

**PEMBUATAN BIOETANOL DARI HIDROLISAT PATI UBI JALAR
MERAH (*Ipomea batatas L.*) SECARA FERMENTASI
MENGUNAKAN *Saccharomyces cereviceae***

SKRIPSI

Untuk memenuhi sebagian persyaratan memperoleh gelar sarjana sains



**LIA ANGGRAINI
NIM 84271**

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN
ALAM
UNIVERSITAS NEGERI PADANG
2011**

PERSETUJUAN SKRIPSI

Judul : Pembuatan Bioetanol dari Hidrolisat Pati Ubi Jalar Merah (*Ipomea batatas L.*) Secara Fermentasi Menggunakan *Saccharomyces cereviceae*

Nama : Lia Anggraini

NIM : 84271

Program Studi : Kimia

Jurusan : Kimia

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, 11 Agustus 2011

Disetujui oleh:

Pembimbing I



Dra. Iryani, M.S
NIP. 19620113 198603 2 001

Pembimbing II



Drs. Iswendi, M.S
NIP. 19600626 198602 1 001

PENGESAHAN LULUS UJIAN SKRIPSI

Dengan ini dinyatakan bahwa :

Nama : Lia Anggraini
NIM : 84271
Program Studi : Kimia
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dengan judul

**Pembuatan Bioetanol dari Hidrolisat Pati Ubi Jalar Merah (*Ipomea batatas L.*)
Secara Fermentasi Menggunakan *Saccharomyces cereviceae***

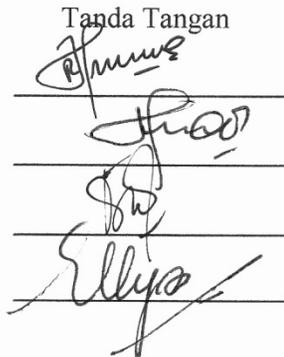
Dinyatakan lulus setelah dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi
Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Padang

Padang, 11 Agustus 2011

Tim Penguji

	Nama
Ketua	: Dra. Iryani, M.S.
Sekretaris	: Drs. Iswendi, M.S.
Anggota	: Dra. Hj. Isniyetti, M.Si.
Anggota	: Prof. Dr. Hj. Ellizar, M.Pd.

Tanda Tangan



SURAT PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini benar-benar karya saya sendiri. Sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang ditulis atau diterbitkan orang lain kecuali sebagai acuan atau kutipan dengan mengikuti tata penulisan karya ilmiah yang lazim.

Padang, Juli 2011

Yang menyatakan,

Lia Anggraini

ABSTRAK

Anggraini, Lia (2011). **Pembuatan Bioetanol dari Hidrolisat Pati Ubi Jalar Merah (*Ipomea batatas L.*) Secara Fermentasi Menggunakan *Saccharomyces cereviceae***

Ubi jalar merah selama ini hanya dimanfaatkan sebagai bahan makanan. Ubi jalar merah mengandung kadar pati yang cukup tinggi yaitu 18,50 % 100 g ubi, karena itu ubi jalar merah bisa dimanfaatkan sebagai bahan dasar dalam pembuatan bioetanol. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan jumlah inokulum dan waktu fermentasi optimum untuk menghasilkan bioetanol dengan konsentrasi tertinggi dari hidrolisat pati ubi jalar merah (*Ipomea batatas L.*) hasil hidrolisis secara enzimatis. Penelitian ini dirancang menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 2 faktor. Faktor pertama adalah jumlah inokulum yang terdiri dari 4 variasi yaitu 5, 10, 15 dan 20 mL dan faktor kedua adalah lama fermentasi yang terdiri dari 5 variasi yaitu 24, 36, 48, 60 dan 72 jam. Konsentrasi bioetanol tertinggi diperoleh pada jumlah inokulum 10 mL dan waktu fermentasi 48 jam dengan konsentrasi bioetanolnya 3,37748 %.

Kata Kunci : Fermentasi, Bioetanol, *Saccharomyces cereviceae*

KATA PENGANTAR

Segala puji syukur Penulis panjatkan kehadirat Alloh SWT karena atas rahmat dan Hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan Skripsi ini dengan judul **Pembuatan Bioetanol dari Hidrolisat Pati Ubi Jalar Merah (*Ipomea batatas L.*) Untuk Secara Fermentasi Menggunakan *Saccharomyces cereviceae***. Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk menyelesaikan program Strata Satu pada jurusan Kimia Universitas Negeri Padang

Dalam penulisan skripsi ini, penulis banyak mendapat bantuan, bimbingan, arahan, petunjuk dari berbagai pihak. Untuk itu penulis mengucapkan terima kasih kepada beberapa pihak berikut ini.

1. Ibu Dra. Iryani, M.S selaku pembimbing I sekaligus penasehat akademik
2. Bapak Drs. Iswendi, M.S selaku pembimbing II
3. Ibu Dra.Hj Isniyetti, M.Si, Ibu Prof. Dr Hj Ellizar, M.Pd, dan Ibu Dra. Suryelita, M.Si selaku dosen pembahas
4. Bapak Drs. Zul Afkar, M.S, selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA UNP
5. Bapak Drs. Nazir. KS, M,Pd, M.Si, selaku Ketua Program studi kimia FMIPA UNP
6. Bapak dan Ibu Staf Pengajar Jurusan Kimia FMIPA UNP
7. Bapak dan Ibu staf Laboratorium Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Padang.

8. Orang tua dan seluruh keluarga yang telah memberi bantuan material, moril, do'a, semangat dan kasih sayangnya.

Skripsi ini telah dibuat berdasarkan panduan penulisan skripsi. Untuk kesempurnaan skripsi ini diharapkan kritikan dan saran dari pembaca. Penulis berharap semoga karya ini bermanfaat bagi penulis, pembaca dan khususnya mahasiswa jurusan kimia.

