

**PENAMBAHAN TWEEN80™ DAN ERGOSTEROL UNTUK MENGATASI OSMOTIC SHOCK DAN KERUSAKAN MEMBRAN SEL DALAM PROSES FEREMENTASI BIOETANOL DARI NIRA NIPAH KENTAL**

**TWEEN80™ AND ADDITION TO OVERCOME OSMOTIC ERGOSTEROL SHOCK AND CELL MEMBRANE DAMAGE IN THE PROCESS FROM NIRA NIPAH FEREMENTASI BIOETHANOL CONDENSED**

Delvi Andika<sup>1</sup>, Fajar Restuhadi<sup>2</sup> and Chairul<sup>2</sup>

Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Jurusan Teknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Riau, Kode Pos 28293, Indonesia

Delvi.andika@yahoo.co.id

**ABSTRACT**

This study was conducted to determine the optimization of bioethanol production by fermentation techniques VHGF with free cell system to see the effect of combined treatment of unsaturated lipid concentrations (0.2% Tween80. And Ergosterol) the increase in bioethanol. This research was carried out experiments with four treatments and measurements in duplicate. The combination of ergosterol levels namely E0 (0 mg / l), E1 (18 mg / l), E2 (24 mg / l) and E3 (30 mg / l). Observations were made every 24 hours; include sugar, ethanol, cell number, and pH. Data were analyzed descriptively by using a tabular or graphical. The best treatment is a combination of E1 (0.2% Tween80 and ergosterol 18 mg / l), which produces the largest ethanol 17.57%.

**Keywords:** Nira Nipah, *Tween80™*, *Ergosterol*, Batch, Bioethanol, Fermentation Media Chowder

---

**PENDAHULUAN**

Saat ini minyak bumi yang dimiliki Indonesia hanya ada 500 juta barel. Minyak bumi masih sangat dominan dalam ketetapan listrik Nasional dan berkontribusi sebanyak 63,8% dari 28.484,18 MW kapasitas listrik terpasang, Sehingga

membuat Indonesia harus mengimpor bahan bakar minyak untuk memenuhi kebutuhan dalam negeri. Lonjakan harga bahan bakar minyak yang terjadi saat ini berdampak buruk terhadap perekonomian masyarakat Indonesia. Khususnya kalangan menengah ke bawah yang sebagian besar menggunakan

bahan bakar minyak dalam melakukan kegiatan sehari-hari terutama kegiatan rumah tangga yang akan meningkatkan biaya pengeluaran rumah tangga. Tingginya biaya rumah tangga, membuat sebahagian orang mengacu inovasi untuk menghasilkan sumber energi baru alternatif (bioenergi) yang terbarukan serta ramah lingkungan dari pemanfaatan tanaman hasil pertanian.

Beberapa komoditi hasil pertanian yang berpotensi cukup besar terhadap bahan bakar nabati terutama bioetanol yaitu nira nipah, tebu, nira aren dan singkong. Pengembangan bioenergi ini kurang dilirik dan diminati oleh masyarakat pada umumnya, dengan demikian perlunya dukungan dan perhatian. Pemerintah untuk memperkenalkan dalam penggunaan bioenergi nabati ini khususnya bioetanol. Vegetasi tanaman nipah (*Nypa fruticans*) sangat berpotensi untuk dikembangkan menjadi bahan baku industri bioenergi terbarukan, yaitu bioetanol. Menurut (Tamunaiduet *al.*, 2011) nira nipah berpotensi menghasilkan 15.600 liter etanol per hektar, atau dua kali lipat hasil yang diperoleh dari tebu dan enam kali lipat hasil dari jagung.

Oleh sebab itu, perlu adanya suatu upaya untuk meningkatkan produktifitas dan mengefisienkan produksi bioetanol dengan cara proses fermentasi nira kental dengan metode *very high gravity fermentation* (VHGF). Kegiatan ini dapat dimanfaatkan masyarakat sehingga dapat meningkatkan pendapatan mereka. Oleh sebab telah dilakukan penelitian yang berjudul “**Penambahan Tween80<sup>TM</sup> dan Ergosterol untuk Mengatasi Osmotic**

## **Shock dan Kerusakan Membran Sel dalam Proses Fermentasi Bioetanol dari Nira Nipah Kental”**

### **Tujuan**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk optimasi produksi bioetanol dengan teknik fermentasi VHGF dengan sistem sel bebas untuk melihat pengaruh kombinasi perlakuan konsentrasi lipid tak jenuh (*Tween80<sup>TM</sup>*) dan *Ergosterol* dalam peningkatan produksi bioetanol.

