

**PENGARUH WAKTU FERMENTASI TERHADAP KADAR ETANOL
DALAM TAPE SINGKONG (*Manihot utilissima* Pohl)
SECARA KROMATOGRAFI GAS**



Oleh :

**Agam Syahputra
25131341C**

**PROGRAM STUDI D-III ANALIS FARMASI DAN MAKANAN
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

**PENGARUH WAKTU FERMENTASI TERHADAP KADAR ETANOL
DALAM TAPE SINGKONG (*Manihot utilissima* Pohl)
SECARA KROMATOGRAFI GAS**

KARYA TULIS ILMIAH

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai

Derajat Ahli Madya Farmasi

Program Studi D-III Analisis Farmasi dan Makanan pada Fakultas

Farmasi

Universitas Setia Budi



Disusun oleh :

**Agam Syahputra
25131341 C**

**PROGRAM STUDI D III ANALIS FARMASI DAN MAKANAN
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

PENGESAHAN KARYA TULIS ILMIAH
Berjudul

**PENGARUH WAKTU FERMENTASI TERHADAP KADAR ETANOL
DALAM TAPE SINGKONG (*Manihot utilissima* Pohl)
SECARA KROMATOGRAFI GAS**

Oleh:
Agam Syahputra
25131341C

Dipertahankan di hadapan panitia Penguji Karya Tulis Ilmiah
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal: 19 Juni 2017

Pembimbing,

Reslely Harjanti, M.Sc., Apt.



Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi
Dekan,

Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt

Penguji:

1. Endang Sri Rejeki, M.Si., Apt.
2. Destik Wulandari, S.Pd., M.Si.
3. Reslely Harjanti, M.Sc., Apt.

1.

2.

3.

HALAMAN PERSEMBAHAN



“Tuntutlah ilmu, sesungguhnya menuntut ilmu adalah pendekatan diri kepada Allah Azza wajalla, dan mengajarkannya kepada orang yang tidak mengetahuinya adalah sodaqoh. Sesungguhnya ilmu pengetahuan menempatkan orangnya, dalam kedudukan terhormat dan mulia (tinggi). Ilmu pengetahuan adalah keindahan bagi ahlinya di dunia dan di akhirat.” (HR. Ar-Rabii')

Karya Tulis ini Kupersembahkan untuk :

- Allah SWT yang telah memberikan rahmat, nikmat, berkah serta perlindungan dan kebahagiaan dalam hidupku hingga saat ini ku masih bisa hadir di kampus tercinta ini.
- Bapak, Ibu dan kakakku tercinta, semua keluarga dan sanak saudaraku terima kasih atas kasih sayang, dukungan, doa, nasehat dan juga kepercayaan penuh yang selalu kalian berikan padaku.
- Teman-teman kosku nur, galih, febrian teman-teman DIII Farmasi dan DIII Anafarma angkatan 2013, teman-teman main, dan teman-teman lamaku.
- Dan yang terakhir Almamaterku.

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa tugas akhir ini hasil pekerjaan dan penelitian saya sendiri, tidak terdapat karya yang diajukan untuk memperoleh gelar Ahli Madya di suatu perguruan tinggi. Sepanjang sepengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh, kecuali yang secara tertulis sebagai acuan dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila tugas akhir ini merupakan jiplakan dari penelitian, karya ilmiah, atau skripsi orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi baik secara akademis maupun hukum. Demikian pernyataan ini saya buat dengan semestinya.

Surakarta, Juli 2017



Agam Syahputra

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah rabbil‘alamin, segala puji bagi Allah SWT, yang memberikan rahmat dan petunjuk-Nya sehingga penulis dapat melaksanakan dan menyusun karya tulis ilmiah ini. Karya tulis ilmiah ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk mencapai derajat Ahli Madya Farmasi program studi D-III Anafarma pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi. Karya tulis ilmiah yang mengambil judul **“PENGARUH WAKTU FERMENTASI TERHADAP KADAR ETANOL DALAM TAPE SINGKONG (*Manihot utilissima* Pohl) SECARA KROMATOGRAFI GAS”** disusun dengan harapan dapat bermanfaat bagi pembaca.

Tidak bisa dipungkiri, terselesainya karya tulis ilmiah ini tidak lepas dari andil banyak pihak baik secara langsung maupun tidak langsung. Karenanya, dengan penuh kerendahan hati penulis mengucapkan banyak terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada seluruh pihak yang turut membantu dalam proses penyelesaian karya tulis ilmiah ini kepada:

1. Allah SWT yang telah memberikan kesehatan hingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis ini.
2. Bapak DR. Ir. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi, Surakarta.
3. Ibu Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM, M.Sc., Apt., selaku Dekan Universitas Setia Budi, Surakarta.
4. Ibu Reslely Harjanti, M,Sc., Apt. selaku Dosen Pembimbing yang sangat arif dan bijaksana yang telah memberikan pengarahan, petunjuk, nasihat,

bimbingan dengan meluangkan waktunya hingga karya tulis ilmiah ini tersusun.

5. Bapak dan Ibu dosen, selaku panitia penguji Karya Tulis ini yang telah memberikan masukan demi kesempurnaan Karya Tulis ini.
6. Perpustakaan yang telah menyediakan pustaka-pustaka yang sangat diperlukan dalam penelitian ini.
7. Bapak, Ibu, kakak serta keluarga besarku, terima kasih atas doa, cinta, kasih sayang, dan dukungan materi maupun dukungan moral.
8. Teman-teman D-III Farmasi dan D-III Anafarma Angkatan 2013 yang selalu memberikan masukan dan semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu, yang telah membantu dalam melakukan penelitian dan terselesaikannya Karya Tulis Ilmiah ini.

Penulis menyadari bahwa penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini masih banyak kekurangannya, maka dari itu untuk mencapai hasil yang lebih baik penulis sangat mengharapkan kritik, saran, dan masukan demi perbaikan Karya Tulis Ilmiah ini.

Surakarta, 19 Juni 2017

Agam Syahputra

DAFTAR ISI

	Halaman
PENGESAHAN KARYA TULIS ILMIAH	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
INTISARI.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Masalah	3
D. Kegunaan Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
A. Singkong(<i>Manihot utilissima</i> Pohl).....	4
B. Ragi Tape dan Fermentasi	6
1. Ragi tape	6
2. Fermentasi	7
C. Pembuatan Tape Singkong.....	8
D. Etanol.....	9
E. Destilasi	10
F. Identifikasi Kadar Alkohol Dengan Metode Kromatografi Gas (GC).....	12
1. Analisis kualitatif	15
2. Analisis Kuantitatif.....	15

G. Landasan Teori	16
H. Hipotesis	18
BAB III METODE PENELITIAN.....	19
A. Populasi dan Sampel.....	19
1. Populasi	19
2. Sampel	19
B. Variabel Penelitian	19
1. Identifikasi variabel utama	19
2. Klasifikasi variabel utama	19
3. Definisi operasional variabel utama	20
C. Alat dan Bahan	20
1. Alat	20
2. Bahan.....	21
D. Jalannya Penelitian	21
1. Proses pembuatan tape singkong.....	21
2. Destilasi Alkohol Pada Tape singkong	21
3. Analisis kadar etanol dengan metode kromatografi gas (GC)	23
4. Analisis Data	23
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	24
A. Hasil Analisis Kualitatif Etanol.....	24
B. Pembuatan Kurva Baku Etanol	24
C. Preparasi Sampel	25
D. Hasil Analisis Kuantitatif Etanol.....	26
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	29
A. Kesimpulan.....	29
B. Saran	29
DAFTAR PUSTAKA	30
LAMPIRAN.....	32

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Tanaman singkong	4
Gambar 2. Umbi singkong	5
Gambar 3. Skema jalur fermentasi alkohol oleh khamir.....	8
Gambar 4. Rangkaian alat kromatografi gas.....	14
Gambar 5. Kurva kalibrasi baku etanol.....	25
Gambar 6. Grafik batang pengaruh antara kadar etanol dengan waktu fermentasi berbeda pada tape singkong	28

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Perhitungan kadar etanol (%).....	26
Tabel 2. Kadar rata-rata etanol dalam % dalam waktu fermentasi 3 hari	26
Tabel 3. Kadar rata-rata etanol dalam % dalam waktu fermentasi 5 hari	27
Tabel 4. Kadar rata-rata etanol dalam % dalam waktu fermentasi 7 hari	27

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Perhitungan pembuatan kurva kalibrasi	33
Lampiran 2. Data kurva baku Etanol dan pembuktian linieritasnya.....	36
Lampiran 3. Data nilai koefisien relatif baku etanol bahwa kesalahan tidak lebih dari 2 %.....	37
Lampiran 4. Kromatogram baku Etanol konsentrasi 1,5 %	38
Lampiran 5. Kromatogram baku Etanol konsentrasi 3 %	39
Lampiran 6. Kromatogram baku Etanol konsentrasi 6 %	40
Lampiran 7. Kromatogram baku Etanol konsentrasi 12%	41
Lampiran 8. Kromatogram baku Etanol konsentrasi 24%	42
Lampiran 9. Perhitungan kadar sampel.....	43
Lampiran 10. Kromatogram sampel fermentasi 3 hari A	46
Lampiran 11. Kromatogram sampel fermentasi 3 hari B.....	47
Lampiran 12. Kromatogram sampel fermentasi 3 hari C.....	48
Lampiran 13. Kromatogram sampel fermentasi 5 hari A	49
Lampiran 14. Kromatogram sampel fermentasi 5 hari B.....	50
Lampiran 15. Kromatogram sampel fermentasi 5 hari C.....	51
Lampiran 16. Kromatogram sampel fermentasi 7 hari A	52
Lampiran 17. Kromatogram sampel fermentasi 7 hari B.....	53
Lampiran 18. Kromatogram sampel fermentasi 7 hari C.....	54
Lampiran 19. Kromtogram sampel dan larutan baku etanol sampel	55
Lampiran 20. Perhitungan kadar rata-rata dalam ppm dan %.....	56
Lampiran 21. Data pengujian Statistik.....	57

INTISARI

SYAHPUTRA, A. 2017, PENGARUH WAKTU FERMENTASI TERHADAP KADAR ETANOL DALAM TAPE SINGKONG (*Manihot utilissima* Pohl) SECARA KROMATOGRAFI GAS, KTI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI

Singkong merupakan sumber energi yang kaya karbohidrat namun sangat miskin protein. Tape singkong merupakan salah satu produk hasil fermentasi. etanol dapat dibuat dari apa saja yang dapat difermentasi oleh khamir. Salah satu pemanfaatan khamir yang paling penting dan paling terkenal adalah produk etanol dari karbohidrat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui sampel tape singkong mengandung etanol yang dapat dianalisis dengan kromatografi gas dan mengetahui lama waktu fermentasi berpengaruh terhadap kadar etanol pada tape singkong dengan kromatografi gas

Tape singkong yang dibuat dalam 3 perlakuan dengan lamanya waktu fermentasi yang berbeda dari 3 hari fermentasi, 5 hari fermentasi, dan 7 hari fermentasi menggunakan metode kromatografi gas. Tape singkong dianalisis berdasarkan : analisis kualitatif etanol dan analisis kuantitatif etanol. Data dianalisis secara statistik.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar etanol yang dibuat dengan perbedaan waktu fermentasi mengandung etanol dengan kadar sebagai berikut: sampel waktu fermentasi 3 hari sebesar (4,08%), sampel waktu fermentasi 5 hari sebesar (13,08%) dan sampel waktu fermentasi 7 hari (16,09%). Kadar etanol dengan lamanya waktu fermentasi 7 hari memberikan hasil kadar etanol tinggi dibandingkan dengan lamanya waktu fermentasi 3 hari dan 5 hari tetapi dalam uji statistik tidak terdapat perbedaan signifikan terhadap kadar etanol.

Kata kunci: Tape singkong, lama waktu fermentasi dan kromatografi gas.

ABSTRACT

SYAHPUTRA, A. 2017, EFFECT OF FERMENTATION TIME ON ETHANOL RESEARCH IN TAPE SINGKONG (*Manihot utilissima* Pohl) GAS CHROMATOGRAPHY, KTI, PHARMACEUTICAL FACULTY, UNIVERSITY SETIA BUDI

Cassava is a source of energy rich in carbohydrates but very poor protein. Cassava tape is one of the products of fermentation. Ethanol can be made from anything that can be fermented by yeasts. One of the most important and best known yeasts utilization is the ethanol product of carbohydrates. This study aims to determine the sample of cassava tape containing ethanol that can be analyzed by gas chromatography and know the duration of fermentation effect on ethanol content on cassava tape with gas chromatography.

Cassava tape made in 3 treatments with different length of fermentation time from 3 fermentation days, 5 days of fermentation, and 7 days of fermentation using gas chromatography method. Cassava tape is analyzed based on: qualitative analysis of ethanol and quantitative analysis of ethanol. Data were analyzed statistik.

