Pembuatan Bioetanol dari Nira Aren Secara Fermentasi Menggunakan *Yeast Saccharomyces cerevisiae* dengan Variasi Konsentrasi Inokulum dan Waktu Fermentasi

Elia Simanjuntak[1], Chairul[2], Maria Peratenta Sembiring[2]
[1]Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Riau
Kampus Binawidya Jl. HR Subrantas Km. 12,5 Pekanbaru 28293
[2]Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Riau
Kampus Binawidya Jl. HR Subrantas Km. 12,5 Pekanbaru 28293
Telp. 085271775957; elya_oktavia@yahoo.com

ABSTRACT

Bioethanol is one of the alternative energy source that can replace fossil energy sources. Bioethanol is biochemistry fluid from fermentation process of sugar by using microorganisms. One material which has potential as raw material for bioethanol production is a palm juice which is economically valuable products of the sugar plant. Palm juice is used as raw material for ethanol because it contains sugar which is large enough around 12.04%. This research aimed to produce bioethanol with various concentration of inoculum 10%, 12.5%, 15% and 17.5% and fermentation time 24, 48, 72 and 96 hours at pH optimum 5. The process of fermentation using Saccharomyces cerevisiae yeast. The sample analysed by using alcoholmeter. From the research results, obtained the highest ethanol concentration of 8% (v/v) at 17.5% inoculum concentration variation with fermentation time 72 hours.

Keyword: Bioethanol, Fermentation, Palm Juice, Saccharomyces cerevisiae

1. Pendahuluan

Kebutuhan energi bagi manusia adalah hal yang sangat penting. Seiring dengan berkembangnya zaman, kebutuhan manusia terhadap energi semakin meningkat. Saat ini sumber energi terbesar yang masih digunakan adalah sumber energi yang berasal dari bahan bakar fosil. Bahan bakar fosil ini tidak dapat diharapkan untuk jangka waktu yang panjang karena sifat energi dari bahan bakar fosil yang tidak dapat diperbaharui. Di Indonesia, pada tahun 2010 yang lalu cadangan minyak bumi sekitar 7,99 miliar barrel dan gas bumi sekitar 159,64 TSCF (*Trillion Standard Cubic Feet*). Apabila tidak ditemukan cadangan baru, maka minyak bumi diperkirakan akan habis dalam waktu 23 tahun dan gas bumi 55 tahun. Selama kurun waktu 40 tahun ke depan (2010-2050), kebutuhan energi nasional diprediksikan meningkat rata-rata 3% per tahun [Heyko, 2012]. Agar kebutuhan energi yang meningkat tersebut dapat terpenuhi, sementara cadangan energi berbahan fosil dipastikan menurun, maka dibutuhkan sumber energi alternatif yang jumlahnya tidak terbatas.

Salah satu sumber energi alternatif yang dapat menggantikan sumber energi fosil adalah bioetanol. Bioetanol adalah cairan biokimia dari proses fermentasi gula menggunakan bantuan mikroorganisme. Menurut Effendi [2010], aren adalah salah satu tumbuhan yang memiliki potensi sebagai sumber bahan bakar nabati yaitu bioetanol. Produk yang bernilai ekonomis dari tanaman aren adalah air sadapannya yaitu nira. Nira aren segar mempunyai rasa manis, berbau harum, tidak berwarna dan memilki pH sekitar 5,5-6. Rasa manis pada nira disebabkan karena adanya sukrosa, glukosa, fruktosa serta gula lainnya. Dengan komposisi masing-masing yaitu glukosa sekitar 0,4-0,5%, fruktosa 0,5-0,6% dan sukrosa sekitar 10-13% [Pontoh, 2013]. Ketiga gula tersebut dapat difermentasi menjadi bioetanol.

