

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang Masalah**

Indonesia sebagai negara agraris mempunyai banyak sumber bahan baku, salah satunya adalah beras ketan putih (*Oryza sativa* L. var *glutinosa*) yang terdapat cukup banyak dinegara kita. Beras ketan merupakan tanaman yang berasal dari Asia yang kini sudah tersebar luas ke seluruh dunia, termasuk Indonesia. Di beberapa negara seperti Laos dan Thailand beras ketan digunakan sebagai makanan pokok, dikarenakan kandungan karbohidratnya yang tinggi (Haryadi, 2006). Karbohidrat merupakan bahan baku yang menunjang dalam proses fermentasi, dimana prinsip dasar fermentasi adalah degradasi komponen pati oleh enzim (Sa'id, 1987).

Penelitian yang dilakukan Rukmini 2003 ”*Komposisi Gizi Beberapa Makanan Fermentasi Tradisional Yogyakarta*”. Tape ketan mempunyai kandungan karbohidrat yang cukup tinggi dibandingkan dengan tape singkong, tempe bengkuk, tempe gembus, dan tempe kedelai (Lampiran 11). Penelitian dengan menggunakan substrat yang mengandung karbohidrat untuk menghasilkan etanol pernah dilakukan oleh Hartono 2005, dengan menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* dan substrat beras ketan sebanyak 25 gram, menghasilkan kadar etanol maksimal sebesar 2,92% pada hari ke enam dengan menggunakan metode destilasi sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Atmodjo 2006, pada variasi beras ketan didapatkan kadar etanol maksimal pada hari kesepuluh yaitu pada ketan hitam sebesar 19,5%, ketan tolo 14% dan ketan lusi 5% dengan menggunakan metode Nelson-Somogy.

Seiring dengan kebutuhan akan etanol yang makin meningkat dengan banyaknya pabrik-pabrik farmasi dan sekolah-sekolah farmasi maupun kimia di Indonesia yang menggunakan etanol, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan beras ketan tetapi mampu menghasilkan kadar etanol yang lebih tinggi, salah satunya adalah dengan penambahan nutrisi kedalam media fermentasi agar didapatkan kadar etanol yang tinggi, Berdasarkan pernyataan tersebut maka dilakukan penelitian dengan judul: “Pengaruh Penambahan Ammonium Sulfat Terhadap Produksi Etanol Pada Fermentasi Beras Ketan Putih (*Oryza sativa* L. var *glutinosa*) Dengan Inokulum *Saccharomyces cerevisiae*”

### **B. Perumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang masalah yang telah diuraikan diatas, maka penulis merumuskan masalah sebagai berikut:

1. Bagaimanakah pengaruh penambahan ammonium sulfat sebagai sumber N dan S pada proses fermentasi?
2. Berapakah besar kadar etanol yang dihasilkan dalam fermentasi tersebut?

### **C. Tujuan Penelitian**

Penelitian yang dilakukan bertujuan untuk

1. Mengetahui ada atau tidaknya perbedaan etanol yang diproduksi bila dalam fermentasi tersebut ditambahkan ammonium sulfat yang berguna untuk menambah komposisi mediumnya.
2. Mengetahui besarnya kadar etanol yang dihasilkan selama proses fermentasi.

#### D. Tinjauan Pustaka

##### 1. Beras Ketan Putih (*Oryza sativa* L. var *glutinosa*)

###### a. Klasifikasi

- Divisio : Spermatophyta  
Sub divisio : Angiospermae  
Classis : Monocotyledoneae  
Ordo : Poales  
Familia : Gramineae/Poaceae  
Genus : *Oryza*  
Spesies : *Oryza sativa* L. var *glutinosa*

(Van Steenis, 2003).

###### b. Uraian Tumbuh

Padi banyak varietasnya yang ditanam di sawah dan di ladang, sampai ketinggian 1.200 m. Tanaman semak semusim ini berbatang basah, tingginya 50 cm -1,5 m. Batang tegak, lunak, beruas, berongga, kasar, warna hijau. Daun tunggal berbentuk pita yang panjangnya 15-30 cm, lebar mencapai 2 cm.

###### c. Sifat dan Khasiat

Akar bersifat hangat dan manis. Berkhasiat menghilangkan keringat, membunuh cacing (antelmintik) dan sebagai penawar racun. Selaput biji (kulit ari) bersifat manis, netral, serta masuk meridian limpa dan lambung. Berkhasiat memelihara lambung, memperkuat limpa,

meningkatkan nafsu makan, dan antineuritis. Pati beras berkhasiat sebagai pelembut kulit, peluruh kencing, dan pendingin.

d. Kandungan Kimia

Biji mengandung karbohidrat, dextrin, arabanoxylan, xylan, phytin, glutein, enzim (phytase, lypase, diastase), dan vitamin B1 (Dalimartha, 2001).

Asal padi terlupakan karena sejarahnya sangat tua. Mungkin berasal dari asia tengah. Beberapa umur kultur di Jawa, tidak dapat diketahui dengan pasti. Jumlah varietas yang terkenal ada sekitar ribuan. Suatu jenis terkenal ialah forma *glutinosa*, *ketan*, terdapat dalam bentuk butir-butir merah, putih dan hitam (Van. Steenis dan Bloemberger, 2002).

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 belangga, ditutup dengan daun pisang dan disimpan dalam tempat yang sejuk. Tak lama kemudian berkhmirlah karena daya kerja organisme-organisme yang terdapat dalam ragi (Heyne, 1987).

Serealia merupakan sumber karbohidrat utama di dunia. Di Indonesia beras dipakai sebagai sumber protein 45-55% dan sumber kalori 60-80%. Komposisi kimia beberapa serealia dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Komposisi kimia sereal dalam 100 gram bahan.

