

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Karakterisasi Tepung Onggok

Karakterisasi tepung onggok dapat dilakukan dengan menganalisa kandungan atau komponen tepung onggok melalui uji proximat. Analisis proximat adalah suatu metode analisis kimia untuk mengidentifikasi kandungan nutrisi seperti protein, karbohidrat, lemak, pada suatu zat makanan dari bahan pakan atau pangan. Analisis proximat memiliki manfaat sebagai penilaian kualitas pakan atau bahan pangan terutama pada standar zat makanan yang terkandung di dalamnya. Hasil analisis tepung onggok pada penelitian ini tertera pada Tabel 4.

Tabel 1. Hasil Analisis Proximat Tepung Onggok

Analisa	Hasil Penelitian	Dwi dkk. (2012)
Karbohidrat (%) :	77,39	68,00
- Pati (%)	71,53	58,00
- Serat Kasar (%)	5,54	10,00
Lemak (%)	1,41	0,26
Protein (%)	1,28	1,57
Air (%)	13,38	20,00
Abu (%)	1,01	0,17
Energi (kkal/100 g)	316,17	-

Berdasarkan tabel 4 menunjukkan adanya perbedaan hasil analisis proximat pada hasil penelitian yang telah dilakukan dan hasil penelitian oleh Dwi dkk. (2012). Perbedaan tersebut dapat terjadi karena adanya perbedaan teknik penanganan pada proses pengolahan tepung onggok dan jenis onggok yang digunakan, sehingga jika terdapat persentase kadar kandungan tepung onggok yang lebih tinggi maupun lebih

rendah, tidak dapat menunjukkan bahwa hal tersebut merupakan hal yang lebih baik maupun tidak.

Tepung onggok yang digunakan sangat tergantung pada kadar airnya untuk menjaga kuantitas dan kualitas kandungannya. Tepung onggok yang terlalu lembab akan mudah ditumbuhi jamur sehingga menurunkan kuantitas dan kualitas kandungannya. Begitu halnya dengan tepung onggok yang terlalu kering, akan memiliki kuantitas kandungan yang lebih rendah.

Komponen utama yang digunakan sebagai bahan baku pembuatan etanol pada tepung onggok adalah pati. Pati yang dihidrolisis akan berubah menjadi gula. Semakin banyak pati yang terhidrolisis maka akan semakin banyak kadar gula yang diperoleh untuk selanjutnya mengalami proses fermentasi melalui bantuan mikroba fermentatif sehingga menghasilkan bioetanol. Banyaknya fermentasi kadar gula akan mempengaruhi kadar etanol yang dihasilkan.

Selain bahan utama berupa pati pada tepung onggok, juga terdapat serat kasar, lemak, protein, kadar abu, dan kadar air. Widayatnim (2015) serat kasar terdiri atas selulosa dan hemiselulosa yang sifatnya sulit terhidrolisis, sehingga jika semakin banyak kandungan serat kasar maka mempengaruhi kadar gula yang diperoleh lebih sedikit. Begitu juga dengan kadar lemak. Menurut Anna dkk. (2005) lemak yang terhidrolisis akan berubah menjadi asam lemak dan gliserol, bukan gula, sehingga kandungan lemak yang tinggi akan mempengaruhi kadar gula yang diperoleh lebih sedikit. Namun lain halnya dengan kandungan protein. Menurut Slamet dkk. (1989) protein yang terhidrolisis akan melepas asam-asam amino penyusunnya. Asam amino

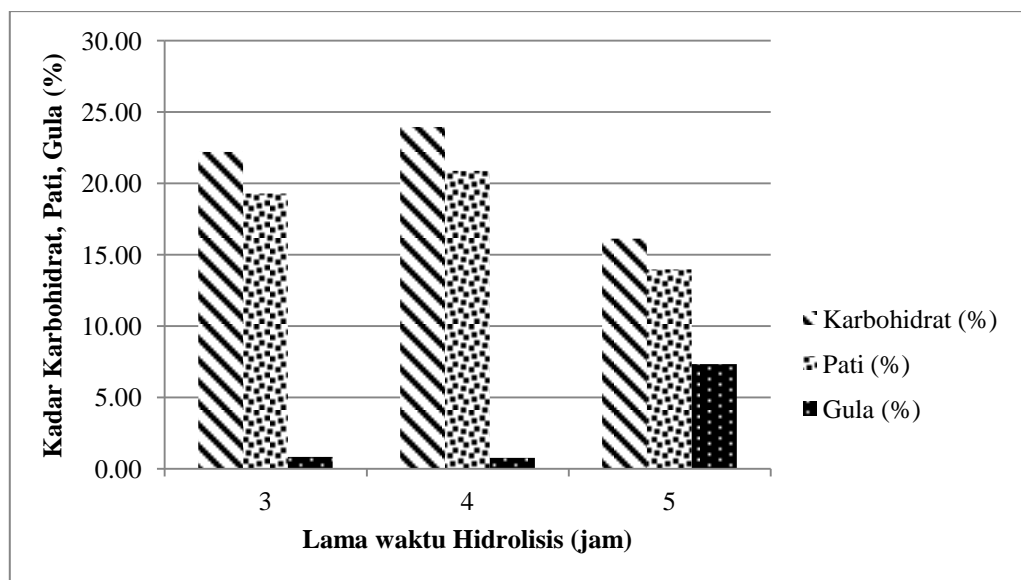
yang sesuai bagi enzim dapat berfungsi sebagai energi enzim bekerja, diantaranya enzim amilase yang bekerja merombak pati menjadi gula. Meskipun hasil hidrolisis protein bukan berupa gula, namun dengan protein yang banyak terhidrolisis maka energi bagi enzim bekerja juga semakin banyak, sehingga enzim dapat bekerja maksimal sesuai tugasnya. Selanjutnya, kadar abu. Menurut Slamet (1989) abu merupakan zat organik sisa hasil pembakaran bahan organik yang erat kaitannya dengan mineral bahan berupa garam organik dan anorganik, sehingga abu memiliki sifat konduktivitas (kemampuan menghantarkan panas). Artinya, meskipun abu tidak dapat dijadikan bahan yang dapat dirombak menjadi etanol, namun dengan sifat konduktivitasnya tersebut, abu dapat membantu mempercepat proses pemasakan tepung onggok menjadi bubur, serta proses hidrolisis untuk membantu memecah rantai kompleks karbohidrat menjadi monomer yang lebih sederhana.

