

**STUDI PEMBUATAN ETANOL DARI LIMBAH GULA  
(MOLASE)**

**SKRIPSI**

**OLEH :**

**RISWAN SIMANJUNTAK  
040305043 / THP**



**DEPARTEMEN TEKNOLOGI PERTANIAN  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS SUMATERA UTARA  
2009**

**STUDI PEMBUATAN ETANOL DARI LIMBAH GULA  
(MOLASE)**

**SKRIPSI**

**OLEH :**

**RISWAN SIMANJUNTAK  
040305043 / THP**

Skripsi Sebagai Salah Satu Syarat untuk memperoleh Gelar Sarjana  
di Departemen Teknologi Pertanian Fakultas Pertanian  
Universitas Sumatera Utara

Disetujui Oleh :  
Komisi Pembimbing

**Prof. Dr. Ir. Zulkifli Lubis, M.App.Sc**

Ketua

**Mimi Nurminah, STP, M.Si**

Anggota

**DEPARTEMEN TEKNOLOGI PERTANIAN**

**FAKULTAS PERTANIAN**

**UNIVERSITAS SUMATERA UTARA**

**2009**

Judul Skripsi : Studi pembuatan Etanol dari Limbah Gula (Molase)  
Nama : Riswan Simanjuntak  
NIM : 040305043  
Departemen : Teknologi Pertanian  
Program Studi : Teknologi Hasil Pertanian

Disetujui Oleh :  
Komisi Pembimbing

**Prof. Dr. Ir. Zulkifli Lubis, M.App.Sc**

Ketua

**Mimi Nurminah, STP, M.Si**

Anggota

Mengetahui

**Ir. Saipul Bahri Daulay, M.Si**

Ketua Departemen

Tanggal Lulus :

## ABSTRAK

### STUDI PEMBUATAN ETANOL DARI LIMBAH GULA (MOLASE)

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pembuatan etanol dari limbah gula (molase). Penelitian ini menggunakan satu faktor dengan metode uji jarak duncan yakni konsentrasi Glukose Yeast Peptone (G) : (0%, 2%, 4%, 6%, 8 %, dan 10 %), Parameter analisis adalah : kadar gula terfermentasi, pH Molase, Kadar alkohol Setelah terfermentasi, kadar alkohol setelah destilasi, dan rendemen alkohol.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi Glukose Yeast Peptone (GYP) berpengaruh berbeda sangat nyata terhadap kadar gula terfermentasi, pH molase, kadar alkohol setelah terfermentasi, kadar alkohol setelah destilasi dan rendemen alkohol. Konsentrasi Glukose Yeast Peptone (GYP) 10 % menghasilkan etanol yang baik dan dapat diterima.

Kata kunci : Etanol, Limbah gula (molase), Konsentrasi Glukose Yeast Peptone (GYP).

### THE STUDY OF ET HANOL MAKING FROM MOLASES

The research was performed to find the study of ethanol making from molases. The research had been performed using duncan's methode with one factor i.e : Glucose Yeast Peptone Concentration (G) : (0, 2, 4, 6, 8, and 10 %). Parameters analysed were fermented sugar content, molases pH, alcohol content after fermented, alcohol content after destilasion, and alcohol remain.

The result showed that the Glucose Yeast Peptone (GYP) concentration had highly significant effect on fermented sugar content, molases pH, alcohol content after fermented, alcohol content after destilation, and alcohol remain. Glucose Yeast Peptone concentration 10 % the best and more acceptable quality of ethanol.

Keyword : Ethanol, molases, Glucose Yeast Peptone Concentration.

## RINGKASAN

Riswan Simanjuntak “**Studi Pembuatan Etanol Dari Limbah Gula (Molase)**” dibimbing oleh Prof. Dr. Ir. Zulkifli Lubis, M.App.Sc sebagai ketua komisi pembimbing dan Ibu Mimi Nurminah, STP, M.Si selaku anggota komisi pembimbing.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pembuatan etanol dari limbah gula (molase) dengan pemberian Glukose Yeast Pepton (GYP).

Perlakuan penelitian terdiri dari satu faktor : Konsentrasi Glukosa Yeast peptone (GYP) (G) yang terdiri dari 6 taraf yaitu: G<sub>1</sub> (0%), G<sub>2</sub> (2%), G<sub>3</sub> (4%), G<sub>4</sub> (6%), G<sub>5</sub> (8%), dan G<sub>6</sub> (10%).

Hasil penelitian yang dianalisis secara statistika menghasilkan kesimpulan sebagai berikut:

### **Kadar Gula Terfermentasi (mg)**

Konsentrasi GYP berpengaruh sangat nyata ( $P < 0.01$ ) terhadap kadar gula terfermentasi. Kadar gula molase (setelah fermentasi) tertinggi diperoleh pada perlakuan G<sub>1</sub> (0%) sebesar 0.54 mg sedangkan yang terendah pada perlakuan G<sub>6</sub> (10 %) sebesar 0.18 mg.

### **pH Molase**

Konsentrasi GYP berpengaruh sangat nyata ( $P < 0.01$ ) terhadap pH molase terfermentasi. pH molase (setelah fermentasi) tertinggi diperoleh pada perlakuan G<sub>1</sub> (0%) sebesar 5.54 sedangkan yang terendah pada perlakuan G<sub>6</sub> (10 %) sebesar 5.20.

### **Kadar Alkohol Setelah Fermentasi**

Konsentrasi GYP berpengaruh sangat nyata ( $P < 0.01$ ) terhadap kadar alkohol setelah fermentasi. Kadar alkohol (setelah fermentasi) tertinggi diperoleh pada perlakuan  $G_6$  (10%) sebesar 19.65 % sedangkan yang terendah pada perlakuan  $G_1$  (0 %) sebesar 4.23 %.

### **Kadar Alkohol Setelah Destilasi**

Konsentrasi GYP berpengaruh sangat nyata ( $P < 0.01$ ) terhadap kadar alkohol setelah destilasi. Kadar alkohol (setelah destilasi) tertinggi diperoleh pada perlakuan  $G_6$  (10%) sebesar 90.50% sedangkan yang terendah pada perlakuan  $G_1$  (0 %) sebesar 42.25 %.

### **Rendemen Alkohol**

Konsentrasi GYP berpengaruh sangat nyata ( $P < 0.01$ ) terhadap rendemen alkohol setelah destilasi. Rendemen alkohol (setelah destilasi) tertinggi diperoleh pada perlakuan  $G_6$  (10%) sebesar 20.45% sedangkan yang terendah pada perlakuan  $G_1$  (0 %) sebesar 0.43 %.

## **RIWAYAT HIDUP**

**RISWAN SIMANJUNTAK**, lahir di Sipintu-pintu 8 Maret 1986, anak pertama dari 4 bersaudara dari Ayahanda D.Simanjuntak,SPd dan Ibunda M.Saragih, SPd yang beragama Kristen Protestan.

Pada tahun 1991 penulis memasuki SD Negeri 6 Huta Bayu Raja, lulus tahun 1997. Pada tahun 1997 penulis memasuki SMP Negeri 1 P.Siantar, lulus tahun 2000. Pada tahun 2000 penulis memasuki SMU Negeri 2 P.Siantar, lulus tahun 2003. Pada tahun 2004 Penulis memasuki Universitas Sumatera Utara, Fakultas Pertanian, Departemen Teknologi Pertanian, Program Studi Teknologi Hasil Pertanian melalui jalur SPMB.

Selama masa kuliah penulis menjadi Ketua Umum Komisi Pemilihan Umum Fakultas Pertanian pada tahun 2006. Wakil sekretaris Jendral Pemerintahan Mahasiswa Fakultas Pertanian tahun 2006/2007. Wakil sekretaris Jendral Ikatan Mahasiswa Teknologi Hasil Pertanian (IMTHP) tahun 2007/2008. Ketua Umum Putera puteri Pecinta alam (Parintal) tahun 2007. Menteri Kelautan dan Perikanan Pemerintahan Mahasiswa Universitas Sumatera Utara tahun 2007-2009.

Pada bulan Juli 2007 Penulis mengikuti Praktek Kerja Lapangan (PKL) di pabrik Teh Botol Sosro di T.Morawa Kab, Deliserdang.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis ucapkan kepada Tuhan yang Maha Esa Yang telah memberikan rahmat dan karunianya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Skripsi ini berjudul “ **Studi Pembuatan Etanol dari Limbah Gula (Molase)**” sebagai salah satu syarat memperoleh gelar sarjana di Departemen Teknologi Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara, Medan.

Dalam kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada Prof. Dr. Ir. Zulkifli Lubis, M.App.Sc selaku ketua pembimbing dan Ibu Mimi Nurminah, STP, M.Si. selaku anggota pembimbing yang telah memberikan arahan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Yang tercinta kepada Ayahanda D.Simanjuntak, SPd, Ibunda M.Saragih, SPd dan saudaraku tercinta Effy Simanjuntak, AMG, Aptri simanjuntak dan Nopendra Simanjuntak kepada asisten Teknologi Analisa Kimia Bahan Pangan, teman-teman stambuk 2004 di Fakultas Pertanian khususnya THP dan rekan-rekan seperjuangan di sanggar tercinta yang memberikan dukungan kepada penulis.

Akhir kata penulis mengucapkan terima kasih dan semoga skripsi ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan.

Medan, Februari 2009

Penulis



## DAFTAR ISI

	<b>Hal</b>
<b>RINGKASAN</b> .....	<b>i</b>
<b>RIWAYAT HIDUP</b> .....	<b>iii</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>iv</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>v</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>vii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>viii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>ix</b>
<b>PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
Latar Belakang .....	1
Tujuan Penelitian .....	2
Kegunaan Penelitian.....	3
Hipotesa Penelitian.....	3
<b>TINJUAN PUSTAKA</b> .....	<b>4</b>
Molase .....	4
Ragi .....	5
Manfaat dan Penggunaannya.....	6
<i>Saccharomyces cereviceae</i> .....	7
Sumber Energi .....	8
Fermentasi .....	10
Pengertian Fermentasi .....	10
Mekanisme Fermentasi.....	11
Bahan Bakar Etanol Campuran.....	15
Etanol .....	16
Cara Pembuatan Etanol .....	17
Proses Gelatinisasi.....	18
Fermentasi.....	19
Destilasi .....	21
<b>BAHAN DAN METODA PENELITIAN</b> .....	<b>22</b>
Tempat dan Waktu Penelitian.....	22
Bahan dan Alat Penelitian .....	22
Bahan .....	22
Reagensia .....	22
Alat .....	22
Metode Penelitian .....	23

Model Rancangan .....	24
Pelaksanaan Penelitian .....	24
Pembuatan GYP .....	24
Pembuatan Etanol.....	25
Pengamatan dan Pengukuran Data.....	25
Kadar Alkohol.....	25
Derajat Keasaman .....	26
Gula Terfermentasi.....	26
Rendemen .....	27
<b>HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>30</b>
Pengaruh Konsentrasi Glukosa Yeast pepton (GYP) terhadap parameter yang diamati .....	30
Pengaruh Konsentrasi Glukosa Yeast Pepton (GYP) terhadap Kadar Gula Terfermentasi .....	31
Pengaruh Konsentrasi Glukosa Yeast Pepton (GYP) terhadap pH Molase Terfermentasi .....	33
Pengaruh Konsentrasi Glukosa Yeast Pepton (GYP) terhadap Kadar Alkohol setelah Terfermentasi.....	36
Pengaruh Konsentrasi Glukosa Yeast Pepton (GYP) terhadap Kadar Alkohol Setelah Destilasi .....	38
Pengaruh Konsentrasi Glukosa Yeast Pepton (GYP) terhadap Rendemen Alkohol.....	42
<b>KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>45</b>
Kesimpulan.....	45
Saran.....	45
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>46</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>47</b>

## DAFTAR TABEL

No.	Judul	Hal
1.	Komposisi Kimia Molase.....	5
2.	Keunggulan Bahan Bakar Etanol Dibandingkan Gasoline .....	14
3.	Hasil Analisa Pengaruh Konsentrasi Glukosa Yeast Pepton Terhadap Parameter yang Diamati (Fermentasi 5 hari) .....	30
4.	Uji Jarak Duncan Pengaruh Konsentrasi Glukosa Yeast Pepton Terhadap Kadar Gula Molase (setelah fermentasi) (mg) .....	31
5.	Uji Jarak Duncan Pengaruh Konsentrasi Glukosa Yeast Pepton Terhadap pH Molase (setelah fermentasi).....	33
6.	Uji Jarak Duncan Pengaruh Konsentrasi Glukosa Yeast Pepton Terhadap Kadar Alkohol Setelah Fermentasi.....	36
7.	Uji Jarak Duncan Pengaruh Konsentrasi Glukosa Yeast pepton Terhadap Kadar Alkohol (setelah destilasi) .....	39
8.	Uji Jarak Duncan Pengaruh Konsentrasi Glukosa Yeast pepton Terhadap Rendemen Alkohol (setelah destilasi) .....	42

## DAFTAR GAMBAR

No.	Judul	Hal
1.	Reaksi Fermentasi.....	10
2.	Jalur Perombakan Glukosa.....	12
3.	Skema Pembuatan Glukose Yeast Pepton (GYP) .....	28
4.	Skema Pembuatan Etanol.....	29
5.	Grafik Hubungan konsentrasi Glukosa Yeast Pepton dengan Kadar Gula (setelah fermentasi) .....	32
6.	Grafik Hubungan konsentrasi Glukosa Yeast Pepton dengan pH Molase (setelah fermentasi) .....	34
7.	Grafik Hubungan konsentrasi Glukosa Yeast Pepton dengan Kadar Alkohol (setelah fermentasi) .....	37
8.	Grafik Hubungan konsentrasi Glukosa Yeast Pepton dengan Kadar Alkohol (setelah destilasi).....	40
9.	Grafik Hubungan konsentrasi Glukosa Yeast Pepton dengan Rendemen (setelah destilasi) .....	43

## DAFTAR LAMPIRAN

No.	Judul	Hal
1.	Data Pengamatan Analisis Kadar Gula Setelah Fermentasi (mg) .....	47
2.	Daftar Analisis Sidik Ragam Kadar Gula Setelah Fermentasi (mg) .....	47
3.	Data Pengamatan Analisis pH Molase Setelah Fermentasi .....	48
4.	Daftar Analisis Sidik Ragam pH Molase Setelah Fermentasi.....	48
5.	Data Pengamatan Analisis Kadar Alkohol Setelah Fermentasi (%).....	49
6.	Daftar Analisis Sidik Ragam Kadar Alkohol Setelah Fermentasi (%).....	49
7.	Data Pengamatan Analisis Kadar Alkohol Setelah Destilasi (%) .....	50
8.	Daftar Analisis Sidik Ragam Kadar Alkohol Setelah Destilasi (%).....	50
9.	Data Pengamatan Analisis Rendemen (%).....	51
10.	Daftar Analisis Sidik Ragam Analisis Rendemen (%) .....	51

## PENDAHULUAN

### Latar Belakang

Indonesia yang merupakan negara agraris, setiap tahunnya menghasilkan limbah dari pertanian dan industri pertanian dalam jumlah yang besar. Pada Industri Tapioka, selain menghasilkan tepung tapioka, juga dihasilkan sisa-sisa pengolahan berupa limbah padat dan cair. Pada industri gula tebu, selain menghasilkan gula tebu, juga dihasilkan molase yang merupakan produk sampingan selama proses pemutihan gula. Dibeberapa pabrik gula, molase ini diekspor ke luar negeri dengan harga yang relatif murah. Dibanyak tempat, limbah ini masih sangat kecil daya gunanya dan sering menjadi masalah pencemaran lingkungan.

