

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Deskripsi dan Morfologi Tanaman Garut

Deskripsi tanaman garut (*Maranta arundinacea* Linn.) yaitu tegak, berumpun, dan merupakan tanaman tahunan. Tinggi tanaman mencapai 1 – 1,5 m dengan batang berdaun dan memiliki percabangan menggarpu (Gambar 1). Tumbuh baik pada lahan dengan ketinggian 0-900 dpl (diatas permukaan laut) dan paling baik pada ketinggian 60-90 m. Masa panen tanaman ini berlangsung dari bulan Mei hingga Agustus. Tanaman ini tidak membutuhkan perawatan khusus dan kasus hama penyakit yang menjangkit relatif sedikit (Rukmana, 2000).



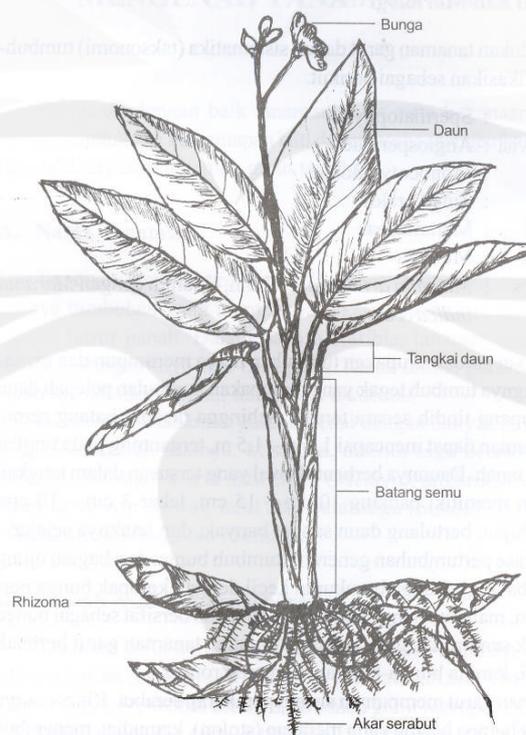
Gambar 1 a. Morfologi Tanaman Garut

Keterangan : 1. Daun
2. Batang
3. Umbi garut

(Sumber : Rukmana, 2000)

Batang tanaman memiliki tinggi 75-90 cm, batang semu, bulat, membentuk rimpang dan berwarna hijau. Daun tunggal, bulat memanjang, ujung runcing, bertulang menyirip, panjang 10-27 cm, lebar 4,5 cm berpelelah, berbulu, dan berwarna hijau. Bunga majemuk bentuk tandan, kelopak bunga hijau muda, mahkota berwarna putih, buah memiliki garis tengah 1cm, bentuk kotak dan agak buak dengan bulu menyelimuti badan buah (Soediby, 1995). Menurut Rukmana (2000) , tingkatan takson tanaman garut adalah sebagai berikut:

| | |
|----------|------------------------------------|
| Kerajaan | : Plantae |
| Divisi | : Spermatophyta |
| Kelas | : Monocotyledoneae |
| Bangsa | : Zingiberales |
| Suku | : Marantaceae |
| Marga | : Maranta |
| Jenis | : <i>Maranta arundinacea</i> Linn. |



Gambar 1 b. Morfologi Tanaman Garut (Sumber : Rukmana, 2000).

Umbi garut (Gambar 1.a.3.) berwarna putih ditutupi dengan kulit yang bersisik berwarna coklat muda, berbentuk silinder (Anwar, 1999). Menurut Djaafar dkk., (2006) ,umbi garut dapat dijadikan sumber karbohidrat alternatif untuk menggantikan tepung terigu karena kandungan patinya yang tergolong besar, terutama yang berumur 10 bulan setelah tanam (Gambar 2). Rimpang segar mengandung air 69–72%, protein 1,0–2,2%, lemak 0,1%, pati 19,4–21,7%, serat 0,6–1,3% dan abu 1,3–1,4% (Sastra, 2003).



Gambar 2. Morfologi Umbi Garut Berumur 10 Bulan setelah Tanam (X)
 – Keterangan : Umbi garut berumur 10 bulan setelah tanam berwarna putih dengan kulit bersisik berwarna coklat muda, dan bentuk silinder.(Sumber : Rukmana, 2000).