B. Hidrolisis H_2SO_4

Pada prinsipnya hidrolisis merupakan proses pemecahan rantai polimer bahan menjadi monomer-monomer sederhana. Gigih (2015) proses mengubah karbohidrat menjadi gula sederhana disebut dengan hidrolisis. Terdapat dua macam hidrolisis, yaitu hidrolisis menggunakan enzim dan asam. Fransiska (2015) Perbedaan hidrolisis enzim dan asam meliputi hidrolisis asam bekerja dengan cara memutus rantai pati secara acak, sementara hidrolisis enzim bekerja dengan cara memutus rantai pati secara spesifik pada percabangan tertentu sehingga proses yang terjadi lebih spesifik, kondisi terkontrol, dan kerusakan warna dapat diminimalisir. Menurut Ramadani (2016) Perbedaan hidrolisis enzim dan asam yaitu hidrolisis enzim

bersifat ramah lingkungan, tidak menghasilkan residu yang mencemari lingkungan, hasil sirup glukosa lebih jernih dan bersih, namun membutuhkan banyak enzim sementara enzim masih import dengan harga relative mahal. Sementara pada hidrolisis asam cenderung bersifat toksik jika dipanaskan mencapai suhu 120-160°C dan glukosa yang dihasilkan relatif lebih rendah. Namun ketersediaannya tidak perlu import dengan harga lebih terjangkau.

Berikut merupakan hasil hidrolisis berupa kadar pati dan kadar gula yang disajikan dalam bentuk persen terhadap jangka lama hidrolisis pada gambar 4 :



Gambar 1. Histogram Hidrolisis H₂SO₄

Berdasarkan gambar 4 Histogram H₂SO₄ menunjukkan bahwa gula tertinggi terdapat pada perlakuan hidrolisis 5 jam, yaitu sebesar 7,32%, yang kadarnya lebih tinggi dibanding perlakuan hidrolisis 3 jam dan 4 jam, dengan kadar gula 0,83% dan 0,75%. Paling tingginya kadar gula pada perlakuan hidrolisis 5 jam tersebut

disebabkan oleh persentase kadar karbohidrat dan pati paling rendah dibanding perlakuan lain, yang menunjukkan bahwa pada lama hidrolisis 5 jam, jumlah karbohidrat yang terombak menjadi pati lebih banyak dan jumlah pati yang terombak menjadi gula juga lebih banyak dibanding perlakuan lain. Hal tersebut menunjukkan bahwa lama waktu hidrolisis 5 jam merupakan lama waktu terbaik untuk menghidrolisis dibanding lama waktu hidrolisis 3 jam dan 4 jam.

C. Penambahan Molase sebelum Proses Fermentasi

Riswan (2004) molase berupa sejenis sirup yang merupakan sisa dari proses pengkristalan gula pasir. Penambahan molase dengan konsentrasi 10% dan 15% setelah proses hidrolisis H_2SO_4 pada penelitian ini bertujuan untuk sedikit menaikkan kadar gula yang diperoleh dari hasil hidrolisis H_2SO_4 sehingga etanol yang diperoleh nanti tidak sepenuhnya merupakan hasil fermentasi gula dari molase, melainkan juga adanya gula dari bahan substitusi molase berupa tepung onggok yang dapat memanfaatkan limbah terbuang secara bijak dan mengatasi permasalahan molase yang persediaannya terbatas.

Sebelum dilakukan penambahan molase, perlakuan hidrolisis 3 jam molase 0% (tanpa molase) berdasarkan gambar 4 memiliki kadar karbohidrat 22,20%, pati 19,27%, dan gula 0,83%. Perlakuan hidrolisis 4 jam tanpa molase memiliki karbohidrat 23,94%, pati 20,87%, dan gula 0,75%. Selanjutnya, pada perlakuan hidrolisis 5 jam tanpa molase memiliki kadar karbohidrat 16,12%, pati 13,96%, dan gula 7,32%.

Besarnya peningkatan gula total pada penambahan molase ini dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 2. Rerata Sidik Ragam Uji Karbohidrat, Pati, dan Gula Total Setelah Penambahan Molase

Analisa/Perlakuan	Karbohidrat (%)	Pati (%)	Gula total (%)
P1	17,67 c	10,82 a	7,62 b
P2	18,17 b	9,54 b	7,57 b
P3	19,35 a	10,67 a	7,49 b
P4	18,51 b	9,31 b	8,07 a
P5	18,18 b	9,04 b	8,13 a
P6	19,69 a	10,62 a	7,74 a

Keterangan : angka yang diikuti huruf sama menunjukkan tidak beda nyata

- P1 = Hidrolisis 3 jam dengan Penambahan Molase 10 %
- P2 = Hidrolisis 3 jam dengan Penambahan Molase 15%
- P3 = Hidrolisis 4 jam dengan Penambahan Molase 10%
- P4 = Hidrolisis 4 jam dengan Penambahan Molase 15%
- P5 = Hidrolisis 5 jam dengan Penambahan Molase 10%
- P6 = Hidrolisis 5 jam dengan Penambahan Molase 15%

Jika dibandingkan dengan kadar karbohidrat, pati, dan gula sebelum dilakukan penambahan molase, berdasarkan tabel 5 penambahan molase menunjukkan adanya penurunan kadar karbohidrat dan pati yang artinya H_2SO_4 yang diberikan masih aktif menghidrolisis. Selanjutnya terdapat peningkatan gula cukup tinggi sebagai akibat dari hasil hidrolisis pati dan efek penambahan molase.

1. Karbohidrat

Berdasarkan hasil sidik ragam karbohidrat pada tabel 5, perlakuan hidrolisis 4 jam dengan penambahan molase 10% dan hidrolisis 5 jam dengan penambahan

molase 15% berbeda nyata dengan perlakuan hidrolisis 3 jam dengan penambahan molase 15%, perlakuan hidrolisis 4 jam dengan penambahan molase 10%, perlakuan hidrolisis 5 jam dengan penambahan molase 10%, serta berbeda nyata juga dengan perlakuan hidrolisis 3 jam dengan penambahan molase 10% (Lampiran 4.1.a).

Perlakuan lama waktu hidrolisis 3 jam molase 10% merupakan perlakuan dengan kadar karbohidrat terendah yaitu sebesar 17,67%. Hal tersebut menunjukkan bahwa jumlah karbohidrat yang terombak pada perlakuan hidrolisis 3 jam molase 10% adalah paling tinggi dibanding perlakuan lain sehingga menyebabkan kadar pati tertinggi pada tabel 5 yaitu 10,82%.

Selanjutnya, jika diperhatikan lebih lanjut, terdapat peningkatan kadar karbohidrat pada proses penambahan molase, yaitu pada perlakuan hidrolisis perlakuan hidrolisis 5 jam molase 10% yaitu dari 16,11% menjadi 18,18% dan perlakuan hidrolisis 5 jam molase 15% dari 16,11% menjadi 19,69%. Hal tersebut dapat terjadi diduga karena adanya proses perubahan bentuk terhidrolisisnya protein dan lemak berupa asam amino dan gliserol lemak menjadi karbohidrat. Winarno (2004) menyebutkan bahwa karbohidrat dapat dibentuk dari beberapa asam amino dan sebagian gliserol lemak.

