

Pembuatan Bioetanol dari Nira Nipah Menggunakan Bakteri *Zymomonas Mobilis* dengan Variasi Pemekatan Medium dan Waktu Fermentasi

¹⁾Wahyu Mey Riswanto, ²⁾ Silvia Reni Yenti, ²⁾Chairul

¹⁾Mahasiswa, Program Studi Sarjana Teknik Kimia ²⁾Dosen Teknik Kimia
Laboratorium Teknologi Bioproses

Program Studi Teknik Kimia S1, Fakultas Teknik, Universitas Riau
Kampus Bina Widya Jl. HR. Soebrantas Km 12,5 Simpang Baru, Panam, Pekanbaru 28293
Email : wahyumeyr@rocketmail.com

ABSTRACT

The existence of Nypa palm is abundant in Riau province. Nypa can potentially supply biofuels because Its sap has a sugar content of 15-20% which can be converted into bioethanol. Bioethanol is ethanol produced from raw materials containing starch, sugar and cellulose through a process of fermentation and distillation that can be used as an alternative fuel which is environmentally friendly and renewable. To be Able to produce bioethanol from nypa sap in a laboratory scale, it is necessary to study the manufacture of bioethanol from nypa sap through fermentation by using Zymomonas mobilis fermentation medium volume of 2 liters. The objective of the research is to convert the sugar in the nypa sap through fermentation into bioethanol and to observe the effect of concentration medium of the juice in the fermentation and fermentation time on bioethanol production using Zymomonas mobilis. Through the process of fermentation using Zymomonas mobilis, glucose is converted into ethanol and carbon dioxide. Preparation starter was made with yeast inoculum process Zymomonas mobilis at 10% of the fermentation medium, therefore it can be adaptable and ready for fermentation. Fermentation takes place in batches with a volume of 2 liters of fermentation medium, concentration variations sap by evaporation at 10; 20; 30% (v/v) as well as variations in the fermentation time of 12; 24; 36; 48; 60; 72 and 84 hours. Temperature fermentation at room temperatur is 25 – 30°C. Ethanol concentration was Analyzed by using Gas Chromatography. Optimum conditions of bioethanol production from Nypa Sap were shown having 30% concentrated medium variation, and fermentation hours 60th about 15,164 % (v/v) or 111,689 mg/ml.

Keywords: bioethanol, concentrated, nypa Sap, zymomonas mobilis

1. PENDAHULUAN

Sumber energi di Indonesia semakin lama semakin berkurang dan akan menghadapi krisis energi dalam waktu dekat. Salah satu upaya untuk meningkatkan keamanan energi nasional jangka panjang adalah dengan menggantinya ke sumber energi baru dan

terbarukan (EBT). Bahan bakar dari nabati (biodiesel, bioetanol, biomassa, dan biogas) dan khususnya yakni bioetanol. Sebagai dasar untuk mengganti penggunaan energi ke sumber energi yang baru, dapat dilihat bahwa cadangan terbukti minyak bumi nasional pada tahun 2010 hanya sekitar 7,99 miliar barel dan dengan tingkat

produksi minyak sekitar 346 juta barel per tahun, maka cadangan tersebut akan habis dalam waktu 23 tahun (Heyko, 2012).

Maka dari itu dibutuhkan adanya strategi energi pengganti ke sumber energi baru dan terbarukan yang potensinya sangat besar di Indonesia. Salah satu bahan yang dapat digunakan sebagai bahan baku bioetanol adalah nira dari tanaman nipah. Bioetanol merupakan salah satu jenis energi alternatif menyerupai bensin. Bioetanol banyak digunakan sebagai bahan pelarut pada proses kimia, bahan bakar, dan bahan baku industri untuk pembuatan formaldehid, asam etanoat, dan metil ester (Hadi, 2013).

Nipah (*Nypa fruticans*) adalah sejenis palem (*palma*) yang tumbuh di lingkungan hutan bakau atau daerah pasang surut dekat tepi laut. Saat ini, Luas hutan *mangrove* Indonesia antara 2,5 hingga 4,5 juta hektar dan merupakan *mangrove* terluas di dunia melebihi Brazil (1,3 juta Ha), Nigeria (1,1 juta Ha) dan Australia (0,97 Ha). Bila asumsi 30 % hutan *mangrove* sebagai hutan nipah, maka diperkirakan terdapat sekitar 0,75 -1,35 juta hektar hutan nipah di Indonesia (Wardhanu, 2011). Tanaman ini dapat melindungi daratan atau pantai dari abrasi air laut. Nipah dapat juga disadap niranya, yaitu cairan manis yang diperoleh dari tandan buah yang belum tua. Selama ini pemanfaatan nira nipah belum optimal, sebagian masyarakat di pesisir pantai memanfaatkan nira nipah untuk pembuatan gula. Namun gula yang diperoleh mempunyai rasa sedikit asin dan kurang disukai konsumen, sehingga pengolahan nira menjadi gula tidak maksimal (Tresnawati, 2009).

