

PRODUKSI BIOETANOL DARI PATI SORGUM DENGAN VARIASI PENAMBAHAN TWEEN 80 DAN WAKTU FERMENTASI

Santoso Nugroho¹, Elvi Yenie², Sri Rezeki Muria²

¹ Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Riau
Kampus Binawidya Jl. HR Subrantas Km12,5 Pekanbaru 28293

² Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Riau
Kampus Binawidya Jl. HR Subrantas Km12,5 Pekanbaru 28293
santosfin27@gmail.com

ABSTRACT

Energy consumption is increasing steadily with the population growth and industrial development. Therefore, a substitute should be found. Bioethanol has been pointed out as a solution for variety complex problems related to energy and environmental issues. Sorghum [Sorghum bicolor (L) Moench] is considered to be a viable and renewable feedstock for bioethanol production because it high starch contains. The use of tween 80 as a growth supplement can help alter the substrate structure and make it more accessible to enzim, thus can improve bioethanol yields. Simultaneous saccharification and fermentation was used to produce bioethanol from sorghum starch using commercial alpha amylase and glucoamylase. The fermentation were done in a 2 L bioreactor in batch mode ($T = 20-30^{\circ}\text{C}$; $\text{pH} = 4,5$). The variabel studied were fermentation time (24, 48, 72 and 96 h) and tween 80 (7,5 and 10 ml/l). Bioethanol concentration were analyzed using Gas Ghromatography. The optimum amount of tween 80 to be added was 10 ml/l, which result the highest bioethanol yield 8,74 g/l in 96 h of fermentation.

Keywords : bioethanol, tween 80, sorghum starch, simultaneous saccharification and fermentation.

1. PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang memiliki ketergantungan akan bahan bakar fosil, terutama minyak bumi. Kebutuhan bahan bakar minyak (BBM) di Indonesia meningkat dari 61 juta kiloliter pada tahun 2010 menjadi 70 juta kiloliter pada tahun 2014 [Kementrian Energi dan Sumber Daya Mineral, 2015]. Hal ini diperparah dengan kurangnya pasokan bahan bakar minyak indonesia, sehingga Indonesia menjadi importir minyak sejak tahun 2004. Meningkatnya kebutuhan bahan bakar ini juga akan menimbulkan dampak yang

kurang baik untuk lingkungan, sehingga perlu dikembangkan sumber energi alternatif sebagai pengganti bahan bakar minyak.

Bioetanol merupakan salah satu energi alternatif yang dapat diperbarui. Bioetanol dapat diproduksi dengan cara fermentasi dari bahan yang mengandung glukosa atau monosakarida. Salah satu bahan baku bioetanol yang bisa digunakan adalah sorgum. Tanaman sorgum memiliki produksi biomasa yang jauh lebih tinggi dibandingkan tebu. Selain itu sorgum dapat dipanen dalam waktu singkat, yakni

4 bulan dibandingkan tebu 7 bulan [Soeranto, 2010].

Kadar pati sorgum berkisar antara 56-73 %. Pati sorgum terdiri atas amilosa (20-30%) dan amilopektin (70-80 %). Sebagai bahan industri, kandungan pati biji sorgum dapat dihidrolisis menjadi gula sederhana. Gula sederhana yang diperoleh dari biji sorgum selanjutnya dapat difermentasi untuk menghasilkan bioetanol.

Pati sorgum dapat dihidrolisis menghasilkan glukosa dengan bantuan katalis. Katalis yang digunakan pada proses hidrolisis dapat berupa katalis asam maupun enzim. Kelebihan penggunaan enzim sebagai katalis yaitu enzim bekerja lebih spesifik serta dapat mengurangi dampak negatif terhadap lingkungan [Richana, 2008]. Enzim yang biasa digunakan untuk hidrolisis pati adalah enzim amilase. Pada penelitian ini digunakan enzim α -amilase dan glukoamilase. Enzim α -amilase dapat memecah pati menjadi glukosa dan dextrin, sedangkan enzim glukoamilase dapat memecah dextrin menjadi glukosa. Glukosa yang dihasilkan selanjutnya dapat difermentasi dengan bantuan *Saccharomyces cerevisiae*.

Sakarifikasi dan fermentasi serentak merupakan proses hidrolisis dan fermentasi yang terjadi dalam satu reaktor. Kelebihan proses Sakarifikasi dan fermentasi serentak ini adalah dapat menghemat biaya produksi karena hanya menggunakan satu reaktor, selain itu waktu proses lebih cepat [Sun dan Cheng, 2002].