## **BAHAN DAN METODE**

### **Bahan dan Alat**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah nira nipah, khamir *Saccharomyces cerevisiae* (*Saft Instant*), akuades, *Tween80<sup>TM</sup>*, *ergosterol*, dan garam fisiologis. Bahan-bahan yang digunakan untuk analisis adalah glukosa anhidrat, akuades, NaCl 0,85%, alkohol 98%, 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 fermentor, gelas ukur, corong, pipet ukur, labu ukur, tabung reaksi, kuvet, cawan petri, pipet tetes, *hockey stick* dan erlenmeyer. Peralatan analisis yaitu pH meter, Alkohol meter, 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*, oven pengering, *laminar flow cabinet*, saringan *stainless*, lampu spiritus,

lemari es (*refrigerator*), kamera, peralatan tulis dan alat lainnya.

### Metode Penelitian

Penelitian dilaksanakan secara eksperimen untuk melihat fenomena pengaruh beberapa faktor kadar *ergosterol* dengan proses fermentasi pembentukan bioetanol sinambung. Pengukuran dilakukan secara duplo (dua kali pengulangan) setiap hari hingga hari keenam untuk beberapa parameter pengamatan yaitu kadar etanol, kadar gula, jumlah sel dan perubahan pH. Perlakuan pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

E0= Gula 25%, *Tween80*<sup>TM</sup> 0,2 %, *Ergosterol* 0 mg/l dari medium nira nipah.

E1=Gula 25%, *Tween80*<sup>TM</sup> 0,2%, *Ergosterol* 8 mg/l dari medium nira nipah.

E2=Gula 25%, *Tween80*<sup>TM</sup> 0,2%, *Ergosterol* 24 mg/l dari medium nira nipah.

E3=Gula 25%, *Tween80*<sup>TM</sup> 0,2%, *Ergosterol* 30 mg/l dari medium nira nipah.

### Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan dengan proses fermentasi nira nipah kental secara *batch* dengan menggunakan sel bebas *Saccharomyces cerevisiae*.

### Penyiapan Medium Fermentasi Nira Nipah Kental (250 g/l)

Nira Nipah yang telah disadap dan dipanaskan di uji kadar gula reduksi dengan

metode Nelson Somogyi (Sudarmadji *et al.*, 1997), jika kadar glukosa belum 250 g/L maka dilakukan pemanasan pada nira nipah agar air menguap sehingga diperoleh nira nipah kental dengan konsentrasi glukosa 250 g/L.

### Pembuata Starter

Pembuatan starter yang harus dilakukan pertama penyiapan substrat atau medium pertumbuhan selnya, kedua persiapan bahan lain seperti mikroba yang akan dibiakkan, *Tween80*<sup>TM</sup> dan *Ergosterol*. Langkah awal ukur nira 200 ml dari tambahkan *Tween80*<sup>TM</sup> sebanyak 0.2% dari jumlah nira yang dipergunakan kemudian disterilisasi menggunakan *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit. Setelah disterilisasi media didinginkan sampai suhu kamar kemudian di tambahkan *saft instan* sebanyak 4 g dan *Ergosterol* sesuai perlakuan. Selanjutnya medium starter siap diinkubasi dalam *water bath shaker* dengan kecepatan 100 rpm pada suhu 27°C selama 24-48 jam.