2. Pati

Berdasarkan hasil sidik ragam pati (tabel 5) perlakuan hidrolisis 3 jam dengan penambahan molase 10%, hidrolisis 4 jam dengan penambahan molase 10%, dan hidrolisis 5 jam dengan penambahan molase 15% berbeda nyata dengan perlakuan

hidrolisis 3 jam dengan penambahan molase 15%, hidrolisis 4 jam dengan penambahan molase 15%, dan hidrolisis 5 jam dengan penambahan molase 10% (Lampiran 4.1.b).

Berdasarkan tabel 5 kadar karbohidrat terendah ditunjukkan pada perlakuan hidrolisis 3 jam molase 10% sehingga mempengaruhi kadar pati yang dihasilkan tinggi dari banyaknya karbohidrat yang terombak. Perlakuan tersebut juga tidak berbeda nyata dengan perlakuan hidrolisis 4 jam molase 10% dan hidrolisis 5 jam molase 15%. Semakin banyak pati yang dihasilkan dan terombak, mempengaruhi tingginya gula yang dihasilkan.

3. Gula

Berdasarkan hasil sidik ragam gula (tabel 5) perlakuan hidrolisis 3 jam dengan penambahan molase 10% dan 15%, serta hidrolisis 4 jam dengan penambahan molase 10% berbeda nyata dengan perlakuan hidrolisis 4 jam dengan penambahan molase 15%, hidrolisis 5 jam dengan penambahan molase 10% dan 15%. Perlakuan terbaik terdapat pada perlakuan hidrolisis 4 jam dengan penambahan molase 15%, perlakuan hidrolisis 5 jam dengan penambahan molase 10% dan 15%. Namun, perlakuan dengan nilai rerata kadar gula tertinggi terdapat pada perlakuan hidrolisis 5 jam molase 10% yaitu sebesar 8,13% dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan hidrolisis 4 jam molase 15% dan hidrolisis 5 jam molase 15% (Lampiran 4.1.c). Hal tersebut dikarenakan sebagai akibat dari paling banyaknya jumlah pati yang terombak menjadi gula. Paling tingginya kadar gula dari hasil hidrolisis dan sedikitnya peningkatan kadar gula pada perlakuan hidrolisis 5 jam molase 10%

menunjukkan bahwa lama waktu hidrolisis 5 jam merupakan lama waktu hidrolisis terbaik dibanding lama waktu hidrolisis 3 jam dan 4 jam. Pada lama waktu hidrolisis 5 jam, H_2SO_4 yang diberikan bekerja lebih maksimal merombak karbohidrat menjadi pati selanjutnya menjadi gula.

D. Fermentasi

Retno (2009) glukosa mengalami proses fermentasi dengan adanya enzim zimase/invertase yang dihasilkan oleh *Saccharomyces cerevisiae*. Fungsi enzim zimase adalah untuk memecah polisakarida (pati) yang masih terdapat dalam proses hidrolisis menjadi monosakarida (glukosa), sedangkan enzim invertase mengubah monosakarida menjadi alkohol dengan proses fermentasi. Sriyanti (2003) dalam Siswanti (2009) menyebutkan bahwa kadar pati mempengaruhi kadar alkohol yang dihasilkan dalam proses fermentasi karbohidrat.

Tabel 6. Rerata Uji Pati, Gula, Jumlah Sel, Asam Tertitrasi, dan pH Setelah Fermentasi

Perlakuan	Uji Pati (%)	Uji Gula (%)	Jumlah sel ($\times 10^7$ CFU/ml)	Asam tertitrasi (%)	pH
P1	13,76 f	2,39 a	9,33b	0,67 a	3,00 a
P2	15,54 d	0,86 d	126,00a	0,56 a	3,67 a
P3	16,65 b	0,84 e	4,33b	0,50 a	3,33 a
P4	15,17 e	0,90 c	5,33b	0,45 a	3,00 a
P5	15,77 c	0,65 f	2,67b	0,34 a	3,33 a
P6	16,88 a	0,94 b	1,00b	0,50 a	3,00 a

Keterangan : angka yang diikuti huruf sama menunjukkan tidak berbeda nyata

- P1 = Hidrolisis 3 jam dengan Penambahan Molase 10 %
- P2 = Hidrolisis 3 jam dengan Penambahan Molase 15%
- P3 = Hidrolisis 4 jam dengan Penambahan Molase 10%
- P4 = Hidrolisis 4 jam dengan Penambahan Molase 15%
- P5 = Hidrolisis 5 jam dengan Penambahan Molase 10%
- P6 = Hidrolisis 5 jam dengan Penambahan Molase 15%

1. Uji Pati

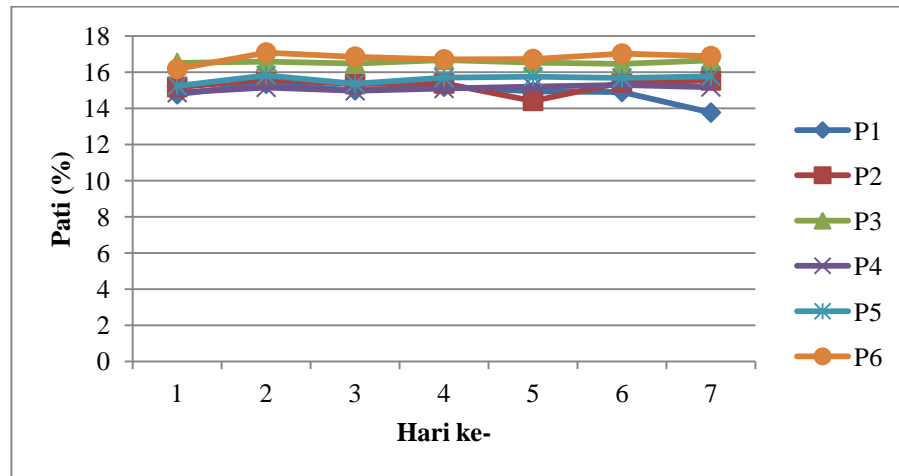
Berdasarkan rerata hasil uji pati pada tabel 6 dan hasil sidik ragam dengan taraf nyata 5% yang diuji pada hari terakhir fermentasi, yaitu hari ke 7 (Lampiran 4.2.a) menunjukkan bahwa tiap perlakuan memberikan pengaruh secara signifikan terhadap kadar pati.