The results showed that ethanol content made with ethanol time difference contained ethanol with the following content: 3 days fermentation time (4.08%), 5 days fermentation time (13.08%) and 7 day fermentation time (16.09%). Ethanol content with 7 days fermentation time gave high ethanol content compared with 3 days and 5 days fermentation time but in statistical test there was no significant difference to ethanol content.

Keywords: Cassava tape, fermentation time and gas chromatography

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Etanol (C_2H_5OH) adalah cairan transparan, tidak berwarna, cairan yang mudah bergerak, mudah menguap, dapat bercampur dengan air, eter, dan kloroform, diperoleh melalui fermentasi karbohidrat dari ragi (Prihandana *dkk.*, 2007). Menurut Sa'id, (1987) Rustriningsih, (2007) etanol dapat dibuat dari apa saja yang dapat difermentasi oleh khamir. Salah satu pemanfaatan khamir yang paling penting dan paling terkenal adalah produk etanol dari karbohidrat. Proses fermentasi ini dimanfaatkan oleh para pembuat bir, roti, anggur, bahan kimia, para ibu rumah tangga, dan lain-lain. Karbohidrat merupakan bahan baku yang menunjang dalam proses fermentasi, dimana prinsip dasar fermentasi adalah degradasi komponen pati oleh enzim. Menurut Irianto (2006), menyatakan bahwa setelah air, etanol merupakan zat pelarut dan bahan dasar paling umum yang digunakan di laboratorium dan di dalam industri kimia.

Tumbuhan yang mengandung karbohidrat tinggi adalah dari jenis biji-bijian misalnya ketan putih dan dari jenis umbi-umbian misalnya singkong. Singkong atau ubi kayu (*Manihot utilissima pohl*) merupakan salah satu sumber karbohidrat lokal Indonesia yang menduduki urutan ketiga terbesar setelah padi dan jagung (Badan Litbang Pertanian, 2011). Menurut Rahmad Rukmana dan Yuniarsih (2001) Suparti dan Asngad (2009), kandungan karbohidrat ketela pohon cukuplah tinggi (36,89 gram), hal ini berpotensi sebagai bahan alternatif dalam

pembuatan etanol. Karbohidrat akan diubah menjadi gula dan gula akan diubah menjadi etanol.

Fermentasi mempunyai pengertian aplikasi metabolisme mikroba untuk mengubah bahan baku menjadi produk yang bernilai lebih tinggi, seperti asam-asam organik, protein sel tunggal, antibiotika dan biopolimer (Muhidin *dkk.*, 2001). Ragi adalah suatu inokulum atau *starter* untuk melakukan fermentasi dalam pembuatan produk tertentu. Proses fermentasi ini akan menghasilkan etanol dan CO₂ (Rahmawati, 2010).

Tape merupakan salah satu produk hasil fermentasi. Beras, ketan, jagung dan ketela pohon, dapat digunakan sebagai bahan dasar pembuatan tape. Bahan-bahan tersebut dikukus hingga matang, dihamparkan ditampah dan setelah dingin dibubuhi ragi, kemudian campuran itu ditaruh dalam belanga, ditutup dengan daun pisang dan disimpan dalam tempat yang sejuk. Setelah beberapa lama berkhmirlah karena daya kerja organisme-organisme yang terdapat dalam ragi (Heyne, 1987 Sutriningsih, 2007). Yulianti (2014), menyatakan bahwa etanol banyak digunakan dalam industri, di antaranya merupakan pelarut, sebagai sintesis dalam Industri kimia. Dari hasil kesepakatan MUI, makanan dan minuman yang mengandung alkohol tidak boleh melebihi 1 %, sehingga makanan/minuman yang mengandung kadar alkohol melebihi 1 % termasuk dalam katagori haram untuk dikonsumsi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh lama fermentasi terhadap kadar alohol tape singkong (*Monihot utilisima* Pohl)

B. Perumusan Masalah

Masalah dalam penelitian ini dapat dirumuskan sebagai berikut :

1. Apakah sampel tape singkong mengandung etanol yang dapat dianalisis dengan kromatografi gas?
2. Apakah lama waktu fermentasi berpengaruh terhadap kadar etanol pada tape singkong dengan kromatografi gas?

C. Tujuan Masalah

1. Mengetahui sampel tape singkong mengandung etanol yang dapat dianalisis dengan kromatografi gas.
2. Mengetahui lama waktu fermentasi berpengaruh terhadap kadar etanol pada tape singkong dengan kromatografi gas.

D. Kegunaan Penelitian

1. Membuktikan informasi tentang kandungan etanol dalam tape singkong.
2. Menginformasikan kepada masyarakat tentang kandungan etanol dalam tape singkong sebagai bahan kajian dalam pengembangan produk makanan

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Singkong (*Manihot utilissima* Pohl)

Singkong yang juga dikenal sebagai ketela pohon atau ubi kayu, dalam bahasa Inggris bernama *cassava*, adalah pohon tahunan tropika dan subtropika dari keluarga *Euphorbiaceae*. Umbinya dikenal luas sebagai makanan pokok penghasil karbohidrat dan daunnya sebagai sayuran. Tumbuhan ini merupakan umbi atau akar pohon yang panjang dengan fisik rata-rata bergaris tengah 2-3 cm dan panjang 50-80 cm, tergantung dari jenis singkong yang ditanam. Daging umbinya berwarna putih atau kekuning-kuningan. Singkong tidak tahan simpan meskipun ditempatkan di lemari pendingin. Gejala kerusakan ditandai dengan keluarnya warna biru gelap akibat terbentuknya asam sianida yang bersifat racun.



Gambar 1. Tanaman singkong



Gambar 2. Umbi Singkong

Adapun Singkong dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Deputi Menegristek Bidang Pendayagunaan dan Pemasyarakatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi, 2005):

Kingdom : *Plantae*
Divisio : *Spermatophyta*
Class : *Dicotyledoneae*
Ordo : *Euphorbiales*
Familia : *Euphorbiaceae*
Genus : *Manihot*
Spesies : *Manihot utilissima* pohl

Singkong juga banyak mengandung glukosa dan dapat dimakan mentah. Rasanya sedikit manis, ada pula yang pahit tergantung pada kandungan racun glukosida yang dapat membentuk asam sianida. Jenis singkong manis proses pemasakan sangat diperlukan untuk menurunkan kadar racunnya.

B. Ragi Tape dan Fermentasi

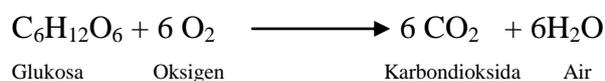
1. Ragi tape

Ragi tape adalah bahan yang dapat digunakan dalam pembuatan tape, baik dari singkong dan beras ketan. Menurut Wanto dan Arif Subagyo dalam Maimuna, S (2004) Khamir merupakan fungi bersel tunggal sederhana, kebanyakan bersifat *saprotitik* dan biasanya terdapat dalam tumbuh-tumbuhan yang mengandung karbohidrat. Khamir dapat diisolasi dari tanah yang berasal dari kebun anggur, kebun buah-buahan dan biasanya khamir berada di dalam cairan yang mengandung gula, seperti cairan buah, madu, sirup, dan sebagainya. Bentuk sel khamir biasanya bulat, oval, dan biasanya tidak mempunyai *flagella*. Pada umumnya khamir berkembang biak dengan bertunas, membelah diri dan pembentukan spora.

Khamir mempunyai kemampuan untuk memecah pangan karbohidrat menjadi alkohol dan karbondioksida. Proses ini diketahui sebagai fermentasi alkohol yaitu proses anaerob. Khamir mempunyai sekumpulan enzim yang diketahui sebagai *zymase* yang berperan pada fermentasi senyawa gula, seperti glukosa menjadi etanol dan karbondioksida. Reaksi yang terjadi dalam fermentasi alkohol sebagai berikut:



Jika pemberian O_2 berlebihan, sel khamir akan melakukan respirasi secara aerobik, dalam keadaan ini enzim khamir dapat memecah senyawa gula lebih sempurna, dan akan dihasilkan karbondioksida dan air.



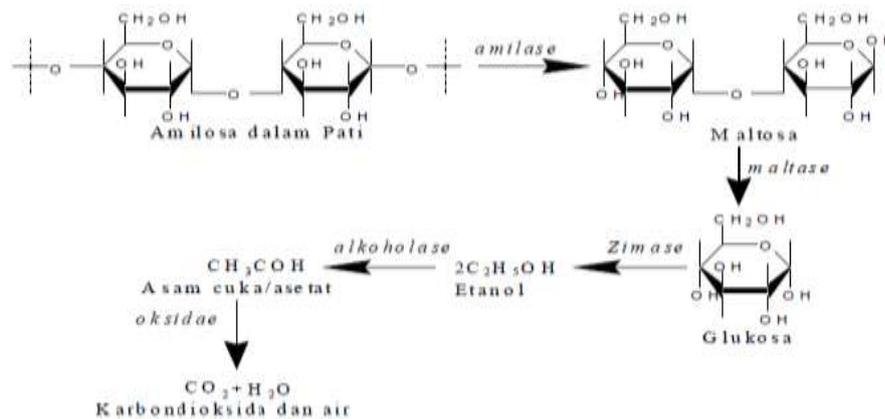
Jenis khamir yang biasanya dipakai dalam industri fermentasi alkohol adalah jenis *Saccharomyces cerevisiae*. *Saccharomyces cerevisiae* adalah jenis khamir utama yang berperan dalam produksi minuman beralkohol seperti bir, anggur, dan juga digunakan untuk fermentasi adonan dalam perusahaan roti dan fermentasi tape. Kultur yang dipilih harus dapat tumbuh dengan baik dan mempunyai toleransi yang tinggi terhadap alkohol serta mampu menghasilkan alkohol dalam jumlah banyak (Irianto, 2006).

2. Fermentasi

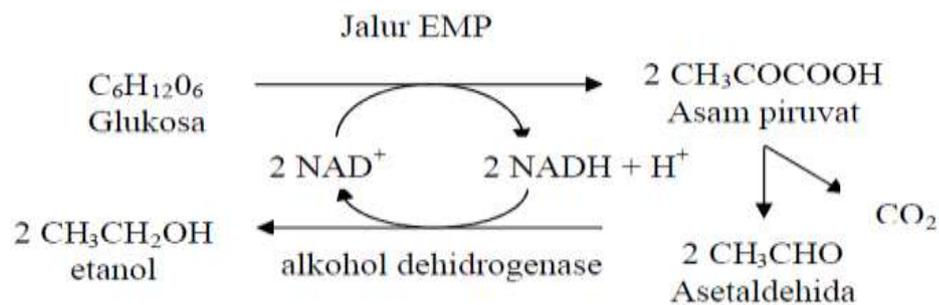
Fermentasi berasal dari bahasa latin *ferfere* yang artinya mendidihkan, yaitu berdasarkan ilmu kimia terbentuknya gas-gas dari suatu cairan kimia yang pengertiannya berbeda dengan air mendidih. Gas yang terbentuk tersebut di antaranya karbondioksida (CO₂) (Afrianti, 2004).

Fermentasi sebenarnya mengaktifkan pertumbuhan dan metabolisme dari mikroba membentuk alkohol dan asam, dan menekan pertumbuhan mikroba *proteolitik* dan *lipolitik*. Beberapa hasil fermentasi terutama asam dan alkohol dapat mencegah pertumbuhan mikroba yang beracun didalam makanan, misalnya *Clostridium botulinum* (Winarno, 1984).

Apabila suatu mikroba ditumbuhkan dalam media pati, maka pati tersebut akan diubah oleh enzim *amilase* yang dikeluarkan oleh mikroba tersebut menjadi maltosa. Maltosa dapat dirombak menjadi glukosa oleh enzim *maltase*. Kemudian glukosa oleh enzim *zimase* dirombak menjadi alkohol, sedangkan alkohol oleh enzim alkoholase dapat diubah menjadi asam asetat. Asam asetat ini akan dirombak oleh enzim oksidase menjadi karbondioksida dan air (Tarigan, 1988). Proses ini secara singkat dapat dilihat dari reaksi berikut:



Gambar 3. Reaksi fermentasi alkohol



Gambar 3. Skema jalur fermentasi alkohol oleh khamir

C. Pembuatan Tape Singkong

Singkong merupakan salah satu bahan makanan yang kaya karbohidrat (sumber energi). Pada proses pembuatan tape, karbohidrat mengalami proses peragian oleh mikroba atau jasad renik tertentu, sehingga sifat-sifat bahan berubah menjadi lebih enak dan sekaligus mudah dicerna.

Pada pembuatan tape singkong secara tradisional, singkong kupas lalu dicuci, kemudian ditanak. Setelah dingin dicampur dengan ragi komersial, dimasukkan dalam wadah yang dilapisi daun pisang dan difermentasi selama 1 sampai 3 hari pada suhu kamar. Terjadilah proses fermentasi yang mengubahnya

menjadi tape. Pada saat peragian ini, terjadi perubahan bentuk dari pati menjadi glukosa yang pada akhirnya menghasilkan alkohol.

