

## **Peningkatan Produksi Biobutanol dengan Penambahan Surfaktan pada Fermentasi Ekstraksi dan Hidrolisis Enzimatis Menggunakan *Clostridium Saccharoperbutylaceticum* N1-4**

**M. Zikrillah, Husnul Khotimah, Dimas Nur Herdianto, Maktum Muharja**

Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Jember

Correspondence Email: [211910401004@mail.unej.ac.id](mailto:211910401004@mail.unej.ac.id)

**Abstrak:** Kebutuhan energi baru terbarukan semakin meningkat, biobutanol merupakan energi alternatif yang potensial karena memiliki sifat seperti bensin. Namun, toksisitas dalam produksi biobutanol adalah masalah serius. Penambahan surfaktan diduga dapat mencegah toksisitas dalam produksi biobutanol karena menekan pergerakan mikroba dan meningkatkan kinerja produksi biobutanol. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan surfaktan terhadap proses hidrolisis dan fermentasi dalam produksi biobutanol. Penelitian ini diawali dengan proses pretreatment, depectination, delignifikasi, hidrolisis enzimatis, dan fermentasi ABE untuk mengubah kulit kakao menjadi produk biobutanol. Penambahan surfaktan Tween 80 dan (PEG 6000) dapat meningkatkan kinerja proses hidrolisis enzimatis serta penambahan surfaktan dapat mendukung proses fermentasi menggunakan bakteri *Clostridium Saccharoperbutylaceticum* N1-4. Hidrolisis enzimatis dilakukan dengan sampel pretreatment enzim Selulase ditambahkan variasi 0,1-10; dan 15 FPU/g. Sampel dengan optimum enzyme loading dipilih untuk hidrolisis enzimatis dengan surfaktan nilai pro-analisis Tween 80 dan PEG 6000 dengan konsentrasi 0,025% b/v. Hasil yang diperoleh dari hidrolisis enzimatis menunjukkan bahwa diperoleh konsentrasi gula pereduksi tertinggi bila penambahan surfaktan PEG 6000 adalah sebanyak 0,025% b/v adalah 9,24 g/L. Penambahan Tween 80 Surfaktant meningkatkan kinerja produksi biobutanol sebesar 26,535 g/L. Oleh karena itu, terbukti penambahan surfaktan dalam proses hidrolisis enzimatis dan fermentasi ABE dapat meningkatkan produksi biobutanol sebagai energi alternatif yang potensial pengganti bensin.

**Kata kunci:** Biobutanol, Hidrolisis Enzimatis, Fermentasi, Surfaktan

**Abstract:** The need for new renewable energy is increasing, biobutanol is a potential alternative energy because it has properties like gasoline. However, toxicity in biobutanol production is a serious problem. The addition of surfactants is thought to prevent toxicity in biobutanol production because it suppresses microbial movement and improves biobutanol production performance. This research aims to determine the effect of adding surfactants on the hydrolysis and fermentation processes in biobutanol production. This research begins with the process of pretreatment, depectination, delignification, enzymatic hydrolysis, and ABE fermentation to convert cocoa shells into biobutanol products. The addition of Tween 80 and (PEG 6000) surfactants can improve the performance of the enzymatic hydrolysis process and the addition of surfactants can support the fermentation process using *Clostridium Saccharoperbutylaceticum* N1-4 bacteria. Enzymatic hydrolysis was carried out with Cellulase enzyme pretreatment samples added with variations of 0.1-10; and 15 FPU/g. Samples with optimum enzyme loading were selected for enzymatic hydrolysis with surfactants of pro-analysis value Tween 80 and PEG 6000 with a concentration of 0.025% w/v. The results obtained from enzymatic hydrolysis showed that the highest reducing sugar concentration was obtained when 0.025% w/v of PEG 6000 surfactant was added, namely 9.24



This work is licensed under a  
Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License.

*g/L. The addition of Tween 80 Surfactant increased biobutanol production performance by 26.535 g/L. Therefore, it is proven that the addition of surfactants in the enzymatic hydrolysis and ABE fermentation processes can increase biobutanol production as a potential alternative energy to replace gasoline.*

**Keywords:** *Biobutanol, Enzymatic Hydrolysis, Fermentation, Surfactant*

#### **Article History :**

*Received; 14-09-2023; Revised; 07-10-2023; Accepted; 04-11-2023*

## **PENDAHULUAN**

Selama beberapa dekade terakhir, dunia menghadapi masalah menipisnya sumber energi, yang sebagian besar berbasis pada bahan bakar tak terbarukan. Selain itu, pasokan bahan bakar fosil dan gas alam semakin berkurang sehingga berdampak pada pemanasan global (Gürsan and Gooyert 2021). Oleh karena itu, diperlukan suatu metode yang tepat untuk menghasilkan energi terbarukan melalui produksi bahan bakar alternatif terbarukan. Biobutanol merupakan salah satu bahan bakar alternatif terbarukan yang potensial karena dapat larut dalam bahan bakar lain, mempunyai sifat seperti bensin, dan tidak bersifat korosif sehingga tidak merusak mesin. (Zhen, Wang, and Liu 2020).