Tepung garut (Gambar 3) dapat digunakan sebagai alternatif untuk pengganti atau substitusi tepung terigu sebagai bahan baku pembuatan kue, mie, roti kering, bubur bayi, makanan diet pengganti nasi, dan terutama digunakan dalam industri kimia, kosmetik, pupuk, gula cair, dan obat-obatan (Sukarsa, 2011). Kandungan karbohidrat tepung garut per 100 gram bahan diketahui lebih tinggi (85,2%) daripada tepung beras giling (78,99%), dan tepung terigu (77,3%). Komposisi zat kimia tepung garut menurut Marsono dkk., (2002), dan Direktorat Gizi (2000) ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Komposisi Zat Kimia Tepung Garut dan Tepung Tapioka per 100 gram bahan.

| Zat Kimia | Tepung Garut (% , db) | Tepung Tapioka (% , db) |
|----------------|-----------------------|-------------------------|
| Air | 11,9 | 60 |
| Protein | 0,14 | 0,80 |
| Lemak | 0,84 | 0,30 |
| Karbohidrat | 85,20 | 88,20 |
| Amilosa | 25,94 | 26,02 |

Pati garut, merupakan polimer karbohidrat yang disusun dalam tanaman oleh interaksi antarmolekul protein pembentuk gluten, yaitu dengan ikatan hidrogen dan ikatan disulfida maupun ikatan ionik (Belitz dkk, 1986). Menurut Djaafar dan Rahayu (2006) pati garut dapat dimanfaatkan sebagai bahan substitusi terugi dalam pengolahan pangan. Beberapa penelitian yang dilakukan dengan menggunakan bahan pati garut diantaranya adalah pregelatinasi pati garut sebagai matriks tablet oleh Anwar dkk., (2006). Penelitian Wijayanti (2007), substitusi tepung gandum dengan tepung garut pada pembuatan roti tawar menunjukkan adanya peningkatan kadar serat pangan pada roti tawar sebesar 7,13 – 7,97 %. Pada penelitian Noor (2008), membentuk siklodekstrin (pati termodifikasi) dengan hidrolisis pati garut secara enzimatik.



Gambar 3. Tepung Garut (X) (Sumber : Alden, 2005).

Keterangan : Tekstur tepung garut (X) lembut, kering dan berwarna putih.

B. Sifat dan Karakteristik Bioetanol

Bioetanol adalah etanol yang dibuat dari komponen pati, maupun selulosa. Etanol (etil alkohol) merupakan senyawa organik golongan alkohol primer yang berwujud cair dalam suhu kamar, tidak berwarna, mudah menguap, mudah terbakar, mudah larut dalam air, dan tembus cahaya (Yudiarto, 2008). Etanol ($\text{CH}_2\text{O}_5\text{OH}$) berasal dari proses fermentasi karbohidrat menggunakan mikrobia, karena pembuatannya melibatkan proses biologis, maka produk etanol yang dihasilkan diberi nama bioetanol (Yudiarto, 2008). Bioetanol diperoleh dari hasil fermentasi bahan yang mengandung gula. Tahap inti produksi bioetanol adalah fermentasi gula, baik yang berupa glukosa, sukrosa, maupun fruktosa oleh khamir (Prihardana, 2007).

Bioetanol digunakan dalam beragam industri sebagai bahan baku industri minuman, farmasi, kosmetika, dan bahan bakar. Secara umum, produksi bioetanol ini mencakup tiga rangkaian proses, yaitu : hidrolisis, fermentasi, dan pemurnian atau destilasi (Rianto, 2011). Produksi bioetanol saat ini telah banyak dihasilkan dari berbagai macam komoditas pertanian yang mengandung karbohidrat seperti gula sederhana, pati, dan selulosa. Beberapa pengembangan produksi bioetanol dari komoditas pertanian di antaranya adalah jagung, singkong, tetes tebu, gaplek, dan komoditas yang paling banyak dimanfaatkan sebagai penghasil bioetanol terbaik adalah dari bahan singkong (Kadam dkk., 2000)

Tingkat kemurnian (*grade*) bioetanol berbeda-beda berdasarkan kegunaannya. Bioetanol yang digunakan sebagai bahan bakar umumnya memiliki tingkat bebas air (*anhydrous grade*) sebesar 99,5%. Bioetanol untuk keperluan

industri memiliki *anhydrous grade* sebesar 95% – 99,5%. Bioetanol yang dapat dikonsumsi dengan *anhydrous grade* hingga 96% (Anonim, 2011c).