Berdasarkan tabel 6, pada semua perlakuan menunjukkan adanya peningkatan kadar pati setelah penambahan molase. Disamping adanya pengaruh H₂SO₄, juga dipengaruhi oleh enzim zimase pada *Saccharomyces cerevisiae* yang diberikan sebagai mikroba fermentatif pada proses fermentasi. Retno (2009) enzim zimase bertugas memecah polisakarida (pati) yang terdapat dalam proses hidrolisis menjadi monosakarida (gula).

Selanjutnya, berdasarkan tabel 6, kadar pati terendah ditunjukkan pada perlakuan hidrolisis 3 jam molase 10% yaitu sebesar 13,76%. Kadar pati terendah tersebut merupakan kadar pati terbaik karena menunjukkan pati yang terombak paling banyak dibanding perlakuan lain sehingga menghasilkan kadar gula paling tinggi sebesar 2,39%.

Kadar pati pada gambar 5 selama proses fermentasi berfluktuatif. Hal tersebut menunjukkan masih berlangsungnya proses hidrolisis. Kadar pati yang naik menunjukkan polisakarida karbohidrat terombak menjadi pati. Sementara kadar pati yang menurun menunjukkan pati terombak menjadi gula oleh mikroba fermentatif *Saccharomyces cerevisiae* melalui enzim yang dimilikinya yaitu enzim zimase. Pada

substrat yang sama dengan masih tersedianya substrat, dimungkinkan enzim amilase juga masih bekerja pada proses fermentasi ini.



Gambar 2. Grafik Kadar Pati selama Fermentasi

Keterangan :

- P1 = Hidrolisis 3 jam dengan Penambahan Molase 10 %
- P2 = Hidrolisis 3 jam dengan Penambahan Molase 15%
- P3 = Hidrolisis 4 jam dengan Penambahan Molase 10%
- P4 = Hidrolisis 4 jam dengan Penambahan Molase 15%
- P5 = Hidrolisis 5 jam dengan Penambahan Molase 10%
- P6 = Hidrolisis 5 jam dengan Penambahan Molase 15%

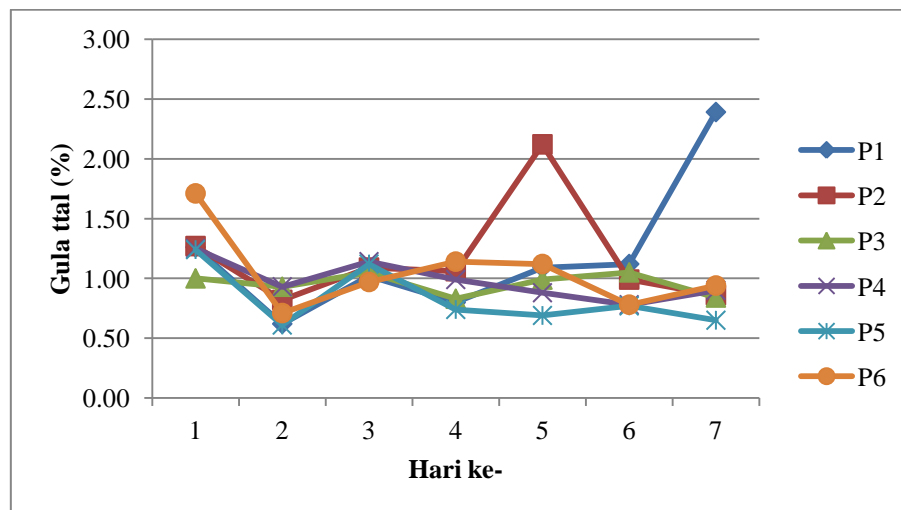
Selama fermentasinya, kadar pati perlakuan hidrolisis 3 jam molase 10% pada hari ke-7 fermentasi cenderung menurun drastis dibanding perlakuan lain. Artinya, hal tersebut menunjukkan masih berlangsungnya *Saccharomyces cerevisiae* merombak pati menjadi gula, yang dibuktikan dengan gambar 7, *Saccharomyces cerevisiae* mengalami grafik naik pada hari ke 6 menuju hari ke 7. Selanjutnya pada perlakuan lain menunjukkan grafik pati datar dan aktifitas *Saccharomyces cerevisiae* menurun menuju angka 0 pada hari ke 6 menuju hari ke 7, kecuali perlakuan hidrolisis 3 jam molase 10% dan hidrolisis 5 jam molase 10%. Hal tersebut

menunjukkan bahwa masih terdapat pati diakhir fermentasi namun hanya sedikit yang terombak menjadi gula.

2. Uji Gula

Hasil sidik ragam gula dengan taraf nyata 5% (tabel 6) yang diuji pada hari ke-7 (lampiran 4.2.b) menunjukkan bahwa tiap perlakuan memberikan pengaruh secara signifikan terhadap kadar gula dan berbeda nyata pada semua perlakuan.

Berdasarkan rerata uji gula pada tabel 6 menunjukkan bahwa gula tertinggi terdapat pada perlakuan hidrolisis 3 jam dengan molase 10% sebesar 2,39%. Namun hal tersebut tidak didukung oleh jumlah sel yang tinggi, yaitu $9,33 \times 10^7$ CFU/ml, dan asam titrasi yang rendah yaitu 0,67% sehingga menyebabkan kadar etanol yang diperoleh pada hari terakhir fermentasi tidak terlalu tinggi, yaitu 3% dengan volume destilat 256 ml.



Gambar 3. Grafik Kadar Gula Total selama Fermentasi

Keterangan :

- P1 = Hidrolisis 3 jam dengan Penambahan Molase 10 %
- P2 = Hidrolisis 3 jam dengan Penambahan Molase 15%

- P3 = Hidrolisis 4 jam dengan Penambahan Molase 10%
- P4 = Hidrolisis 4 jam dengan Penambahan Molase 15%
- P5 = Hidrolisis 5 jam dengan Penambahan Molase 10%
- P6 = Hidrolisis 5 jam dengan Penambahan Molase 15%

Gambar 6 menunjukkan bahwa grafik kadar gula berfluktuasi, mengikuti fluktuasi grafik kadar pati. Semakin tinggi pati maka semakin rendah gula. Semakin rendah pati maka semakin tinggi gula yang dihasilkan. Hal tersebut menunjukkan banyaknya polimer pati yang terombak menjadi monomer gula karena pengaruh H_2SO_4 2M dan aktivitas enzim zimase oleh *Saccharomyces cerevisiae* yang diberikan untuk menghidrolisis rantai molekul pati menjadi gula.