Kelebihan nipah dibandingkan tanaman penghasil bioetanol yang lain antara lain tanaman nipah dapat

memproduksi nira 20 ton/Ha atau 14.300 liter bioetanol per hektar dua kali lebih besar dibandingkan tebu (Smith, 2006). Penelitian mengenai bioetanol di Indonesia semakin lama semakin berkembang dan meningkat dimana sumber daya alam yang menghasilkan bioetanol sangat besar.

Faktor yang mempengaruhi proses fermentasi nira nipah menjadi bioetanol salah satunya yaitu pemekatan nira nipah. pada peneltian ini pemekatan terhadap nira berfungsi untuk meningkatkan konsentrasi gula pada nira sehingga substrat yang dapat dikonversi menjadi bioetanol akan semakin banyak dan kadar etanol yang didapat dari hasil fermentasi juga semakin meningkat.

2. METODE PENELITIAN

2.1 Bahan dan Alat

2.1.1 Bahan

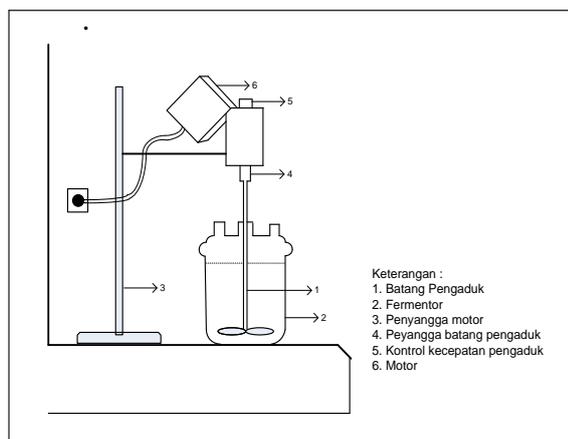
Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah nira nipah yang diperoleh dari Kabupaten Kepulauan Meranti, Bakteri *Zymomonas mobilis* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas MIPA UR, Aquades, Asam Sitrat dan Natrium Sitrat yang berfungsi untuk mengatur kondisi pH awal sesuai dengan besaran yang diinginkan, Potassium Pospat (KH_2PO_4), Magnesium Sulfat heptahidrat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), dan Ammonium Sulfat [$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$], Reagen Nelson-Samogyi, yang terdiri dari Natrium Karbonat Anhidrat (Na_2CO_3), Natrium Arsenat ($\text{Na}_2\text{HASO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), Garam *Rochelle* atau Natrium Sodiun Tartart ($\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), Natrium Bikarbonat (NaHCO_3), Natrium Sulfat Anhidrat (Na_2SO_4), Tembaga (II) Sulfat Pentahidrat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), dan Ammonium Molybdat [$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$].

2.1.2 Alat

Peralatan yang digunakan yaitu rangkaian alat fermentasi seperti ditampilkan pada Gambar 2.1 (fermentor 2 liter, pengaduk, motor pengaduk), *autoclave*, *inkubator*, *mikroskop*, *erlenmeyer*, gelas piala, labu ukur, gelas ukur, timbangan digital, pipet, dan tabung reaksi serta alat analisa (spektrofotometer UV-VIS dan *Gas Cromatography*).

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini terbagi menjadi dua, yaitu variabel tetap dan variabel berubah. Variabel tetap pada penelitian ini adalah medium fermentasi nira nipah murni 2 liter (Wibowo, 2015), suhu operasi pada suhu 25-30°C (Kusuma, 2010), volume *starter* inokulum sebesar 10% (Sodiq, 2012), kecepatan Pengadukan 200 rpm (Wibowo, 2015), serta nutrisi berupa KH_2PO_4 sebanyak 0,1 g/L, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ sebanyak 0,1 g/L dan $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ sebanyak 0,05 g/L, pH awal 5 (Akbar, 2011), bakteri *Zymomonas mobilis*.