Mikrobia yang digunakan untuk fermentasi bioetanol, adalah : *Clostridium acetobutylicum*, *Klebsiella pneumoniae*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Sarcina ventriculi*, *Zymomonas mobilis* adalah jenis bakteri yang umum digunakan, sedangkan jenis fungi di antaranya adalah: *Aspergillus oryzae*, *Endomyces lactis*, *Kloeckera* sp., *Kluyveromyces fragilis*, *Mucor* sp., *Neurospora crassa*, *Rhizopus* sp., *Saccharomyces beticus*, *S. cerevisiae*, *S. ellipsoideus*, *S. oviformis*, *S. saki*, dan *Torula* sp (Nurhidayat, 2009).

C. Faktor yang mempengaruhi produksi bioetanol

Pada proses produksi bioetanol dari bahan berpati, dilakukan melalui 2 tahap. Tahap pertama merupakan proses hidrolisis, yaitu konversi pati menjadi glukosa (Musnif, 2012). Pada reaksi hidrolisis pati dengan air, air akan bereaksi dengan pati pada dan memotong ikatan 1-4 α glukosida menghasilkan dekstrin atau glukosa, tetapi reaksi hidrolisis dengan air ini berlangsung lambat oleh karena itu dibutuhkan adanya katalisator. Katalisator dapat membantu dalam melakukan hidrolisis. Beberapa katalisator yang umum digunakan dalam hidrolisis adalah enzim dan larutan asam. Katalisator yang digunakan dalam penelitian ini adalah enzim glukoamilase. Prinsip dasar hidrolisis pati pada umumnya adalah pemutusan rantai polimer pati menjadi unit-unit dekstroza ($C_6H_{12}O_6$) (Musnif, 2012).

Menurut Winarni (1995), terdapat beberapa faktor yang berpengaruh selama proses hidrolisis menggunakan enzim glukamilase.

1. Suhu : semakin tinggi suhu maka laju reaksi hidrolisis akan meningkat. Enzim glukamilase bekerja optimum pada suhu 55-60 ° C.
2. Derajat keasaman : mempengaruhi sifat ionik gugus karboksil, yang berakibat pada perubahan konformasi dan fungsi katalitik enzim bahkan menyebabkan denaturasi enzim. Enzim glukamilase optimum pada pH 4,5.
3. Konsentrasi medium sakarifikasi : perbandingan antara air dan larutan yang tepat akan membuat proses hidrolisis berjalan maksimum.
4. Konsentrasi enzim : semakin banyak kadar enzim yang digunakan akan mempercepat reaksi hidrolisis dan meningkatkan penghasilan gula reduksi.
5. Waktu hidrolisis : dipengaruhi konsentrasi substrat, enzim yang digunakan, dan suhu hidrolisis.

Tahap kedua adalah tahap fermentasi untuk mengkonversi gula menjadi etanol dan CO₂. Fermentasi bioetanol adalah perubahan 1 mol gula menjadi 2 mol etanol dan 2 mol CO₂. Khamir akan memetabolisme glukosa dan fruktosa membentuk asam piruvat melalui jalur *Embden-Meyerhof-Parnas* (EMP), asam piruvat kemudian dideriboksilasi menjadi asetaldehida dan mengalami dehidrogenasi menjadi bioetanol (Musnif,2012). Menurut Fardiaz (1992), faktor yang berpengaruh pada proses fermentasi dengan khamir di antaranya adalah :

1. Jenis substrat : Mikroorganisme membutuhkan suplai makanan sebagai sumber energi dan penyedia unsur kimia dasar (karbon, oksigen, sulfur, fosfor, magnesium, zat besi) untuk pertumbuhan sel.