Biobutanol berasal dari biomassa, sehingga lebih ramah lingkungan dan ekonomis. Sekam kakao merupakan salah satu biomassa yang melimpah di Indonesia yaitu 667.300 ton (Sadya 2023) sehingga berpotensi untuk dijadikan bahan baku biobutanol. Selain itu, cangkang kakao mengandung selulosa 17,27%, hemiselulosa 19,56%, dan lignin 52,02% (Palente, Suryanto, and Momuat 2021). Produksi biobutanol dapat dilakukan melalui proses fermentasi dan hidrolisis mikroba. Mikroba *Clostridium acetobutylicum* dan *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* N1-4 banyak digunakan untuk fermentasi karena sifatnya yang baik yaitu ketahanan pada pH 4,5–6. Selain itu, mikroba jenis ini dapat difermentasi secara anaerob sehingga prosesnya lebih mudah (Li et al. 2020).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa bakteri *C. acetobutylicum* hanya dapat hidup sampai kadar butanol yang dihasilkan mencapai konsentrasi 15 g/L, pada saat itulah bakteri tersebut keracunan butanol dan memasuki fase kematian. (Xin, Liu, He, Wu, Ni, and Dong 2018). Untuk mengatasi hal tersebut telah banyak dilakukan penelitian untuk menggantikan fermentasi Aseton Butanol Etanol (ABE) menjadi fermentasi reaktif sehingga mampu menahan toksisitas 65g/L menggunakan bakteri *C. saccharoperbutylacetonicum* N1-4 (Darmayanti et al. 2018). Jenis bakteri *C. saccharoperbutylacetonicum* N1-4 mempunyai suhu optimum pada 30°C dan menghasilkan ABE lebih banyak dibandingkan *C. acetobutylicum* (Li et al. 2020).

Masalah lain dalam produksi biobutanol adalah akumulasi produk menekan pergerakan mikroba dan mempengaruhi produksinya (Motghare, Shende, and Wasewar 2022). Untuk mengatasi hal tersebut dilakukan penambahan surfaktan sehingga dapat meningkatkan kinerja produksi biobutanol pada konsentrasi 33,9 g/L. (Xin, Liu, He, Wu, Ni, and Dong 2018). Selain itu penambahan surfaktan dapat meningkatkan rendemen hidrolisis enzimatis dan menurunkan



This work is licensed under a  
Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License.

jumlah enzim yang dibutuhkan (Chang et al. 2017). Walaupun penelitian mengenai konversi biomassa untuk produksi biobutanol telah banyak dilakukan, namun dari studi literatur belum pernah dilakukan produksi biobutanol dengan penambahan surfaktan melalui proses fermentasi untuk meningkatkan kinerja produksi biobutanol.

## **METODE PENELITIAN**

### **Perlakuan Awal Secara Mekanis**

Perlakuan awal mekanis dimulai dengan persiapan sampel kulit buah kakao (KBK) yang dikumpulkan dari perkebunan kakao di Jember, Indonesia. CPH dipotong kecil-kecil (0,5-2 cm), dicuci bersih dengan air sebanyak tiga kali, dikeringkan hingga 3 hari, kemudian digiling hingga halus. KBK yang telah digiling dilanjutkan dengan screening dengan ukuran 100 mesh. Kemudian depektinisasi KBK dimulai dengan 75 g CPH dicampur dengan 1,5 liter asam sitrat 7%. Campuran sampel dan asam sitrat dipanaskan selama 30 menit pada suhu 50°C. Setelah proses depektinisasi, KBK disaring dengan kain saring dan dicuci dengan 1,5 liter alkohol 96%. KBK yang telah dicuci dikeringkan pada suhu 50°C hingga kering.

### **Delignifikasi**

Delignifikasi dilakukan dengan prosedur eksperimental dan analitis yang diadaptasi dari penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh (Muharja et al. 2021). Sebanyak 26 g sampel yang telah didepektinisasi dicampur dengan larutan natrium hidroksida (NaOH) 6% sebanyak 1 liter. Campuran sampel dan larutan NaOH dimasukkan ke dalam microwave (Samsung MS23K3515AS, Malaysia) selama 2,4 menit (2:15 menit) dengan daya 100 watt. Hasil pretreatment disaring menggunakan kain saring dan dikeringkan pada suhu 45°C dalam oven sampai kering atau selama 12 jam.

