

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Etanol

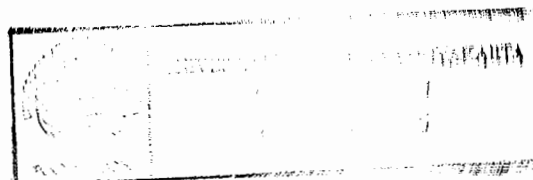
Etanol disebut juga etil alkohol dengan rumus kimia C_2H_5OH . Titik didihnya $78,4^{\circ}C$. Etanol mempunyai sifat tak berwarna, volatil, dan dapat bercampur dengan air (Damajanti, 1994; Kartika *et al.*, 1990).

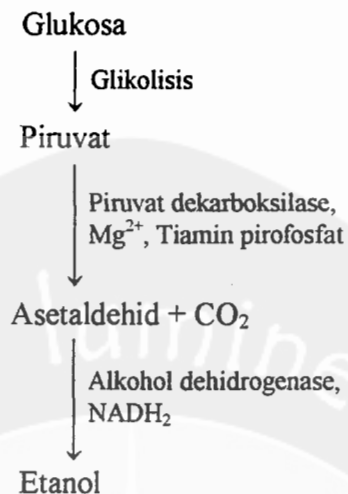
Etanol memiliki banyak manfaat. Selama bertahun-tahun, etanol diproduksi untuk dikonsumsi manusia sebagai minuman beralkohol. Namun beberapa tahun ini, perhatian mengarah pada produksi etanol sebagai bahan bakar dan pelarut kimia (Cruger & Crueger, 1990). Etanol juga dimanfaatkan sebagai bahan cita rasa, obat-obatan, dan komponen anti-beku (Nitz, 1976).

Etanol pada masa ini dapat diproduksi melalui fermentasi dan dari reaksi kimia (hidrasi etilen). Perkembangan lebih lanjut menunjukkan bahwa metode fermentasi lebih murah dibandingkan dengan metode kimia (Hartiko, 1992).

B. Produksi Etanol via Fermentasi

Fermentasi merupakan katabolisme anaerob senyawa organik dengan senyawa organik bertindak sebagai donor dan akseptor elektron serta dihasilkan ATP melalui fosforilasi tingkat substrat. Etanol yang dihasilkan melalui fermentasi merupakan metabolit primer karena dihasilkan selama fase pertumbuhan primer (Madigan *et al.*, 2000). Biosintesis etanol secara ringkas dapat dilihat pada Gambar 1.





Gambar 1. Biosintesis etanol (Sumber : Cruger & Crueger, 1990)

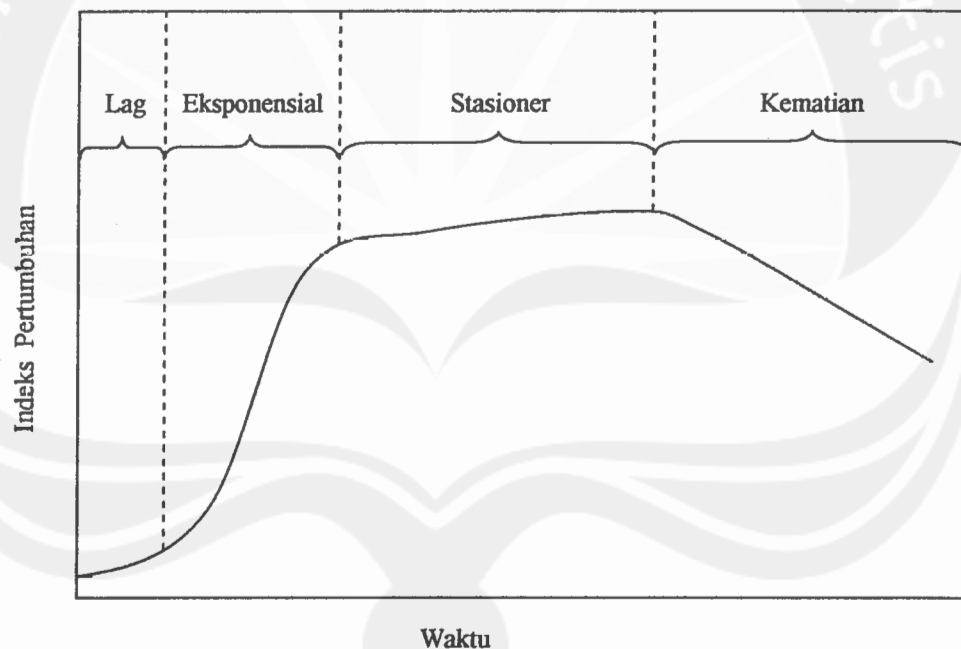
Khamir dan bakteri telah digunakan untuk produksi etanol. Bakteri yang paling banyak digunakan adalah *Zymomonas mobilis*. Khamir yang umum digunakan adalah *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces uvarum* (*carlsbergensis*), *Schizosaccharomyces pombe* dan *Kluyveromyces fragilis* (Cruger & Crueger, 1990; Kosaric *et al.*, 1983).