Variabel berubah pada penelitian ini adalah waktu pengambilan sampel yaitu pada 12; 24; 36; 48; 60; 72; dan 84 jam serta pemekatan nira nipah sebesar 10%; 20%; dan 30% (v/v).



Gambar 1. Rangkaian Alat Fermentasi

2.2 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian terdiri dari beberapa tahap sebagai berikut.

2.2.1 Tahap Persiapan

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah nira nipah. Untuk menjaga kemurnian nira nipah maka pada saat penyadapan diusahakan tidak ada sampah, kotoran atau bahan lainnya yang masuk. Selain itu agar nira tidak terkonversi oleh mikroorganisme yang menyebabkan asam pada nira nipah maka dilakukan pemanasan (sterilisasi) di tempat penyadapan dan setelah itu nira dijaga pada kondisi tetap dingin.

Medium fermentasi yang digunakan berupa nira nipah kental, pemekatan nira nipah dilakukan dengan cara menguapkan nira nipah segar pada penguapan 10% (v/v) yang bertujuan untuk menguapkan dan mengurangi kadar air pada nira. Selanjutnya ditambahkan nutrisi yang terdiri dari KH_2PO_4 sebanyak 0,1 g/L, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ sebanyak 0,1 g/L dan $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ sebanyak 0,05 g/L kedalam medium fermentasi. kemudian di cek pH 5. Selanjutnya dianalisa konsentrasi gulanya dengan menggunakan spektrofotometer sinar tampak. Selanjutnya medium fermentasi disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit, lalu dinginkan sampai suhu kamar.

Kurva standar glukosa digunakan dalam penentuan konsentrasi glukosa dari substrat dengan metode Nelson–Somogyi (Sudarmadji, 1997). Kurva ini menyatakan hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi glukosa. Dengan kurva ini larutan yang mengandung gula (gula pereduksi) dapat diketahui konsentrasinya

dengan menggunakan spektrofotometer sinar tampak.

2.2.2 Tahap Penelitian

Semua peralatan dan bahan disterilisasi terlebih dahulu di dalam *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C. Selanjutnya dilakukan pengaturan pH sesuai dengan variabel penelitian. *Zymomonas mobilis* dibiakkan dalam 10% medium fermentasi, medium pengembang yang digunakan sama dengan medium yang akan difermentasikan dengan pH awal 5. Selanjutnya tambahkan nutrisi dengan kadar KH₂PO₄ 0.1 g/L, MgSO₄.7H₂O 0.05 g/L, dan (NH₄)₂SO₄ 0.1 g/L (Tanaka,1999 dalam Ageng, 2008). kedalam medium pengembang (*starter*) dan diaduk hingga merata (homogen). Larutan tersebut disterilkan dalam *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C. Kemudian medium pengembang *starter* didinginkan sampai suhu kamar. Selanjutnya ditambahkan *Zymomonas mobilis* sebanyak 3 gores jarum ose dan di *shaker* selama 24 jam. Kemudian siapkan medium fermentasi dengan pengentalan nira sebesar 20% (v/v) dan tambahkan nutrisi kedalam medium fermentasi dan disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Proses Fermentasi dimulai dengan menambahkan *starter* ke dalam medium fermentasi (nira nipah pekat) dengan komposisi yang sesuai dengan variabel penelitian, perbandingan yang digunakan adalah 10% volume *starter* terhadap volume total cairan yaitu 2 L. Fermentor yang digunakan adalah *vessel* fermentor 2000 ml pada suhu kamar dan waktu fermentasi divariasikan pada 12; 24; 36; 48; 60; 72 dan 84 jam untuk mengamati pengaruh waktu fermentasi terhadap etanol yang dihasilkan.

