

Pengaruh Dosis *Saccharomyces Cerevisiae* dan Waktu Fermentasi terhadap Produksi Etanol Bunga Jantan Kelapa Sawit *Pasca Anthesis* dengan Teknik Immobilisasi

Ratih Rahhutami

Program Studi Budidaya Perkebunan Kelapa Sawit
Politeknik Kelapa Sawit Citra Widya Edukasi – Bekasi
Email : rahhutamiratih@gmail.com

Abstrak

Bahan berlignoselulosa seperti bunga jantan kelapa sawit dapat dijadikan alternatif sumber energy terbarukan yang ramah lingkungan. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui potensi bunga jantan kelapa sawit *pasca anthesis* sebagai alternatif bahan baku bioetanol dengan menggunakan teknik immobilisasi, mengetahui dosis *Saccharomyces cerevisiae* dan waktu fermentasi terbaik terhadap etanol yang dihasilkan serta interaksi yang terjadi antara keduanya. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Politeknik Kelapa Sawit Citra Widya Edukasi dan Laboratorium Biokimia Institut Pertanian Bogor mulai April sampai November 2019. Penelitian ini disusun menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dua faktor. Faktor pertama adalah dosis *Saccharomyces cerevisiae* sebanyak 25 ml dan 50 ml, sedangkan faktor kedua adalah lamanya waktu fermentasi: 2, 3, 4, 5, dan 6 hari. Setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali, sehingga terdapat 30 satuan percobaan. Data yang diperoleh dianalisis ragam pada taraf 5%, apabila terdapat pengaruh nyata dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Hasil penelitian menunjukkan bahwa bunga jantan kelapa sawit *pasca anthesis* berpotensi untuk dijadikan bioethanol dengan teknik immobilisasi. Waktu fermentasi menunjukkan pengaruh nyata pada kadar etanol bunga jantan kelapa sawit. Namun dosis *Saccharomyces cerevisiae* tidak menunjukkan pengaruh nyata. Waktu fermentasi terbaik ditunjukkan pada waktu 6 hari (17,39 %) serta tidak ada interaksi antara dosis *Saccharomyces cerevisiae* dan lamanya waktu fermentasi terhadap kadar etanol yang dihasilkan.

Kata Kunci:

Bioetanol, Fermentasi, Limbah bunga kelapa sawit, Ragi.

Abstract

Lignocellulosic materials such as oil palm male flowers can be used as an alternative renewable energy source that is environmentally friendly. The purpose of this study was to determine the potential of oil palm male flowers post anthesis as an alternative raw material for bioethanol using immobilization techniques, determine the best of Saccharomyces cerevisiae dose and fermentation time for ethanol produced and the interactions that occur between the two. This research was conducted at Laboratory of Chemistry Politeknik Kelapa Sawit Citra Widya Edukasi and Laboratory of Biochemistry Institut Pertanian Bogor in April – November 2019. This study used a two factors completely randomized design method. First factor were the dosage of Saccharomyces cerevisiae as much as 25 ml and 50 ml, second factor were the time of fermentation: 2, 3, 4, 5, and 6 days. Each treatments were three replications. The total unit of experiments were 30 unit. Data were analyzed with analysis of variance with a 5 %, if there was a significant treatment effect, the further analysis using LSD (Least Significant Differences). The results showed that oil palm male flowers post anthesis had the potential to be used as bioethanol with immobilization techniques. The treatment of fermentation time had a significant effect on the ethanol content of oil palm male flowers. However, the dose of Saccharomyces cerevisiae did not significant effect. The best fermentation time was 6 days (17.39%) and there was no interaction between the dose of Saccharomyces cerevisiae and fermentation times to the ethanol content produced.

Keywords:

Bioethanol, Fermentation, Waste of oil palm flowers, Yeast.

Pendahuluan

Kelangkaan Bahan Bakar Minyak (BBM) sering terjadi seiring dengan jumlah kebutuhan masyarakat yang semakin meningkat akan BBM. Kholiq (2015) menyatakan bahwa secara umum pemakaian/konsumsi energi di Indonesia masih mengandalkan dan bergantung pada sumber daya energi minyak bumi, padahal sumber daya energi minyak bumi akan habis dan memiliki keterbatasan baik persediaan dalam bentuk cadangannya. Sehingga perlu dikembangkan sumber energi lain sebagai sumber energi alternatif yang dapat diperbaharui dan ramah lingkungan seperti bioethanol.

