

HUBUNGAN ANTARA KADAR GULA REDUKSI, JUMLAH SEL MIKROB DAN ETANOL DALAM PRODUKSI BIOETANOL DARI FERMENTASI AIR KELAPA DENGAN PENAMBAHAN UREA

RELATIONSHIP BETWEEN THE REDUCTION OF SUGAR LEVELS, THE NUMBER OF CELLS MICROBES AND ETHANOL PRODUCTION IN BIOETHANOL FERMENTATION FROM COCONUT WATER WITH ADDITION OF UREA

Santi Andriani Putri¹, Fajar Restuhadi², Rahmayuni²
Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Jurusan Teknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Riau, Kode Pos 28293, Pekanbaru
santiandrianiputri@yahoo.co.id

ABSTRACT

This research was conducted to determine the best concentration of urea in bioethanol fermentation from coconut water using *Saccharomyces cerevisiae* in increasing ethanol production. This research was done experimentally using four treatments and two replications. The combination of urea levels were U1 (without urea), U2 (0,2 g/l), U3 (0,4 g/l) and U4 (0,6 g/l). Observations were made every 24 hours for 3 days include ethanol production, sugar reduction and the number of cells microbes. Data obtained from the analysis descriptively using tabulation and graphs. The best treatment was found in U3 (urea 0,4 g/l) with the highest ethanol's yield of 11,25%, reduction of residual sugar amount of 168,13 g/l and the number of cells/mL of $1,0 \times 10^9$ in the three day.

Keywords: bioethanol, coconut water, urea, fermentation

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Bioetanol merupakan salah satu senyawa yang dapat digunakan untuk menggantikan bahan bakar yang berasal dari minyak bumi. Bioetanol umumnya terbuat dari bahan-bahan yang mengandung karbohidrat seperti nira aren, nira kelapa, tetes tebu, nira nipah dan air kelapa. Karbohidrat (glukosa) yang terdapat pada bahan tersebut akan dirombak menjadi etanol melalui proses fermentasi dengan bantuan mikrob jenis khamir salah satunya yaitu *Saccharomyces cerevisiae*. Air kelapa tua merupakan produk samping dari pengolahan buah

kelapa. Air kelapa mengandung gula maksimum 4% (rata-rata 2%) yang terdiri dari sukrosa, glukosa dan fruktosa (Anonim, 2006). Air kelapa dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan bioetanol namun air kelapa memiliki kekurangan yaitu memiliki kandungan gula yang rendah dan mudah terkontaminasi menyebabkan air kelapa menjadi asam dan kadar gula di dalam air kelapa semakin rendah. Hal ini menyebabkan kualitas dan produktivitas air kelapa menjadi menurun jika diolah menjadi bioetanol. Upaya yang dapat digunakan untuk mengatasi hal tersebut yaitu dengan cara proses

1. Mahasiswa Teknologi Hasil Pertanian
2. Dosen Fakultas Pertanian Universitas Riau
Jom FAPERTA VOL. 3 NO 2 Oktober 2016

fermentasi air kelapa yang dikentalkan (*Very high gravity/VHG fermentation*). *Very High Gravity Fermentation* merupakan suatu teknik fermentasi yang menggunakan medium fermentasi dengan konsentrasi yang cukup tinggi sekitar 250 g/l (Liu dkk., 2012). Keuntungan dari teknik ini yaitu mengurangi biaya energi, dapat meningkatkan produktivitas dan konsentrasi etanol dalam produk.

Hal yang perlu diperhatikan dari fermentasi *VHG* yaitu khamir dapat mengalami stres osmotik yang cukup menurunkan pertumbuhan dan kelangsungan hidup sel (Wang dkk., 2007). Etanol yang dihasilkan dari proses fermentasi akan mempengaruhi pertumbuhan khamir yaitu dapat merusak membran sel dan mengalami denaturasi protein. Kadar gula yang tinggi di awal fermentasi dapat menyebabkan sel mengalami proses osmosis dimana konsentrasi di dalam sel lebih rendah dibandingkan di luar sel dan pada akhirnya akan menyebabkan kematian sel.

Khamir merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi produksi etanol. Pertumbuhan khamir dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan faktor nutrisi. Faktor lingkungan terdiri dari suhu, pH, oksigen dan tekanan udara (Loureiro dan Malfeito, 2003). Salah satu sumber nutrisi yang dapat digunakan yaitu Tween 80TM namun berdasarkan penelitian Azizah (2014) penambahan Tween 80TM sebagai sumber nutrisi tidak terlalu terlihat perannya namun lebih berperan terhadap penurunan tegangan permukaan cairan disekitar sel *Saccharomyces cerevisiae* sehingga dibutuhkan sumber nutrisi lainnya. Sumber nutrisi lain yang dapat

dibutuhkan oleh mikrob yaitu nitrogen.

