

## OPTIMASI PEMBUATAN BIOETANOL DARI NIRA KOLI (*Borassus flabeliefer* Linn) MELALUI PROSES FERMENTASI

Leonard Kristofel Letelay<sup>1</sup>, Dominggus Malle<sup>2</sup>, dan Nazudin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pendidikan Kimia, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Pattimura  
Jl. Ir. M. Putuhena, Ambon.97233

<sup>2</sup>Fakultas Pertanian, Universitas Pattimura Jl. Ir. M. Putuhena. Ambon 97233

\*[letelayleonardo45@gmail.com](mailto:letelayleonardo45@gmail.com)

Received: 04 September 2023 / Accepted: 18 September 2023 / Published: 19 January 2024

### ABSTRACT

This study was aims to optimize bioethanol production from *Borassus palmyrah* and to determine content of yield optimization bioethanol fermentation. Fermentation process conducted by *Borassus palmyrah* optimize found ammonium sulfate addition in fermentation bottled depth as nitrogen resources. Fermentation process done by 10 g of yeast, 15 g of yeast, and 20g of yeast. This bioethanol will be used as a renewable energy source that uses *Borassus palmyrah* as a raw material. Qualitative test was conducted by a graph method and HPLC method. The result of the research showed that ethanol content with the addition of ammonium sulfate based on the graphic method was 77% - 85%, and the results test using HPLC was obtained an ethanol content of 98.41% - 99.72%. Thus, it can be concluded that the optimal bioethanol production process is more efficient by adding ammonium sulfate and yeast as a biocatalyst.

**Keywords:** Bioethanol, *Borassus. Sp*, Distillation, Fermentation.

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengoptimasi pembuatan bioetanol dari nira koli dan untuk menentukan kandungan bioetanol hasil fermentasi nira koli yang teroptimasi. Proses fermentasi dilakukan pada nira koli dengan penambahan ammonium sulfat sebagai sumber nitrogen. Fermentasi dilakukan dengan penambahan ragi sebanyak 10 g, 15 g, dan 20 g. Bioethanol ini akan dijadikan sebagai sumber energi terbarukan yang memanfaatkan nira koli sebagai bahan baku. Proses uji kualitatif dengan metode grafik dan metode HPLC. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar etanol dengan penambahan ammonium sulfat berdasarkan metode grafik sebesar 77% - 85%, dan hasil analisis menggunakan HPLC diperoleh kandungan etanol sebesar 98,41% - 99,72%. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa proses produksi bioetanol secara optimal sangat efisien dilakukan dengan penambahan ammonium sulfat dan ragi sebagai biokatalisator.

**Kata Kunci:** Bioetanol, *Borassus. Sp*, Destilasi, Fermentasi.

### PENDAHULUAN

Menipisnya cadangan bahan bakar fosil dan meningkatnya populasi manusia sangat tidak berimbang dengan kebutuhan energi bagi kelangsungan hidup manusia beserta aktivitas ekonomi dan sosialnya (Tama & Winarno, 2020). Sejak tahun 1994, Indonesia mengalami penurunan produksi minyak nasional yang disebabkan menurunnya secara alamiah (*natural decline*) cadangan minyak pada sumur-sumur yang memproduksi. Melihat kondisi tersebut, pemerintah berencana untuk mengurangi ketergantungan pada bahan bakar minyak dengan cara mengembangkan sumber energi alternatif sebagai penggantinya. Salah satu bahan bakar energi alternatif yang digunakan adalah bioetanol (Malle dkk. 2014).

Bioetanol merupakan energi alternatif dengan bahan dasar karbohidrat. Bioetanol dapat diproduksi melalui proses fermentasi gula dari produk pertanian atau limbah bahan tanaman. Beberapa negara yang telah menggunakan bioetanol sebagai bahan bakar adalah USA dan Brazil sejak tahun 1970-an saat terjadi krisis bahan bakar fosil. Selain kedua negara tersebut, Rusia juga telah mengembangkan metanol sebagai bahan bakar pengganti minyak, dan negara Jepang telah menggunakan bahan bakar B10, serta beberapa negara maju di benua Eropa (Yuksel dkk, 2012).

