

# **KAJIAN PENGGUNAAN SURFAKTAN DAN SEL BEBAS PADA PEMBUATAN BIOETANOL DARI NIRA NIPAH KENTAL**

## **STUDY OF SURFACTANT APPLICATION ON VERY GRAVITY NIRA SAP IN BIOETHANOL FERMENTATION BY FREE CELL**

**M. Bayu Purwanto<sup>1</sup>, Fajar Restuhadi<sup>2</sup> and Evy Rossi<sup>2</sup>**

Jurusan Teknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Riau  
[mbayupoerwanto@gmail.com](mailto:mbayupoerwanto@gmail.com)

### **ABSTRACT**

The aim of the research was to obtain the best combination treatment between early sugar concentration and *Tween80* concentration as surfactant and nutrition for *Saccharomyces cerevisiae* to produce ethanol on very high gravity fermentation from Nypa sap. The exploration research used two factor treatments with two replications. The treatments consist of early sugar concentration N1 (20%), N2 (25%), N3 (30%) and *Tween80* concentration T0 (0%), T1 (0,2%), T2 (0,4%), T3 (0,6%). Observation was conducted every 24 hours i.e sugar concentration, ethanol concentration, amount of cell, and pH. Data obtained were analyzed by descriptive method. The best combination treatment was T3N2 (*Tween80* 0,6% and N 25%) which produced ethanol 17,25%.

*Keywords:* *Nypa sap, Tween80, Bioethanol, Very High Gravity Fermentation*

---

### **PENDAHULUAN**

Bahan bakar dari minyak bumi merupakan sumber daya alam yang tidak dapat diperbaharui. Dewasa ini pemakaian bahan bakar sangat tinggi sementara itu persediaan bahan bakar dari minyak bumi sudah semakin menipis. Perlu adanya bahan bakar alternatif sebagai sumber energi untuk mengatasi hal ini. Bioetanol ( $C_2H_5OH$ ) merupakan senyawa organik yang memiliki peluang besar menjadi pengganti bahan bakar minyak bumi.

Nipah merupakan salah satu tanaman yang berpotensi menghasilkan bioetanol. Mengingat bahwa lokasi hutan nipah sebagai sumber bahan baku yang umumnya merupakan daerah rawa, maka proses

pengumpulan nira nipah dari lokasi sentra penyadapan ke tempat pengolahan relatif cukup berat. Tidak jarang nira yang terkumpul telah terfermentasi menjadi asam, sehingga menurunkan kualitas nira dan produktivitas jika diolah menjadi bioetanol.

Salah satu upaya untuk meningkatkan produktivitas dan mengefisiensikan biaya produksi bioetanol adalah dengan memperkenalkan proses fermentasi nira kental (*very high gravity fermentation*). Proses ini melibatkan nira dengan konsentrasi gula 270 gr atau lebih per liter (Bayrock dan Ingledew, 2001; Nuanpeng *et al.*, 2001; Chen *et al.*, 2005; Bangrak *et*

1. Mahasiswa Fakultas Pertanian, Universitas Riau
2. Dosen Fakultas Pertanian , Universitas Riau

Jom Faperta Vol. 1 No. 2 Oktober 2014

*al.*, 2011). Teknik ini memiliki sejumlah keunggulan, seperti meningkatkan konsentrasi etanol yang dihasilkan dan juga meningkatkan laju fermentasi, sehingga dapat mengurangi biaya produksi dan mengurangi resiko kontaminasi oleh bakteri (Chen *et al.*, 2005; Bai *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2011).

Penambahan nutrisi pada proses fermentasi akan meningkatkan kerja sel selama fermentasi (Tran *et al.*, 2010). Salah satu nutrisi yang diperlukan oleh mikroorganisme adalah asam lemak tak jenuh sebagai penyusun membran sel. *Tween80™* dapat dijadikan sebagai sumber asam lemak tak jenuh yang diperlukan oleh mikroorganisme. *Tween80™* juga berperan sebagai surfaktan untuk menurunkan tegangan permukaan cairan di sekitar sel *Saccharomyces cerevisiae* sehingga media fermentasi yang kental tidak memberikan efek negatif pada sel (Feng *et al.*, 2006).

*Saccharomyces cerevisiae* mempunyai beberapa enzim yaitu peptidase, intervase, dan zimase (Drapcho *et al.*, 2008). *Saccharomyces cereviceae* lebih banyak digunakan untuk memproduksi alkohol secara komersial dibandingkan dengan khamir lainnya. Hal ini disebabkan karena *Saccharomyces cereviceae* dapat memproduksi alkohol dalam jumlah yang besar dan mempunyai toleransi pada kadar alkohol yang tinggi. Kadar alkohol yang dihasilkan sebesar 8-20% pada kondisi optimum. *Saccharomyces cereviceae* bersifat stabil, tidak berbahaya atau menimbulkan racun, mudah didapat dan mudah dalam pemeliharaan (Drapcho *et al.*, 2008).

