

Pengaruh Konsentrasi Ammonium Sulfat dan Waktu pada Fermentasi Pulp Kakao Menjadi Bioetanol Menggunakan *Saccharomyces Cerevisiae*

Yuthia Aulia Riani¹, Chairul², Wisrayetti²

¹Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Riau

²Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Riau

Kampus Binawidya Jl. HR Subrantas Km. 12,5 Pekanbaru 28293

email: yuthiaauliar@gmail.com

ABSTRACT

*Bioethanol is one of renewable alternative energy source that can be used as an alternative fuel. Bioethanol can be produced from plant containing starch, sugar, and cellulose through a process of fermentation. One of material can be potential as bioethanol feedstock is cocoa pulp that has glucose content 8-14%. The aim of this research was studying the effect of ammonium sulfate concentration as nitrogen source and fermentation time to process cocoa pulp fermentation to produce bioethanol. The steps of this research comprise preparation of fermentation medium, making inokulum of yeast *Saccharomyces cerevisiae*, and fermentation step. This study varied of ammonium sulfate concentration 0 g/l, 1 g/l, 2 g/l, and 3 g/l and fermentation time of 24, 36, 48, 60, 72, 84, and 96 hours at pH 5, temperature of 30°C, and inokulum size 10% (v/v). Bioethanol concentration was analyzed by using alcoholmeter and glucose concentration was analyzed by Nelson Somogyi method. The fermentation result of cocoa pulp with glucose content of 124,234 mg/ml was showed that the highest bioethanol concentration was 7% or 55,251 mg/ml for using ammonium sulfate of 2 g/l and fermentation time of 72 hours.*

Keywords: *Ammonium Sulfate, Bioethanol, Cocoa Pulp, Fermentation, *Saccharomyces cerevisiae**

1. Pendahuluan

Bioetanol merupakan salah satu biofuel yang telah dimanfaatkan sebagai bahan campuran premium pada komposisi berapapun dan memberikan dampak positif bagi premium yaitu dapat menaikkan bilangan oktan, mengurangi emisi berat timbal, menghasilkan pembakaran yang lebih sempurna, dan mampu mengurangi emisi gas karbon dioksida dan senyawa sulfur yang ada pada premium [Fitriana, 2009].

Adanya isu permasalahan energi saat ini dan yang mungkin muncul di masa depan maka pemerintah mencanangkan program melalui Ditjen Energi Baru Terbarukan dan Konservasi Energi (EBTKE) yang salah satunya adalah pengembangan bioetanol yang ditargetkan hingga tahun 2025 mampu memenuhi sekitar 15-20% kebutuhan bahan bakar

pada sektor transportasi dan industri nasional [Energi Hijau, 2010].

Bahan baku yang biasa digunakan untuk produksi bioetanol saat ini masih tergolong bahan pangan antara lain tetes tebu (molase), nira aren, dan pati singkong yang menyebabkan persaingan dengan kebutuhan bahan pangan bagi manusia. Harga bahan baku di pasaran pun akan merambat naik seiring tingginya minat pabrik dan produsen bioetanol. Melihat permasalahan tersebut maka dicari bahan baku bioetanol yang non pangan dan ketersediaannya melimpah.

Salah satu komoditi unggulan Indonesia yang telah memberikan sumbangan devisa subsektor perkebunan adalah kakao. Sentra perkebunan kakao di Indonesia terbesar berada di Sulawesi dengan total luas areal sebesar 1.709.050 ha pada tahun 2012 [Aklmawati, 2013]

Dalam pengolahan biji kakao untuk menghasilkan produk cokelat, lapisan pulp sebaiknya dikupas terlebih dahulu sebelum biji kakao diolah lebih lanjut agar menghasilkan biji kakao dengan mutu baik dan pulp yang terkumpul dapat dikendalikan sehingga tidak mencemari lingkungan. Pulp kakao merupakan jaringan halus yang berlendir yang membungkus biji kakao. Pulp kakao diketahui mempunyai kandungan gula yang cukup tinggi yaitu 10-15% [Asep, 2008]. Adanya potensi kandungan gula yang cukup tinggi pada pulp kakao diharapkan mampu dikonversi dengan baik untuk menghasilkan bioetanol.