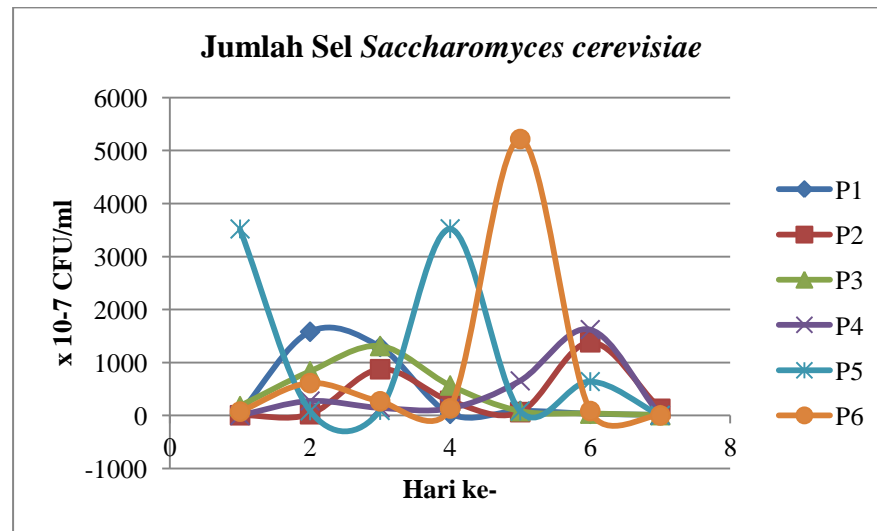
Pada gambar 6, terdapat dua perlakuan yang memiliki grafik berbeda dengan perlakuan lain yaitu perlakuan Hidrolisis 3 jam Penambahan Molase 15% dan perlakuan Hidrolisis 3 jam Penambahan Molase 10%. Perlakuan Hidrolisis 3 jam Penambahan Molase 15% pada hari ke-4 sampai hari ke-6 fermentasi memiliki grafik gula yang meningkat dan menurun drastis. Hal tersebut dikarenakan kadar pati pada perlakuan tersebut (gambar 5) cenderung mengalami penurunan lebih banyak dari perlakuan lain pada hari ke-4 fermentasi, dan meningkat kembali pada hari ke-5 fermentasi menuju hari ke-6. Sementara pada perlakuan Hidrolisis 3 jam Penambahan Molase 10% kadar gula meningkat drastis pada hari terakhir fermentasi, yaitu hari ke-7 dikarenakan pada hari tersebut kadar pati pada gambar 5 mengalami penurunan drastis.

3. Uji Jumlah Sel

Hasil sidik ragam jumlah sel dengan taraf nyata 5% yang diuji pada hari ke-7 (tabel 6), hari terakhir fermentasi, (Lampiran 4.2.c) menunjukkan bahwa perlakuan hidrolisis 3 jam dengan penambahan molase 15% berbeda nyata dengan perlakuan lain dan merupakan perlakuan terbaik karena memiliki rerata jumlah sel terbanyak yang didukung oleh kadar gula yang cukup yaitu sebesar 0,86% (tabel 6) sehingga menghasilkan kadar etanol dan volume destilat yang tinggi yaitu sebesar 5% dengan volume 150 ml (tabel 7).

Sementara pada perlakuan lain, rerata jumlah sel yang dimiliki tidak setinggi perlakuan Hidrolisis 3 jam dengan penambahan Molase 15%, meskipun terdapat kadar gula tertinggi pada perlakuan Hidrolisis 3 jam Molase 10%. Hal ini dapat terjadi karena lingkungan pada hari terakhir fermentasi ini tidak sesuai lagi bagi *S.cerevisiae* untuk aktif beraktivitas. Ketersediaan nutrisi, suhu, pH, dan oksigen pada hari terakhir fermentasi mulai menipis bagi pertumbuhan *S. cerevisiae*. Disamping itu juga, konsentrasi gula yang terlalu tinggi dan jumlah *S. cerevisiae* yang sedikit dapat menghambat pertumbuhan sel khamir pada proses fermentasi, dan konsentrasi etanol yang tinggi juga dapat mematikan khamir (Alico, 1982). Pertumbuhan jumlah sel *Saccharomyces cerevisiae* selama proses fermentasi dapat dilihat pada gambar 7.

Uji mikrobiologi jumlah sel dimaksudkan untuk mengetahui dinamika populasi mikroba dan aktivitasnya dalam proses sakarifikasi dan fermentasi. Naik turunnya grafik pertumbuhan sel pada semua perlakuan menunjukkan fase-fase yang sedang dialami *S. cerevisiae*.



Gambar 4. Pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* selama Fermentasi

Keterangan :

- P1 = Hidrolisis 3 jam dengan Penambahan Molase 10 %
- P2 = Hidrolisis 3 jam dengan Penambahan Molase 15%
- P3 = Hidrolisis 4 jam dengan Penambahan Molase 10%
- P4 = Hidrolisis 4 jam dengan Penambahan Molase 15%
- P5 = Hidrolisis 5 jam dengan Penambahan Molase 10%
- P6 = Hidrolisis 5 jam dengan Penambahan Molase 15%

Perlakuan hidrolisis 5 jam dengan penambahan molase 10% memiliki awal fase yang berbeda dari perlakuan lain. Fase pertumbuhan pada perlakuan Hidrolisis 5 jam Molase 10% memiliki fase pertumbuhan diawali dengan fase logaritma – fase tetap maksimum - fase pengurangan pertumbuhan. Sementara pada perlakuan lain diawali dengan fase permulaan – fase tetap maksimum – fase pengurangan pertumbuhan. Artinya, pada perlakuan Hidrolisis 5 jam Molase 10% kecepatan pertumbuhannya mencapai maksimum, dan selama fase ini kecepatan pertumbuhannya selalu maksimum. Massa dan jumlah sel bertambah secara eksponensial. Perbedaan fase pertumbuhan pada perlakuan ini berbeda dengan

perlakuan lainnya dikarenakan pada perlakuan ini merupakan perlakuan dengan kadar gula paling tinggi pada proses hidrolisis (gambar 4) dan setelah penambahan molase (tabel 5) sehingga kadar gula yang diperoleh langsung digunakan sebagai nutrisi pertumbuhan *S. cerevisiae* dengan daya adaptasi yang cepat. Selanjutnya pada perlakuan Hidrolisis 5 jam Molase 15% hari ke-4 menuju hari ke-6 menunjukkan grafik jumlah sel yang meningkat dan menurun drastis. Meningkatnya jumlah sel *S. cerevisiae* didukung kondisi lingkungan yang mendukung yaitu nutrisi berupa gula masih tersedia, serta kondisi pH masih dalam kisaran 3-4.

