

**PENGARUH VARIASI KONSENTRASI BEKATUL PADA PROSES  
PRODUKSI ETANOL MENGGUNAKAN SINGKONG KARET (*Manihot  
glaziovii*) DENGAN METODE FERMENTASI MENGGUNAKAN  
*Saccharomyces cerevisiae***



**SKRIPSI**

Oleh:

**RONALD MUHAMMAD**  
**A1F010015**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN KIMIA  
JURUSAN PENDIDIKAN MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN  
UNIVERSITAS BENGKULU  
2014**

**PENGARUH VARIASI KONSENTRASI BEKATUL PADA PROSES  
PRODUKSI ETANOL MENGGUNAKAN SINGKONG KARET (*Manihot  
glaziovii*) DENGAN METODE FERMENTASI MENGGUNAKAN  
*Saccharomyces cerevisiae***



**Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Memperoleh Gelar Strata I  
Pada Program Studi Pendidikan Kimia  
Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan  
Universitas Bengkulu**

Oleh:

**RONALD MUHAMMAD  
A1F010015**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN KIMIA  
JURUSAN PENDIDIKAN MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN  
UNIVERSITAS BENGKULU  
2014**

**PENGARUH VARIASI KONSENTRASI BEKATUL PADA PROSES  
PRODUKSI ETANOL MENGGUNAKAN SINGKONG KARET (*Manihot  
glaziovii*) DENGAN METODE FERMENTASI MENGGUNAKAN  
*Saccharomyces cerevisiae***

**SKRIPSI**

Oleh :

**RONALD MUHAMMAD**

**A1F010015**

Disahkan Oleh :

**FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN**

**Dekan FKIP**

**Ketua Jurusan PMIPA**



**Prof. Dr. Rambat Nur Sasongko, M.Pd**  
**NIP. 19611207 198601 1 001**

**Dra. Diah Aryulina, M.A., Ph.D**  
**NIP. 19620718 198702 2 001**

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'Diah', written over the name of the second official.

**PENGARUH VARIASI KONSENTRASI BEKATUL PADA PROSES  
PRODUKSI ETANOL MENGGUNAKAN SINGKONG KARET (*Manihot  
glaziovii*) DENGAN METODE FERMENTASI MENGGUNAKAN  
*Saccharomyces cerevisiae***

**SKRIPSI**

Oleh:

**Ronald Muhammad**  
**A1F010015**

Telah Dipertahankan di Depan Tim Penguji Program Studi Pendidikan Kimia  
Jurusan Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan

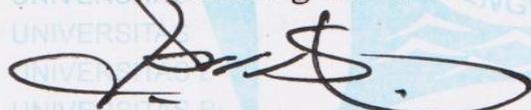
**Hari/ tanggal : Selasa/ 5 Maret 2014**

**Pukul : 16.00-18.00 WIB**

**Tempat : Ruang Prodi Pend. Kimia Dekanat FKIP Unib**

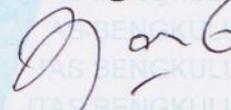
**Skripsi ini telah diperiksa dan disetujui oleh Dosen Pembimbing:**

**Pembimbing Utama**



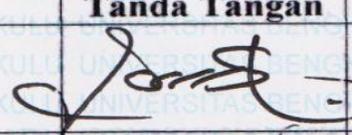
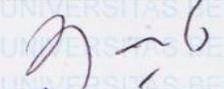
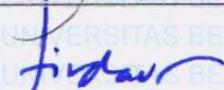
**Dr. Sumpono, M.Si**  
**NIP. 19600825 198703 1 005**

**Pembimbing Pendamping**



**I Nyoman Candra, M.Sc**  
**NIP. 19830729 200604 1 001**

**Skripsi ini telah diperiksa dan disetujui oleh Tim Penguji:**

Penguji	Nama Dosen	Tanda Tangan	Tanggal
Penguji I	<b><u>Dr. Sumpono, M.Si</u></b> NIP. 19600825 198703 1 005		18/3/2014
Penguji II	<b><u>I Nyoman Candra, M.Sc</u></b> NIP. 19830729 200604 1 001		6/3/2014
Penguji III	<b><u>Dr. M. Lutfi Firdaus, S. Si, M.T</u></b> NIP. 19731022 200003 1 001		17/3/2014
Penguji IV	<b><u>Drs. Hermansyah Amir, M.Pd</u></b> NIP. 19620920 199803 1 001		17/3-2014

## PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ronald Muhammad

NPM : A1F010015

Program Studi : Pendidikan Kimia

Fakultas : Keguruan dan Ilmu Pendidikan

Judul Skripsi : **Pengaruh Variasi Konsentrasi Bekatul Pada Proses Produksi Etanol Menggunakan Singkong Karet (*Manihot glaziovii*) Dengan Metode Fermentasi Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae***

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi ini merupakan hasil karya ilmiah yang disusun berdasarkan prosedur penelitian/pengembangan yang penulis lakukan sendiri dan bukan merupakan duplikasi skripsi/karya ilmiah orang lain. Pendapat atau temuan orang lain yang terdapat dalam skripsi ini dikutip atau dirujuk berdasarkan kode ilmiah.

Demikian pernyataan keaslian skripsi ini penulis buat agar dapat dipergunakan sebagai mana mestinya.

Bengkulu, Februari 2014

METERAI  
TEMPEL  
PAJAK MEMBANGUN BANGSA  
TOLAK  
0F36AACF157248081  
ENAM RIBU RUPIAH  
6000 DJP

Menyatakan



Ronald Muhammad  
A1F010015

*MOTTO*

*Melawan Itu Seni Perjuangan, Untuk  
Menjadikan Hidup Merdeka 100%*

*(Tan Malaka)*

*“Nothing Is Impossible”*

*DEDICATED TO:*

*My Parents,*

*My Sister and Brother,*

*And You ....!!!*

**PENGARUH VARIASI KONSENTRASI BEKATUL PADA PROSES  
PRODUKSI ETANOL MENGGUNAKAN SINGKONG KARET (*Manihot  
glaziovii*) DENGAN METODE FERMENTASI MENGGUNAKAN  
*Saccharomyces cerevisiae***

**Ronald Muhammad\*, Sumpono, I Nyoman Candra.**

**Program Studi Pendidikan Kimia  
Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan  
Universitas Bengkulu**

**ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan Bekatul pada proses produksi etanol dengan metode fermentasi dan untuk mengetahui berapakah kadar optimum Bekatul terhadap pembentukan kadar etanol yang diproduksi dengan metode fermentasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*. Substrat yang digunakan adalah singkong karet (*Manihot glaziovii*) yang diperoleh dari Desa Margasakti Bengkulu Utara, Provinsi Bengkulu. Bekatul yang digunakan adalah Bekatul yang berasal dari jenis padi Sadang yang juga di peroleh dari Desa Margasakti Bengkulu Utara, Provinsi Bengkulu. Variasi konsentrasi Vitamin B<sub>1</sub> dan Bekatul yang ditambahkan adalah tanpa adanya penambahan vitamin B<sub>1</sub> dan bekatul, dengan penambahan vitamin B<sub>1</sub> sebanyak 20 mg, penambahan 20 mg vitamin B<sub>1</sub> + 5 g bekatul, 20 mg vitamin B<sub>1</sub> + 7,5 g bekatul, 20 mg vitamin B<sub>1</sub> + 10 g bekatul, 20 mg vitamin B<sub>1</sub> + 12,5 g bekatul dan 20 mg vitamin B<sub>1</sub> + 15 g bekatul. Hasil fermentasi didestilasi dan kemudian diukur kadar etanol dengan metode berat jenis menggunakan kurva standar dari larutan etanol 96%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan bekatul berpengaruh terhadap meningkatnya kadar etanol karena berfungsi sebagai koenzim dan kofaktor pada proses fermentasi. Pemberian bekatul dapat meningkatkan kadar etanol dari 16.5% tanpa penambahan Bekatul menjadi 31.5% pada kadar optimum dengan penambahan Bekatul sebanyak 12,5 g.