Menurut Widjanarko [2008] kandungan gula yang terkandung di dalam nira aren yaitu sebesar 12,04%. Kandungan gula nira aren lebih besar jika dibandingkan

kandungan gula dari nira kelapa dan nira siwalan. Perbandingan kandungan komposisi kimia dari nira aren, nira kelapa dan nira siwalan tersaji dalam Tabel 1 Kandungan gula sekitar (12,04 %) membuat nira aren sangat potensial untuk dikembangkan sebagai bahan baku pembuatan bahan bakar alternatif yaitu bioetanol.

Tabel 1. Komposisi nira dari berbagai tanaman palma

Komponen (%)	Nira Aren	Nira Kelapa	Nira Siwalan
Kadar Air	87,66	88,40	87,66
Kadar Gula	12,04	10,27	10,96
Protein	0,36	0,41	0,28
Lemak	0,02	0,17	0,02
Kadar Abu	0,21	0,38	0,10

Sumber : [Widjanarko, 2008].

Nira inilah yang selanjutnya akan dikembangkan sebagai bahan baku pembuatan bioetanol dengan cara di fermentasi menggunakan mikroorganisme. Fermentasi adalah perubahan gula yang terkandung di dalam substrat menjadi etanol dan karbon dioksida oleh mikroba, terutama oleh *Saccharomyces cerevisiae*.

2. Bahan dan Metodologi

2.1 Bahan dan Peralatan

Bahan baku utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah nira aren yang diperoleh dari Kec. Batang Gansal, Kabupaten Indragiri Hulu. *Yeast* yang digunakan yaitu *Saccharomyces cerevisiae* dari ragi kemasan merk Saf-Instan yang diperoleh dari toko sembako. Serta bahan-bahan kimia lain seperti $(NH_2)_2CO$ (Urea), $NH_4H_2PO_4$ (NPK), *yeast extract*, aquades, H_2SO_4 dan NaOH.

Peralatan yang digunakan adalah reaktor dua liter berpengaduk, *autoclave*, *shaker*, timbangan analitik, *cuvet*, gelas kimia, tabung reaksi, gelas ukur, pH meter, corong, erlenmeyer, pipet tetes, kain kasa, kapas, alkoholmeter, sentrifugasi, spektrofotometer, dan *rotary evaporator*.

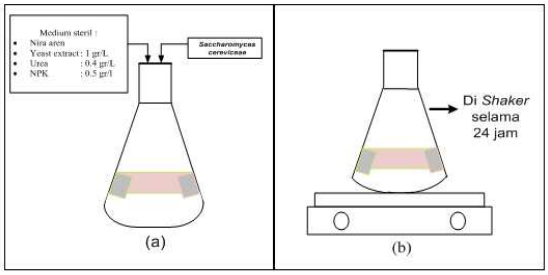
2.2 Metode Penelitian

2.2.1 Persiapan Bahan Baku

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah nira aren. Untuk menjaga kemurnian nira aren ini maka pada saat penyadapan diusahakan tidak ada sampah, kotoran atau bahan lainnya yang masuk. Selain itu agar nira tidak terkonversi oleh mikroorganisme-mikroorganisme yang menyebabkan asam pada nira aren maka dijaga pada kondisi tetap dingin. Setelah itu nira aren dianalisa kadar gula awalnya dengan metode Nelson-Somogyi menggunakan alat Spektrofotometer Sinar Tampak.

2.2.2 Persiapan Inokulum *Yeast*

Pembuatan inokulum *yeast* bertujuan untuk mengadaptasikan sel *yeast* terhadap media fermentasi. Dengan adanya adaptasi diharapkan fase lambat sebagai tahap awal fermentasi dilewati. Tahapan persiapan inokulum *yeast* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. (a) Pembuatan inokulum *yeast* dan (b) inokulum di *shaker*