Urea merupakan salah satu sumber nitrogen yang relatif murah. Menurut James (2010) urea memiliki kandungan nitrogen sebesar 46%. Penelitian Hernawan dkk. (2000) menggunakan urea dan ammonium sulfat sebagai sumber nitrogen dalam fermentasi etanol dari sari buah jambu Mete (*Anacardium occidentale* L.) oleh *Saccharomyces cerevisiae* FNCC 3015, penambahan urea 0,4 g/l menghasilkan etanol sebesar 28,67 g/l dan penambahan amonium sulfat 1,5 g/l menghasilkan etanol sebesar 24,36 g/l dengan lama fermentasi dengan lama fermentasi selama 24 jam.

Penambahan urea sebagai sumber nitrogen dapat meningkatkan kinerja dari *Saccharomyces cerevisiae* dan dapat membantu biosintesis membran sel. Menurut Pham dkk. (2010) penambahan nutrisi dapat mengurangi efek negatif dari proses fermentasi *VHG*.

Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui konsentrasi urea terbaik dalam pembuatan bioetanol dari fermentasi air kelapa oleh *Saccharomyces cerevisiae*.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan Waktu

Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Pengolahan Hasil Pertanian dan Laboratorium Analisis Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Riau. Penelitian ini telah dilaksanakan selama 3 bulan yaitu bulan November 2015 hingga Januari 2016.

Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah air kelapa dari tempat pengumpulan kelapa pasar Arengka, khamir *Saccharomyces cerevisiae* FNCC 3049 yang diperoleh dari PAU Pangan dan Gizi Fakultas Pasca Sarjana Universitas Gajah Mada, media *Nutrient Broth* (NB), akuades, sukrosa, *Tween 80*TM dan urea. Bahan-bahan yang digunakan untuk analisis adalah glukosa anhidrat, akuades, NaCl 0,85%, alkohol 70%, Na₂CO₃, Kalium-natrium-tartrat, NaHCO₃, Na₂SO₄, H₂SO₄ 96%, CuSO₄.5H₂O, amonium molibdat, dan Na₂AsO₄.7H₂O.

Alat-alat yang digunakan yaitu fermentor (galon). Peralatan gelas yaitu gelas ukur, corong, tabung reaksi, labu ukur, kuvet, pipet tetes, gelas piala dan erlenmeyer. Peralatan analisis yaitu alkohol meter, spektrofotometer, *haemocytometer*, mikroskop dan *rotary evaporator*. Alat-alat lainnya seperti timbangan analitik, sentrifuse, spatula, *autoclave*, mikro pipet, tip, *automatic mixer*, kapas penutup, aluminium foil, *hot plate*, *magnetic stirrer*, oven pengering, *laminar flow cabinet*, lampu spritus, jarum ose, lemari es (*refrigerator*), kamera, peralatan tulis dan alat lainnya.

Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen untuk melihat pengaruh konsentrasi urea dalam proses fermentasi bioetanol dari air kelapa. Pengukuran dilakukan secara duplo

(dua kali pengulangan) setiap 24 jam hingga hari ketiga untuk beberapa parameter pengamatan yaitu kadar etanol, kadar gula reduksi dan jumlah sel mikrob.

U1 = Tanpa penambahan urea

U2 = Urea 0,2 g/l dari medium Air Kelapa

U3 = Urea 0,4 g/l dari medium Air Kelapa

U4 = Urea 0,6 g/l dari medium Air Kelapa

Pelaksanaan Penelitian

Tahap pelaksanaan dalam pembuatan bioetanol dari air kelapa meliputi sterilisasi peralatan, pembuatan media nutrient broth, perbanyakan kultur *Saccharomyces cerevisiae*, penyiapan medium fermentasi air kelapa kental, fermentasi, destilasi.