**Kata Kunci:** Bekatul, Etanol, *S.cerevisiae*, Vitamin B<sub>1</sub>, *Manihot glaziovii*

\* Corresponding Author (email: ronaldmuhammad01@gmail.com)

**THE EFFECT OF VARIATION CONCENTRATION OF RICE BRAN IN  
PROCESSING OF ETHANOL PRODUCTION USING RUBBER  
CASSAVA (*Manihot glaziovii*) WITH FERMENTATION METHOD USING  
*Saccharomyces cerevisiae***

**Ronald Muhammad \* , Sumpono , I Nyoman Candra .**

**Chemistry Education Program  
Faculty of Teacher Training and Education  
University of Bengkulu**

**ABSTRACT**

This study aims to determine the effect of rice bran in the process of ethanol production by fermentation method and to find out what is the optimum concentration of rice bran to the formation of ethanol produced by fermentation method using *Saccharomyces cerevisiae* . The substrate used was rubber cassava (*Manihot glaziovii*) obtained from Margasakti Village North Bengkulu , Bengkulu Province. The rice Bran used was derived from the type of rice Sadang, and also obtained from the Village Margasakti North Bengkulu , Bengkulu Province. Variations in the concentration of Vitamin B<sub>1</sub> and rice bran used were substrat without the addition of vitamin B<sub>1</sub> and rice bran, with the addition of 20 mg of vitamin B<sub>1</sub>, the addition of 20 mg of vitamin B<sub>1</sub> + 5 g of rice bran, 20 mg of vitamin B<sub>1</sub> + 7.5 g of rice bran, 20 mg of vitamin B<sub>1</sub> + 10 g of rice bran, 20 mg of vitamin B<sub>1</sub> + 12.5 g of rice bran and 20 mg of vitamin B<sub>1</sub> + 15 g of rice bran. Ethanol produced from fermentation process was distilled and then its concentration was measured by specific gravity method using a standard curve of 96% ethanol solution . The results showed that the addition of rice bran affecting an increasing ethanol concentration because it serves as a coenzyme and cofactor in the fermentation process . Giving rice bran can increase the ethanol concentration of 16.5% without the addition of rice bran be 31.5% at the optimum concentration of ethanol by the addition of 12.5 g of rice bran .

**Keywords** : Rice Bran, Ethanol, *S.cerevisiae*, Vitamin B<sub>1</sub>, *Manihot glaziovii*

\* Corresponding Author (email: ronaldmuhammad01@gmail.com)

## KATA PENGANTAR

Syukur alhamdulillah penulis ucapkan kepada Allah SWT, atas limpahan nikmat dan karunianya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Pengaruh Variasi Konsentrasi Bekatul Pada Proses Produksi Etanol Menggunakan Singkong Karet (*Manihot glaziovii*) Dengan Metode Fermentasi Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*”**.

Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat memperoleh gelar sarjana pada Program Studi Pendidikan Kimia Jurusan Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (PMIPA), Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan (FKIP), Universitas Bengkulu.

Penulis skripsi ini tidak lepas dari bantuan beberapa pihak, untuk itu dengan segala hormat dan kerendahan hati penulis menyampaikan rasa terima kasih kepada :

1. Prof. Dr. Rambat Nur Sasongko, M.Pd selaku Dekan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Bengkulu
2. Dra. Diah Aryulina, MA., Ph.D selaku Ketua Jurusan Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Bengkulu
3. Dewi Handayani, M.Si selaku Ketua Program Studi Pendidikan Kimia, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Bengkulu
4. Dr. Sumpono, M.Si dan I Nyoman Chandra, M.Sc selaku dosen pembimbing
5. Bapak dan Ibu Dosen Program Studi Pendidikan Kimia Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Bengkulu
6. Laboran Agronomi, Fakultas Pertanian Universitas Bengkulu
7. Laboratorium 7 Pendidikan Kimia, Fakultas KIP Universitas Bengkulu

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini belum sempurna. Oleh karena itu saran dan kritik yang sifatnya membangun penulis harapkan sebagai masukan bagi penulisan karya-karya ilmiah lainnya dimasa yang akan datang. Akhirnya penulis juga berharap semoga skripsi ini dapat memberikan sumbangan yang bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

Bengkulu, Februari 2014

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>i</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN</b> .....	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI</b> .....	<b>iv</b>
<b>HALAMAN MOTTO DAN PERSEMBAHAN</b> .....	<b>v</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>vi</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>vii</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>viii</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>ix</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xiii</b>
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Ruang Lingkup Penelitian .....	3
1.4 Keaslian Penelitian .....	4
1.5 Tujuan Penelitian.....	4
1.6 Manfaat Penelitian.....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Studi Pustaka .....	6
2.2 Landasan Teori .....	7
2.2.1 Singkong Karet ( <i>Manihot glaziovii</i> ).....	7
2.2.2 Bioetanol .....	9
2.2.3 Vitamin B1 .....	11
2.2.4 Bekatul .....	12
2.2.5 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	13
2.2.6 Fermentasi Untuk Produksi Etanol .....	16
2.2.7 Destilasi dan Pengukuran Kadar .....	19
2.3 Hipotesis Sementara .....	20
2.4 Kerangka Berfikir.....	21
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b>	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	22
3.2 Alat dan Bahan .....	22

3.2.1	Alat.....	22
3.2.2	Bahan .....	22
3.3	Prosedur Penelitian.....	22
3.3.1	Persiapan Sampel .....	22
3.3.2	Produksi Etanol .....	22
3.3.3	Destilasi.....	23
3.3.4	Pengukuran Kadar Etanol Dengan Metode Berat Jenis ...	23
3.3.4.1	Pembuatan Larutan Standar Etanol .....	23
3.3.4.2	Pembuatan Kurva Standar Etanol.....	24
3.3.4.3	Pengukuran Kadar Larutan Etanol.....	24
3.4	Pengukuran pH Larutan Sampel .....	24
<b>BAB IV</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1	Preparasi Sampel dan Proses Hidrolisis .....	25
4.2	Proses Fermentasi Oleh Khamir <i>S.cerevisiae</i> .....	28
4.3	Pengukuran Kadar Etanol.....	29
4.4	Perbandingan Kadar Etanol Hasil Fermentasi Menggunakan Bekatul dan Kadar Etanol Tanpa Menggunakan Bekatul .....	31
4.5	Pengukuran Kadar Asam Asetat Di Dalam Hasil Fermentasi...	36
<b>BAB V</b>	<b>PENUTUP</b>	
5.1	Simpulan.....	40
5.2	Saran.....	40
<b>DAFTAR PUSTAKA</b>	.....	42
<b>LAMPIRAN</b>	.....	47

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil Analisa Kandungan Kimia Singkong Karet.....	8
Tabel 2. Sifat Fisika dan Kimia Etanol .....	10
Tabel 3. Komposisi Kimia Bekatul .....	13
Tabel 4. Nilai Rata-Rata Kadar Etanol, Standar Deviasi dan Koefisien Varian.....	30
Tabel 5. Kadar Etanol Yang Diperoleh Dari Hasil Fermentasi.....	32
Tabel 6. pH dan Kadar Asam Asetat Yang Terkandung Di Dalam Sampel ..	36

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. <i>Manihot glaziovii</i> .....	8
Gambar 2. Struktur Kimia Tiamin Tiroposfat (TPP) .....	11
Gambar 3. Proses Pembuatan Bekatul .....	12
Gambar 4. Siklus Hidup <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	14
Gambar 5. Grafik Pertumbuhan Mikroba Pada Kultur .....	17
Gambar 6. Skema Fermentasi Glukosa Menjadi Alkohol (Embden Meyerhof -Parnas Pathway) .....	18
Gambar 7. Struktur Amilosa dan Amilopektin .....	26
Gambar 8. Mekanisme Reaksi Hidrolisis Karbohidrat .....	27
Gambar 9. Grafik Kurva Standar Etanol .....	29
Gambar 10. Grafik Perbandingan Kadar Etanol dan Standar Deviasi Hasil Fermentasi Dengan Penambahan Bekatul .....	32
Gambar 11. Tingkat Reaksi Perubahan Asam Piruvat Menjadi Asetaldehid..	33
Gambar 12. Grafik Kadar Asam Asetat .....	37

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Pembuatan Kurva Standar Etanol.....	47
Lampiran 2. Pengukuran Kadar Etanol Dalam Sampel .....	50
Lampiran 3. Tabel Standar Deviasi (SD) dan Koefesien Varian (KV) Perhitungan Kadar Etanol.....	53
Lampiran 4. Pengukuran Kadar Asam Asetat Dalam Sampel .....	54
Lampiran 5. Perhitungan Uji Statistik Anova One Way, Pengaruh Konsentrasi Bekatul Terhadap Kadar Etanol Yang Dihasilkan.	55
Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian.....	58
Lampiran 7. Daftar Riwayat Hidup.....	63

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang Masalah**

Dewasa ini kebutuhan masyarakat luas akan bahan bakar semakin meningkat dan hal ini tidak diimbangi dengan ketersediaan jumlah bahan bakar tersebut yang semakin hari semakin berkurang. Hal ini disebabkan karena kebutuhan energi tersebut bukanlah berasal dari sumber energi terbarukan melainkan dari bahan bakar fosil yang jumlahnya terbatas. Untuk Indonesia sendiri khususnya, pemerintah telah menegaskan seperti yang tercantum dalam jurnal kajian LEMHANNAS RI Tahun 2012 bahwa kebijakan yang dicanangkan pemerintah untuk konservasi dan diversifikasi energi adalah suatu kebijakan yang tepat. Pengembangan Energi Baru Terbarukan (EBT) sebagai komplementer energi berbasis fosil mutlak harus dilakukan karena sumber energi bukan hanya batu bara dan BBM saja, melainkan juga panas bumi, Bahan Bakar Nabati (BBN), bioetanol, dan bahkan sampah sekalipun.