Padang, Agustus 2011

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	ii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang.....	1
B. Perumusan masalah	3
C. Pembatasan masalah	3
D. Pertanyaan Penelitian.....	4
E. Tujuan penelitian.....	4
F. Manfaat penelitian	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Ubi jalar.....	6
B. Hidrolisis pati.....	7
C. Fermentasi.....	10
D. <i>Saccharomyces cereviceae</i>	12
E. Bioetanol.....	16
F. Destilasi.....	19

G. Uji Kualitatif Etanol.....	20
H. HPLC (<i>High Performance Liquid Chromatography</i>).....	20
III.METODE PENELITIAN	
A. Jenis Penelitian	23
B. Variabel Penelitian.....	23
C. Objek Penelitian	23
D. Rancangan Penelitian	23
E. Alat dan Bahan	24
F. Prosedur Kerja	25
IV.HASIL DAN PEMBAHASAN	38
V. KESIMPULAN DAN SARAN	47
DAFTAR PUSTAKA.....	48
LAMPIRAN.....	51

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kandungan Gizi Ubi Jalar Merah.....	6
2. Sifat Fisika Etanol.....	17
3. Rancangan Penelitian Fermentasi hidrolisat Pati Ubi Jalar Merah pada Variasi Jumlah Inokulum dan Waktu Fermentasi.....	24
4. Massa Jenis Etanol Hasil Fermentasi.....	40
5. Konsentrasi bioetanol hasil fermentasi dan Destilasi.....	42

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ubi jalar	6
2. Embden-Meyerhorf-Pathway (EMP).....	11
3. Biakan <i>Saccharomyces cereviceae</i>	12
4. Kurva Pertumbuhan <i>Saccharomyces cereviceae</i>	14
5. Kurva Hubungan Konsentrasi Larutan standar Glukosa dengan absorbansi.....	38
6. Kurva Hubungan Konsentrasi Etanol dengan Massa Jenis.....	40
7. Kurva Hubungan Konsentrasi dengan Absorbansi Kurva Standar Glukosa Sebelum dan Sesudah diregresi.....	41

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Pembuatan Media Pemiakan <i>Aspergillus niger</i>	51
2. Pembuatan Media pertumbuhan <i>Aspergillus niger</i> Untuk ekstraksi Enzim Amilase.....	52
3. Ekstraksi enzim amilase dari <i>Aspergillus niger</i>	53
4. Tes Kualitatif Enzim Amilase.....	54
5. Penentuan λ_{maks} Larutan Standar Glukosa.....	55
6. Pengukuran Absorbansi Larutan Standar Glukosa.....	56
7. Preparasi Sampel.....	57
8. Skema Hidrolisis Pati.....	58
9. Tes Kualitatif Glukosa.....	59
10. Penentuan Konsentrasi Glukosa Hasil Hidrolisis Pati Ubi Jalar Merah.....	60
11. Pembuatan Media Pertumbuhan dan Pemiakan <i>S.Cereviceae</i>	61
12. Pembuatan Inokulum <i>Saccharomyces cereviceae</i>	62
13. Fermentasi Alkohol	63
14. Tes Kualitatif Etanol	64
15. Penentuan Massa Jenis Larutan Standar Etanol.....	65
16. Penentuan Massa Jenis Etanol pada Sampel	66
17. Persamaan Regresi kurva kalibrasi Staandar Glukosa.....	67
18. Hasil uji Glukosa dengan reagen benedict.....	68

19. Konsentrasi Glukosa Hidrolisat Pati Ubi Jalar Merah	69
20. Jumlah bioetanol (mL) yang dihasilkan pada variasi jumlah inokulum dan waktu fermentasi.....	70
21. Persamaan Regresi Kurva Kalibrasi Standar Etanol	71
22. Massa Jenis Larutan standa Etanol.....	72
23. Massa Jenis Etanol Hasil Fermentasi dan Destilasi.....	73
24. Konsentrasi Etanol Hasil Fermentasi dan Destilasi.....	74
25. Hasil Uji Kualitatif Etanol.....	75
26. Hasil pengukuran HPLC aquades.....	76
27. Hasil Pengukuran HPLC Standar Etanol.....	77
28. Hasil Pengukuran HPLC Standar asam asetat.....	78
29. Hasil Pengukuran HPLC sampel.....	79

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Bioetanol adalah senyawa etanol yang dihasilkan dari proses fermentasi tumbuhan yang mengandung karbohidrat (monosakarida, disakarida dan polisakarida) dengan bantuan mikroorganisme. Bioetanol biasanya digunakan dalam industri kimia antara lain sebagai pelarut (40%), untuk pembuatan asetaldehid (36%), eter dan etil asetat (9%) (Putri, 2008 : 1). Selain itu bioetanol ini bisa digunakan sebagai campuran bahan bakar (Assegaf, 2009 : 3).

Selama ini, bahan baku bioetanol yang telah berkembang di Indonesia berasal dari bahan yang mengandung pati seperti singkong, jagung, kulit pisang, ampas tebu, tebu dan lain lain. Hampir semua tanaman yang disebutkan di atas merupakan tanaman yang sudah tidak asing lagi, karena mudah ditemukan dan beberapa tanaman tersebut digunakan sebagai bahan pangan (Izzati, 2010 : 4).

Sumatera Barat merupakan daerah yang kaya akan sumber daya alam hayati. Sebagian wilayahnya, (sekitar 53 %) merupakan daerah pertanian, perkebunan, hutan alam, taman nasional, dan daerah pantai. Salah satu hasil pertaniannya yaitu ubi jalar. Daerah penghasil ubi jalar ini antara lain Padang Panjang, Solok, Bukit Tinggi dan Payakumbuh. Produksi ubi jalar tahun 2010 diperkirakan sebesar 105.405 ton / tahun.(BPS provinsi Sumatera Barat, 2010). Ubi jalar selama ini hanya dimanfaatkan untuk pembuatan keripik,

cemilan, dodol, dan lain lain. Padahal ubi jalar dapat dimanfaatkan untuk pembuatan bioetanol, karena ubi jalar mengandung pati yang cukup tinggi. Kandungan karbohidrat pada ubi jalar merah adalah sekitar 27,90 g/100g (Rukmana, 1997).