2. Jenis mikrobial yang digunakan : mudah dibudidayakan dan tumbuh cepat.
3. Suhu : Kisaran suhu optimum untuk pertumbuhan khamir adalah 25 - 30° C dan suhu maksimum 35 - 47° C.
4. Waktu : Fermentasi umumnya berlangsung selama 30- 70 jam tergantung pada suhu fermentasi, pH, dan konsentrasi gula. Keberhasilan fermentasi ditandai dengan terbentuknya bioetanol setelah 12 jam.
5. pH : derajat keasaman medium berpengaruh pada keberlangsungan pertumbuhan khamir bekerja optimal pada pH 4 - 4,5.
6. Kadar suspensi larutan : Perbandingan antara air dan tepung yang tepat akan membuat reaksi hidrolisis berjalan lebih cepat.

D. Produksi Bioetanol dari Tepung Garut

Tepung Garut diketahui mengandung karbohidrat sebesar 85,20 %, dan komponen zat kimia lain seperti protein dan lemak. Pati merupakan cadangan karbohidrat dalam tumbuhan berupa polimer yang monomernya α -D-glukosa glukosa. Pati terdiri dari 2 komponen utama yaitu amilosa dan amilopektin. Amilosa berupa polimer linier, tunggal dan tidak bercabang terbentuk dari 500-20.000 monomer α -D-glukosa yang terhubung ikatan α -1,4 glikosidik. Amilopektin berupa polimer rantai bercabang dengan 100.000 monomer glukosa yang terhubung dengan ikatan α -1,4 glikosidik pada rantai utama dan ikatan α -1,6 glikosidik pada percabangannya. Perbandingan jumlah amilosa dan amilopektin berbeda-beda pada setiap jenis pati, pada umumnya pati mengandung amilosa

sebesar 15 hingga 35% (Almatsier, 2006). Pada tepung garut, diketahui memiliki kandungan amilosa sebesar 25,94% (Marsono dkk., 2000).

Sifat-sifat pati pada tanaman umumnya berwarna putih, berbentuk serbuk bukan kristal dan tidak larut dalam air dingin, tidak memiliki rasa manis seperti monosakarida dan disakarida, dan berbentuk granula-granula kecil yang tersusun rapat. Perlakuan pemanasan dengan suhu 60-80°C pada suspensi pati akan menyebabkan air menembus lapisan granula, membentuk campuran pati kental. Pada suhu 85°C granula pati pecah dan terdispersi secara merata ke seluruh air, pada saat pendinginan, campuran air dan pati terikat membentuk gel (Gamman dan Sherrington, 1994).

Hasil penelitian Soebagio dkk., (2011) karakteristik pati garut adalah terbentuk larutan kanji apabila dipanaskan, bewarna biru bila ditambahkan larutan iod. Secara organoleptik berwarna putih, tidak berbau, dan tidak berasa, derajat putih 87%, kadar air 15,24%, kadar abu 0,80%, dan kadar amilosa 32,56% (Soebagio dkk., 2011). Pada umumnya, pati mengandung 15-30% amilosa, 70-85% amilopektin, dan 5-10% material antara seperti, protein, phospat dan lemak (Cameron dan Donald , 1993). Menurut Marsono dkk. (2002), kadar amilosa pada pati tepung garut mencapai 25,94% per 100 gram tepung.

Menurut Bustaman (2008), produksi bioetanol secara umum terdiri atas beberapa tahap, diantaranya adalah sebagai berikut:

1. Persiapan bahan baku yang dilakukan dengan ekstrasi gula dari bahan dengan cara penggilingan atau pemotongan.

2. Tahap hidrolisis pati, yang meliputi :

a. Likuifikasi

Tahap likuifikasi terdiri atas beberapa tahapan, yaitu pencampuran pati dengan air secara merata hingga terbentuk bubur, dan pemanasan bubur hingga kisaran suhu 80 - 90° C. Akhir proses likuifikasi ditandai dengan hasil akhir bentuk bubur berubah menjadi sup atau cair.

b. Tahap Sakarifikasi

Tahap pemecahan gula kompleks menjadi gula sederhana melibatkan proses sebagai berikut: pendinginan bubur, pengaturan pH optimum enzim, penambahan enzim secara tepat, dan mempertahankan pH dan suhu pada rentang 50 - 60° C.