### **Hidrolisis Enzimatik**

Hidrolisis enzimatis dilakukan dengan pretreatment sampel seberat 5 g dan ditambahkan enzim selulase (Viscozyme cassava CL) dengan variasi 0,1; 0,25; 0,5; 0,75; 1; 5; 10; dan 15 FPU/g. Sampel yang telah ditambahkan enzim dicampur dengan buffer sitrat 0,05 M pH 4,8 sebanyak 50 mL. Tabung erlenmeyer yang berisi campuran sampel dan buffer sitrat ditutup dengan kapas dan aluminium foil. Campuran sampel dan buffer sitrat dimasukkan ke dalam inkubator shaker (B-ONE SIC 50L, China) dengan suhu 60°C dan kecepatan 125 RPM. Waktu hidrolisis enzimatik adalah 48 jam, dengan selang waktu 6 jam. Sampel dengan pemuatan



enzim optimal dipilih untuk hidrolisis enzimatik dengan surfaktan tingkat pro-analisis Tween 80 (Merek, Prancis) dan Polyethylene Glycol 6000 (PEG 6000) (Merek, Jerman), dengan konsentrasi 0,025% b/v.

### **Persiapan Media Penyegar dan Prakultur**

Pembuatan media penyegar dilakukan dengan 75 g kentang, 5 g glukosa, 0,25 g amonium sulfat, dan 1,5 g CaCO<sub>3</sub>, ditambahkan 500 mL aquades, kemudian dipanaskan yang berisi air 100°C selama 1 jam, didinginkan, dan menyaring sampel menggunakan kain saring. Larutan sampel dan padatan kemudian dipisahkan, larutan sampel diambil sebanyak 10 mL dan dipindahkan ke dalam tabung reaksi dengan kondisi ditutup dengan kapas dan aluminium foil, dipanaskan pada suhu 100°C selama 10 menit, didinginkan, dan ditambahkan ke dalam 1 mL C. larutan kultur bakteri *C. saccharoperbutylacetonicum* N1-4 (Laboratorium Teknologi Mikroba, Universitas Kyushu), yang kemudian dipanaskan pada suhu 100°C selama 1 menit untuk menghilangkan oksigen.

Prekultur dilakukan dengan Tryptone bacto 6 g ditambah ekstrak Ragi (HiMedia Laboratories, India) 2 g, CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub> 3 g, MgSO<sub>4</sub>-7H<sub>2</sub>O 0.3 g, FeSO<sub>4</sub>-7H<sub>2</sub>O 0.01 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,5 g kemudian ditambahkan aquades sebanyak 1000 mL. TYA (Tryptone Yeast Acetate) yang sudah dibuat diambil 60 mL (pH 6,5) ditambahkan 30 mL glukosa (50 g × 1000 mL air suling) dan ditambahkan 10 mL media penyegar, masukkan semua bahan ke dalam elenmeyer yang ditutup dengan kapas dan aluminium foil dipanaskan pada suhu 100°C selama 1 menit, dipindahkan ke penyerap O<sub>2</sub> dan disimpan pada suhu 20-28°C selama 15 jam.

### **Fermentasi Fed-Batch Eksraktif**

Media fermentasi terdiri dari 36 mL TYA (Tryptone Yeast Acetate), 18 mL glukosa dengan pengenceran (20 g/120 mL), 150 mL minyak goreng, 0,18 g CaCO<sub>3</sub>, dan Tween 80 dengan konsentrasi 0%, 1%, 2%, 3%, 5%, 10%, 15%, 20%. Media fermentasi harus diautoklaf (Sturdy SA-300VF, Taiwan) selama 15 menit, didinginkan, dan ditambahkan 6 mL prekultur, kemudian dinitrogenisasi selama 5 menit. Fermentasi dilakukan pada inkubator shaker selama 96 jam pada suhu 37°C dan kecepatan 125 RPM. Penambahan hidrolisat CPH dilakukan pada jam 0, 6, 12, 24, 48, 72, dan 96 jam, dengan penambahan hidrolisat sebanyak 2 mL per sampel. Setelah setiap sampel, media fermentasi dinitrogenisasi selama 4 menit untuk semua sampel sebelum dikembalikan ke inkubator shaker pada kecepatan 125 RPM dan suhu 30°C.