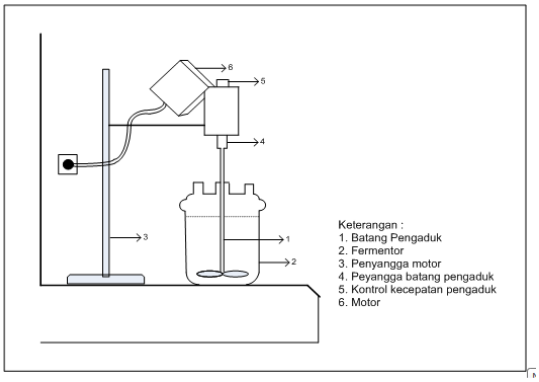
Saccharomyces cerevisiae dari ragi kemasan diinokulasi dalam 200 ml medium (0,4 gr/L $(NH_2)_2CO$; 1 gr/L *yeast extract*; 0,5 gr/L $NH_4H_2PO_4$ dan nira aren) dalam erlenmeyer 500 ml. Sebelum diinokulasi, medium disterilisasi uap dalam *autoclave* pada suhu 121^oC selama 15 menit, kemudian didinginkan sampai suhu kamar. Setelah dingin 20 gr/L *yeast* dimasukan ke dalam medium lalu diaduk dengan menggunakan *shaker* selama 24 jam. Fungsi *shaker* adalah mempermudah difusi oksigen ke dalam medium dan campuran menjadi homogen.

2.2.3 Persiapan Medium Fermentasi

Medium fermentasi yang digunakan berupa nira aren. Selanjutnya ditambahkan nutrisi yang terdiri dari 1 g/L gram *yeast extract*; 0,4 g/L $(NH_2)_2CO$ (Urea) dan 0,5 g/L $NH_4H_2PO_4$ (NPK) kedalam medium fermentasi. Kemudian di cek pH 5. Selanjutnya medium fermentasi disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121^oC selama 15 menit, lalu dinginkan sampai suhu kamar.

2.2.4 Proses Fermentasi

Proses fermentasi dimulai dengan menambahkan sejumlah inokulum *yeast* ke dalam medium fermentasi (nira aren) dengan perbandingan komposisi sesuai dengan variabel penelitian. Fermentor yang digunakan adalah reaktor berukuran dua liter. Kemudian fermentasi dilakukan pada temperatur kamar dengan kecepatan pengadukan 200 rpm. Waktu fermentasi selama 96 jam dan divariasikan waktu pengambilan sampel pada 24, 48, 72 dan 96 jam untuk mengamati konsentrasi gula substrat, pengaruh variasi konsentrasi inokulum dan waktu fermentasi terhadap bioetanol yang dihasilkan.



Gambar 2. Proses Fermentasi Nira Aren

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Analisa Inokulum *Yeast*

Untuk memastikan inokulum yang digunakan pada proses fermentasi terdapat mikroorganisme (*yeast Saccharomyces cerevisiae*) perlu dilakukan analisa inokulum. Analisa ini dilakukan untuk menentukan jumlah *Saccharomyces cerevisiae* yang terdapat didalam *yeast* inokulum dengan melihat nilai OD (*Optical Density*). Penentuan OD dilakukan dengan cara analisa spektrofotometri. Prinsip kerja dari spektrofotometri adalah analisa turbidimetri, yaitu menganalisa konsentrasi suatu zat berdasarkan kekeruhannya yang dibandingkan dengan sampel blanko. Sampel blanko merupakan sampel pembanding yang tidak mengandung konsentrasi zat yang akan dianalisa. Analisa dilakukan dengan cara mengambil data absorbansi dengan panjang gelombang yang digunakan (λ) 600 nm. Panjang gelombang ini digunakan untuk menganalisa konsentrasi sel *yeast*. Setelah dilakukan pengujian, diperoleh nilai OD untuk inokulum *yeast Saccharomyces cerevisiae* pada Tabel 2 dibawah ini:

Tabel 2. Nilai *Optical Density* (OD) *yeast* inokulum

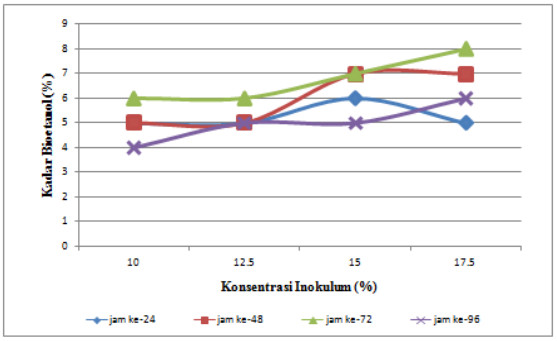
Konsentrasi Inokulum (%)	Nilai OD
10	0,565
12,5	0,614
15	0,679
17,5	0,739

Dari Tabel 2 diatas, dapat dilihat bahwa nilai OD yang paling tinggi yaitu pada konsentrasi inokulum 17,5% sebesar 0,739 meyakini bahwa jumlah sel atau pertumbuhan sel terjadi paling banyak pada variasi ini. Hal ini juga akan berpengaruh pada hasil bioetanol yang akan diperoleh pada proses fermentasi nanti. Nilai ini memenuhi syarat nilai OD untuk proses fermentasi yaitu antara 0,1-0,8 (Rouhollah, 2007).

3.2 Pengaruh Konsentrasi Inokulum Terhadap Perolehan Bioetanol

Penelitian ini menggunakan *yeast Saccharomyces cerevisiae* untuk menghasilkan bioetanol dengan media utama fermentasi yaitu nira aren. Dimana pada penelitian ini konsentrasi inokulum divariasikan yaitu 10%, 12,5%, 15% dan 17,5% terhadap waktu fermentasi 24 jam, 48 jam, 72 jam dan 96 jam, sedangkan pH awal fermentasi adalah pada pH 5 dan suhu fermentasi pada suhu kamar. Kondisi optimum proses fermentasi nira aren ini

ditentukan dengan cara mengukur konsentrasi bioetanol hasil fermentasi yang telah di *rotary evaporator* terlebih dahulu menggunakan metode guymon untuk memisahkan impuritis-impuritisnya dari hasil fermentasi. Konsentrasi bioetanol diukur dengan menggunakan alkoholmeter. Konsentrasi bioetanol yang diperoleh pada masing-masing variabel penelitian dapat dilihat pada Gambar 3 berikut ini:



Gambar 3. Pengaruh konsentrasi inokulum terhadap kadar bioetanol

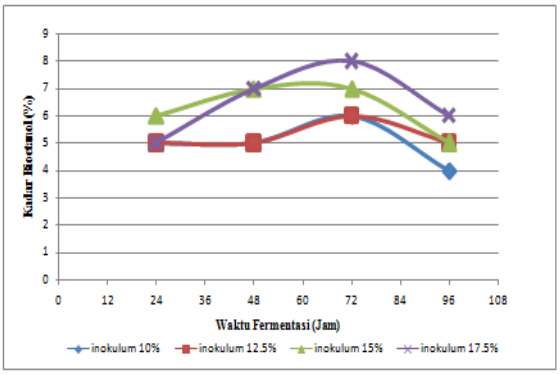
Pada Gambar 3 pengaruh konsentrasi inokulum terhadap kadar bioetanol yang diperoleh dapat dilihat, konsentrasi inokulum merupakan salah satu variabel yang berpengaruh dalam menghasilkan bioetanol, semakin besar konsentrasi inokulum maka semakin besar pula kadar bioetanol yang diperoleh, hal ini terjadi dengan semakin banyaknya konsentrasi inokulum yang ditambahkan pada saat fermentasi yang berfungsi sebagai biokatalisator dalam mengkonversi glukosa menjadi produk, maka bioetanol yang dihasilkan juga semakin meningkat [Suyandra, 2007]. Hal ini dikarenakan konsentrasi inokulum dipengaruhi fase lag (fase adaptasi) yaitu semakin besar konsentrasi inokulum maka semakin pendek fase lag sehingga cepat mencapai fase eksponensial yaitu mikroorganisme tumbuh dengan sempurna dan mampu beradaptasi dengan baik, sehingga glukosa pada nira aren dapat terkonversi dengan maksimal dan mulai terbentuk produk. Fungsi dari pembuatan inokulum adalah mengurangi fase lag, sehingga waktu fermentasi semakin cepat dan kadar alkohol yang dihasilkan semakin besar pula [Sari, 2009].