3. Tahap Fermentasi pati yang telah dihidrolisis menjadi gula sederhana kemudian diubah menjadi bioetanol dengan bantuan khamir.

Proses fermentasi umumnya dilakukan pada suhu 27 -32° C . Syarat-syarat pemilihan mikroba untuk fermentasi adalah cepat berkembang biak, toleran terhadap alkohol dan suhu tinggi (Puspaningsih, 2009). Proses fermentasi alkohol dari bahan dasar pati menurut Prescott dan Dunn (1959) diawali dengan perubahan pati menjadi senyawa gula sederhana (glukosa), dan kemudian dimanfaatkan oleh *Sacharomyces cereviseae* menjadi alkohol.

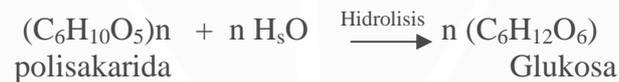
Menurut Puspaningsih (2009) pada prinsipnya reaksi dalam proses pembuatan bioetanol dengan fermentasi tahap sakarifikasi adalah pati yang

terkandung dalam tepung garut dapat diubah menjadi alkohol, melalui proses biologi dan kimia (biokimia).

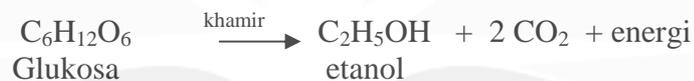


(Puspaningsih,2006).

Pada reaksi hidrolisis pati dengan air, terjadi pemotongan ikatan 1-4 α glukosida menghasilkan dekstrin, sirup atau glukosa tergantung pada derajat pemecahan rantai polisakarida dalam pati. Menurut Puspaningsih (2006), pati diubah menjadi gula melalui proses hidrolisis dengan reaksi sebagai berikut:



Fermentasi oleh khamir, seperti *Sacharomyces cereviseae* menghasilkan etil alkohol (etanol) dan CO₂ melalui reaksi sebagai berikut (Puspaningsih,2006):



Pati garut juga diketahui telah digunakan sebagai bahan penghasil bioetanol. Penelitian Susilowati dan Vosiani (2007) pembuatan bioetanol dari pati garut melalui proses hidrolisa dengan katalisator asam klorida (HCl) proses fermentasi menggunakan *Sacharomyces cerevisiae* menghasilkan kadar etanol sebesar 44,326 %. Penelitian Endah (2007) produksi bioetanol dari pati garut dengan hidrolisa asam menghasilkan kadar etanol sebesar 92,3469 %.

Menurut Madigan dkk., (2000), fermentasi gula menjadi etanol umumnya dilakukan oleh khamir. Khamir yang penting dalam proses fermentasi etanol adalah *Saccharomyces cerevisiae* dengan menggunakan gula-gula sederhana seperti glukosa, maltosa, sukrosa dan rafinosa.



Gambar 4. Jalur *Embden-Meyerhof-Parnas* (Madigan dkk., 2000).

Produksi etanol dari glukosa oleh *S.cerevisiae* terjadi melalui jalur *Embden-Meyerhof-Parnas* yang terbagi dalam 3 tahap (Gambar 4). Jalur EMP berlangsung melalui 3 tahap. Tahap pertama merupakan tahap perubahan glukosa (C6) menjadi 2 molekul gliseraldehid-3-fosfat (C3) menggunakan ATP. Reaksi oksidasi-reduksi dan pelepasan energi tidak terjadi pada tahap pertamas. Kedua reaksi tersebut baru terjadi dalam tahap kedua dan menghasilkan energi berupa ATP. Piruvat sebanyak 2 mol juga dihasilkan dalam tahap ini. Tahap ketiga merupakan tahap terjadinya reaksi oksidasi-reduksi yang ke-2 dan pembentukkan produk fermentasi, asam piruvat dikatalisis oleh enzim alkohol dehidrogenase oleh enzim piruvat

dekarboksilase menjadi asetaldehida dan diubah menjadi etanol. (Fardiaz, 1992 ; Madigan dkk., 2000).