Menurut Nugraha (2012) dan Retno (2009) menyatakan bahwa bioetanol merupakan Bahan Bakar Nabati (BBN) yang biasanya berasal dari biomassa yang mengandung pati, lignoselulosa dan gula. Bioetanol ini juga merupakan etanol yang berasal dari sumber hayati seperti tebu, ubi kayu, jerami, bonggol jagung dan lain-lain yang pada saat ini pemanfaatannya telah berkembang sebagai bahan bakar alternatif misalnya dalam pembuatan gasohol (campuran gasolin dan alkohol).

Singkong karet merupakan salah satu jenis singkong beracun yang mengandung sianida (CN<sup>-</sup>) sehingga kurang dimanfaatkan, namun memiliki berat 4 kali lipat berat singkong biasa. Pada umumnya singkong itu sendiri memiliki beberapa kelebihan diantaranya dapat tumbuh pada lahan yang kurang subur, memiliki resistensi yang tinggi terhadap penyakit dan waktu pemanenannya dapat diatur. Singkong itu sendiri memiliki kadar karbohidrat sekitar 32-35% yang sebagian besar adalah pati yaitu sekitar 83,8% yang hal ini telah lazim

digunakan sebagai salah satu bahan baku untuk memproduksi bioetanol (Arnata, 2007).

Untuk memperoleh kadar etanol optimum maka proses fermentasi disini digunakan khamir *Saccharomyces cerevisiae* yang pada umumnya terdapat didalam ragi tape di mana mengandung mikroorganisme lain seperti kapang (*Rhizopus dan Aspergillus*) (Ilmi, 2013). Pada proses fermentasi ini *Saccharomyces cerevisiae* hanya memiliki kemampuan mengubah monosakarida dan disakarida menjadi etanol dengan enzim invertase dan enzim zymase (Azizah, 2012).

Kaitannya dengan pembentukan etanol, Satria (2013) menjelaskan bahwa proses pembentukan etanol ini sendiri merupakan proses glikolisis dari glukosa menjadi asam piruvat dengan mekanisme reaksi yang panjang dan dari proses tersebut asam piruvat diubah kembali menjadi asetaldehid dan CO<sub>2</sub> dalam keadaan anaerob. Selanjutnya asetaldehid tersebut diubah menjadi etanol yang diikuti dengan perubahan Nikotinamida Adenin Dinukleotida Hidrogen (NADH) menjadi Nikotinamida Adenin Dinukleotida (NAD).

Menurut Rahayu (2010) fungsi metabolik tiamin pirophospat (TPP) adalah sebagai koenzim dekarboksilasi senyawa asam-keto. Dimana beberapa enzim yang menggunakan TPP sebagai koenzim adalah piruvat decarboxilase, pyruvate dehydrogenase, dan transketolase. Tiamin penting sebagai koenzim piruvate dan  $\alpha$ -ketoglutarate dehidrogenase, yang juga diperlukan untuk reaksi fermentasi glukosa menjadi etanol di dalam yeast. Selain TPP dalam proses pembentukan asetaldehid menjadi etanol itu sendiri dalam proses fermentasi juga memerlukan kofaktor ion Zn<sup>2+</sup> untuk enzim alkohol dehidrogenase yang berperan dalam proses pembentukan etanol dari asetaldehid.

Salah satu dari jenis makanan yang banyak mengandung vitamin B<sub>1</sub> dan Zn adalah Bekatul. Bekatul itu sendiri merupakan hasil limbah halus penggilingan padi yang kaya akan protein dan vitamin B. Sehingga peneliti beranggapan bahwa dengan adanya penambahan bekatul yang dapat berperan sebagai koenzim

dan kofaktor pada proses fermentasi akan lebih mengoptimalkan etanol yang dihasilkan.

Berdasarkan hal tersebut, perlu dilakukan penelitian mengenai pengaruh variasi konsentrasi bekatul pada proses produksi etanol dengan menggunakan singkong karet (*Manihot glaziovii*) dengan metode fermentasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas, maka permasalahan yang diangkat dalam penelitian ini adalah :

- a. Bagaimanakah pengaruh pemberian bekatul terhadap kadar etanol yang dihasilkan dari singkong karet (*Manihot glaziovii*) ?
- b. Bagaimanakah kondisi optimum variasi konsentrasi bekatul terhadap kadar etanol yang dihasilkan ?

## 1.3 Ruang Lingkup Penelitian

Mengingat waktu dan dana, penelitian ini dibatasi pada :

- a. Singkong karet yang digunakan diperoleh di Desa Margasakti Kecamatan Padang Jaya, Bengkulu Utara
- b. Bekatul yang diperoleh adalah bekatul dari padi jenis padi Sadang yang berasal dari tempat penggilingan padi di Desa Margasakti Kecamatan Padang Jaya, Bengkulu Utara
- c. Vitamin B<sub>1</sub> diperoleh dari membeli vitamin tersebut di apotik kimia farma jenis vitamin B<sub>1</sub> IPI
- d. Variasi konsentrasi Vitamin B<sub>1</sub> dan Bekatul terhadap proses fermentasi adalah tanpa adanya penambahan vitamin B<sub>1</sub> dan bekatul, dengan penambahan vitamin B<sub>1</sub> sebanyak 20 mg, penambahan 20 mg vitamin B<sub>1</sub> + 5 g bekatul, 20 mg vitamin B<sub>1</sub> + 7,5 g bekatul, 20 mg vitamin B<sub>1</sub> + 10 g bekatul, 20 mg vitamin B<sub>1</sub> + 12,5 g bekatul dan 20 mg vitamin B<sub>1</sub> + 15 g bekatul.

#### 1.4 Keaslian Penelitian

Telah banyak sekali penelitian yang meneliti tentang pembentukan etanol dari singkong dengan metode fermentasi untuk menghasilkan etanol dengan berbagai variasi konsentrasi yeast, waktu fermentasi dan lain sebagainya. Begitu juga dengan penelitian tentang produksi etanol dari bahan lainnya selain ubi kayu. Namun dalam penelitian untuk mengetahui sejauh mana peran bekatul sebagai koenzim dan sebagai salah satu cara aplikatif dalam penelitian ini terhadap peningkatan produksi etanol dari singkong jenis singkong karet (*Manihot glaziovii*) nantinya belum pernah dilakukan sebelumnya dan juga belum ditemukan publikasi ilmiahnya.

#### 1.5 Tujuan Penelitian

- a. Untuk mengetahui apakah ada pengaruh dari pemberian bekatul terhadap pembentukan kadar etanol yang diproduksi secara fermentasi dari singkong karet (*Manihot glaziovii*) ?
- b. Untuk mengetahui berapakah konsentrasi optimum pemberian bekatul terhadap pembentukan kadar etanol yang diproduksi secara fermentasi dari singkong karet (*Manihot glaziovii*) ?

#### 1.6 Manfaat Penelitian

- a. Bagi Peneliti  
Penelitian ini bagi peneliti tentunya menambah khasanah ilmu pengetahuan peneliti khususnya mengenai penelitian tentang bioteknologi, pembuatan sumber energi terbarukan dan selain itu juga untuk menambah pengalaman bagi peneliti khususnya dalam melakukan praktikum di dalam laboratorium.
- b. Bagi Masyarakat  
Memberikan informasi kepada khalayak banyak mengenai ada atau tidaknya pengaruh bekatul terhadap produktifitas kadar etanol dalam proses fermentasi

sebagai salah satu cara untuk memproduksi etanol sebagai suatu sumber energi yang terbarukan.

c. Bagi Pengembangan Ilmu Pengetahuan

Dapat memberikan informasi adanya aktifitas yang membutuhkan koenzim dan kofaktor dalam proses fermentasi etanol. Dimana pada kesempatan kali ini peneliti menggunakan koenzim dan kofaktor yang berasal dari bekatul yang nantinya dapat dikembangkan lagi untuk perkembangan ilmu pengetahuan selanjutnya untuk memperoleh kadar etanol optimum.