Pengamatan

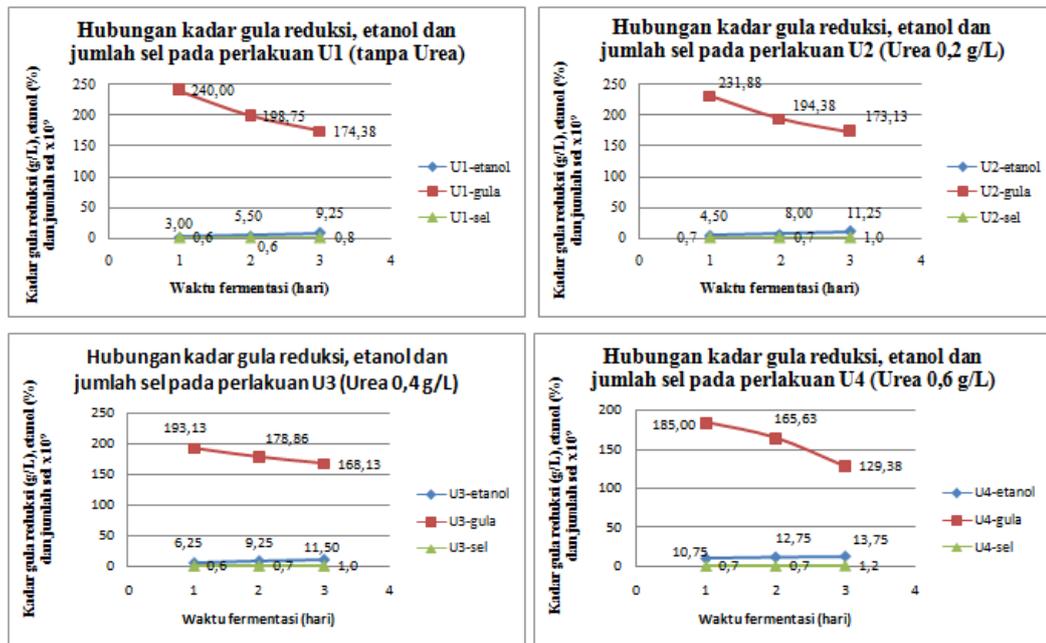
Parameter yang diamati adalah kadar etanol, kadar gula reduksi dan perhitungan jumlah sel.

Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan dianalisis secara deskriptif dengan menggunakan tabulasi dan grafik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Bioetanol pada penelitian ini dihasilkan dari fermentasi air kelapa oleh *Saccharomyces cerevisiae*. Gula yang terdapat dalam medium fermentasi akan dirombak menjadi etanol melalui proses glikolisis.



Gambar 1. Hubungan kadar gula reduksi, jumlah sel mikrob dan kadar etanol.

Gambar diatas menunjukkan hubungan antara kadar gula reduksi, jumlah sel dan kadar etanol yang dihasilkan. Semakin tinggi jumlah sel yang terdapat pada medium fermentasi maka kadar gula reduksi pada medium fermentasi semakin berkurang dan etanol yang dihasilkan semakin tinggi. Kadar gula reduksi mengalami penurunan selama proses fermentasi, hal ini dikarenakan gula yang terdapat pada medium fermentasi terus menerus dimanfaatkan oleh sel *Saccharomyces cerevisiae* untuk pertumbuhan sel dan pembentukan etanol. Semakin banyak gula reduksi yang dimanfaatkan oleh sel *Saccharomyces cerevisiae* maka konsentrasi etanol yang dihasilkan semakin tinggi dan sebaliknya semakin sedikit gula reduksi yang dimanfaatkan maka konsentrasi etanol yang dihasilkan semakin rendah. Hal ini sesuai dengan pernyataan Wignyanto dkk. (2001) yang menyatakan bahwa semakin banyak gula reduksi yang dapat

dimanfaatkan oleh sel *Saccharomyces cerevisiae* maka konsentrasi etanol yang dihasilkan oleh sel *Saccharomyces cerevisiae* semakin tinggi.

Gula yang terdapat pada medium fermentasi dirombak menjadi etanol dengan melibatkan aktivitas enzim dari sel *Saccharomyces cerevisiae*. Menurut Azizah dkk. (2012) gula-gula yang terdapat dalam medium fermentasi akan dikonversi menjadi etanol dengan bantuan *Saccharomyces cerevisiae*. *Saccharomyces cerevisiae* dapat mengkonversi gula menjadi etanol karena adanya enzim invertase dan zimase. Adanya enzim-enzim ini *Saccharomyces cerevisiae* memiliki kemampuan untuk mengkonversi baik gula dari kelompok monosakarida maupun dari kelompok disakarida. Gula yang tersedia dalam substrat merupakan gula disakarida maka enzim invertase akan bekerja menghidrolisis disakarida menjadi monosakarida. Setelah itu, enzim

zymase akan mengubah monosakarida tersebut menjadi alkohol dan CO₂.