E. Sifat dan Karakteristik Enzim Glukoamilase (EC 3.2.1.3)

Enzim glukoamilase (amiloglukosidase) bersifat eksoamilase yang menghidrolisis ikatan α -1,4 secara berurutan dari ujung nonreduksi rantai amilosa, amilopektin, dan glikogen dengan melepaskan glukosa. Glukoamilase adalah enzim yang mengkatalisis reaksi hidrolisis pada ikatan α -1,4 glikosidik dan α -1,6 glikosidik dari pati non pereduksi, polisakarida serta oligosakarida (Sauer, dkk., 2000). Aktifitas optimum reaksi enzimatis glukomilase berada pada kisaran pH 4,5 sedangkan suhu optimum reaksi enzimatis berkisar pada 50 -60° C dan relatif stabil pada kisaran suhu 45 - 55° C, pada suhu 65° C enzim kehilangan sekitar 40% aktifitasnya (Rakov, 2012).

Enzim glukoamilase ini berperan dalam proses sakarifikasi pati cair, untuk menghidrolisis kristal glukosa. Pada umumnya digunakan dalam pembuatan alkohol dengan tingkat dekstrin rendah, dan dalam produksi roti dan minuman anggur (Rakov, 2012).

F. Morfologi dan Sifat *Saccharomyces cerevisiae*

Khamir adalah salah satu mikroorganisme yang termasuk dalam golongan fungi yang dibedakan bentuknya dari kapang karena uniseluler. Reproduksi vegetatif khamir terutama dengan cara pertunasan. Khamir mempunyai ukuran sel yang lebih besar, dan dinding sel yang lebih kuat daripada bakteri, serta tidak

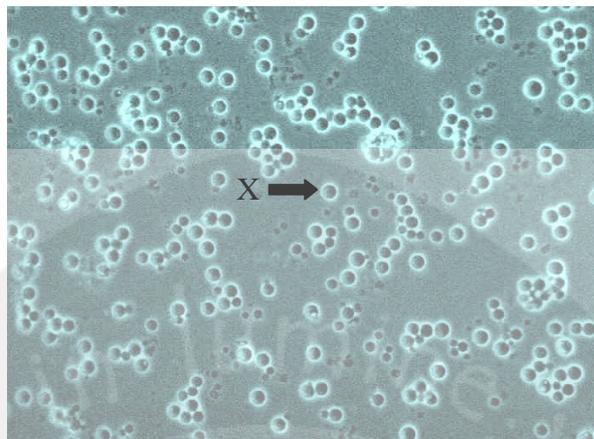
melakukan fotosintesis dan pertumbuhan yang lebih cepat dibandingkan ganggang atau alga. Jenis khamir yang merupakan produsen utama alkohol ialah *Saccharomyces cereviceae* (Rahmi, 2011).

Saccharomyces cerevisiae merupakan mikrobia fakultatif aerob yang dapat menggunakan baik sistem aerob maupun anaerob untuk memperoleh energi dari proses pemecahan glukosa, tahan terhadap kadar gula yang tinggi dan tetap aktif melakukan aktifitasnya pada suhu 28 - 32°C (Kartika dkk., 1992). Sel berbentuk silindris, dengan ukuran sel 5 -20 mikron, dan biasanya 5 – 10 kali lebih besar dari ukuran bakteri. Khamir ini bersifat non-patogenik dan non-toksik sehingga banyak digunakan dalam berbagai proses fermentasi seperti pembuatan roti dan alkohol (Buckle dkk., 2007).

Menurut Yarow (1984), tingkatan takson *Sacharomyces cerevisiae* adalah sebagai berikut:

| | |
|----------|-----------------------------------|
| Kerajaan | : Fungi |
| Filum | : Ascomycota |
| Kelas | : Saccharomycetes |
| Bangsa | : Saccharomycetales |
| Suku | : Saccharomycetaceae |
| Marga | : Saccharomyces |
| Spesies | : <i>Saccharomyces cerevisiae</i> |

Peragian glukosa menjadi etanol dan karbon dioksida oleh *S.cereviceae* terjadi melalui alur fruktosa difosfat. Transformasi piruvat didekarbosilasi menjadi asetaldehida oleh piruvat dekarboksilase dengan diikutsertakan tiamin pirofosfat, asetaldehida oleh alkohol dehidrogenase direduksi oleh NADH₂ menjadi etanol (Schlegel, 1994).