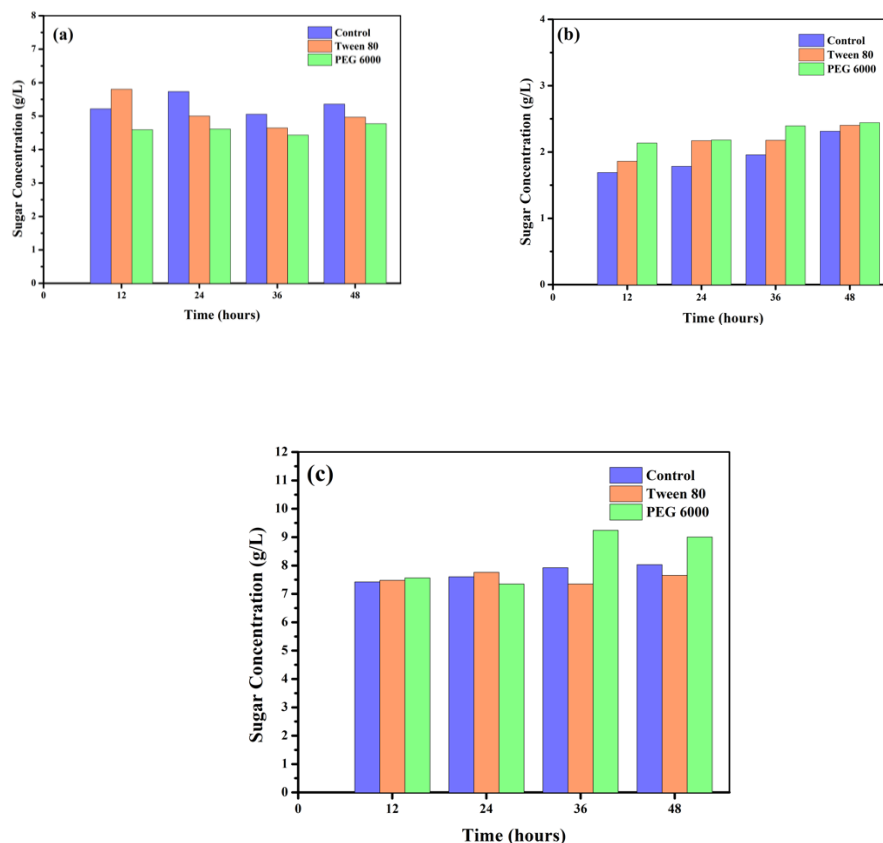


## Metode Analisis

Gula pereduksi yang diperoleh dari hidrolisis enzimatis diperiksa menggunakan metode asam dinitrosalisilat (DNS) (Sigma-Aldrich) dan dianalisis dengan Spektrofotometri UV-Vis (Vernier Go Direct GDX-SVISPL, China) pada 540 nm, seperti yang dijelaskan sebelumnya oleh (Muharja et al., 2023). Untuk mengukur butanol, aseton, dan etanol dalam media, kromatografi gas digunakan dengan instrumen Trace 1300 (ThermoScientific, Italia) yang dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala dan kolom TR Wax. Kolom dioperasikan pada kisaran suhu 50-190°C, dengan nitrogen sebagai gas pembawa. Saluran masuk diatur ke mode pemisahan pada 50°C, tekanan pada 14,16 psi, aliran total pada 10,1 mL/menit, dan rasio pemisahan pada 50:1. Oven diprogram untuk memulai pada suhu 50°C, kemudian ditingkatkan dengan kecepatan 10°C/menit hingga mencapai 170°C. Detektor saluran masuk depan disetel pada 250°C, sedangkan laju aliran hidrogen, udara, dan nitrogen disesuaikan masing-masing menjadi 40, 450, dan 3,7.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hidrolisis Enzimatis dengan Penambahan Surfaktan



**Gambar 1. Konsentrasi gula reduksi hidrolisis enzimatis (a) tanpa pretreatment, (b) dengan depektinasi, dan (c) dengan depektinasi dan pretreatment**



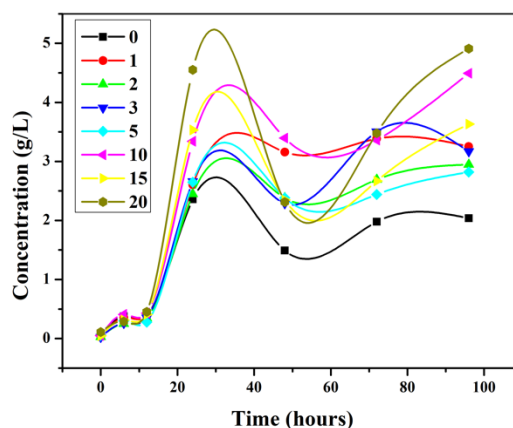
This work is licensed under a  
Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License.