Perlakuan U1 (tanpa urea) memiliki jumlah sel yang lebih rendah, menyebabkan penurunan kadar gula yang tidak drastis dan kadar etanol yang dihasilkan lebih rendah. Hal ini dikarenakan sel mengalami *osmotic shock* akibat kadar gula yang tinggi. *Osmotic shock* mengakibatkan kerusakan pada dinding sel dan menyebabkan pertumbuhan sel menjadi terhambat dan sel tidak mampu memanfaatkan gula yang terdapat pada medium fermentasi dengan optimal. Sehingga etanol yang terbentuk lebih rendah. Menurut Wignyanto dkk. (2001) menyatakan bahwa kadar gula yang tidak terkonversi disebabkan oleh konsentrasi gula di luar sel yang terlalu tinggi menyebabkan perbedaan konsentrasi dan tekanan osmosis yang besar antara lingkungan dengan cairan sel khamir sehingga terjadi plasmolisis. Peristiwa ini menyebabkan dinding sel yang terdiri dari senyawa protein mengalami denaturasi protein. Penambahan urea yang mengandung senyawa nitrogen mampu memperbaiki sel yang rusak akibat *osmotic shock*. Nitrogen berfungsi sebagai pembentukan asam nukleat dan asam-asam amino (Umadiyah, 2013).

Perlakuan U2(urea 0,2 g/l), U3(urea 0,4 g/l) dan U4(urea 0,6 g/l) memiliki jumlah sel yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan U1, menyebabkan penurunan kadar gula reduksi yang drastis dan etanol yang dihasilkan lebih tinggi. Peristiwa ini dikarenakan adanya pengaruh urea sebagai sumber nitrogen yang ditambahkan pada medium fermentasi. Menurut Eko dkk. (2012)

nitrogen hasil hidrolisis akan menyusup ke jaringan-jaringan sel untuk sintesis protein. Sintesis protein merupakan proses memproduksi senyawa-senyawa polipeptida dalam tubuh sel yang berguna untuk perkembangbiakan mikrob. Sehingga penambahan urea dapat meningkatkan jumlah sel mikrob dalam medium fermentasi. Hal ini sesuai dengan pernyataan Kaltsum (2009) yang menyatakan bahwa penambahan nitrogen pada medium fermentasi mampu meningkatkan populasi sel. Sehingga penambahan urea dapat meningkatkan aktivitas sel dalam memanfaatkan gula dan memproduksi etanol.

Saccharomyces cerevisiae akan memanfaatkan gula yang terdapat pada medium fermentasi untuk pertumbuhan sel dan produksi etanol. Sel akan merombak gula menjadi etanol melalui proses glikolisis dengan bantuan enzim. Menurut Thomas dkk. (1996) dalam Ishmayana dkk (2012) sintesis enzim glikolisis serta enzim dari jalur heksosa monofosfat pada kondisi *osmotic shock* akibat konsentrasi gula yang tinggi diatur oleh konsentrasi gula tinggi dan ketersediaan nitrogen. Kekurangan nitrogen pada media dengan konsentrasi gula tinggi merupakan salah satu penyebab fermentasi berjalan lamban atau terhenti, sehingga akan menghambat pertumbuhan sel pada medium fermentasi. Penghambatan transport gula merupakan faktor utama yang menghambat metabolisme fermentasi. Keterbatasan nitrogen menghambat sintesis protein tranporter sehingga sistem transport gula menjadi tidak aktif meskipun masih terdapat gula dalam media

(Arrizon dan Gschaedler, 2002). Laju pertumbuhan meningkat dengan meningkatnya konsentrasi urea sebagai sumber nitrogen.

Kadar etanol yang dihasilkan selama proses fermentasi dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu suhu, kadar gula, pH, waktu fermentasi, kadar oksigen, nutrisi pada media dan kemampuan fermentasi mikrob. Khamir menggunakan garam ammonium, asam amino dan sejumlah peptide sebagai sumber nitrogen (Najah, 2009). Urea merupakan salah satu sumber nitrogen yang dibutuhkan oleh sel. Nitrogen mampu membantu biosintesis sel yang mengalami kerusakan akibat konsentrasi gula yang tinggi di awal fermentasi. Fungsi nitrogen dalam sel yaitu mengatur keseimbangan asam basa, mempercepat proses penyembuhan, sebagai pembentukan enzim, menyusun 50% berat kering organisme berupa makromolekul dan sebagai sumber energi (Thontowi dkk., 2007).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Peningkatan konsentrasi urea pada medium fermentasi akan meningkatkan produksi etanol yang dihasilkan, meningkatkan pertumbuhan sel *Saccharomyces cerevisiae* dan meningkatkan konsumsi sel terhadap gula yang terdapat pada medium fermentasi digambarkan dengan adanya penurunan jumlah kadar gula reduksi selama proses fermentasi. Dilihat dari efisiensi penggunaan gula oleh selama proses fermentasi, konsentrasi urea terbaik dalam fermentasi bioetanol dari air kelapa yaitu perlakuan U3 (penambahan urea 0,4 g/l) yang mampu

menghasilkan etanol tertinggi sebesar 11,25% pada fermentasi hari ke-3 dengan kadar gula reduksi sisa 168,13 g/l dan jumlah sel mikrob pada fermentasi hari ke-3 yaitu $1,0 \times 10^9$. Semakin banyak jumlah sel yang terdapat pada medium fermentasi maka kadar gula reduksi yang terdapat pada medium fermentasi semakin menurun dan etanol yang terbentuk semakin tinggi.