Bioetanol dapat dijadikan pengganti BBM tergantung dari tingkat kemurniannya. Bioetanol dengan kadar 95-99% dapat dipakai sebagai bahan substitusi premium (bensin), sedangkan kadar 40% dipakai sebagai bahan substitusi minyak tanah (Bustaman, 2008). Bioethanol adalah sumber bahan bakar alternatif yang berasal dari tumbuhan. Menurut Balai Besar Teknologi Pati (B2TP) tanaman yang dapat dijadikan bioethanol adalah tanaman yang mengandung pati, gula, dan berserat selulosa. Bunga jantan kelapa sawit merupakan tanaman berlignoselulosa sehingga dapat diproses menjadi bioethanol. Produksi bioetanol dari biomassa pada umumnya melalui proses fermentasi secara batch menggunakan sel mikroorganisme bebas. Metode ini memiliki kelemahan, yaitu sulitnya pemisahan pada produk dengan sel mikroorganisme dan konsentrasi etanol yang dihasilkan rendah akibat akumulasi produk yang meracuni mikroorganisme saat fermentasi (Widjaja, 2010). Untuk mengatasi masalah ini maka sel mikroorganisme dibuat tidak bergerak atau dibatasi pergerakannya dalam sebuah matriks atau membran, sehingga sel menjadi terhambat pertumbuhannya dan substrat yang diberikan hanya untuk menghasilkan produk, disebut teknik immobilisasi (Azizah, 2014).

Mikroorganisme yang paling banyak digunakan dalam proses fermentasi adalah *Saccharomyces cerevisiae* (ragi roti). Kelebihan dari ragi roti ini adalah harganya murah dan mudah didapat. Widyanti dan Moehadi (2016) menyatakan bahwa *Saccharomyces cerevisiae* amobil dapat digunakan sebagai bio-katalis dalam menghasilkan etanol. Penggunaan sel amobil sebagai bio-katalis perlu mendapat perhatian, mengingat keuntungan dari sel amobil, yaitu dapat digunakan lebih dari sekali, disamping kemurnian produk lebih tinggi. Widyastuti (2019) melaporkan fermentasi kulit singkong dengan *Saccharomyces cerevisiae* sebanyak 14 gram menghasilkan kadar glukosa sebesar 9,9% dengan etanol tertinggi sebesar 6,00% pada waktu fermentasi 8 hari. Sementara Nasrun et al (2015) menunjukkan bahwa rendemen bioetanol kulit pepaya yang paling tinggi diperoleh pada jumlah ragi 15 gram dengan waktu fermentasi 4 hari yaitu sebesar 6,23%.

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui potensi bunga jantan kelapa sawit *pasca anthesis* untuk dijadikan alternatif bahan baku bioetanol dengan menggunakan teknik immobilisasi
2. Mengetahui dosis *Saccharomyces cerevisiae* dan waktu fermentasi terbaik terhadap etanol yang dihasilkan serta interaksi yang terjadi antara keduanya.

Metodologi

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Politeknik Kelapa Sawit Citra Widya Edukasi dan Laboratorium Biokimia Institut Pertanian Bogor mulai April sampai November 2019. Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah saringan mesh 80, oven, erlenmeyer, timbangan analitik, magnetic stirrer, dan autoklaf. Sedangkan bahan-bahan yang digunakan adalah bunga jantan pasca anthesis, enzim *Trametes versicolor*, *Saccharomyces cerevisiae*, aquades, media PDB, Natrium alginate, CaCl_2 , glukosa, KH_2PO_4 , Na_2PO_4 , buffer asetat, tween 80, ergosterol, $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ (Urea), dan $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ (NPK).

Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap dua faktor. Faktor pertama adalah dosis *Saccharomyces cerevisiae* sebanyak 25 ml dan 50 ml, sedangkan faktor kedua adalah lamanya waktu fermentasi: 2, 3, 4, 5, dan 6 hari. Setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Data yang diperoleh dianalisis ragam pada taraf 5%, apabila terdapat pengaruh nyata dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Peubah yang diamati yaitu kadar etanol.

Penelitian dimulai dengan melakukan pretreatment limbah bunga jantan kelapa sawit dan peremajaan jamur *Trametes versicolor*, pembuatan media immobilisasi (alginat beds), hidrolisis enzimatik, fermentasi, dan pengamatan parameter.