Krisis energi dunia pada paruh kedua tahun ini yang tergolong parah dan melanda seluruh negara di dunia telah membangkitkan keyakinan bahwa bioenergi merupakan alternatif pemecahan hal tersebut. Sementara harga minyak bumi yang melambung belakangan ini dengan sendirinya membangkitkan insentif ekonomi bagi pengembangan bioenergi sebagai alternatif lain dari fosil energi yang kian mahal dan langka. Insentif itu juga timbul karena semakin besarnya perhatian negara-negara dunia pada persoalan lingkungan hidup akibat pencemaran yang kian parah, yang timbul dari emisi gas buang penggunaan fosil energi. Keunggulan bioenergi yang utama adalah renewable dan dampak penggunaannya terhadap lingkungan hidup jauh lebih ramah dari penggunaan fosil energi selama ini. Indonesia merupakan salah satu negara yang sedang menghadapi persoalan energi yang serius akibat ketergantungan yang sangat besar

terhadap energi fosil, sementara pengembangan bioenergi sebagai alternatif masih kurang mendapat perhatian. Sesungguhnya potensi Indonesia untuk mengembangkan bioenergi relatif besar, baik bioetanol maupun biodiesel. Salah satu potensi yang relatif besar adalah pengembangan bioetanol berbahan baku tebu. Dengan asumsi 80 liter bioetanol dapat dihasilkan dari 1 ton tebu (data teknis di Brazil) dan produktivitas tebu rata-rata 80 ton per ha, maka dari setiap ha lahan tebu dapat dihasilkan 6.400 liter etanol. Apabila etanol dari tebu dapat mensubstitusi 10% dari kebutuhan gasoline pada tahun 2010 (33,4 milyar liter), maka target tersebut bisa dicapai dengan pengembangan areal tebu seluas 522 ribu ha. Dengan target substitusi itu, jumlah gasoline yang dapat disubstitusi sebesar 3.34 milyar liter atau lebih dari Rp 15 triliun. Data survey menunjukkan ketersediaan lahan di luar Jawa yang sesuai untuk tebu terdapat sekitar 750 ribu ha.

Melihat masalah tersebut diatas, timbullah gagasan untuk memanfaatkan molase dengan jalan mengubahnya menjadi bahan lain yang lebih berguna.

Molase yang merupakan produk sampingan, masih banyak mengandung gula dan asam-asam anorganik. Hal ini menimbulkan ikut sertanya mikrobia dalam pengolahan molase. Molase seperti juga air kelapa, dapat dipakai sebagai media pertumbuhan mikrobia terutama khamir, sehingga merupakan bahan baku yang sangat baik untuk industri pembuatan etanol. Produksi etanol dari molase ini melibatkan mikrobia yang dapat menghasilkan etanol. Berbagai jenis mikrobia dapat digunakan untuk menghasilkan etanol. Khamir *Saccharomyces cereviceae* merupakan mikrobia yang paling banyak dan paling baik untuk digunakan dalam fermentasi etanol karena relatif lebih efisien dalam merubah gula menjadi etanol dan lebih toleran terhadap etanol bila dibandingkan dengan mikrobia lain.

Untuk meningkatkan efisien produksi etanol, para ahli telah menyelidiki biokimia dari proses fermentasi etanol, sehingga teknologi fermentasi etanol mengalami kemajuan yang berarti.

Dengan alasan tersebut, penulis tertarik untuk melakukan penelitian tentang **“Studi Pembuatan Etanol dari Limbah Tebu (Molase)”** dengan harapan dapat memberikan informasi mengenai cara pembuatan etanol dari limbah tebu sehingga lebih efektif.

### **Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pembuatan etanol dari limbah tebu (molase) dengan pemberian Glukose Yeast Pepton (GYP).

### **Kegunaan Penelitian**

- Sebagai sumber informasi dalam pembuatan etanol dari limbah tebu.
- Sebagai sumber data dalam penyusunan skripsi di Departemen Teknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara.

### **Hipotesa Penelitian**

Diduga ada pengaruh pencampuran Glukose Yeast Pepton (GYP) terhadap pembuatan etanol dari limbah tebu (molase).



## TINJAUAN PUSTAKA

### Molase

Bahan sisa dari industri gula banyak dijumpai di samping hasil utamanya. Dari berbagai bahan sisa yang dihasilkan industri gula, molase merupakan bahan dasar yang berharga sekali untuk industri dengan fermentasi. Molase adalah sejenis sirup yang merupakan sisa dari proses pengkristalan gula pasir. Molase tidak dapat dikristalkan karena mengandung glukosa dan fruktosa yang sulit untuk dikristalkan. Molase merupakan produk limbah dari industri gula di mana produk ini masih banyak mengandung gula dan asam – asam organik, sehingga merupakan bahan baku yang sangat baik untuk industri pembuatan etanol. Bahan ini merupakan produk sampingan yang dihasilkan selama proses pemutihan gula. Kandungan gula dari molase terutama sukrosa berkisar 40 – 55 % (<http://www.whfoods.com>, 2008).

Molase masih mengandung kadar gula yang cukup untuk dapat menghasilkan etanol dengan proses fermentasi, biasanya pH molase berkisar antara 5,5 – 6,5. Molase yang masih mengandung kadar gula sekitar 10 – 18 % telah memberikan hasil yang memuaskan untuk pembuatan etanol. Jenis mikroorganisme yang berperan dalam proses ini adalah golongan khamir *Saccharomyces cerevisiae* (<http://www.wikipedia.com>, 2008)

Molase dari tebu dapat dibedakan menjadi 3 jenis. Molase kelas 1 , kelas 2 dan “black strap”. Molase kelas 1 didapatkan saat pertama kali jus tebu dikristalisasi. Saat dikristalisasi terdapat sisa jus yang tidak mengkristal dan

berwarna bening. Maka sisa jus ini langsung diambil sebagai molase kelas 1. Kemudian molase kelas 2 atau biasa disebut dengan "Dark" diperoleh saat proses kristalisasi kedua. Warnanya agak kecoklatan sehingga sering disebut juga dengan istilah "Dark". Dan molase kelas terakhir, "Black Strap" diperoleh dari kristalisasi terakhir. Warna "black strap" ini memang mendekati hitam (coklat tua) sehingga tidak salah jika diberi nama "Black Strap" sesuai dengan warnanya. "Black strap" ternyata memiliki kandungan zat yang berguna. Zat-zat tersebut antara lain kalsium, magnesium, potasium, dan besi. "Black strap" memiliki kandungan kalori yang cukup tinggi, karena terdiri dari glukosa dan fruktosa (<http://www.bioetanolindo.blogspot.com>, 2007)

**Tabel 1. Komposisi Kimia Molase**

Komposisi	Presentase (%)
Bahan kering	77 – 84
Total gula sebagai gula invert	52 – 67
C	-
N	0,4 – 1,5
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	0,6 – 2,0
CaO	0,1 – 1,1
MgO	0,03 – 0,1
K <sub>2</sub> O	2,6 - 5,0
SiO <sub>2</sub>	-
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	-
Fe <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	-
Total abu	7 - 11

Sumber : (<http://www.wikipedia.com>, 2006)

## Ragi

Ragi atau dikenal juga dengan sebutan 'Yeast' merupakan semacam tumbuh tumbuhan bersel 1 yang tergolong dalam keluarga cendawan. Ragi akan bekerja bila ditambahkan gula dan kondisi suhu yang hangat. Kandungan karbondioksida yang dihasilkan akan membuat suatu adonan menjadi

mengembang dan terbentuk pori - pori. Ada 2 jenis ragi yang ada dipasaran yaitu ragi padat dan ragi kering. Jenis ragi kering ini ada yang berbentuk butiran kecil - kecil dan ada juga yang berupa bubuk halus. Jenis ragi yang butirannya halus dan berwarna kecokelatan ini umumnya digunakan dalam pembuatan roti. Sedangkan ragi padat yang bentuknya bulat pipih, sering digunakan dalam pembuatan tapai sehingga banyak orang menyebutnya dengan ragi tapai. Ragi ini dibuat dari tepung beras, bawang putih dan kayu manis yang diaduk hingga halus, lalu disimpan dalam tempat yang gelap selama beberapa hari hingga terjadi proses fermentasi. Setelah tumbuh jamur yang berwarna putih susu kemudian ragi ini dijemur kembali hingga benar - benar kering (<http://www.wikipedia.com>, 2008).

Ragi padat memiliki aroma yang sangat tajam dengan aroma alkohol yang sangat khas. *Yeast* adalah group non filamentus fungi, uniseluler dan berkembang biak dengan cara "budding". Khamir yang memproduksi askospora termasuk dalam golongan *Ascomycetes*. *Saccharomyces cerevisiae* adalah khamir yang digunakan untuk fermentasi alkohol (Muslimin, 1996).

**Manfaat dan Penggunaannya :**

- Ragi padat, selain dimanfaatkan untuk fermentasi pembuatan tapai terkadang juga untuk mengempukkan ikan atau membuat pindang bandeng. Dalam penggunaannya, ragi padat harus dihaluskan sebelum ditaburkan dalam bahan lainnya.
- Ragi kering yang terbentuk butiran dan bubuk ini bisa membuat adonan roti menjadi mengembang, empuk dan mulus.

- Untuk pemakaiannya, ragi kering bentuknya butiran harus dicampur dengan air hangat dan gula agar terbentuk 'adonan biang' sebelum dicampur dengan adonan tepung.

Sedangkan ragi kering yang bentuknya butiran halus atau ragi instan, cara pemakaiannya bisa langsung dicampur dalam adonan tepung, gula, air dan bahan lainnya (Tim Penulis UNAIR, 2007).

Proses pembuatan ragi tape cukup sederhana yaitu bahan-bahan seperti laos, bawang putih, air tebu, ubi kayu, jeruk nipis dan bahan lainnya dicampur menjadi satu, kemudian ditambahkan air sampai terbentuk adonan, kemudian didiamkan pada suhu kamar selama 3 hari dalam keadaan terbuka, dipisahkan kotorannya dan diperas untuk mengurangi airnya, setelah itu dibentuk bulatan-bulatan lalu dikeringkan. Selama 3 hari akan tumbuh ragi dan kapang secara alami, dalam hal ini dapat ditambahkan ragi pasar untuk mempercepat pertumbuhan kapang dan ragi tersebut (Tim Penulis IPB, 2006).

Ragi yang mengandung mikroflora seperti kapang, khamir dan bakteri dapat berfungsi sebagai starter fermentasi. Selain itu ragi juga kaya akan protein yakni sekitar 40 – 50 %, jumlah protein ragi tersebut tergantung dari jenis bahan penyusunnya (Susanto dan Saneto, 1994).

### ***Saccharomyces cerevisiae***

Pemilihan mikroorganisme biasanya didasarkan pada jenis karbohidrat yang digunakan sebagai medium. Untuk memproduksi alkohol dari pati dan gula digunakan khamir *Saccharomyces cerevisiae*. Pemilihan tersebut bertujuan agar didapatkan mikroorganisme yang mampu tumbuh dengan cepat dan mempunyai

toleransi terhadap konsentrasi gula yang tinggi, mampu menghasilkan alkohol dalam jumlah yang banyak dan tahan terhadap alkohol tersebut (Sa'id, 1987).

*Saccharomyces cerevisiae* mempunyai bentuk sel bundar, oval atau elongasi. Berkembang biak secara vegetatif dengan membentuk tunas dan membentuk spora aseksual pada askus 1 – 4 spora dengan bentuk yang beragam. Reproduksi generatif berlangsung dengan konjugasi isogami maupun heterogami (Pelczar, *et al.*, 1983).