Gambar 5. Morfologi Sel *Saccharomyces cerevisiae* perbesaran 100x pada mikroskop cahaya(X) (Sumber :Anonim, 2011b).
Keterangan : Sel *S.cerevisiae* (X) berbentuk bulat dan berwarna bening

Khamir *Saccharomyces cerevisiae* tumbuh optimum pada kondisi lingkungan dengan pH optimum 4-5, suhu 28 – 30 °C, dan membutuhkan oksigen pada awal pertumbuhannya (Hidayat dkk., 2006). Sifat utama khamir adalah memiliki toleransi yang tinggi terhadap alkohol sehingga umum digunakan dalam proses fermentasi (Crueger, 1990). Beberapa jenis *Saccharomyces* mampu memproduksi etanol hingga 13,01 %. Hasil ini lebih bagus dibanding marga lainnya seperti *Candida* dan *Trochosporon* (Ikram, 2005).

Khamir jenis *Saccharomyces cerevisiae* sangat mudah ditumbuhkan dan membutuhkan nutrisi yang sederhana, laju pertumbuhannya sangat cepat dan stabil, dan aman digunakan sebagai *food grade organism*. Dengan karakteristik tersebut *S. cerevisiae* lebih banyak berperan dalam pembuatan roti dibandingkan jenis khamir lainnya (Arnata, 2009).

G. Merek dan Kandungan Khamir Komersial

Menurut Nurhayani (2000), ragi adalah suatu inokulum atau *starter* untuk melakukan fermentasi. Jenis – jenis ragi yang beredar secara komersial terdiri atas isolat kapang dan khamir, berdasarkan kandungan tersebut ragi berperan dalam mengubah pati menjadi gula sederhana. Ragi instan yang terdapat di pasaran terdiri atas 2 jenis, yaitu berbentuk butiran halus dan berbentuk bulat pipih. Ragi instan atau ragi dadak merupakan jenis ragi yang dapat langsung dicampur dengan bahan lainnya, contohnya adalah Fermipan, Mauripan, Saf-instant yang berbentuk butiran halus (Nurhayani,2000).

Komposisi dari khamir komersial Fermipan adalah ragi *Saccharomyces cerevisiae* dan sorbitan monostearate yang merupakan pengemulsi, produk khamir komersial ini digunakan dengan penambahan air, dengan harga jual Rp 3.600 untuk kemasan 11gram (Anonim,2011d). Komposisi ragi kering Saf-instant adalah *Saccharomyces cerevisiae*, pengemulsi sorbitan monostearate-E491, dan asam askorbik harga jual Rp 3.100 untuk kemasan 11gram (Anonim, 2011e). Komposisi Mauripan adalah *Saccharomyces cerevisiae* (Anonim, 2010). Berdasarkan kualitas produk, Fermipan lebih umum digunakan dalam produksi karena memberikan hasil produk yang lebih baik dalam pembuatan roti dibandingkan jenis ragi komersial lainnya (Nurhayani, 2000).

H. Pemurnian Bioetanol dengan Destilasi

Bioetanol yang dihasilkan dari proses fermentasi masih mengandung gas-gas CO₂ (yang ditimbulkan dari pengubahan glukosa menjadi bioetanol) dan aldehid

sebanyak 35% volume yang perlu dibersihkan dengan menyaring bioetanol yang terikat oleh CO₂. Kadar bioetanol dari proses fermentasi, biasanya mencapai 8 sampai 10 %, sehingga untuk memperoleh etanol yang murni diperlukan proses destilasi (Wasito, 1981).