Timotius (1982) kurva pertumbuhan bakteri pada umumnya dibagi dalam empat fase, yaitu fase permulaan (*lag*), fase logaritma (fase eksponensial), fase maksimum, dan fase kematian. **Fase permulaan** adalah fase dengan kecepatan pertumbuhannya nol atau lebih dari nol, tetapi belum mencapai maksimum. Kecepatan pertumbuhan dimulai dari nol kemudian meningkat mendekati maksimum. Fase ini merupakan gejala adaptasi terhadap lingkungan yang baru. Dalam hal ini sel memerlukan bahan-bahan penting, enzim-enzim yang perlu disintesis kembali. **Fase Logaritma.** Fase ini dimulai dengan kecepatan pertumbuhan mencapai maksimum, dan selama fase ini kecepatan pertumbuhannya selalu maksimum. Massa dan jumlah sel bertambah secara eksponensial. Selama fase ini biakan dalam keadaan paling homogen dengan sel-sel yang semuanya tumbuh pada kecepatan dan interval yang sama. Pertumbuhan pada fase logaritma seringkali disebut sebagai pertumbuhan eksponensial. **Fase Tetap Maksimum.** Fase dimana setelah fase logaritma kecepatan pertumbuhan berangsur-angsur menurun dan

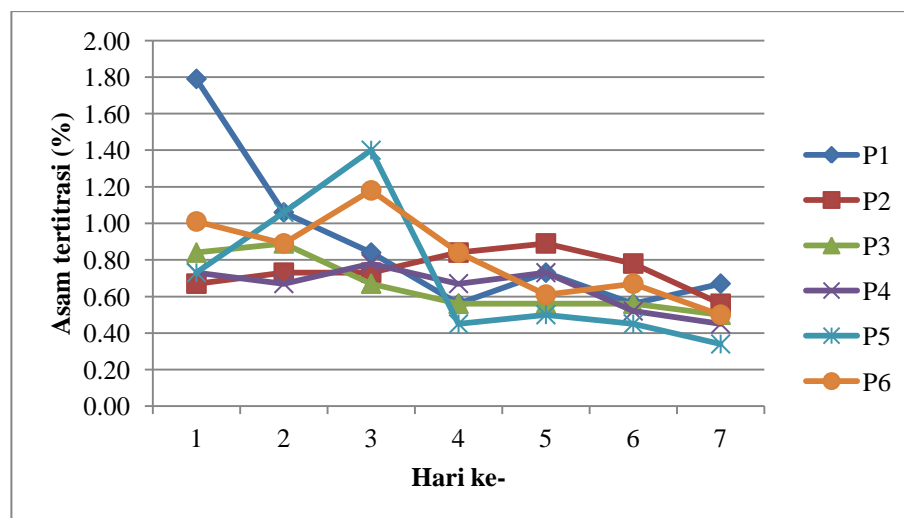
akhirnya mencapai nol. Fase antara kecepatan pertumbuhan yang berangsur-angsur menurun sebelum mencapai nol sering dipisahkan dan dinamakan fase pengurangan pertumbuhan. Adanya fase tetap maksimum disebabkan antara lain karena kekurangan nutrisi, akumulasi hasil-hasil metabolisme akhir, dan lain-lain. Jika disebabkan karena kekurangan nutrisi, maka jumlah sel-sel yang hidup dan/ atau mati atau jumlah total sel (hidup dan mati) tetap. Jika dikarenakan akumulasi hasil-hasil metabolisme yang menghambat pertumbuhan, maka jumlah total bakterinya akan makin bertambah banyak.

4. Uji Asam Titrasi

Dalam proses fermentasi alkohol, terbentuk pula asam-asam organik seperti asam laktat, asam asetat, dan juga dihasilkan CO_2 . CO_2 tersebut akan bereaksi dengan air dalam medium fermentasi yang akan membentuk asam karbonat. Asam organik tersebut akan terakumulasi pada medium dan akan menurunkan pH medium (Lia, 2011). Uji asam titrasi adalah jumlah asam laktat yang terbentuk selama proses fermentasi yang merupakan hasil pemecahan laktosa oleh bakteri asam laktat.

Berdasarkan hasil sidik ragam asam titrasi (tabel 6) dengan taraf nyata 5% yang diuji pada hari ke-7 (lampiran 4.2.d) menunjukkan bahwa semua perlakuan memiliki pengaruh yang tidak berbeda nyata. Hal tersebut menunjukkan bahwa fase etanol telah terlewati dan etanol perlahan-lahan berubah menjadi asam. Pada grafik gambar 8 naik turunnya kadar asam titrasi menunjukkan adanya perubahan keasaman media yang merupakan salah satu indikator aktivitas metabolisme sel

dimana inokulum *S.cerevisiae* sudah mulai memproduksi senyawa asam seperti asam laktat, asam asetat, atau asam piruvat. Asam asetat tersebut merupakan asam yang dihasilkan dari fermentasi alkohol. Muluk dan Ghuzrina (2010) kecepatan perubahan alkohol menjadi asam asetat tergantung pada konsentrasi inokulum, jumlah alkohol yang ada, suhu, dan pH. Proses fermentasi alkohol kemudian dilanjutkan dengan fermentasi asam asetat dari bahan yang mengandung gula, dimana produk akhir mengandung asam asetat. Kadar asam tertitiasi selama 7 hari fermentasi dapat dilihat pada gambar 8.



Gambar 5. Grafik Kadar Asam Tertitiasi selama Fermentasi

Keterangan :

- P1 = Hidrolisis 3 jam dengan Penambahan Molase 10 %
- P2 = Hidrolisis 3 jam dengan Penambahan Molase 15%
- P3 = Hidrolisis 4 jam dengan Penambahan Molase 10%
- P4 = Hidrolisis 4 jam dengan Penambahan Molase 15%
- P5 = Hidrolisis 5 jam dengan Penambahan Molase 10%
- P6 = Hidrolisis 5 jam dengan Penambahan Molase 15%

Pada grafik asam tertitiasi, hari 1 fermentasi menunjukkan kadar asam cukup tinggi dikarenakan sebagai akibat dari lingkungan asam fermentasi dengan H_2SO_4

yang diberikan, karena pada hari 1 fermentasi, jumlah sel *Saccharomyces cerevisiae* pada gambar 7 cenderung menunjukkan grafik pada angka 0 sebagai fase permulaan kecuali perlakuan hidrolisis 5 jam molase 10%. Pada hari ke 1 menuju hari ke 2, grafik *Saccharomyces cerevisiae* cenderung naik sementara gula menurun sehingga dimungkinkan *Saccharomyces cerevisiae* sudah mulai merombak gula menjadi etanol pada enzim zimase yang dimiliki dan merombak gula menjadi asam melalui enzim intervasenya sehingga asam naik. Fluktuasi kadar asam tertitrasi menunjukkan perubahan keasaman media yang merupakan salah satu indikator aktivitas metabolisme sel dimana inokulum sudah mulai memproduksi senyawa asam-asam piruvat yang merupakan hasil samping dari proses hidrolisis. Selain asam piruvat juga terbentuk asam asetat yang dihasilkan dari proses fermentasi.