Proses fermentasi tape singkong harus dilakukan secara optimal. Selain memilih bahan dasar singkong yang baik, proses pembuatan tape singkong harus benar. Ragi yang digunakanpun harus bermutu tinggi, karena ragi merupakan bahan utama dalam proses pembuatan tape. Kesterilan ragi dan bahan dasar pembuatan tape singkong ketika akan digunakan sangat penting. Hal ini bertujuan agar tidak dicemari bakteri lain. Karena jika dalam proses pembuatan tape singkong dicemari bakteri lain maka proses fermentasi akan terhambat. Sehingga tape akan mengeluarkan bakteri yang sering mengeluarkan racun yang berbahaya bagi kesehatan manusia.

D. Etanol

Pada abad ke-19 kata alkohol dipergunakan untuk menyebut rasa *essence*, jadi alkohol adalah *essence* dari anggur. Akan tetapi kata alkohol secara umum digunakan untuk menyebut rasa anggur. Dalam ilmu kimia yang dimaksud alkohol adalah suatu senyawa organik yang mengandung gugus hidroksil (-OH) sebagai gugus fungsionalnya (Arsyat, 2001). Sedangkan secara umum yang dimaksud dengan alkohol adalah etanol dengan rumus kimia C_2H_5OH . Alkohol merupakan cairan yang tidak berwarna, jernih, mudah menguap, mudah terbakar dengan nyala biru yang tidak berasap, rasa panas membakar.

Proses pembuatan etanol dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu:

1. Cara sintesis yaitu dengan melakukan reaksi kimia elementer untuk mengubah bahan baku menjadi etanol.
2. Cara fermentasi yaitu dengan menggunakan aktivitas mikroba. Mikroba yang berperan dalam pembuatan etanol adalah ragi yaitu *Saccharomyces cerevisiae* (jenis utama) dan beberapa jenis lainnya seperti, *Saccharomyces anamesis*. Pada proses pembuatan etanol harus dalam keadaan pH rendah (susunan asam), maka biasanya ada penambahan asam selama proses yaitu dengan asam sulfat. Sedangkan suhu diperlukan berkisar antara 30-37 °C. Alkohol yang dihasilkan dari proses fermentasi adalah etanol.

Etanol yang nama lainnya *aethanolum*, *etil alcohol*, adalah cairan yang bening, tidak berwarna, mudah mengalir, mudah menguap, mudah terbakar, *higroskopik* dengan karakteristik bau spiritus dan rasa membakar, mudah terbakar dengan api biru tanpa asap. Campur dengan air, kloroform, eter, gliserol, dan hampir semua pelarut organik lainnya. Penyimpanan pada suhu 8 -15 °C, jauh dari api dalam wadah kedap udara dan dilindungi dari cahaya. Bahan ini dapat memabukkan jika diminum. Etanol sering ditulis dengan rumus EtOH. Rumus molekul etanol adalah C₂H₅OH (Mardoni, 2007).

E. Destilasi

Dalam larutan terdapat dua komponen yaitu solute dan solvent, sehingga larutan didefinisikan sebagai campuran homogen solute dan solvent. Terbentuknya larutan karena adanya gaya tarik antara molekul solute dan solvent dalam proses kelarutan. Apabila solvent berupa air maka disebut proses hidrasi.

Dalam kimia, sering dihadapi masalah yang berhubungan dengan cara memisahkan solute atau solvent dari larutannya. Jika solute bukan volatil atau kurang volatil dibandingkan solventnya maka, solvent dapat dipisahkan dengan destilasi.

Dasar pemisahan destilasi adalah perbedaan dua titik didih dua cairan atau lebih. Jika campuran dipanaskan maka komponen yang titik didihnya lebih rendah akan menguap lebih dulu. Dengan mengatur suhu komponen larutan akan menguap dan mengembunkan komponen demi komponen secara bertahap. Proses pengembunan terjadi dengan mengalirkan uap ke tabung pendingin. Alat-alat yang digunakan dalam destilasi cukup sederhana. Pertama tempat sampel, berupa reservoir biasanya dipilih labu alas bulat, kondensor untuk mengembunkan uap dan tempat destilat. Pemanas yang digunakan dapat berupa kompor listrik atau *heating mantle* yang dapat diatur suhunya. Untuk mengontrol suhu uap, pada salah satu ujung labu dipasang termometer. Untuk memahami bagaimana proses destilasi berlangsung dapat dilihat dari diagram alat destilasi (Sukri, 1999).

Beberapa hal penting yang harus diperhatikan dalam destilasi adalah kondisi saat pemanasan labu didih. Dalam keadaan suhu dan tekanan tinggi, labu dapat mengalami ledakan yang dikenal sebagai *super heated*. Secara teknis, sebelum proses pemanasan, di dalam labu didih disertakan agen *anti bumping* seperti pecahan porcelain. Pori-pori porcelain dapat menyerap panas dan meratakan panas ke seluruh sistem. Metode destilasi digunakan pada larutan yang mempunyai titik didih moderat sekitar 100 °C. Apabila terdapat sampel dengan titik didih sangat tinggi, tidak disarankan menggunakan teknik pemisahan destilasi karena dua hal yaitu suhu dan tekanan tinggi rawan ledakan dan pada suhu tinggi

senyawa dapat mengalami dekomposisi atau rusak. Terdapat berbagai macam distilasi, diantaranya (Arsyat, 2001):

1. Destilasi sederhana : Penguapan suatu larutan dengan pemanasan dan uap diembunkan kembali oleh kondensor.
2. Destilasi Uap : Penyulingan senyawa-senyawa volatil yang kurang larut dalam air melalui semburan uap di atas campuran sehingga zat yang lebih volatil akan menyuling ke dalam uap dan diembunkan sebagai destilat. Karena senyawa kurang larut air, maka senyawa yang diinginkan dapat dengan mudah dipisahkan dari air yang ikut mengembun sebagai destilat. Destilasi uap digunakan dalam pembuatan parfum.
3. Destilasi destruktif : disebut juga destilasi kering, suatu proses penyulingan dari sampel padat dengan pemanasan sampai menguap dan diembunkan kembali. Contoh destilasi batu bara menjadi kokas.
4. Destilasi fraksional : Penyulingan yang dilakukan dengan refluks parsial karena luas permukaan dalam kolom fraksionasi yang digunakan memungkinkan terjadinya keseimbangan uap-cair. Uap hasil destilasi pertama akan mengembun kembali dan melewati sel berikutnya, menguap kembali. Proses ini berlangsung berulang-ulang. Semakin banyak kolom fraksionasi, maka pemisahan semakin sempurna. Senyawa yang berada pada puncak kolom adalah senyawa paling volatil/titik didih paling rendah. Contoh : pemisahan fraksi-fraksi dalam minyak bumi.

F. Identifikasi Kadar Alkohol dengan Metode Kromatografi Gas (GC)

Kromatografi gas adalah teknik kromatografi yang bisa digunakan untuk memisahkan senyawa organik yang mudah menguap. Senyawa yang dapat dipisahkan dengan kromatografi gas sangat banyak, namun ada batasan-batasannya. Senyawa tersebut harus mudah menguap dan stabil pada temperatur pengujian, utamanya dari 50 – 300 °C. Jika senyawa tidak mudah menguap atau tidak stabil pada temperatur pengujian, maka senyawa tersebut bisa diderivatisasi agar dapat dianalisis dengan kromatografi gas (Mardoni, 2007).

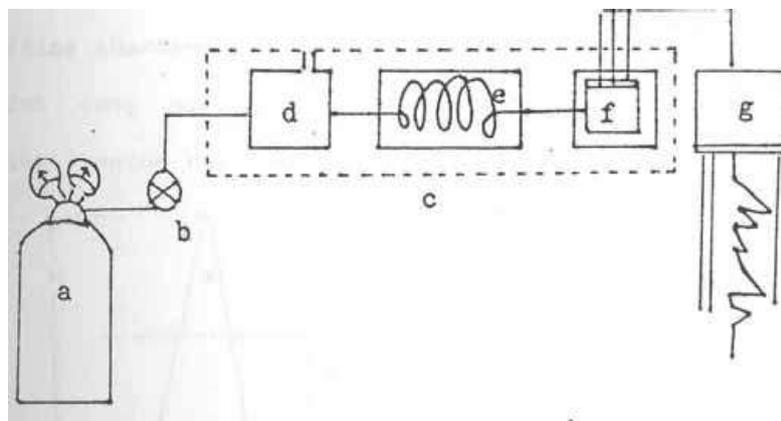
Penentuan kadar etanol yang terdapat dalam sampel dapat dilakukan dengan menggunakan metode kromatografi gas (GC). Metode ini dapat digunakan karena metode ini mampu memisahkan zat-zat organik (berupa cairan kompleks).

Untuk menghitung kadar etanol yang terdapat dalam sampel dapat digunakan kurva kalibrasi yang diperoleh dari sejumlah larutan standar yang komposisinya sama dengan analit dengan konsentrasi yang telah diketahui (dalam penelitian ini menggunakan larutan standar etanol). Kemudian setiap larutan standar etanol diukur dengan kromatografi gas sehingga diperoleh kromatogram untuk setiap larutan standar etanol. Selanjutnya diplot area atau tinggi peak sebagai fungsi konsentrasi larutan standar etanol. Plot data harus diperoleh garis lurus yang melalui titik koordinat karena pada bagian kurva ini area peak akan berbanding lurus konsentrasi etanol.

Pada kromatografi gas, fase gerakanya berupa gas yang inert (tidak bereaksi), sedangkan fase diamnya dapat berupa dan zat padat atau zat cair. Pemisahan tercapai dengan partisi sampel antara fase gas bergerak dan fase diam

berupa cairan dengan titik didih tinggi (tidak mudah menguap) yang terikat pada zat padat penunjangnya (Khopkar, 2003)

Seperti yang telah kita ketahui gas selalu bergerak ke mana saja, tidak mau diam. Oleh karena itu untuk melakukan metode kromatografi gas diperlukan peralatan khusus. Untuk memahami bagaimana proses kromatografi gas berlangsung dapat dilihat dari diagram alat kromatografi gas (Bulan, 2004).



Gambar 4. Rangkaian Alat Kromatografi Gas

Keterangan:

- a. Tangki gas pembawa
- b. Pengatur aliran dan pengatur tekanan gas
- c. Termostat untuk tempat injeksi cuplikan, kolom dan detektor.
- d. Tempat injeksi cuplikan
- e. Kolom
- f. Detektor
- g. Pencatat (recorder)

Mekanisme kerja kromatografi gas adalah sebagai berikut. Gas dalam silinder baja bertekanan tinggi dialirkan melalui kolom yang berisi fase diam.

Cuplikan yang berupa campuran yang akan dipisahkan, biasanya dalam bentuk larutan, disuntikkan ke dalam aliran gas tersebut. Kemudian cuplikan dibawah oleh gas pembawa ke dalam kolom dan didalam kolom terjadi proses pemisahan. Komponen campuran yang telah terpisahkan satu persatu meninggalkan kolom. Suatu detektor yang diletakkan di ujung kolom untuk mendeteksi jenis maupun jumlah tiap komponen campuran. Hasil pendeteksian direkam dengan recorder dan dinamakan kromatogram yang terdiri dari beberapa peak dan jumlah peak yang dihasilkan menyatakan jumlah komponen (senyawa) yang terdapat dalam campuran (Hendayana, S., 2006).

Kromatografi gas cair yang lebih dikenal dengan kromatografi gas (GC) mempunyai dasar pemisahan partisi cuplikan pada lapisan tipis fasa diam tersebut. Dengan menganggap bahwa waktu penahanan untuk setiap senyawa berbeda maka kromatografi gas ini dapat digunakan sebagai analisis kualitatif dan analisis kuantitatif.

1. Analisis kualitatif

Analisis kualitatif berdasarkan pada perbandingan waktu retensi yaitu waktu yang diperlukan untuk mengelusikan senyawa setelah diinjeksikan. Waktu retensi dibandingkan dengan waktu retensi senyawa standar dan metode ini disebut metode *spiking* yaitu dengan menambahkan senyawa cuplikan kepada senyawa yang akan dianalisis.

2. Analisis Kuantitatif

Pada analisis kuantitatif jumlah (%) suatu senyawa dihitung berdasarkan pada pengukuran luas puncak kromatogram. Puncak-puncak pada Kromatogram mirip seperti segitiga.