Proses fermentasi merupakan proses biokimia dimana terjadi perubahan-perubahan atau reaksi-reaksi kimia dengan bantuan mikroorganisme yang sesuai dengan pertumbuhannya. Fermentasi dilakukan oleh mikroorganisme berupa khamir. Khamir yang sering digunakan dan potensial untuk fermentasi etanol adalah *Saccharomyces cerevisiae* karena memiliki daya konversi menjadi etanol sangat tinggi, metabolismenya sudah diketahui, metabolit utama berupa etanol, karbondioksida, dan air dan sedikit menghasilkan metabolit lainnya [Sudarmadji, 1989].

Salah satu faktor yang mempengaruhi fermentasi bioetanol adalah kandungan nutrisi pada media fermentasi. Nutrisi terdiri dari sumber karbon, sumber nitrogen, sulfur, fosfor, serta sejumlah kecil mineral [Manfaati, 2010]. Sumber nitrogen berperan penting dalam pertumbuhan mikroorganisme karena berperan dalam pembentukan asam amino, asam nukleat, dan protein sel. [Egbosimba dan Slaughter, 1987]. Tersedianya sumber nitrogen dengan konsentrasi yang tepat dalam media fermentasi diharapkan dapat mempengaruhi pertumbuhan sel mikroorganisme sehingga dapat diperoleh kadar bioetanol maksimum.

Tujuan penelitian ini adalah mempelajari pengaruh konsentrasi ammonium sulfat sebagai sumber nitrogen dan waktu pada proses fermentasi pulp kakao untuk menghasilkan bioetanol.

2. Metodologi Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pulp kakao, *Sacharomyces cerevisiae* yang diperoleh dari ragi roti, serta bahan-bahan kimia seperti KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NaOH , glukosa, dan reagen Nelson Somogyi.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah erlenmeyer, *incubator shaker*, gelas piala, tabung reaksi, neraca analitik, alkoholmeter, pH meter, gelas ukur, spektrofotometer sinar tampak, dan *rotary evaporator*.

Variabel tetap dalam penelitian ini adalah medium fermentasi 200 ml, pH awal fermentasi 5, suhu 30°C , volume inokulum 10 % (v/v), dan konsentrasi yeast 8 g/l. Sedangkan variabel berubah yang divariasikan adalah konsentrasi ammonium sulfat 0 g/l, 1 g/l, 2 g/l, dan 3 g/l dan waktu fermentasi yaitu 24, 36, 48, 60, 72, 84, dan 96 jam.

2.1 Tahap Persiapan

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah pulp kakao. Buah kakao yang telah dipanen dikupas dan dipisahkan kulit dengan isinya (daging buah). Daging buah berupa biji, plasenta, dan pulp kakao diperam hingga 1-2 jam untuk mendapatkan cairan pulp kakao serta mempermudah pelepasan pulp dari biji [Kristiani dkk, 2013].

Kurva standar glukosa digunakan dalam penentuan konsentrasi glukosa dari substrat dengan metode Nelson-Somogyi [Sudarmadji, 1997]. Dengan kurva ini larutan yang mengandung gula (gula pereduksi) dapat diketahui konsentrasinya dengan menggunakan spektrofotometer sinar tampak.

2.2 Tahap Penelitian

2.2.1 Pembuatan Inokulum

Saccharomyces cerevisiae dari ragi kemasan diinokulasi dalam medium dengan komposisi 1 g glukosa, 0,01 g KH_2PO_4 , 0,01 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dan 0,01 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dalam 100 ml aquades [Nuryanti, 2014]. Sebelum

diinokulasi, medium disterilisasi dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit kemudian didinginkan. Setelah dingin tambahkan 0,8 g *yeast* ke dalam medium lalu diaduk dengan menggunakan *incubator shaker* selama 24 jam dengan kecepatan 150 rpm.

