula II	Formula III
I	5	5	5
II	6,24	5	5
III	5	5	5
IV	6,24	6,24	5
V	5	6,24	6,24
Rata-rata	5,49	5,49	5,24

Dari data yang diperoleh tersebut penggunaan khamir pada formulasi I dan formulasi II menghasilkan kadar etanol yang sama yaitu dengan kadar rata-rata 5,49 %. Pada formulasi III diperoleh kadar etanol 5,24 %. Dari kadar etanol yang diperoleh dilakukan analisis *one way anova*. Analisis *anova one way* yang digunakan adalah dengan taraf kepercayaan 95%. Analisis ini berguna untuk mengetahui apakah ada perbedaan kadar etanol yang signifikan dengan jumlah khamir yang digunakan.

Dari *one way anova* yang dilakukan diperoleh kesimpulan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara jumlah khamir yang digunakan dengan kadar etanol yang dihasilkan. Tidak adanya perbedaan yang signifikan antara jumlah khamir yang digunakan dengan kadar etanol yang di hasilkan ditandai dengan nilai F hitung yang lebih kecil dari F tabel yaitu  $0,28212 < 3,88$ .

Jumlah etanol yang dihasilkan tidak berbeda signifikan karena pada medium yang digunakan memiliki jumlah glukosa yang sama. Sedangkan banyaknya khamir dapat menghambat fase pertumbuhan (Sari, 2009). Selain itu seiring dengan lamanya fermentasi maka jumlah sel khamir akan meningkat.

Meningkatnya jumlah sel khamir akan diikuti dengan meningkatnya jumlah gula yang digunakan untuk hidup sel khamir . Glukosa digunakan oleh sel khamir sebagai sumber karbon untuk proses fermentasi etanol, Bertambahnya sel khamir yang ada maka glukosa yang diperoleh sel khamir akan sedikit sehingga tidak dapat digunakan untuk menghasilkan etanol, namun hanya untuk mempertahankan hidup sel khamir. Dengan begitu maka terjadilah penghambatan fase pertumbuhan khamir. Dari penelitian ini menunjukkan penggunaan medium yang sama maka kadar etanol yang dihasilkan dari proses fermentasi pada tiga formulasi memiliki jumlah etanol yang tidak berbeda secara signifikan, dengan demikian penggunaan khamir yang sedikit lebih ekonomis dengan kadar etanol yang sama. Dari penelitian yang dilakukan maka nira nipah dapat dikembangkan sebagai penghasil etanol di Indonesia, karena nira nipah dapat menghasilkan etanol walaupun belum ditemukan kadar maksimum etanol dari nira nipah.

#### KESIMPULAN

1. Etanol dapat dihasilkan dari nira nipah melalui proses fermentasi oleh

khamir (*Saccharomyces cerevisiae*) dengan kadar 5% sampai 6%

2. Jumlah khamir tidak mempengaruhi kadar etanol yang dihasilkan.

3. Kadar gula nira nipah yang didapat adalah 441,2 mg/mL

Prihandana, R. et al. 2008. *Bioetanol Ubi Kayu Bahan Bakar Masa Depan*. Jakarta: Agromedia Pustaka

#### DAFTAR PUSTAKA

Departemen Kesehatan RI. 1979. *Farmakope Indonesia edisi III*. Jakarta.

Departemen Kesehatan RI. 1995. *Farmakope Indonesia edisi IV*. Jakarta.

Dahuri, R. et al. 2001. *Pengelolaan Sumber Daya Terpadu Wilayah Pesisir dan Lautan Secara Terpadu*. Jakarta : PT Pradnya Paramita.

Elevri P.A dan Surya R.P. 2006. *Produksi etanol menggunakan Saccharomyces cerevisiae yang diamobilisis dengan agar batang*. Aktakimindo Vol. 1 no.2 April 2006 : 105-114.

Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan 1*. Jakarta : Gramedia Pustaka Utama.

Mardoni. 2007. *Perbandingan Metode Kromatografi Gas dan Berat Jenis pada Kadar Etanol pada Minuman Anggur*. [Skripsi]. Yogyakarta. Fakultas Farmasi, Universitas Sananta Darma.

Putri, L. S. E dan Dede S. 2008. *Konversi Pati Ganyong (Canna edulis Ker.)*. Biodiversitas Volume 9, Nomor 2: 112-116