1. Pretreatment limbah bunga jantan kelapa sawit dan peremajaan jamur *Trametes versicolor*

Limbah bunga jantan kelapa sawit diperoleh dari Kebun Percobaan Setu milik Politeknik Kelapa Sawit Citra Widya Edukasi. Limbah bunga jantan adalah bunga jantan yang telah digunakan untuk penyerbukan bunga betina. Sebelum pretreatment limbah bunga jantan disiapkan lalu digiling dengan penggiling Willey dan disaring sehingga diperoleh ukuran yang seragam sebesar 80 mesh. Sampel dikeringkan dengan oven hingga kadar airnya mencapai 10% dan disimpan dalam kondisi kering. Pada penelitian ini digunakan pretreatment secara fisika dan biologi. Pretreatment secara fisika dilakukan menggunakan autoklaf. Bunga jantan kelapa sawit diautoklaf selama 15 menit pada suhu 121 °C. Kemudian, sampel direndam selama 24 jam dengan akuades steril. Sampel ditiriskan dan dikeringkan pada suhu 60 °C hingga kering. Selanjutnya dilakukan peremajaan jamur *Trametes versicolor* dalam 100 mL media PDB selama 7 hari pada suhu ruang. Suspensi *T. versicolor* yang telah ditumbuhkan dalam media PDB diinokulasikan pada sampel sebanyak 40 ml.

2. Pembuatan media immobilisasi (alginat beds)

Media immobilisasi dibuat dengan menggunakan teknik penjebakan Calinescu (Awaltanova *et al.*, 2015). Larutan Natrium alginat 2% dibuat dengan cara melarutkan 10 gram Natrium alginat dengan 500 mL aquadest, kemudian diaduk dan dididihkan menggunakan hot plate magnetic stirrer hingga semua Natrium alginat larut atau homogen. Sementara itu, larutan CaCl_2 3% disiapkan dengan melarutkan 30 gram CaCl_2 dalam 1000 mL aquadest. Larutan Natrium

alginat 2% dan CaCl_2 3% selanjutnya di autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit, dan didinginkan hingga suhu $\pm 27^\circ\text{C}$. *Saccharomyces cerevisiae* sebanyak 25 ml dan 50 ml dilarutkan dalam 500 mL aquadest yang telah disterilkan. Larutan kemudian diaduk selama 15 menit pada suhu 35°C dengan kecepatan sangat lambat, dan dibiarkan mengendap selama 40 menit, setelah itu diaduk selama 15 menit. Larutan Natrium alginat 2% dicampurkan ke dalam larutan yeast dan diaduk hingga homogen. Campuran ini diteteskan kedalam larutan CaCl_2 3% melalui injektor hingga terbentuk beads. Beads didinginkan selama 24 jam, kemudian beads dicuci dengan aquadest yang telah steril. Sementara itu, larutan nutrisi disiapkan dengan cara melarutkan 10 gram glukosa, 3 gram KH_2PO_4 , dan 4,5 gram Na_2PO_4 dalam 1 liter aquadest. Larutan nutrisi di autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah dingin, sebanyak 1 gram *Saccharomyces cerevisiae* ditambahkan ke dalam larutan nutrisi. Larutan nutrisi diteteskan ke dalam beads yang telah dicuci dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 36°C . Larutan glukosa 5% disiapkan. Setelah 24 jam, beads ditiriskan dari larutan nutrisi dan dimasukkan dalam larutan glukosa 5%. Beads di simpan dalam lemari es hingga dilakukan fermentasi.

3. Hidrolisis enzimatik

Limbah bunga jantan kelapa sawit hasil pretreatment sebanyak 1,5 gram dicampur dengan 50 mL buffer asetat dengan konsentrasi 20 mM dan pH 4,5. Kemudian ditambahkan enzim selulosa dari *T. versicolor* sebanyak 40 ml. Campuran selanjutnya dihidrolisis selama 60 jam pada suhu 50°C dengan kecepatan pengadukan 100 rpm.