Produksi bioetanol dari bahan yang mengandung pati dapat dilakukan dalam dua tahap yaitu hidrolisis pati dan fermentasi glukosa. Proses hidrolisis merupakan proses konversi pati menjadi gula (glukosa). Proses hidrolisis ini ada dua cara yang pertama secara enzimatik dan yang kedua secara hidrolisa asam. Hasil hidrolisis ini dapat digunakan dalam pembuatan bioetanol secara fermentasi.

Proses fermentasi adalah proses perubahan (konversi) glukosa menjadi etanol dan CO₂ dengan melibatkan mikroorganisme seperti khamir. Khamir yang sering digunakan dalam fermentasi alkohol adalah *Saccharomyces cereviceae*, karena jenis ini mempunyai daya konversi yang tinggi, tahan terhadap kadar gula yang tinggi dan tetap aktif melakukan fermentasi pada suhu 4-32°C. Proses fermentasi dipengaruhi beberapa faktor seperti jumlah inokulum, lama fermentasi, pH dan suhu (Harahap, 2003:4).

Produksi bioetanol dari bahan alam secara fermentasi telah banyak dilakukan. Putri (2008) telah melakukan penelitian pembuatan etanol dari ganyong diperoleh etanol dengan kadar 4,84% dengan lama fermentasi 24 jam dan pH fermentasi 4,5. Izzati (2010) telah melakukan pembuatan bioetanol dari ubi jalar putih dengan proses HFT (Hidrolisis Fermentasi Terpisah)

diperoleh kadar etanol 136 mL/Kg ubi jalar, dengan lama fermentasi 3 hari dan jumlah inokulum 4 ml.

Berdasarkan studi literatur yang telah penulis lakukan, belum ada yang melakukan penelitian tentang pembuatan bioetanol dari ubi jalar merah. Berdasarkan hal di atas maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul ” **Pembuatan Bioetanol dari Hidrolisat Pati Ubi Jalar Merah (*Ipomea batatas L.*) Secara Fermentasi Menggunakan *Saccharomyces cereviceae***”

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah bagaimanakah pengaruh jumlah inokulum dan waktu fermentasi terhadap konsentrasi etanol hasil fermentasi hidrolisat pati ubi jalar merah menggunakan *Saccharomyces cereviceae*.

C. Pembatasan Masalah

Untuk lebih memfokuskan penelitian ini maka penulis membatasi penelitian ini pada beberapa hal berikut ini.

1. Hidrolisat yang digunakan yaitu hasil hidrolisis pati ubi jalar merah secara enzimatik dengan menggunakan kondisi hidrolisis optimum dari Devi Puji Kurniawati.
2. Konsentrasi Glukosa pada hidrolisat ini adalah 902,655 ppm.
3. Jumlah inokulum *S. cereviceae* yang ditambahkan yaitu 5, 10, 15 dan 20 mL dalam 100 mL hidrolisat pati.

4. Lama fermentasi yaitu 24, 36, 48, 60, 72 jam.
5. OD dari inokulum *Saccharomyces cereviceae* yang digunakan yaitu 0,245.
6. Suhu yang digunakan yaitu suhu kamar.
7. pH yang digunakan yaitu 4,5.

D. Pertanyaan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka pertanyaan dalam penelitian ini adalah berapakah jumlah inokulum dan waktu fermentasi optimum untuk menghasilkan konsentrasi bioetanol tertinggi pada fermentasi hidrolisat pati ubi jalar merah dengan menggunakan *Saccharomyces cereviceae*.

E. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah Untuk menentukan jumlah inokulum dan waktu fermentasi optimum untuk menghasilkan bioetanol dengan konsentrasi tertinggi dari hidrolisat pati ubi jalar merah (*Ipomea batatas L.*) hasil hidrolisis secara enzimatis.

F. Manfaat penelitian

Manfaat dari penelitian dapat dilihat berikut ini.

1. Memberikan informasi tentang pembuatan bioetanol dari hidrolisat pati ubi jalar merah (*Ipomea batatas L.*) hasil hidrolisis secara enzimatis

2. Memberikan informasi kepada pembaca tentang jumlah inokulum *Saccharomyces cereviciae* dan lama fermentasi optimum untuk memperoleh bioetanol dengan konsentrasi tertinggi dari hidrolisat pati ubi jalar merah.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Ubi jalar

Ubi jalar atau ketela rambat (*Ipomoea batatas* L.) adalah sejenis tanaman budidaya. Bagian yang dimanfaatkan adalah akarnya yang membentuk umbi dengan kadar gizi (karbohidrat) yang tinggi. Di Afrika, umbi ubi jalar menjadi salah satu sumber makanan pokok yang penting, karena mengandung zat-zat gizi seperti, kalori, protein, lemak, karbohidrat, kalsium, fosfor, zat besi, vitamin A, vitamin B1, vitamin C. Untuk lebih jelas rinciannya dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan gizi ubi jalar merah

Zat gizi	Kandungan/100g
Protein	1,80 g
Lemak	0,70 g
Karbohidrat	27,90 g
Kalsium	30 mg
Zat besi	0,70 mg
Fosfor	49 mg
Vitamin A	7.700 (SI)
Vitamin B1	0,90 mg
Vitamin C	22 mg

(Sumber : Rukmana : 1997 : 3)

Sumatera Barat merupakan daerah yang kaya akan sumber daya alam hayati. Sebagian wilayahnya, (sekitar 53 %) merupakan daerah pertanian,

perkebunan, hutan alam, taman nasional, dan daerah pantai. Salah satu hasil pertaniannya yaitu ubi jalar. Daerah penghasil ubi jalar ini antara lain Padang Panjang, Solok, Bukit Tinggi dan Payakumbuh. Produksi ubi jalar tahun 2010 diperkirakan sebesar 105.405 ton / tahun (BPS provinsi Sumatera Barat, 2010). Ubi jalar selama ini hanya dimanfaatkan untuk pembuatan keripik, cemilan, dodol, dan lain lain. Padahal ubi jalar dapat dimanfaatkan untuk pembuatan bioetanol, karena ubi jalar mengandung pati yang cukup tinggi. Kandungan karbohidrat pada ubi jalar merah adalah sekitar 27,90 g/100g (Rukmana, 1997). Berikut ini disajikan gambar Umbi ubi jalar merah.