Menurut Fraenkel (1982), temperature pertumbuhan yang optimum untuk *Saccharomyces cereviceae* adalah 28 – 36<sup>0</sup>C dan pH optimum untuk pertumbuhan sel khamir 4,5 – 5,5 ( Moat and Foster, 1988).

Menurut Sofer and Zaborsky (1981), konsentrasi etanol maksimum yang dapat dihasilkan mikrobial adalah berkisar antara 11 – 14 %.

### **Sumber Energi**

Untuk keperluan hidupnya khamir memerlukan bahan-bahan organik dan anorganik. Khamir mendapatkan energi dari ikatan karbon untuk pertumbuhan dan perkembangbiakannya yang berasal dari molekul sederhana seperti gula, asam organik atau alkohol yang diubah menjadi senyawa kompleks seperti protein, polisakarida, lemak dan lignin (Garraway *and* Evans, 1984).

Menurut Buckle, *et al.*, (1987) karbon dan energi dapat diperoleh dari gula karbohidrat sederhana seperti glukose. Karbohidrat sederhana seperti glukose. Karbohidrat merupakan sumber karbon yang paling banyak digunakan dalam fermentasi oleh sel khamir.

Khamir memerlukan bahan-bahan organik dan anorganik yang diserap dan digunakan sel dalam proses metabolisme. Energi yang dihasilkan digunakan untuk

aktivitas sel. Fungsi fisiologik dari karbon adalah sebagai bahan dasar materi sel organik (Suriawiria, 1986).

Dalam industri alkohol dan anggur digunakan khamir jenis *Saccharomyces cerevisiae* yang disebut khamir permukaan (*top yeast*), yaitu khamir yang bersifat fermentatif kuat dan tumbuh dengan cepat pada suhu 20°C. Khamir permukaan tumbuh secara menggerombol dan melepaskan karbon dioksida dengan cepat, mengakibatkan sel terapung pada permukaan (Fardiaz, 1992).

Salah satu jenis mikroorganisme yang memiliki daya konversi gula menjadi etanol yang sangat tinggi adalah *Saccharomyces cereviceae*. Mikroorganisme ini menghasilkan enzim zimase dan invertase. Enzim Zimase berfungsi sebagai pemecah sukrosa menjadi monosakarida (glukosa dan fruktosa). Enzim invertase selanjutnya mengubah glukosa menjadi etanol. Konsentrasi gula yang umumnya dibuat dalam pembuatan etanol sekitar 14-20 persen. Jika konsentrasi gula terlalu tinggi akan menghambat aktivitas khamir. Lama fermentasi sekitar 30 – 70 jam dengan kondisi fermentasi anaerob (Judoamidjojo, *et al.*, 1992).

Bakteri asam laktat merupakan bakteri penghasil sejumlah besar asam sebagai hasil akhir dari metabolisme gula (karbohidrat), contohnya *Propionibakterium*, *Streptococcus* sp., *Leuconostoc mesenteroides* dan lainnya. Asam laktat yang dihasilkan dengan cara tersebut akan menurunkan nilai pH lingkungan pertumbuhannya dan menimbulkan rasa asam. Bakteri asam asetat seperti *Acetobacter aceti* melakukan metabolisme yang bersifat aerobik. Peranan utamanya dalam fermentasi bahan pangan adalah mengoksidasi alkohol dan

karbohidrat lainnya menjadi asam asetat. Khamir berperan dalam fermentasi alkohol dengan produk utamanya yaitu etanol. Jenis khamir ini yaitu *Saccharomyces cereviceae* (Buckle, *et al.*, 1987).

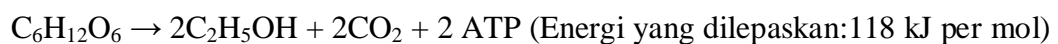
## **Fermentasi**

### **Pengertian Fermentasi**

Fermentasi adalah proses produksi energi dalam sel dalam keadaan anaerobik (tanpa oksigen). Secara umum, fermentasi adalah salah satu bentuk respirasi anaerobik, akan tetapi, terdapat definisi yang lebih jelas yang mendefinisikan fermentasi sebagai respirasi dalam lingkungan anaerobik dengan tanpa akseptor elektron eksternal (Dirmanto, 2006).

Fermentasi dapat diartikan sebagai perubahan gradual oleh enzim beberapa bakteri, khamir dan jamur. Contoh perubahan kimia dari fermentasi meliputi pengasaman susu, dekomposisi pati dan gula menjadi alkohol dan karbondioksida, serta oksidasi senyawa nitrogen organik (Hidayat, *et al.*, 2006).

Reaksi dalam fermentasi berbeda-beda tergantung pada jenis gula yang digunakan dan produk yang dihasilkan. Secara singkat, glukose ( $C_6H_{12}O_6$ ) yang merupakan gula paling sederhana, melalui fermentasi akan menghasilkan etanol ( $2C_2H_5OH$ ). Reaksi fermentasi ini dilakukan oleh ragi, dan digunakan pada produksi makanan. Persamaan Reaksi Kimia yaitu :



Dijabarkan sebagai Gula (glukosa, fruktosa, atau sukrosa)  $\rightarrow$  Alkohol (etanol) + Karbon dioksida + Energi (ATP) (Nurdyastuti, 2008).

### **Gambar 1. Reaksi fermentasi**

Jalur biokimia yang terjadi, sebenarnya bervariasi tergantung jenis gula yang terlibat, tetapi umumnya melibatkan jalur glikolisis, yang merupakan bagian dari tahap awal respirasi aerobik pada sebagian besar organisme. Jalur terakhir akan bervariasi tergantung produk akhir yang dihasilkan (Duryatmo, 2006).

### **Mekanisme Fermentasi**

Di dalam proses fermentasi, kapasitas mikroba untuk mengoksidasi tergantung dari jumlah acceptor electron terakhir yang dapat dipakai. Sel – sel melakukan fermentasi menggunakan enzim – enzim yang akan mengubah hasil dari reaksi oksidasi, dalam hal ini yaitu asam menjadi senyawa yang memiliki muatan positif, sehingga dapat menangkap elektron terakhir dan menghasilkan energi (Winarno dan Fardiaz, 1990).

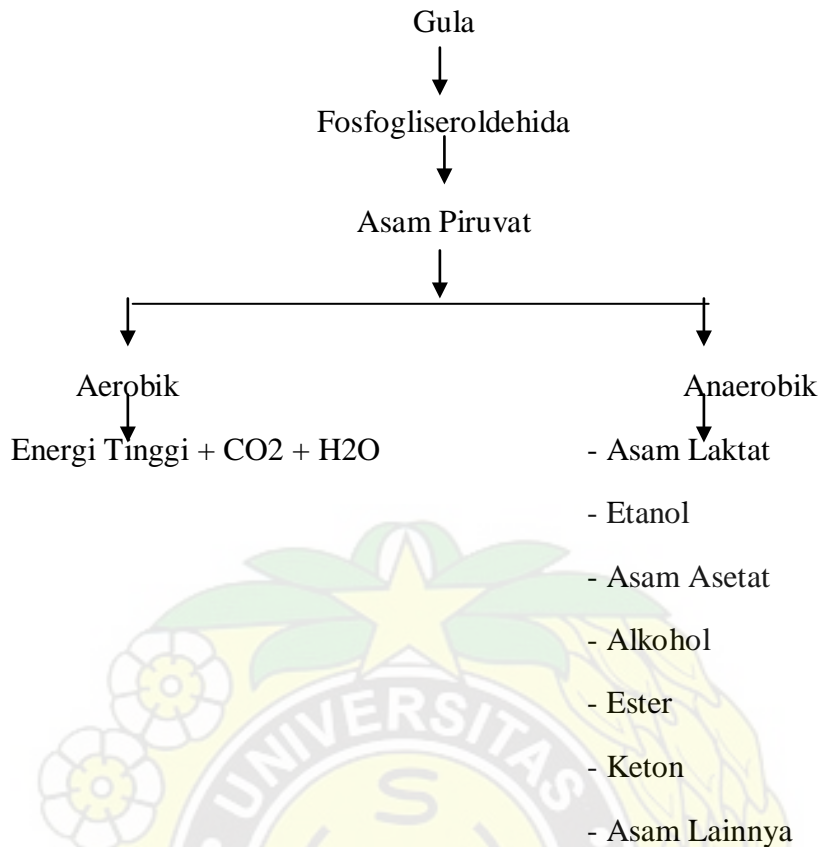
Untuk memperoleh hasil fermentasi yang optimum, persyaratan untuk pertumbuhan ragi harus diperhatikan, yaitu :

- pH dan kadar karbohidrat dari substrat
- Temperatur selama fermentasi
- Kemurnian dari ragi itu sendiri

(Winarno, *et al.*, 1980).

Jika tumbuh dalam keadaan anerobik, kebanyakan khamir lebih cenderung memfermentasi substrat karbohidrat untuk menghasilkan etanol bersama sedikit produk akhir sesuai dengan jalur glikolisis menurut Buckle, *et al.*, (1987) sebagai berikut :





**Gambar 2. Jalur Perombakan Glukosa**

Etanol (disebut juga etil-alkohol atau alkohol saja), adalah alkohol yang paling sering digunakan dalam kehidupan sehari-hari. Karena sifatnya yang tidak beracun bahan ini banyak dipakai sebagai pelarut dalam dunia farmasi dan industri makanan dan minuman. Etanol tidak berwarna dan tidak berasa tapi memiliki bau yang khas. Bahan ini dapat memabukkan jika diminum. Etanol sering ditulis dengan rumus EtOH. Rumus molekul etanol adalah  $C_2H_5OH$  atau rumus empiris  $C_2H_6O$  (<http://www.ristek.co.id>, 2008).

Etanol dapat dibuat dengan beberapa cara sebagai berikut:

- Etanol untuk konsumsi umumnya dihasilkan dengan proses fermentasi atau peragian bahan makanan yang mengandung pati atau karbohidrat, seperti beras, dan umbi. Alkohol yang dihasilkan dari proses fermentasi biasanya berkadar rendah. Untuk mendapatkan alkohol dengan kadar yang lebih tinggi

diperlukan proses pemurnian melalui penyulingan atau distilasi. Etanol untuk keperluan industri dalam skala lebih besar dihasilkan dari fermentasi tetes, yaitu hasil samping dalam industri gula tebu atau gula bit.

- Melalui sintesis kimia melalui antara reaksi gas etilen dan uap air dengan asam sebagai katalis. Katalis yang dipakai misalnya asam fosfat. Asam sulfat dapat juga dipakai sebagai katalis, namun dewasa ini sudah jarang dipakai.

(<http://www.ristek.co.id>, 2008).

Alkohol merupakan istilah umum dari etanol yang mempunyai efek yang menguntungkan dan dapat juga merugikan bagi manusia. Etanol pada kadar yang rendah dapat berperan sebagai stimulan dan pada kadar tinggi dapat berperan pengganti bahan bakar minyak pada saat ini. Etanol untuk dipergunakan sebagai bahan harus dimurnikan dari air. Cara lama dilakukan dengan destilasi tetapi kemurnian hanya sampai 96 % karena adanya peristiwa azeotrop antara campuran alkohol dan air. Tidak mungkin memperoleh alkohol murni dengan cara ini maka dipergunakan absorpsi fisik atau *molecular sieve*. Pada umumnya alkohol ditambahkan dalam bensin sebanyak 10% atau dikenal dengan E10. Maksud penambahan pada mulanya untuk mengurangi emisi gas CO dan sedikit meningkatkan nilai oktan. Namun penambahan ini menjadi bernilai ekonomis ketika harga minyak bumi mencapai 80 USD per barel. Alkohol yang ditambahkan harus bebas dari kandungan air untuk melindungi mesin mobil dari korosi dan kerusakan bahan packing dari polimer. E10 dapat langsung dipergunakan pada mobil tanpa banyak perubahan. Campuran E85 dengan etanol 85% bensin 15%, dipergunakan untuk mobil kusus untuk bahan bakar etanol. Jumlah bensin 15% diperlukan karena etanol kurang mudah menguap sehingga

pada suhu dingin kesulitan untuk menyalakan mesin. Keluhan dari beberapa pengguna bensin-etanol adalah: sering harus menguras air dari tangki minyak, etanol cenderung mengabsorbi air dan air terpisah dalam tangki. Selain itu energi menjadi berkurang atau jumlah bahan bakar bertambah, karena etanol telah mengandung oksigen (<http://www.trubus.com.>, 2006).

Bahan bakar etanol lebih mempunyai keunggulan dibandingkan gasoline yang dapat dilihat dari Tabel dibawah ini:

**Tabel 2. Keunggulan Bahan bakar Etanol dibandingkan Gasoline**

Jenis bahan bakar	Petroleum (gasoline)	Etanol
Source	Unreversible	Reversible
Nilai oktan	Rendah sehingga diperlukan "aditive" timbal yang berbahaya	Tinggi, tidak perlu "additive" bahkan bisa juga dipakai sebagai bahan "aditive" pengganti timbal pada gasoline
Emisi buang	Berbahaya dan non "biodegradable"	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Tidak berbahaya, karena semuanya "biodegradable"</li> <li>- Penggabungan ethanol kadar tinggi dapat mengurangi emisi nitrogen oksida sampai 20% serta mampu menurunkan emisi "Volatile Organic Compounds (VOCs)" yaitu senyawa organik yang dapat menguap pada suhu rendah sampai 30% atau lebih (VOCs merupakan bahan pemicu formasi lapisan ozone)</li> <li>- Ethanol yang mengandung oksigen mengurangi tingkat gas CO lebih dari bahan bakar beroksigen yang lain sampai 25-30% (laporan USA-EPA, badan pengawasan lingkungan hidup Amerika Serikat)</li> <li>- Secara nyata mengurangi emisi Sulphur dioksida maupun "Particulate Matter (PM)" lainnya.</li> <li>- Ethanol dapat menurunkan batas emisi karbon dioksida sampai 100% dalam sekali "life-cycle".</li> </ul>

(<http://www.bioetanolindo.com> 2008).