4. Fermentasi

Proses fermentasi dimulai dengan sterilisasi medium fermentasi (hidrolisat) sebagai substrat yang ditambahkan tween 80 sebanyak 0,2% (v/v), ergosterol sebanyak 0,5 gr/l, $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ (Urea) 0,4 gr/l, $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ (NPK) 0,5 gr/l, dan yeast 1 gr/l. Medium fermentasi tersebut dimasukkan ke dalam labu fermentor 250 ml lalu kondisikan pH sekitar 4,8 dan ditutup dengan sumbat karet, kemudian dilapisi dengan aluminium foil dan dibungkus menggunakan plastik. Fermentor yang telah dibungkus disterilisasi dalam autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Medium fermentasi yang telah dingin ditambahkan beads (sel immobilisasi) dengan variasi 25 ml dan 50 ml pada suhu 32°C dan diaduk dengan kecepatan 150 rpm. Waktu fermentasi divariasi 2, 3, 4, 5, dan 6 hari, kemudian etanol dianalisis.

Hasil dan Pembahasan

Bahan berlignoselulosa akan mengalami 3 tahapan untuk menghasilkan etanol yaitu pretreatment (delignifikasi), hidrolisis, dan fermentasi. Pretreatment bertujuan untuk mengurangi atau menghilangkan berbagai bahan/senyawa yang dapat menghambat laju hidrolisis dan meningkatkan produksi bioetanol dari gula sederhana yang berasal dari selulosa dan hemiselulosa (Balat et al., 2008). Knauf dan Moniruzzaman (2004) menyatakan bahwa hidrolisis asam bertujuan untuk memecah karbohidrat menjadi glukosa. Dalam proses hidrolisis asam terjadi pemutusan rantai molekul pati menjadi molekul glukosa. Glukosa yang dihasilkan

kemudian difermentasi untuk mendapatkan kadar etanol. Lebih lanjut Assegaf (2009) menyatakan bahwa proses fermentasi merupakan proses pemecahan karbohidrat dan asam amino secara aerobik, yaitu tanpa memerlukan oksigen. Senyawa yang dapat dipecah dalam proses fermentasi terutama adalah karbohidrat, sedangkan asam amino hanya dapat difermentasi oleh beberapa jenis bakteri tertentu. Pada penelitian ini digunakan bakteri *Saccharomyces cerevisiae*. *Saccharomyces cerevisiae* dapat memproduksi etanol dalam jumlah besar dan mempunyai toleransi yang relatif tinggi terhadap etanol (Harrison dan Graham 1970). Pengaruh dosis *Saccharomyces cerevisiae* dan waktu fermentasi terhadap kadar etanol bunga jantan kelapa sawit dapat dilihat pada Tabel 1.

Proses hidrolisis untuk kasus ini adalah pemecahan polisakarida pada gula menjadi senyawa sederhana (glukosa dan monomer lain).

Tabel 1 Pengaruh dosis *Saccharomyces cerevisiae* dan waktu fermentasi terhadap kadar etanol bunga jantan kelapa sawit

Perlakuan	Kadar Etanol (%)
Dosis <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (ml)	
25	10,61
50	10,61
Waktu Fermentasi (Hari)	
2	5,78d
3	5,77d
4	10,71c
5	13,41b
6	17,39a
Interaksi	tn

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata pada uji BNT 5%

Pada Tabel 1 terlihat bahwa waktu fermentasi menunjukkan pengaruh nyata pada kadar etanol bunga jantan kelapa sawit. Namun dosis *Saccharomyces cerevisiae* tidak menunjukkan pengaruh nyata. Waktu fermentasi terbaik ditunjukkan pada waktu 6 hari (17,39 %). Hal tersebut dikarenakan semakin lama fermentasi, mikroorganismenya akan semakin aktif sehingga hasil etanol semakin meningkat. Hasil tersebut sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Suri *et al* (2013) yang menunjukkan bahwa kadar bioethanol TKKS tertinggi diperoleh pada lama fermentasi 6 hari dan dengan penambahan ragi 6 gram yaitu sebesar 7,3922 %. Begitupun dengan hasil penelitian Moede *et al* (2017) yang menunjukkan bahwa kadar etanol ubi jalar kuning yang difermentasi menggunakan ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*) adalah 9,70% dengan lama fermentasi selama 5 hari. Danil (2017) juga melaporkan semakin lama waktu fermentasi kadar etanol limbah tapioca padat kering yang dihasilkan semakin tinggi yaitu 27,433% pada lama fermentasi 9 hari dengan dosis ragi 30/500 gr. Waktu fermentasi adalah waktu yang dibutuhkan oleh *Saccharomyces cerevisiae* untuk mengubah glukosa menjadi bioetanol sehingga waktu fermentasi ini sangat mempengaruhi kadar bioetanol yang dihasilkan.