Gambar 1 : Umbi ubi jalar merah
(Sumber : <http://masenchipz.com/khasiat-ubi-jalar/2010/13/10>)

Taksonomi ubi jalar merah menurut Nurainas (2011), seperti berikut ini.

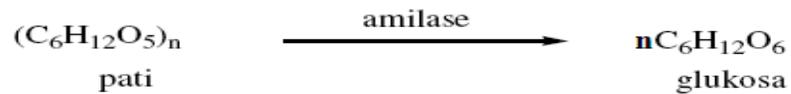
Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledone
Ordo	: Convolvulales
Famili	: Convolvulaceae
Genus	: Ipomoea
Spesies	: <i>Ipomoea batatas L.</i>

B. Hidrolisis Pati

Pati merupakan salah satu komponen dalam ubi jalar. Pati terdiri dari dua fraksi yaitu amilopektin dan amilosa, yang terdiri atas seperempat bagian amilosa dan tigaperempat bagian amilopektin. Amilosa merupakan polimer dari glukosa yang merupakan rantai lurus dan secara kuantitatif amilosa dapat dihidrolisis menghasilkan maltosa sedangkan amilopektin hanya akan terhidrolisis sebagian.

Hidrolisis meliputi proses pemecahan polisakarida di dalam biomassa lignoselulosa, yaitu: selulosa dan hemiselulosa menjadi monomer gula penyusunnya. Hidrolisis sempurna selulosa menghasilkan glukosa, sedangkan hemiselulosa menghasilkan beberapa monomer gula pentosa (C₅) dan heksosa (C₆).

Hidrolisis dapat dilakukan secara kimia (asam) atau enzimatik. Aplikasi hidrolisis menggunakan enzim secara sederhana dilakukan dengan mengganti tahap hidrolisis asam dengan tahap hidrolisis enzim. Hidrolisis enzimatik memiliki beberapa keuntungan dibandingkan hidrolisis asam, antara lain: tidak terjadi degradasi gula hasil hidrolisis, suhu rendah, berpotensi memberikan hasil yang tinggi, dan biaya pemeliharaan peralatan relatif rendah karena tidak ada bahan yang korosif. Proses enzimatik merupakan proses ramah lingkungan berbahan baku terbarukan (*renewable raw material*). Saat ini, hidrolisis secara enzimatik merupakan teknologi yang sangat menjanjikan guna mengkonversi biomassa menjadi gula (Binoto : 2).



(Assegaf : 2009 : 15)

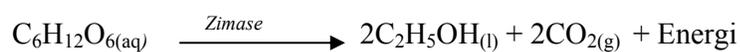
Proses hidrolisis enzimatis dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu: enzim, ukuran partikel, suhu, waktu hidrolisis, perbandingan cairan terhadap bahan baku (volume substrat), dan pengadukan. Enzim yang dapat digunakan adalah α -amilase, β -amilase, amiloglukosidase, glukosa isomerase, pullulanase, dan isoamilase. Enzim yang biasa digunakan untuk proses pembuatan sirup glukosa secara sinergis adalah enzim α -amilase dan enzim glukamilase. Enzim α -amilase akan memotong ikatan amilosa dengan cepat pada pati kental yang telah mengalami gelatinisasi. Kemudian enzim glukamilase akan menguraikan pati secara sempurna menjadi glukosa pada tahap sakarifikasi (Purba, 2009).

Glukosa disebut juga dekstrosa atau gula anggur, di alam glukosa tersedia dalam bentuk D dan L. Faktor yang menjadi penentu dari bentuk glukosa ini adalah posisi gugus (-H) dan alkohol (-OH) dalam struktur molekulnya. Glukosa yang berada dalam bentuk molekul D & L-Glukosa dapat dimanfaatkan oleh sistem tumbuh-tumbuhan, sedangkan sistem tubuh manusia hanya dapat memanfaatkan D-Glukosa (Irawan, 2007:2). Glukosa yang dihasilkan dalam proses hidrolisis bisa digunakan untuk pembuatan etanol, asam asetat dan pemanis dalam minuman.