Penambahan surfaktan nonionik seperti tween 80 pada proses hidrolisis diketahui dapat meningkatkan konsentrasi

glukosa hasil hidrolisis karena tween 80 dapat meningkatkan interaksi antara enzim dengan substrat [Cao, 2006]. Tween 80 dapat juga digunakan sebagai nutrisi tambahan pada medium fermentasi karena tween 80 mengandung asam lemak tak jenuh yang dapat digunakan sebagai sumber karbon bagi *yeast* [Snoek, 2007]. Feng et al [2006] juga menambahkan bahwa penambahan tween 80 pada medium fermentasi dapat menurunkan tegangan permukaan disekitar sel, sehingga akan mengurangi stress pada sel akibat terjadinya proses osmosis. Ballesteros [1998] meneliti proses sakarifikasi dan fermentasi serentak dengan menambahkan tween 80 kedalam medium fermentasi dapat menghasilkan bioetanol lebih tinggi dibandingkan tanpa penambahan tween 80.

2. BAHAN DAN METODE

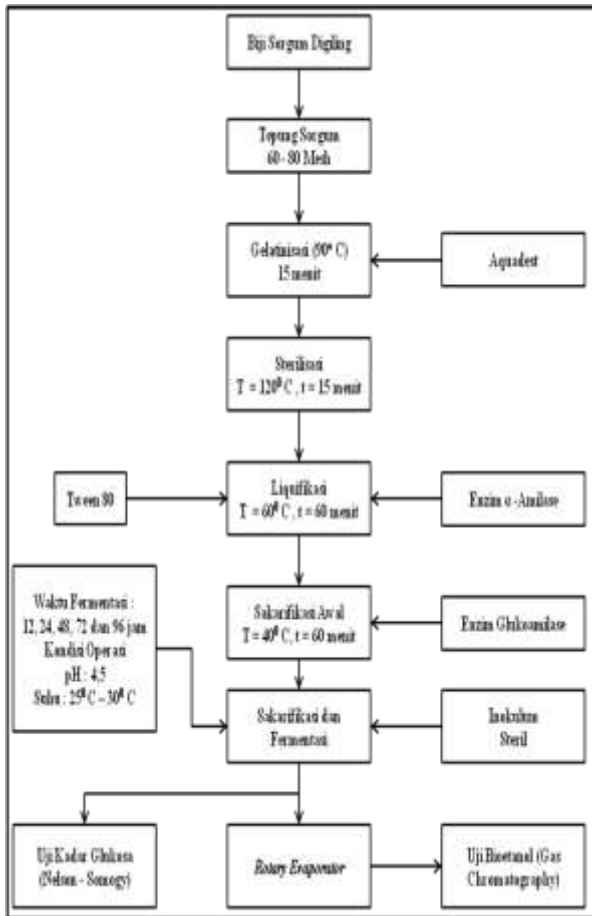
Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pati sorgum, enzim α -amilase dan glukoamilase, *Saccharomyces cerevisiae*, tween 80 yang divariasikan (7,5 ml/l dan 10 ml/l), *yeast extract*, urea, NPK, reagen Nelson-Somogyi, aqudest.

Metode

Tahap awal penelitian adalah persiapan bahan baku, sterilisasi peralatan serta pembuatan kurva standar glukosa. Selanjutnya adalah pembuatan inokulum *Saccharomyces cerevisiae* sejumlah 10% dari medium fermentasi yang diinokulasi selama 24 jam menggunakan *shaker*.

Diagram alir proses pada penelitian ini secara keseluruhan dapat dilihat pada Gambar 1 dibawah ini.



Gambar 1 Diagram Alir Produksi Bioetanol dari Pati Sorgum

Hidrolisis

Proses hidrolisis dibagi menjadi dua tahapan yang pertama adalah liquifikasi dengan penambahan tween 80 yang divariasikan dan enzim α -amilase, kemudian diliquifikasi selama 60 menit pada suhu 60°C dan pH dijaga 6. Proses selanjutnya adalah sakarifikasi awal dengan penambahan enzim glukoamilase selama 60 menit dan pH dijaga 4,6 dengan temperatur 40°C .

Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak

Medium yang telah disakarifikasi awal selanjutnya difermentasi dengan menambahkan inokulum steril pada suhu kamar dan pH awal 4,5. Waktu fermentasi

divariasikan 24 jam, 48 jam, 72 jam dan 96 jam.