Berdasarkan Gambar 1 (a), diketahui bahwa penambahan surfaktan Tween-80 menunjukkan rendemen gula reduksi tertinggi. Hal ini dikarenakan Tween-80 merupakan surfaktan nonionik sehingga dapat mengurangi adsorpsi selulase pada substrat karena Tween-80 mengadsorpsi sebagian permukaan hidrofobik pada lignin. Surfaktan nonionik mempunyai afinitas yang tinggi sehingga dapat menurunkan adsorpsi selulase dengan lignin sehingga aktivitas enzim selulase dapat meningkat. Surfaktan nonionik secara efektif dapat meningkatkan efisiensi hidrolisis enzimatis lignoselulosa, sedangkan surfaktan anionik dan kationik dapat menghambat hidrolisis enzimatis jika digunakan secara berlebihan (Lin et al. 2017). Berdasarkan gambar 1(b) pemanfaatan surfaktan pada perlakuan depektinasi dapat menyebabkan penurunan gula pereduksi. Hal ini disebabkan oleh degradasi polimer pektin selama ekstraksi pektin, yang memfasilitasi pelepasan beberapa gula dari partikel CPH. Akibatnya, terjadi penurunan jumlah gula pereduksi yang diperoleh melalui hidrolisis enzimatis (Ninga et al. 2018). Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa substrat yang mengalami depektinasi (tanpa delignifikasi) masih mengandung senyawa lignin (Muharja et al. 2021). Kehadiran lignin menghambat efisiensi proses hidrolisis dengan menghambat akses enzim ke selulosa, sehingga mengakibatkan berkurangnya hasil gula selama hidrolisis (Mao, Robinson, and Binner 2021). Perlakuan depektinasi menghasilkan gula pereduksi tertinggi pada penambahan surfaktan PEG 6000 yaitu 2,44 g/L.

Gambar 1(c) menunjukkan konsentrasi gula tereduksi dengan perlakuan depektinasi dan pretreatment. Penambahan surfaktan PEG 6000 menghasilkan gula reduksi tertinggi sebesar 9,24 g/L. Pada perlakuan depektinasi dan pretreatment, konsentrasi gula pereduksi dari penambahan PEG 6000 relatif lebih tinggi dibandingkan dengan Tween 80 karena nilai keseimbangan Hidrofilik-lipofilik (HLB) PEG 6000 lebih tinggi dibandingkan dengan Tween 80. Nilai HLB tinggi baik untuk ekstraksi produk degradasi hidrofobik dari lignin dan hemiselulosa (Muharja et al. 2019). Penambahan surfaktan pada sampel dengan perlakuan depektinasi dan pretreatment memberikan pengaruh yang nyata terhadap gula reduksi hidrolisis enzimatis dengan nilai P ( $P=0,013$ ).



### 1.1. Kurva Pertumbuhan *Clostridium Saccharoperbutylaceticum* N1-4



**Gambar 2. Hasil konsentrasi tween 80 sel dengan spektrofotometer 600 nm**

Gambar 2 menunjukkan hasil konsentrasi sel Tween 80 dengan spektrofotometer 600 nm. Berdasarkan gambar tersebut terlihat bahwa bakteri *C. saccharoperbutylaceticum* N1-4 dengan konsentrasi 0–20% Tween 80 mengalami fase lag (fase penyesuaian bakteri terhadap lingkungan baru) pada jam ke-0, dan berpindah ke fase asidogenesis. Pada 0–6 jam, data berubah seiring dengan meningkatnya konsentrasi bakteri. Pada waktu 6–12 jam, bakteri mengalami fase stasioner (fase pertumbuhan dan kematian bakteri yang seimbang). *C. saccharoperbutylaceticum* N1-4 sebesar 0,998 g/L membelah diri secara maksimal, dengan penambahan Tween 80 konsentrasi 20% dalam berat kering sel menghasilkan 4,91 g/L. Kondisi pertumbuhan yang signifikan disebabkan oleh konsentrasi PEG yang diterima oleh strain bakteri (Wenfa 2020) Pada jam ke 12–48 pembelahan sel menurun karena bakteri mulai memproduksi ABE yang bersifat racun bagi bakteri sehingga konsentrasinya menurun.

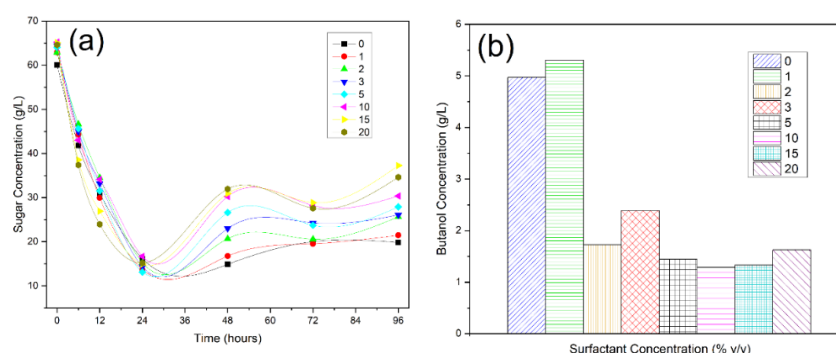
Untuk mengetahui fungsi Tween 80, diambil 1% Tween 80 ketika media 0% tidak ditambah surfaktan Tween 80 sehingga tegangan permukaan media tidak lebih baik dari 1% Tween 80 sehingga mengakibatkan ruang tumbuh bakteri. Penambahan Tween 80 bertujuan untuk melengkapi sel-sel dinding polipeptida bakteri agar tahan terhadap keracunan ABE. Penelitian yang dilakukan oleh (Xin, Liu, He, Wu, Ni, and Dong 2018) melaporkan hasil serupa, dimana ABE masih dapat diproduksi pada jam ke 140. Pada jam ke 0–6, bakteri dengan konsentrasi Tween 80 1% dapat tumbuh lebih cepat dibandingkan tanpa penambahan Tween 80. Hasil ini disebabkan karena surfaktan Tween 80 dapat mengurangi ketegangan



pada cairan sehingga bakteri dalam sampel akan lebih leluasa berkembang dan membelah diri (Xin, Liu, He, Wu, Ni, Dong, et al. 2018).