## **Bahan bakar Etanol campuran**

Etanol murni memiliki tingkat oktan (116 AKI, 129 RON) yang lebih tinggi dari gasoline pada umumnya (86/87 AKI, 91/92 RON), hal ini membuat rasio kompresi dan selisih waktu pengapian-nya lebih tinggi untuk kinerja yang lebih tinggi pula. Untuk mengubah mobil yang ber-bahan bakar murni gasoline menjadi mobil yang ber-bahan bakar murni etanol dibutuhkan karburator yang lebih besar (berkisar 30-40% area yang lebih luas), atau bisa juga dengan penambahan injectors bahan bakar (methanol membutuhkan area yang jauh lebih luas sampai 50% lebih). Mesin-mesin yang memakai bahan bakar 30% sampai 100% etanol membutuhkan penambahan sistem cold-starting untuk menyesuaikan starter mesin temperatur di bawah 13°C (55°F) dan juga menyesuaikan dengan standar emisi dari EPA (<http://www.biotek.lipi.go.id>. 2008).

Beberapa kendala memakai etanol:

- Tidak sesuai dengan beberapa komponen sistem bahan bakar, sebagai contoh: mengakibatkan korosi yang cepat terhadap komponen yang mengandung besi, terbentuknya endapan garam, terjadinya endapan berbentuk jelly pada penampang saringan, dan lepasnya karet internal dari sistim bahan bakar.
- Dapat mengakibatkan efek negatif pada sistem elektrik pompa bahan bakar seiring dengan meningkatnya pemakaian internal dan pembakaran kelanjutan yang tak diinginkan.
- E-85 sangat tidak sesuai dengan kemampuan baca parameter bahan bakar sehingga sering menimbulkan error pada penunjukan volume minyak yang sebenarnya pada tangki minyak.

- Etanol dapat bercampur baik dengan air maupun gasoline namun tidak untuk kedua-duanya secara bersamaan . Untuk kandungan air dengan level diantara 0.5% ke 1.0% dalam etanol tidak akan ada permasalahan, untuk kontaminasi diatas 1% akan terjadi pemisahan fase di mana campuran etanol-air akan memisah dari gasoline sehingga dapat mengganggu kinerja pembakaran dalam mesin.

Dari jabaran diatas sangat jelas bahwa penggunaan bio-etanol sangat menguntungkan untuk diterapkan di Indonesia, selain telah terbukti berhasil diterapkan negara lain seperti Brasil dan Amerika serikat juga sangat didukung oleh kondisi iklim kita yang tropis agraris sehingga cocok untuk pertanian tebu, dengan begitu kita akan mampu mengurangi ketergantungan kita pada minyak bumi sehingga subsidi pemerintah untuk bahan bakar bisa dialihkan ke hal yang lain (<http://www.biotek.lipi.go.id>. 2008).

### **Etanol**

Etanol (disebut juga etil-alkohol atau alkohol saja), adalah alkohol yang paling sering digunakan dalam kehidupan sehari-hari. Karena sifatnya yang tidak beracun, bahan ini banyak dipakai sebagai pelarut dalam dunia farmasi dan industri makanan dan minuman. Etanol tidak berwarna dan tidak berasa tapi memiliki bau yang khas. Bahan ini dapat memabukkan jika diminum. Etanol sering ditulis dengan rumus EtOH. Rumus molekul etanol adalah  $C_2H_5OH$  atau rumus empiris  $C_2H_6O$ . Etanol telah digunakan manusia sejak zaman prasejarah sebagai bahan pemabuk dalam minuman beralkohol. Residu yang ditemukan pada peninggalan keramik yang berumur 9000 tahun dari China bagian utara menunjukkan bahwa minuman beralkohol telah digunakan oleh manusia

prasejarah dari masa Neolitik. Etanol dan alkohol membentuk larutan azeotrop. Karena itu pemurnian etanol yang mengandung air dengan cara penyulingan biasa hanya mampu menghasilkan etanol dengan kemurnian 96%. Etanol murni (absolut) dihasilkan pertama kali pada tahun 1796 oleh Johan Tobias Lowitz yaitu dengan cara menyaring alkohol hasil distilasi melalui arang. Lavoisier menggambarkan bahwa etanol adalah senyawa yang terbentuk dari karbon, hidrogen dan oksigen. Pada tahun 1808 Saussure dapat menentukan rumus kimia etanol. Lima puluh tahun kemudian (1858), Couper menerbitkan rumus bangun etanol. Dengan demikian etanol adalah salah satu senyawa kimia yang pertama kali ditemukan rumus bangunnya (<http://www.ristek.co.id>, 2008).

### **Cara Pembuatan Etanol**

Etanol dapat dibuat melalui proses fermentasi diikuti kemudian dengan proses destilasi sehingga serat dan gumpalan gula dari bahan dasar (jagung, gandum, kentang, tebu, buah-buahan ataupun sisa sayur-mayur) ataupun pengotor lainnya terpisah dari etanolnya. Produksi ethanol/bio-ethanol (alkohol) dengan bahan baku tanaman yang mengandung pati atau karbohidrat, dilakukan melalui proses konversi karbohidrat menjadi gula (glukosa) larut. Dalam proses konversi karbohidrat menjadi gula (glukosa) larut air dilakukan dengan penambahan air dan enzim, kemudian dilakukan proses peragian atau fermentasi gula menjadi ethanol dengan menambahkan *yeast* atau ragi. Selain ethanol/bio-ethanol dapat diproduksi dari bahan baku tanaman yang mengandung pati atau karbohidrat, juga dapat diproduksi dari bahan tanaman yang mengandung selulosa, namun dengan adanya lignin mengakibatkan proses penggulaannya menjadi lebih sulit, sehingga pembuatan ethanol/bioethanol dari selulosa tidak direkomendasikan

Meskipun teknik produksi ethanol/bioethanol merupakan teknik yang sudah lama diketahui, namun ethanol/bio-ethanol untuk bahan bakar kendaraan memerlukan ethanol dengan karakteristik tertentu yang memerlukan teknologi yang relatif baru di Indonesia antara lain mengenai neraca energi (*energy balance*) dan efisiensi produksi, sehingga penelitian lebih lanjut mengenai teknologi proses produksi etanol masih perlu dilakukan. Secara singkat teknologi proses produksi etanol/bio-etanol tersebut dapat dibagi dalam tiga tahap, yaitu gelatinasi, sakarifikasi, dan fermentasi (Nurdyastuti, 2008).

### **Proses Gelatinasi**

Dalam proses gelatinasi, bahan baku ubi kayu, ubi jalar, atau jagung dihancurkan dan dicampur air sehingga menjadi bubur, yang diperkirakan mengandung pati 27-30 persen. Kemudian bubur pati tersebut dimasak atau dipanaskan selama 2 jam sehingga berbentuk gel. Proses gelatinasi tersebut dapat dilakukan dengan 2 cara, yaitu:

- Bubur pati dipanaskan sampai  $130^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit, kemudian didinginkan sampai mencapai temperatur  $95^{\circ}\text{C}$  yang diperkirakan memerlukan waktu sekitar  $\frac{1}{4}$  jam. Temperatur  $95^{\circ}\text{C}$  tersebut dipertahankan selama sekitar  $1\frac{1}{4}$  jam, sehingga total waktu yang dibutuhkan mencapai 2 jam.
- Bubur pati ditambah enzim termamyl dipanaskan langsung sampai mencapai temperatur  $130^{\circ}\text{C}$  selama 2 jam. Gelatinasi cara pertama, yaitu cara pemanasan bertahap mempunyai keuntungan, yaitu pada suhu  $95^{\circ}\text{C}$  aktifitas termamyl merupakan yang paling tinggi, sehingga mengakibatkan *yeast* atau ragi cepat aktif. Pemanasan dengan

suhu tinggi ( $130^{\circ}\text{C}$ ) pada cara pertama ini dimaksudkan untuk memecah granula pati, sehingga lebih mudah terjadi kontak dengan air enzim.

Perlakuan pada suhu tinggi tersebut juga dapat berfungsi untuk sterilisasi bahan, sehingga bahan tersebut tidak mudah terkontaminasi. Gelatinasi cara kedua, yaitu cara pemanasan langsung (gelatinasi dengan enzim termamyl) pada temperatur  $130^{\circ}\text{C}$  menghasilkan hasil yang kurang baik, karena mengurangi aktifitas *yeast*. Hal tersebut disebabkan gelatinasi dengan enzim pada suhu  $130^{\circ}\text{C}$  akan terbentuk tri-phenyl-furane yang mempunyai sifat racun terhadap *yeast*. Gelatinasi pada suhu tinggi tersebut juga akan berpengaruh terhadap penurunan aktifitas termamyl, karena aktifitas termamyl akan semakin menurun setelah melewati suhu  $95^{\circ}\text{C}$ . Selain itu, tingginya temperatur tersebut juga akan mengakibatkan *half life* dari termamyl semakin pendek, sebagai contoh pada temperatur  $93^{\circ}\text{C}$ , *half life* dari termamyl adalah 1500 menit, sedangkan pada temperatur  $107^{\circ}\text{C}$ , *half life* termamyl tersebut adalah 40 menit (Wasito, 2005).

Hasil gelatinasi dari ke dua cara tersebut didinginkan sampai mencapai  $55^{\circ}\text{C}$ , kemudian dilanjutkan dengan proses sakharifikasi dan selanjutnya difermentasikan dengan menggunakan *yeast* (ragi) *Saccharomyces cereviceae* (Wasito, 2005).

## **Fermentasi**

Proses fermentasi dimaksudkan untuk mengubah glukosa menjadi etanol/bio-etanol (alkohol) dengan menggunakan *yeast*. Alkohol yang diperoleh dari proses fermentasi ini, biasanya alkohol dengan kadar 8 sampai 10 persen volume. Sementara itu, bila fermentasi tersebut digunakan bahan



baku gula (molases), proses pembuatan etanol dapat lebih cepat. Pembuatan etanol dari molases tersebut juga mempunyai keuntungan lain, yaitu memerlukan bak fermentasi yang lebih kecil. Etanol yang dihasilkan proses fermentasi tersebut perlu ditingkatkan kualitasnya dengan membersihkannya dari zat-zat yang tidak diperlukan. Alkohol yang dihasilkan dari proses fermentasi biasanya masih mengandung gas gas antara lain CO<sub>2</sub> (yang ditimbulkan dari perubahan glukosa menjadi etanol/bio-etanol) dan *aldehyde* yang perlu dibersihkan. Gas CO<sub>2</sub> pada hasil fermentasi tersebut biasanya mencapai 35 persen volume, sehingga untuk memperoleh etanol/bio-etanol yang berkualitas baik, etanol/bio-etanol tersebut harus dibersihkan dari gas tersebut. Proses pembersihan (*washing*) CO<sub>2</sub> dilakukan dengan menyaring etanol/bio-etanol yang terikat oleh CO<sub>2</sub>, sehingga dapat diperoleh etanol/bio-etanol yang bersih dari gas CO<sub>2</sub>). Kadar etanol/bio-etanol yang dihasilkan dari proses fermentasi, biasanya hanya mencapai 8 sampai 10 persen saja, sehingga untuk memperoleh etanol yang berkadar alkohol 95 persen diperlukan proses lainnya, yaitu proses distilasi. Proses distilasi dilaksanakan melalui dua tingkat, yaitu tingkat pertama dengan *beer column* dan tingkat kedua dengan *rectifying column*. Definisi kadar alkohol atau etanol/bio-etanol dalam % (persen) volume adalah “volume etanol pada temperatur 15<sup>0</sup>C yang terkandung dalam 100 satuan volume larutan etanol pada temperatur tertentu (pengukuran).” Berdasarkan Balai Keujian Standar (BKS) Alkohol Spiritus, standar temperatur pengukuran adalah 27,5<sup>0</sup>C dan kadarnya 95,5% pada temperatur 27,5<sup>0</sup>C atau 96,2% pada temperatur 15<sup>0</sup>C (Wasito, 2005).

## Destilasi

Pada umumnya hasil fermentasi adalah bio-etanol atau alkohol yang mempunyai kemurnian sekitar 30 – 40% dan belum dapat dikategorikan sebagai *fuel based ethanol*. Agar dapat mencapai kemurnian diatas 95%, maka alkohol hasil fermentasi harus melalui proses destilasi (<http://www.BPPT.co.id>, 2008).

Sebagaimana disebutkan di atas, untuk memurnikan bioetanol menjadi berkadar lebih dari 95% agar dapat dipergunakan sebagai bahan bakar, alkohol hasil fermentasi yang mempunyai kemurnian sekitar 40% tadi harus melewati proses destilasi untuk memisahkan alkohol dengan air dengan memperhitungkan perbedaan titik didih kedua bahan tersebut yang kemudian diembunkan kembali. Untuk memperoleh bio-etanol dengan kemurnian lebih tinggi dari 99,5% atau yang umum disebut *fuel based ethanol*, masalah yang timbul adalah sulitnya memisahkan hidrogen yang terikat dalam struktur kimia alkohol dengan cara destilasi biasa, oleh karena itu untuk mendapatkan *fuel grade ethanol* dilaksanakan pemurnian lebih lanjut dengan cara Azeotropic destilasi. (<http://www.BPPT.co.id>, 2008).

## BAHAN DAN METODA

### Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober 2008 di Laboratorium Analisa Kimia Bahan Pangan Departemen Teknologi Pertanian Universitas Sumatera Utara Medan.