## BAHAN DAN METODE

### Tempat dan Waktu

Penelitian ini telah dilakukan di Laboratorium Pengolahan dan Analisis Hasil Pertanian

Fakultas Pertanian Universitas Riau. Waktu penelitian berlangsung selama 3 bulan yaitu bulan Oktober hingga Desember 2013.

### Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah nira nipah, khamir *Saccharomyces cerevisiae* R-58 yang diperoleh dari laboratorium Bioproses Institut Teknologi Bandung, akuades, *Tween80™*, media *Nutrient Broth (NB)*, *Plate Count Agar (PCA)*, asam klorida (HCl) 37%, dan garam fisiologis. Bahan-bahan yang digunakan untuk analisis adalah glukosa anhidrat, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Kalium-natrium-tartrat, NaHCO<sub>3</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 96%, CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O, amonium molibdat, dan Na<sub>2</sub>AsO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O.

Alat-alat yang digunakan adalah peralatan gelas yaitu gelas ukur, corong, pipet ukur, labu ukur, tabung reaksi, kuvet, cawan petri, pipet tetes, *hockey stick* dan erlenmeyer. Peralatan analisis yaitu pH meter, sensor etanol, dan UV-mini Spektrofotometri. Alat-alat lainnya seperti timbangan analitik, sentrifuse, *water bath shaker*, spatula, *autoclave*, mikro pipet, tip, *automatic mixer*, jarum ose, kapas penutup, aluminium foil, *hot plate*, *magnetic stirrer*, pompa suntikan, kertas saring Whatman no 42, inkubator, oven pengering, *laminar flow cabinet*, saringan stainless, lampu spritus, lemari es (*refrigerator*), kamera, peralatan tulis, dan alat lainnya.

## Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode percobaan (*Eksperimental Method*) dengan menggunakan dua perlakuan. Perlakuan pertama adalah konsentrasi *Tween80<sup>TM</sup>* yang terdiri dari 4 taraf (0; 0,2; 0,4; 0,6)% dan perlakuan kedua adalah konsentrasi gula awal nira nipah yang terdiri dari 3 taraf (20, 25, 30)%. Masing-masing kombinasi perlakuan (Tabel 1) akan diulang dua kali sehingga diperoleh 24 unit percobaan. Parameter yang diamati meliputi kadar etanol, kadar gula, jumlah sel dan perubahan pH di akhir fermentasi. Data yang diperoleh dari hasil pengamatan akan dianalisis secara deskriptif dengan menggunakan tabulasi dan grafik.

Tabel 1 . Rancangan kombinasi perlakuan

Konsentrasi <i>Tween80<sup>TM</sup></i>	Konsentrasi Glukosa Nira Nipah		
	N1	N2	N3
T0	T0N1	T0N2	T0N3
T1	T1N1	T1N2	T1N3
T2	T2N1	T2N2	T2N3
T3	T3N1	T3N2	T3N3

## Pelaksanaan Penelitian

### Pengaturan Konsentrasi Gula Nipah

Sebanyak 1 ml nira nipah yang telah dikentalkan dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan akuades sebanyak 10 ml kemudian dihomogenkan. Nira yang telah homogen tersebut kemudian diambil sebanyak 1 ml lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 ml reagen Nelson

lalu dipanaskan di dalam air mendidih selama 20 menit. Setelah diangkat dari air mendidih kemudian larutan tersebut didinginkan secara cepat dengan cara merendamnya dalam air es. Setelah dingin kemudian ditambahkan reagen Arsenomolybdat sebanyak 1 ml kemudian homogenkan kembali, setelah homogen kemudian tambahkan akuades sebanyak 7 ml lalu ukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm. Angka yang didapat dari pengukuran absorbansi kemudian di regresikan dengan menggunakan microsoft excel untuk mengetahui kadar gula nira nipah yang diukur, apabila dari hasil pengukuran menunjukkan konsentrasi gula yang terlalu tinggi atau terlalu rendah maka hal di atas perlu diulang dengan merubah penambahan atau pengurangan akuades yang digunakan sebagai pelarut nira yang kental.