Penambahan hidrolisat buah kakao dengan kandungan PEG dapat mempengaruhi proses fermentasi. Penelitian yang dilakukan oleh (Wenfa 2020) menunjukkan bahwa fermentasi optimum menggunakan PEG mempunyai kadar 1 g/L. Penggunaan media sebanyak 1 L untuk proses penggunaan surfaktan PEG dan Tween 80 menunjukkan hasil yang signifikan. Penggunaan media dibawah 1 L membuat pengamatan hanya dilakukan sampai 25 jam (Wenfa 2020). Hasil uji anova menunjukkan penggunaan hidrolisat buah kakao memberikan pengaruh nyata terhadap konsentrasi bakteri, dimana nilai  $P < 0,05$  ( $P=0,002$ ).

### Fermentation Fed-batch Hidrolisat CPH



**Gambar 3. Waktu konsentrasi glukosa (a) dan (b) konsentrasi butanol diperoleh pada fermentasi fed-batch hidrolisat CPH dengan penambahan surfaktan**

Gambar 3a menggambarkan perjalanan waktu konsumsi gula selama proses fermentasi fed-batch. Pemberian hidrolisat dimulai dari 24 jam hingga 72 jam. Seperti terlihat pada Gambar 3a, dalam 24 jam pertama konsentrasi gula mengalami penurunan. Fenomena berkurangnya glukosa sebanding dengan pertumbuhan *C. saccharoperbutylacetonicum* N1-4. Setelah 24 jam, konsentrasi glukosa meningkat karena penambahan hidrolisat. Namun gula pereduksi tersebut secara bersamaan didegradasi oleh bakteri dan membentuk konsentrasi yang relatif konstan pada waktu 48 jam dan proses fermentasi selanjutnya. Konsentrasi glukosa awal adalah 62-65 g/L. Konsentrasi gula konsumsi tertinggi diperoleh pada sampel 0% dengan nilai 19 g/L, dan nilai terendah diperoleh pada sampel 20% dengan nilai 34 g/L. Konsentrasi gula mengalami penurunan meskipun hidrolisat ditambahkan pada waktu 24 jam, dan hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa



setiap hidrolisat yang diberikan kepada bakteri pada fermentasi fed-batch akan terus menurun seiring dengan bertambahnya jumlah bakteri. (Darmayanti et al. 2020; Hastuti et al. 2019; Zhao et al. 2019). Gambar 3a juga menunjukkan bahwa penambahan surfaktan 1% v/v meningkatkan konsumsi gula reduksi menjadi 42,6 g/L, dibandingkan kontrol dengan konsumsi gula 41,4 g/L. Konsumsi gula yang lebih tinggi dengan surfaktan 1% v/v dibandingkan kontrol berhubungan dengan kepadatan sel yang lebih tinggi yaitu 3,2 g/L dibandingkan 2,3 g/L. Penambahan surfaktan dalam jumlah yang lebih besar tidak meningkatkan konsumsi gula. Konsumsi gula dioptimalkan dengan penambahan surfaktan 1% v/v

### **Pengaruh Penambahan Surfaktan terhadap Produksi Biobutanol**

Hidrolisat yang diperoleh dari hidrolisis enzimatis kemudian difermentasi untuk menghasilkan butanol. Salah satu keterbatasan utama dalam fermentasi butanol adalah toksisitas produk akhir, butanol, yang dapat menurunkan aktivitas *C. saccharoperbutylacetonicum* N1-4, sehingga membatasi hasil butanol dan meningkatkan biaya pemrosesan hilir. (Dhamole et al. 2012; Singh et al. 2017). Detoksifikasi berbasis surfaktan sebelumnya telah dilaporkan meningkatkan kemampuan fermentasi hidrolisat jerami padi untuk produksi asam butirat (Lee et al. 2015) dan hidrolisat brangkasan jagung untuk produksi etanol (Dhamole, Wang, and Feng 2013). Peningkatan konsentrasi surfaktan dari 3% menjadi 6% meningkatkan produksi aseton dan butanol sebesar 25% (Dhamole et al. 2012). Surfaktan nonionik membentuk misel yang memerangkap butanol sehingga mengurangi toksisitas butanol terhadap mikroorganisme (Dhamole et al. 2012; Dhamole, Mane, and Feng 2015; Singh et al. 2017). Selanjutnya fase kaya surfaktan dapat dipisahkan dengan menginkubasi media fermentasi pada suhu cloud point (Dhamole et al. 2012).