2.2.2 Pembuatan Medium Fermentasi

Medium fermentasi yang digunakan adalah cairan pulp kakao yang dianalisa konsentrasi gulanya dengan menggunakan spektrofotometer sinar tampak, kemudian di cek pH 5. Selanjutnya ditambahkan nutrisi yang terdiri dari $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ sesuai variabel penelitian, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,07 gr, dan KH_2PO_4 1,4 g ke dalam 1400 ml medium fermentasi. Selanjutnya medium dimasukkan ke dalam 7 buah erlenmeyer masing-masing sebanyak 180 ml dan disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit, lalu dinginkan sampai suhu kamar.

2.2.3 Proses Fermentasi

Proses Fermentasi dimulai dengan menambahkan inokulum sebanyak 20 ml ke dalam ke dalam masing-masing medium fermentasi 180 ml. Proses fermentasi dilakukan di dalam *incubator shaker* dengan suhu 30°C dan kecepatan 150 rpm selama 24, 36, 48, 60, 72, 84, dan 96 jam untuk mengamati pengaruh waktu fermentasi terhadap bioetanol yang dihasilkan.

2.3 Tahap Analisa

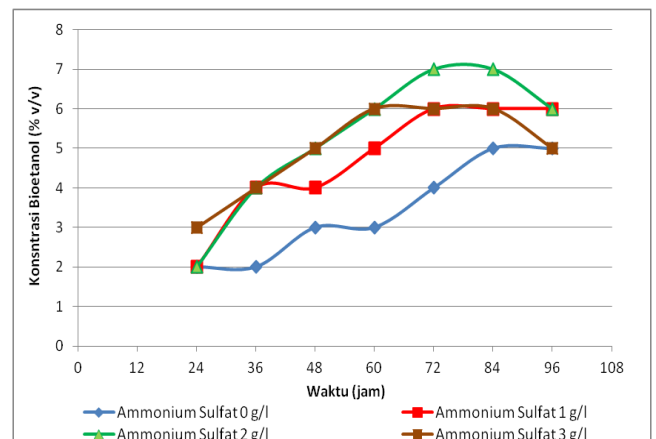
Pemisahan bioetanol dari sampel dengan menggunakan alat *rotary evaporator* dan konsentrasi bioetanol diukur menggunakan alkoholmeter dan konsentrasi gula dianalisa dengan metode Nelson-Samogyi.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Pengaruh Konsentrasi Ammonium Sulfat dan Waktu Fermentasi terhadap Konsentrasi Bioetanol

Pengaruh konsentrasi ammonium sulfat dan waktu fermentasi terhadap

konsentrasi bioetanol yang dihasilkan dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Pengaruh Konsentrasi Ammonium Sulfat dan Waktu Fermentasi terhadap Konsentrasi Bioetanol

Gambar 3.1 menunjukkan dengan kenaikan konsentrasi ammonium sulfat maka kadar bioetanol yang dihasilkan juga semakin meningkat. Fermentasi tanpa penambahan ammonium sulfat, kadar bioetanol yang dihasilkan paling rendah. Hal ini disebabkan komponen nitrogen dalam media tidak tercukupi sehingga perkembangbiakkan sel akan terhambat dan menyebabkan kemampuan sel dalam memproduksi bioetanol akan berkurang.

Pada konsentrasi ammonium sulfat 3 g/l diperoleh konsentrasi bioetanol lebih rendah dibanding pada penggunaan ammonium sulfat 2 g/l. Hal ini diduga karena pasokan sumber nitrogen yang tinggi menyebabkan laju perkembangbiakkan mikroorganisme sangat cepat terutama pada tahap awal fermentasi. Pada saat kondisi media dalam keadaan aerobik mikroorganisme belum menghasilkan bioetanol karena mikroorganisme hanya melakukan respirasi biasa. Ketika terjadinya laju perkembangbiakkan mikroorganisme yang sangat cepat pada awal fermentasi menyebabkan laju konsumsi glukosa juga semakin cepat sehingga ketika memasuki kondisi anaerobik artinya saat mikroorganisme sudah bisa menghasilkan bioetanol, ketersediaan glukosa dalam

media sudah mulai menipis. Menurut Fardiaz [1989] kecepatan pertumbuhan mikroorganisme dipengaruhi tersedianya nutrisi yang cukup dalam media fermentasi. Dari penelitian Hermawan, dkk [2000] menunjukkan semakin besar konsentrasi sumber nitrogen yang ditambahkan ke dalam media fermentasi maka semakin besar jumlah sel mikroorganisme yang terbentuk.