<b>Komposisi</b>	<b>Beras sosoh</b>	<b>Beras tumbuk</b>	<b>Ketan putih</b>	<b>Ketan hitam</b>	<b>Beras merah</b>	<b>Gandum</b>	<b>Jagung</b>
Energi (Kal)	366	365	361	366	352	333	366
Protein (g)	7,6	9,7	7,4	8,0	7,3	9,0	9,8
Lemak (g)	1,0	1,4	0,8	2,3	0,9	1,0	7,3
Hidrat arang (g)	78,9	75,9	78,4	74,5	76,2	77,2	69,1
Serat (g)	0,4	0,5	0,4	1,0	0,8	0,3	2,2
Abu (g)	0,6	0,9	0,5	1,5	1,0	1,0	2,4
Kalsium (mg)	59	72	13	10	15	22	30
Fosfor (mg)	258	205	157	347	257	150	538
Besi (mg)	0,8	0,9	3,4	6,2	4,2	1,3	2,3
Karotin (mg)	0	0	0	0	0	0	641
Vitamin A (SI)	0	0	0	0	0	0	0
Vitamin B1 (mg)	0,26	0,34	0,28	0,24	0,34	0,10	0,12
Vitamin C (mg)	0	0	0	0	0	0	3,0
Air (g)	11,9	12,1	12,9	13,7	14,6	11,8	11,5
B.d.d	100	100	100	100	100	100	100

(Zulaikah, 2002).

## 2.Fermentasi

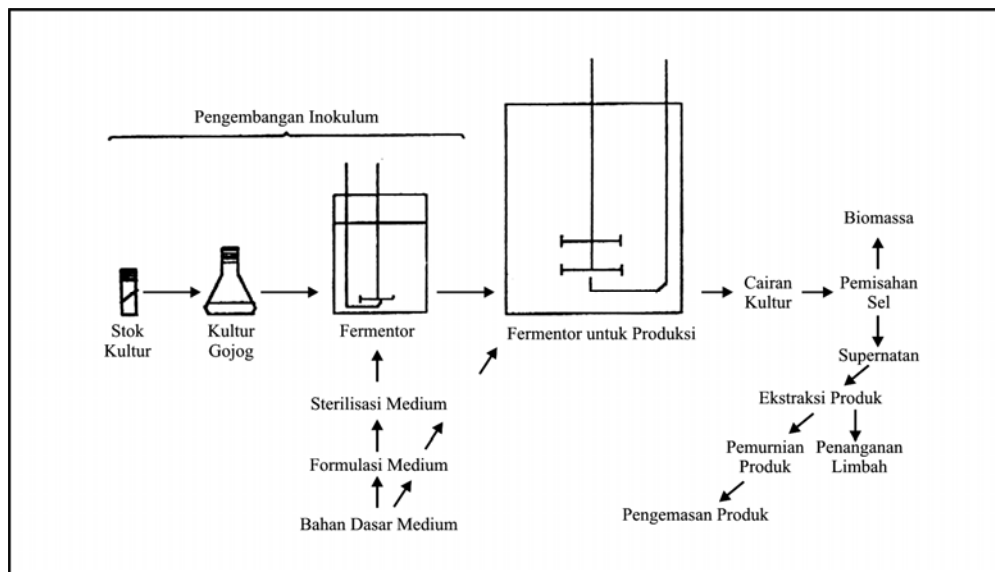
### a. Pengertian fermentasi

Istilah fermentasi berasal dari bahasa latin *fervare* yang berarti mendidih. Istilah ini digunakan untuk menggambarkan aksi ragi dalam ekstrak buah atau biji-bijian yang menghasilkan gelembung-gelembung gas karbondioksida sebagai akibat proses katabolisme anaerob dari gula yang terdapat dalam ekstrak.

Ahli biokimia mengartikan fermentasi sebagai suatu proses pembentukan energi melalui katabolisme senyawa organik. Sedangkan kalangan mikrobiologi industri mengartikan fermentasi sebagai proses pemanfaatan mikroba untuk menghasilkan produk.

Berdasarkan tujuannya, proses fermentasi dikelompokkan menjadi empat yaitu fermentasi untuk memproduksi sel mikroba atau biomasa, fermentasi untuk memproduksi enzim, fermentasi untuk memproduksi metabolit primer dan sekunder serta fermentasi untuk proses transformasi atau modifikasi senyawa yang ditambahkan secara eksternal. Proses fermentasi dapat dilakukan melalui tiga cara yaitu sistem tertutup, sistem semi kontinyu dan sistem kontinyu.

Bagian-bagian komponen dari suatu proses fermentasi.



Gambar 1. Skema fermentasi (Stanbury dan Whitaker, 1984).

Proses fermentasi terdapat 6 komponen dasar yang harus diperhatikan, yaitu:

- 1) Formulasi media yang digunakan sebagai proses perkembangan biakan mikroba sejak persiapan inokulum sampai tahap fermentasi untuk produksi.

- 2) Sterilisasi media fermentasi dan peralatan lainnya.
- 3) Produksi biakan aktif dan murni dalam jumlah yang cukup untuk ditumbuhkan dalam medium produksi.
- 4) Pertumbuhan organisme dalam media produksi dalam kondisi optimal untuk pembentukan produk.
- 5) Ekstraksi produk dan pemurniannya.
- 6) Penanganan limbah produksi

(Stanbury dan Whitaker, 1984).

Fermentasi bahan pangan adalah sebagai hasil kegiatan beberapa jenis mikroorganisme diantara beribu-ribu jenis bakteri, Khamir dan kapang yang telah dikenal. Dari mikroorganisme-mikroorganisme yang memfermentasi bahan pangan yang paling penting adalah bakteri pembentuk asam laktat, bakteri pembentuk asam asetat dan beberapa jenis khamir penghasil alkohol.