### Fermentasi *Batch* (sinambung)

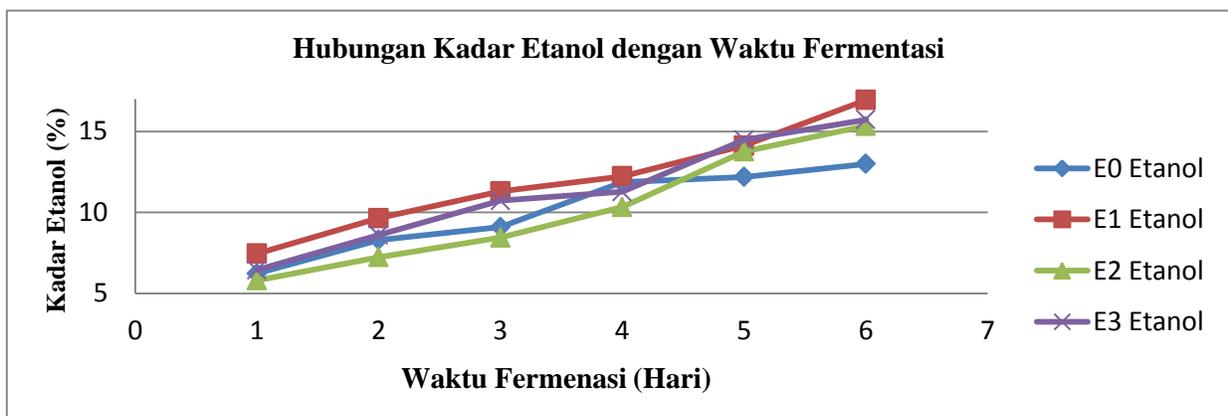
Langkah awal media nira nipah dimasukkan ke dalam erlenmeyer sebanyak 1800 ml dan *Tween80*<sup>TM</sup> sebanyak 0,2% dari jumlah nira yang digunakan sesuai perlakuan terbaik dari Azizah (2014) pada masing-masing konsentrasi nira nipa, disterilisasi menggunakan *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit. Selanjutnya didinginkan hingga suhu kamar, kemudian ditambahkan *Ergosterol* sesuai perlakuan masing-masing. Kemudian medium diatur hingga pH 5 dengan ditambahkan NaOH,

karena pH optimum fermentasi bioetanol adalah 5. Setelah itu substrat difermentasi pada suhu kamar. Kemudian sampel dianalisis kadar etanol, kadar gula, total mikroba dan perubahan pH secara berkala setiap 24 jam. Fermentasi dihentikan ketika kadar gula sudah di bawah 50%.

Berdasarkan dari Grafik di bawah ini dapat dilihat rata-rata kadar etanol selama proses fermentasi yang dihasilkan selama enam hari dari perlakuan E1, E2 dan E3 terakumulasi secara signifikan. Dapat diketahui perolehan etanol pada perlakuan tanpa penambahan *Ergosterol* (E0) tidak menunjukkan hasil yang signifikan, hal ini diduga akibat adanya *osmotik shock* pada sel sehingga sel tidak dapat merubah substrat secara optimal.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Kadar Etanol (%)



Pada Grafik dapat di lihat bahwasannya proses fermentasi yang dilakukan selama enam hari dengan berbagai perlakuan E0, E1, E2 dan E3 hasil etanol Hal ini diduga di sebabkan oleh beberapa faktor, diantaranya pada perlakuan E2 dan E3 suplemen yang ditambahkan ke dalam medium fermentasi terlalu berlebihan sehingga sel tidak dapat mengikat dan memanfaatkan suplemen *ergosterol* dengan baik dalam memproduksi etanol kemungkinan lainnya karena pada penelitian

terbanyak terdapat pada perlakuan E1 dan dapat lihat juga jumlah etanol terendah terdapat pada perlakuan E0.

ini tidak di lakukan pengulangan pada semua media fermentasi. Jadi, pada perlakuan E1 dengan penambahan *Ergosterol* 18 mg/l menjadi efisien yang menghasilkan etanol tertinggi di bandingkan yang lainnya. pada Hasil ini tidak berbeda jauh dari penelitian yang telah dilakukan Pham *et al.* (2010) dan Tran *et al.* (2010)