G. Landasan Teori

Tape adalah produk yang dihasilkan dari proses fermentasi, di mana terjadi suatu perombakan bahan-bahan yang tidak sederhana. Zat pati yang ada dalam bahan makanan diubah menjadi bentuk yang sederhana yaitu gula, dengan bantuan suatu mikroorganisme yang disebut ragi atau khamir

Ragi tape adalah bahan yang dapat digunakan dalam pembuatan tape, baik dari singkong dan beras ketan. Menurut Dwijoseputro dalam Tarigan (1988) ragi tape merupakan populasi campuran yang terdiri dari spesies-spesies genus *Aspergillus*, *Saccharomyces*, *Candida*, *Hansenulla*, dan bakteri *Acetobacter*. Genus tersebut hidup bersama-sama secara sinergis. *Aspergillus* menyederhanakan tepung menjadi glukosa serta memproduksi enzim *glukoamilase* yang akan memecah pati dengan mengeluarkan unit-unit glukosa, sedangkan *Saccharomyces*, *Candida* dan *Hansenulla* dapat menguraikan gula menjadi alkohol dan bermacam-macam zat organik lain sementara itu *Acetobacter* dapat merombak alkohol menjadi asam. Beberapa jenis jamur juga terdapat dalam ragi tape, antara lain *Chlamydomucor oryzae*, *Mucor sp*, dan *Rhizopus sp*.

Menurut Wanto dan Arif Subagyo dalam Maimuna, S (2004) Khamir merupakan fungi bersel tunggal sederhana, kebanyakan bersifat *saprofitik* dan biasanya terdapat dalam tumbuh-tumbuhan yang mengandung karbohidrat. Khamir dapat diisolasi dari tanah yang berasal dari kebun anggur, kebun buah-buahan dan biasanya khamir berada di dalam cairan yang mengandung gula, seperti cairan buah, madu, sirup, dan sebagainya. Bentuk sel khamir biasanya

bulat, oval, dan biasanya tidak mempunyai *flagella*. Pada umumnya khamir berkembang biak dengan bertunas, membelah diri dan pembentukan spora.

Fermentasi berasal dari bahasa latin *ferfere* yang artinya mendidihkan, yaitu berdasarkan ilmu kimia terbentuknya gas-gas dari suatu cairan kimia yang pengertiannya berbeda dengan air mendidih. Gas yang terbentuk tersebut di antaranya karbondioksida (CO₂) (Afrianti, 2004).

Pada abad ke-19 kata alkohol dipergunakan untuk menyebut rasa *essence*, jadi alkohol adalah *essence* dari anggur. Akan tetapi kata alkohol secara umum digunakan untuk menyebut rasa anggur. Dalam ilmu kimia yang dimaksud alkohol adalah suatu senyawa organik yang mengandung gugus hidroksil (-OH) sebagai gugus fungsionalnya (Arsyat, 2001).

Beberapa hal penting yang harus diperhatikan dalam destilasi adalah kondisi saat pemanasan labu didih. Dalam keadaan suhu dan tekanan tinggi, labu dapat mengalami ledakan yang dikenal sebagai *super heated*. Secara teknis, sebelum proses pemanasan, di dalam labu didih disertakan agen *anti bumping* seperti pecahan porcelain. Pori-pori porcelain dapat menyerap panas dan meratakan panas ke seluruh sistem. Metode destilasi digunakan pada larutan yang mempunyai titik didih moderat sekitar 100 °C. Apabila terdapat sampel dengan titik didih sangat tinggi, tidak disarankan menggunakan teknik pemisahan destilasi karena dua hal yaitu suhu dan tekanan tinggi rawan ledakan dan pada suhu tinggi senyawa dapat mengalami dekomposisi atau rusak. Terdapat berbagai macam distilasi, diantaranya (Arsyat, 2001)

Kromatografi gas adalah teknik kromatografi yang bisa digunakan untuk memisahkan senyawa organik yang mudah menguap. Senyawa yang dapat dipisahkan dengan kromatografi gas sangat banyak, namun ada batasan-batasannya. Senyawa tersebut harus mudah menguap dan stabil pada temperatur pengujian, utamanya dari 50 – 300 °C. Jika senyawa tidak mudah menguap atau tidak stabil pada temperatur pengujian, maka senyawa tersebut bisa diderivatisasi agar dapat dianalisis dengan kromatografi gas (Mardoni, 2007).

H. Hipotesis

Sampel tape diduga mengandung etanol yang dapat dianalisis dengan kromatografi gas dan kadar etanol dipengaruhi oleh lamanya waktu fermentasi.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi adalah keseluruhan unit dalam ruang lingkup yang ingin diteliti. Populasi yang ingin digunakan dalam penelitian ini adalah tape Purworejo yang dijual di wilayah Kabupaten Purworejo.

2. Sampel

Sampel adalah sebagian dari populasi yang dipilih dengan menggunakan prosedur tertentu sehingga diharapkan mampu mewakili populasi. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tape Purworejo yang dijual di desa Baledono kedung putri, Purworejo.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah waktu fermentasi tape dalam tiga hari, lima hari, dan tujuh hari.

Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah kadar etanol pada waktu fermentasi tape dalam tiga hari, lima hari, dan tujuh hari.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel bebas adalah variabel yang sengaja direncanakan untuk diteliti pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel utama yang telah didefinisikan terdahulu dapat diidentifikasi ke dalam berbagai macam variabel

yaitu variabel bebas, variabel kendali dan variabel tergantung. Variable bebas yang dimaksud dalam penelitian ini sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel kendali merupakan variabel yang mempengaruhi variabel tergantung, sehingga perlu ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang diperoleh tidak tersebar dan dapat diulang oleh peneliti lain secara tepat.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah sampel waktu fermentasi tape dalam 3 hari, 5 hari, dan 7 hari. Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah kondisi dan peralatan di laboratorium. Variabel kendali dalam penelitian ini adalah volume yang akan di injeksi, fase gerak, panjang kolom, dan suhu kromatografi gas. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah kadar etanol pada waktu fermentasi 3 hari, 5 hari, dan 7 hari.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama tape adalah singkong yang sudah dikupas, dikukus dan diberi ragi yang dijual di desa Baledono kedung putri, Purworejo.

Kedua, kromatografi gas adalah salah satu teknik kromatografi yang bisa digunakan untuk memisahkan dan menganalisis sampel yang berupa senyawa organik yang mempunyai sifat mudah menguap.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian antara lain: erlenmeyer 250 mL, labu ukur 10 mL, pipet volum 5 mL, timbangan analitik, gelas ukur, batang

pengaduk, corong, seperangkat alat destilasi, seperangkat alat kromatografi gas (GC), kolom *porapak* dan detektor TCD, kompor, dandang, loyang, sendok dan daun pisang.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: singkong, ragi, etanol baku, daun pisang, aquades dan n-heksan.

D. Jalannya Penelitian

1. Proses pembuatan tape singkong

Singkong dikupas kulitnya sampai bersih. Singkong dikukus selama ± 30 menit. Setelah matang, diangkat dan didinginkan pada suhu ruangan selama ± 1 jam.

Singkong yang sudah matang diberi ragi. Singkong yang sudah ditaburi ragi dibungkus dengan daun pisang, kemudian diikat rapat dan disimpan selama tiga hari, lima hari, dan tujuh hari pada suhu kamar.

2. Destilasi alkohol pada tape singkong

Ditimbang 50 gram tape singkong dan ditumbuk sampai halus. Ditambah 100 mL aquades. Campuran dimasukkan dalam labu alas bulat ditambah 3 butir batu didih dan labu destilat dipasang pada alat destilasi. Didestilasi dan destilat hasil destilasi ditampung dalam tempat terpisah. Destilasi dihentikan jika sudah tidak ada destilat yang menetes dalam penampung. Destilat yang didapat ditimbang dalam satuan gram, lalu dimasukkan dalam botol kecil dengan ukuran 10 ml dan ditutup

3. Pembuatan kurva baku

Pembuatan larutan baku etanol dengan cara memipet 5 mL larutan etanol 96% kemudian dimasukkan kedalam labu takar 10 mL dan ditambah dengan n-heksan sampai tanda batas dan dicampur hingga homogen untuk mendapatkan standar baku dengan konsentrasi 48%.

Larutan baku etanol 48% tersebut kemudian dipipet 5 mL dan ditambahkan dengan n-heksan dalam labu takar 10 mL sampai tanda batas dan dicampur hingga homogen untuk mendapatkan standar baku dengan konsentrasi 24%. Larutan baku etanol 24% tersebut kemudian dipipet 5 mL dan ditambahkan dengan n-heksan dalam labu takar 10 mL sampai tanda batas dan dicampur hingga homogen untuk mendapatkan standar baku dengan konsentrasi 12%.

Larutan baku etanol 12% tersebut kemudian dipipet 5 mL dan ditambahkan dengan n-heksan dalam labu takar 10 mL sampai tanda batas dan dicampur hingga homogen untuk mendapatkan standar baku dengan konsentrasi 6%. Larutan baku etanol 6% tersebut kemudian dipipet 5 mL dan ditambahkan dengan n-heksan dalam labu takar 10 mL sampai tanda batas dan dicampur hingga homogen untuk mendapatkan standar baku dengan konsentrasi 3%

Larutan baku etanol 3% tersebut kemudian dipipet 5 mL dan ditambahkan dengan n-heksan dalam labu takar 10 mL sampai tanda batas dan dicampur hingga homogen untuk mendapatkan standar baku dengan konsentrasi 1,5%. Standar baku dengan konsentrasi 1,5%, 3%, 6%, 12% dan 24 % diambil masing-masing 1 µl untuk di injeksikan pada kromatografi gas (GC).

4. Analisis kualitatif

Identifikasi kualitatif Etanol dalam sampel dapat dianalisis dengan menginjektikan sampel. Diambil 1 μl dari masing-masing sampel dengan perlakuan yang sama disuntikan ke dalam kolom melalui tempat injeksi. Hasil perolehan waktu retensi puncak pada hasil penyuntikan sampel sama atau berdekatan dengan waktu retensi puncak baku etanol.

Mempertegas hasil identifikasi yang diperoleh, ditambahkan larutan baku etanol pada larutan sampel, lalu dianalisis kembali pada kondisi kromatografi gas yang sama. Diambil 1 μl campuran sampel yang telah ditambahkan larutan baku disuntikan ke dalam kolom melalui tempat injeksi

5. Analisis kuantitatif

Diambil (1 μl) destilat dari masing-masing destilat lamanya waktu fermentasi dan disuntikkan ke dalam kolom melalui tempat injeksi. Luas puncak etanol dari kromatogram dihitung. Kadar etanol tape singkong ditentukan dengan menggunakan persamaan kurva baku.

6. Analisis Data

Data yang telah diperoleh dalam hasil penelitian ini dianalisis dengan analisis statistik untuk menguji adanya perbedaan konsentrasi kadar (%) etanol tape singkong selama fermentasi.

BAB IV

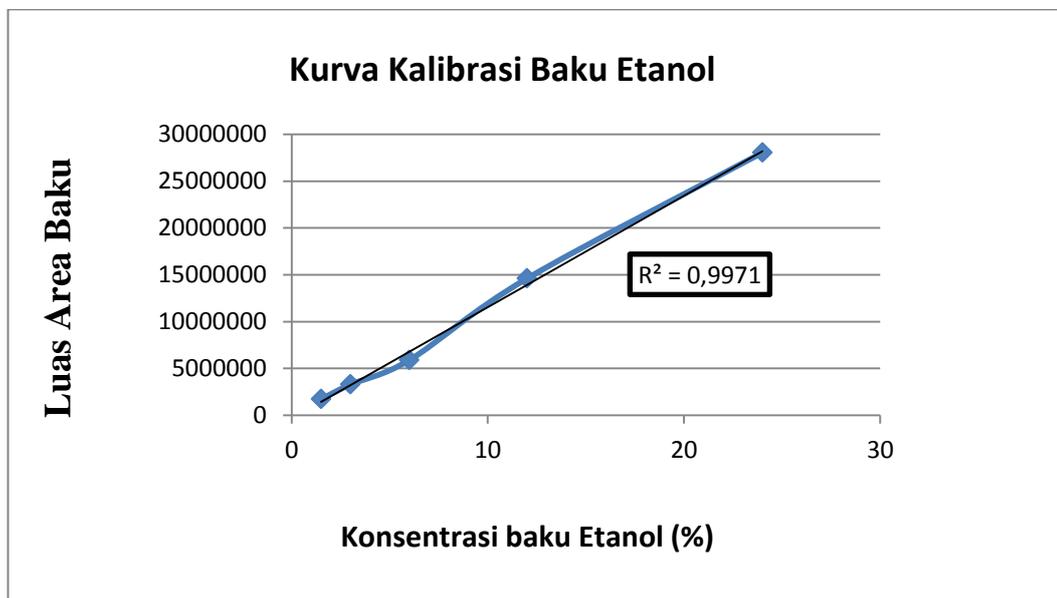
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Analisis Kualitatif Etanol

Identifikasi kualitatif Etanol dalam sampel dapat dianalisis berdasarkan hasil perolehan waktu retensi puncak pada hasil penyuntikan sampel sama atau berdekatan dengan waktu retensi puncak baku etanol yaitu 5,357 menit dengan kondisi analisis yang sama antara sampel dan baku standar etanol pada instrumen Kromatografi gas. Waktu retensi sampel yang masih berada dalam rentang waktu yang dapat diterima yaitu $\pm 5\%$ dari waktu retensi puncak baku etanol. Hal tersebut menunjukkan bahwa etanol dalam sampel masih terdapat dalam satu puncak baku etanol. Mempertegas hasil identifikasi yang diperoleh, ditambahkan larutan baku etanol pada larutan sampel, lalu dianalisis kembali pada kondisi kromatografi gas yang sama. Dari hasil analisis menunjukkan bahwa terjadi peningkatan luas area dan tinggi puncak etanol daripada hasil analisis sebelumnya. Sehingga dapat disimpulkan bahwa puncak yang teranalisis pada sampel merupakan puncak senyawa etanol. Kromatogram hasil analisis tersebut dapat diamati pada lampiran 19.