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah didapat maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Bunga jantan kelapa sawit *pasca anthesis* berpotensi untuk dijadikan bioethanol dengan teknik immobilisasi
2. Waktu fermentasi menunjukkan pengaruh nyata pada kadar etanol bunga jantan kelapa sawit. Namun dosis *Saccharomyces cerevisiae* tidak menunjukkan pengaruh nyata. Waktu fermentasi terbaik ditunjukkan pada waktu 6 hari (17,39 %) serta tidak ada interaksi antara dosis *Saccharomyces cerevisiae* dan lamanya waktu fermentasi terhadap kadar etanol yang dihasilkan.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia (Kemenristekdikti RI) yang telah memberikan dana pada penelitian ini melalui hibah Penelitian Dosen Pemula (PDP).

Daftar Pustaka

- Assegaf, F. (2009). Prospek produksi bioetanol bonggol pisang (musa paradisiacal) menggunakan metode hidrolisis asam dan enzimatik. Karya Tulis Daya Saing Keunggulan dan Penguasaan IPTEKS (Ilmu Pengetahuan Teknologi dan Seni. Dso Purwokerto, Universitas Jenderal Soedirman Rso Semarang.
- Awaltanova, E., Bahri, S., & Chairul. (2015). Fermentasi nira nipah menjadi bioetanol menggunakan teknik immobilisasi sel *Saccharomyces cerevisiae*. *JOM FTEKNIK*, 2 (2).
- Azizah, R. (2014). Kajian penggunaan tween 80tm pada pelbagai konsentrasi nira nipah kental dalam proses fermentasi bioetanol. *Sikripsi Fakultas Pertanian Universitas Riau*. Pekanbaru: UNRI.
- Balat, M., Balat, H., & Oz, C. (2008). Progress in bioethanol processing. *Progress in Energy and Combustion Science*, 34(5), 551–573.
- Bustaman, S. (2008). Strategi Pengembangan Bioetanol Berbasis Sagu di Maluku. Balai Besar Pengkajian dan pengembangan Teknologi Pertanian Bogor. *Perspektif*, 7(2), 65- 79.
- Danil, M. (2017). Pengaruh lama fermentasi dan dosis ragi terhadap kadar bioetanol pada fermentasi limbah tapioca padat kering. *Wahana Inovasi*, 6(2), 114-119.
- Harrison, J.S., & Graham, J.C.J. (1970). *Yeast in Distillery Practice*. London: Academic Press.
- Kholiq, I. (2015). Pemanfaatan energi alternatif sebagai energi terbarukan untuk mendukung substitusi BBM. *Jurnal IPTEK*, 19(2), 75-91.
- Knauf, M., & Moniruzzaman, M. (2004). Lignocellulosic Biomass Processing Perspective. *International Sugar Journal*, 106(1263), 147-150.
- Moede, F.H., Gonggo, S.T., & Ratman. (2017). Pengaruh lama waktu fermentasi terhadap kadar bioethanol dari pati ubi jalar kuning (*Ipomea batata* L). *Jurnal Akademika Kimia*, 6(2), 86-90.
- Nasrun, Jalaluddin, & Mahfudhah. (2015). Pengaruh jumlah ragi dan waktu fermentasi terhadap kadar bioetanol yang dihasilkan dari fermentasi kulit pepaya. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*, 4(2), 1–10.
- Suri, A., Yusak, Y., Bulan, R. (2013). Pengaruh lama fermentasi terhadap kadar bioethanol dari fermentasi glukosa hasil hidrolisis selulosa tandan kosong kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq) dengan HCl 30% menggunakan ragi roti. *Jurnal Saintia Kimia*, 1(2).
- Widjaja, T., Hariani, N., Darmawan, R., & Gunawan, S. (2010). Teknologi immobilisasi sel Ca-alginat untuk memproduksi etanol secara fermentasi kontinu dengan *Zymomonas mobilis* termutasi. *Seminar Rekayasa Kimia dan Proses 2010*.
- Widyanti, E.M., Moehadi, B.I. (2016). Proses pembuatan etanol dari gula menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* amobil. *METANA*, 12(2), 31-38.
- Widyastuti, P. (2019). Pengolahan limbah kulit singkong sebagai bahan bakar bioethanol melalui proses fermentasi. *Jurnal Kompetensi Teknik*, 11(1), 41-46.