Bahan baku bioetanol dapat diperoleh dari berbagai macam tanaman yang tersebar di seluruh pelosok (Hanum, 2018). Jenis-jenis tanaman yang berpotensi dimanfaatkan sebagai bahan baku produksi bioetanol antara lain: nira koli (siwalan), nira tebu, nira nipah, nira kelapa, singkong, sagu, ubi jalar, jerami maupun pisang. Cairan yang keluar dari pembuluh tapis tanaman siwalan hasil penyadapan pada bagian tandan bunga, baik bunga jantan maupun bunga betina memiliki kandungan glukosa yang sangat tinggi sehingga dapat digunakan untuk produksi etanol (Heryani, 2016).

Nira koli (siwalan) merupakan sirup gula yang memiliki kandungan nutrisi yang lengkap seperti gula, protein, dan vitamin B yang berfungsi untuk pertumbuhan mikroorganisme, *flocculant saccharomyces cerevisiae* (NRRL Y-256) yang merupakan khamir unggul untuk produksi etanol serta dapat memisahkan sel dari medium fermentasinya sehingga dapat menekan biaya untuk pemurnian etanol. Potensi nira koli di pulau Kisar kabupaten Maluku Barat Daya sangat melimpah seperti di desa Yawuru dalam sehari dapat memproduksi  $\pm$  3000 L nira koli yang dapat memproduksi sekitar 150 L bioetanol dalam sehari. Dengan demikian dalam 1 tahun dapat dihasilkan bioetanol sebesar 54.750 L (Firdaus, 2019).

Pada penelitian sebelumnya oleh Umam (2018), kadar etanol hasil fermentasi nira siwalan yang dihasilkan sekitar 55% - 66%. Hasil ini kemudian dipisahkan dengan proses destilasi dan menghasilkan 34,9% etanol. Penelitian ini tidak menggunakan perlakuan tambahan pada substrat, sehingga hasilnya relatif rendah. Oleh karena itu, perlu dilakukan optimasi pada substrat untuk dapat meningkatkan kadar etanol yang lebih tinggi dan efisien sebagai produk energi terbarukan yang ramah lingkungan.

## METODE PENELITIAN

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat gelas, satu set alat destilasi fine, *autoclave* TOMY ES-215, *hot plate* dan *magnetic stirrer* cimarec, neraca analitik, *stopwatch*, batang pengaduk, Termometer, alat fermentasi, Spektrofotometer UV-Vis, HPLC (waters) 1247 psi.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah nira koli, ragi komersil (*Saccharomyces cerevisiae*),  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$  merck, kertas saring whatmanØ(#22), aquades,  $\text{MgSO}_4$  (Bio Basic, Inc),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (Bio Basic, Inc),  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (Bio Basic, Inc),  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  (Bio Basic, Inc).

### Prosedur Kerja

#### Persiapan Sampel dan Proses Fermentasi

Sebanyak 8 L nira koli yang diambil dari pulau Kisar disaring dan diambil filtratnya. Sebanyak 2 L filtrat dimasukkan ke dalam wadah fermentasi dan ditambahkan 9,6 g ammonium sulfat sebagai sumber nitrogen. Ragi dengan variasi 10 g dan 15 g ditambahkan ke dalam medium fermentasi yang berbeda-beda. Kemudian dilanjutkan dengan proses inkubasi.