B. Pembuatan Kurva Baku Etanol

Larutan baku etanol dibuat dengan cara melarutkan sejumlah etanol 96% dengan pelarut n-heksan. Pembuatan baku etanol dengan konsentrasi 1,5%, 3%, 6%, 12% dan 24% perhitungan pembuatan baku etanol dapat dilihat pada lampiran 1.



Gambar 5. Kurva kalibrasi baku etanol

Berdasarkan kurva di atas dapat dilihat bahwa nilai korelasi (r) adalah 0,9971, Nilai persamaan tersebut kemudian akan digunakan dalam perhitungan kadar dalam sampel. Data yang didapat merupakan data dari hasil penelitian dengan 3 kali replikasi pada masing-masing perlakuan waktu fermentasinya yang dilakukan pada sampel.

C. Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan berupa tape singkong dari Purworejo yang dijual di wilayah Kabupaten Purworejo. Tape singkong dibuat 3 kali replikasi pada waktu fermentasi 3 hari, 5 hari, dan 7 hari dengan perlakuan yang sama. Hal ini dilakukan agar mendapatkan sampel yang sempurna, sehingga dalam

pengambilan kadar sampel mendapatkan hasil kadar yang berbeda dengan perlakuan yang sama.

D. Hasil Analisis Kuantitatif Etanol

Analisis kuantitatif ditentukan dari kurva kalibrasi baku etanol yang didasarkan pada luas puncak area pada rentang konsentrasi yang berbeda. diperoleh hubungan linieritas dengan persamaan garis regresi $y = 1E+06x - 352344$.

Tabel 1. Perhitungan kadar etanol (ppm) dan kadar etanol (%)

Sampel	TR	L.Area	Kadar (%)
3 hari	5,327	4025368	3,680938716
	5,344	4380337	3,979409492
	5,436	5105019	4,588748332
5 hari	5,489	11030654	8,500937071
	5,444	17383302	14,91277284
	5,457	17199913	14,75857273
7 hari	5,737	18233063	15,62728263
	5,845	17234792	14,78790026
	5,844	20902930	17,87220338

Hasil analisa penetapan kadar setelah diperoleh kesimpulan berdasarkan data diatas yaitu didapatkan kadar rata-rata etanol pada sampel dengan rincian pada lampiran20.

Tabel 2. Kadar rata-rata etanol dalam % dalam fermentasi 3 hari

Sampel	Kadar (%)
3 hari	A 3,680938716
	B 3,979409492
	C 4,588748332
Kadar rata-rata	4,08303218

Tabel 3. Kadar rata-rata etanol dalam % dalam fermentasi 5 hari

Sampel		Kadar (%)
5 hari	A	14,75857273
	B	14,91277284
	C	8,500937071
Kadar rata-rata		13,08086

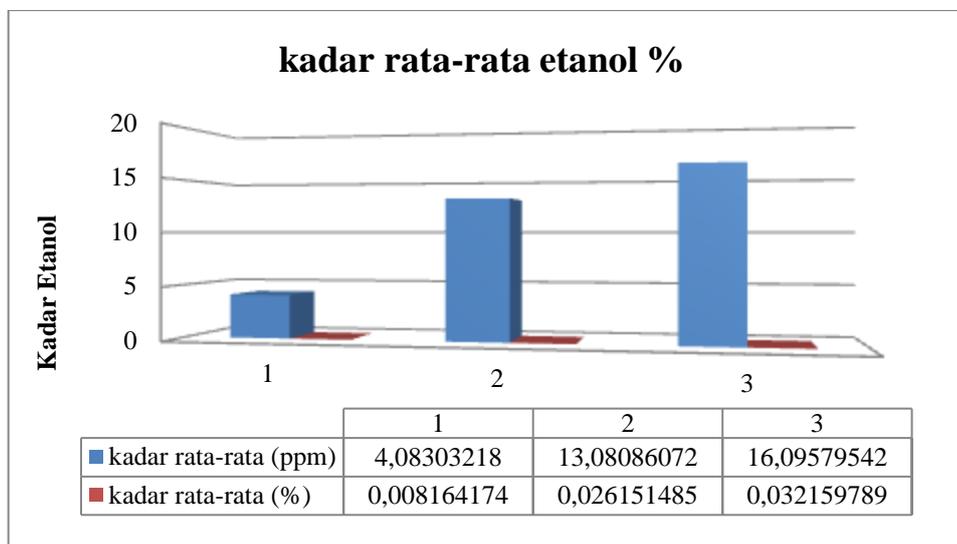
Tabel 4. Kadar rata-rata etanol dalam % dalam fermentasi 7 hari

Sampel		Kadar (%)
7 hari	A	15,62728263
	B	14,78790026
	C	17,87220338
Kadar rata-rata		16,09579542

Berdasarkan tabel diatas diketahui bahwa setiap produksi tape singkong berdasarkan pengaruh waktu fermentasinya didapatkan kadar rata-rata yang semakin meningkat. Hal ini menunjukkan bahwa semakin lama waktu fermentasinya maka semakin tinggi juga kadar etanolnya. Kadar etanol waktu fermentasi 3 hari adalah 4,08303218 %b/v. Kadar etanol waktu fermentasi 5 hari adalah 13,08086 %b/v. Sedangkan kadar etanol waktu fermentasi 7 hari adalah 16,09579542 %b/v

Meskipun hasil pengujian secara statistika memberikan hasil yang menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan pengaruh kadar etanol secara signifikan namun dapat dilihat bahwa terjadi peningkatan kadar etanol pada waktu fermentasi ketiga, kelima, dan ketujuh. Hal tersebut dapat terlihat pada grafik gambar berikut

Grafik pengaruh antara kadar etanol dengan waktu fermentasi



Gambar 6. Grafik batang pengaruh antara kadar etanol dengan waktu fermentasi berbeda pada tape singkong

Gambar 6 Grafik menunjukkan lama fermentasi 7 hari berpengaruh pada kadar etanol tape singkong di antara lama fermentasi lainnya. Dari hasil penelitian ini diketahui kadar etanol tertinggi diperoleh pada hari ketujuh. Menurut Prescott dan Daunn dalam Lailatul (2004) menunjukkan bahwa adanya pengaruh lama fermentasi terhadap kadar etanol dalam tape. Dimana dalam selang waktu 1-7 hari kadar etanol dalam tape terus meningkat, sedangkan setelah 7 hari kadar etanol dalam tape menurun.

Hal ini dikarenakan pada hari ke 7 ragi *Saccharomyces cerevisiae* memasuki fase stasioner, dimana fase ini jumlah mikroba yang hidup sebanding dengan jumlah mikroba yang mati. Dengan demikian semakin berkurang jumlah nutrisi *Saccharomyces cerevisiae* dan substrat, sehingga *Saccharomyces cerevisiae* akan semakin menurun dan tidak mampu memproduksi alkohol. Adapun kurva pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* dapat dilihat pada Gambar 6 (Anonymous, 2008).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan didapatkan kesimpulan bahwa:

1. Sampel tape yang mengandung etanol yang ditetapkan dengan kromatografi gas.
2. Lama waktu fermentasi fermentasi maka kadar etanol semakin besar tetapi tidak berbeda secara signifikan setelah diuji statistik

B. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang faktor-faktor lain yang mempengaruhi kadar etanol dalam proses pengolahan makanan.
2. Perlu dilakukan penelitian dengan menggunakan metode derivatisasi dengan instrumen kromatografi gas yang lama waktu fermentasi mempengaruhi kadar etanol

DAFTAR PUSTAKA

- Afrianti, H. L., 2004, *Pengantar Teknologi Fermentasi*, Bogor: Departemen Pendidikan Dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat.
- Arsyat, N, M., 2001, *Kamus Kimia (Arti Dan Penjelasan Istilah)*, Jakarta: PT.Gramedia Pustaka Utama, hal 11, 93 dan 94.
- Bulan, R., 2004, *Analytical Chemistry, Sixth Edition*, Jhon Wiley & Sons, Inc., United States Of America
- F. G. Wirnano, *Pengantar Teknologi Pangan*, (jakarta: Gramedia, 1984), hal 68.
- Hanbali, M., 2001, *Pengaruh Lama Fermentasi dan Penambahan Karaginan Terhadap Aspek Kualitas Fisika-Kimia dan Organoleptik Tape Ubi Jalar*
- Hendayana, Sumar, 2006, *Kimia Pemisaan (Metode Kromatografi dan Elektroforesis Modern)*, Bandung: PT. Remaja Rosadakarya, hal 32 dan 54.
- Irianto, K, 2006, *Mikrobiologi: Menguak Dunia Mikroorganisme Jilid 2*, Bandung: CV. Yrama Widya, hal 214-215.
- Khopkar, S, M., 2003, *Konsep Dasar Kimia Analitik*, Jakarta: UI-Press, hal 160.
- Mardoni, dkk., 2007, *Perbandingan Metode Kromatografi Gas Dan Berat Jenis Pada Penetapan Kadar Etanol Dalam Minuman Anggur*, http://www.usd.ac.id /06/publ_dosen/far/mardoni.pdf- diakses 30 Oktober 2007.
- Prihandana, R., Noerwijari, Adinurani, Setyaningsih, Setiadi dan Hendroko 2007. *Fermentasi Ubi Kayu (Manihot esculenta Crantz) dan Ubi Jalar (Ipomea batatas L. Sin)*. UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta. Skripsi
- Rustringsih, T. 2007. *Pengaruh Penambahan Ammonium Sulfat Terhadap Produksi Etanol pada Fermentasi Beras Ketan Putih (Oryza sativa L. Var glutinosa) dengan Inokulum Saccharomyces cerevisiae*. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Skripsi
- Slamet Sudarmadji dkk, *Mikrobiologi Pangan*, yogyakarta: PAU Pangan Giji UGM, 1989), hal 331.
- Soebagyo, A., 2004, *Dasar-Dasar Mikrobiologi Industri*, Jakarta: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Pendidikan Menengah Kejuruan.

Tarigan, J., 1988, *Pengantar Mikrobiologi Umum*, Jakarta: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Proyek Pengembangan Lembaga Pendidikan Tenaga Pendidikan.

Wisnu Cahyadi, Analisis & Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan, (Jakarta: Bumi Aksara, 2006), hal 50.

\mathcal{L} \mathcal{A} \mathcal{M} \mathcal{P} \mathcal{I} \mathcal{R} \mathcal{A} \mathcal{N}

Lampiran 1. Perhitungan pembuatan deret kurva kalibrasi

Rumus perhitungan deret kurva baku kalibrasi

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

Dimana V_1 = volume pemipetan baku asal (mL)

V_2 = volume pembuatan baku (ppm)

C_1 = konsentrasi baku asal (mL)

C_2 = konsentrasi baku yang akan dibuat (ppm)

Konsentrasi 48%

Dari larutan baku 96%

$$V_1 \times C_1 (96\%) = V_2 \times C_2 (48\%)$$

$$V_1 \times 96 = 10 \times 48$$

$$V_1 = 5 \text{ mL}$$

Dipipet 5 mL larutan baku etanol 96%, dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL

dan ditambahkan n-heksan sampai tanda batas.

1. Konsentrasi 24%

Dari larutan baku 48%

$$V_1 \times C_1(48\%) = V_2 \times C_2 (24\%)$$

$$V_1 \times 48 = 10 \times 24$$

$$V_1 = 5 \text{ mL}$$

Memipet 5 mL larutan baku etanol 48%, dimasukkan ke dalam labu takar

10 mL dan ditambahkan n-heksan sampai tanda batas.

2. Konsentrasi 12%

Dari larutanbaku 24%

$$V_1 \times C_1 (24\%) = V_2 \times C_2 (12\%)$$

$$V_1 \times 24 = 10 \times 12$$

$$V_1 = 5 \text{ mL}$$

Memipet 5 mL larutan baku etanol 24%, dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL dan ditambahkan n-heksan sampai tanda batas.