C. Fermentasi

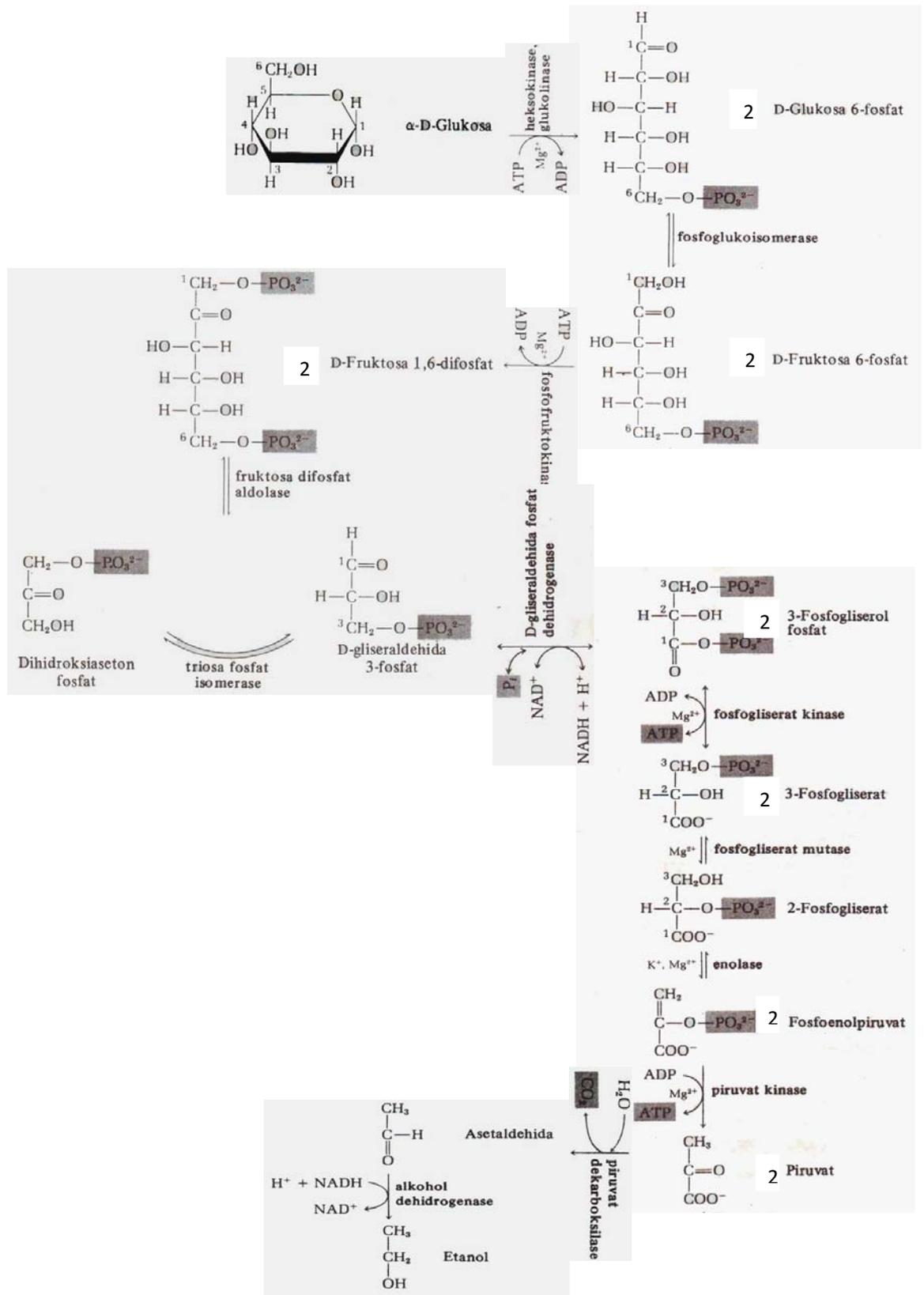
Fermentasi merupakan perubahan suatu senyawa maupun bahan organik melalui peristiwa biologis yang dilakukan oleh mikroba atau enzim menjadi suatu produk baru. Senyawa organik yang biasanya digunakan adalah karbohidrat dalam bentuk glukosa, reaksi dalam fermentasi berbeda-beda tergantung jenis gula yang digunakan dan produk yang dihasilkan (Winarno dan Fardiaz :1993).

Fermentasi alkohol melibatkan mikroorganisme yang berguna untuk merubah gula menjadi etanol dan beberapa hasil samping. Mikroorganisme ini dapat digunakan pada jenis gula yang berkarbon 6 yaitu glukosa. Jenis mikroorganisme yang dapat digunakan dalam fermentasi adalah khamir (Demirbas, 2005 : 332). Khamir yang sering digunakan dalam fermentasi alkohol adalah *Saccharomyces cereviciae*, karena mempunyai daya konversi gula menjadi etanol sangat tinggi (Wahyusi, 2004).



(Volk dan Wheeler, 1989 :306)

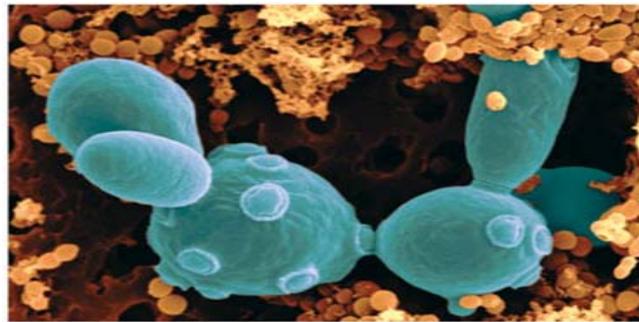
Dalam keadaan anaerob, *Saccharomyces cereviciae* memfermentasi glukosa menjadi etanol melalui *Emden-Meyerhof-Pathway* (EMP), seperti yang terlihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Reaksi fermentasi alkohol melalui EMP (Lehninger, 1991:80-103).

D. *Saccharomyces cereviceae*

Saccharomyces cereviceae merupakan sejenis khamir. *Sacc. cereviceae* dapat tumbuh dengan baik pada kondisi aerob dan anaerob. Pada kondisi anaerob dapat tumbuh dengan kecepatan pertumbuhan yang spesifik hingga 0,5 sel/jam. Pada umumnya proses produksi alkohol dilakukan oleh golongan khamir, dimana produk utama dari metabolismenya adalah etanol. Produk etanol oleh khamir menghendaki suhu antara 28 sampai 30° C dan pH antara 4,0 -5,0 untuk pertumbuhannya (Harahap, 2003 : 4). Pada Gambar 3 disajikan gambar biakan *Saccharomyces cereviceae* secara umum.



Gambar 3. Biakan *Saccharomyces cereviceae*
(Sumber:[http://yalun.wordpress.com/2008/12/14/bagaimana mikroorganisme-bisa-menghasilkan-alkohol](http://yalun.wordpress.com/2008/12/14/bagaimana-mikroorganisme-bisa-menghasilkan-alkohol))

Taksonomi *Saccharomyces cereviceae* menurut Suriawiria (1995 : 128) :

Kingdom	: Fungi
Phylum	: Ascomycota
Subphylum	: Saccharomycotina
Class	: Saccharomycetes
Order	: Saccharomycetales
Familia	: Saccharomycetaceae
Genus	: <i>Saccharomyces</i>
Species	: <i>S. cereviceae</i>

Komposisi kimia *Saccharomyces cereviceae* terdiri atas: protein 50-52%, karbohidrat 30-37%, lemak 4-5%, mineral 7-8%. Kandungan asam amino dalam khamir *Saccharomyces cereviceae* diantaranya : fenilalanin, isoleusin, lisin, leusin, metionin, sistin, treonin, triptofan dan valin (Riza, 2005 : 51).