#### Analisis Kadar Gula Pereduksi

Sampel sebelum dan sesudah diberi ragi dianalisis kadar gula pereduksinya dengan menggunakan metode DNS (3,5-Dinitrosalicylic Acid). Cuplikan dibuat dengan mencampur 20  $\mu\text{L}$  substrat dengan 80  $\mu\text{L}$  air sehingga diperoleh larutan DNS sebanyak 1 mL. campuran kemudian

dipanaskan dalam air mendidih selama 10 menit, kemudian didinginkan dan ditambahkan 8 mL aquades. Setelah itu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 540 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

### Tahap Destilasi (Fraksi < 100°C)

Larutan hasil fermentasi dimasukkan ke dalam labu destilasi, kemudian alat destilasi dipasang. Selanjutnya campuran didestilasi dengan menggunakan *hot plate* pada suhu < 100°C. Semua destilat ditampung dan diambil 1 mL destilat untuk menentukan kadar etanol yang dihasilkan menggunakan metode grafik.

### Tahap Redestilasi (Fraksi 75°C–85°C)

Destilat yang dihasilkan dari fraksi < 100°C selanjutnya didestilasi kembali pada suhu 75°C–85°C. Semua destilat yang dihasilkan kemudian dianalisis kandungan etanol berdasarkan metode grafik dan metode HPLC.

### Analisis Bioetanol

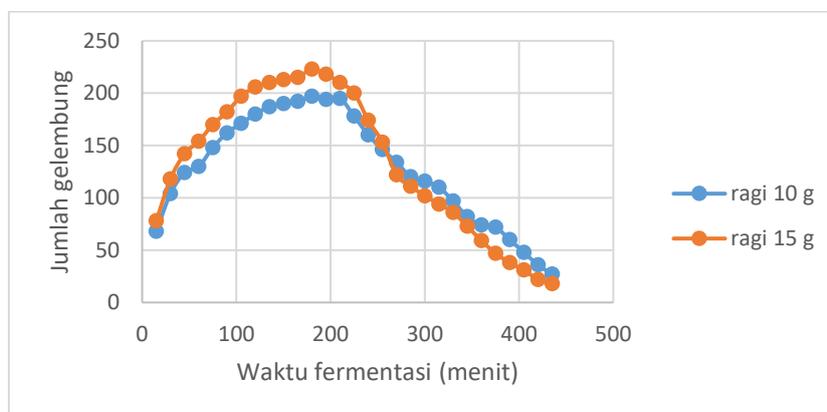
Hasil analisis fraksi 75°C–85°C kemudian dianalisis kandungan menggunakan metode HPLC pada Laboratorium Pusat Kajian Bioteknologi BPPT, Serpong dengan kondisi operasi sebagai berikut:

- Fase gerak : H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,008 N
- Kolom : Aminex® HPX-87H, 300 mm x 7,8 mm
- Detector : Refractive Index
- Flow rate : 1 mL/min
- Volume injeksi : 20 µL
- Suhu kolom : 35°C
- Back Pressure : 1247 psi

## HASIL PENELITIAN

### Pengaruh Sumber Nitrogen terhadap Proses Fermentasi

Proses fermentasi nira koli yang telah ditambahkan ammonium sulfat diinkubasi pada suhu ruang. Laju alir proses fermentasi dihitung setiap 15 menit jumlah gelembung yang diperoleh per satuan menit. Hal ini dilakukan untuk menentukan waktu maksimum proses fermentasi. Proses fermentasi dilakukan dengan menambahkan ragi 10 g dan 15 g pada kedua medium fermentasi.