Destilasi adalah proses penguapan dan pengembunan kembali untuk memisahkan campuran dua atau lebih zat cair ke dalam fraksi-fraksinya berdasarkan perbedaan titik didihnya. Proses destilasi diperlukan pada pembuatan bioetanol agar kadar alkohol yang diperoleh menjadi lebih dari 95% dan dapat dipergunakan sebagai bahan bakar. Hasil fermentasi pada umumnya terdiri atas air dan etanol, maka untuk memperoleh kadar etanol murni diperlukan proses pemisahan air dari etanol (Bustaman, 2008).

Pada destilasi, fase uap akan segera terbentuk setelah larutan dipanaskan. Uap dan cairan dibiarkan mengadakan kontak sehingga dalam waktu yang cukup semua komponen yang ada dalam larutan akan terdistribusi dalam fase uap membentuk distilat. Dalam distilat banyak mengandung komponen dengan tekanan uap murni lebih tinggi atau mempunyai titik didih lebih rendah. Sedangkan komponen yang tekanan uap murni rendah atau titik didih tinggi sebagian besar terdapat dalam residu (Brown, 1987).

Proses destilasi untuk memisahkan bioetanol dan air berdasarkan perbedaan titik didih kedua bahan tersebut yang kemudian diembunkan kembali. Titik didih etanol murni adalah 78°C sedangkan air 100° C, pemanasan larutan pada rentang suhu 78 -100° C akan mengakibatkan sebagian besar alkohol menguap, maka

perlu dilakukan proses destilasi melalui unit kondensasi sehingga akan dihasilkan etanol berkonsentrasi 95% (Bustaman, 2008).

I. Pengukuran Kadar Bioetanol dengan Alkoholmeter (Feryanto, 2007)

Alkohol yang dihasilkan dalam proses destilasi belum tentu 100% ethanol, untuk mengetahui hal itu maka dilakukan pengukuran kadar alkohol dengan alkoholmeter. Alkoholmeter berfungsi untuk membaca prosentase alkohol yang diperoleh. Alkohol yang dihasilkan dalam proses destilasi, diukur kadarnya dengan menggunakan alkoholmeter. Langkah pengukuran kadar etanol adalah dengan memasukkan destilat sebanyak 100 ml ke dalam gelas ukur, kemudian alkoholmeter dicelupkan ke dalam destilat. Batas yang tercelup pada permukaan destilat menunjukkan kadar alkohol pada sampel yang diuji.

Pengujian kadar alkohol dilakukan dengan pengukuran menggunakan alat alkoholmeter. Nilai yang terbaca pada alat dicatat, dan kadar alkohol dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar alkohol} : t + R / 2$$

Keterangan:

T= *Tralles* = % volume

R= *Richter* = % massa

J. Pengukuran Kadar Bioetanol dengan Kromatografi Gas

Proses pemisahan campuran senyawa menjadi komponen-komponennya oleh fase gas yang bergerak melalui lapisan serapan yang stasioner. Teknik kromatografi yang bisa digunakan untuk memisahkan senyawa organik yang mudah menguap. Kromatografi gas-cairan, pemisahan terjadi oleh pembagian fase

gas sebagai fase gerak dan lapisan tipis cair yang disalutkan ada suatu penopang yang tidak aktif. Dalam kromatografi gas untuk mengikuti reaksi, senyawa dilewatkan melalui zona reaksi dalam sistem tertutup antara tempat injeksi sampel dan detektor. Reaksi berlangsung setelah melalui tempat injeksi sampel. Sistem injeksi sampel pada umumnya menggunakan *syringe* dengan berbagai ukuran, sesuai bahan yang digunakan. Komponen pada kromatografi gas secara umum terdiri atas kolom dan detektor. Metode ini bermanfaat untuk analisis senyawa organik mudah menguap seperti hidrokarbon dan eter (Basset, 1994).

K. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori, perumusan masalah, dan tujuan penelitian, maka diajukan hipotesis sebagai berikut:

1. Derajat keasaman optimum untuk hidrolisis enzimatis oleh glukoamilase adalah pada pH 6.
2. Konsentrasi kadar pati garut 2% merupakan konsentrasi optimum dalam penghasilan gula reduksi oleh enzim glukoamilase.
3. Khamir komersial Fermipan memberikan hasil yang paling efektif dalam fermentasi bioetanol.