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Studi Pustaka

Hapsari (2013) dalam penelitiannya terhadap Singkong karet (*Manihot glaziovii*) menyatakan bahwa jenis singkong ini merupakan singkong beracun yang mengandung CN<sup>-</sup> yang bersifat racun dengan kandungan karbohidrat mencapai 98,5% yang dapat dikonversi menjadi etanol pada destilasi ke 2. Fermentasi yang dilakukan menggunakan khamir *Saccharomyces cerevisiae* secara anaerob dan menghasilkan kadar etanol paling tinggi yaitu sebesar 94% pada kondisi waktu optimum 168 jam dari tiga variable waktu yaitu 144 jam, 168 jam dan 192 jam. Sementara untuk variable masa ragi diperoleh kadar alkohol etanol tertinggi pada massa ragi sebanyak 15 g dari variable 5 g, 10 g dan 15 g. Enzim yang digunakan dalam penelitian ini adalah enzim amilase dalam mengubah pati menjadi glukosa namun belum menjelaskan adanya penambahan koenzim dalam fermentasi tersebut dalam meningkatkan produksi etanol.

Sementara itu peneliti lain seperti Arnata (2009) mengungkapkan bahwa Penggunaan kultur campuran *T. viride*, *A. niger* dan *Saccharomyces cerevisiae* pada proses fermentasi substrat hidrolisat enzim secara SFS selama 4 hari dapat meningkatkan konsentrasi etanol etanol dari  $5,36 \pm 0,63\%$  (b/v) menjadi  $7,41 \pm 1,79\%$  (b/v) atau meningkat 38,29% dibandingkan dengan menggunakan kultur tunggal *S. cerevisiae*, sedangkan penggunaan kultur campuran yang ditambahkan secara bertahap pada proses fermentasi hanya mampu meningkatkan konsentrasi etanol dari  $5,36 \pm 0,63\%$  (b/v) menjadi  $6,38 \pm 0,83\%$  (b/v) atau meningkat 19,06% terhadap penggunaan kultur tunggal *Saccharomyces cerevisiae*. Adanya penambahan AMG dengan selulase kasar dan komersial pada tahap sakarifikasi juga dapat meningkatkan konsentrasi etanol dari  $5,36 \pm 0,63\%$  (b/v) menjadi  $9,29 \pm 1,76\%$  (b/v). Penelitian ini tidak menjelaskan adanya peran koenzim dan kofaktor dalam pembentukan etanol pada proses fermentasi namun hanya membandingkan perbedaan hasil produksi etanol yang diperoleh dengan

melakukan berbagai metode hidrolisa pati menjadi glukosa baik itu secara hidrolisis asam maupun hidrolisis enzim.

Penelitian mengenai vitamin B itu sendiri dalam proses fermentasi pernah dilakukan oleh Puspitasari (2009) yang meneliti tentang pengaruh jenis vitamin B dan sumber nitrogen dalam peningkatan kandungan protein kulit ubi kayu melalui proses fermentasi. Penelitian ini bertujuan untuk memanfaatkan limbah kulit ubi kayu menjadi makanan yang berprotein tinggi, meningkatkan kandungan protein pada kulit ubi kayu dengan proses fermentasi, Proses fermentasi dilakukan pada waktu 7 hari, dengan jenis starter ragi tape dalam dosis inokulum 0,3 g. Jenis substrat yaitu kulit ubi kayu, dengan banyaknya substrat yang digunakan sebanyak 100 g. Analisa kadar protein menggunakan metode kjehdall dengan BPOM standart. Di mana dari hasil analisa penambahan jenis vitamin B yang paling optimal adalah B kompleks sedangkan pada jenis sumber nitrogen yang paling optimal adalah  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . Proses penelitian disini terhadap vitamin B juga hanya sebatas dalam mendeteksi kandungan kulit ubi kayu dalam hal peningkatan kadar protein dan vitaminnya sementara analisa peran vitamin B<sub>1</sub> dalam proses fermentasinya belum diujikan.

## **2.2 Landasan Teori**

### **2.2.1 Singkong Karet (*Manihot glaziovii*)**

Tanaman singkong merupakan salah satu jenis tanaman pertanian utama di Indonesia. Keunggulan dari tanaman ini adalah mudah tumbuh sekalipun pada tanah kering dan miskin unsur hara serta tahan terhadap serangan penyakit maupun tumbuhan pengganggu (gulma). Tanaman singkong ini juga mudah (membudidayakannya) karena perbanyakkan tanaman ini umumnya dengan stek batang (Askar, 1996).



**Gambar 1.** Manihot glaziovii (www.africamuseum.be)

Singkong Karet merupakan salah satu jenis singkong yang memiliki senyawa beracun sianida (CN<sup>-</sup>) sehingga dalam kehidupan sering tidak dimanfaatkan dan tidak diperjual belikan oleh masyarakat. Tanaman ini dapat menghasilkan ubi yang beratnya mencapai 4 kali lipat ubi biasa sehingga jika dipergunakan dalam pembuatan bioetanol sangat layak dari segi ketersediaannya sebagai bahan baku karena kandungan pati dalam singkong ini dapat dikonversi menjadi etanol (Hapsari, 2013).

**Tabel 1.** Hasil Analisa Kandungan Kimia Singkong Karet

No	Analisa	Kadar 100% BK
1	Kadar Abu	0,4734
2	Kadar Lemak Kasar	0,5842
3	Kadar Serat Kasar	0,0067
4	Kadar Protein Kasar	0,4750
5	Kadar Karbohidrat	98,4674

Sumber : Laboraturium Ilmu Makanan Ternak FP Undip  
(Hapsari, 2013)

Dalam sistematika (taksonomi) tanaman ketela pohon jenis ini diklasifikasikan sebagai berikut :

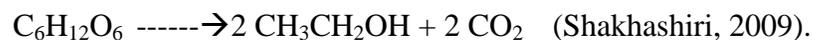
Kingdom	: Plantae ( tumbuh- tumbuhan)
Divisio	: Spermatophyta ( tumbuhan berbiji )
Subdivisio	: Angiospermae ( biji tertutup )
Kelas	: Dicotyledonae ( biji berkeping dua )

Ordo	: Euphorbiales
Famili	: Euphorbiaceae
Genus	: Manihot
Species	: <i>Manihot glaziovii</i> ( <a href="http://plants.usda.gov">http://plants.usda.gov</a> )

### 2.2.2 Bioetanol

Menurut Rikana (2009) Bioetanol merupakan etanol yang bahan utamanya diperoleh dari tumbuhan dan umumnya menggunakan proses fermentasi. Bioetanol ini juga merupakan salah satu bahan bakar alternatif yang menjanjikan. Etanol atau etil alkohol  $C_2H_5OH$  adalah suatu cairan bening tak berwarna, terurai secara biologis (*biodegradable*), memiliki toksisitas rendah dan tidak menimbulkan polusi udara yg besar bila bocor. Etanol kaitannya dengan bahan bakar memiliki angka oktan tinggi sehingga dapat menggantikan timbal sebagai peningkat nilai oktan dalam bensin.

Etanol sesungguhnya telah di produksi dari zaman dahulu oleh fermentasi gula (glukosa). Misalnya dalam pembuatan beer dan wine. Pada umumnya industri pembuatan etanol saat ini masih menggunakan metode yang sama dimana gula sederhana adalah sebagai bahan bakunya menggunakan enzim zimase sebagai pengubahnya yang diperoleh dari ragi dengan hasil akhir etanol dan karbon dioksida. Etanol itu sendiri merupakan kelompok senyawa alkohol yang mengandung gugus hidroksil  $-OH$ .



Adapun sifat fisik dan kimia etanol itu sendiri dijelaskan dalam tabel berikut :

**Tabel.2** Sifat Fisika dan Kimia Etanol

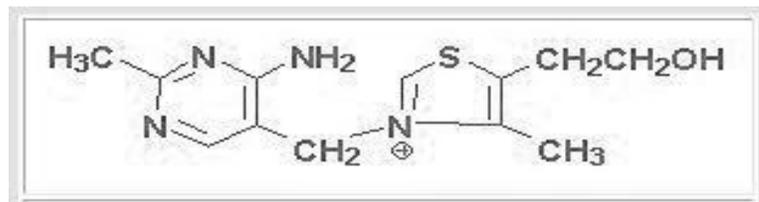
Parameter	Keterangan
Bentuk	Cair
Warna	Tidak Berwarna
Ambang Bau	0,1-5058,5 ppm
pH	7,0 pada 10 g/l 20°C
Titik lebur	-114,5°C
Titik didih	78,3°C pada 1013 hPa
Titik nyala	12°C
Laju penguapan	Tidak tersedia informasi
flamabilitas (padatan,gas)	Tidak tersedia informasi
Batas ledakan bawah	3,5 % (V)
Batas ledakan atas	15 % (V)
Tekanan uap	59 hPa pad 20°C
Rapat uap relative	1,6
Kerapatan relative	0,790-0,793 g/cm <sup>3</sup> pada 20°C
Kelarutan dalam air	Pada 20°C tercampur sepenuhnya
Viskositas	1,2 mPa pada 20°C
Sifat peledak	Tidak diklasifikasikan sebagai mudah meledak

Berdasarkan Lembar Data Keselamatan Bahan  
Menurut Peraturan UE No 1907/2006

Menurut Nurdyastuti (2006) secara singkat teknologi proses produksi etanol/bio-etanol tersebut dapat dibagi dalam tiga tahap, yaitu gelatinasi, sakarifikasi, dan fermentasi. Dimana hal ini juga melalui tiga rangkaian proses yaitu persiapan bahan baku, fermentasi dan destilasi (pemurnian). Pada tahap persiapan bahan baku adalah persiapan bahan yang akan dimanfaatkan patinya untuk diubah menjadi etanol melalui proses hidrolisis terlebih dahulu. Tahap fermentasi merupakan tahap mengubah glukosa menjadi etanol. Dan tahap destilasi adalah tahap pemurnian untuk mengetahui dan meningkatkan kadar etanol yang dihasilkan.

