

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

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

Indonesia sebagai negara agraris mempunyai banyak sumber bahan baku, di antaranya pisang raja (*Musa paradisiaca* L. var *sapientum*). Pisang merupakan tanaman asal Asia Tenggara yang kini sudah tersebar luas ke seluruh dunia, termasuk Indonesia. Sudah lama buah pisang menjadi komoditas buah tropis yang sangat populer di dunia. Hal ini dikarenakan rasanya lezat, gizinya tinggi, dan harganya relatif murah (Hendro, 1999). Sebagian konsumen setelah makan buah pisang lalu membuang kulitnya, bahkan dianggap sampah. Padahal dari kulit pisang tersebut dapat diolah menjadi sesuatu yang berguna. Masyarakat kurang berminat untuk memproduksi kulit pisang raja (*Musa paradisiaca* L. var *sapientum*) dikarenakan keterbatasan pemanfaatannya. Kulit pisang raja (*Musa paradisiaca* L. var *sapientum*) merupakan bahan baku yang murah dan berpotensi menunjang industri fermentasi, sehingga meningkatkan aktivitas-aktivitas industri pengolahan kulit pisang raja (*Musa paradisiaca* L. var *sapientum*) (Santoso, 1995).

Fermentasi kulit pisang raja (*Musa paradisiaca* L. var *sapientum*) merupakan suatu peluang yang amat baik bagi para petani ataupun masyarakat luar untuk selalu berusaha meningkatkan produktivitas dan ketrampilannya. (Santoso, 1995).

Santosa (1995) berpendapat bahwa kulit pisang mengandung gizi yang cukup, sehingga sangat potensial untuk diolah menjadi bahan makanan atau minuman. Kandungan utama kulit pisang adalah karbohidrat. Beliau melakukan penelitian fermentasi kulit pisang untuk produksi cuka pisang, dimana dari 100 kilogram kulit pisang menghasilkan 120 liter cuka pisang menggunakan 20 kilogram gula pasir, 120 gram ammonium sulfat, 0.5 kilogram ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*) dan 25 liter induk cuka (*Acetobacter aceti*).

Etanol merupakan produk fermentasi yang dapat dibuat dari substrat yang mengandung karbohidrat (gula, pati atau selulosa). Fermentasi etanol terjadi pada kondisi anaerob dengan menggunakan khamir tertentu yang dapat mengubah glukosa menjadi etanol (Judoamidjojo, 1992). Khamir yang menghasilkan alkohol dan gliserol dari gula, pengembang adonan roti, serta sebagai sumber protein, vitamin dan enzim adalah *Saccharomyces cerevisiae*. Kebutuhan akan etanol untuk bermacam-macam keperluan makin bertambah dengan semakin banyaknya pabrik-pabrik farmasi dan sekolah-sekolah farmasi maupun kimia di Indonesia yang menggunakan etanol. Etanol dalam bidang industri dapat digunakan sebagai bahan bakar, alat pemanas, penerangan atau pembangkit tenaga, pelarut bahan kimia, obat-obatan, detergen, oli dan lilin (Schlegel, 1994).

Berdasarkan kenyataan tersebut maka perlu diadakan penelitian tentang: Pemanfaatan Kulit Pisang Raja (*Musa paradisiaca* L. var *sapientum*) sebagai Substrat Fermentasi Etanol Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*.

## **B. Perumusan Masalah**

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

1. Apakah kulit pisang raja dapat difermentasikan oleh *Saccharomyces cerevisiae* menjadi etanol?
2. Bagaimana pengaruh penambahan ammonium sulfat sebagai sumber N dan S dalam proses fermentasi etanol?
3. Berapakah kadar etanol yang dihasilkan selama proses fermentasi?

## **C. Tujuan Penelitian**

Penelitian yang dilakukan bertujuan untuk:

1. Mengetahui apakah kulit pisang raja (*Musa paradisiaca* L. var *sapientum*) dapat menghasilkan etanol melalui proses fermentasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*.
2. Mengetahui ada atau tidaknya perbedaan etanol yang diproduksi, bila dalam fermentasi tersebut ditambahkan ammonium sulfat yang berguna sebagai sumber N dan S.
3. Mengetahui kadar etanol yang dihasilkan selama proses fermentasi.

## D. Tinjauan Pustaka

### 1. Pisang Raja (*Musa paradisiaca* L. var *sapientum*)

#### a. Klasifikasi

Divisio	: Spermatophyta
Subdivisio	: Angiospermae
Classis	: Monocotyledoneae
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Musaceae
Genus	: Musa
Spesies	: <i>Musa paradisiaca</i> L.