Dari beberapa surfaktan nonionik yang digunakan pada proses hidrolisis enzimatis (Tween 80 dan PEG), Tween 80 sebagai bahan aditif untuk mengurangi efek toksisitas butanol lebih unggul dalam recovery butanol dibandingkan surfaktan lainnya (data tidak ditampilkan). Hal ini mungkin disebabkan oleh biokompatibilitas surfaktan terhadap mikroorganisme ABE (Dhamole, Mane, and Feng 2015). melaporkan bahwa toksisitas surfaktan ionik lebih tinggi dibandingkan surfaktan nonionik. Gambar 3b menunjukkan rendemen butanol yang diperoleh dengan adanya penambahan Tween 80. Produksi butanol



meningkat dengan meningkatnya konsentrasi surfaktan dari 0% menjadi 1%. Namun, peningkatan lebih lanjut dalam konsentrasi surfaktan menurunkan perolehan butanol. Rendahnya konsentrasi surfaktan Tween 80 yang diperbolehkan dalam fermentasi ABE berbeda dengan laporan sebelumnya yang menggunakan surfaktan polimer nonionik (surfaktan plunorik L62D). Hal ini dipengaruhi oleh nilai HLB surfaktan yang berbeda-beda. Nilai HLB dapat dikorelasikan dengan biokompatibilitas surfaktan pada mikroorganisme. Umumnya peningkatan HLB dibarengi dengan peningkatan toksisitas surfaktan terhadap mikroba (Dhamole et al. 2012). Pada konsentrasi surfaktan yang tinggi, sel akan tertutup oleh surfaktan yang menyebabkan rendahnya motilitas mikroorganisme. Hal ini dapat mengakibatkan rendahnya pasokan media. Selain itu, peningkatan konsentrasi surfaktan akan meningkatkan titik keruh sehingga pengebakan butanol ke dalam misel tertunda, dan produksi butanol akan menurun. (Singh et al. 2017).

Produksi butanol juga dipengaruhi oleh hidrolisat yang digunakan (Xin, Liu, He, Wu, Ni, and Dong 2018) melaporkan bahwa rendemen butanol akan lebih tinggi jika hidrolisat yang digunakan mudah dicerna oleh bakteri, seperti glukosa, sukrosa, atau laktosa. Semakin murni gula yang digunakan, maka bakteri akan lebih mudah mencerna dan memproduksi butanol. Rendemen butanol tertinggi diperoleh pada penambahan Tween 80 1% yaitu sebesar 5,307 g/L. Tween 80 adalah aditif yang efektif dalam mengurangi penghambatan yang diinduksi fenol untuk produksi butanol fermentasi. Tween 80 berinteraksi dengan senyawa fenolik dari turunan lignin dan mengendapkannya untuk mengurangi toksisitas mikroba selama fermentasi dan dapat meningkatkan perolehan butanol (Dhamole, Wang, and Feng 2013). Penambahan Tween 80 memberikan hasil biokonversi yang mendekati kontrol gula murni (Guan, Shi, and Blersch 2018).

## **KESIMPULAN**

Penelitian ini berhasil meningkatkan kinerja produksi biobutanol dengan penambahan surfaktan Tween 80 1% yaitu sebesar 26,535 g/L. Konsentrasi gula reduksi hidrolisis enzimatis tertinggi diperoleh pada proses depektinisasi dan pretreatment, serta penambahan surfaktan PEG 6000 sebesar 0,025% b/v dengan konsentrasi gula sebesar 9,24 g/L. Waktu mempengaruhi pertumbuhan bakteri, dengan hasil tertinggi diperoleh pada penambahan 20% Tween 80 sebesar 4,9 g/L.