### Fermentasi

Media nira nipah masing-masing dengan konsentrasi sesuai perlakuan dimasukkan ke dalam erlenmeyer sebanyak 200 ml. *Tween80<sup>TM</sup>* ditambahkan sesuai perlakuan pada masing-masing konsentrasi nira. Kemudian media tersebut diatur pHnya menjadi 5, karena pH optimum di awal fermentasi bioetanol adalah 5. Substrat disterilisasi di dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit dan didinginkan hingga suhu kamar. Kemudian ke dalam substrat atau media dimasukkan sel amobil *Saccharomyces cerevisiae*

sebanyak 10 gram. Setelah itu substrat difermentasi pada suhu 27°C dalam *water bath shaker* pada kecepatan 100 rpm. Kemudian larutan dianalisis kadar etanol, kadar CO<sub>2</sub>, perubahan pH, dan kadar gula secara berkala setiap 24 jam. Setelah fermentasi selesai, dilakukan pemisahan sel dengan produk.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan bioetanol pada penelitian ini menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*. Proses fermentasi bioetanol melibatkan reaksi oksidasi gula sederhana dalam kondisi anaerob dan dibagi menjadi dua fase yaitu proses oksidasi glukosa dan proses metabolisme piruvat (Drapcho *et al.*, 2008).

Perlakuan tanpa penambahan Tween 80™ terjadi perubahan drastis jumlah gula pada hari kedua, namun tidak diikuti dengan peningkatan kadar etanol secara drastis. Hal ini disebabkan karena sel tidak langsung memanfaatkan substrat untuk diubah menjadi etanol, melainkan terlebih dulu diserap untuk menyeimbangkan konsentrasi di dalam dan di luar sel. Selanjutnya gula dimanfaatkan sebagai nutrisi untuk diubah menjadi energi selama keadaan masih aerob. Gula menjadi sumber nutrisi utama pada proses fermentasi ini, karena nutrisi tidak didapatkan dari sumber lain. Kadar gula yang tinggi di awal fermentasi menyebabkan sel mengalami *osmotic shock* akibat proses osmosis. Peristiwa tersebut menyebabkan rusaknya sebagian organel sel, oleh karena itu sel memanfaatkan gula sebagai nutrisi untuk memperbaiki dan memelihara

organel sel tersebut (Drapcho *et al.*, 2008).

Penurunan gula yang tidak terlalu drastic sejalan dengan kenaikan etanol yang juga tidak terlalu drastis. Peristiwa tersebut terjadi karena pengaruh adanya Tween 80™ yang ditambahkan pada media. Tween 80™ diduga dapat mencegah lisisnya sel akibat pengaruh kadar gula yang tinggi. Kadar gula yang tinggi menyebabkan tekanan osmosis yang sehingga dinding sel pecah. Dinding sel dapat diperbaiki oleh membran sel dengan tambahan nutrisi yang diperlukan (Waites *et al.*, 2001). Penambahan Tween 80™ pada medium fermentasi diharapkan dapat meningkatkan kemampuan membran sel untuk melakukan biosintesis dinding sel yang rusak akibat osmosis (Tran *et al.*, 2010). Penambahan Tween 80™ menyebabkan sel tidak memanfaatkan gula pada media sebagai sumber nutrisinya lagi, melainkan sebagai substrat yang akan diubah menjadi etanol. Hal ini dapat dilihat dari grafik 2, 3, 4 bahwa di akhir hari ke-5 masih banyak gula yang belum termanfaatkan. Kemungkinan jika dilanjutkan maka fermentasi akan terus terjadi.

Pernyataan di atas juga menjelaskan tidak adanya perubahan yang signifikan pada jumlah sel menunjukkan bahwa jumlah sel dari ke empat perlakuan tersebut yang konstan. Sel yang rusak akan segera diperbaiki oleh membran sel itu sendiri, tentunya dengan bantuan nutrisi. Kadar etanol yang dihasilkan berbanding lurus dengan perlakuan kadar gula di awal fermentasi. Semakin tinggi kadar gula maka etanol yang dihasilkan akan semakin tinggi pula. Namun perlakuan

penambahan *Tween 80*<sup>TM</sup> tidak memberikan pengaruh nyata terhadap etanol yang dihasilkan. Penggunaan *Tween 80*<sup>TM</sup> tidak cukup efektif untuk membantu proses metabolisme nira kental dalam proses fermentasi curah tunggal (*single batch*) yang berlangsung selama lima hari. Peranan *Tween 80*<sup>TM</sup> sebagai turunan asam lemak belum terlihat dalam penelitian ini karena waktu fermentasi yang relatif singkat.