(Steenis, 2003).

Pisang termasuk dalam famili *Musaceae*. Tanaman ini berasal dari Malaysia kemudian disebarkan ke India, Filipina, dan New Guinea. Pisang terdiri dari berbagai varietas sehingga warna, bentuk, dan ukurannya pun berlainan.

#### b. Morfologi

Morfologi dari buah pisang raja adalah buahnya berbentuk silinder agak bengkok dan memiliki tiga garis menuju kebawah yang membentuk sudut. Ujung bawah yang bengkok agak keras. Panjang buah sekitar 140-200 mm dan diameternya 30-40 mm. permukaan luarnya halus dan berwarna hijau atau hijau kekuningan. Warnanya berubah menjadi kuning bila buah ini matang dan masak pada musim panas dan gugur. Bagian yang masak pada buah ini

memperlihatkan noda warna coklat gelap. Warna kematangan tergantung pada jenis varietasnya tetapi secara umum pisang yang matang buahnya akan menjadi empuk. Pisang yang kulitnya telah menghitam hanya tahan 3-5 hari. Pisang yang belum matang dapat diperam dalam suhu kamar.

c. Kandungan Pisang Raja (*Musa paradisiaca* L. var *sapientum*)

Kandungan mineral yang menonjol pada pisang adalah kalium. Sebuah pisang kira-kira dapat menyumbang kalium sebesar 440 mg. kalium berfungsi antara lain untuk menjaga keseimbangan air dalam tubuh, kesehatan jantung, menurunkan tekanan darah, dan membantu pengiriman oksigen ke dalam otak.

Pisang kaya akan glukosa, fruktosa, sukrosa, kanji dan protein, lemak, minyak volatil, vitamin A, B, C, E, kalsium, fosfor dan besi maupun berbagai enzim, dan sebagainya. Kandungan pisang raja (*Musa paradisiaca* L. var *sapientum*) dapat dilihat dalam Tabel 1.

d. Khasiat

Khasiat dari buah pisang raja (*Musa paradisiaca* L. var *sapientum*) adalah dapat mendinginkan demam, melancarkan kencing, bersifat laksatif, membantu menurunkan hipertensi, dan bisa menenangkan janin (Fang dan Jun, 2002).

e. Kulit Pisang Raja

Produk utama tanaman pisang adalah buah pisang. Sementara itu, batang pisang termasuk bonggol (bagian batang paling dalam, setelah pisang dipanen) dianggap limbah. Fase pembungaan dan pembuahan setelah pembentukan sisir pisang yang terakhir, biasanya dilakukan pemotongan bunga, dan bunga

pisang yang akrab disebut jantung biasanya langsung dibuang. Selain bonggol dan jantung, kulit pisang pada umumnya juga dibuang dianggap sebagai limbah. Padahal, kulit, bonggol, dan jantung pisang mengandung gizi yang cukup, sehingga sangat potensial diolah menjadi bahan makanan dan minuman (contoh: cuka kulit pisang, dendeng jantung pisang, dan keripik bonggol pisang) (Santosa, 1995).

Tabel 1. Kandungan Gizi Pisang Raja dalam 100 g BDD

No	Kandungan Gizi	Jumlah
1.	Energi	120 kalori
2.	Protein	1,2 gram
3.	Lemak	0,2 gram
4.	Karbohidrat	31,8 gram
5.	Kalsium	10 miligram
6.	Fosfor	22 miligram
7.	Besi	0,8 miligram
8.	Vitamin A	950 S.I.
9.	Vitamin B <sub>1</sub>	0,06 miligram
10.	Vitamin C	10 miligram
11.	Air	65,8 gram

## 2.Fermentasi

### a. Pengertian Fermentasi

Pada mulanya istilah fermentasi hanya digunakan untuk menunjukkan proses pembuatan anggur. Dalam proses tersebut dihasilkan gelembung-gelembung gas seperti adanya gelembung gas pada air yang mendidih. Sejalan dengan perkembangan ilmu kimia pada waktu itu, maka dapat diketahui bahwa

pada fermentasi anggur terjadi penguraian gula menjadi etanol dan CO<sub>2</sub> (Timotius, 1982).