### Bahan dan Alat Penelitian

#### Bahan

- Limbah Tebu (Molase)
- Glukose Yeast Pepton (GYP)
- Ragi

#### Reagensia

- *Aquadest*
- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat
- *Anthrone* 0,1 %
- Glukose Standard 0,2 mg/ml

#### Alat

- |                         |                     |
|-------------------------|---------------------|
| - Timbangan Digital     | - Pipet tetes       |
| - Spatula               | - <i>Erlenmeyer</i> |
| - <i>Aluminium foil</i> | - Gelas ukur        |
| - <i>Beaker glass</i>   | - <i>Water bath</i> |
| - Labu ukur             | - Spectrofotometer  |

- *Cuvet*
- Tabung reaksi
- Corong
- Alkohol meter
- Termometer
- pH meter
- *Hot Plate*
- Pipet skala

### Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan Metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) non faktorial yaitu:

Konsentrasi Glukose Yeast Peptide (GYP) yang dicampurkan ke dalam larutan limbah gula (G) :

- G<sub>1</sub> : 0 %
- G<sub>2</sub> : 2 %
- G<sub>3</sub> : 4 %
- G<sub>4</sub> : 6 %
- G<sub>5</sub> : 8 %
- G<sub>6</sub> : 10 %

Banyaknya perlakuan (T) adalah  $6 \times 1 = 6$ , maka jumlah ulangan (n) adalah:

$$T(n - 1) \geq 15$$

$$6(n - 1) \geq 15$$

$$6n - 6 \geq 15$$

$$6n \geq 21$$

$$n \geq 3,5 \text{ di bulatkan menjadi } n \geq 4$$

sehingga banyaknya ulangan yang dilakukan sebanyak 4 kali.

## Model Rancangan (Sastrosupadi, 2000)

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) non faktorial dengan model:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij}$$

Dimana:

$Y_{ij}$  : Hasil pengamatan dari faktor G dari taraf ke  $i$  dan ulangan ke  $j$ .

$\mu$  : Efek nilai tengah

$T_i$  : Efek dari faktor G pada taraf ke  $i$ .

$\varepsilon_{ij}$  : Efek error dari faktor G pada taraf ke  $i$  dan ulangan ke  $j$ .

Jika diperoleh hasil yang nyata atau sangat nyata kemudian dilanjutkan dengan Uji Jarak Duncan (UJD) untuk membandingkan perbedaan sepasang nilai tengah dengan rumus:

$$UJD = R_{\alpha} (p : db \text{ error}) \times \sqrt{\frac{KT \text{ Error}}{\text{Ulangan}}}$$

$R$  = terdiri dari enam perlakuan yang di bandingkan (dengan melihat tabel Duncan)

## Pelaksanaan Penelitian

### Pembuatan Glukose Yeast Pepton (GYP)

- Diambil Glukose, Yeast, dan Pepton dengan perbandingan 0,2 : 0,1 : 0,1 (g) lalu dicampur dan diaduk.
- Ditambahkan *aquadest* sebanyak 20 ml
- Dipanaskan sampai mendidih dan diaduk sampai merata lalu ditambahkan *aquadest* sampai volume 1000 ml.
- Kemudian ditambahkan ragi roti 10 gram dan diaduk sampai merata.

- Didiamkan selama 24 jam pada tempat sejuk.

### **Pembuatan Etanol**

- Diambil bahan molase sebanyak 250 ml, lalu diencerkan dengan perbandingan 1 : 1 sampai kadar gula 18 – 20 °C.
- Dicampurkan Glukose Yeast Pepton (GYP) sesuai perlakuan kedalam bahan lalu diaduk sampai merata.
- Dilakukan fermentasi dengan lama fermentasi 5 hari dengan pemberian konsentrasi yang berbeda-beda.
- Dilakukan destilasi dengan suhu 90°C sampai terjadi penguapan alkohol.
- Lamanya destilasi dilihat sampai suhu mencapai 100°C.
- Dilakukan pengukuran sesuai dengan parameter.

### **Pengamatan dan Pengukuran Data**

Pengamatan dan pengukuran data dilakukan berdasarkan hasil analisa yang meliputi beberapa parameter :

1. Kadar Alkohol
2. Derajat Keasaman
3. Gula Terfermentasi
4. Rendemen

### **Kadar Alkohol**

- Diambil contoh sebanyak 10 ml
- Dimasukkan kedalam labu ukur
- Dihitung kadar alkohol dengan menggunakan *alcoholmeter*

### **Derajat Keasaman (pH) (AOAC, 1970)**

Derajat keasaman diukur dengan menggunakan pH meter sebagai berikut :

- Sisa sulingan pada labu suling (residu) dimasukkan kedalam *beaker glass* 50 ml, kemudian labu suling dibilas sebanyak tiga kali dengan *aquadest*, air bilasan dimasukkan ke dalam *beaker glass*, sehingga dimasukkan total residu 50 ml.
- Setelah itu dibiarkan dingin, kemudian diukur dengan pH meter.

### **Gula Terfermentasi (Metode Anthrone) (Apriyantono,dkk.,1989)**

Pengukuran gula terfermentasi dilakukan dengan menggunakan metode anthrone, sebagai berikut :

- Pipet ke dalam tabung reaksi 0.0 (blanko), 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 dan 1,0 ml larutan glukose standar. Tambahkan air sampai total volume masing – masing 1,0 ml
- Ditambahkan dengan cepat 5 ml pereaksi anthrone ke dalam masing – masing tabung reaksi
- Ditutup tabung reaksi (dapat digunakan kelereng) sampai tercampur merata.
- Ditempatkan dalam *water bath* 100<sup>0</sup>C selama 12 menit (direndam dalam air mendidih).
- Didinginkan dengan cepat dengan menggunakan air mengalir
- Dipindahkan ke dalam *cuvet*, dibaca absorbansnya pada 630 nm.
- Dibuat kurva hubungan antara absorbans dengan mg glukose.
- Lalu dibuat penetapan sampelnya dengan cara :
  - a. Dimasukkan 1 ml sampel ke dalam tabung reaksi.

- b. Selanjutnya dilakukan tahap ke (2) sampai tahap (6) seperti pada pembuatan kurva standar.
- c. Ditentukan konsentrasi total gula dalam sampel.

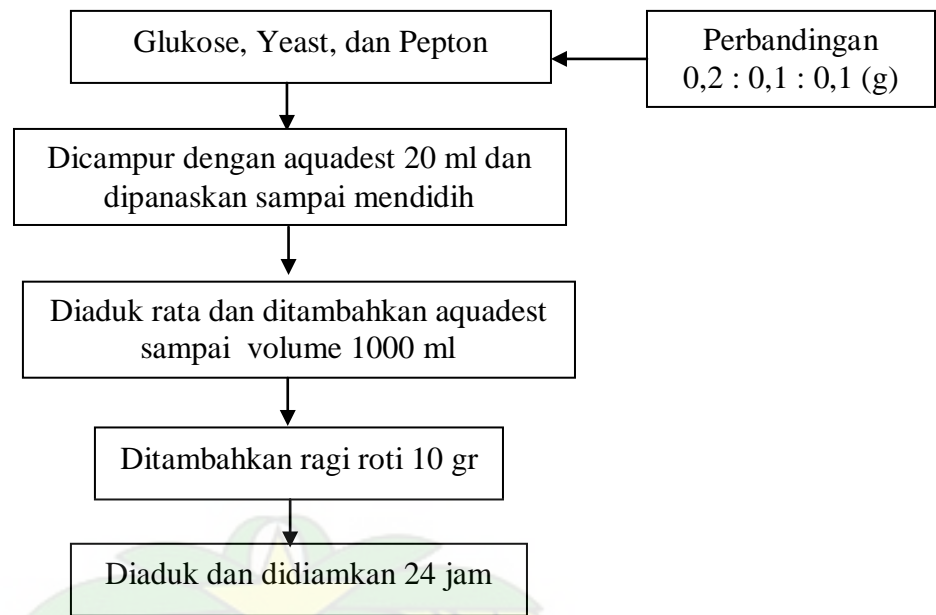
Gula terfermentasi = kadar gula awal molase – kadar gula limbah molase

### **Rendemen**

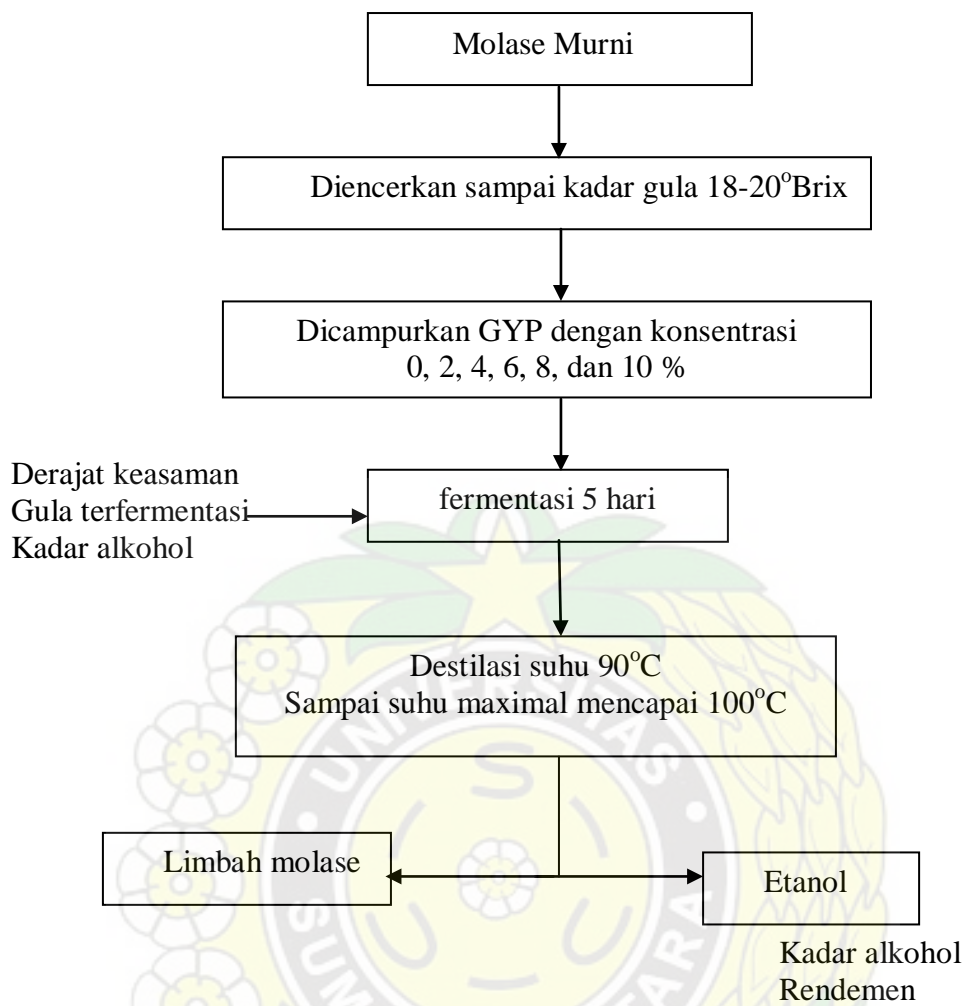
- Dihitung berat bahan awal
- Dihitung berat etanol dari molase
- Dihitung rendemen dengan rumus :  $\frac{\text{Berat etanol}}{\text{Berat awal}} \times 100\%$







**Gambar 3. Skema Pembuatan Glukose Yeast Pepton (GYP)**



**Gambar 4. Skema Pembuatan Etanol**

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pengaruh Konsentrasi Glukose Yeast Pepton (GYP) terhadap Parameter yang diamati

Dari hasil penelitian dan analisis statistika yang telah dilakukan diperoleh bahwa konsentrasi Glukose Yeast Pepton memberikan pengaruh terhadap kadar alkohol, rendemen, pH, dan kadar gula. pengaruh Konsentrasi Glukose Yeast Pepton pada parameter yang diamati dapat dilihat pada tabel 4 berikut :

**Tabel 4. Hasil Analisis Pengaruh Konsentrasi Glukose Yeast Pepton terhadap Parameter yang Diamati (Lama Fermentasi 5 hari)**

Konsentrasi GYP (G)(%)	Kadar Gula Setelah Fermentasi (mg/100 gr bahan)	pH Molase Setelah Fermentasi	Kadar Alkohol Setelah Fermentasi (%)	Kadar Alkohol Setelah Destilasi (%)	Rendemen Alkohol (%)
G <sub>1</sub>	0,54	5,54	4,23	42,25	0,43
G <sub>2</sub>	0,40	5,52	7,23	46,75	7,25
G <sub>3</sub>	0,34	5,51	9,53	64,75	7,95
G <sub>4</sub>	0,30	5,49	13,38	81,25	8,75
G <sub>5</sub>	0,24	5,41	15,48	87,00	12,45
G <sub>6</sub>	0,18	5,20	19,65	90,50	20,45

Semakin besar persentase Glukose Yeast Pepton (GYP), kadar gula setelah fermentasi dan pH semakin menurun sedangkan , kadar alkohol, dan rendemen semakin meningkat.

Dari Tabel 4 dapat dilihat bahwa kadar gula terfermentasi tertinggi pada perlakuan G<sub>1</sub> dan terendah pada perlakuan G<sub>6</sub>. pH tertinggi diperoleh pada perlakuan G<sub>1</sub> dan terendah pada perlakuan G<sub>6</sub>. Kadar alkohol tertinggi diperoleh

pada perlakuan G<sub>6</sub> dan terendah pada perlakuan G<sub>1</sub>. Rendemen alkohol tertinggi diperoleh pada perlakuan G<sub>6</sub> dan terendah pada perlakuan G<sub>1</sub>.