Fermentasi etanol dapat dilakukan melalui fermentasi *batch*. Fermentasi tipe ini merupakan sistem tertutup karena tidak ada penambahan nutrien. Pengaturan kondisi aerob dilakukan terlebih dahulu dalam sistem *batch* dengan tujuan untuk memperoleh biomassa maksimum. Jika diatur kondisi anaerob terlebih dahulu maka kepadatan populasi tidak tinggi (Cruger & Crueger, 1990).

C. Pola Pertumbuhan

Pertumbuhan menurut Brock *et al.* (1994), didefinisikan sebagai peningkatan jumlah sel mikrobia dalam populasi atau peningkatan massa

mikrobia. Kecepatan pertumbuhan adalah perubahan jumlah sel atau massa per unit waktu. Seluruh komponen sel selama siklus pembelahan sel akan menggandakan diri. Interval untuk pembentukan 2 sel dari 1 sel disebut generasi dan waktu yang dibutuhkan untuk pembentukan 2 sel disebut waktu generasi. Waktu generasi terkadang juga disebut waktu ganda. Waktu generasi berbeda-beda diantara organisme. Banyak bakteri memiliki waktu generasi selama 1-3 jam tetapi sebagian organisme memiliki waktu generasi yang cepat selama 10 menit dan sisanya dapat terjadi selama beberapa jam bahkan berhari-hari.



Gambar 2. Fase pertumbuhan mikrobial (Sumber : Yousef & Carlstorm, 2003)

Perubahan jumlah sel atau massa per unit waktu dari suatu mikrobial dapat digambarkan dalam bentuk kurva. Kurva pertumbuhan untuk populasi sel mikrobial dalam sistem *batch* diilustrasikan pada Gambar 2. Kurva pertumbuhan tersebut dibagi menjadi 4 fase yaitu fase lag, fase eksponensial, fase stasioner, dan

fase kematian. Fase lag mengawali fase pertumbuhan eksponensial dan dalam fase ini mikroorganisme beradaptasi dengan lingkungan barunya. Fase eksponensial merupakan fase penambahan jumlah dan massa mikroorganisme yang terjadi dengan cepat. Fase stasioner merupakan fase yang terjadi setelah fase eksponensial. Jumlah nutrisi berkurang dan terjadi akumulasi metabolit, contohnya alkohol dan asam-asam, yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Jumlah sel tidak mengalami peningkatan maupun penurunan pada fase stasioner. Jumlah sel akan mengalami penurunan pada fase kematian (Yousef & Carlstorm, 2003).

D. *Saccharomyces cerevisiae* dan Aktivitasnya dalam Produksi Etanol

Nama ilmiah *Saccharomyces cerevisiae* berarti jamur yang melakukan fermentasi gula pada sereal (*saccharo-mucus cerevisiae*) untuk menghasilkan alkohol dan karbon dioksida (Anonim, 2001).[✓] Klasifikasi *Saccharomyces cerevisiae* menurut Anonim (2004) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Fungi
Division : Ascomycota
Subdivision : Saccharomycotina
Klas : Saccharomycetes
Ordo : Saccharomycetales
Familia : Saccharomycetaceae
Genus : *Saccharomyces*
Spesies : *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae merupakan salah satu jenis khamir. Khamir adalah fungi uniselular yang eukariotik. Sel khamir yang termasuk jenis *Saccharomyces* berbentuk bulat, oval atau memanjang dan dapat membentuk pseudomiselium. Sel *Saccharomyces cerevisiae* berukuran $(3-10) \times (4,5-21) \mu\text{m}$. Reproduksi *Saccharomyces* dilakukan dengan membentuk tunas dan spora seksual (Fardiaz, 1992; Jutono *et al.*, 1980; Yarrow, 1984).