Fermentasi berasal dari bahasa latin *fervere* yang artinya mendidih dan digunakan untuk menggambarkan penampakan menarik dari sari anggur yang terfermentasi. Fermentasi pertama kali dikemukakan secara ilmiah oleh ahli kimia Prancis Louis Pasteur, yaitu proses peruraian gula menjadi alkohol dan karbondioksida yang disebabkan aktivitas sel-sel khamir dalam keadaan tanpa udara (Sa'id, 1987).

Meskipun pada dasarnya fermentasi dapat berlangsung menggunakan enzim tetapi sampai saat ini, industri fermentasi yang besar masih memanfaatkan mikroorganisme, antara lain karena cara ini jauh lebih mudah dan murah. Untuk mengisolasi enzim yang murni memerlukan biaya yang mahal dan ketelitian yang tinggi. Sesudah enzim dapat dipisahkan masih diperlukan cara-cara penyimpanan bahkan diperlukan yang khusus dimana memerlukan daya dan dana yang akhirnya nilai dan harga enzim sangat mahal. Mikroba yang digunakan dalam proses fermentasi antara lain: khamir, kapang dan bakteri (Winarno, 1984).

Penjelasan Pasteur disempurnakan oleh Buchner yang menunjukkan bahwa fermentasi dapat berlangsung dalam larutan gula yang ditambah dengan cairan yang diekstraksi dari sel-sel khamir yang sudah mati.

Dari ribuan macam spesies mikroorganisme yang mampu melakukan proses fermentasi hanya beberapa puluh saja yang dipilih karena kemampuannya melakukan aktivitas melalui jalur yang dikehendaki sehingga

memudahkan dalam kontrol proses. Misalnya, dari ratusan spesies khamir, bakteri dan kapang yang mampu menghasilkan alkohol hanya dua atau tiga spesies yang dipakai dalam industri, karena keunggulannya dalam hal kecepatan fermentasi, toleransi terhadap alkohol dan konsentrasi gula yang tinggi dan hasil alkohol yang banyak. Beberapa organisme tertentu memiliki lebih dari satu aplikasi industri. Sebagai contoh adalah khamir yang menghasilkan alkohol dan gliserol dari gula, mengembangkan adonan roti, serta sebagai sumber protein, vitamin dan enzim. Contoh yang khas adalah *Saccharomyces cerevisiae*, khamir yang memang umum dikenal, *Aspergillus niger* yang memproduksi asam sitrat, asam glukonat, asam oksalat, amilase dan dalam sintesa-sintesa vitamin, serta *Lactobacillus delbrueckii* yang digunakan dalam produksi asam laktat (Sa'id, 1987).

Umumnya kata fermentasi diartikan untuk semua kegiatan yang menunjukkan pada berbagai aksi mikrobial. Tetapi dalam mikrobiologi, “fermentasi” dimaksudkan sebagai aksi mikrobial tertentu dan jelas. Dalam sitologi organisme tinggi, fermentasi berarti proses-proses biokimia yang karakteristiknya sama dengan fermentasi mikrobial (Sa'id, 1987). Proses fermentasi dapat dilihat pada Gambar 1.

#### Faktor-faktor yang mempengaruhi fermentasi

Ada beberapa faktor yang mempengaruhi proses fermentasi menurut Desroisier (1998), antara lain:



### 1). pH

Pengukuran pH merupakan parameter yang mempengaruhi pertumbuhan dan pembentukan produk. Mikroba tertentu dapat tumbuh pada kisaran pH yang sesuai untuk pertumbuhannya. Sebagian besar organisme dapat berfungsi dengan baik dengan selang pH antara 3-4 unit pH. Biasanya bakteri dapat tumbuh pada pH 4-8, khamir biasanya lebih senang dalam pH 3-6, dan kapang 3-7.

### 2). Suhu

Suhu yang digunakan selama fermentasi akan mempengaruhi mikroba yang berperan dalam proses fermentasi. Jika temperatur dinaikkan maka hasil sel akan menurun karena media sebagian akan digunakan untuk mempertahankan hidup atau kebutuhan untuk mempertahankan diri meningkat (Judoamidjojo, 1992).

### 3). Oksigen

Adanya oksigen dalam proses fermentasi dapat menghambat aktivitas mikroba.