Analisa Hasil

Setiap waktu fermentasi diambil sampel untuk kemudian diuji kadar gula reduksi dengan menggunakan spektrofotometer uv-vis dan kadar bioetanol dengan gas kromatografi.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisa Konsentrasi Glukosa Awal Substrat

Substrat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pati sorgum. Pati sorgum dapat dihidrolisis menghasilkan glukosa yang dapat dikonversi menjadi bioetanol. Analisa konsentrasi glukosa awal pada penelitian ini dilakukan menggunakan metode Nelson-Somogyi dengan spektrofotometer sinar tampak untuk melihat pengaruh penambahan tween 80 pada proses hidrolisis pati sorgum.. Hasil analisa konsentrasi glukosa awal dapat dilihat pada Tabel 1 berikut.

Tabel 1 Konsentrasi Glukosa Awal Substrat

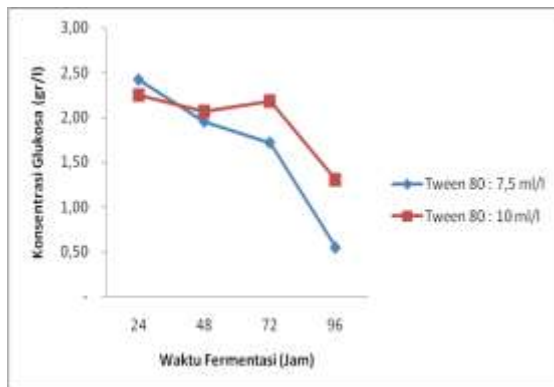
Tween 80 (ml/l)	Konsentrasi Glukosa (gr/l)
7,5	38,46
10	39,26

Konsentrasi glukosa rata-rata hidrolisis pati sorgum pada penelitian ini sebesar 38,86 gr/l. Pada tabel diatas dapat dilihat bahwa konsentrasi glukosa yang dihasilkan semakin meningkat seiring dengan banyaknya tween 80 yang ditambahkan. Menurut Cao [2006] tween 80 merupakan surfaktan nonionik yang dapat membantu meningkatkan interaksi antara enzim dan substrat, sehingga

substrat lebih mudah untuk dipecah oleh enzim menjadi glukosa, hal inilah yang menyebabkan penambahan *tween* 80 pada proses hidrolisis pati dapat meningkatkan konversi glukosa yang dihasilkan.

Pengaruh Waktu Fermentasi dan Tween 80 terhadap Glukosa Sisa.

Proses fermentasi dilakukan pada kondisi anaerob dengan variasi penambahan *tween* 80 dan waktu fermentasi. Grafik pengaruh waktu fermentasi dan *tween* 80 terhadap konsentrasi glukosa sisa dapat dilihat pada Gambar 2 dibawah ini.



Gambar 2 Pengaruh Tween 80 terhadap Glukosa Sisa.

Dari Gambar 2 dapat dilihat bahwa semakin lama waktu fermentasi, konsentrasi glukosa yang ada semakin berkurang. Hal ini menunjukkan adanya penggunaan glukosa oleh *yeast*. Waktu fermentasi berpengaruh terhadap aktivitas *yeast*, karena semakin lama waktu fermentasi maka *yeast* semakin aktif berkembang biak sehingga mempunyai kemampuan untuk memecah substrat lebih banyak. Penurunan konsentrasi glukosa terjadi karena *yeast* membutuhkan substrat untuk pertumbuhan sel dan metabolisme sel sehingga dihasilkan bioetanol sebagai metabolit primer [Rachman, 1989].

Pada Gambar 2 dapat juga dilihat, penambahan *tween* 80 sebesar 10 ml/l tersisa konsentrasi glukosa yang paling tinggi, hal ini disebabkan karena *tween* 80 merupakan nutrisi yang mengandung asam lemak tak jenuh yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber karbon oleh *yeast*, sehingga *yeast* tidak banyak mengkonsumsi glukosa untuk pertumbuhan. *Tween* 80 dapat juga mencegah lisisnya sel, sehingga sel tidak mengkonsumsi glukosa yang terlalu tinggi untuk perbaikan sel [Tran et al, 2010].