### 1. Pengaruh Konsentrasi Glukose Yeast Pepton (GYP) terhadap Kadar Gula (Setelah Fermentasi)

Dari daftar analisis sidik ragam pada Lampiran 1 dapat dilihat bahwa konsentrasi GYP memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ( $P < 0.01$ ) terhadap kadar gula terfermentasi.

Hasil Pengujian Uji Jarak Duncan menunjukkan pengaruh konsentrasi GYP terhadap kadar gula Molase (setelah fermentasi) dapat dilihat pada Tabel 5 berikut:

**Tabel 5. Uji Jarak Duncan Pengaruh Konsentrasi Glukose Yeast Pepton (GYP) terhadap Kadar Gula Molase (Setelah Fermentasi) (mg/100gr bahan).**

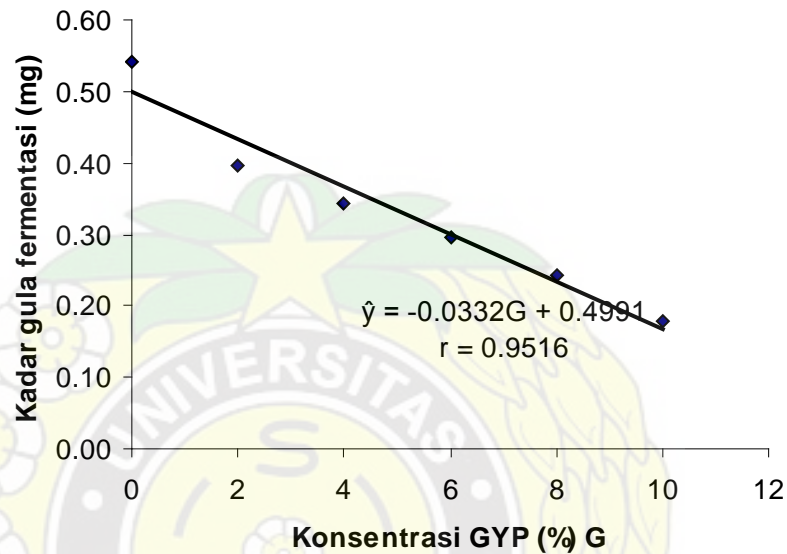
Jarak	UJD		Konsentrasi GYP (%)	Rataan	Notasi	
	0,05	0,01			0,05	0,01
-	-	-	G1	0,54	a	A
2	0,0530	0,0726	G2	0,40	b	B
3	0,0557	0,0762	G3	0,34	c	C
4	0,0573	0,0764	G4	0,30	c	CD
5	0,0584	0,0796	G5	0,24	d	DE
6	0,0593	0,0808	G6	0,18	e	E

Keterangan: Notasi huruf yang berbeda menunjukkan berbeda nyata pada taraf 5% (huruf kecil) dan berbeda sangat nyata pada taraf 1% (huruf besar)

Tabel 5 menunjukkan bahwa perlakuan G<sub>1</sub> berbeda sangat nyata dengan G<sub>2</sub>, G<sub>3</sub>, G<sub>4</sub>, G<sub>5</sub>, G<sub>6</sub>. Perlakuan G<sub>2</sub> berbeda sangat nyata dengan G<sub>3</sub>, G<sub>4</sub>, G<sub>5</sub>, G<sub>6</sub>. Perlakuan G<sub>3</sub> berbeda sangat nyata dengan G<sub>4</sub>, G<sub>5</sub>, G<sub>6</sub>. Perlakuan G<sub>4</sub> berbeda nyata dengan G<sub>5</sub> dan berbeda sangat nyata G<sub>6</sub>. Serta perlakuan G<sub>5</sub> memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata dengan G<sub>6</sub>. Kadar gula molase (setelah

fermentasi) tertinggi diperoleh pada perlakuan  $G_1$  (0%) sedangkan yang terendah pada perlakuan  $G_6$  (10%).

Hubungan antara konsentrasi GYP dengan kadar gula molase (setelah fermentasi) dapat dilihat pada Gambar 5 berikut:



**Gambar 5. Grafik Hubungan Konsentrasi Glukose Yeast Pepton dengan Kadar Gula (Setelah Fermentasi)**

Dari Gambar 5 dapat dilihat kadar gula molase (setelah fermentasi) dengan perlakuan  $G_1$  (0%) lebih besar dibandingkan perlakuan  $G_2$  (2%) mengalami penurunan sampai perlakuan  $G_3$  (4%),  $G_4$  (6%),  $G_5$  (8%) dan  $G_6$  (10%). Hal ini disebabkan jumlah mikroorganisme yang terdapat pada molase semakin banyak sehingga enzim invertase (yang mengubah glukose menjadi etanol) semakin banyak.

Menurut Judoamidjojo, *et al.*, (1992) khamir *Saccharomices cereviceae* menghasilkan enzim zimase dan invertase. Enzim zimase berfungsi merombak sukrosa menjadi monosakarida (glukose dan fruktosa), dan selanjutnya enzim invertase akan mengubah glukose menjadi etanol. Semakin tinggi persentase

GYP, maka semakin banyak juga jumlah *Saccharomyces cereviceae* yang terdapat dalam molase. Jadi persentase GYP 0 % memiliki jumlah *Saccharomyces cereviceae* paling sedikit dibandingkan lainnya sehingga glukose tidak seluruhnya diubah menjadi alkohol, sedangkan pada GYP 2 % memiliki jumlah *Saccharomyces cereviceae* lebih sedikit dibandingkan pada GYP 4 %. GYP 6 % memiliki jumlah *Saccharomyces cereviceae* lebih sedikit dibandingkan pada GYP 8 % dan lebih sedikit dibandingkan jumlah *Saccharomyces cereviceae* lebih sedikit dibandingkan pada GYP 10 % sehingga kadar gula semakin menurun pada kandungan molase.

## 2. Pengaruh Konsentrasi Glukose Yeast Pepton (GYP) terhadap pH Molase

Dari daftar analisis sidik ragam pada Lampiran 2 dapat dilihat bahwa konsentrasi GYP memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ( $P < 0.01$ ) terhadap pH terfermentasi.

Hasil Pengujian Uji Jarak Duncan menunjukkan pengaruh konsentrasi GYP terhadap pH Molase (setelah fermentasi) dapat dilihat pada Tabel 6 berikut:

**Tabel 6. Uji Jarak Duncan Pengaruh Konsentrasi Glukose Yeast Pepton (GYP) terhadap pH Molase (Setelah Fermentasi).**

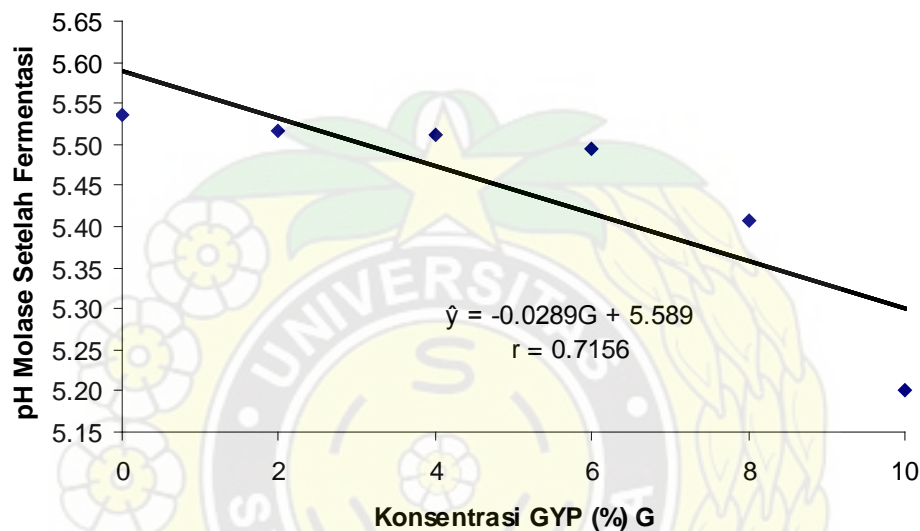
Jarak	UJD		Konsentrasi GYP (%)	Rataan	Notasi	
	0.05	0.01			0.05	0.01
-	-	-	G1	5.54	a	A
2	0.0696	0.0953	G2	5.52	a	A
3	0.0731	0.1000	G3	5.51	a	A
4	0.0752	0.1003	G4	5.49	a	A
5	0.0766	0.1045	G5	5.41	b	B
6	0.0778	0.1061	G6	5.20	c	C

Keterangan: Notasi huruf yang berbeda menunjukkan berbeda nyata pada taraf 5% (huruf kecil) dan berbeda sangat nyata pada taraf 1% (huruf besar)

Tabel 6 menunjukkan bahwa perlakuan  $G_1$ ,  $G_2$ ,  $G_3$ ,  $G_4$  berbeda tidak nyata. Sedangkan  $G_5$  berbeda sangat nyata dengan  $G_1$ ,  $G_2$ ,  $G_3$ ,  $G_4$ ,  $G_6$ . Perlakuan  $G_6$

berbeda sangat nyata dengan  $G_1, G_2, G_3, G_4, G_5$ . pH molase (setelah Fermentasi) tertinggi diperoleh pada perlakuan  $G_1$  (0%) sebesar 5.54 sedangkan yang terendah pada perlakuan  $G_6$  (10 %) sebesar 5.20.

Hubungan antara konsentrasi Glukose Yeast pepton (GYP) dengan pH molase setelah fermentasi pada Gambar 6 berikut:



**Gambar 6. Grafik Hubungan Konsentrasi Glukose Yeast Pepton dengan pH (Setelah Fermentasi)**

Dari Gambar 6 dapat dilihat pH molase (setelah fermentasi) dengan perlakuan  $G_1$ (0%) lebih besar dibandingkan perlakuan  $G_2$  (2%) mengalami penurunan sampai perlakuan  $G_3$  (4%),  $G_4$  (6%),  $G_5$  (8%) dan  $G_6$  (10%). Hal ini disebabkan jumlah mikroorganisme yang terdapat pada molase semakin banyak sehingga enzim invertase (yang mengubah glukose menjadi etanol) semakin banyak. Hal ini dikarenakan semakin tinggi persentase GYP, jumlah mikroba perombak yang terdapat pada molase semakin meningkat, maka keasaman bahan semakin tinggi, dimana asam dihasilkan dari perombakan alkohol menjadi asam

asetat dan asam-asam lainnya, sehingga pH molase yang dihasilkan semakin menurun.

Menurut Tim Penulis UNAIR, (2007), semakin tinggi persentase ragi, semakin banyak khamir dan bakteri yang terdapat di dalam molase, sehingga semakin banyak karbohidrat yang dirombak menjadi glukose, alkohol, asam asetat dan senyawa lainnya.

Menurut Buckle, *et al.*, (1987) karbon dan energi dapat diperoleh dari gula karbohidrat sederhana seperti glukose. Karbohidrat sederhana seperti glukose. Karbohidrat merupakan sumber karbon yang paling banyak digunakan dalam fermentasi oleh sel khamir. Bakteri asam asetat melakukan metabolisme yang bersifat aerobik. Peranan utamanya dalam fermentasi yaitu mengoksidasi alkohol dan karbohidrat lainnya menjadi alkohol dan asam asetat. Asam yang dihasilkan pada proses tersebut akan menurunkan pH lingkungan dan menimbulkan rasa asam. Jika tumbuh dalam keadaan anaerobik, kebanyakan khamir cenderung memfermentasi substrat karbohidrat untuk menghasilkan etanol bersama sedikit produk lainnya. Jika persentase GYP semakin tinggi, kadar alkohol dan keasaman molase semakin meningkat, kadar gula pun menurun.

Menurut Amerine, *et al.*, (1972) pada proses fermentasi dihasilkan asam-asam mudah menguap, diantaranya asam laktat, asam asetat, asam formiat, asam butirrat dan asam propionat. Semakin besar persentase GYP, jumlah asam semakin tinggi. Semakin tinggi kadar keasaman bahan, pH bahan tersebut semakin menurun.



### 3. Pengaruh Konsentrasi Glukose Yeast Pepton (GYP) terhadap Kadar Alkohol Setelah Fermentasi

Dari daftar analisis sidik ragam pada Lampiran 3 dapat dilihat bahwa konsentrasi GYP memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ( $P < 0.01$ ) terhadap kadar alkohol setelah fermentasi.