Fermentasi timbul sebagai hasil metabolisme tipe anaerobik. Untuk hidup semua organisme membutuhkan sumber energi-energi diperoleh dari metabolisme bahan pangan di mana organisme berada di dalamnya. Bahan baku energi yang paling banyak digunakan di antara mikroorganisme adalah glukosa (Buckle, 1987).

### **3. Etanol**

#### **a. Pengertian Etanol**

Etanol merupakan produk fermentasi yang dapat dibuat dari substrat yang mengandung karbohidrat (gula, pati atau selulosa). Etanol

merupakan kependekan dari etil alkohol, sering pula disebut sebagai alkohol saja. Bentuknya seperti cairan yang tidak berwarna dan mempunyai bau yang khas. Berat jenisnya pada 15°C adalah sebesar 0,7939 dan titik didihnya 78,32°C pada tekanan 76 mmHg. Sifatnya yang lain adalah larut dalam air dan eter dan mempunyai panas pembakaran 328 Kkal (Judoamidjojo, 2002).

Alkohol, etanol khususnya dapat dibuat dari berbagai bahan hasil pertanian, yang secara umum bahan-bahan tersebut dapat dibagi dalam tiga golongan, yaitu: bahan yang mengandung turunan gula sebagai golongan pertama, seperti molase, gula tebu, gula bit, dan sari buah yang umumnya adalah sari buah anggur. Golongan kedua adalah bahan-bahan yang mengandung pati, seperti biji-bijian, kentang, tapioka dan golongan terakhir adalah bahan yang mengandung selulosa, seperti kayu dan beberapa limbah pertanian selain ketiga bahan tersebut diatas (Sa'id, 1987).

Etanol dapat dibuat dari berbagai sumber daya alam, misalnya gula, pati, bahan lignoselulosa seperti jerami padi, serbuk gergaji, dan limbah pertanian (Suharto, 1995).

Tingkat-tingkat kualitas etanol dalam perdagangan dikenal sebagai berikut

- 1) Alkohol teknis (96,5 °GL). Digunakan terutama untuk kepentingan industri, sebagai bahan pelarut organik, bahan bakar, dan juga sebagai bahan baku ataupun bahan antara produksi berbagai senyawa organik lainnya.



- 2) Spiritus (88 °GL). Nama ini diberikan kepada alkohol 176 proof yang telah didenaturasi dan diberi warna. Bahan ini biasa digunakan sebagai bahan bakar untuk alat pemanas ruangan alat penerangan.
- 3) Alkohol murni (96,0-96,5 °GL). Alkohol jenis ini terutama digunakan untuk kepentingan farmasi dan konsumsi (minuman keras dan lain-lain).
- 4) Alkohol absolut (99,7-99,8 °GL). Banyak digunakan di dalam pembuatan sejumlah besar obat-obatan dan juga sebagai bahan pelarut atau sebagai bahan antara di dalam pembuatan senyawa-senyawa lain skala laboratorium. Alkohol absolut yang didenaturasi banyak digunakan sebagai bahan bakar kendaraan bermotor (Soebiyanto, 1993).

b. Sifat fisik alkohol

1) Titik didih

Karena alkohol dapat membentuk ikatan hidrogen antara molekul- molekulnya maka titik didih alkohol lebih tinggi dari senyawa lain yang mempunyai berat formula sama. Untuk etanol titik didih berkisar antara 78-79°C.

2) Kelarutan dalam air

Alkohol dengan berat molekul rendah dan larut dalam air. Kelarutan dalam air ini langsung disebabkan oleh ikatan hidrogen antara alkohol dan air (Fessenden dan Fessenden, 1997).