### 2.2.3 Vitamin B<sub>1</sub>

Vitamin B<sub>1</sub>, juga disebut tiamin, adalah salah satu dari 8 jenis vitamin B. Semua vitamin B membantu tubuh mengubah makanan (karbohidrat) menjadi bahan bakar (glukosa), yang digunakan untuk menghasilkan energi. Vitamin B<sub>1</sub> dinamai demikian karena tiamin adalah vitamin B yang pertama kali ditemukan. Tiamin dapat ditemukan di tumbuhan dan hewan dan memainkan peran penting dalam reaksi metabolisme tertentu (Anonim, 2013).



**Gambar 2.** Struktur Kimia Tiamin Piroposfat (TPP) (Rahayu, 2010)

Menurut Rahayu (2010) Tiamin larut dalam air dan dapat rusak dengan adanya panas. Peran utama tiamin adalah sebagai bagian dari koenzim dalam dekarboksilasi oksidatif asam alfa-keto. Berperan penting sebagai koenzim dekarboksilasi senyawa asam-keto. Beberapa enzim yang menggunakan TPP sebagai koenzim adalah piruvate decarboxilase, piruvate dehidrogenase, dan transketolase. Tiamin penting sebagai koenzim piruvate dan  $\alpha$ -ketoglutarate dehidrogenase, sehingga jika terjadi defisiensi, maka kapasitas sel dalam menghasilkan energi menjadi sangat berkurang. Tiamin ini juga diperlukan untuk reaksi fermentasi glukosa menjadi etanol di dalam yeast.

Menurut Caraka (2011) Sumber tiamin adalah bibit gandum, dedak, gandum atau tepung gandum, dan beras merah yang diasamkan dengan ragi dan sirup. Selanjutnya juga banyak terdapat di kacang-kacangan, seperti kacang tanah dan kacang polong. Dari buah-buahan, alpukat adalah yang tertinggi kandungan vitamin B<sub>1</sub>nya.

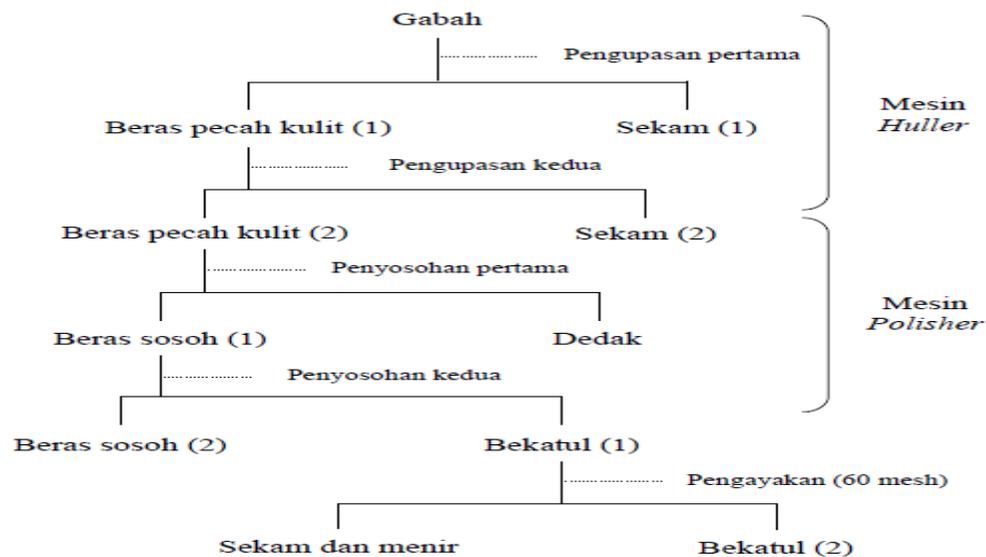
Defisiensi tiamin akan menyebabkan gangguan pada saraf pusat, antara lain memori berkurang atau hilang, nistagmus, optalmoplegia, dan ataksia. Gangguan juga terjadi pada saraf tepi, berupa neuropati perifer. Gangguan yang

lain berupa kelemahan simetrik (badan sangat lemah), kehilangan fungsi sensorik, motorik dan reflek kaki. Timbul beri-beri jantung, dengan gejala jantung membesar, aritma, hipertensi, odema, dan kegagalan jantung (Rahayu, 2010).

#### 2.2.4 Bekatul

Padi (*Oryza sativa*) adalah sumber bekatul. Bekatul merupakan hasil samping dari proses penggilingan padi dengan kandungan serat yang tinggi yang biasanya dimanfaatkan sebagai pakan ternak. Sebagai bahan pangan, bekatul memiliki potensi yang cukup besar yang ditunjang di Indonesia oleh karena produksi padi yang meningkat dari tahun ke tahun, sehingga akan meningkatkan produksi hasil samping bekatul (Saputra, 2008).

Menurut Auliana (2011) gabah padi terdiri dari 2 bagian yaitu endosperm atau butiran beras dan kulit kulit padi (sekam). Penggilingan padi bertujuan memisahkan beras dengan sekam yang kemudian dilakukan proses penyosohan dua kali. Penyosohan I menghasilkan dedak dengan tekstur kasar karena masih mengandung sekam dan penyosohan II menghasilkan bekatul (*rice bran*) yang bertekstur halus dan tidak mengandung sekam. Penggilingan padi ini menghasilkan beras sekitar 60-65% dan bekatul sekitar 8-12%.



**Gambar 3.** Proses Pembuatan Bekatul (Janathan, 2000)

**Tabel.3** Komposisi Kimia Bekatul

Komponen	Jumlah
Protein (%)	12,0-15,6
Lemak (%)	15,0-19,7
Serat Kasar (%)	7,0-11,4
Karbohidrat (%)	34,1-52,3
Abu (%)	6,6-9,9
Kalsium (mg/g)	0,3-1,2
Magnesium (mg/g)	5,0-13,0
Fosfor (mg/g)	11,0-25,0
Silika (mg/g)	5,0-11,0
Seng ( $\mu\text{g/g}$ )	43,0-258,0
Thiamin/B <sub>1</sub> ( $\mu\text{g/g}$ )	12,0-24,0
Riboflavin/B <sub>2</sub> ( $\mu\text{g/g}$ )	1,8-4,0

Luh (1991) Dalam Jurnal Janathan (2007)

Menurut Auliana (2011) dan Ardiansyah (2011) bekatul memiliki kandungan gizi lain seperti serat, vitamin B kompleks, protein, tiamin dan niasin lebih banyak terdapat didalam bekatul. Bekatul terutama kaya akan vitamin B komplek (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>5</sub>, dan B<sub>6</sub>), vitamin E (tocopherols dan tocotrienols), carotenoids, asam lemak esensial, dan lain-lain. Manfaat bekatul diantaranya adalah dapat menurunkan kadar kolesterol darah dan dapat meningkatkan kadar high density lipo-protein (HDL) kolesterol darah, menurunkan tekanan darah, dan meningkatkan metabolisme glukosa.

### 2.2.5 *Saccharomyces cerevisiae*

Pada umumnya mikroorganisme *Saccharomyces* biasanya diketahui oleh masyarakat banyak berupa ragi yang biasa digunakan untuk membuat tape (fermentasi ubi) atau juga proses pembuatan roti. Namun dalam dunia industri mikroorganisme ini juga dapat digunakan dalam industri produksi etanol. *Saccharomyces cerevisiae* itu sendiri adalah khamir yang umum digunakan untuk pembuatan roti dan fermentasi. Mikroorganisme ini juga merupakan jenis organisme yang banyak dijadikan model di laboratorium karena merupakan eukariota uniseluler yang memiliki keunggulan karena sangat mudah dikulturkan,

dapat tumbuh dengan cepat, dan genomnya sudah dipetakan dan dapat dengan mudah menerima transfer gen (Jay, 2006).