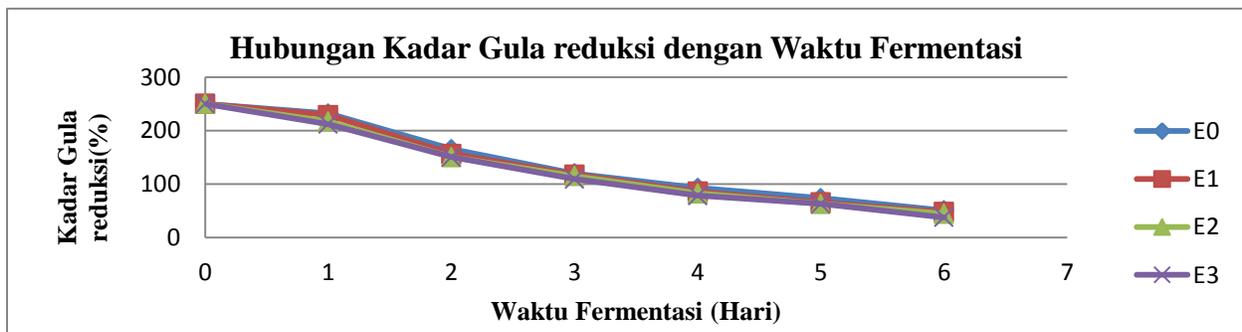
yang menghasilkan etanol terbaik dengan bahan baku gula maltosa dengan

penambahan *Tween80*<sup>TM</sup> pada konsentrasi 0,3% dan *Ergosterol* 18 mg/l.

### Kadar Gula Reduksi ( % )

Selama proses fermentasi, komposisi kimiawi media fermentasi berubah karena nutrisi terus menerus dikonsumsi dan produk metabolit disintesis salah satu

produk yang disintesis oleh sel yaitu gula-gula reduksi. Nilai rerata-rata kadar gula di setiap periode pengukuran perhari fermentasi dapat dilihat pada Grafik di bawah ini.



Grafik di atas menunjukkan bahwa pada hari pertama dan kedua jumlah gula yang dikonsumsi berbeda nyata dengan hari selanjutnya.

Hal ini disebabkan karena peran *Ergosterol* yang berperan sebagai pengganti pembentuk membran sel yang mengalami lisis sehingga sel tidak perlu menyerap gula dalam jumlah banyak guna untuk membentuk kondisi isotonik antara dalam

dan luar sel. Gula yang berkurang dimanfaatkan sel dan dikonversi menjadi etanol. Selain etanol gula juga diubah menjadi asam-asam organik meskipun dalam jumlah sedikit. Berbeda halnya dengan hari ke-5 sampai hari ke-6 penurunan kadar gula tidak terlalu signifikan, ini dikarenakan konsentrasi kadar gula di hari akhir ke-5 fermentasi hingga ke-6 sudah tinggal sedikit

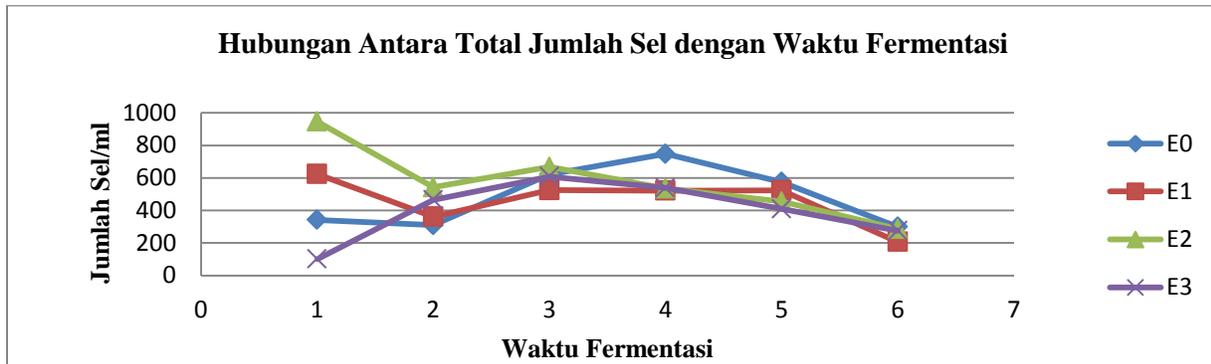
### Jumlah Mikroba (Log CFU/ml)

Gula pada media yang diserap sel selain untuk mendapatkan kondisi isotonik juga digunakan sebagai sumber nutrisi bagi

khamir tersebut baik untuk perbaikan sel maupun perkembangbiakan sel (Draphco *Et al.*, 2008). Dalam proses fermentasi sel bebas diharapkan sel dapat memanfaatkan gula dan nutrisi yang kemudian

menghasilkan produk etanol bukan produk biomassa. Dalam fermentasi alkohol umumnya digunakan khamir karena khamir dapat mengkonversi gula menjadi alkohol dengan adanya enzim zymase. Dalam penelitian ini, mikroba yang digunakan adalah *Saccharomyces cerevisiae* yang

memiliki kelebihan salah satunya dapat membentuk alkohol pada hasil akhir metabolisme selnya. Nilai rata-rata total jumlah mikroba di setiap periode pengukuran selama 6 hari fermentasi dapat dilihat pada Grafik di bawah ini.