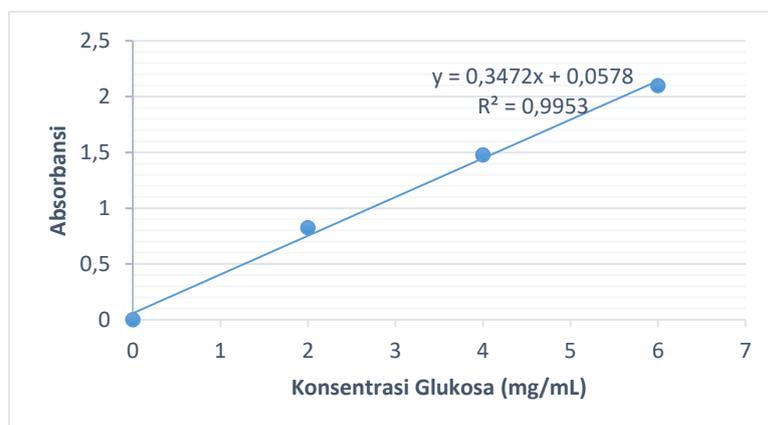


Gambar 1. Penentuan Pengaruh Nitrogen terhadap Proses Fermentasi

Berdasarkan **Gambar 1** di atas maka dapat dijelaskan bahwa ketersediaan nitrogen dalam medium fermentasi sangat berpengaruh terhadap laju alir fermentasi. Kecepatan alir gelembung tampak semakin cepat hingga mencapai titik puncak pada waktu 180 menit, dimana fase ini merupakan fase eksponensial. Setelah fase ini, proses pertumbuhan mikroorganisme menjadi lambat pada kedua medium fermentasi, baik itu ragi 10 g maupun ragi 15 g akibat konsentrasi glukosa dan sumber nitrogen yang semakin berkurang hingga proses fermentasi berakhir. Sesuai dengan hasil perhitungan stoikiometri, ketersediaan sumber nitrogen di dalam medium fermentasi sekitar 0,96 g/L dengan persentase 20% nitrogen dihasilkan dari senyawa ammonium sulfat. Jika dilihat dari grafik di atas, kecepatan alir fermentasi dengan penambahan ragi 15 g lebih cepat dibandingkan dengan penambahan ragi 10 g. Hal ini menunjukkan bahwa semakin banyak kandungan nitrogen dalam medium fermentasi, maka semakin cepat proses reduksi glukosa menjadi etanol pada saat fermentasi berlangsung.

### Analisis Kadar Gula Pereduksi

Penentuan kadar gula pereduksi sampel dilakukan menggunakan instrument spektroskopi UV-Vis pada panjang gelombang 540 nm. Hal dilakukan untuk mengetahui laju perubahan substrat menjadi bioethanol.



**Gambar 2. Kurva Standar Glukosa**

Dengan mengacu pada kurva standar glukosa yang diperlihatkan pada **Gambar 2**, kandungan gula pereduksi sampel sebelum diberi ragi diperoleh absorbansi sebesar 2,0971 dengan konsentrasi glukosa 3,5740 g/L dan kadar gula pereduksi sebesar 35,70%. Setelah sampel diberi ragi dan diinkubasi selama 4 jam absorbansi yang diperoleh sebesar 1,4763 dan kadar gula pereduksi sekitar 24,80%. Sedangkan nilai absorbansi sampel setelah fermentasi 0,8240 dan kadar gula pereduksi sebesar 15,20%. Hal ini menunjukkan bahwa perubahan kadar glukosa yang semakin berkurang selama proses fermentasi diakibatkan oleh adanya perubahan gula pereduksi menjadi etanol.

### Destilasi Fraksi < 100°C

Kandungan etanol hasil fermentasi selanjutnya didestilasi dan dihitung kadar etanolnya dengan menggunakan metode grafik (Jeffers, 2000). Hasil destilasi awal diperoleh kadar etanol sekitar 34,50% - 41%, dengan massa etanol sebesar 28,60 g per 600 mL sampel. Volume etanol hasil destilat awal diperoleh destilat sebanyak 83 mL dengan densitas sekitar 0,3445 g/mL. Dengan demikian, dapat diasumsikan bahwa dalam 1 L sampel nira akan diperoleh etanol sebesar 47,76 g dengan volume destilat sekitar 138,61 mL. Dengan merujuk pada hasil pemisahan tahap awal, maka destilat yang diperoleh diperkirakan masih terdapat campuran etanol-air sehingga destilat yang ada perlu didestilasi lagi pada fraksi yang lebih kecil.