Pada proses fermentasi ada beberapa faktor yang mempengaruhi kehidupan ragi (Harahap, 2003:4). Faktor-faktornya seperti berikut ini.

a. Nutrisi (zat gizi)

Dalam kegiatannya ragi memerlukan penambahan nutrisi untuk pertumbuhan dan perkembangbiakannya, seperti dibawah ini.

- 1). Unsur C : ada pada karbohidrat
- 2). Unsur N : dengan penambahan pupuk yang mengandung Nitrogen
- 3). Unsur P : penambahan pupuk pospat dari NPK, TSP
- 4). Mineral
- 5). Vitamin

b. Keasaman (pH)

Untuk fermentasi alkohol, ragi memerlukan media dalam suasana asam (pH 4,0-5,0).

c. Temperatur

Temperatur optimum untuk perkembangbiakkan adalah 28-30⁰C. Untuk mencegah agar suhu fermentasi tidak naik, perlu pendinginan supaya suhu dipertahankan tetap 28-30⁰C.

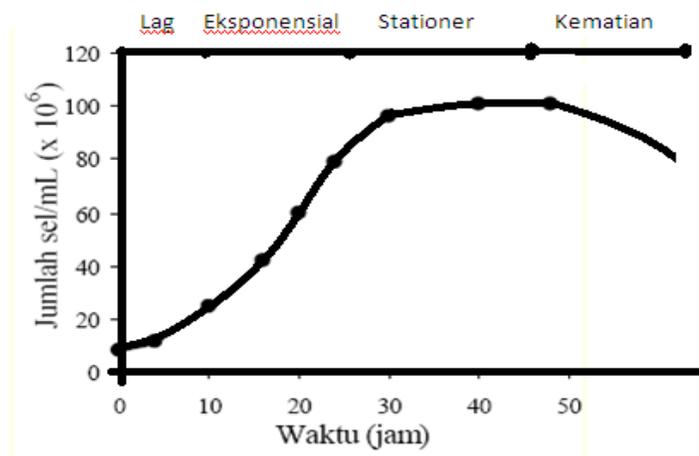
d. Udara

Fermentasi alkohol berlangsung secara anaerobic (tanpa udara). Udara hanya diperlukan pada proses pembibitan sel ragi sebelum proses fermentasi.

e. Lama fermentasi

Lamanya fermentasi berpengaruh terhadap kadar alkohol yang terbentuk, hal ini disebabkan oleh aktifitas dari enzim. Jika waktu kontak antara enzim dan substrat makin lama maka aktifitas enzim akan meningkat dan produk akan bertambah juga.

Penambahan dan pertumbuhan jumlah sel mikroba pada umumnya dapat digambarkan dalam bentuk kurva pertumbuhan. Kurva pertumbuhan *Saccharomyces cereviceae* dapat dilihat pada Gambar 4 dibawah ini :



Gambar 4. Kurva Pertumbuhan *Sacc. Cereviceiae* (Elevri, 2006 : 4)

Kurva ini umumnya terbagi ke dalam beberapa fase pertumbuhan (Suriawiria, 1995:80). Fase-fasenya dapat dilihat berikut ini.

a. Fase lag

Fase lag disebut juga fase persiapan, fase permulaan, fase adaptasi atau fase penyesuaian yang merupakan fase pengaturan suatu aktivitas dalam lingkungan baru. Selama fase ini perubahan bentuk dan pertumbuhan jumlah individu tidak terlihat secara nyata. Sehingga grafik selama fase ini umumnya mendatar.

b. Fase eksponensial

Setelah setiap individu menyesuaikan diri dengan lingkungan baru selama fase lag, setelah itu masuk ke fase eksponensial, fase eksponensial merupakan fase peningkatan aktivitas perubahan bentuk maupun pertambahan jumlah mencapai kecepatan maksimum sehingga kurvanya dalam bentuk eksponensial. Peningkatan aktivitas ini harus diimbangi oleh banyak faktor, antara lain : faktor biologis, misalnya : bentuk dan sifat mikroorganisme terhadap lingkungan yang ada, asosiasi kehidupan diantara organisme yang bersangkutan dan faktor non-biologis, misalnya : kandungan hara di dalam medium kultur, suhu, kadar oksigen, cahaya, bahan kimia dan lain-lain.

c. Fase pengurangan pertumbuhan

Berupa keadaan puncak dari fase logaritmik/eksponensial sebelum mencapai fase stasioner, di mana penambahan jumlah individu mulai berkurang atau menurun yang disebabkan oleh banyak faktor, antara lain

berkurangnya sumber nutrient di dalam media, tercapainya jumlah kejenuhan pertumbuhan jasad dan sebagainya.

d. Fase stasioner

Pengurangan sumber nutrient serta faktor-faktor yang terkandung di dalam jasadnya sendiri, maka sampailah puncak aktifitas pertumbuhan kepada titik yang tidak bisa dilampaui lagi. Sehingga selama fase ini, gambaran grafik akan mendatar.

e. Fase kematian

Ini merupakan akhir dari suatu kurva di mana jumlah individu secara tajam akan menurun sehingga grafik tampaknya akan kembali ke titik awal lagi.

E. Bioetanol

Bioetanol adalah etanol yang dihasilkan dari fermentasi glukosa (gula), sebagai bahan baku biasanya digunakan bahan yang mengandung pati seperti ubi kayu, jagung dan sagu, untuk menghasilkan bioetanol dilakukan dengan proses urutan. Pertama adalah proses hidrolisis, yakni proses konversi pati menjadi glukosa. Fraksi yang dapat dipisahkan dengan air panas, fraksi terlarut disebut amilosa dan fraksi tidak terlarut disebut amilopektin. Amilosa mempunyai struktur lurus dengan ikatan α -(1,4)-D-glikosida sedangkan amilopektin mempunyai struktur bercabang dengan ikatan α -(1,6)-D-glikosida sebanyak 4-5% dari berat total.