## DAFTAR PUSTAKA

- Chang, Ken Lin et al. 2017. "Impact of Surfactant Type for Ionic Liquid Pretreatment on Enhancing Delignification of Rice Straw." *Bioresource Technology* 227: 388–92. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2016.11.085>.
- Darmayanti, Rizki Fitria et al. 2018. "Novel Biobutanol Fermentation at a Large Extractant Volume Ratio Using Immobilized *Clostridium Saccharoperbutylacetonicum* N1-4." *Journal of Bioscience and Bioengineering* 126(6): 750–57.
- Dhamole, Pradip B. et al. 2012. "Extractive Fermentation with Non-Ionic Surfactants to Enhance Butanol Production." *Biomass and Bioenergy* 40: 112–19.
- Dhamole, Pradip B., Ravindra G. Mane, and Hao Feng. 2015. "Screening of Non-Ionic Surfactant for Enhancing Biobutanol Production." *Applied Biochemistry and Biotechnology* 177(6): 1272–81.
- Dhamole, Pradip B., Bin Wang, and Hao Feng. 2013. "Detoxification of Corn Stover Hydrolysate Using Surfactant-Based Aqueous Two Phase System." *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 88(9): 1744–49.
- Guan, Wenjian, Suan Shi, and David Blersch. 2018. "Effects of Tween 80 on Fermentative Butanol Production from Alkali-Pretreated Switchgrass." *Biochemical Engineering Journal* 135(2010): 61–70.
- Gürsan, C., and V. Gooyert. 2021. "The Systemic Impact of a Transition Fuel: Does Natural Gas Help or Hinder the Energy Transition?" *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 138(September 2020): 110552. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.110552>.
- Hastuti, Novitri et al. 2019. "Nanocellulose from Oil Palm Biomass to Enhance Microbial Fermentation of Butanol for Bioenergy Applications." *BioResources* 14(3): 6936–57.
- Lee, Kyung Min et al. 2015. "In Situ Detoxification of Lignocellulosic Hydrolysate Using a Surfactant for Butyric Acid Production by *Clostridium Tyrobutyricum* ATCC 25755." *Process Biochemistry* 50(4): 630–35.
- Li, Jeffrey S. et al. 2020. "Investigation of Secondary Metabolism in the Industrial Butanol Hyper-Producer *Clostridium Saccharoperbutylacetonicum* N1-4." *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 47(3): 319–28. <https://doi.org/10.1007/s10295-020-02266-8>.
- Lin, Xuliang et al. 2017. "Effect of Sodium Dodecyl Sulfate and Cetyltrimethylammonium Bromide Catanionic Surfactant on the Enzymatic Hydrolysis of Avicel and Corn Stover." *Cellulose* 24(2): 669–76.
- Mao, Yujie, John Robinson, and Eleanor Binner. 2021. "Understanding Heat and Mass Transfer Processes during Microwave-Assisted and Conventional Solvent Extraction." *Chemical Engineering Science* 233: 116418.
- Motghare, Kalyani A, Diwakar Z Shende, and Kailas L Wasewar. 2022. "Butanol Recovery Using Ionic Liquids as Green Solvents." *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 97(4): 873–84.



- Muharja, Maktum et al. 2019. “Reducing Sugar Production in Subcritical Water and Enzymatic Hydrolysis Using Plackett-Burman Design and Response Surface Methodology.” *Jurnal Teknik ITS* 8(2).
- Muharja, M., Darmayanti, R.F., Palupi, B., Rahmawati, I., Fachri, B.A., Setiawan, F.A., Amini, H.W., Rizkiana, M.F., Rahmawati, A., Susanti, A., Putri, D.K.Y. 2021. “Optimization of Microwave-Assisted Alkali Pretreatment for Enhancement of Delignification Process of Cocoa Pod Husk.” *Bulletin of Chemical Reaction Engineering & Catalysis* 16(1): 31–43.
- Ninga, Kombele Aimé et al. 2018. “Kinetics of Enzymatic Hydrolysis of Pectinaceous Matter in Guava Juice.” *Journal of Food Engineering* 221: 158–66.
- Palente, Ivon, Edi Suryanto, and Lidya Irma Momuat. 2021. “KARAKTERISASI SERAT PANGAN DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI TEPUNG KULIT KAKAO (*Theobroma Cacao* L.).” *Chemistry Progress* 14(1): 70–80.
- Sadya. 2023. “Produksi Kakao Indonesia Capai 667.300 Ton Pada 2022.” <https://dataindonesia.id/sektor-riil/detail/produksi-kakao-indonesia-capai-667300-ton-pada-2022> (August 5, 2023).
- Singh, Kajal et al. 2017. “Enhanced N-Butanol Production by *Clostridium Beijerinckii* MCMB 581 in Presence of Selected Surfactant.” *3 Biotech* 7(3): 1–7.
- Wenfa. 2020. “Effect of Polyethylene Glycol on Growth of *Escherichia Coli* DH5 $\alpha$  and *Bacillus Subtilis* NRS-762.” *bioRxiv*: 1–8. <https://doi.org/10.1101/2020.09.03.282376>.
- Xin, Fengxue, Jie Liu, Mingxiong He, Bo Wu, Yufan Ni, and Weiliang Dong. 2018. “High Biobutanol Production Integrated with in Situ Extraction in the Presence of Tween 80 by *Clostridium Acetobutylicum*.” (October 2017): 1–5.
- Zhao, Tao et al. 2019. “Semi-Hydrolysate of Paper Pulp without Pretreatment Enables a Consolidated Fermentation System with in Situ Product Recovery for the Production of Butanol.” *Bioresource Technology* 278: 57–65.
- Zhen, Xudong, Yang Wang, and Daming Liu. 2020. “Bio-Butanol as a New Generation of Clean Alternative Fuel for SI (Spark Ignition) and CI (Compression Ignition) Engines.” *Renewable Energy* 147: 2494–2521.