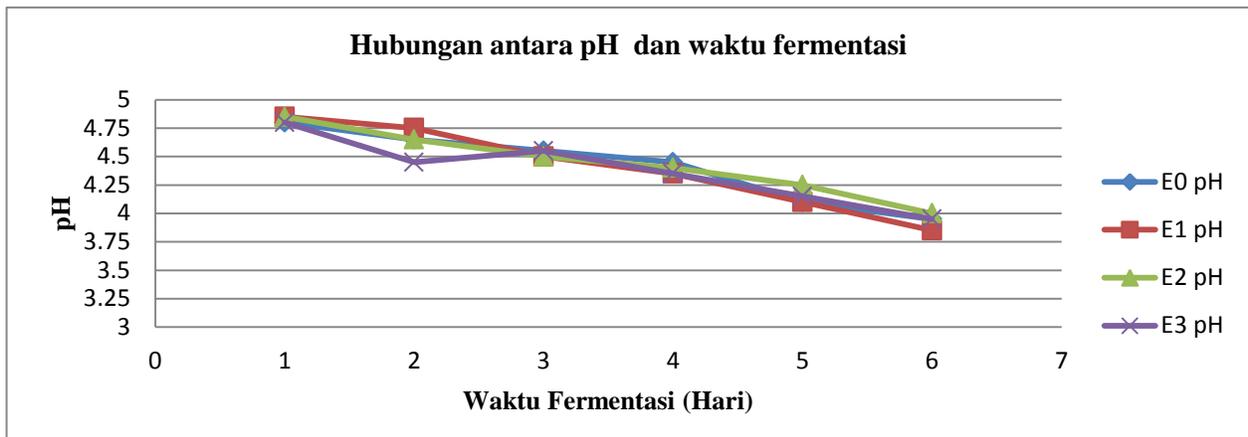
Dari Grafik di atas dapat diketahui bahwa di hari ke-1 dan ke-2 fermentasi, sel baru akan menyesuaikan diri dengan lingkungan. Sel mengalami fase statis terjadi pada hari ke-3 dan fase kematian terjadi di hari ke-5 dan ke-6. Hal ini disebabkan sel mengalami fase kehidupannya. Fase yang dilalui selama pertumbuhan mikroba yaitu fase lag, fase log, fase statis dan fase kematian selain itu beberapa faktor yang

### Derajat Keasaman ( pH)

Proses metabolisme sel untuk menghasilkan etanol tidak akan terjadi tanpa adanya aktivitas enzim. Enzim yang akan mengubah gula menjadi etanol tersebut aktivitasnya dipengaruhi oleh pH, karena enzim akan bekerja optimum pada pH tertentu (Mushlihah dan Herumurti, 2011).

mempengaruhi pertumbuhan dari sel, diantaranya lamanya waktu fermentasi membuat semakin berkurangnya sumber makan dan nutrisi yang ada di medium fermentasi dan sebagian sel mengalami lisis yang diakibatkan jumlah etanol yang tinggi. Meskipun pada awal fermentasi sel yang rusak hanya sedikit, namun sel juga akan rusak apabila terpapar etanol dalam jumlah yang banyak (Galeote, 2001).

Derajat keasaman merupakan salah satu faktor lingkungan yang mempengaruhi berjalannya proses fermentasi etanol (Yenti, 2012). Khamir dapat tumbuh dan memfermentasi gula menjadi etanol pada pH 3,5-6,0 (Paturau, 1969). Hubungan antara pH dan waktu fermentasi dapat dilihat pada Grafik di bawah ini.