**Destilasi Fraksi 75°C – 85°C****Tabel 1. Kadar Etanol Hasil Redestilasi Fraksi 75°C – 85°C**

Sampel	Kadar etanol (%)	Massa etanol/10 g larutan
10 g ragi	77	6,6
15 g ragi	85	16,8

Berdasarkan **Tabel 1**, kadar etanol nira koli hasil redestilasi relative tinggi. Hal ini dikarenakan rendahnya kadar air yang ikut menguap pada kisaran suhu 75°C – 85°C. Kadar etanol yang diperoleh dengan penambahan ragi sangat tidak jauh berbeda, namun dapat dikatakan bahwa lamanya waktu fermentasi juga dapat mempengaruhi produksi etanol. Hasil analisis kadar etanol redestilasi membuktikan bahwa semakin banyak ragi yang ditambahkan pada medium fermentasi maka semakin meningkat juga kadar etanol yang dihasilkan. Kandungan etanol yang diperoleh berdasarkan hasil uji grafik berkisar antara 77% - 85%.

**Analisis Bioetanol**

Proses analisis kandungan bioetanol dilakukan dengan menggunakan instrument HPLC. Hasil destilasi fraksi kedua diambil masing-masing 1 mL destilat dengan konsentrasi yang berbeda, kemudian destilat tersebut dianalisis menggunakan instrument HPLC. Hasil analisis dengan HPLC menunjukkan kadar etanol 30 g/L adalah 99,72%, etanol 45 g/L menghasilkan kadar etanol 99,47% dan etanol 60 g/L menghasilkan kadar etanol sebesar 98,41%. Jika mengacu pada hasil yang ada, maka dapat dijelaskan bahwa semakin tinggi pengenceran etanol hasil destilasi maka semakin kecil kadar etanolnya. Selain itu, pada penambahan ammonium sulfat yang berlebihan pada larutan akan menurunkan produksi etanol karena sifat ammonium sulfat sebagai inhibitor. Akan tetapi, penambahan ragi pada larutan akan semakin meningkatkan kadar gula pereduksi nira menjadi etanol. Dengan demikian, nira koli sangat baik digunakan untuk memproduksi bioetanol secara komersil.

**KESIMPULAN**

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, dapat disimpulkan bahwa nira koli dapat digunakan sebagai bahan baku untuk produksi bioetanol secara cepat dan tepat. Hal ini dibuktikan dengan waktu fermentasi yang relative cepat dan hasil analisis kadar etanol yang sangat tinggi yaitu 98,41% - 99,72%. Oleh karena itu, bioetanol hasil fermentasi nira koli dengan penambahan ammonium sulfat dan ragi sangat sangat baik untuk dikembangkan menjadi gasoline pengganti bahan bakar minyak.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Firdaus, S.N., 2019. Pengaruh Variasi Komposisi Bahan Bakar (*Ethanol-Pertalite*) terhadap performansi pada Sepeda Motor Matic Vario 125cc Putaran terhadap Torsi. *Simposium Nasional RAPI XVIII*, pp. 398-403.
- Gaur K. V., Sirohi R., Tarafdar A., Singh S., Negi T., 2020. Green Processing and Biotechnological Potential of Grape Pomace: Current Trends and Opportunity for Sustainable Biorefinery. *Bio resource Technology*. 314.
- Hambali, E., Mudjalipah, S., Tambuna, H. A., Hendroko, R. 2007. *Teknologi Bioenergi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor. pp. 204-216.
- Hanum., Farida, N., Pohan, M., Rambe, R., Primadony., Ulyana M., 2018. Pengaruh Massa Ragi dan Waktu Fermentasi terhadap Bioetanol dari Biji Durian. *Jurnal Teknik Kimia USU*, 2(4), 49-54.