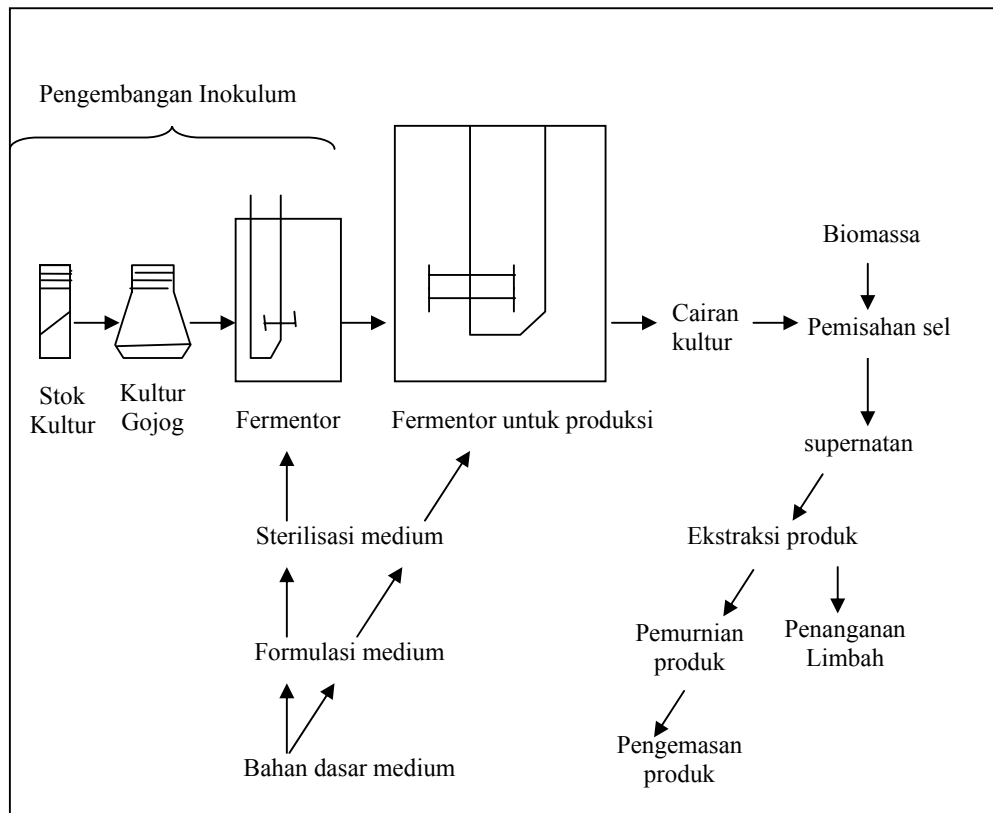
### 4). Substrat

Mikroba memerlukan substrat yang mengandung nutrisi sesuai dengan kebutuhan untuk pertumbuhan.

Fermentasi yang melibatkan kemampuan mikroba, sesuai kondisi, proses, dan hasilnya terbagi dalam dua bentuk, yaitu: proses fermentasi secara alkoholik dan proses fermentasi non alkoholik. Kedua proses fermentasi merupakan proses unik yang dilakukan oleh mikroba, cepat, murah, aman,

hemat energi, dan nilai organoleptiknya (nilai yang dapat dirasa oleh lidah) rata-rata sesuai dengan selera (Supardi, 1999).

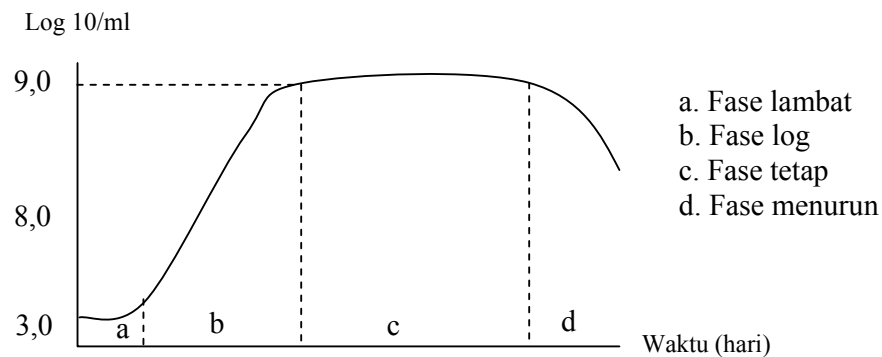
Kecepatan fermentasi akan dipengaruhi oleh konsentrasi garam logam. Pada konsentrasi rendah akan menstimulir aktivitas dan pertumbuhan khamir, sedangkan pada konsentrasi tinggi akan menghambat. Unsur yang dibutuhkan untuk aktivitas khamir antara lain adalah Mg, K, Zn, CO, Fe, Ca, Cu, P, S, dan N. Sebagai sumber P dan N ditambahkan ammonium pospat  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ , sebagai sumber N yang lain dapat ditambahkan ammonium klorida, ammonium sulfat dan ammonium karbonat (Sa'id, 1987).