Analisa Varian Perolehan Bioetanol

Analisa varian pada penelitian ini digunakan untuk melihat seberapa besar pengaruh variabel bebas (*tween* 80 dan waktu fermentasi) terhadap perolehan bioetanol yang dihasilkan. Hasil analisa varian dapat dilihat pada Tabel 2 dibawah ini.

Hasil pengujian P_{Value} dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 2, dimana nilai P_{Value} pada variabel penambahan *tween* 80 dan variabel waktu fermentasi masing-masing bernilai 0,021 dan 0,001. Dilihat dari nilai P_{Value} tersebut maka penambahan *tween* 80 dan waktu fermentasi memberikan pengaruh nyata terhadap respon (konsentrasi bioetanol). Sehingga dapat disimpulkan bahwa variabel penambahan *tween* 80 dan waktu fermentasi sama-sama memberikan pengaruh yang signifikan terhadap perolehan bioetanol.

Tabel 2. Analisa Varian Pengaruh Variabel Terhadap Perolehan Bioetanol

Sumber Varian	Jumlah Kuadrat	Derajat Kebebasan	Rata-rata Kuadrat	F _{Hitung}	P _{Value}	F _{Tabel} (F _{0,05;2;17})
Regresi	1,38	2	0,69	11,45	0,001	3,59
Tween 80	0,38	1	0,38	6,41	0,021	
Waktu Fermentasi	0,99	1	0,99	16,49	0,001	
Error	1,02	17	0,06			
Total	2,41	19				

R_{sq} : 57,4 %

Korelasi :

Tween 80 : 0,54

Waktu Fermentasi : 0,643

Keterangan F_{0,05;2;17}

0,05 : nilai probabilitas error ($\alpha = 5\%$)

2 : derajat kebebasan model/linear

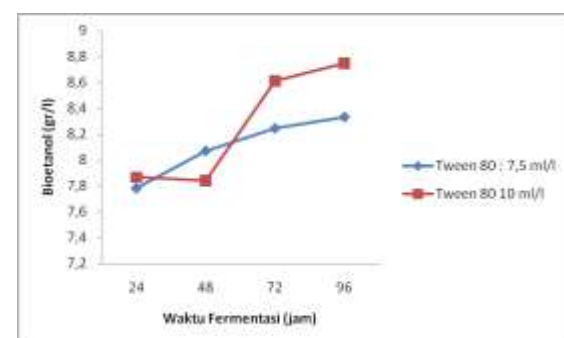
17 : derajat kebebasan error

Nilai R_{sq} didapatkan sebesar 57,4 % artinya pengaruh kedua variabel (tween 80 dan waktu fermentasi) dalam penelitian ini mempengaruhi perolehan bioetanol sebesar 57,4 %. Sedangkan 22,6 % kemungkinan disebabkan oleh faktor-faktor lain seperti yang dikatakan oleh Hidayat et al [2006] bahwa fermentasi tidak hanya dipengaruhi oleh faktor nutrisi dan waktu fermentasi melainkan juga jenis mikroorganisme yang digunakan, pH, serta temperatur fermentasi.

Pengaruh Waktu Fermentasi dan Tween 80 terhadap Konsentrasi Bioetanol.

Penelitian ini dilakukan untuk menentukan pengaruh penambahan *tween* 80 dan waktu fermentasi terhadap konsentrasi bioetanol yang dihasilkan. Proses hidrolisis dibantu dengan menggunakan enzim α -amilase dan glukoamilase. Fermentasi dilakukan dengan menggunakan *yeast Saccharomyces cerevisiae*. Penentuan konsentrasi bioetanol yang dihasilkan dari

proses fermentasi dianalisa dengan gas kromatografi. Hasil fermentasi terlebih dahulu di rotary evaporator untuk memisahkan impuritis dari hasil fermentasi berupa sisa-sisa nutrisi, biomassa dan lain-lain. Konsentrasi bioetanol yang dihasilkan dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3 Pengaruh Tween 80 terhadap Konsentrasi Bioetanol

Berdasarkan Gambar 3 dapat dilihat bahwa semakin lama waktu fermentasi, konsentrasi bioetanol yang dihasilkan cenderung meningkat. Hal ini disebabkan karena seiring dengan meningkatnya waktu, aktivitas *yeast* semakin meningkat dalam

memfermentasi glukosa menjadi bioetanol. Menurut Jumari et al [2009] *yeast* akan membelah sekali setiap 20 menit, sehingga semakin lama waktu fermentasi *yeast* dapat menghasilkan lebih banyak jumlah sel sampai ketersediaan nutrisi habis. Penambahan *tween* 80 sebanyak 10 ml/l pada grafik menghasilkan bioetanol dengan kadar tertinggi, hal ini menunjukkan bahwa semakin meningkatnya konsentrasi *tween* 80 yang ditambahkan konsentrasi bioetanol yang dihasilkan cenderung meningkat, sehingga dapat disimpulkan bahwa pada penelitian ini fase stasioner belum tercapai yang dibuktikan dengan tidak terjadinya penurunan kadar bioetanol pada akhir waktu fermentasi.