Dari Gambar 3.1 juga dapat dilihat waktu optimum diperoleh pada masing-masing variasi konsentrasi ammonium sulfat yaitu tanpa penambahan ammonium sulfat waktu optimum menghasilkan bioetanol paling tinggi terjadi pada jam 84. Adapun pada penggunaan ammonium sulfat 1 g/l dan 2 g/l waktu optimum menghasilkan bioetanol paling tinggi terjadi pada jam 72, dan pada penggunaan ammonium sulfat 3 g/l waktu optimum terjadi pada jam 60.

Waktu optimum pada fermentasi tanpa penambahan ammonium sulfat terjadi paling lama. Pada saat itu *Saccaromyces cerevisiae* hanya menggunakan sumber nitrogen yang terkandung dalam substrat. Sumber nitrogen tersebut tersedia dalam bentuk yang belum bisa langsung dikonversi oleh *Saccaromyces cerevisiae* sehingga butuh waktu lama untuk merombaknya menjadi bentuk sederhana.

Pada penggunaan ammonium sulfat 1 g/l dan 3 g/l konsentrasi bioetanol optimum yang diperoleh sama namun waktu terjadi lebih cepat pada fermentasi yang menggunakan ammonium sulfat 3 g/l yaitu pada jam 60. Hal ini karena laju pertumbuhan sel lebih cepat sehingga semakin cepat pula pembentukan produk fermentasi. Pada penggunaan ammonium sulfat 2 g/l waktu optimum fermentasi sama dengan penggunaan ammonium sulfat 1 g/l namun konsentrasi bioetanol diperoleh pada kondisi ini paling tinggi.

Kadar bioetanol tidak mengalami peningkatan setelah jam 84 pada fermentasi tanpa penggunaan ammonium sulfat. Begitu juga pada penggunaan ammonium sulfat 1 g/l dan 2 g/l dimana kadar

bioetanol tidak mengalami peningkatan setelah jam 72. Dan pada penggunaan ammonium sulfat 3 g/l kadar bioetanol tidak mengalami peningkatan setelah jam 60. Hal ini karena ketersediaan glukosa di dalam substrat sudah hampir habis sehingga laju pembentukan bioetanol menurun. Adapun pada penggunaan ammonium sulfat 2 g/l dan 3 g/l konsentrasi bioetanol mengalami penurunan pada jam 96. Hal ini karena reaksi lanjut akibat teroksidasinya bioetanol menjadi asam asetat sehingga bioetanol yang diperoleh menurun seiring bertambahnya waktu fermentasi [Widayanti dkk, 2013].

4. Kesimpulan dan Saran

4.1 Kesimpulan

1. Bioetanol dapat diproduksi dari bahan baku pulp kakao
2. Konsentrasi bioetanol tertinggi didapatkan pada penggunaan konsentrasi ammonium sulfat 2 g/l.
3. Konsentrasi bioetanol optimum yaitu 7 % v/v (55,251 mg/ml) dengan waktu fermentasi 72 jam.

4.2 Saran

1. Perlu melakukan penelitian lanjutan dengan penambahan enzim α amylase untuk memecah kandungan pati pada pulp kakao sehingga bioetanol yang didapatkan lebih maksimal.
2. Pada penelitian lebih lanjut, selama fermentasi juga disarankan untuk menggunakan buffer agar nilai pH tidak fluktuatif dan kondisi media tetap optimal untuk pertumbuhan khamir.