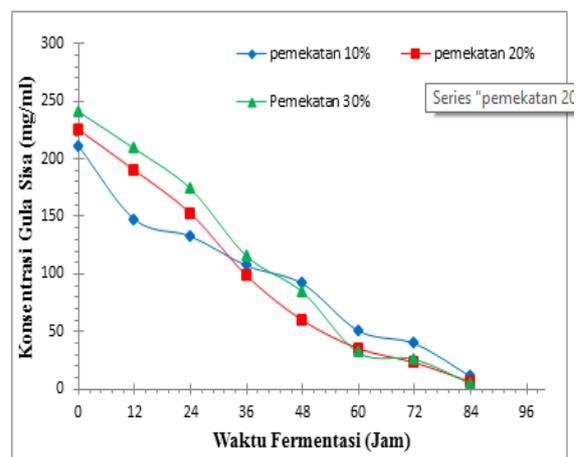
2.2.3 Tahap Analisa

Pemisahan bioetanol dari sampel dengan menggunakan alat *Rotary evaporator* dan konsentrasi bioetanol diukur menggunakan gas kromatografi dan sebagian menggunakan alkoholmeter serta konsentrasi gula dianalisa dengan metode Nelson-Somogyi.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Pengaruh Pemekatan Medium Terhadap Konsentrasi Gula Sisa Hasil Fermentasi

Proses fermentasi nira nipah menggunakan *Zymomonas mobilis* dilakukan secara *batch* dengan pengambilan sampel setiap 12 jam sekali dengan variasi pemekatan medium serta waktu fermentasi. Setelah proses fermentasi selesai, dilakukan analisa terhadap konsentrasi gula sisa dengan metode Nelson-Somogyi. Konsentrasi gula sisa, gula yang habis selama proses pada masing-masing kondisi proses fermentasi ditunjukkan pada Gambar 3.1.



Gambar 2. Hubungan Pemekatan Medium dan Waktu Fermentasi terhadap Konsentrasi Gula Sisa Hasil Fermentasi

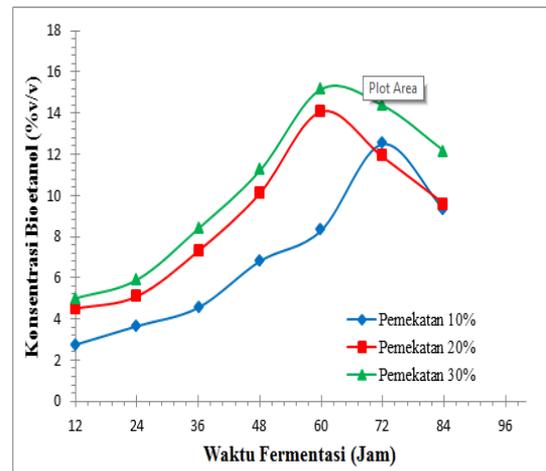
Dari Gambar 3.1 terlihat bahwa semakin lama waktu fermentasi, konsentrasi gula yang ada semakin berkurang. Konsentrasi gula yang semakin menurun seiring berjalannya waktu fermentasi disebabkan karena gula yang tersedia setiap waktunya terkonversi menjadi bioetanol akibat dari aktivitas *Zymomonas mobilis* dan juga digunakan untuk makanan dalam mempertahankan hidupnya dan bereproduksi (Mustofa, 2009).

Hasil analisis terhadap konsentrasi gula sisa di dalam media menunjukkan bahwa interaksi waktu fermentasi dengan konsentrasi gula awal yang berbeda. Semakin lama waktu fermentasi, konsentrasi gula yang ada semakin berkurang. Hal ini disebabkan gula yang terdapat pada substrat (nira nipah) sudah mulai habis terpakai dan terkonversi menjadi bioetanol dan sebagian digunakan sebagai sumber karbon (C) untuk proses pertumbuhan mikroorganisme (Retno dan Nuri, 2011). Penurunan konsentrasi gula tersebut terjadi karena *Zymomonas mobilis* membutuhkan substrat untuk pertumbuhan, baik memperbanyak maupun mempertahankan hidup sel. *Zymomonas mobilis* mengkonsumsi glukosa untuk beraktivitas sehingga menghasilkan bioetanol sebagai metabolit primer (Rachman, 1991).

3.2 Pengaruh Pemekatan Medium dan Waktu Fermentasi Terhadap Konsentrasi Bioetanol

Pemekatan medium berpengaruh terhadap konsentrasi bioetanol yang dihasilkan. Semakin banyak konsentrasi pemekatan medium maka semakin tinggi

konsentrasi bioetanol yang dihasilkan. Waktu fermentasi yang semakin lama mengakibatkan produksi bioetanol meningkat, hal ini dikarenakan semakin banyaknya waktu yang dipergunakan untuk mengkonversi gula menjadi bioetanol (Febriningrum, 2009). Hal ini dapat dilihat pada Gambar 3.2



Gambar 3. Hubungan Pemekatan Medium dan Waktu Fermentasi terhadap Kadar Bioetanol % (v/v) yang dihasilkan