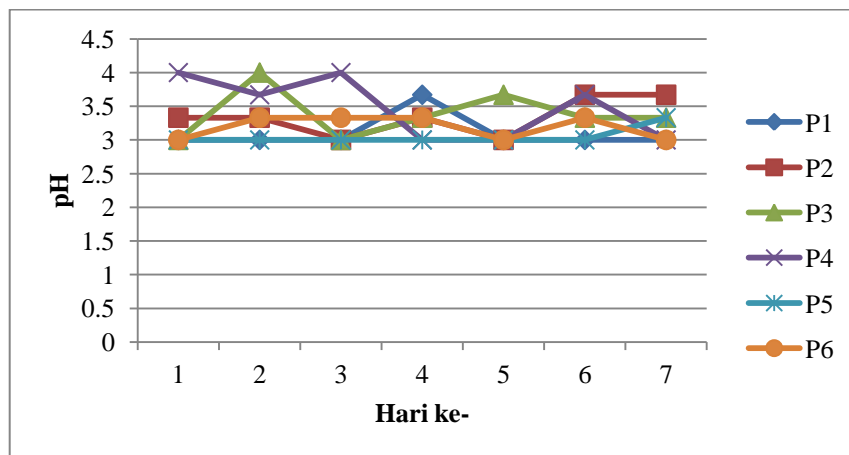
Pada hari terakhir fermentasi perlakuan hidrolisis 3 jam molase 10% pada hari ke 7 fermentasi memiliki asam tertitrasi tertinggi. Hal tersebut disebabkan oleh *Saccharomyces cerevisiae* pada hari ke 6 menuju hari ke 7 (gambar 7) memiliki grafik jumlah sel yang meningkat namun kadar gula menurun (gambar 6), sehingga menyebabkan mikroba tersebut beraktivitas memproduksi sebagian etanol yang ada menjadi asam dan mempengaruhi kadarnya menjadi tinggi. Selanjutnya perlakuan hidrolisis 5 jam molase 10% menunjukkan grafik asam tertitrasi terendah pada hari ke 7 fermentasi. Hal tersebut dikarenakan jumlah sel mengalami peningkatan pada hari ke 6 menuju hari ke 7 (gambar 7), serta grafik gula juga mengalami peningkatan pada hari ke 7 (gambar 6), sehingga *Saccharomyces cerevisiae* yang diberikan melalui

enzim intervasse aktif merombak lebih banyak gula pada hari terakhir fermentasi menjadi etanol dan menyebabkan asam tertitrasi yang terbentuk lebih sedikit.

5. Uji pH

Anna dkk. (2015) *Potential of Hydrogen* (pH) adalah derajat keasaman yang digunakan untuk menyatakan tingkat keasaman atau kebasaan yang dimiliki oleh suatu larutan. Pengukuran pH digunakan untuk mengukur tingkat keasaman pada suatu larutan yang bergantung pada konsentrasi sifat asam yang diikat oleh ion H^+ .

Berdasarkan hasil sidik ragam pH (tabel 6) dengan taraf nyata 5% yang diuji pada hari ke 7 (lampiran 4.2.c) menunjukkan bahwa keenam perlakuan tidak berbeda nyata. Berikut merupakan fluktuasi kadar pH selama fermentasi :



Gambar 6. Grafik pH selama Fermentasi

Keterangan :

- P1 = Hidrolisis 3 jam dengan Penambahan Molase 10 %
- P2 = Hidrolisis 3 jam dengan Penambahan Molase 15%
- P3 = Hidrolisis 4 jam dengan Penambahan Molase 10%
- P4 = Hidrolisis 4 jam dengan Penambahan Molase 15%
- P5 = Hidrolisis 5 jam dengan Penambahan Molase 10%
- P6 = Hidrolisis 5 jam dengan Penambahan Molase 15%

Timotius (1982) Nilai pH media fermentasi mempengaruhi kinerja enzim-enzim dalam jalur EMP, diantaranya enzim fosfofruktokinase yang berperan dalam glikolisis pada tahap konversi fruktosa-6-fosfat menjadi fruktosa-1,6-difosfat. *S. cerevisiae* dapat tumbuh baik pada range pH 3-6, namun apabila pH lebih kecil dari 3 maka proses fermentasi akan berkurang kecepatannya. pH yang paling optimum yaitu pada 4,3-4,7. Pada pH yang lebih tinggi adaptasi khamir lebih rendah dan aktivitas fermentasinya juga rendah.

Berdasarkan gambar 11 pH hari ke 1 sampai hari ke 7 pada semua perlakuan terletak pada kisaran 3-4, artinya merupakan pH yang sesuai untuk *Saccharomyces cerevisiae* aktif beraktivitas. Hanya saja, aktivitas mikroba fermentatif tidak sekedar didukung oleh faktor pH, melainkan juga nutrisi, suhu, jumlah oksigen.

E. Hasil Etanol

Etanol dipisahkan dari media fermentasi melalui proses destilasi. Proses destilasi merupakan proses pemisahan larutan berdasarkan pada perbedaan titik didihnya. Hasil dari proses destilasi dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Hasil Etanol dari Fermentasi Tepung Onggok

Perlakuan	Volume destilat	Kadar etanol
Hidrolisis 3 jam dengan Penambahan Molase 10 %	256 ml	3%
Hidrolisis 3 jam dengan Penambahan Molase 15%	150 ml	5%
Hidrolisis 4 jam dengan Penambahan Molase 10%	61 ml	0%
Hidrolisis 4 jam dengan Penambahan Molase 15%	26 ml	0%
Hidrolisis 5 jam dengan Penambahan Molase 10%	60 ml	5%

Hidrolisis 5 jam dengan Penambahan Molase 15%	32 ml	0%
--	-------	----

Berdasarkan tabel 7, volume destilat menunjukkan banyaknya volume yang diperoleh dari hasil destilasi. Sementara kadar etanol menunjukkan persentase etanol yang terkandung dalam volume destilat tersebut.