Hasil Pengujian Uji Jarak Duncan menunjukkan pengaruh konsentrasi GYP terhadap kadar alkohol molase (setelah fermentasi) dapat dilihat pada Tabel 7 berikut:

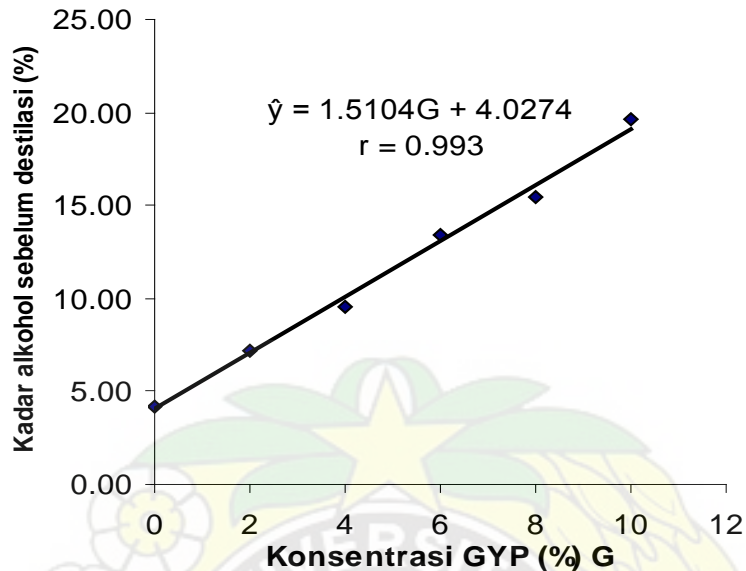
**Tabel 7. Uji Jarak Duncan Pengaruh Konsentrasi Glukose Yeast Pepton (GYP) terhadap Kadar Alkohol (Setelah Fermentasi).**

Jarak	UJD		Konsentrasi GYP (%)	Rataan	Notasi	
	0.05	0.01			0.05	0.01
-	-	-	G1	4.23	f	F
2	0.4123	0.5650	G2	7.23	e	E
3	0.4331	0.5928	G3	9.53	d	D
4	0.4456	0.5941	G4	13.38	c	C
5	0.4539	0.6191	G5	15.48	b	B
6	0.4609	0.6289	G6	19.65	a	A

Keterangan: Notasi huruf yang berbeda menunjukkan berbeda nyata pada taraf 5% (huruf kecil) dan berbeda sangat nyata pada taraf 1% (huruf besar)

Tabel 7 menunjukkan bahwa perlakuan  $G_1$  berbeda sangat nyata dengan  $G_2$ ,  $G_3$ ,  $G_4$ ,  $G_5$ ,  $G_6$ . Perlakuan  $G_2$  berbeda sangat nyata dengan  $G_3$ ,  $G_4$ ,  $G_5$ ,  $G_6$ . Perlakuan  $G_3$  berbeda sangat nyata dengan  $G_4$ ,  $G_5$ ,  $G_6$ . Perlakuan  $G_4$  berbeda sangat nyata dengan  $G_5$  dan  $G_6$ . Serta perlakuan  $G_5$  memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata dengan  $G_6$ . Kadar alkohol (setelah fermentasi) tertinggi diperoleh pada perlakuan  $G_6$  (10%) sebesar 19.65 % sedangkan yang terendah pada perlakuan  $G_1$  (0 %) sebesar 4.23 %.

Hubungan antara konsentrasi GYP dengan kadar alkohol (setelah fermentasi) dapat dilihat pada Gambar 7 berikut:



**Gambar 7. Grafik Hubungan Konsentrasi Glukose Yeast Pepton dengan Kadar Alkohol (Setelah Fermentasi)**

Dari Gambar 7 dapat dilihat bahwa semakin besar persentase GYP, kadar alkohol yang dihasilkan semakin meningkat. Hal ini disebabkan semakin tinggi jumlah GYP, semakin banyak *Amylomyces raxii* yang terdapat didalamnya, sehingga enzim-enzim amilase yang dihasilkan mikroba tersebut semakin tinggi. Enzim amilase dapat merombak pati menjadi glukose. Glukose kemudian diubah menjadi alkohol oleh *Saccharomyces cereviceae*, sehingga kadar alkohol molase semakin tinggi. Menurut Setyohadi, (2006), semakin tinggi jumlah ragi, semakin banyak khamir dan bakteri yang terdapat di dalam molase, dimana mikroba tersebut menghasilkan enzim-enzim amilase, zimase dan invertase. Meningkatnya jumlah khamir disebabkan pada pertumbuhannya khamir memerlukan supplay makanan.

Menurut Garraway *and* Evans, (1984). Untuk keperluan hidupnya khamir memerlukan bahan-bahan organik dan anorganik. Khamir mendapatkan energi dari ikatan karbon untuk pertumbuhan dan perkembangbiakannya yang berasal dari molekul sederhana seperti gula, asam organik atau alkohol yang diubah menjadi senyawa kompleks seperti protein, polisakarida, lemak dan lignin .

Menurut Desrosier, (1989), semakin banyak jumlah glukose yang terdapat pada bahan, semakin tinggi jumlah alkohol yang dihasilkan dari perombakan glukose tersebut. Semakin besar jumlah mikroba perombak pati menjadi glukose, dan mikroba perombak glukose menjadi alkohol semakin banyak, sehingga kadar alkohol yang dihasilkan semakin tinggi

#### **4. Pengaruh Konsentrasi Glukose Yeast Pepton (GYP) Terhadap Kadar Alkohol setelah Destilasi**

Dari daftar analisis sidik ragam pada Lampiran 4 dapat dilihat bahwa konsentrasi GYP memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ( $P < 0.01$ ) terhadap kadar alkohol setelah destilasi.

Hasil Pengujian Uji Jarak Duncan menunjukkan pengaruh konsentrasi GYP terhadap kadar alkohol Molase (setelah destilasi) dapat dilihat pada Tabel 8 berikut:

**Tabel 8. Uji Jarak Duncan Pengaruh Konsentrasi Glukose Yeast Pepton (GYP) terhadap Kadar Alkohol (Setelah Destilasi).**

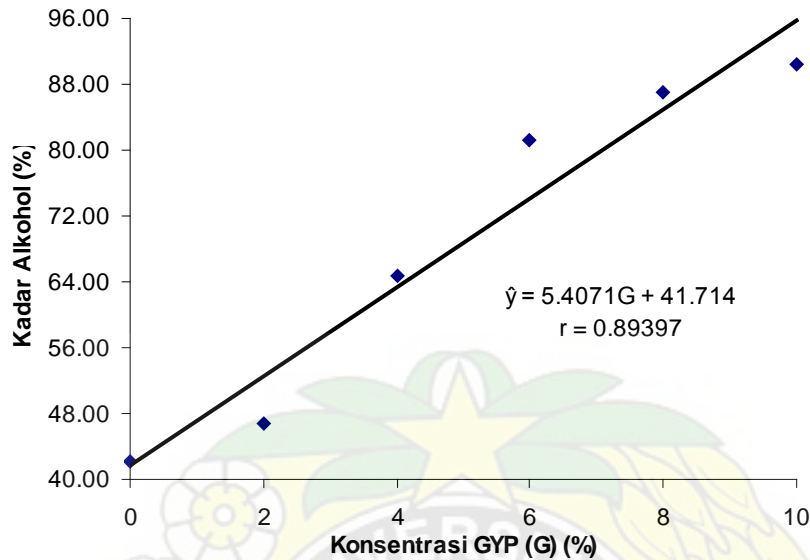
Jarak	UJD		Konsentrasi GYP (%)	Rataan	Notasi	
	0.05	0.01			0.05	0.01
-	-	-	G1	42.25	f	F
2	1.7847	2.4458	G2	46.75	e	E
3	1.8749	2.5660	G3	64.75	d	D
4	1.9290	2.5720	G4	81.25	c	C
5	1.9650	2.6801	G5	87.00	b	B
6	1.9951	2.7222	G6	90.50	a	A

Keterangan: Notasi huruf yang berbeda menunjukkan berbeda nyata pada taraf 5% (huruf kecil) dan berbeda sangat nyata pada taraf 1% (huruf besar)

Tabel 8 menunjukkan bahwa perlakuan G<sub>1</sub> berbeda sangat nyata dengan G<sub>2</sub>, G<sub>3</sub>, G<sub>4</sub>, G<sub>5</sub>, G<sub>6</sub>. Perlakuan G<sub>2</sub> berbeda sangat nyata dengan G<sub>3</sub>, G<sub>4</sub>, G<sub>5</sub>, G<sub>6</sub>. Perlakuan G<sub>3</sub> berbeda sangat nyata dengan G<sub>4</sub>, G<sub>5</sub>, dan G<sub>6</sub>. Perlakuan G<sub>4</sub> berbeda sangat nyata dengan G<sub>5</sub> dan G<sub>6</sub>. Serta perlakuan G<sub>5</sub> memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata dengan G<sub>6</sub>. Kadar alkohol (setelah destilasi) tertinggi diperoleh pada perlakuan G<sub>6</sub> (10%) sebesar 90.50% sedangkan yang terendah pada perlakuan G<sub>1</sub> (0 %) sebesar 42.25 %.

Hubungan antara konsentrasi GYP dengan kadar alkohol (setelah destilasi)

dapat dilihat pada gambar 8 berikut:



**Gambar 8. Grafik Hubungan Konsentrasi Glukose Yeast Pepton dengan Kadar Alkohol (Setelah Destilasi)**

Dari Gambar 8 dapat dilihat bahwa semakin besar persentase GYP, kadar alkohol yang dihasilkan semakin meningkat. Namun demikian sangatlah lebih berpengaruh untuk meningkatkan konsentrasi alkohol setelah mengalami fermentasi dengan cara destilasi. Menurut <http://www.BPPT.co.id>, 2008 proses destilasi untuk memisahkan alkohol dengan air dengan memperhitungkan perbedaan titik didih kedua bahan tersebut yang kemudian diembunkan kembali. Untuk memperoleh bio-etanol dengan kemurnian lebih tinggi dari 99,5% atau yang umum disebut *fuel based ethanol*, masalah yang timbul adalah sulitnya memisahkan hidrogen yang terikat dalam struktur kimia alkohol dengan cara destilasi biasa, oleh karena itu untuk mendapatkan *fuel grade ethanol* dilaksanakan pemurnian lebih lanjut dengan cara Azeotropic destilasi.

Menurut Hidayat, *et al.*, (2006), fermentasi merupakan perubahan gradual oleh enzim beberapa bakteri, khamir dan kapang. Contoh perubahan kimia dari fermentasi meliputi perubahan gula menjadi alkohol dan karbondioksida, serta oksidasi senyawa nitrogen organik. Semakin lama proses fermentasi berlangsung, jumlah karbohidrat yang dirombak menjadi glukose semakin banyak. Hal ini mengakibatkan kadar alkohol molase meningkat sehingga pada proses destilasi mengalami peningkatan kadar alkohol yang diperoleh.

### 5. Pengaruh Konsentrasi Glukose Yeast Pepton (GYP) terhadap Rendemen Alkohol.

Dari daftar analisis sidik ragam pada Lampiran 5 dapat dilihat bahwa konsentrasi GYP memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ( $P < 0.01$ ) terhadap rendemen alkohol setelah destilasi.

Hasil Pengujian Uji Jarak Duncan menunjukkan pengaruh konsentrasi GYP terhadap rendemen alkohol Molase (setelah destilasi) dapat dilihat pada Tabel 9 berikut:

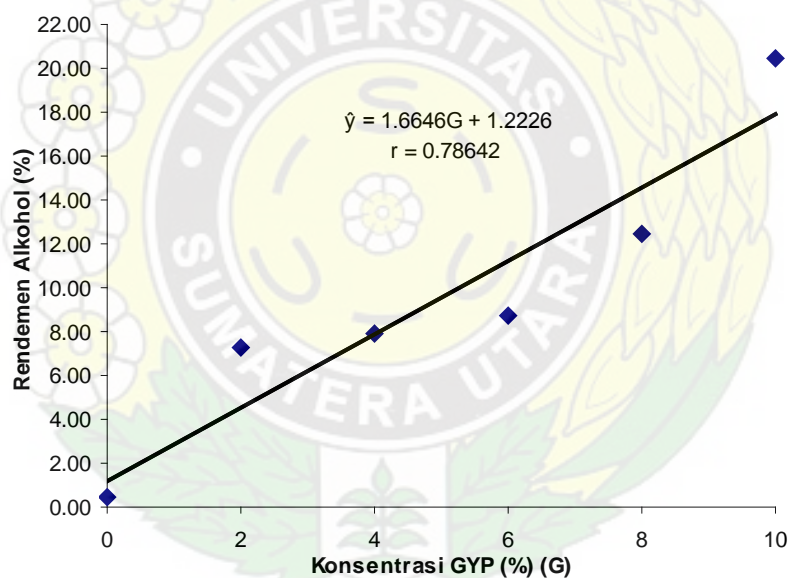
**Tabel 9 Uji Jarak Duncan Pengaruh Konsentrasi Glukose Yeast Pepton (GYP) terhadap Rendemen Alkohol (Setelah Destilasi).**

Jarak	UJD		Konsentrasi GYP (%)	Rataan	Notasi	
	0.05	0.01			0.05	0.01
-	-	-	G1	0.43	e	E
2	0.7306	1.0013	G2	7.25	d	D
3	0.7676	1.0505	G3	7.95	d	D
4	0.7897	1.0529	G4	8.75	c	C
5	0.8045	1.0972	G5	12.45	b	B
6	0.8168	1.1144	G6	20.45	a	A

Keterangan: Notasi huruf yang berbeda menunjukkan berbeda nyata pada taraf 5% (huruf kecil) dan berbeda sangat nyata pada taraf 1% (huruf besar)

Dari table 9 dapat dilihat bahwa perlakuan  $G_1$  berbeda sangat nyata dengan  $G_2, G_3, G_4, G_5, G_6$ . Perlakuan  $G_2$  berbeda tidak nyata dengan  $G_3$  dan berbeda sangat nyata dengan  $G_4, G_5, G_6$ . Perlakuan  $G_3$  berbeda sangat nyata dengan  $G_4, G_5, G_6$ . Perlakuan  $G_4$  berbeda sangat nyata dengan  $G_5$  dan  $G_6$ . Serta perlakuan  $G_5$  memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata dengan  $G_6$ . Rendemen alkohol (setelah destilasi) tertinggi diperoleh pada perlakuan  $G_6$  (10%) sebesar 20.450% sedangkan yang terendah pada perlakuan  $G_1$  (0 %) sebesar 0.43 %.