Pada Gambar 3.2 dapat dilihat bahwa konsentrasi bioetanol yang dihasilkan semakin meningkat hingga mencapai kondisi tertinggi dan akan terjadi penurunan konsentrasi bioetanol di akhir fermentasi pada variasi pemekatan 10%; 20%; dan 30%. Waktu fermentasi yang semakin lama mengakibatkan produksi bioetanol meningkat, hal ini dikarenakan semakin banyaknya waktu yang dipergunakan untuk mengkonversi gula menjadi bioetanol (Febriningrum, 2009). Adanya penurunan konsentrasi bioetanol disebabkan karena bioetanol yang dihasilkan terkonversi menjadi asam-asam organik seperti asam asetat, asam cuka dan ester (Purwoko, 2007).

Pada variasi pemekatan medium sebesar 10%, konsentrasi bioetanol cenderung meningkat hingga mencapai puncaknya pada waktu fermentasi 72 jam, yakni sebesar 12,492 % (v/v). Konsentrasi bioetanol tertinggi tersebut disebabkan oleh siklus hidup bakteri yang mulai memasuki fase stasioner dan juga bioetanol yang dihasilkan pada waktu sebelumnya akumulasi dan tidak terdegradasi menjadi asam asetat hingga waktu fermentasi 72 jam. Setelah waktu fermentasi selama 84 jam, siklus kehidupan bakteri diperkirakan sudah mencapai bagian akhir fase stasioner dan bakteri diperkirakan sudah mulai memasuki fase kematian. Hal ini disebabkan oleh berkurangnya nutrisi berupa glukosa pada medium (Ahmad, 2009). Setelah waktu fermentasi melewati 72 jam, terjadi penurunan kadar bioetanol. Adanya penurunan konsentrasi bioetanol disebabkan karena bioetanol yang dihasilkan terkonversi menjadi asam-asam organik seperti asam asetat, asam cuka dan ester (Purwoko, 2007).

Pada variasi pemekatan medium sebesar 20%, konsentrasi bioetanol cenderung meningkat hingga mencapai puncaknya pada waktu fermentasi 60 jam, yakni sebesar 14,075% (v/v). Konsentrasi bioetanol tertinggi tersebut disebabkan oleh siklus hidup bakteri yang mulai memasuki fase stasioner dan juga bioetanol yang dihasilkan pada waktu sebelumnya akumulasi dan tidak terdegradasi menjadi asam asetat hingga waktu fermentasi 60 jam. Setelah waktu fermentasi selama 72 hingga 84 jam, siklus kehidupan bakteri diperkirakan sudah mencapai bagian akhir fase stasioner dan bakteri diperkirakan sudah mulai memasuki fase kematian. Hal ini disebabkan oleh berkurangnya nutrisi berupa glukosa pada medium (Ahmad, 2009). Setelah waktu fermentasi melewati

60 jam, terjadi penurunan kadar bioetanol. Adanya penurunan konsentrasi bioetanol disebabkan karena bioetanol yang dihasilkan terkonversi menjadi asam-asam organik seperti asam asetat, asam cuka dan ester (Purwoko, 2007).

Pada variasi pemekatan medium sebesar 30%, konsentrasi bioetanol cenderung meningkat hingga mencapai puncaknya pada waktu fermentasi 60 jam, yakni sebesar 15,164% (v/v). Tingginya konsentrasi bioetanol tersebut disebabkan oleh siklus hidup bakteri yang mulai memasuki fase stasioner dan juga bioetanol yang dihasilkan pada waktu sebelumnya akumulasi dan tidak terdegradasi menjadi asam asetat hingga waktu fermentasi 60 jam. Setelah waktu fermentasi selama 72 hingga 84 jam, siklus kehidupan bakteri diperkirakan sudah mencapai bagian akhir fase stasioner dan bakteri diperkirakan sudah mulai memasuki fase kematian. Hal ini disebabkan oleh berkurangnya nutrisi berupa glukosa pada medium (Ahmad, 2009). Setelah waktu fermentasi melewati 60 jam, terjadi penurunan kadar bioetanol. Adanya penurunan konsentrasi bioetanol disebabkan karena bioetanol yang dihasilkan terkonversi menjadi asam-asam organik seperti asam asetat, asam cuka dan ester (Purwoko, 2007).