3. Konsentrasi 6%

Dari larutan baku 12%

$$V_1 \times C_1 (12\%) = V_2 \times C_2 (6\%)$$

$$V_1 \times 12 = 10 \times 6$$

$$V_1 = 5 \text{ mL}$$

Memipet 5 mL larutan baku etanol 12%, dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL dan ditambahkan n-heksan sampai tanda batas.

4. Konsentrasi 3%

Dari larutanbaku 6%

$$V_1 \times C_1 (6\%) = C_2 \times V_2 (3\%)$$

$$V_1 \times 6 = 3 \times 10$$

$$V_1 = 5 \text{ mL}$$

Memipet 5 mL larutan baku etanol 6%, dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL dan ditambahkan n-heksan sampai tanda batas.

5. Konsentrasi 1,5%

Dari larutanbaku 3%

$$V_1 \times C_1 (3\%) = C_2 \times V_2 (1,5\%)$$

$$V_1 \times 3 = 1,5 \times 10$$

$V_1 = 5 \text{ mL}$

Memipet 5 mL larutan baku etanol 3%, dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL dan ditambahkan n-heksan sampai tanda batas.

Lampiran 2. Data kurva baku etanol dan pembuktian linieritasnya

X %	Y
1,5	1718761
3	3283967
6	5887482
12	14604858
24	28045304
A	-352344,125000
B	1189292,314516
R	0,998545
Y	$1189292,314516x - (-352344)$

Diperoleh persamaan regresi linier $y = 1189292,314516x - (-352344)$ serta nilai $R^2 = 0,9947$

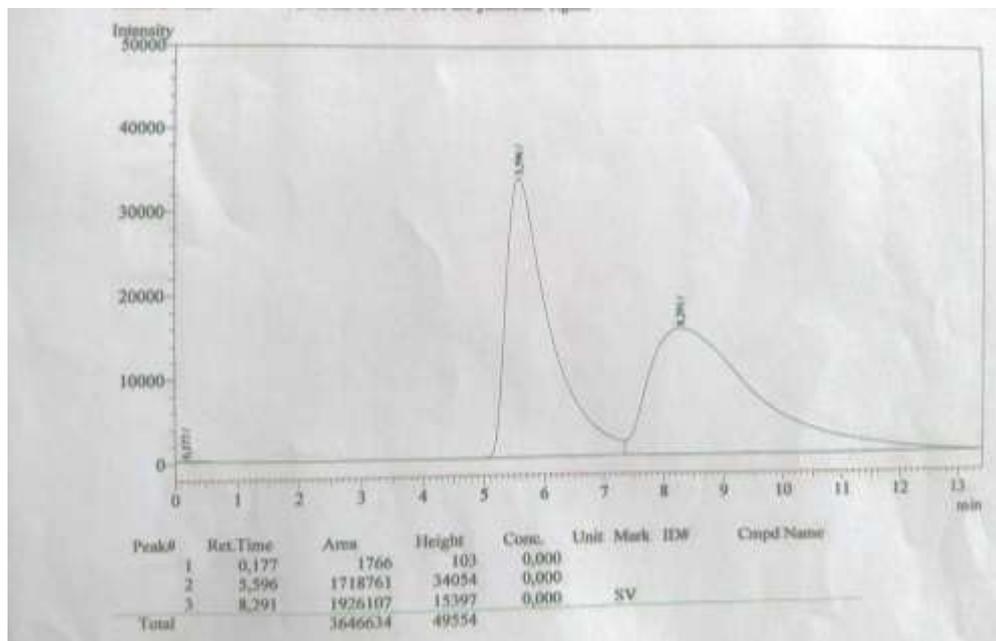
Lampiran 3. Data nilai koefisien relatif baku etanol bahwa kesalahan tidak lebih dari 2 %

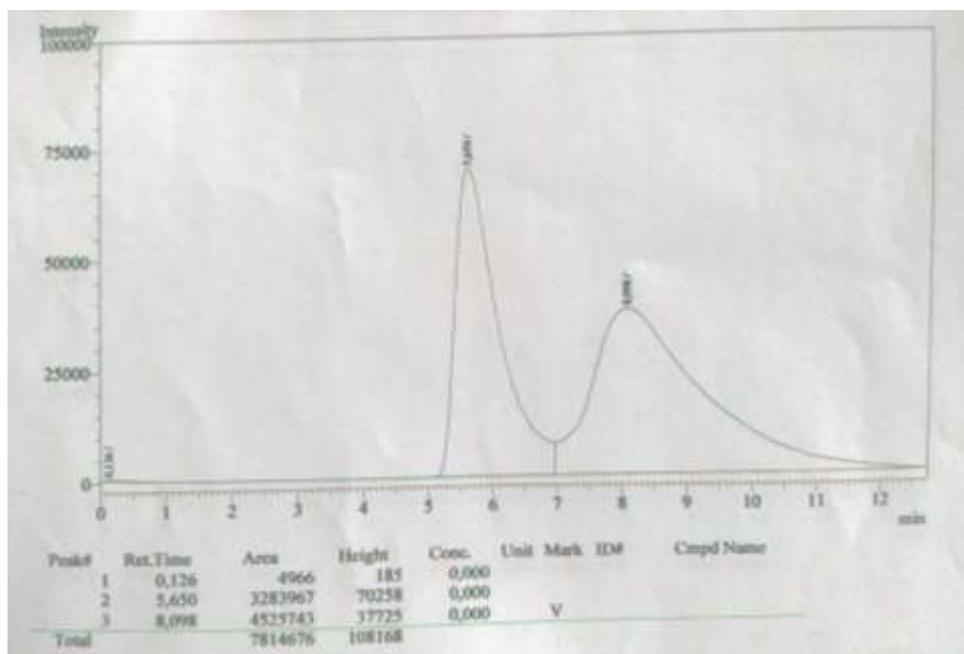
X	Y	y'	y-y'^2
1,5	1718761	1431594,35	82464686724,9106000000
3	3283967	3215532,82	4683237190,9523000000
6	5887482	6783409,76	802686554895,7330000000
12	14604858	13919163,6	470176742727,8820000000
24	28045304	28190671,4	21131687782,2030000000
46,5	53540372		1381142909321,6800000000

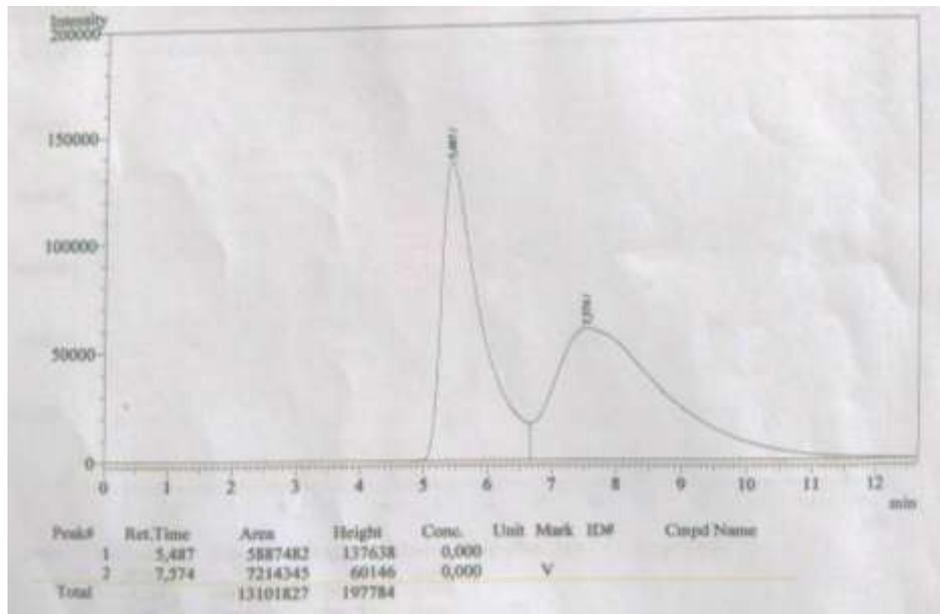
$$S_y = \sqrt{\frac{\sum (y-y')^2}{n-2}} = \sqrt{\frac{1381142909321,6800000000}{5-2}} = 303440,5938$$

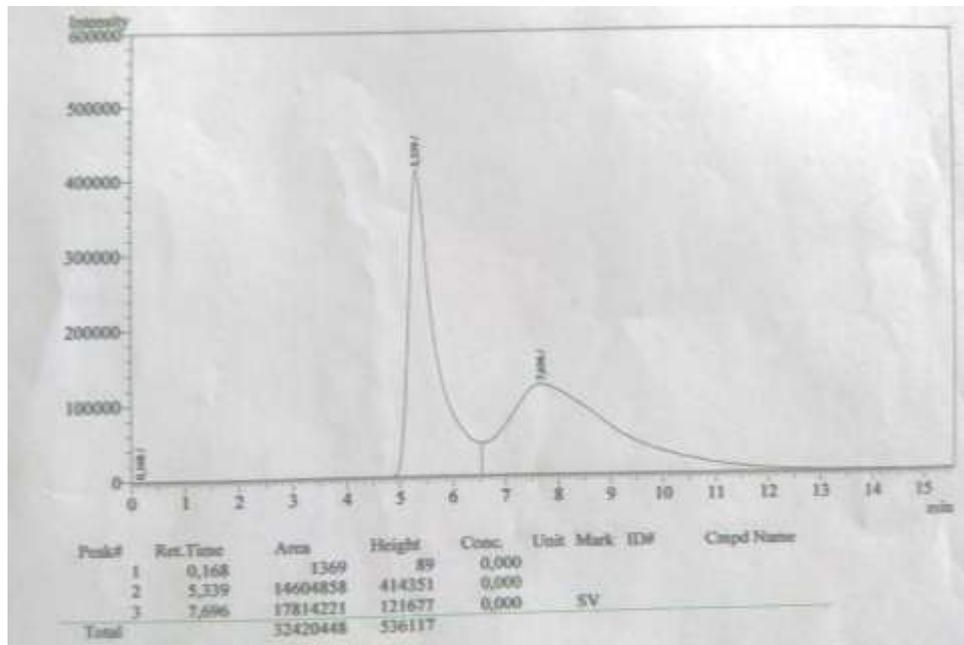
$$S_{x0} = \frac{S_y}{b} = \frac{303440,5938}{1189292,314516} = 0,255143828$$

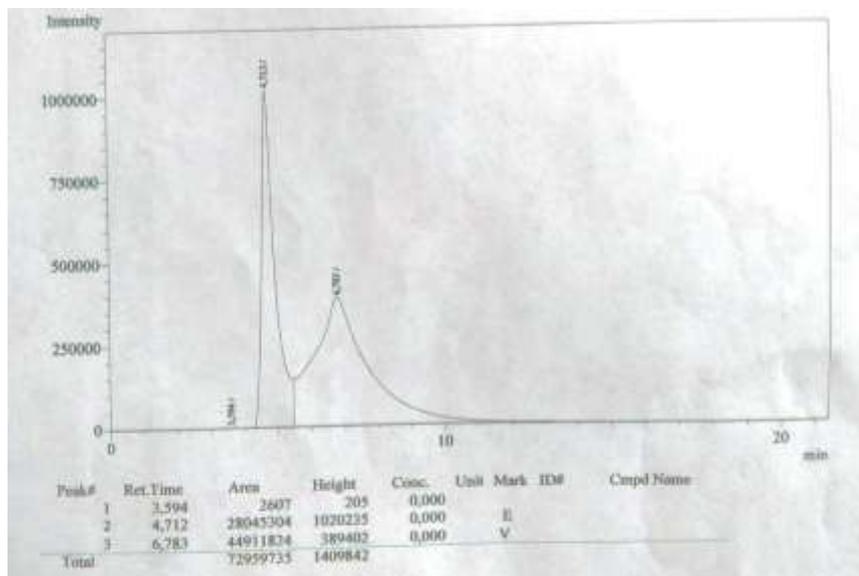
$$V_{x0} = \frac{S_{x0}}{x} \times 100\% = \frac{0,255143828}{46,5} = 0,005486964$$