Hubungan antara konsentrasi GYP dengan rendemen alkohol (setelah destilasi) dapat dilihat pada gambar 9 berikut :



**Gambar 9. Grafik Hubungan Konsentrasi Glukose Yeast Pepton dengan Rendemen Alkohol (Setelah Destilasi)**

Dari Gambar 9 dapat dilihat bahwa rendemen tertinggi diperoleh pada perlakuan  $G_6$  (10%) sebesar 20.54 % sedangkan yang terendah pada perlakuan  $G_1$  (0%) sebesar 0.45 %. Hal ini disebabkan karena GYP dapat merombak glukose pada molase menjadi alkohol sehingga rendemen yang dihasilkan meningkat. Menurut Desrosier, (1989), semakin banyak jumlah glukose yang terdapat pada

bahan, semakin tinggi jumlah alkohol yang dihasilkan dari perombakan glukose tersebut. Semakin besar jumlah mikroba perombak pati menjadi glukose, dan mikroba perombak glukose menjadi alkohol semakin banyak, sehingga kadar alkohol yang dihasilkan semakin tinggi.

Menurut Berry (1988), selain meningkatkan aktifitas piruvat dekarboksilase, GYP (ragi) cenderung meningkatkan pembentukan piruvat dekarboksilase akan menyebabkan peningkatan perubahan asam piruvat menjadi asetaldehid yang kemudian direduksi menjadi alkohol sehingga rendemen yang dihasilkan meningkat.





## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Dari hasil penelitian persentase Glukose Yeast Pepton (GYP) terhadap limbah tebu (molase) terhadap parameter yang diamati dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Persentase GYP berpengaruh sangat nyata terhadap kadar gula terfermentasi, pH kadar alkohol setelah fermentasi, kadar alkohol setelah destilasi dan rendemen.
2. Proses destilasi pada alkohol setelah fermentasi sangat memberikat pengaruh yang nyata untuk menghasilkan konsentrasi alkohol yang tinggi dengan memperhitungkan perbedaan titik didih air dan alkohol.

### Saran

1. Pada pembuatan etanol dengan pemberian Glukose Yeast Pepton (GYP) disarankan menggunakan konsentarsi GYP 10%.
2. Perlunya dilakukan penelitian lanjutan pada pembuatan etanol dari bahan molase menggunakan beberapa faktor penelitian seperti lamanya fermentasi, lamanya proses destilasi dan besarnya suhu destilasi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Amerine, M. A., Berg and M. V. Croes, 1972. *The Technology of Wine Making*, The AVI Publishing Company, Westport, Connecticut.
- AOAC, 1970. *Official Method and Analysis of the Association of the Official Analytical Chemists*, 11<sup>th</sup> Edition. Washington, DC.
- Apriyantono, A., D. Fardiaz, N. L. Puspitasari, Sedarnawati, 1989. *Analisis Pangan*. IPB – Press, Bogor.
- Berry, D. R., 1988. *Physiology of Industrial Fungi* Black Well Scientific Publications, Oxford, London.
- Buckle, K. A., R. A. Edwards, G. H. Fleet dan M. Wootton, 1987. *Ilmu Pangan*. Penerjemah H. Purnomo dan adiono. UI – Press, Jakarta.
- Desrosier, 1989. *Teknologi Pengawetan Pangan*. Penerjemah M. Muljohardjo. UI-Press, Jakarta.
- Dirmanto, S., 2006. Fermentasi Anaerobik. <http://www.kompas.com>. [1 September 2008].
- Duryatmo, P., 2007. Proses Fermentasi. <http://www.kompas.co.id>. [1 September 2008].
- Fardiaz, S., 1992. *Mikrobiologi Pangan 1*. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Garraway, M. O. and R. C. Evans, 1984. *Fungal Nutrition and Physiology*. John Wiley and Sons, Inc., New York.
- Hidayat, N., M. C. Padaga dan S. Suhartini, 2006. *Mikrobiologi Industri*. Andi, Yogyakarta.
- <http://www.bioetanolindo.blogspot.com>, 2007. Pembuatan Etanol Skala Home Industri. [1 september 2008]
- <http://www.biotek.lipi.co.id>, 2008. Etanol Bahan Bakar Masa Depan. [1 September 2008].
- <http://www.BPPT.co.id>, 2008. Pembuatan Etanol. [1 September 2008].
- <http://www.ristek.co.id>, 2008. Etanol. [1September 2008].
- <http://www.trubus.com>, 2006. Substitusi Bensin dengan Etanol. [1 September 2008].
- <http://www.whfoods.com>, 2008. Molase (Limbah Tebu yang Bermanfaat). [1 September 2008]

- <http://www.wikipedia.com>, 2006. Komposisi Kimia Molase. [1 September 2008].
- <http://www.wikipedia.com>, 2008. Jenis Ragi dan Peranannya dalam Pengolahan Pangan. [1 September 2008].
- Judoamidjojo, M., A. A. Darwis dan E. G. Sa'id, 1992. Teknologi Fermentasi. Rajawali Press, Jakarta.
- Moat, A. G. and J. W. Fooster, 1988. *Microbiological Physiology Second Edition*. John Wiley and Sons Inc., New York.
- Muslimin, L. W., 1996. Mikrobiologi Lingkungan. IPB – Press, Bogor.
- Nurdiyastuti, I., 2008. Prospek Pengembangan Biofuel sebagai Substitusi Bahan Bakar Minyak. <http://www.sinarharapan.com>. [1 September 2008].
- Pelczar, M. Z., Reid and Chan, 1983. *Microbiology 4<sup>th</sup> Edition*, Tata Mc. Graw Hill Book Company, Inc. New York.
- Sa'id, E. G., 1987. Bioindustri, Penerapan Teknologi Fermentasi, Pusat Antar Universitas Biologi IPB, Bogor.
- Sastrosupardi, A., 2000. Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian Edisi Revisi. Kanisius, Yogyakarta.
- Setyohadi, 2006. Proses Mikrobiologi Pangan (Proses Kerusakan dan Pengolahan). USU-Press, Medan.
- Sofer, S. S. and O. R. Zaborsky, 1991. *Biomass Conversion Process for Energy and Fuel*. Plenum Press, New York.
- Suriawiria, U., 1986. Pengantar Mikrobiologi Umum. Angkasa, Bandung.
- Susanto, T. dan Saneto, 1994. Teknologi Pengolahan Hasil Pertanian. Bina Ilmu, Surabaya.
- Tim Penulis IPB, 2006. Pembuatan Ragi. <http://www.buletinfidipb.co.id>. [1 September 2008].
- Tim Penulis UNAIR, 2007. Ragi. <http://www.kimia.fmipaunair.ac.id>. [1 September 2008].
- Wasito, 2005. Proses Pembuatan Etanol. <http://www.suaramerdeka.co.id>. [1 September 2008].
- Winarno, F. G., S. fardiaz dan D. Fardiaz, 1980. Pengantar Teknologi Pangan. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Winarno, F. G. dan D. Fardiaz, 1990. Biofermentasi dan Biosintesa Protein. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.

## Lampiran.1

### Data Pengamatan Analisis Kadar Gula Setelah Fermentasi (mg)

Perlakuan	Ulangan				Total	Rataan
	I	II	III	IV		
G1	0.55	0.51	0.55	0.56	2.17	0.54
G2	0.49	0.39	0.34	0.37	1.59	0.40
G3	0.38	0.30	0.33	0.36	1.37	0.34
G4	0.27	0.32	0.29	0.30	1.18	0.30
G5	0.27	0.26	0.21	0.23	0.97	0.24
G6	0.20	0.19	0.15	0.18	0.72	0.18
Total	2.16	1.97	1.87	2.00	8.00	
Rataan	0.36	0.33	0.31	0.33		0.33

### Daftar Analisis Sidik Ragam Kadar Gula Setelah Fermentasi (mg)

Sumber	db	JK	KT	FH		F.05	F.01
Perlakuan	5	0.32	0.06	50.85	**	2.77	4.25
G Lin	1	5878.89	5878.89	4614311.57	**	4.41	8.28
G Kuad	1	12.19	12.19	9568.25	**	4.41	8.28
Simpangan		-		-			
Regresi	3	5890.76	-1963.59	1541208.53	tn	3.16	5.09
Error	18	0.02	0.00				
Total	23	0.35					

**KK = 0.10710852**

**FK = 2.665334**

**\*\* = sangat nyata**

**\* = nyata**

**tn = tidak nyata**

## Lampiran.2

### Data Pengamatan Analisis pH Molase Setelah Fermentasi

Perlakuan	Ulangan				Jumlah	Rataan
	I	II	III	IV		
G1	5.52	5.55	5.53	5.54	22.14	5.54
G2	5.52	5.54	5.52	5.49	22.07	5.52
G3	5.50	5.54	5.52	5.49	22.05	5.51
G4	5.49	5.48	5.55	5.46	21.98	5.49
G5	5.50	5.30	5.46	5.37	21.63	5.41
G6	5.20	5.26	5.14	5.20	20.80	5.20
Jumlah	32.73	32.67	32.72	32.55	130.67	
Rataan	5.46	5.45	5.45	5.42		5.44

### Daftar Analisis Sidik Ragam pH Molase Setelah Fermentasi

Sumber	db	JK	KT	FH		F.05	F.01
Perlakuan	5	0.33	0.07	29.79	**	2.77	4.25
G Lin	1	32.71	32.71	14898.91	**	4.41	8.28
G Kuad	1	12.38	12.38	5639.86	**	4.41	8.28
Simpangan Regresi	3	-44.76	-14.92	-6796.61	tn	3.16	5.09
Error	18	0.04	0.002				
Total	23	0.37					

**KK = 0.008606**

**FK = 711.4001**

**\*\* = sangat nyata**

**\* = nyata**

**tn = tidak nyata**

### Lampiran. 3.

#### Data Pengamatan Analisis Kadar Alkohol Setelah Fermentasi (%)

Perlakuan	Ulangan				Total	Rataan
	I	II	III	IV		
G1	4.5	4.2	3.9	4.3	16.9	4.23
G2	7.5	7.1	6.9	7.4	28.9	7.23
G3	9.4	9.7	9.8	9.2	38.1	9.53
G4	13.1	13.3	13.6	13.5	53.5	13.38
G5	15.4	15.7	15.6	15.2	61.9	15.48
G6	19.2	20.1	19.5	19.8	78.6	19.65
Total	69.1	70.1	69.3	69.4	277.9	
Rataan	11.52	11.68	11.55	11.57		11.58

#### Daftar Analisis Sidik Ragam Kadar Alkohol Setelah Fermentasi (%)

Sumber	db	JK	KT	FH		F.05	F.01
Perlakuan	5	643.21	128.64	1668.87	**	2.77	4.25
G Lin	1	5878.89	5878.89	76266.67	**	4.41	8.28
G Kuad	1	12.19	12.19	158.15	**	4.41	8.28
Simpangan			-	-			
Regresi	3	-5247.87	1749.29	22693.48	tn	3.16	5.09
Error	18	1.39	0.08				
Total	23	644.60					

**KK = 0.02397745**

**FK = 3217.85**

**\*\* = sangat nyata**

**\* = nyata**

**tn = tidak nyata**

#### Lampiran.4

##### Data Pengamatan Analisis Kadar alkohol Setelah Destilasi (%)

Perlakuan	Ulangan				Total	Rataan
	I	II	III	IV		
G1	43.0	41.0	43.0	42.0	169.0	42.25
G2	45.0	48.0	47.0	47.0	187.0	46.75
G3	66.0	65.0	64.0	64.0	259.0	64.75
G4	82.0	81.0	79.0	83.0	325.0	81.25
G5	87.0	88.0	87.0	86.0	348.0	87.00
G6	92.0	91.0	89.0	90.0	362.0	90.50
Total	415.0	414.0	409.0	412.0	1650.0	
Rataan	69.17	69.00	68.17	68.67		68.75

##### Datar Analisis Sidik Ragam Kadar Alkohol Setelah Destilasi (%)

Sumber	db	JK	KT	FH		F.05	F.01
Perlakuan	5	8658.50	1731.70	1198.87	**	2.77	4.25
G Lin	1	5878.89	5878.89	4070.00	**	4.41	8.28
G Kuad	1	12.19	12.19	8.44	**	4.41	8.28
Simpangan Regresi	3	2767.42	922.47	638.64	**	3.16	5.09
Error	18	26.00	1.44				
Total	23	8684.50					

**KK = 1.748146 %**

**FK = 113437.5**

**\*\* = sangat nyata**

**\* = nyata**

**tn = tidak nyata**

## Lampiran.5

### Data Pengamatan Analisis Rendemen (%)

Perlakuan	Ulangan				Total	Rataan
	I	II	III	IV		
G1	0.4	0.6	0.4	0.3	1.7	0.43
G2	6.0	7.4	8.0	7.6	29.0	7.25
G3	7.6	8.4	8.0	7.8	31.8	7.95
G4	9.2	8.4	8.8	8.6	35.0	8.75
G5	12.0	12.0	13.2	12.6	49.8	12.45
G6	20.0	20.4	20.8	20.6	81.8	20.45
Total	55.2	57.2	59.2	57.5	229.1	
Rataan	9.20	9.53	9.87	9.58		9.55

### Daftar Analisis Sidik Ragam Rendemen (%)

Sumber	db	JK	KT	FH		F.05	F.01
Perlakuan	5	875.90	175.18	723.64	**	2.77	4.25
G Lin	1	5878.89	5878.89	24284.57	**	4.41	8.28
G Kuad	1	12.19	12.19	50.36	**	4.41	8.28
Simpangan		-					
Regresi	3	5015.18	-1671.73	-6905.58	tn	3.16	5.09
Error	18	4.36	0.24				
Total	23	880.26					

**KK = 0.05154287**

**FK = 2186.95**

**\*\* = sangat nyata**

**\* = nyata**

**tn = tidak nyata**