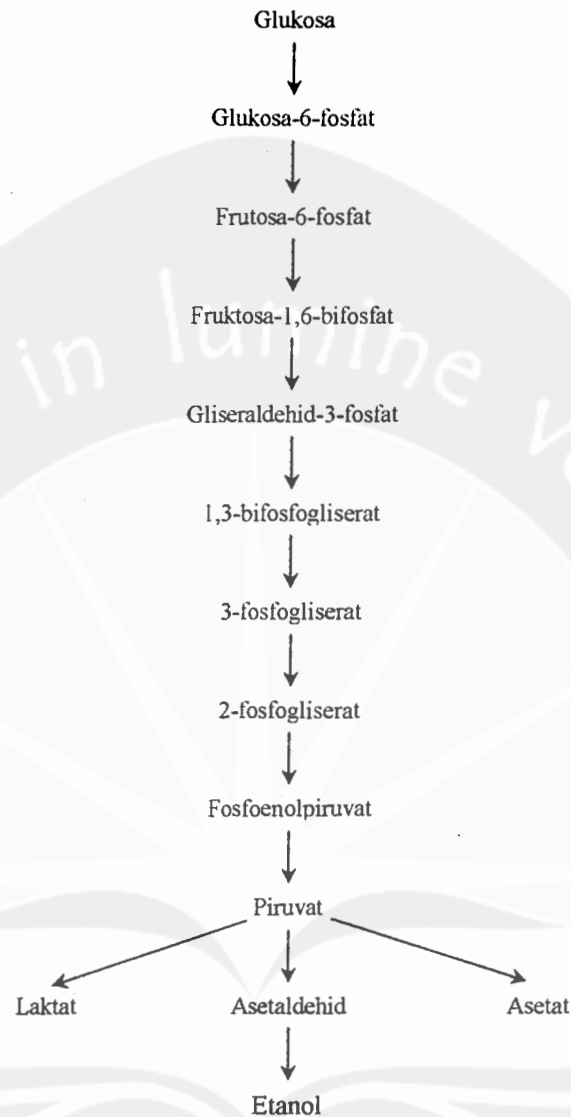
Pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* dipengaruhi oleh kondisi lingkungannya sebagai tempat tumbuhnya. Kondisi lingkungan itu berupa temperatur, pH, dan medium. Strain mesofilik *Saccharomyces* dapat tumbuh secara optimum pada temperatur 28-35 °C (Atkinson & Mavituna, 1991). Khamir pada umumnya dapat tumbuh dan secara efisien melakukan fermentasi etanol pada pH 3,5-6,0 (Kosaric *et al.*, 1983). *Saccharomyces cerevisiae* memiliki kemampuan untuk menggunakan berbagai jenis gula yaitu glukosa, fruktosa, galaktosa, sukrosa, maltosa, manosa, rafinosa, trehalosa, dan maltotriosa (Kosaric *et al.*, 1983).

Gula dalam medium yang masih dalam bentuk sukrosa dihidrolisis terlebih dahulu oleh enzim invertase menjadi glukosa dan fruktosa. *Saccharomyces cerevisiae* dapat menghasilkan invertase yang bersifat ekstraseluler. Selanjutnya glukosa dan fruktosa masuk ke dalam sel melalui difusi dengan perantara dan transport aktif (Wiyono, 1992). Setelah itu glukosa akan difermentasi oleh *Saccharomyces cerevisiae* menjadi etil alkohol melalui jalur *Embden-Meyerhof* (Gambar 3). Jalur ini dibagi menjadi 3 tahapan utama. Tahap I merupakan tahap perubahan glukosa (C₆) menjadi 2 molekul gliseraldehid-3-fosfat (C₃)

menggunakan ATP. Reaksi oksidasi-reduksi dan pelepasan energi tidak terjadi pada tahap ini. Kedua reaksi tersebut baru terjadi dalam tahap II. Energi yang dihasilkan berupa ATP. Piruvat sebanyak 2 molekul juga dihasilkan dalam tahap ini. Tahap III merupakan tahap terjadinya reaksi oksidasi-reduksi yang ke-2 dan pembentukan produk fermentasi (Madigan *et al.*, 2000). Etanol yang dihasilkan pada tahap III bersifat ekstraseluler karena dikeluarkan dari sel melalui membran sel (Guerzoni *et al.*, 1997).

E. Magnesium

Magnesium merupakan makronutrien minor yang dibutuhkan mikrobia karena berfungsi untuk menstabilkan ribosom, membran sel, dan asam nukleat. Kation Mg^{2+} akan berkombinasi secara ionik dengan muatan negatif fosfolipid sehingga membran menjadi stabil. Selain itu, magnesium juga dibutuhkan untuk aktivitas banyak enzim (Madigan *et al.*, 2000). Terdapat 4 enzim dalam jalur *Embden-Meyerhof* (Gambar 3) yang membutuhkan ion magnesium yaitu heksokinase, fosfofruktokinase, enolase, dan karboksilase. Heksokinase berperan dalam fosforilasi glukosa dengan bantuan ATP menjadi glukosa-6-fosfat. Fosfofruktokinase berperan dalam perubahan fruktosa-6-fosfat menjadi fruktosa-1,6-difosfat dengan adanya 1 molekul ATP. Enolase berperan dalam perubahan 1,3-bifosfoglisarat menjadi fosfoenolpiruvat. Piruvat yang terbentuk didekarboksilasi menjadi asetaldehid dan karbon dioksida oleh enzim karboksilase (Wiyono, 1992).