Lampiran 4. Kromatogram baku etanol konsentrasi 1,5 %

Lampiran 5. Kromatogram baku etanol konsentrasi 3 %

Lampiran 6. Kromatogram baku etanol konsentrasi 6 %

Lampiran 7. Kromatogram baku etanol konsentrasi 12%

Lampiran 8. Kromatogram baku etanol konsentrasi 24%

Lampiran 9. Perhitungan kadar sampel

Persamaan regresi linier $y = 1189292,314516x - (-352344)$

Rumus: Kadar etanol dalam sampel (%)

$$Y = a + bx$$

$$x = \frac{Y - a}{b}$$

1. Perhitungan kadar sampel 3 hari A

$$4025368 = 1189292,314516x - (-352344)$$

$$x = \frac{4025368 - (-352344)}{1189292,3145}$$

$$= 3,680938716 \%$$

2. Perhitungan kadar sampel 3 hari B

$$4380337 = 1189292,314516x - (-352344)$$

$$x = \frac{4380337 - (-352344)}{1189292,3145}$$

$$= 3,979409492 \%$$

3. Perhitungan kadar sampel 3 hari C

$$5105019 = 1189292,314516x - (-352344)$$

$$x = \frac{5105019 - (-352344)}{1189292,3145}$$

$$= 4,588748332 \%$$

4. Perhitungan kadar sampel 5 hari A

$$9757755 = 1189292,314516x - (-352344)$$

$$x = \frac{9757755 - (-352344)}{1189292,3145}$$

$$= 8,500937071 \%$$

5. Perhitungan kadar sampel 5 hari B

$$17383302 = 1189292,314516x - (-352344)$$

$$x = \frac{17383302 - (-352344)}{1189292,3145}$$

$$= 14,91277284 \%$$

6. Perhitungan kadar sampel 5 hari C

$$17199913 = 1189292,314516x - (-352344)$$

$$x = \frac{17199913 - (-352344)}{1189292,3145}$$

$$= 14,75857273 \%$$

7. Perhitungan kadar sampel 7 hari A

$$18233063 = 1E+06x - 352344$$

$$x = \frac{18233063 - (-352344)}{11892929,3145}$$

$$= 15,62728263 \%$$

8. Perhitungan kadar sampel 7 hari B

$$17234792 = 1E+06x - 352344$$

$$x = \frac{17234792 - (-352344)}{11892929,3145}$$

$$= 14,78790026 \%$$

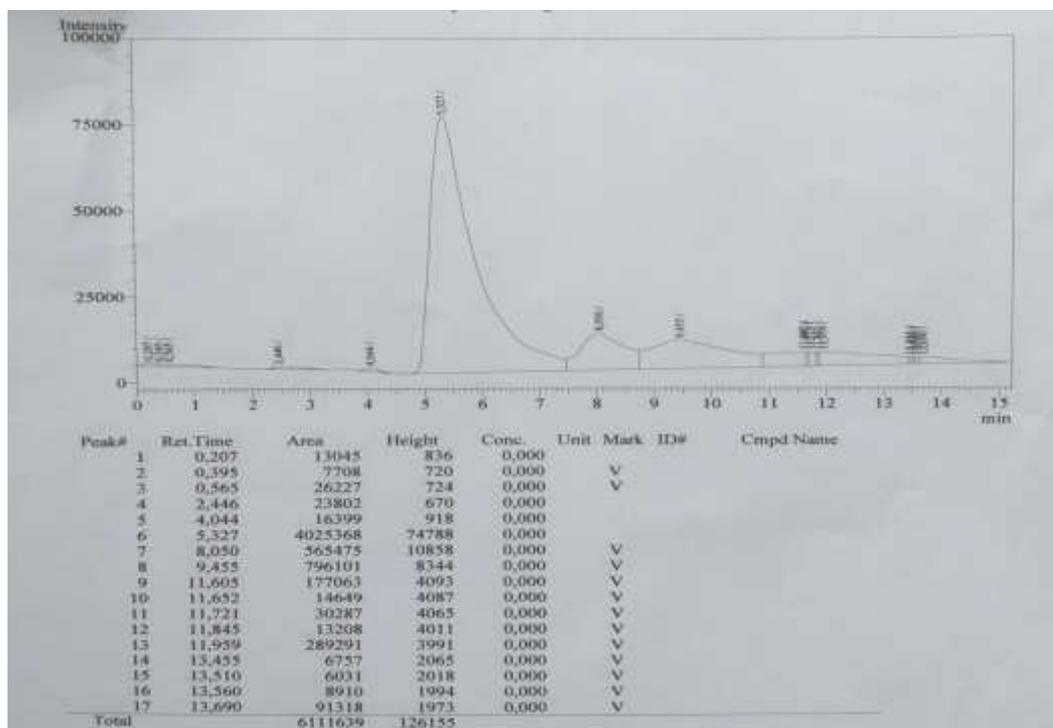
9. Perhitungan kadar sampel 7 hari C

$$20902930 = 1E+06x - 352344$$

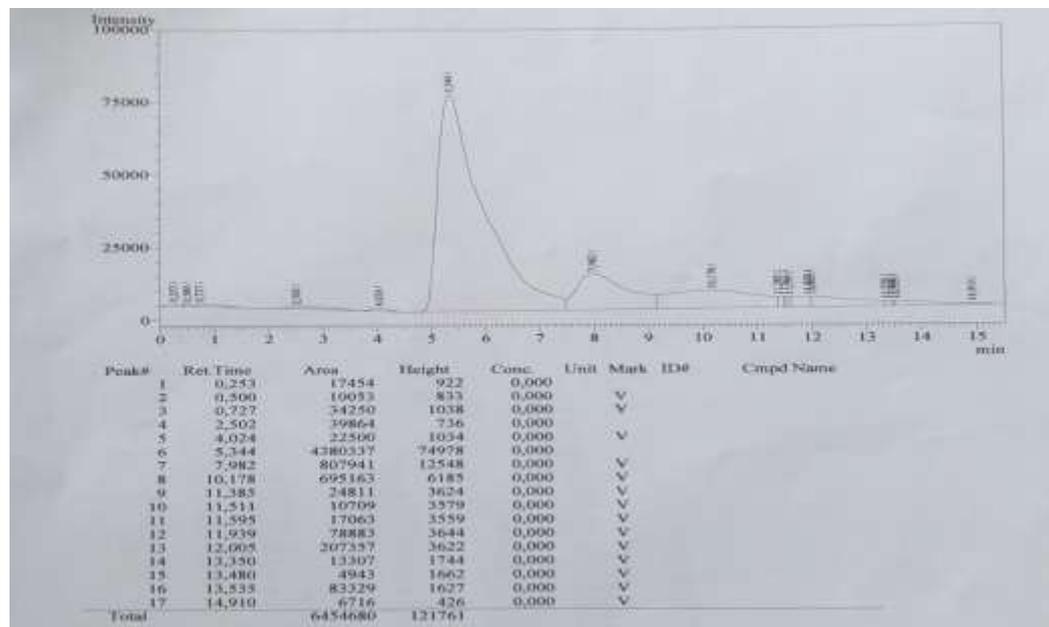
$$x = \frac{20902930 - (-352344)}{11892929,3145}$$

$$= 17,87220338 \%$$

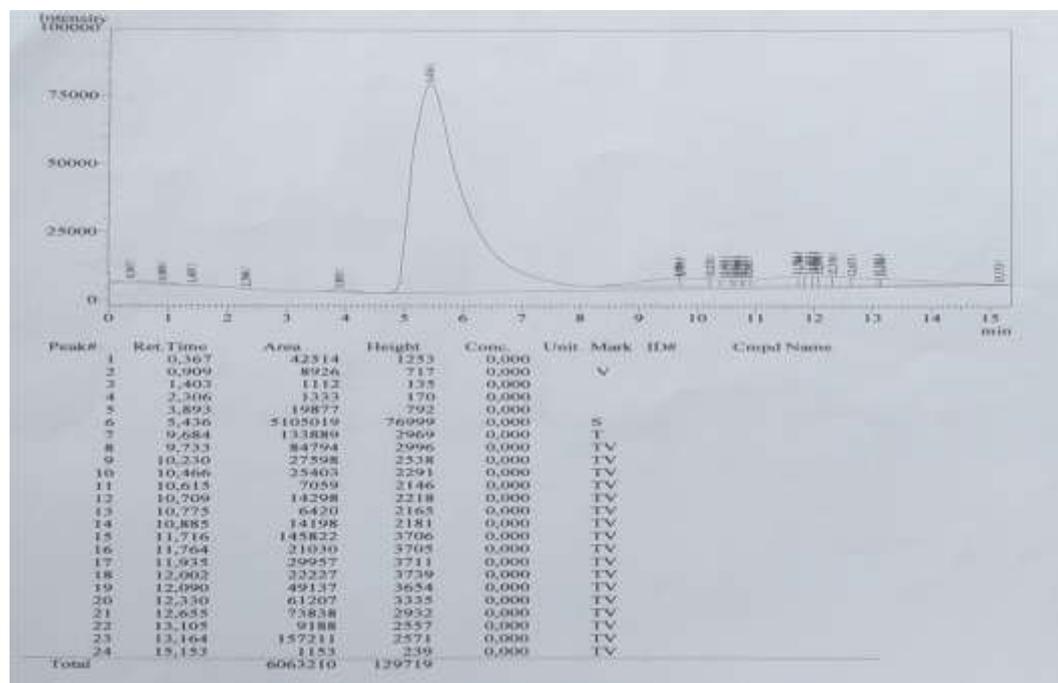
Lampiran 10. Kromatogram sampel fermentasi 3 hari A

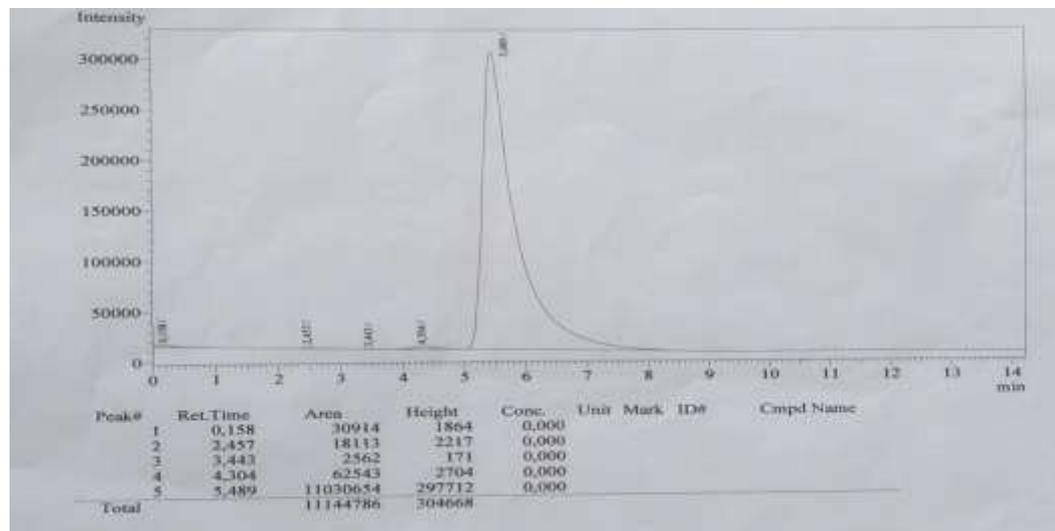


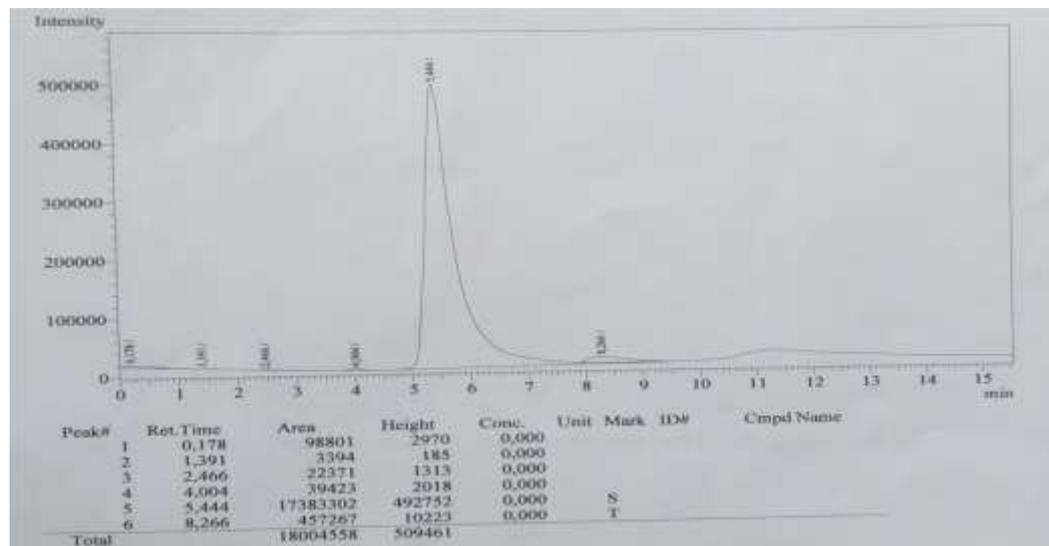
Lampiran 11. Kromatogram sampel 3 hari B