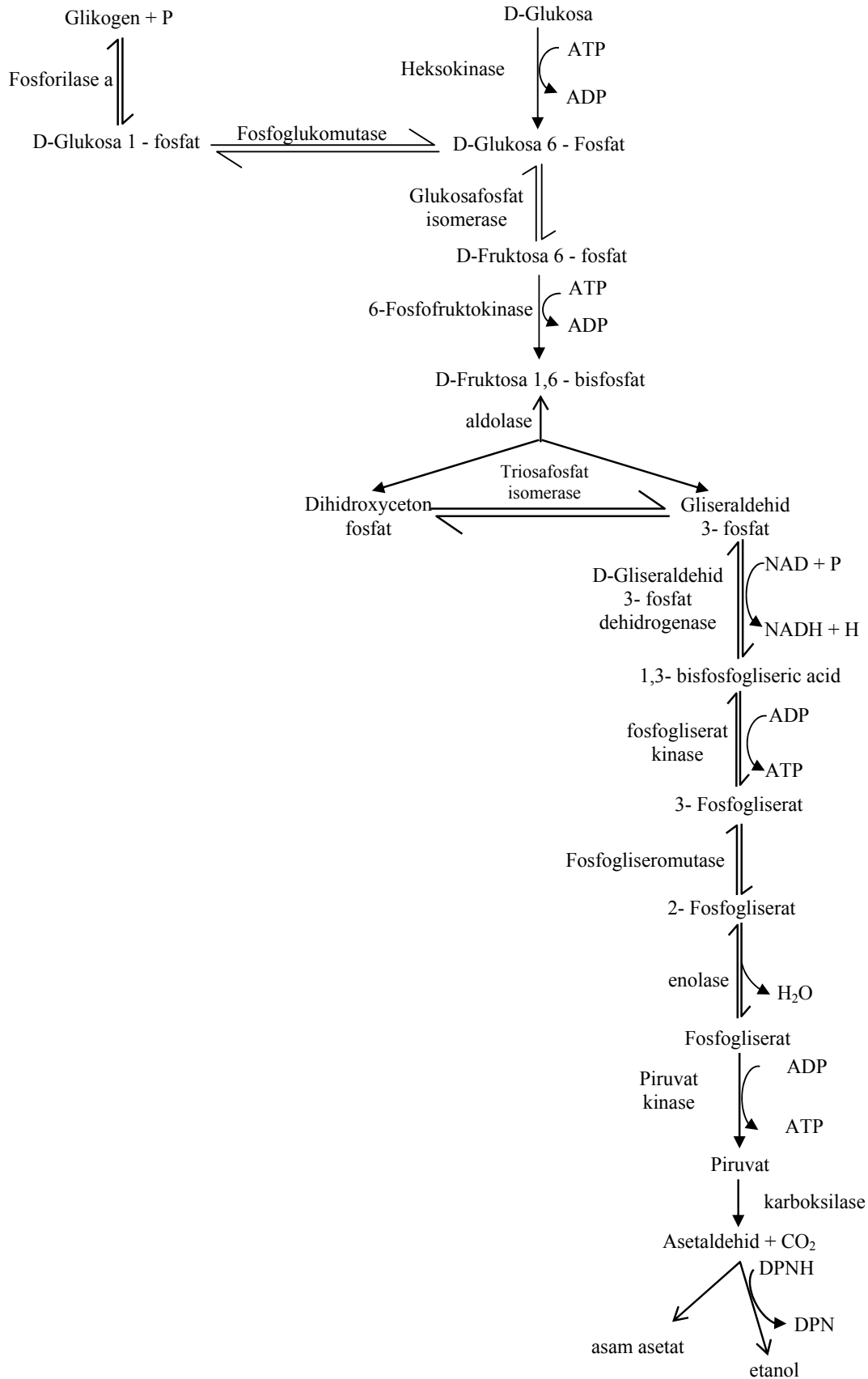
Tabel 2. Jenis dan Kadar Alkohol

No	Jenis Alkohol	Kadar Alkohol (%)
1.	Alkohol absolut	99,9
2.	Rectyfed Spirit (alkohol yang dimurnikan)	90
3.	Methylafed Spirit (alkohol denaturasi)	95
4.	RUM dan minuman keras lain	50 - 60
5.	Whisky, Gin dan Brandy	40 - 45
6.	Port, Sherry	20
7.	Anggur (winer)	10 - 15
8.	Bir	4 - 8
9.	Berbagai jenis minuman daerah	5 - 10

(Zahroh, 2001).

c. Biosintesis etanol melalui jalur glikolisis

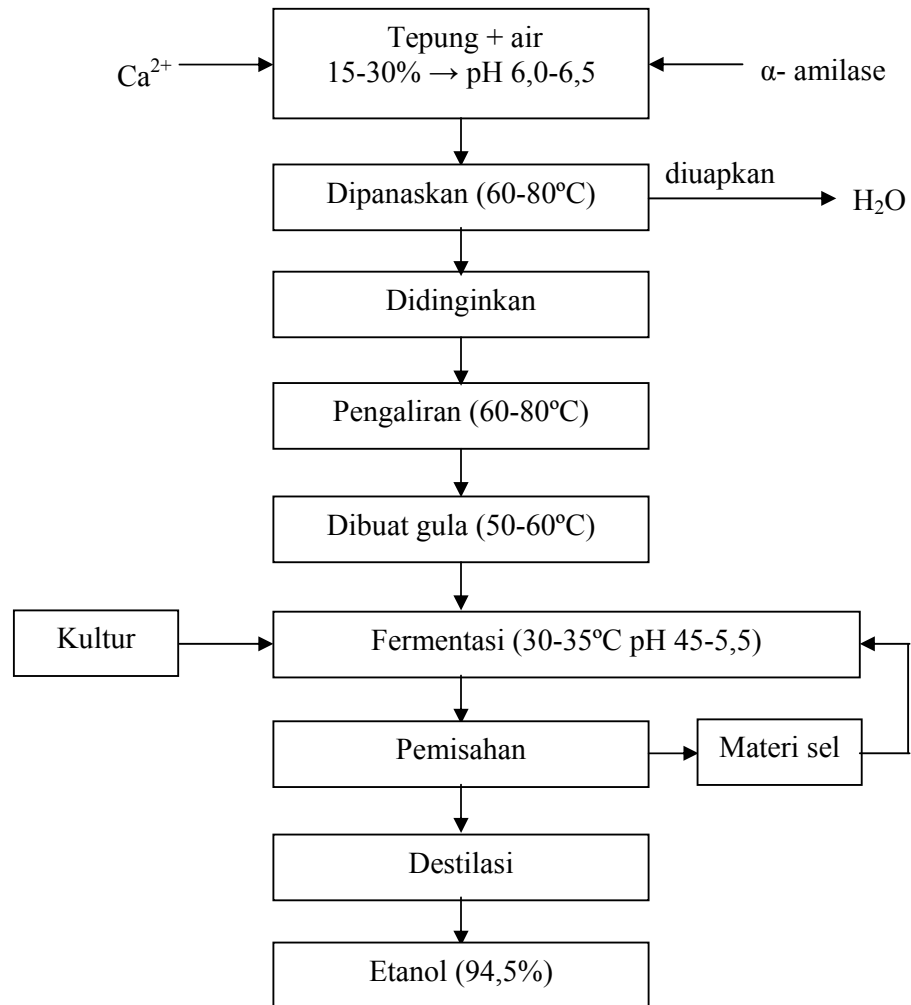
Pada jalur heksosa difosfat (Gambar 2.), glukosa akan mengalami penambahan dua fosfat dari dua ATP, sehingga dihasilkan D-fruktosa 1,6-fosfat. Dengan enzim aldolase D-fruktosa 1,6-fosfat akan diuraikan menjadi gliseraldehid 3-fosfat dan dihidroksiaseton fosfat (Timotius, 1982). Secara skematis biosintesis etanol melalui jalur glikolisis dapat dilihat pada gambar 2 di bawah ini



Gambar 2. Jalur glikolisis

## d. Fermentasi etanol

Secara skematis produksi etanol dari substrat tepung dapat dilihat pada gambar 3 di bawah ini.