Pada penelitian ini, proses destilasi dilakukan sebanyak 1 kali. Berdasarkan tabel tersebut menunjukkan bahwa kadar etanol paling tinggi adalah 5% terdapat pada perlakuan Hidrolisis 3 jam dengan penambahan Molase 15% dan Hidrolisis 5 jam dengan Penambahan Molase 10% dengan volume destilat adalah 150 ml dan 60 ml. Maka, perlakuan terbaik untuk proses fermentasi selama 7 hari adalah perlakuan Hidrolisis 3 jam dengan penambahan Molase 15% dengan kadar etanol tertinggi 5% dan volume destilat lebih banyak dari perlakuan Hidrolisis 5 jam dengan penambahan Molase 10% yaitu 150 ml. Kadar etanol yang sama dan volume destilat yang lebih banyak pada perlakuan Hidrolisis 3 jam dengan Penambahan Molase 15%, dimungkinkan dapat dilakukan proses destilasi kembali sehingga kadar etanol yang diperoleh dapat lebih tinggi dengan volume destilat yang diperoleh masih cukup banyak.

Perlakuan Hidrolisis 3 jam dengan Penambahan Molase 15% memiliki kadar paling tinggi dibanding perlakuan lain pada hari ke-7 fermentasi karena pada perlakuan tersebut memiliki grafik gula tertinggi mendekati hari ke-7 fermentasi, yaitu pada hari ke-4 menuju hari ke-5 fermentasi dibanding perlakuan lain. Meningkatnya kadar gula yang drastis tersebut, juga diikuti oleh grafik pertumbuhan

Saccharomyces cerevisiae yang meningkat drastis pada hari ke-5 fermentasi menuju hari ke-6 fermentasi, setelah sebelumnya pada hari ke-4 menuju hari ke-5 fermentasi mengalami penurunan pertumbuhan. Meningkatnya pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* tersebut menunjukkan *Saccharomyces* aktif bekerja merombak gula menjadi etanol dengan grafik pH yang masih stabil. Lebih tingginya persentase hasil rombakan berupa gula dan etanol pada hari ke-5 menuju hari ke-7, dan kadar asam tertitrasi yang mengalami grafik penurunan pada hari ke-5 sampai hari ke-7 fermentasi mempengaruhi kadar etanol yang diperoleh pada hari ke-7 fermentasi lebih tinggi dari perlakuan lain karena hasil rombakan gula lebih banyak menjadi etanol dibanding asam.

Perlakuan Hidrolisis 5 jam dengan Penambahan Molase 10% juga memiliki kadar etanol tinggi yaitu 5% seperti perlakuan Hidrolisis 3 jam dengan penambahan Molase 15%, hanya saja volume destilatnya yang dihasilkan lebih sedikit, yaitu 60 ml sehingga masih terdapat kemungkinan untuk dilakukan proses destilasi kembali untuk mendapatkan kadar etanol yang lebih tinggi. Namun hal ini dinilai tidak efisien karena volume destilat yang diperoleh kemungkinan sangat sedikit. Lebih sedikitnya volume destilat yang diperoleh tersebut disebabkan karena kadar gula yang dihasilkan lebih rendah dibanding perlakuan Hidrolisis 3 jam dengan Penambahan Molase 15% sehingga mempengaruhi fermentasi untuk menghasilkan volume destilat. Hal tersebut dapat dilihat pada bentuk bubur onggok fermentasi pada perlakuan ini wujudnya tidak sama cair seperti perlakuan Hidrolisis 3 jam dengan Penambahan Molase 15%.

Pada hari ke-7 fermentasi, perlakuan Hidrolisis 5 jam dengan Penambahan Molase 10% memiliki kadar etanol tinggi dibanding perlakuan lain kecuali perlakuan Hidrolisis 3 jam dengan Penambahan Molase 15% karena kadar gula pada hari ke-5 fermentasi menuju hari ke-6 fermentasi meningkat dan pada saat yang bersamaan, *Saccharomyces cerevisiae* juga memiliki grafik pertumbuhan yang meningkat dan meningkat drastis pada hari ke-6 fermentasi menuju hari ke-7 fermentasi serta didukung dengan kondisi pH yang stabil. Grafik pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* yang meningkat dan gula, meskipun tidak setinggi perlakuan Hidrolisis 3 jam dengan penambahan Molase 15%, serta kadar asam tertitrasi yang menurun pada hari ke-5 fermentasi menuju hari ke-7 fermentasi menunjukkan adanya aktivitas perombakan gula menjadi etanol, sehingga mempengaruhi kadar etanol yang diperoleh lebih tinggi pada hari ke-7 fermentasi dibanding perlakuan lain.

Selanjutnya pada perlakuan Hidrolisis 3 jam Molase 10 % memiliki kadar etanol cukup tinggi dibanding perlakuan lain pada fermentasi hari ke-7 karena kadar gula pada hari ke-4 fermentasi menuju hari ke-6 fermentasi mengalami peningkatan dan meningkat drastis sampai pada hari ke-7 fermentasi. Hal tersebut juga diikuti dengan meningkatnya pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* pada hari ke-4 menuju hari ke-6 fermentasi dengan pH yang stabil, sehingga menunjukkan *Saccharomyces cerevisiae* aktif bekerja merombak gula menjadi etanol yang diikuti dengan grafik asam tertitrasi menurun pada hari ke-5 fermentasi menuju hari ke-6 fermentasi dan meningkat kembali menuju hari ke-7 fermentasi. Naiknya grafik asam tertitrasi tersebut menunjukkan adanya sebagian etanol yang berubah menjadi asam

sehingga mempengaruhi kadarnya. Namun dengan volume destilat yang dihasilkan pada perlakuan Hidrolisis 3 jam dengan Penambahan Molase 10 % merupakan volume destilat tertinggi dari perlakuan lain yaitu sebanyak 256 ml, maka sangat dimungkinkan untuk dilakukan proses destilasi kembali guna meningkatkan kadar etanol.

Pada perlakuan Hidrolisis 4 jam dengan Penambahan Molase 10%, Hidrolisis 4 jam dengan Penambahan Molase 15%, Hidrolisis 5 jam dengan Penambahan Molase 15% memiliki kadar 0% etanol dikarenakan hasil etanol mencapai maksimal di jauh hari sebelum hari ke-7 fermentasi, sehingga etanol yang dihasilkan berubah menjadi asam. Hal tersebut dapat dilihat pada grafiknya, yaitu pada awal hari fermentasi, hari 1 fermentasi hingga hari 3 fermentasi rata-rata terdapat kandungan gula, grafik *Saccharomyces cerevisiae* meningkat, pH stabil, dan kadar asam cenderung menurun. Hal tersebut menunjukkan pada hari tersebut *Saccharomyces cerevisiae* aktif bekerja merombak gula menjadi etanol. Namun, pada hari selanjutnya, ketiga perlakuan tersebut menunjukkan kadar asam cenderung meningkat hingga hari terakhir fermentasi. Hal tersebut menunjukkan etanol yang terbentuk pada hari awal fermentasi berubah menjadi asam hingga hari terakhir fermentasi, sehingga menyebabkan etanol yang diuji kadarnya pada hari terakhir fermentasi memiliki kadar 0%.