Pada Gambar 3 terlihat bahwa kondisi terbaik yaitu pada penambahan konsentrasi inokulum 17,5% dengan menghasilkan bioetanol tertinggi yaitu 8% (v/v) pada waktu fermentasi 72 jam atau pada fermentasi hari ketiga. Hal ini sesuai pada penelitian Eka dan Halim [2010] yang mengatakan bahwa dengan semakin banyaknya konsentrasi inokulum maka bioetanol yang terbentuk akan semakin banyak pula. Pada Gambar 3 dapat dilihat, pada awal fermentasi yaitu pada waktu fermentasi 24 jam dengan penambahan konsentrasi inokulum 17,5% terlihat bahwa kadar bioetanol yang dihasilkan lebih sedikit dibandingkan pada penambahan konsentrasi inokulum 15%, hal ini terjadi karena pada tahap awal fermentasi dimana kondisi media dalam keadaan aerobik, mikroorganisme belum menghasilkan bioetanol yang banyak karena mikroorganisme hanya melakukan respirasi biasa yaitu mikroorganisme menggunakan substrat untuk pertumbuhannya, baik dalam reproduksi membentuk sel-sel baru maupun memperbesar ukuran sel, sehingga pada tahap awal fermentasi glukosa yang ada pada subtsrat terkonversi menjadi produk (bioetanol) oleh mikroorganisme masih sedikit.

3.3 Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Perolehan Bioetanol

Waktu fermentasi adalah waktu yang dibutuhkan oleh *yeast Saccharomyces cerevisiae* mengubah atau memfermentasi glukosa di dalam substrat menjadi bioetanol [Mandari, 2014]. Pada proses fermentasi, waktu fermentasi mempengaruhi kadar bioetanol yang dihasilkan. Semakin lama waktu fermentasi maka semakin tinggi kadar bioetanol yang dihasilkan hingga tercapai kadar bioetanol optimum. Pada penelitian ini, variasi waktu yang dilakukan adalah 24 jam, 48 jam, 72 jam dan 96 jam pada berbagai variasi konsentrasi inokulum. Tujuannya yaitu untuk mengetahui dan memperoleh data pengaruh waktu fermentasi

terhadap kadar bioetanol yang dihasilkan. Gambar 4 berikut menunjukkan pengaruh waktu fermentasi terhadap kadar bioetanol yang dihasilkan pada berbagai konsentrasi inokulum.



Gambar 4. Pengaruh waktu fermentasi terhadap kadar bioetanol

Dari Gambar 4 dapat dilihat, bahwa waktu fermentasi optimum proses fermentasi nira aren yang dibantu oleh *Saccharomyces cerevisiae* adalah pada waktu fermentasi 72 jam, dengan menghasilkan bioetanol tertinggi 8% (v/v), dimana kadar bioetanol terus meningkat hingga hari ketiga dan mengalami penurunan pada hari berikutnya.

Menurut Sari, dkk [2008], mengatakan bahwa lama fermentasi yang paling optimal untuk menghasilkan bioetanol menggunakan *yeast Saccharomyces cerevisiae* adalah tiga hari. Jika waktu fermentasi dilakukan lebih dari tiga hari, kadar bioetanol yang dihasilkan semakin berkurang. Awalnya semakin lama waktu fermentasi, kadar bioetanol yang dihasilkan juga semakin tinggi, akan tetapi setelah kondisi optimum tercapai, kadar bioetanol yang didapatkan cenderung mengalami penurunan, hal ini disebabkan karena ketersediaan glukosa di dalam substrat sudah mulai sedikit. Selain itu juga terjadinya reaksi lanjut dari bioetanol sehingga bioetanol yang diperoleh menurun seiring bertambahnya waktu fermentasi. Reaksi lanjut ini disebabkan karena teroksidasinya bioetanol menjadi asam asetat. Dimana laju degradasi glukosa menjadi bioetanol lebih kecil dibandingkan laju oksidasi bioetanol menjadi asam asetat, sehingga kadar bioetanol yang dihasilkan semakin menurun. Oleh karena itu dibutuhkan waktu fermentasi yang tepat untuk proses fermentasi bioetanol agar didapatkan konsentrasi bioetanol dengan jumlah yang tinggi [Azizah dkk, 2012].