Gambar 3. Diagram Produksi etanol dari substrat tepung.

#### 4. Kromatografi Gas

Penetapan kadar etanol dapat dilakukan dengan beberapa cara, namun kecuali dinyatakan lain, penetapan kadar etanol dilakukan dengan cara penyulingan.

Cara lain yang digunakan untuk penetapan kadar etanol adalah dengan Kromatografi Gas (Anonim,1979). Kromatografi gas adalah salah satu pemisahan yang sekaligus untuk analisis senyawa-senyawa organik maupun anorganik, yang bersifat termostabil, dan mudah menguap (Soemarno, 2001).

Dasar kerja GC adalah sebagai berikut

Cuplikan diinjeksikan ke dalam injektor. Aliran gas dari gas pengangkut akan membawa cuplikan yang telah teruapkan masuk ke dalam kolom. Kolom akan memisahkan komponen-komponen dari cuplikan. Kemudian komponen-komponen dideteksi oleh detektor, dan sinyal dalam bentuk puncak akan dihasilkan oleh pencatat.

Keuntungan yang ditunjukkan oleh GC, yaitu:

- 1) Kecepatan
  - a. Gas yang merupakan fase bergerak sangat cepat mengadakan ketimbangan antara fase bergerak dengan fasa diam.
  - b. Kecepatan gas yang tinggi dapat juga digunakan.
- 2) Sederhana

Alat GC relatif sangat mudah dioperasikan. Interpretasi langsung dari data yang diperoleh dapat dikerjakan. Harga dari alat GLC relatif murah.

### 3) Sensitif

GC sangat sensitif. Karena sensitifitasnya sangat tinggi maka hanya memerlukan sejumlah kecil dari cuplikan, biasanya dalam ukuran mikroliter.

### 4) Pemisahan

Dengan GC memungkinkan untuk memisahkan molekul-molekul dari suatu campuran, dimana hal ini tidak mungkin dipisahkan dengan cara-cara yang lain.

### 5) Analisis dapat digunakan sebagai

a. Analisis kualitatif yaitu dengan membandingkan waktu retensi.

b. Analisis kuantitatif yaitu dengan perhitungan luas puncak.

### 6) Alat GC dapat dipakai dalam waktu yang lama dan berulang-ulang.

(Sastrohamidjojo, 2005).

## 5. Pertumbuhan Mikroorganisme

### a. Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme

Semua mikroorganisme memerlukan kondisi lingkungan tertentu untuk pertumbuhan dan perbanyakannya. Terdapat variasi persyaratan pertumbuhan untuk spesies yang berbeda. Namun masih dapat dikelompokkan atas enam keperluan dasar bagi pertumbuhan untuk menunjukkan variasi individual, yaitu seperti:

#### 1) Waktu

Laju perbanyakan bakteri bervariasi menurut spesies dan kondisi pertumbuhannya. Pada kondisi optimal, hampir semua bakteri

memperbanyak diri dengan pembelahan biner sekali setiap 20 menit. Untuk beberapa bakteri, memiliki waktu generasi, yaitu selang waktu antara pembelahan, dapat mencapai 12 menit.

## 2) Makanan

Semua mikroorganisme memerlukan nutrisi yang akan menyediakan

- a) Energi, biasanya diperoleh dari substansi mengandung karbon.
- b) Nitrogen untuk sintesis protein.
- c) Vitamin dan yang berkaitan dengan faktor pertumbuhan.
- d) Mineral.

## 3) Kelembaban

Mikroorganisme, seperti halnya semua mikroorganisme memerlukan air untuk mempertahankan hidupnya. Banyaknya air dan pangan yang tersedia.

## 4) Suhu

Tiap-tiap mikroorganisme memiliki:

- a) Suhu pertumbuhan maksimal.
- b) Suhu pertumbuhan minimal.
- c) Suhu pertumbuhan optimal, yaitu suhu yang memberikan pertumbuhan terbaik dan memperbanyak diri tercepat. Suhu optimal biasanya lebih dekat ke suhu maksimal daripada minimal.

### 5) Oksigen

Tersedianya oksigen dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme. Jamur bersifat aerobik (memerlukan oksigen) sedangkan khamir dapat bersifat aerobik atau anaerobik tergantung pada kondisinya.

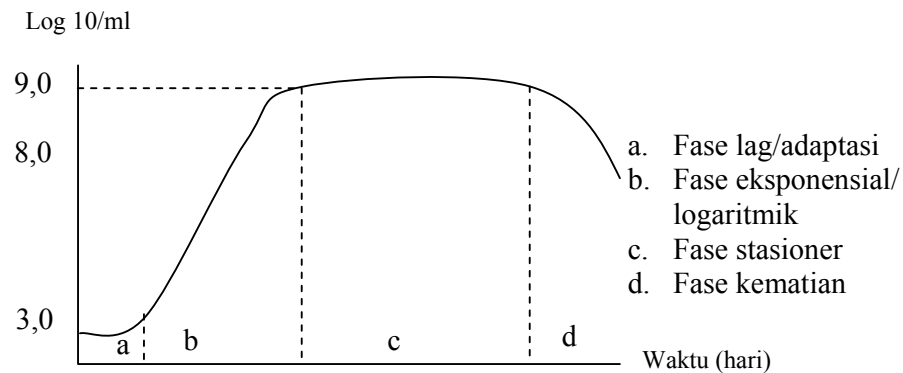
### 6) pH

Setiap organisme mempunyai kisaran nilai pH dimana pertumbuhan masih memungkinkan dan masing-masing biasanya mempunyai pH optimum. Kebanyakan mikroorganisme dapat tumbuh pada kisaran pH 6,0-8,0. Beberapa mikroorganisme dalam bahan pangan tertentu seperti khamir dan bakteri asam laktat tumbuh dengan baik pada kisaran nilai pH 3,0-6,0 (Gaman dan Sherrington, 1994).