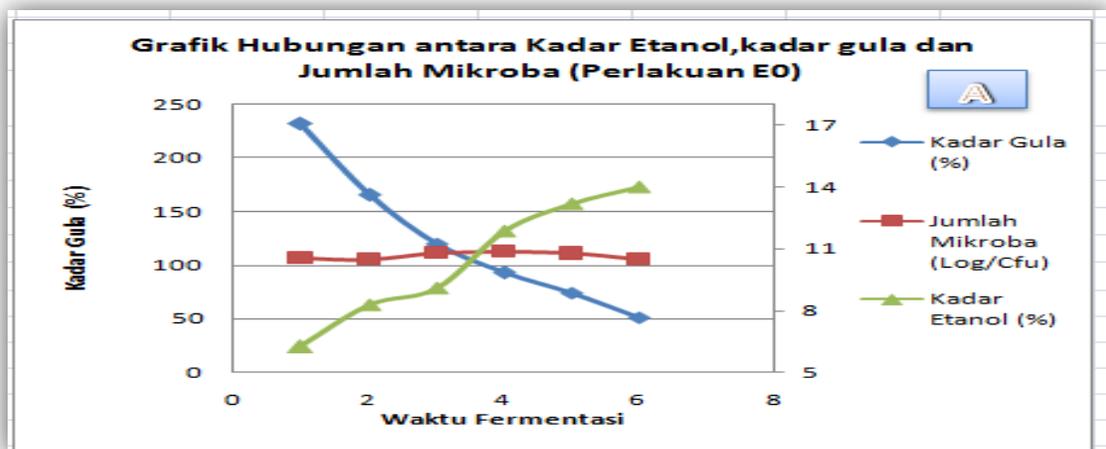
Berdasarkan Grafik di atas derajat keasaman (pH) dari semua perlakuan hamper mendekati sama perubahan pH media pada proses fermentasi mulai hari pertama hingga hari terakhir. Perlakuan dari hari pertama hingga hari ke-6 tidak memberikan pengaruh nyata terhadap medium fermentasi. Dilihat dari hasil kadar