Menurut Singleton dan Sainsbury (2006), *Saccharomyces cerevisiae* adalah jenis fungi yang paling dikenal dan dimanfaatkan oleh manusia. Dikarenakan *Saccharomyces cerevisiae* ini memiliki kemampuan untuk memetabolisme suatu gula menjadi etanolnya dan menjadi gas karbondioksida, dimana species ini sering digunakan dalam pembuatan roti.

Adapun taksonomi *Saccharomyces cerevisiae* adalah sebagai berikut:

Kingdom : *Fungi*

Division : *Ascomycota*

Class : *Ascomycetes*

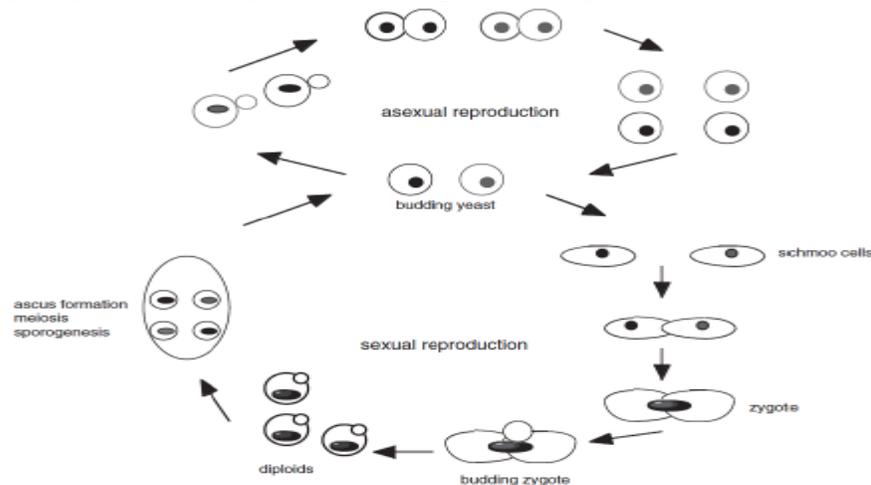
Ordo : *Saccharomycetales*

Familia : *Saccharomycetaceae*

Genus : *Saccharomyces*

Species : *Saccharomyces cerevisiae*

Biasanya khamir berkembang secara aseksual dan hanya pada kondisi lingkungan tertentu saja akan terjadi perkembangbiakan secara seksual.



**Gambar 4.** Siklus Hidup *Saccharomyces cerevisiae* (Kavanagh, 2005)

Dalam perkembangannya, menurut Suprihatin (2010) yeast dalam proses fermentasi akan mengalami beberapa fase diantaranya :

#### 1. Fase Adaptasi

Fase adaptasi ini merupakan fase untuk menyesuaikan diri dengan lingkungan sekitarnya. Lamanya fase ini dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu medium dan lingkungan pertumbuhan, jika medium dan lingkungan pertumbuhan sama seperti medium sebelumnya maka mungkin tidak diperlukan waktu adaptasi.

#### 2. Fase Pertumbuhan Awal

Setelah mengalami fase adaptasi, mikroba mulai membelah dengan kecepatan yang rendah karena baru mulai menyesuaikan diri.

#### 3. Fase Pertumbuhan Logaritmik

Pada fase ini mikroba membelah dengan cepat dan konstan mengikuti kurva logaritmik. Pada fase ini kecepatan pertumbuhan sangat dipengaruhi oleh medium tempat tumbuhnya seperti pH yaitu berkisar antara 5-6 dan kandungan nutrisi, juga kondisi lingkungan termasuk suhu dan kelembaban udara. Pada fase ini mikroba membutuhkan energi lebih banyak daripada fase lainnya. Pada fase ini kultur paling sensitif terhadap keadaan lingkungan.

#### 4. Fase Pertumbuh Lambat

Pada fase ini pertumbuhan populasi mikroba diperlambat karena beberapa sebab yaitu zat-zat nutrisi didalam medium sudah sangat berkurang. Adanya hasil-hasil metabolisme yang mungkin beracun atau dapat menghambat pertumbuhan mikroba. Pada fase ini jumlah populasi masih naik karena jumlah sel yang tumbuh masih lebih banyak dari pada jumlah sel yang mati.

#### 5. Fase Pertumbuhan Tetap (Statis)

Pada fase ini jumlah populasi sel tetap karena jumlah sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati. Ukuran sel pada fase ini menjadi lebih kecil-kecil karena sel tetap membelah meskipun zat-zat nutrisi sudah habis. Karena kekurangan zat nutrisi, sel kemungkinan mempunyai komposisi berbeda dengan sel yang tumbuh pada fase logaritmik. Pada fase ini sel-sel lebih tahan terhadap keadaan ekstrim seperti panas, dingin, radiasi dan bahan-bahan kimia.

## 6. Fase Menuju Kematian Dan Fase Kematian

Pada fase ini sebagian mikroba mulai mengalami kematian karena beberapa sebab yaitu : (1). Nutrien didalam medium sudah habis. (2). Energi cadangan didalam sel habis. Kecepatan kematian tergantung dari kondisi nutrien, lingkungan dan jenis mikroba.

Kandungan gula pada substrat dapat dikonversi menjadi bioetanol dengan bantuan *Saccharomyces cerevisiae*. Karena *Saccharomyces cerevisiae* dapat mengkonversi gula menjadi etanol karena adanya enzim invertase dan zimase. Dengan adanya enzim-enzim ini *Saccharomyces cerevisiae* memiliki kemampuan untuk mengkonversi baik gula dari kelompok monosakarida maupun dari kelompok disakarida. Jika gula yang tersedia dalam substrat merupakan gula disakarida, maka enzim Invertase akan bekerja menghidrolisis disakarida menjadi monosakarida. Setelah itu, enzim zimase akan mengubah monosakarida tersebut menjadi alkohol dan CO<sub>2</sub> (Azizah, 2012).

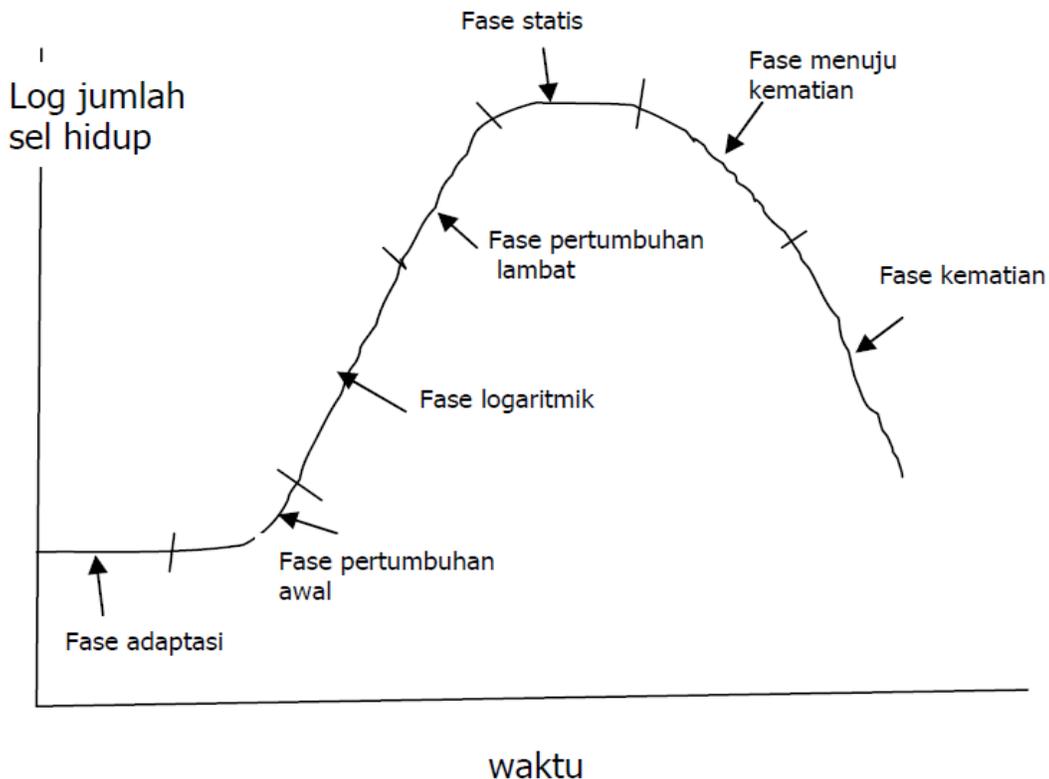
### 2.2.6 Fermentasi Untuk Produksi Bioetanol

Menurut Rahim (2009) suhu optimum untuk pertumbuhan khamir adalah pada suhu 25-30°C dan maksimum nya pada 35-47°C. Sedangkan pH optimum pertumbuhannya adalah 4-5. Hal ini perlu diperhatikan karena jika melampaui kondisi optimum tersebut maka pertumbuhan khamir itu sendiri dalam proses fermentasi akan terhambat.