Tween 80 merupakan surfaktan nonionik yang dapat membantu menurunkan tegangan permukaan cairan disekitar sel [Feng et al, 2006]. Turunnya tegangan permukaan akan mengurangi stress pada sel akibat terjadinya proses osmosis, sehingga penambahan *tween* 80 kedalam medium fermentasi dapat meningkatkan kemampuan membran sel untuk melakukan biosintesis dinding sel yang rusak akibat osmosis [Tran et al, 2010]. Menurut Li et al [2005] *Tween* 80 dapat digunakan sebagai sumber karbon bagi *yeast*, sehingga *yeast* tidak mengkonsumsi substrat (glukosa) yang terlalu tinggi untuk pertumbuhan, melainkan memanfaatkan substrat untuk pembentukan metabolit primer yakni bioetanol, oleh karena itu penambahan *tween* 80 sebesar 10 ml/l menghasilkan konsentrasi bioetanol yang paling tinggi.

4. KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi *tween* 80 yang ditambahkan dapat meningkatkan konsentrasi glukosa awal dan bioetanol yang dihasilkan. Kondisi terbaik dari sakarifikasi dan fermentasi serentak pati sorgum menjadi bioetanol adalah pada konsentrasi *tween* 80 sebesar 10 ml/l dan waktu fermentasi 96 jam dengan konsentrasi bioetanol sebesar 8,75 gr/l.

DAFTAR PUSTAKA

- Ballesteros. I., Olivia J.M., Carrasco. J., Cabanas A., Navarro AA., Ballesteros.M. 1998. *Effect of Surfactant and Zeolites on Simultaneous Saccharification and Fermentation of Steam-Exploded Poplar Biomass to Ethanol*. Appl Biochem Biotechnol 70–72 : 369–81.
- Cao, Shuo. 2012. *Effect of Surfactants on the Pretreatment of Sugarcane Bagasse with Dilute Ammonia*. Tesis. Louisiana State University.
- Feng, J., Y. Zeng, C. Ma, X. Cai, Q. Zhang, M. Tong, B. Yu, dan P. Xu. 2006. *The surfactant tween 80 enhances biodesulfurization*. Applied and Environmental Microbiology 72 (11) : 7390-7393.
- Hidayat, Nur dan S. Suhartini,. 2006. *Mikrobiologi Industri*. Penerbit ANDI. Yogyakarta.
- Kementrian Energi dan Sumber Daya Mineral. 2015. *Statistik Minyak Bumi*. <http://www.esdm.go.id>. [Diakses 2 juni 2015].
- Li, Chen You., Chen, Shu Jen., Cheng, Chu Yuan., Chen, Teh Liang. 2005. *Production of Acinetobacter*

- Radioresisens Lipase with Repeated Fed-Batch Culture.* Biochemical Engineering 25 : 195-199.
- Richana, N. 2008. *Produksi dan Prospek Enzim dalam Pengembangan Bioindustri di Indonesia.* Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan. Bogor.
- Snoek, Ishtar.I.S., dan Steensma H.Yde. 2007. *Factor Involved in Anaerobic Growth of Saccharomyces cerevisiae.* Wiley InterScience 24 : 1-10.
- Soeranto, H. 2010. *Riset dan Pengembangan Sorgum dan Gandum untuk Ketahanan Pangan.* Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi. Badan Tenaga Nuklir Nasional (Batan).
- Sun, Y., Cheng, J. 2002. *Hydrolysis of lignocellulosic materials for etanol production: review.* Biores. Technol 83 (1) : 1-11.
- Tran, Q.H., Nguyen, T.T., Le V.V.M dan Hoang, K.A. 2010. *Effect of Tween 80 and Ergosterol Supplementation on Fermentation Performance of the Immobilized Yeast in High Gravity Brewing.* International Food Research Journal 17 : 309-318.