Gambar 1. Skema dari proses fermentasi (Stanbury dan Whitaker, 1987)

## 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, biakan mikroba akan mengalami empat fase pertumbuhan (Buckel, 1987), dapat dilihat dalam Gambar 2.



Gambar 2. Kurva Pertumbuhan Mikroorganism

### 1). Fase lambat (*Lag phase*)

Fase lambat ini dapat terjadi antara beberapa menit sampai beberapa jam tergantung pada spesies, umur dari sel inokulum dan lingkungannya. Waktu pada fase lambat dibutuhkan untuk kegiatan metabolisme dalam rangka persiapan dan penyesuaian diri dengan kondisi pertumbuhan dalam lingkungan yang baru.

### 2). Fase log (*log phase*)

Setelah beradaptasi terhadap kondisi baru, sel-sel ini akan tumbuh dan membelah diri secara eksponensial sampai jumlah maksimum yang dapat dibantu oleh kondisi lingkungan yang dicapai.

### 3). Fase tetap (*stasionary phase*)

Pertumbuhan populasi mikroorganisme biasanya dibatasi oleh habisnya bahan gizi yang tersedia atau penimbunan zat racun sebagai bahan akhir metabolisme. Akibatnya kecepatan pertumbuhan menurun dan pertumbuhan akhirnya terhenti. Pada titik ini dikatakan sebagai fase tetap (*stationary phase*). Komposisi sel-sel pada fase ini berbeda dibandingkan dengan sel-sel saat fase eksponensial dan umumnya lebih tahan terhadap perubahan-perubahan kondisi fisik seperti panas, dingin dan radiasi maupun terhadap bahan-bahan kimia.

### 4). Fase Menurun (*decline or death phase*)

Sel-sel yang berada pada fase tetap akhirnya akan mati bila tidak dipindahkan ke media segar lainnya. Sebagaimana pertumbuhan, kematian sel juga secara eksponensial dan karenanya dalam bentuk logaritmis, fase menurun atau kematian ini merupakan penurunan secara garis lurus yang digambarkan oleh jumlah sel-sel yang hidup terhadap waktu. Kecepatan kematian berbeda-beda tergantung dari spesies mikroorganisme dan kondisi lingkungannya.

## **3. Khamir (*Saccharomyces cerevisiae*)**

Khamir adalah kapang yang tidak membentuk hifa. Lazimnya, ragi berbiak melalui pertunasan. Pertunasan dapat terjadi melalui satu ujung (pertunasan polar) atau melalui beberapa tunas disekeliling sel (pertunasan multilateral). Jenis

pertunasan merupakan ciri yang banyak digunakan dalam identifikasi khamir. Selain jenis pertunasan dapat pula digunakan bentuk dan jumlah askospora.

Identifikasi khamir dalam tingkat genus kadangkala dapat dilakukan dengan pemeriksaan mikroskopik, namun berbagai uji faali seringkali diperlukan untuk identifikasi tingkat spesies (Tabel 2).

Tabel 2. Morfologi khamir

No.	Morfologi	Genus
1.	Hanya ada pertunasan	<i>Torulopsis, Cryptococcus, Rhodotorula</i>
2.	Tunas dan pseudomiselium	<i>Candida</i>
3.	Tunas, pseudomiselium, dan arthrospora	<i>Trichosporon</i>
4.	Miselium dan arthrospora	<i>Geotrichum</i>
5.	Tunas dan askospora	<i>Saccharomyces, Hansenula</i>

(Lay, 1994).

Khamir (yeast) yang berguna dalam bidang pangan adalah *Endomycopsis*, *Saccharomyces*, *Hansenula*, dan *Candida* yang berperan dalam pembuatan tape dan brem serta bir. *Saccharomyces* sering digunakan dalam produksi alkohol, anggur, brem, gliserol, dan enzim invertase. Dalam industri alkohol dan anggur digunakan khamir yang disebut khamir permukaan (*top yeast*) yaitu khamir yang bersifat fermentatif kuat dan tumbuh dengan cepat pada suhu 20°C. Khamir permukaan tumbuh secara menggerombol dan melepaskan karbondioksida dengan cepat, mengakibatkan sel terapung pada permukaan. Sebaliknya kelompok khamir lainnya yang disebut khamir dasar (*bottom yeast*) tidak hidup menggerombol, pertumbuhannya lebih lambat, dan mempunyai suhu optimum fermentasi pada suhu yang lebih rendah yaitu 10-15°C, dikarenakan sel-selnya tidak