- Harahap, H. (2019). *Teknik Pembuatan Alkohol*. Penerbit Agromedia. Jakarta. pp. 67-73.
- Heryani, H. (2016). *Keutamaan Gula Aren dan Strategi Pengembangan Produk*. Lambung Mangkurat University Press: Banjarmasin.
- Ishom, F., Wahyudi, D., Bobo, J., Hendroko, R. 2017. *Pengembangan Bahan Bakar Nabati*. Penerbit Penerapan Swadaya. Jakarta. pp. 311-314.
- Jeffers, J. (2000). Preparing Ethanol by Fermentation. Modular Laboratory Program In Chemistry. *Neiding Publisher*. Palmyra, 740.
- Jhonson. (2021). *Chemical Engineering Article*. 3023441. Universitas Indonesia. Jakarta. 6, 42-51.
- Malle, D., Kapelle, I. B., Lopulalan, F. 2014. Pembuatan Bioetanol dari Limbah Air Kelapa Muda melalui Proses Fermentasi. *Ambon. Ind. J. Chem. Res.*, 2, 155-159.
- Maisaroh S., Wijanarka., Agus Suprihadi., 2020. Kemampuan Memproduksi Inulinase Isolat Khamir Hasil Isolasi dari Nira Siwalan (*Borassus flabellifer* L.) dengan Variasi Konsentrasi. *Journal of Tropical Biology*, 3(1), 1-7.
- Megawati. (2015). *Bioetanol Generasi Kedua*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Pratiwi, Y.H., Ratnayani O., Wirajana N. I., 2018. Perbandingan Metode Uji Gula Pereduksi Dalam Penentuan Aktivitas  $\alpha$ -L-Arabinofuranosidase Dengan Substrat Janur Kelapa (*Cocos nucifera*), *Jurnal Kimia*, 12(2).
- Prihandana, R., Noerwijati, K., Gamawati, P., Hendroko, R. P., 2016. *Bioetanol Ubi Kayu Bahan Bakar Masa Depan*. Penerbit Agromedia. Jakarta.
- Rahmanto, W., 2022. *Bioetanol sebagai Energi Alternatif*. Penerbit Agromedia Pustaka. Jakarta. pp. 126-130.
- Sastrohamidjojo & Abdul Rohman., 2019. *Analisis Farmasi dengan Kromatografi Cair*. Universitas Gadjah Mada Press. Yogyakarta. pp. 174-178.
- Simanjuntak E., Chairul., Sembiring M. P., 2015. Pembuatan Bioetanol dari Nira Aren secara Fermentasi Menggunakan Yeast *Saccaromyces cerevisiaea* dengan Variasi Konsentrasi Inokulum dan Waktu Fermentasi, *Jurnal Teknik*, 2.
- Suryanto & Muhaji., 2023. Studi Eksperimen Pengaruh Campuran Peralite dengan Bioetanol nira Siwalan (*Borassus Flabellifer* Linnaeus) Terhadap Unjuk Kerja Mesin Yamaha Aerox 2019, *Jurnal Teknik Mesin*, 11(02), 135-140.
- Susmanto., Prahadi., Yandriani B., Dania., Ellen., 2020. Pengaruh Nutrien dan Waktu terhadap Efisiensi Substrat dan Kinetika Reaksi Fermentasi dalam Produksi Bioetanol Berbahan Biji Durian, *Jurnal Integrasi Proses*, 9, 01-08.
- Tama & Winarno. (2020). Pengaruh Campuran Bioetanol Destilasi Molase Tebu dengan Peralite Terhadap Performa, Konsumsi Bahan Bakar dan Gas Buang Motor Bensin 125cc. *Automotive Science and Education Journal*. Universitas Negeri Semarang.
- Umam M. S., 2018. Pengaruh Konsentrasi Ragi Roti (*Saccaromyces cerevisiae*) dan Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Bioetanol Nira Siwalan (*Borassus flabeliefer* Linn). *Skripsi*. Jurusan Biologi UIN Maliki Malang.
- Ulum., Kafidul., Indria P., Retno D. Y., Untung M., & Agustin K. W. (2020). Studi Komparasi: Produksi Bioetanol Nira Batang Kelapa Sawit oleh Flokulan dan Non-Flokulan *Saccharomyces cerevisiae*. *Agritech*. 40(4), 322-331.
- Yuksel., Al-Baghdadi., Riberio., 2012. *Penggunaan Bioetanol untuk Kendaraan*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.