Semua mikroorganisme memerlukan sumber energi untuk hidup. Sumber energi tersebut diperoleh dari metabolisme bahan pangan dimana mikroorganisme berada di dalamnya. Bahan baku energi yang paling banyak digunakan oleh mikroorganisme adalah glukosa. Beberapa mikroorganisme dapat mencerna bahan baku energinya tanpa adanya oksigen dan sebagai hasilnya bahan baku energi ini hanya sebagian yang dipecah. Bukan air, karbondioksida, dan sejumlah besar energi yang dihasilkan, tetapi hanya sejumlah kecil energi, karbondioksida, air, dan produk akhir metabolik organik lain yang dihasilkan. Zat-zat produk akhir ini termasuk sejumlah besar asam laktat, asam asetat, dan

etanol, serta sejumlah kecil asam organik volatil lainnya, alkohol dan ester dari alkohol tersebut. Pertumbuhan yang terjadi tanpa adanya oksigen sering dikenal sebagai fermentasi (Suprihatin, 2010).

Suprihatin (2010) dalam bukunya mengenai Teknologi Fermentasi juga menjelaskan bahwa adanya mikroba dalam suatu substrat dalam proses fermentasi akan mengalami pertumbuhan seperti pada gambar berikut :

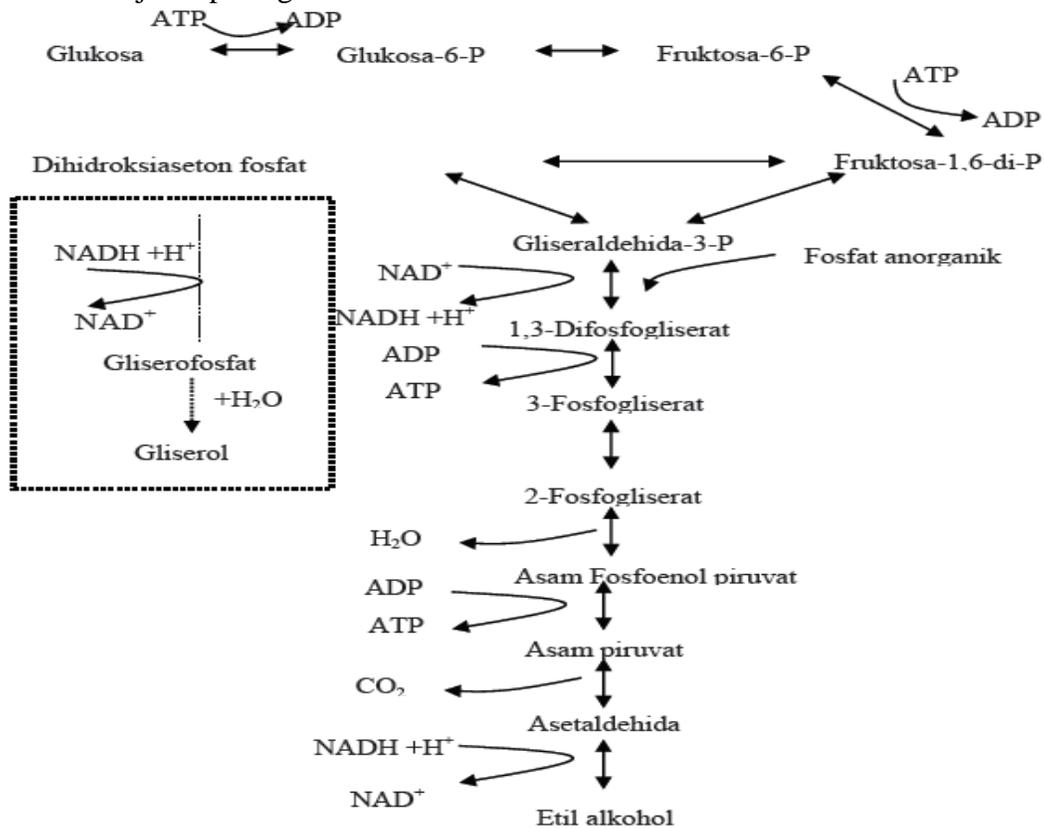


**Gambar 5.** Grafik Pertumbuhan Mikroba Pada Kultur (Suprihatin, 2010)

Menurut (Prescott dan Dunn, 1981) produksi suatu etanol dari substrat gula oleh *S.cerevisiae* adalah proses fermentasi yang sederhana yang hanya melibatkan satu fasa pertumbuhan dan produksi. Pada fase tersebut glukosa diubah secara simultan menjadi biomasa, etanol dan  $\text{CO}_2$ . Pada permulaan proses fermentasi, khamir memerlukan oksigen untuk pertumbuhannya. Setelah terjadi akumulasi  $\text{CO}_2$  dan reaksi berubah menjadi anaerob, alkohol yang terbentuk akan

menghalangi proses fermentasi lebih lanjut setelah konsentrasi alkohol mencapai 13-15%.

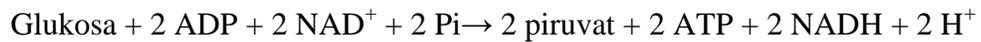
Menurut (Paturau, 1969) dalam Subekti (2006) Proses pembentukan etanol oleh khamir melalui jalur *Embden Meyerhof-Parnas* (EMP) atau glikolisis disajikan pada gambar berikut



Keterangan : ATP	= Adenin trifosfat
ADP	= Adenin difosfat
NAD	= Nikotinamida adenin dinukleotida
NADP	= Nikotinamida adenin dinukleotida fosfat
NADH	= Nikotinamida adenin dinukleotida tereduksi

**Gambar 6.** Skema Fermentasi Glukosa Menjadi Alkohol (Embden Meyerhof-Parnas Pathway) (Paturau, 1969) dalam Subekti (2006)

Selama proses glikolisis, setiap 1 mol glukosa akan dipecah menjadi 2 mol asam piruvat dengan melepaskan 2 mol ion  $H^+$ . Secara keseluruhan proses glikolisis dapat dilihat dari persamaan reaksi berikut:



Asam piruvat yang terbentuk kemudian diubah menjadi asetaldehid dan CO<sub>2</sub> oleh enzim piruvat dekarboksilase yang selanjutnya diubah menjadi alkohol oleh enzim alkohol dihidrogenase. Adanya penumpukan asam diduga karena *Saccharomyces cerevisiae* kurang mampu untuk mengubah asam piruvat menjadi etanol sehingga terjadi penumpukan asam.

### 2.2.8 Destilasi dan Pengukuran Kadar Etanol

Untuk meningkatkan hasil fermentasi Nurdyastuti (2006) mengungkapkan bahwa hasil fermentasi tersebut perlu dilakukan tahap destilasi. Proses destilasi ini merupakan proses pemanasan larutan hasil fermentasi dengan mempertimbangkan titik didih masing-masing larutan di mana menurut literatur titik didih etanol adalah sebesar 78°C dan air adalah 100°C (kondisi standar). Proses destilasi ini mengakibatkan sebagian besar etanol akan menguap dan menghasilkan etanol murni setelah melalui proses pendinginan (kondensasi).

Menurut Mardoni (2007) Salah satu metode yang dapat digunakan untuk menetapkan kadar etanol antara lain metode berat jenis yang merupakan metode konvensional. Hal ini juga dijelaskan oleh Putri (2008) bahwa mengukur berat jenis menggunakan piknometer yang dibersihkan terlebih dahulu menggunakan aseton. Pada penentuan etanol dapat dilakukan dahulu dengan pengukuran pada etanol PE. Dengan perlakuan piknometer diisi dengan akuades secara hati-hati hingga penuh dan termometer dimasukkan. Piknometer yang berisi akuades segera ditimbang dan beratnya dicatat. Cara yang sama dilakukan untuk larutan baku etanol. Berat jenis dihitung dengan rumus berikut:

$$\text{Berat jenis sampel} = \frac{\text{berat larutan baku etanol} - \text{berat piknometer}}{\text{berat akuades} - \text{berat piknometer}}$$

Kemudian kadar etanol dihitung menggunakan tabel konversi BJ etanol. Selanjutnya penentuan kadar etanol dalam sampel dilakukan sama sebagaimana pada pengukuran larutan baku etanol dengan piknometer menggunakan larutan sampel.