Saran

Perlu adanya penelitian lanjutan pembuatan bioetanol dengan menggunakan fermentor yang memiliki agitator, sehingga mampu meningkatkan produksi bioetanol.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2006. **Aneka Hasil Olahan Kelapa**. Ebookpangan.com.
- Arrizon, J. dan A. Gschaedler. 2002. **Increasing fermentation efficiency at high sugar concentrations by supplementing an additional source of nitrogen during the exponential phase the tequila fermentation process**. Can. J. Mikrobial (48):965-970.
- Azizah, N., A. N Al-Baarri dan S. Mulyani. 2012. **Pengaruh lama fermentasi terhadap kadar alkohol, pH, dan produksi gas pada proses fermentasi bioetanol dari whey dengan substitusi kulit nenas**. Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan 1 (2): 72-77.
- Azizah, R. 2014. **Kajian penggunaan Tween80™ pada pelbagai konsentrasi nira nipah kental dalam proses fermentasi**

- bioetanol. Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Riau. Pekanbaru.
- Eko, D. P., M. Junus dan M. Nasich. 2012. **Pengaruh penambahan urea terhadap kandungan protein kasar dan serat kasar padatan lumpur organik unit gas bio.** Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Malang.
- Hernawan, D. R. W. Q., T. Utarmi dan M. N. Cahyanto. 2000. **Fermentasi etanol dari sari buah jambu mete (*Anacardium occidentale* L) oleh *Saccharomyces cerevisiae* FNCC 3015 menggunakan ammonium sulfat dan urea sebagai sumber nitrogen.** Jurnal Agritech 20 (2): 93-98.
- Ishmayana, S., Alfitri, D. Sadiyah, D. Saadah, Rachman dan S. Agus. 2012. **Kinerja fermentasi ragi *Saccharomyces cerevisiae* pada media VHG dengan variasi konsentrasi ekstrak ragi sebagai sumber nitrogen untuk produksi bioetanol.** Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia: 312-317.
- James, D. W. 2010. **Urea: A Low Cost Nitrogen Fertilizer With Special Management Requirements.** Utah State University Cooperative Extension.
- Kaltsum, U. 2009. **Pengaruh variasi nira tebu (*Saccharum officinarum*) dari beberapa varietas tebu dengan penambahan sumber nitrogen (N) dari tepung kedelai hitam (*Glycine soja*) sebagai subtract terhadap efisiensi fermentasi etanol.** Skripsi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Liu, C. G., dkk. 2012. **Very high gravity ethanol fermentation by flocculating yeast under redox potensial controlled condition.** Biotechnology for Biofuels 5 (61): 1-7.
- Loureiro, M dan M. F. Malfeito. 2003. **Spoilage yeasts in the wine industry.** International Journal of Food Microbiology 86: 23–50.
- Najah, N. 2009. **Pengaruh penambahan nitrogen dan waktu fermentasi terhadap kadar etanol pada proses fermentasi kulit pisang ambon (*Musa paradisiacal* Linn.).** Skripsi Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga.
- Pham T. N. L., Doan N. H. D., dan 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.
- Thontowi, A., Kusmiati dan N. Sukma. 2007. **Produksi β -**

- Glukan *Saccharomyces cerevisiae* dalam media dengan sumber nitrogen berbeda pada *Air-Lift Fermentor*.** Biodiversitas 8 (4): 255-256.
- Umadiyah, A. S. 2013. **Fermentasi nira nipah skala 50 liter menjadi bioetanol menggunakan *Sacharomyces cerevisiae*.** Skripsi Fakultas Teknik Universitas Riau. Pekanbaru.
- Wang, F.Q., J.G. Cui, Y.Y. Chun, dan P. Xu.. 2007. **Optimization of an ethanol production medium in very high gravity fermentation.** Biotechnol 29: 233-236.
- Wignyanto, Suharjono dan Novita. 2001. **Pengaruh konsentrasi gula reduksi sari hati nanas dan inokulum *Saccharomyces cerevisiae* pada fermentasi etanol.** Jurnal Teknologi Pertanian 2 (1):68-77.