Semakin tinggi persentase pemekatan pada medium fermentasi maka konsentrasi bioetanol yang dihasilkan juga akan semakin tinggi. Hal ini disebabkan oleh semakin banyak jumlah air yang teruapkan pada proses pemekatan medium dan mengakibatkan semakin tinggi konsentrasi gula yang terdapat pada medium fermentasi. Konsentrasi gula yang tinggi ini mengakibatkan semakin tingginya aktifitas bakteri dalam mengkonsumsi gula

dan menghasilkan bioetanol (Wibowo, 2015).

Disamping itu, enzim yang dihasilkan semakin meningkat, sehingga kemampuan untuk mengubah glukosa menjadi bioetanol juga semakin meningkat. Banyaknya enzim yang dihasilkan mengakibatkan konsentrasi bioetanol yang diperoleh semakin tinggi (Bailey, 1986). Konsentrasi bioetanol terbaik dari Gambar 4.2 yaitu 15,164% (v/v) pada waktu fermentasi 60 jam pada variasi pemekatan medium 30%.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa kondisi terbaik dari fermentasi nira nipah dengan bakteri *Zymomonas mobilis* diperoleh pada pemekatan medium 30% (v/v) pada waktu fermentasi 60 jam dengan konsentrasi bioetanol sebesar 15,164% (v/v) atau 119,689 mg/ml.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, A. (2009). *Teknologi Fermentasi*. Jurusan Teknik Kimia Universitas Riau: Pekanbaru.
- Bailey, J. E., David, F.O. (1986). *Biochemical Engineering Fundamentals*. Singapura : Mc.Graw Hill Chemical Engineering Series.
- Febriningrum, P.N. (2009). Produksi Etanol Proses Sinambung dengan *Schizosaccaromyces Pombe*, *Jurnal Rekayasa Kimia dan Lingkungan*, 7(2), 64-69.
- Hadi, S. (2012). Potensi mangrove nipah (*Nypa fruticans Wurmb*) sebagai sumber energi hijau bioetanol dan biopremium yang berkelanjutan, *Pusat Penelitian Lingkungan Hidup*. Universitas Riau.
- Heyko, E. (2012). Strategi Pengembangan Energi Terbarukan: Studi pada Biodiesel, Bioetanol, Biomassa dan Biogas di Indonesia, *Skripsi*, Jurusan Manajemen. Universitas Brawijaya.
- Mustofa, A. (2009). Studi tentang aktivitas *Zymomonas mobilis* pada produksi etanol dari buah semu jambu mete (*Anacardium occidentale*) dengan variasi sumber nitrogen. *Tesis*, Program Pasca Sarjana. Universitas Sebelas Maret.
- Purwoko, Tjahjadi. (2007). *Fisiologi Mikroba*. Bumi Aksara: Jakarta
- Rachman, A. K., dan Sudarto, Y. (1991). *Nipah Sumber Pemanis Baru*, Yogyakarta: Kanisius.
- Retno, D.T., dan Nuri, W. (2011). Pembuatan Bioetanol dari Kulit Pisang, *Skripsi*, Jurusan Teknik Kimia. UPN "Veteran".
- Smith, D. (2006). *Nypa Palm: Ethanol Super-Crop*, Singapore: Biofuel Review.
- Tanaka, K., Hilary, Z. D., dan Ishizaki, A. (1999). Material as Low-Cost Substrate for Ethanol Fermentation by *Zymomonas mobilis*. *Journal Of Bioscience adn Bioengineering*, 87(5), 642-646.
- Tresnawati, H. (2009). Motivasi Wanita Perajin Gula Nipah dalam Meningkatkan Pendapatan Rumah Tangga di Desa Nusadadi, Kecamatan Sumpiuh, Kabupaten Banyumas, *Skripsi*, Fakultas Pertanian. Universitas Soedirman.
- Sudarmadji,S.,BambangHaryono.,Suhardi., 1997. *Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan Dan Pertanian*. Liberty. Yogyakarta.
- Wardhanu, A.P. (2016, December 24). Potensi Pengembangan Bioenergi

Di Kalimantan Barat: *Rekayasa
Proses Produk Pertanian.*
Kalimantan Barat.

Wibowo, F. (2015). Pengaruh Kecepatan Pengaduk dan Waktu Fermentasi Terhadap Konsentrasi Bioetanol pada Fermentasi Nira Nipah Kental Menggunakan *Saccharomyces Cerevisiae*, *Jurnal Online Mahasiswa*, 2 (1), 1-6.