Kedua adalah proses fermentasi. Pada proses fermentasi ini terjadi penguraian glukosa menghasilkan etanol dan CO₂ tanpa melibatkan oksigen

(Wirahadikusuma, 1985 : 36). Kemudian dilanjutkan dengan proses destilasi. Proses destilasi dapat menghasilkan etanol dengan kadar 95% volume, untuk digunakan sebagai bahan bakar (biofuel) perlu lebih dimurnikan lagi hingga mencapai 99% yang lazim disebut fuel grade ethanol (FGE). Proses pemurnian dengan prinsip dehidrasi umumnya dilakukan dengan metode *Molecular Sieve*, untuk memisahkan air dari senyawa etanol.

Sifat fisika etanol yaitu cairan tak berwarna yang mudah menguap dengan aroma yang khas. Etanol terbakar tanpa asap dengan lidah api berwarna biru yang kadang-kadang tidak dapat terlihat pada cahaya biasa. Sifat-sifat fisika etanol utamanya dipengaruhi oleh keberadaan gugus hidroksil dan pendeknya rantai karbon etanol. Etanol juga memiliki rantai karbon nonpolar, etanol juga larut dalam senyawa nonpolar, Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Tabel 2 di bawah ini.

Tabel 2. Sifat Fisika Etanol

Kompenen	Uraian
Massa molekul relatif	46,07
Titik beku	-112 °C
Titik didih normal	78,3°C
Densitas	0,79 g/ml
Kelarutan	Larut dalam air
Viskositas pada 20°C	1,17 cP
Kalor penguapan 78,32°C	200,6 kal/g

(Sumber : Fessenden , 1991:260)

Etanol selain memiliki sifat-sifat fisika juga memiliki sifat-sifat kimia.

Sifat-sifat kimia menurut Hart (1990 : 16) dapat dilihat berikut ini.

- a. Bila direaksikan dengan asam halida akan membentuk alkil halida dan air
- b. Bila direaksikan dengan asam karboksilat akan membentuk ester dan air
- c. Dehidrogenasi etanol menghasilkan asetaldehid.
- d. Mudah terbakar di udara sehingga menghasilkan lidah api (flame) yang berwarna biru muda dan transparan dan membentuk H_2O dan gas CO_2 .

Bahan baku pembuatan bioetanol ini dibagi menjadi tiga kelompok, seperti bahan-bahan dibawah ini.

- a. Bahan mengandung sukrosa

Bahan - bahan yang termasuk dalam kelompok ini antara lain nira, tebu, nira nipati, nira sargum manis, nira kelapa, nira aren, dan sari buah mete.

- b. Bahan mengandung pati

Bahan - bahan yang termasuk kelompok ini adalah bahan - bahan yang mengandung pati atau karbohidrat. Bahan - bahan tersebut antara lain tepung – tepung ubi ganyong, sorgum biji, jagung, cantel, sagu, ubi kayu, ubi jalar, dan lain - lain.

- c. Bahan mengandung selulosa (lignoselulosa)

Bahan berselulosa (lignoselulosa) artinya adalah bahan tanaman yang mengandung selulosa (serat), antara lain kayu, jerami, batang pisang, dan lain-lain.

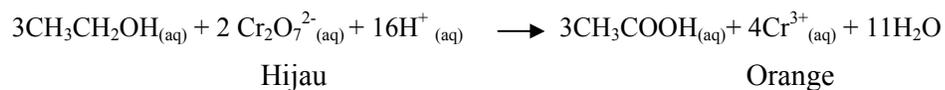
F. Destilasi

Destilasi adalah proses pemisahan suatu larutan dari suatu campuran berdasarkan perbedaan titik didih dari larutan tersebut. Kadar etanol hasil fermentasi tidak dapat mencapai level di atas 18 hingga 21 persen, sebab etanol dengan kadar tersebut bersifat *toxic* terhadap ragi yang memproduksi etanol tersebut sehingga untuk memperoleh etanol dengan kadar yang lebih tinggi perlu dilakukan destilasi. Destilasi ini bertujuan untuk memisahkan etanol dan beberapa komponen cair lain dari substrat fermentasi sehingga diperoleh kadar etanol yang lebih tinggi (Assegaf, 2009 : 22).

Prinsip destilasi sendiri adalah memisahkan zat-zat tertentu, dalam hal ini etanol/alkohol, melalui perbedaan titik didih. Bioetanol hasil proses fermentasi dipisahkan dengan cara disaring, kemudian filtrat didestilasi sehingga dapat dihasilkan bioetanol yang bebas dari kontaminan atau pengotor yang terbentuk selama proses fermentasi. Bioetanol yang dihasilkan dari destilasi pertama biasanya memiliki kadar sebesar 95 %. Destilasi merupakan proses pemisahan komponen berdasarkan titik didihnya, titik didih etanol murni sebesar 78°C, sedangkan air adalah 100°C, dengan pemanasan larutan pada suhu rentang 78-100°C akan mengakibatkan sebagian besar etanol menguap, dan melalui unit kondensasi akan bisa dihasilkan etanol dengan konsentrasi 95 % volume. Bioetanol dengan konsentrasi 95 % belum dapat dijadikan sebagai bahan bakar (Musarif, 2008 : 2).

G. Tes Kualitatif Etanol

Senyawa alkohol merupakan kelompok senyawa organik yang memiliki gugus fungsi hidroksil(-OH), dengan rumus umum R-OH. Untuk uji kualitatif etanol dapat dilakukan dengan Tes natrium bikromat. Tes ini ditandai positif mengandung alkohol jika timbul warna hijau menunjukkan adanya alkohol primer atau sekunder, sedangkan alkohol tersier tidak dapat dioksidasi (Fessenden, 1991 : 288).



H. HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*)

Kromatografi cair kinerja tinggi atau HPLC merupakan sistem pemisahan dengan kecepatan dan efisiensi yang tinggi, karena HPLC didukung oleh kemajuan dalam teknologi kolom, sistem pompa bertekanan tinggi, dan detektor yang sangat sensitif. HPLC mampu menganalisis cuplikan secara kualitatif maupun kuantitatif, baik pada komponen tunggal maupun campuran. Adapun kelebihan penggunaan HPLC antara lain mampu memisahkan molekul-molekul dari suatu campuran, memiliki resolusi yang baik, mudah dalam pelaksanaannya, kecepatan analisis dan kepekaan yang tinggi, dan juga dapat meminimumkan dekomposisi bahan yang dianalisis(Tambunan, 2011:11).