#### b. Fase Pertumbuhan Mikroba dalam proses Fermentasi

Fase pertumbuhan mikroba merupakan salah satu faktor penting yang harus diketahui selama proses fermentasi. Dalam suatu sistem fermentasi dengan jumlah nutrisi terbatas (sistem tertutup), biakan mikroba akan mengalami empat fase pertumbuhan yaitu fase adaptasi (lag fase), fase eksponensial/logaritmik (exponential atau log phase), fase pertumbuhan tetap (stationary phase) dan fase kematian (death phase), keempat fase ini terdapat pada Gambar 4 di bawah ini.





Gambar 4. Kurva Pertumbuhan Mikroorganismen

### 1) Fase lag/adaptasi

Fase ini terjadi bila mikroba dipindahkan ke dalam media kultur yang baru. Dalam kondisi ini mikroba menyesuaikan diri dengan lingkungan barunya dan tidak terjadi penambahan jumlah sel. Lingkungan yang baru ini dapat berupa susunan medium yang berbeda, perubahan pH, bertambahnya nutrisi, berkurangnya zat penghambat tumbuh dan lain-lain. Panjang pendeknya fase adaptasi tergantung pada perbedaan kondisi lingkungan mikroba sebelum dipindahkan dengan lingkungan yang baru. Makin sesuai lingkungan untuk pertumbuhan mikroba serta umur inokulum tidak terlalu tua maka makin pendek fase adaptasinya.

### 2) Fase eksponensial/logaritmik

Sel yang sudah beradaptasi dengan lingkungan baru mulai mengalami pertumbuhan. Pada fase ini pertumbuhan sel merupakan pertumbuhan maksimum. Selama fase eksponensial mikroba

menghasilkan produk esensial untuk pertumbuhan sel seperti asam-asam amino, protein, karbohidrat, lemak dan sebagainya.

### 3) Fase stasioner

Keterbatasan nutrien dan akumulasi produk toksis menyebabkan pertumbuhan mikroba melambat atau terhenti sama sekali serta jumlah populasi sel relative tetap sehingga terjadi fase stasioner. Dalam fase ini terjadi perubahan sistem metabolisme primer ke metabolisme sekunder, dan produk metabolitnya disebut metabolit sekunder yang bersifat sangat khas dan tidak esensial untuk pertumbuhan serta penting artinya bagi fermentasi komersial.

### 4) Fase Kematian

Pada fase ini nutrien yang tersedia telah habis dan terjadi peningkatan produk yang toksik, sehingga sel mengalami lisis total. Kematian mulai terjadi dan populasi sel menurun dengan laju eksponensial (Cruger dan Crueger, 1984 dan Stanbury dan Whitaker, 1987).

Dengan memperhatikan fase pertumbuhan mikroba dan medium yang digunakan, kondisi fermentasi dapat dikendalikan untuk meningkatkan produk yang diinginkan. Produk metabolisme primer dapat ditingkatkan dengan menggunakan kondisi fermentasi yang memperpendek fase eksponensial dan memperpanjang fase stasioner ataupun mengurangi laju pertumbuhan mikroba dalam fase eksponensial dapat mempercepat produk metabolisme sekunder (Stanbury dan Whitaker, 1987).

c. Metabolisme mikroba

Mikroba melakukan proses metabolisme untuk mensintesis makromolekul yang merupakan komponen utama sel. Makromolekul dapat berupa protein, karbohidrat, asam nukleat dan lemak. Protein merupakan polipeptida yang tersusun dari asam amino, karbohidrat adalah polisakarida yang tersusun dari di atau monosakarida, asam nukleat tersusun dari nukleotida dan lemak/lipid dari gliserol atau alkohol lain, asam lemak dan sub satuan khusus seperti kolin (Jawetz, 1978 dan Dewich, 1999).

Metabolisme didefinisikan sebagai suatu rangkaian proses transformasi enzimatik molekul organik dalam sel (Lehninger, 1991). Metabolisme sel ini merupakan aktivitas yang teratur dan melibatkan rangkaian kerja enzim-enzim. Proses metabolisme dapat dibedakan menjadi tiga golongan yaitu:

1) Metabolit primer

Metabolit primer merupakan serangkaian proses yang bersifat menyusun atau menghancurkan makromolekul seperti karbohidrat, protein, lemak, dan asam nukleat untuk mempertahankan kelangsungan hidup dan pertumbuhan mikroba. Senyawa yang dihasilkan disebut metabolit primer (Manitto, 1981).

Metabolit primer sangat esensial bagi pertumbuhan sel mikroba sekaligus merupakan penghasil tenaga dan biasanya terbentuk selama fase eksponensial (Jawetz, 1978; Stanbury dan Whitaker, 1987). Proses ini pada hampir semua organisme memiliki kesamaan meskipun

organisme tersebut mempunyai perbedaan genetik (Manitto, 1981 dan Dewick, 1999).

## 2) Metabolisme Sekunder

Selain metabolisme primer juga terdapat metabolisme lain yang tidak esensial bagi kehidupan mikroba dan karenanya dinamakan metabolisme sekunder. Metabolisme sekunder mempunyai peranan cukup besar bagi kelangsungan hidup mikroba terutama dalam menghadapi ancaman dari lingkungan atau serangan dari mikroba lain, dan berlangsung bila mikroba dalam kondisi tertekan. Produk yang dihasilkan disebut metabolit sekunder, sifatnya spesifik tergantung jenis spesiesnya dan terbentuk pada fase stasioner pertumbuhan mikroba (Stanbury dan Whitaker, 1987).