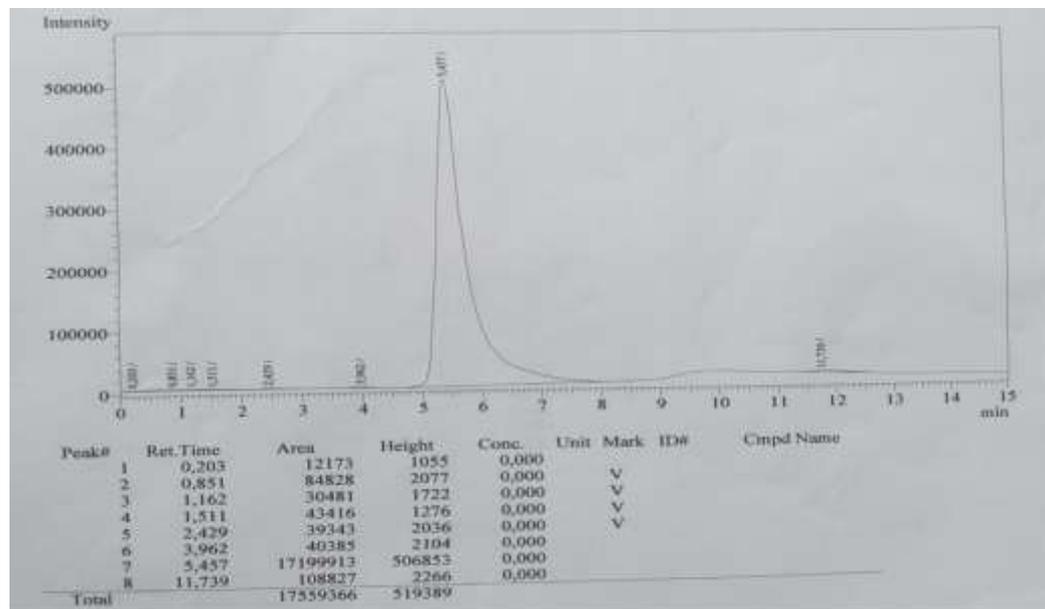


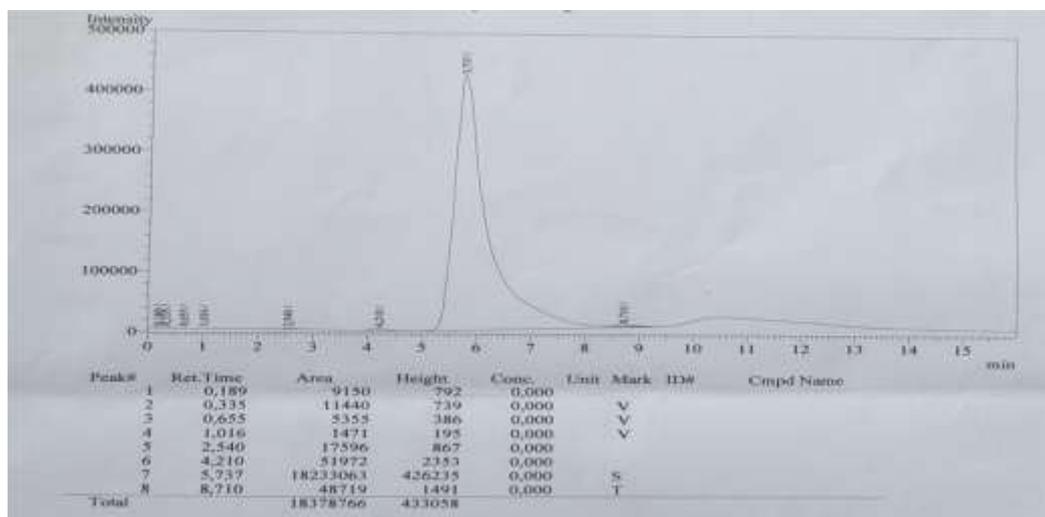
Lampiran 12. Kromatogram sampel fermentasi 3 hari C

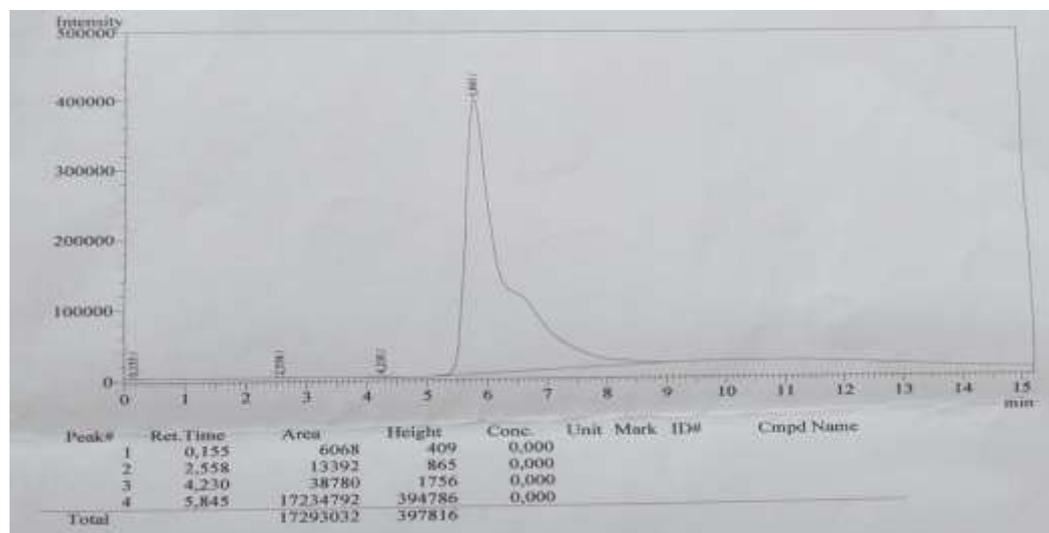


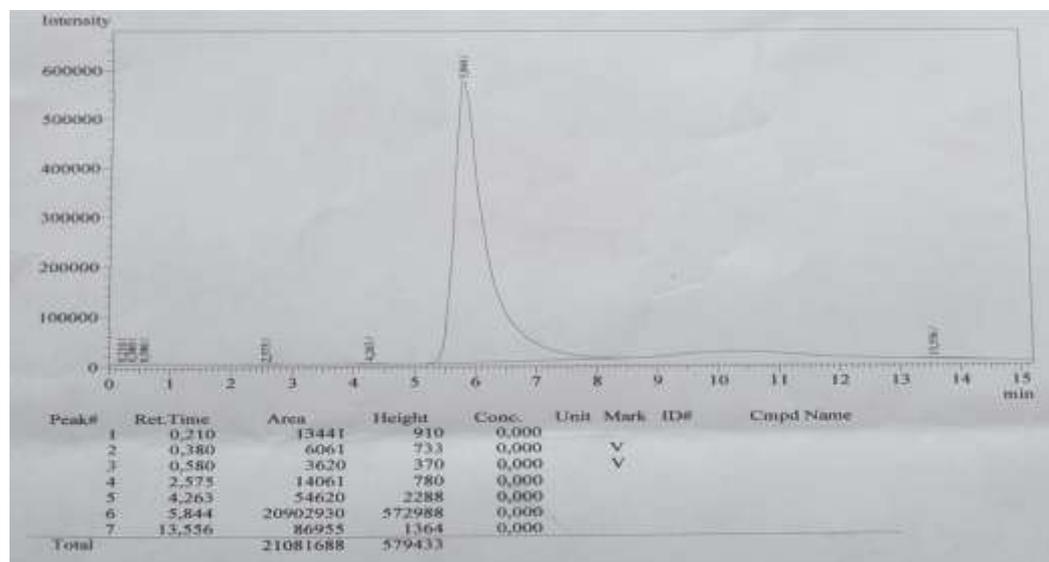
Lampiran 13. Kromatogram sampel fermentasi 5 hari A

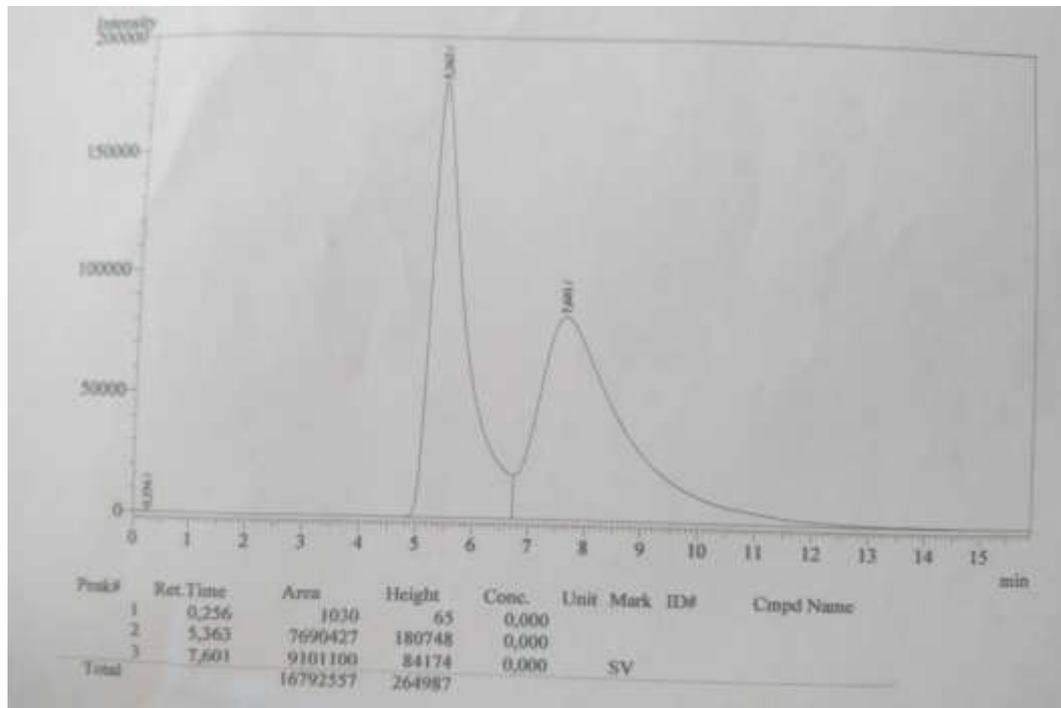
Lampiran 14. Kromatogram sampel fermentasi 5 hari B

Lampiran 15. Kromatogram sampel 5 fermentasi 5 hari C

Lampiran 16. Kromatogram sampel fermentasi 7 hari A

Lampiran 17. Kromatogram sampel fermentasi 7 hari B

Lampiran 18. Kromatogram sampel fermentasi 7 hari C

Lampiran 19. Kromtogram sampel dan larutan baku etanol

Lampiran 20. Perhitungan kadar rata-rata dalam ppm dan %

Sampel 3 hari fermentasi

$$\begin{aligned} \% &= \frac{\text{kadar A} + \text{kadar B} + \text{Kadar C}}{3} = \frac{3,680938716 + 3,979409492 + 4,588748332}{3} \\ &= 4,08303218 \% \end{aligned}$$

Sampel 5 hari fermentasi

$$\begin{aligned} \% &= \frac{\text{kadar A} + \text{kadar B} + \text{Kadar C}}{3} = \frac{9,571236597 + 14,91277284 + 14,75857273}{3} \\ &= 13,08086 \% \end{aligned}$$

Sampel 7 hari fermentasi

$$\begin{aligned} \% &= \frac{\text{kadar A} + \text{kadar B} + \text{Kadar C}}{3} = \frac{15,62728263 + 14,78790026 + 17,87220338}{3} \\ &= 16,09579542 \% \end{aligned}$$

Lampiran 21. Hasil statistik kadar etanol dalam tape singkong

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
.01	1	1.0000					1.00	1.00
.01	3	1.3333	.57735	.33333	-1.009	2.7676	1.00	2.00
.02	3	2.3333	.57735	.33333	.8991	3.7676	2.00	3.00
.03	2	3.0000	.00000	.00000	3.0000	3.0000	3.00	3.00
Total	9	2.0000	.86607	.28668	1.3343	2.6657	1.00	3.00

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5.000 ^a	2	5	.064

^a. Groups with only one case are ignored in computing the test of homogeneity of variance for waktubermatasi.

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4.887	2	1.556	5.833	.043
Within Groups	1.333	5	.267		
Total	6.000	8			

Lampiran 22. Data pengujian Statistik

Tingkat kepercayaan 95 %

$\alpha = 0,05$

H_0 = terdapat perbedaan pengaruh waktu fermentasi terhadap kadar etanol dalam tape singkong.

H_1 = tidak terdapat perbedaan pengaruh waktu fermentasi terhadap kadar etanol dalam tape singkong.

kesimpulan jika

$\text{Sig} < \alpha (0,05)$ maka H_0 ditolak

$\text{Sig} > \alpha (0,05)$ maka H_0 diterima

Dari data diatas, diperoleh signifikansi $0.043 > 0,05$ maka H_0 ditolak. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan pengaruh waktu fermentasi terhadap kadar etanol dalam tape singkong disimpulkan bahwa “tidak terdapat perbedaan signifikan terhadap kadar etanol”.