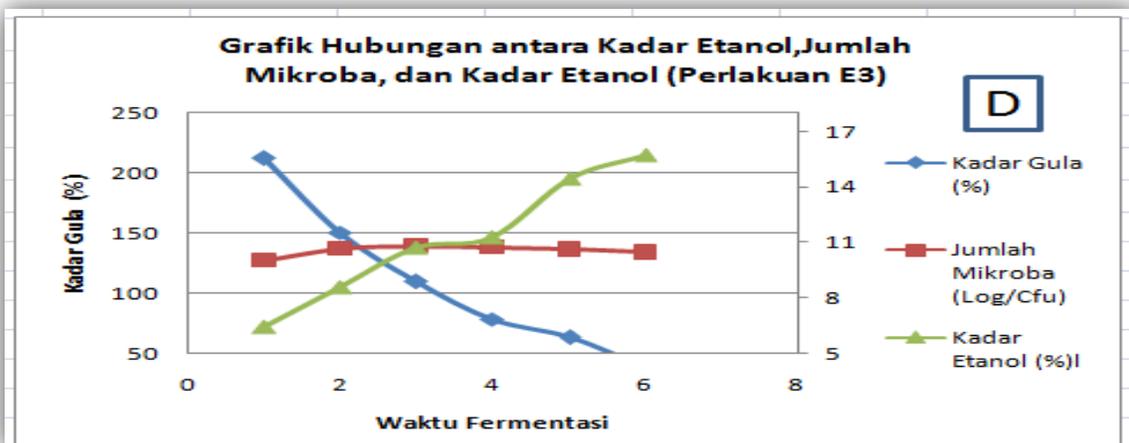
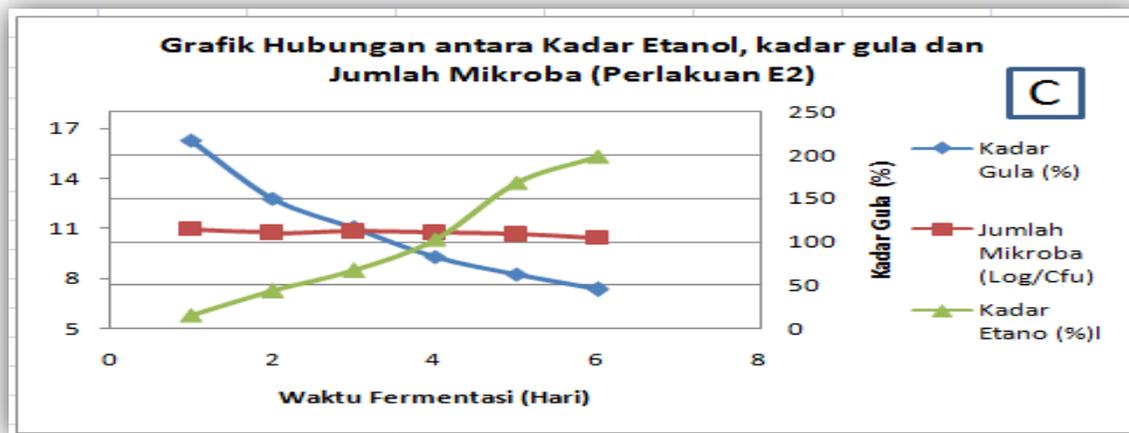
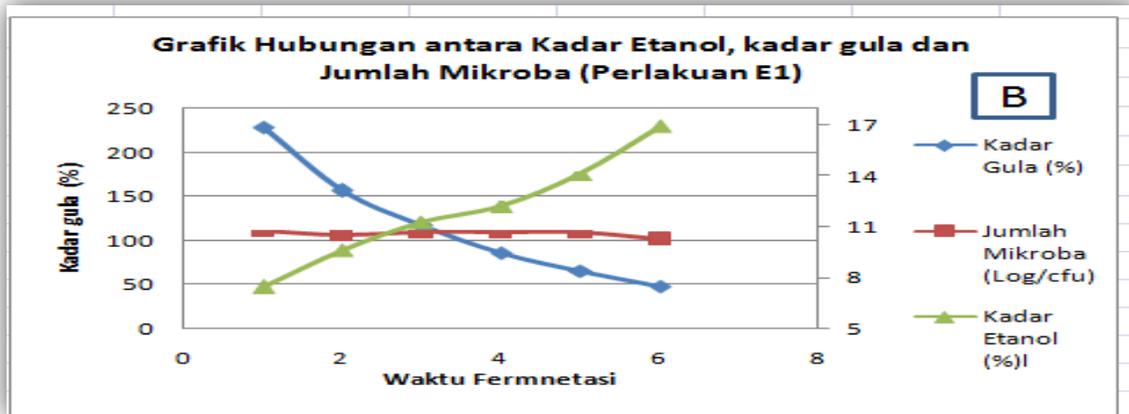
gula dan kadar etanol yang dihasilkan dapat diketahui bahwa sel tidak hanya mengubah gula menjadi etanol tetapi juga sebagai penghasil produk lain seperti asam-asam organik. Asam-asam organik hasil dari proses fermentasi ini akan meningkatkan nilai pH media fermentasi.

### Hubungan Antara Kadar Etanol, Kadar Gula, dan Jumlah Mikroba

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).





Grafik di atas menunjukkan hubungan antara perubahan kadar etanol, kadar gula, dan jumlah sel selama proses fermentasi selama enam hari. Dapat di lihat pada Gambar A terjadi penurunan kadar gula secara signifikan di hari ke-2 hingga hari ke-6. Gula yang berkurang dimanfaatkan sel dan dikonversi menjadi etanol. Selain etanol gula juga diubah menjadi asam-asam organik meskipun dalam jumlah sedikit. Pertumbuhan jumlah sel cenderung satais di hari namun etanol yang dihasilkan meningkat. *Tween 80<sup>TM</sup>* dan *Ergosterol* diduga dapat mencegah lisisnya sel akibat pengaruh kadar gula yang tinggi. Kadar gula yang tinggi menyebabkan tekanan osmosis yang sehingga dinding sel pecah.

Grafik B, C dan D juga menunjukkan penurunan kadar gula, hal ini sejalan dengan kenaikan etanol yang juga signifikan, dimana sel memanfaatkan gula untuk menghasilkan etanol. Peristiwa tersebut terjadi karena pengaruh adanya *ergosterol* yang ditambahkan pada media. Penambahan *Ergosterol* merupakan sebagai peran utama dalam mempertahankan membran sel pada fungi dan khamir. Jumlah etanol yang di hasilkan cukup tinggi dimana *Ergosterol* dapat berperan menggantikan lipid-lipid pada membran sel yang rusak karena terpapar etanol dengan akumulasi jumlah etanol yang tinggi. Dapat di simpulkan dari Grafik A, B,

C dan D bahwasannya penambahan *Ergosterol* berpengaruh terhadap jumlah etanol cukup tinggi yang dihasilkan. Jika penambahan *Ergosterol* dapat berperan baik dalam menggantikan lipid-lipid yang rusak karena akumulasi etanol yang tinggi maka kemungkinan proses fermentasi masih bisa terjadi untuk di lanjutkan.