Kegunaan metabolit sekunder memang belum jelas bagi mikroba penghasilnya, tapi bagi manusia produk ini sangat bermanfaat dan banyak dipelajari (Manitto, 1981 dan Retnaningtyas, 2003).

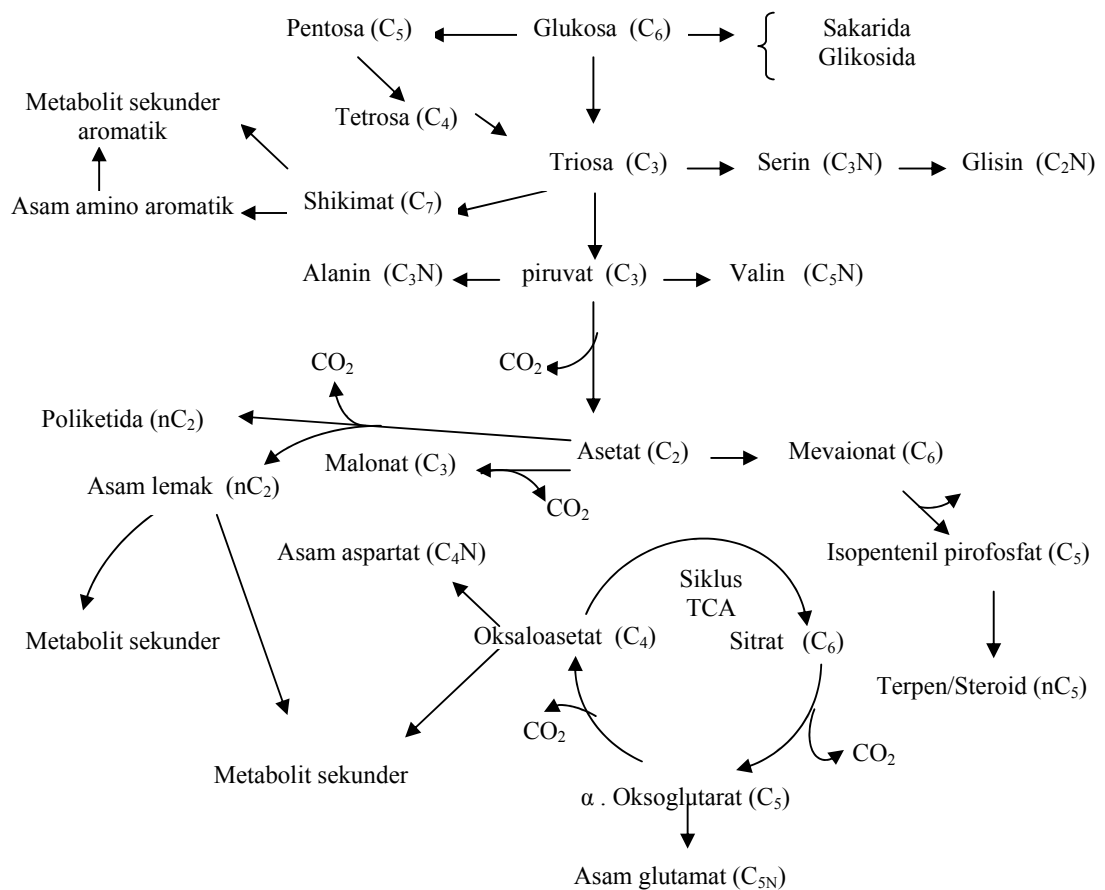
## 3) Hubungan Metabolitme primer dan sekunder

Jalur metabolisme primer biasanya merupakan jalur umum yang terdapat pada semua organisme, sedangkan jalur metabolisme sekunder merupakan jalur khusus untuk masing-masing spesies. Sistem regulasi biosintesis metabolit sekunder berbeda nyata dengan regulasi biosintesis metabolit primer dan tergantung pada kondisi lingkungan. Hal ini biasanya ditunjang oleh kondisi pertumbuhan yang sub optimal serta ditekan oleh fosfat organik juga oleh sumber karbon

dan nitrogen yang cenderung lebih menunjang pada pertumbuhan vegetatif daripada deferensiasi morfologis.

Metabolit sekunder berasal dari senyawa antara maupun produk metabolisme primer sehingga banyak jalur sebagai penghubung antar jalur metabolisme primer dan sekunder (Stanbury dan Whitaker, 1987).

Hubungan antara metabolit primer dan sekunder adalah sebagai berikut



Gambar 5 .Skema hubungan antara metabolisme primer dan metabolisme sekunder (Stanbury dan Whitaker, 1987; Dewick, 1999).

## 6. *Saccharomyces cerevisiae*

### a. Klasifikasi

Salah satu jenis khamir yang paling sering digunakan dalam industri roti dan alkohol adalah *Saccharomyces cerevisiae*. Menurut Alexopoulos dan Mims (1979), dalam Susilowati (2001) klasifikasi *Saccharomyces cerevisiae* sebagai berikut:

Divisio : Amestigomyceta  
 Sub divisio : Ascomycetae  
 Classis : Ascomycetes  
 Ordo : Saccharomycetales  
 Familia : Saccharomycetaceae  
 Genus : *Saccharomyces*  
 Spesies : *Saccharomyces cerevisiae*

(Ratnaningsih, 2004).