Sebagai perbandingan penelitian Pham *et al.* (2010) *Tween 80*<sup>TM</sup> efektif digunakan bersama ergosterol sebagai sumber asam lemak dalam fermentasi, namun menggunakan sistem *fed batch fermentation* selama 7-12 hari dimana dilakukan penambahan substrat segar secara berkala. Pada penelitian tersebut substrat segar yang ditambahkan secara berkala menyebabkan sel terus bekerja dalam kurun waktu yang lama sehingga sel mengalami kelelahan dan juga rusak akibat etanol yang dihasilkannya sendiri. *Tween 80*<sup>TM</sup> dan ergosterol inilah yang berperan sebagai sumber nutrisi untuk memperbaiki sel-sel yang rusak.

## KESIMPULAN DAN SARAN

*Tween80*<sup>TM</sup> berperan sebagai penurun tegangan permukaan, tanpa *Tween80*<sup>TM</sup> sel akan mengalami *osmotik shock* sehingga gula tidak semuanya dikonversi menjadi etanol. Gula akan dimanfaatkan oleh sel untuk membentuk energi guna membentuk kondisi isotonik agar sel tidak rusak. Penggunaan *Tween80*<sup>TM</sup> sebesar 0,2% dengan konsentrasi gula media fermentasi sebesar 30% menghasilkan kadar etanol tertinggi

pada akhir fermentasi hari ke-5 yaitu sebesar 16,20%.

Penambahan *Tween80*<sup>TM</sup> yang diharapkan berfungsi sebagai tambahan nutrisi bagi sel tidak terlalu terlihat peranannya. Pada penelitian ini *Tween80*<sup>TM</sup> lebih berperan sebagai penurun tegangan permukaan. Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan menambahkan nutrisi seperti Ergosterol sebagai sumber asam lemak.

## DAFTAR PUSTAKA

- Bai, F.W., W.A. Anderson, and M. Moo-Young. 2008. **Ethanol fermentation technologies from sugar and starch feedstocks**. Biotechnology Advances 26(1): 89–105.
- Bangrak, P., S. Limtong, and M. Phisalaphong. 2011. **Continuous ethanol production using immobilized yeast cells entrapped in loofa-reinforced alginate carriers**. Brazilian Journal of Microbiology 42: 676–684.
- Bayrock, D.P. and M.W. Ingledew. 2001. **Application of multistage continuous fermentation for production of fuel alcohol by very-high-gravity fermentation technology**. Journal of industrial microbiology biotechnology 27(2): 87–93.
- Chen, L.-J., Y.-L. Xu, F.-W. Bai, W.A. Anderson, and M. Moo-Young. 2005. **Observed quasi-steady kinetics of yeast cell growth and ethanol**

- formation under very high gravity fermentation condition.** Biotechnology and Bioprocess Engineering 10(2): 115–121.
- Graphco, C.M., N.P. Nhuan., and T.H. Walker. 2008. **Biofuels Engineering Process Technology.** The McGraw-Hill Companies, Inc. USA.
- Feng, J., Y. Zeng, C. Ma, X. Cai, Q. Zhang, M. Tong, B. Yu, and P. Xu. 2006. **The surfactant tween 80 enhances biodesulfurization.** Applied and Environmental Microbiology 72 (11) : 7390-7393.
- Liu, C.-G., Y.-H. Lin, and F.-W. Bai. 2011. **Aging vessel configuration for continuous redox potential controlled very high gravity fermentation.** Journal of Bioscience and Bioengineering 111(1): 61–66.
- Nuanpeng, S., L. Laopaiboon, P. Srinophakun, P. Klanrit, P. Jaisil, and P. Laopaiboon. 2001. **Ethanol production from sweet sorghum juice under very high gravity conditions: Batch, repeated-batch and scale up fermentation.** Electronic Journal of Biotechnology 14(1): 1–12.
- Pham T.N.L., N.H.D. Doan and V.V.M. Le. 2010. **Using fed-batch fermentation in very high gravity brewing: Effects of Tween80™ and ergosterol supplementation on fermentation performance of immobilized yeast in calcium alginate gel.** International Food Research Journal 17: 995-1002.
- Sebayang, F. 2008. **Pembuatan etanol dari molase secara fermentasi menggunakan sel *Saccharomyces cerevisiae* yang teramobilisasi pada kalsium alginat.** Jurnal Teknologi Proses 5(2): 75-80.
- Tran, Q. H., T.T. Nguyen, V.V. M., and K. A. Hoang. 2010. **Effect of Tween80™ and ergosterol supplementation on fermentation performance of the immobilized yeast in high gravity brewing.** International Food Research Journal 17: 309-318.
- Waites, M.J., N.L. Morgan, J.S. Rockey, and G. Highton. 2001. **Industrial Microbiology : An Introduction.** London: Blackwell Science Ltd.