## **KESIMPULAN DAN SARAN**

### **Kesimpulan**

Interaksi antara kadar gula awal fermentasi dan konsentrasi penambahan *Ergosterol* tidak memberikan pengaruh terhadap perolehan etanol, kadar gula dan mikroba, tetapi pada kadar gula mengalami penurunan. Interaksi terbaik antara konsentrasi gula nira nipah dan *Ergosterol* ada pada perlakuan E1, yaitu penambahan *Ergosterol* sebanyak 18 mg/l dengan konsentrasi gula medium fermentasi 250 g/l dan *Tween80<sup>TM</sup>* menghasilkan perolehan etanol tertinggi pada hari terakhir (ke-6) sebesar 16,95 %.

### **Saran**

Perlunya penelitian lanjutan serupa dengan mengkombinasikan *Tween80<sup>TM</sup>* dan *Ergosterol* sebagai sumber asam lemak bagi mikroorganisme yang digunakan dalam proses fermentasi. Perlu juga penambahan nutrisi yang lain agar pertumbuhan sel bisa lebih baik dan waktu fermentasi bisa lebih lama lagi baik dengan metode *batch* dan *fed batch fermentation* agar bioetanol yang di hasilkan jauh lebih optimal.

## DAFTAR PUSTAKA

- Azizah, R. 2014. **Kajian penggunaan Tween80™ pada pelbagai konsentrasi nira nipah kental dalam proses fermentasi bioetanol.** Skripsi Fakultas Pertanian Universitas Riau. Pekanbaru.
- Draphco, C.M., N.P. Nhuan., and T.H. Walker. 2008. **Biofuels Engineering Process Technology.** The McGraw-Hill Companies, Inc. USA
- Galeote, V. A. 2001. **Stress effect of ethanol on fermentation kinetics by stationary-phase cells of *Saccharomyces cerevisiae*.** *Biotechnology Letters*, 23: 677–681.
- Hadi, S. 2012. **Potensi mangrove nipah (*Nypa fruticans* Wurmb) sebagai sumber energy hijau bioetanol dan biopremium yang berkelanjutan.** Universitas Riau.
- Tamunaidu, P., Kakihira, T., Miyasaka, H., & Saka, S. (2011). **Prospect of Nipa Sap for Bioethanol Production.** In T. Yao (Ed.), (pp. 159–164). Springer Japan. doi:10.1007/978-4-431-53910-0\_21.
- Yenti, S.R. 2012. **Fermentasi nira nipah menjadi bioetanol menggunakan *Sacharomyces cereviceae* pada fermentor 70 liter.** Skripsi. Fakultas Teknik, Universitas Riau.
- Mushlihah, S., dan W. Herumurti. 2011. **Pengaruh pH dan konsentrasi *Zymomonas mobilis* untuk produksi etanol dari sampah buah jeruk.** Skripsi. Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan Institut Teknologi Sepuluh Nopember. Surabaya.
- 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.
- Freudenberger, R. 2009. **Alkohol Fuel : A Guide to Making and Using Ethanol as A Renewable.** Friesens. Canada.
- Patturau, J.M. 1981. **By Product Of The Cane Sugar Industry: An Introduction to Their Industrial Lization.** Elsevier Scientific Publ. C6; Amsterdam
- Pham T.N.L., Doan N.H.D., and Le V.V.M. .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.

Sudarmadji, S., B. Haryono, dan Suhardi.  
1997. **Prosedur Analisa Untuk  
Bahan Makanan dan Pertanian.**  
Liberty: Yogyakarta.

Tran, Q. H., Nguyen, T. T., Le V. V. M. and  
Hoang, K. A. 2010. **Effect of**

*Tween80<sup>TM</sup>* and ergosterol  
supplementation on fermentation  
performance of the immobilized  
*yeast in high gravity brewing.*  
International Food Research Journal  
17: 309-318.