5 Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada pembimbing penelitian yang telah mengarahkan dan membimbing penulis selama penelitian ini. Terima kasih kepada kedua orang tua dan keluarga yang telah memberikan dukungan dan motivasi selama ini. Terima kasih kepada rekan-rekan Teknik Kimia Angkatan 2010 yang telah

banyak membantu penulis dalam skripsi ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Aklimawati, L. 2013. Potensi Ekonomi Kakao sebagai Sumber Pendapatan Petani. *Warta: Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia*. 2 : 25-30.
- Asep, P. 2008. Karakteristik Proses Fermentasi Pulp Kakao untuk Produksi Etanol pada Bioreaktor. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Egbosimba, E.E. dan J.C. Slaughter. 1987. The Influence of Ammonium Permease Activity and Carbon Source on The Uptake of Ammonium from Simple Defined Media by *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal Ferment Technol*. 63: 121-124.
- Energi Hijau. 2010. Gerakan Hijau Ditjen EBTKE. Direktorat Jendral Energi Baru Terbarukan dan Konservasi energi. Jakarta.
- Fardiaz, S. 1989. Fisiologi Fermentasi. *Pusat Antar Universitas*. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Fitriana, L. 2009. Analisis Kadar Bioetanol Hasil Fermentasi Pati Sagu (*Metroxylon sago*) Asal Papua. *Skripsi*. Universitas Negeri Papua, Manokwari.
- Hermawan, D.R.W.A., T. Utami, dan M.N. Cahyanto. Fermentasi Etanol dari Sari Buah Jambu Mete (*Anacardium occidentale L.*) oleh *Saccharomyces cerevisiae* FNCC 3015 Menggunakan Ammonium Sulfat dan Urea sebagai Sumber Nitrogen. *Agritech*. 2(20) : 93-98.
- Kristiani, P., Sabarudin, R. Melati, dan Haeruddin. 2013. Waktu Optimum Fermentasi Limbah Pulp Kakao (*Theobroma Cacao L.*) Menggunakan Kulit Bakau (*Sonneratia Sp.*) dalam Produksi Bioetanol. *Jurnal PKMP*. Universitas Haluoleo. Kendari
- Kumar, A., J.S. Duhan, Surekha, dan S.K. Gahlawat. 2014. Production of Ethanol from Tuberous Plant (Sweet Potato) Using *Saccharomyces cerevisiae* MTCC-170. *African Journal of Biotechnology*. 28(13): 2874-2883.
- Manfaati, R. 2010. Kinetika dan Variabel Optimum Fermentasi Asam Laktat dengan Media Campuran Tepung Tapioka dan Limbah Cair Tahu oleh *Rhizopus Oryzae*. *Tesis*. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Nuryanti, L. 2014. Pembuatan Bioetanol dari Limbah Padat Sagu Menggunakan Enzim Selulase dan *Yeast Saccharomyces Cerevisiae* dengan Proses *Simultaneous Sacharification and Fermentation* (SSF) dengan Variasi Ukuran Partikel dan Sumber Nitrogen pada Nutrisi. *Skripsi*. Universitas Riau. Pekanbaru.
- Sari, F.A. 2009. Pengaruh Jenis Asam pada Hidrolisis Pati Sagu (*Metroxylon sp.*) untuk Pembuatan Etanol. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Stanburry, P.F., dan A. Whittaker. 1984. *Principles of Fermentation Technology*. Pergamon Press. London.
- Sudarmadji, K. 1989. *Mikrobiologi Pangan (PAU) Pangan dan Gizi*. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.
- Sudarmadji, S., B. Haryono, dan Suhardi. 1997. *Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian Edisi Keempat*. Liberty. Yogyakarta.
- Swain, M.R., Mishra, J., dan Thatoi, H. 2013. Bioethanol Production from Sweet Potato (*Ipomoea batatas L.*) Flour using Co-Culture of *Trichoderma sp.* and *Saccharomyces cerevisiae* in Solid-State Fermentation. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 2(56) : 171-179
- Widayanti, N.P., W.S. Rita, dan Y. Ciawi. 2013. Pengaruh Konsentrasi Ammonium Sulfat ((NH₄)₂SO₄) sebagai Sumber Nitrogen Terhadap Produksi Bioetanol Berbahan Baku *Glacilaria sp.* *Jurnal Kimia*. 7 (1) : 1-