Gambar 3. Jalur *Embden-Meyerhof* (Sumber : Madigan *et al.*, 2000)

Seluruh sel membutuhkan magnesium dan secara aktif diakumulasi oleh sistem transpor yang membutuhkan energi. Defisiensi magnesium menyebabkan degradasi ribosom dan penurunan sintesis asam nukleat (Boyd, 1984). Ion Mg^{2+} masuk ke dalam sel melewati membran melalui difusi dengan perantara (Wiyono, 1992).

Perubahan piruvat menjadi asetaldehid dan CO₂ dilakukan oleh enzim piruvat dekarboksilase (Gambar 1). Reaksi dekarboksilase merupakan reaksi yang tidak reversibel yang membutuhkan ion Mg²⁺ dan koenzim tiamin pirofosfat (Wirahadikusumah, 1985).

Penelitian yang dilakukan oleh Walker *et al.* (1990) menunjukkan bahwa penambahan magnesium dapat mengatur pembelahan sel khamir. Khamir yang ditumbuhkan dalam medium dengan penambahan 2 µM magnesium akan mengalami fase lag selama 3,5 jam. Namun jika ditambah 4 µM magnesium maka fase lag hanya terjadi selama 1 jam dan setelah itu masuk ke fase log.

F. Pepaya

Kedudukan tanaman pepaya dalam sistematik (taksonomi) tumbuhan menurut Anonim (2004) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Division	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Dilleniidae
Ordo	: Violales
Familia	: Caricaceae
Genus	: <i>Carica</i>
Spesies	: <i>Carica papaya</i>

Pepaya dapat dikelompokkan menjadi 2 jenis berdasarkan bentuk buahnya yang ditemukan di alam yaitu (Rukmana, 1995) :

1. Pepaya Semangka

Pepaya jenis ini memiliki daging buah yang tebal, berwarna merah mirip daging buah semangka dan rasanya manis. Anggota jenis pepaya semangka ini antara lain pepaya Jinggo, Cibinong, Bangkok dan *Hortus Gold*. Pepaya Bangkok memiliki bentuk buah yang agak panjang, warna daging buahnya oranye kemerah-merahan dan keras. Kalie (2001) menambahkan bahwa pepaya Bangkok dikenal juga dengan nama pepaya Thailand. Kulit luar pepaya Bangkok kasar dan tidak rata atau berbenjol-benjol. Berat buah sekitar 3,5 kg. Varietas pepaya Bangkok tahan dalam angkutan.

2. Pepaya Burung

Pepaya jenis ini memiliki daging buah yang berwarna kuning, harum dan rasanya manis masam. Anggota jenis pepaya semangka ini antara lain pepaya Ijo, Hitam Bundar dan Solo.

Menurut Rukmana (1995), kandungan dan komposisi gizi buah pepaya dalam setiap 100 gram bahan yaitu 46,00 kalori; 0,50 g protein; 12,20 g karbohidrat; 23,00 mg kalsium; 12,00 mg fosfor; 1,70 mg; 365,00 SI vitamin A; 0,04 mg vitamin B₁; 78,00 mg vitamin C dan 86,70 g air. Lancashire (2004) mengungkapkan bahwa banyak penelitian awal pada perkiraan gula dalam pepaya sekarang diketahui menjadi tidak benar karena keberadaan enzim invertase. Evaluasi baru-baru ini lebih lanjut dengan memanaskan sampel dalam oven

microwave untuk menginaktifkan enzim memberikan distribusi sebagai berikut : sukrosa (48,3 % laporan awal memberi kesan tidak ada), glukosa (29,8 %) dan fruktosa (21,9 %). Kandungan total karbohidrat ditemukan sekitar 10 g per 100 g porsi yang dikonsumsi.

Buah pepaya di Filipina juga digunakan sebagai minuman beralkohol dengan karakteristik berwarna terang, kekuning-kuningan, dan cair. Kadar alkohol yang dihasilkan tanpa distilasi berkisar antara 6,0-6,5 % (Narvas-Quiason & Ang, 1994).