### b. Nama daerah: *Koningsgist*

### c. Morfologi

Sel-sel berbentuk peluru hingga elipsoidal, panjang 8 – 9  $\mu$ , terisolasi atau bergabung dalam koloni-koloni kecil. Panjang sel-sel pembentuk spora 11 -14  $\mu$ , tiap sel pada lazimnya berspora 3 – 4 buah per sel, bergaris tengah 4 -5  $\mu$ . Sejak beberapa tahun diimpor sebagai ragi rejanan dalam ruang-ruangan pendingin. Varietas yang didatangkan tidak membentuk spora. Di sebagian besar pabrik-pabrik roti sekarang *koningsgist* dipergunakan sebagai pengganti ragi sager (Heyne, 1987).

Organisme yang disebut khamir adalah termasuk subdivision thallophyta dan digolongkan dalam tiga family yaitu *Saccharomycetaceae*, *Sporobolomycetaceae*, dan *Cryptococcaceae*. Ciri khas organisme ini adalah reproduksinya yang vegetatif disebut *Budding* atau penyebulan (Judoamidjojo, 2002).

Khamir sejak dulu berperan dalam fermentasi yang bersifat alkohol di mana produk utama dari metabolisemenya adalah etanol. *Saccharomyces cerevisiae* adalah jenis yang utama yang berperan dalam produksi minuman beralkohol seperti bir dan anggur dan juga digunakan untuk fermentasi adonan dalam perusahaan roti (Buckle, 1987).

d. Bentuk Khamir

Pada umumnya, sel khamir lebih besar dari pada kebanyakan bakteri, tetapi khamir yang paling kecil tidak sebesar bakteri yang besar. Khamir sangat beragam ukurannya, berkisar antara 1 sampai 5  $\mu\text{m}$  lebarnya dan panjangnya dari 5 sampai 30  $\mu\text{m}$  atau lebih. Biasanya berbentuk telur, tetapi beberapa ada yang memanjang atau berbentuk bola. Setiap spesies mempunyai bentuk yang khas, namun sekalipun dalam biakan murni terdapat variasi yang luas dalam hal ukuran dan bentuk sel-sel individu, tergantung kepada umur dan lingkungannya. Khamir tidak dilengapi flagelum atau organ-organ bergerak lainnya (Pelczar, Michael dan Chan, 1986).

Menurut Suharto, mikroba unggul memerlukan Nutrien untuk tumbuh dan berkembang biak serta membentuk produk. Beberapa nutrien seperti sulfur, Phosphor, kalium, magnesium, nitrogen, dan mineral. Nutrien ini terbentuk garam yang larut air.

Untuk pertumbuhan khamir diperlukan vitamin yang berfungsi sebagai faktor penumbuh. Vitamin yang dibutuhkan antara lain adalah biotin, inositol, asam nikotinat, piridoksin dan timin (Sa'id, 1987).

Mikrobia yang digunakan dalam fermentasi yang terpenting adalah kemampuan menghasilkan enzim dalam jumlah yang besar. Bakteri, khamir dan cendawan merupakan sel tunggal, mempunyai kapasitas fungsional pertumbuhan, reproduksi, pencernaan, asimilasi, dan memperbaiki isi di dalam sel. Khamir, memiliki produktivitas enzim dan kapasitas fermentatif yang tinggi dibandingkan dengan makhluk hidup yang lain (Norman dan Desrosier, 1988). Menurut Stanbury dan Whitaker (1984), komposisi elemen yang terdapat pada bakteri, yeast dan fungi seperti terlihat tabel 3.

Tabel 3. Komposisi elemen pada bakteri, yeast dan fungi.

Elemen	Bakteri	Yeast	Fungi
Karbon	50 - 53	45 - 50	40 - 63
Hidrogen	7	7	
Nitrogen	12 - 15	7,5 - 11	7 - 10
Fosfor	2,0 - 3,0	0,8 - 2,6	0,4 - 4,5
Sulfur	0,2 - 1,0	0,01 - 0,24	0,1 - 0,5
Potassium	1,0 - 4,5	1,0 - 4,0	0,2 - 2,5
Sodium	0,5 - 1,0	0,01 - 0,1	0,02 - 0,5
Kalsium	0,01 - 1,1	0,1 - 0,3	0,1 - 1,4
Magnesium	0,1 - 0,5	0,1 - 0,5	0,1 - 0,5
Klorid	0,5	-	-
Besi	0,02 - 0,2	0,01 - 0,5	0,1 - 0,2



## **E. Landasan Teori**

Beras ketan putih (*Oryza sativa* L. var *glutinosa*) merupakan bahan yang mempunyai kandungan karbohidrat yang cukup tinggi yaitu 36,1 gram dalam 100 gram bahan (Zulaikhah,2002), karbohidrat adalah bahan baku yang menunjang dalam proses fermentasi, dimana pada waktu proses fermentasi berlangsung mikroorganismenya sangat berperan dalam menghasilkan etanol, dengan mengubah karbohidrat yang terdapat dalam substrat menjadi glukosa dan akhirnya terjadi pemecahan glukosa menjadi etanol dan karbondioksida. Untuk memperoleh kadar etanol yang tinggi perlu diperhatikan beberapa faktor yang mempengaruhi fermentasi yaitu formulasi media, pH, suhu, oksigen, nutrisi dan mikroorganismenya yang digunakan (Sa'id, 1987).

## **F. Hipotesis**

1. Penambahan amonium sulfat pada media fermentasi yang dilakukan dengan substrat beras ketan putih (*Oryza sativa* L. var *glutinosa*), penambahan amonium sulfat akan menghasilkan kadar etanol yang lebih kecil dibanding tanpa penambahan amonium sulfat.
2. Kadar etanol tertinggi pada interval waktu selama sepuluh hari terdapat pada hari kesepuluh, pada media ammonium sulfat sebesar 4,4% sedangkan tanpa ammonium sulfat 5,2%.