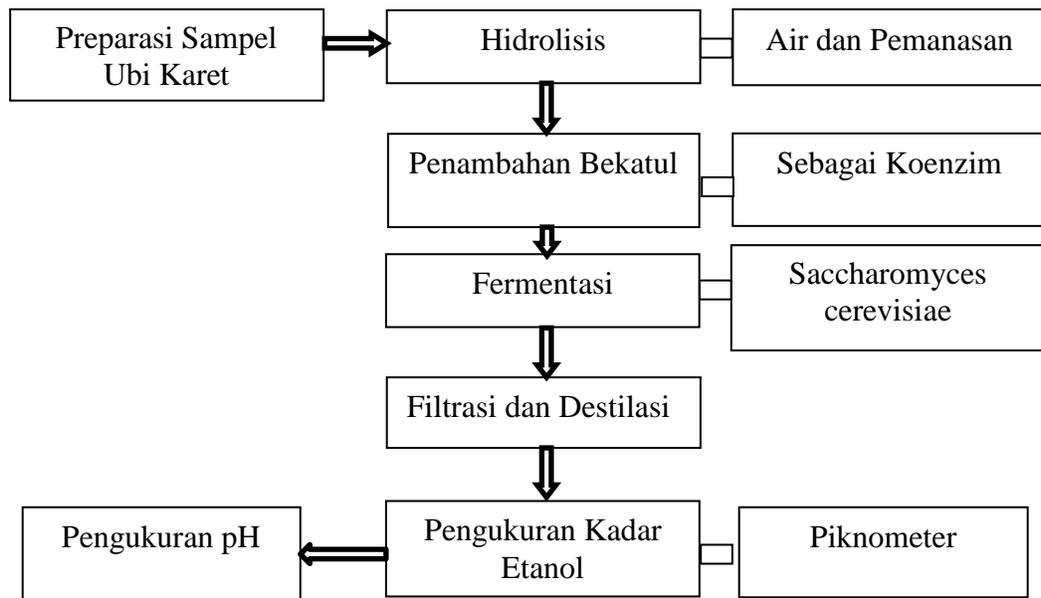
Dari hasil pengukuran dapat kita ketahui jika berat jenis larutan etanol semakin kecil, maka kadar etanol di dalam larutan tersebut semakin besar. Hal ini dikarenakan etanol mempunyai berat jenis lebih kecil daripada air sehingga semakin kecil berat jenis larutan berarti jumlah / kadar etanol semakin banyak (Murdoni, 2007).

Dalam proses pengukuran menggunakan metode BJ ini akan terdapat penyimpangan dalam proses pengukuran. Menurut Pardosi (2009) faktor yang menyebabkan penyimpangan dari pengukuran menggunakan metode berat jenis adalah suhu ruangan yang lebih tinggi dari pada suhu percobaan. Hal ini dapat menyebabkan terjadinya perbesaran volume cairan, sehingga ada cairan yang terbuang secara penelitian pada saat penelitian dilakukan. Volume yang terbuang ini tidak dapat diperkirakan jumlahnya sehingga akan berpengaruh didalam ketepatan dan ketelitian dalam pengukuran itu sendiri.

### **2.3 Hipotesis Sementara**

Dari tinjauan pustaka di atas dapat diketahui bahwa adanya peran vitamin B<sub>1</sub> sebagai koenzim akan membantu meningkatkan produktivitas kadar etanol dikarenakan mikroorganisme *S.cerevisae* selaku mikroba fermentasi kurang mampu mengubah asam piruvat menjadi etanol. Sehingga dengan adanya penambahan tiamin yang mengandung koenzim TPP dapat membantu kerja mikroorganisme tersebut dalam pembentukan etanol. Namun hal ini perlu dilakukan pembuktiannya terlebih dahulu melalui pengujian pada penelitian yang penulis lakukan.

## 2.4 Kerangka Berfikir



## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini akan dilaksanakan di laboratorium Pendidikan Kimia Ruang 7 GKB III dan Laboratorium Agronomi Universitas Bengkulu pada bulan Desember hingga Januari 2014

#### **3.2 Alat dan Bahan Penelitian**

##### **3.2.1 Alat Penelitian**

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah oven, pisau, baskom, ayakan, serangkaian alat destilasi, kain steril, neraca ohaus, gelas kimia, aluminium foil, labu ukur, pipet tetes, water bath, gelas kimia, corong, botol semprot, erlenmeyer, saringan, pH meter dan kertas saring.

##### **3.2.2 Bahan Penelitian**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain adalah singkong karet, air, aquadest, ragi tape, pH indikator, bekatul, vitamin B<sub>1</sub> IPI dan alkohol.

#### **3.3 Prosedur Penelitian**

##### **3.3.1 Persiapan Sampel**

1. Singkong karet yang telah diambil dikupas dan dicuci dengan air untuk dibersihkan
2. Selanjutnya di potong dan dijemur untuk menghilangkan kadar airnya
3. Kemudian di blender untuk mendapatkan ukuran sampel yang lebih kecil
4. Diayak agar diperoleh ukuran pati yang homogen (dalam bentuk serbuk)

##### **3.3.2 Produksi Etanol**

1. Sebanyak 200 g pati kering ditambah dengan 0,5 liter aquades, kemudian dimasak pada suhu 95°C selama 40 menit sambil diaduk

bagian bawah agar tidak lengket (proses gelatinasi dan hidrolisis) (Hapsari, 2013)

2. Disiapkan *Saccharomyces cerevisiae* sebanyak 10% b/b
3. Disiapkan variasi vitamin dan bekatulnya dengan varian tanpa adanya penambahan vitamin B<sub>1</sub> dan bekatul, dengan penambahan vitamin B<sub>1</sub> sebanyak 20 mg, penambahan 20 mg vitamin B<sub>1</sub> + 5 g bekatul, 20 mg vitamin B<sub>1</sub> + 7,5 g bekatul, 20 mg vitamin B<sub>1</sub> + 10 g bekatul, 20 mg vitamin B<sub>1</sub> + 12,5 g bekatul dan 20 mg vitamin B<sub>1</sub> + 15 g bekatul.
4. Dilakukan proses fermentasi di dalam wadah dengan menambahkan *Saccharomyces cerevisiae* tersebut dalam wadah, diatur pH hingga 5 dan difermentasi pada suhu 30°C dengan waktu selama 6 hari yang merupakan waktu optimum menurut Hapsari (2013)
5. Disimpan dan kemudian setelah selesai masa fermentasi disaring hasil fermentasinya
6. Di ukur kadar etanol yang diperoleh

### **3.3.3 Destilasi**

Destilasi dilakukan menggunakan destilasi sederhana. Destilasi ini dilakukan pada suhu 78-100°C yang setara dengan titik didih etanol itu sendiri. Pada suhu ini etanol yang ada dari hasil fermentasi lebih dahulu akan menguap dari pada air yang titik didihnya 100°C.

### **3.3.4 Pengukuran Kadar Etanol Dengan Metode Berat Jenis**

#### **3.3.4.1 Pembuatan Larutan Standar Etanol**

Larutan standar etanol ini dibuat dari larutan stok etanol 96%. Larutan standar yang dibuat adalah sebesar 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 30%, 40%, 45%, dan 50%. Untuk mendapatkan varian larutan standar tersebut maka digunakan dengan mencari volume etanol dan aquades yang dibutuhkan dengan metode pengenceran.

#### 3.3.4.2 Pembuatan Kurva Standar Etanol

Pengukuran ini menggunakan piknometer, penggunaan piknometer ini mula-mula dibersihkan terlebih dahulu, dikeringkan dan ditimbang. Kemudian piknometer tersebut diisi dengan aquades hingga penuh. Kelebihan aquades pada puncak pipa kapiler tersebut dibersihkan dan ditimbang serta beratnya dicatat. Hal serupa dilakukan pada larutan baku etanol tadi, dan pada akhirnya akan dibuat suatu kurva standar dengan memplotkan berat jenis terhadap konsentrasi masing-masing etanol.

Metode berat jenis ini dapat dihitung dengan rumus :

$$\text{Berat jenis sampel} = \frac{\text{Berat larutan baku etanol} - \text{Berat piknometer}}{\text{Berat aquades} - \text{Berat Piknometer}}$$

#### 3.3.4.3 Pengukuran Kadar Larutan Etanol

Pengukuran yang dilakukan pada proses ini adalah sama dengan prosedur pengukuran berat jenis larutan baku / standar. Kadar etanol yang diperoleh nanti ditentukan dengan menggunakan persamaan kurva baku.

#### 3.3.5 Pengukuran pH Larutan Sampel

Prosedur pengujian pH dilakukan dengan mengukur menggunakan pH meter. pH meter dibiarkan agar stabil selama 15-30 menit. Kemudian elektroda dibilas dengan aquades dan dikeringkan dengan tissue agar ber pH netral. Selanjutnya elektroda tersebut dicelupkan pada sampel sampai diperoleh pembacaan skala pH yang stabil.