Komponen – komponen HPLC (Putra, 2004 : 5).

1. Pompa (*Pump*)

Fase gerak dalam HPLC adalah suatu cairan yang bergerak melalui kolom. Ada dua tipe pompa yang digunakan, yaitu kinerja konstan (constant pressure) dan pemindahan konstan (constant displacement).

2. Injektor (*injector*)

Berikut ini beberapa tipe dasar injektor yang dapat digunakan.

- a. Stop-Flow: Aliran dihentikan, injeksi dilakukan pada kinerja atmosfer, sistem tertutup, dan aliran dilanjutkan lagi. Teknik ini bisa digunakan karena difusi di dalam cairan kecil dan resolusi tidak dipengaruhi
- b. Septum: Septum yang digunakan pada HPLC sama dengan yang digunakan pada Kromatografi Gas. Injektor ini dapat digunakan pada kinerja sampai 60 -70 atmosfer.
- c. Loop Valve: Tipe injektor ini umumnya digunakan untuk menginjeksi volume lebih besar dari 10 μ dan dilakukan dengan cara otomatis (dengan menggunakan adaptor yang sesuai, volume yang lebih kecil dapat diinjeksikan secara manual). Pada posisi LOAD, sampel diisi ke dalam loop pada kinerja atmosfer, bila VALVE difungsikan, maka sampel akan masuk ke dalam kolom.

3. Kolom (*Column*)

Kolom adalah jantung kromatografi. Berhasil atau gagal suatu analisis tergantung pada pemilihan kolom dan kondisi percobaan yang sesuai.

Jenis-jenis kolom yang biasa digunakan dapat dilihat berikut ini.

- a. Kolom analitik : Diameter dalam 2 -6 mm. Panjang kolom tergantung pada jenis material pengisi kolom. Untuk kemasan pellicular, panjang yang digunakan adalah 50 -100 cm. Untuk kemasan poros mikropartikel, 10 -30 cm. Dewasa ini ada yang 5 cm.
- b. Kolom preparatif: umumnya memiliki diameter 6 mm atau lebih besar dan panjang kolom 25 -100 cm.

4. Detektor (*Detector*) .

Suatu detektor dibutuhkan untuk mendeteksi adanya komponen sampel di dalam kolom (analisis kualitatif) dan menghitung kadarnya (analisis kuantitatif). Detektor yang baik memiliki sensitifitas yang tinggi, gangguan (noise) yang rendah, kisar respons linier yang luas, dan memberi respons untuk semua tipe senyawa.

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan berikut ini.

1. variasi jumlah inokulum dan waktu fermentasi akan mempengaruhi konsentrasi bioetanol yang dihasilkan
2. kondisi optimum dari fermentasi yang dilakukan yaitu pada jumlah inokulum 10 mL dan waktu fermentasi 48 jam dengan konsentrasi bioetanolnya yaitu 3,37748 %.

B. Saran

Dari penelitian yang telah dilakukan maka saran yang bisa diberikan adalah sebagai berikut ini.

1. Untuk meningkatkan bioetanol yang dihasilkan sebaiknya *Saccharomyces cereviceae* yang digunakan tidak terkontaminasi bakteri lain.
2. Untuk penelitian selanjutnya sebaiknya digunakan shaker yang memiliki pengatur suhu dan inkubator agar inokulum tidak terkontaminasi mikroorganismenya lain yang dapat mengganggu kerja *Saccharomyces cereviceae*.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2008. Sumber:<http://yalun.wordpress.com/2008/12/14/> bagaimana mikroorganisme-bisa-menghasilkan-alkohol diakses pada tanggal 2 Desember 2010
- . 2010. Sumber : <http://masenchipz.com/khasiat-ubi-jalar/2010/13/10> diakses pada tanggal 5 Desember 2010
- Assegaf, Faisal. 2009. *Prospek Produksi Bioetanol Bonggol Pisang (musa paradisiaca) Menggunakan Metode Hidrolisis Asam dan Enzimatis*. Semarang : Univ. Jenderal Soedirman
- Badan Pusat Statistik. *Produksi Padi, Jagung, Kedelai, Ubi kayu dan Ubi jalar*. BPS Provinsi Sumatera Barat : No. 54/11/13/Th.XIII, 1 November 2010
- Binoto, Novi lestu L., dkk. *Hidrolisis Ampas Tebu Secara Enzimatis Menggunakan Trichoderma reesei*. Semarang : Universitas Diponegoro.
- Demirbas, Ayhan. 2005. *Bioetanol From Cellulosic Material : A Renewable Motor Fuel From Biomass*. Journal Energy Sources. Vol 27, P. 327-337
- Direktorat Gizi Depkes RI. 1992. *Daftar Komposisi Bahan Makanan*. Jakarta : Bhatara Karya Aksara.
- Elevri, Putra Asga., dan Surya Rosa Putra. 2006. *Produksi Etanol Menggunakan Saccharomyces Cerevisiae Yang Diamobilisasi Dengan Agar Batang*. Jurnal Akta Kimindo, Vol. 1No.2, halaman 105-114
- Fessenden, R.J., Fessenden, J.S., 1991. *Kimia Organik*, Terjemahan A. Hadyana P., Jilid 1, Edisi ketiga. Jakarta: Erlangga
- Gozan, Misri., dkk. 2007. *Sakarifikasi Dan Fermentasi Bagas Menjadi Ethanol Menggunakan Enzim Selulase Dan Enzim Sellobiase*. Jurnal Teknologi, Edisi No. 3 Tahun XXI
- Gultom, Togu. 2001. *Biokimia*. Yogyakarta : Universitas Negeri Yogyakarta
- Harahap, Hamidah. 2003. *Produksi Alkohol*. Karya Ilmiah USU. Halaman 1-10
- Hart, Harold. 1990. *Kimia Organik, Terjemahan Dr. Suminar Achmadi Ph.D., Edisi keenam*. Jakarta: Erlangga