4. Kesimpulan

Adapun kesimpulan yang di dapat dari penelitian ini adalah:

1. Konsentrasi bioetanol tertinggi yaitu 8%(v/v) pada saat konsentrasi inokulum 17,5%.
2. Waktu fermentasi terbaik untuk menghasilkan kadar bioetanol tertinggi adalah pada waktu fermentasi 72 jam.

5. Saran

Untuk memperoleh ketelitian dari analisa kadar bioetanol yang diperoleh dari proses fermentasi nira aren, sebaiknya analisa kadar bioetanol dilakukan dengan menggunakan alat *GC* (*Gas Chromatography*).

6. Ucapan Terimakasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Bapak dan Ibu pembimbing yang membantu peneliti 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

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 Nanas. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan* (1)2: 82-86.

Effendi, D. S. 2010. Prospek Pengembangan Tanaman Aren (*Arenga Pinnata MERR*) Mendukung Kebutuhan Bioetanol di Indonesia. *Jurnal Perspektif* (9)1: 36-46.

Eka, A. dan A. Halim. 2010. Pembuatan Bioetanol dari Nira Siwalan Secara Fermentasi Fase Cair Menggunakan Fermipan. *Skripsi*. Universitas Diponegoro. Semarang.

Heyko, E. 2012. Strategi Pengembangan Energi Terbarukan: Studi Pada Biodiesel, Bioethanol, Biomassa, dan Biogas di Indonesia. *Skripsi*. Universitas Brawijaya. Malang.

Mandari, S. 2014. Pembuatan Bioetanol dari Kulit Nanas (*Ananas comosus l.*) Menggunakan Enzim Selulase dan *Yeast Saccharomyces cerevisiae* dengan Proses *Simultaneous Sacharificatian and Fermentation* (SSF) dengan Variasi Konsentrasi Enzim dan Waktu Fermentasi. *Skripsi*. Universitas Riau. Pekanbaru.

Pontoh, J. 2013. Metode Analisa dan Komponen Kimia dalam Nira Aren dan Gula Aren. *Prosiding Seminar Nasional Aren*. Univeritas Sam Ratulangi. Manado.

Rouhollah, H., N. Iraj., E. Giti, dan A. Sorah. 2007. Mixed sugar fermentation by *Pichia stipiti*, *Saccharomyces cerevisiaea*, and an isolated xylose-fermenting *Kluyveromyce marxianus* and their cocultures. *African Journal of Biotechnology* (6)9: 1110-1114.

Sari, I. M., Noverita, dan Yulneriwarni. 2008. Pemanfaatan Jerami Padi dan Alang-Alang dalam Fermentasi Etanol Menggunakan Kapang Trichoderma Viride dan Khamir Saccharomyces cerevisiae. *Vis Vitalis* (5)2: 55-62.

Sari, R. P. P. 2009. Pembuatan Etanol dari Nira Sorgum dengan Proses Fermentasi. *Skripsi*. Universitas Diponegoro. Semarang.

Suyandra, I. D. 2007. Pemanfaatan Hidrolisat Pati Sagu (*Metroxylon* sp.) Sebagai Sumber Karbon Pada Fermentasi Etanol Oleh *Saccharomyces cerevisiae*. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Widjanarko, S. B. 2008. Siwalan dan Kandungan Nira Lainnya. *http://simonbwidjanarko.wordpress.co*. 10 Oktober 2014 (11:38).