menggerombol, tumbuh di dasar dan memproduksi karbondioksida secara lambat, maka khamir dasar digunakan dalam industri bir. *S. cerevisiae* varietas *ellipsoideus* adalah galur yang memproduksi alkohol dalam jumlah tinggi sehingga sering digunakan dalam produksi alkohol, anggur, dan minuman keras. *S. carlsbergensis* merupakan khamir yang banyak digunakan dalam produksi bir. *S. fragilis* dan *S. lactis* dapat melakukan fermentasi terhadap laktosa, oleh karena itu digunakan dalam industri susu atau produk susu (Budiyanto, 2003).

Pemilihan mikroorganisme biasanya didasarkan pada jenis karbohidrat yang digunakan sebagai medium. Untuk memproduksi alkohol dari pati atau gula biasanya digunakan khamir jenis *Saccharomyces cerevisiae*. Seleksi tersebut bertujuan agar didapatkan mikroorganisme yang mampu tumbuh dengan cepat dan mempunyai toleransi terhadap konsentrasi gula yang tinggi, mampu menghasilkan alkohol dalam jumlah banyak dan tahan terhadap alkohol tersebut (Sa'id, 1987).

Organisme yang disebut khamir adalah termasuk subdivisio *Thallophyta* dan digolongkan dalam tiga famili yaitu *Saccharomycetaceae*, *Sporobolomycetaceae*, dan *Cryptococcaceae*. Ciri khas organisme ini adalah reproduksinya yang vegetatif disebut *Budding* atau penyembulan (Judoamidjojo, 1992).

a. Bentuk khamir

Khamir adalah mikroorganisme bersel tunggal dengan ukuran 5-20 mikron. Biasanya berukuran 5-10 kali lebih besar dari bakteri. Khamir tidak bergerak, karena itu tidak mempunyai struktur tambahan dibagian luarnya.

Beberapa jenis khamir membentuk kapsul disebelah luarnya. Tipe endospora aseksual yang tahan panas seperti yang diproduksi bakteri tidak dihasilkan oleh khamir (Volk dan Wheeler, 1993).

b. Klasifikasi

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

Divisio	: Amestigomyceta
Sub divisio	: Ascomycetae
Classis	: Ascomycetes
Ordo	: Saccharomycetales
Familia	: Saccharomycetaceae
Genus	: Saccharomyces
Spesies	: <i>Saccharomyces cerevisiae</i>

c. Komposisi

Komposisi elemen dari golongan mikroorganisme termasuk C, H, O, N, S, P, Mg dan K, harus ada dalam keseimbangan elemen. Informasi ini dapat dilihat pada Tabel 3. Elemen Fe, Zn, Cu, Mg, Co, Mo, dan B juga dibutuhkan tetapi dalam jumlah yang sedikit (Stanbury dan Whitaker, 1987).

Tabel 3. Komposisi elemen bakteri, yeast dan fungi (% bobot kering)

Elemen	Bakteri	Yeast	Fungi
Karbon	50-53	45-50	40-63
Hidrogen	7	7	
Nitrogen	12-15	7.5-11	7-10
Phosphor	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
Potasium	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
Klorida	0.5	-	-
Besi	0.02-0.2	0.01-0.5	0.1-0.2

#### 4. 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; Dewick, 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 dua golongan yaitu:

##### a. Metabolisme primer

Metabolisme 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).

b. Metabolisme sekunder

Selain metabolisme primer juga terdapat metabolisme lain yang tidak esensial bagi kehidupan mikroba dan karenanya dinamakan metabolisme sekunder (Manitto, 1981; Dewick: 1999). 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). Banyak metabolit sekunder yang mempunyai aktivitas antibakteri, beberapa merupakan inhibitor enzim yang spesifik, pemacu pertumbuhan dan beberapa lagi mempunyai efek farmakologi yang penting (Stanbury dan Whitaker, 1987; Dewick, 1999). Contoh dari metabolit sekunder adalah antibiotik, toksin dan bau-bauan (Wibowo, 1988).

Menurut Crueger dan Crueger (1984) ada enam sifat khas metabolit sekunder yaitu: (1) spesifik untuk satu atau beberapa spesies, (2) tidak diperlukan untuk pertumbuhan sel, (3) produksinya sangat dipengaruhi

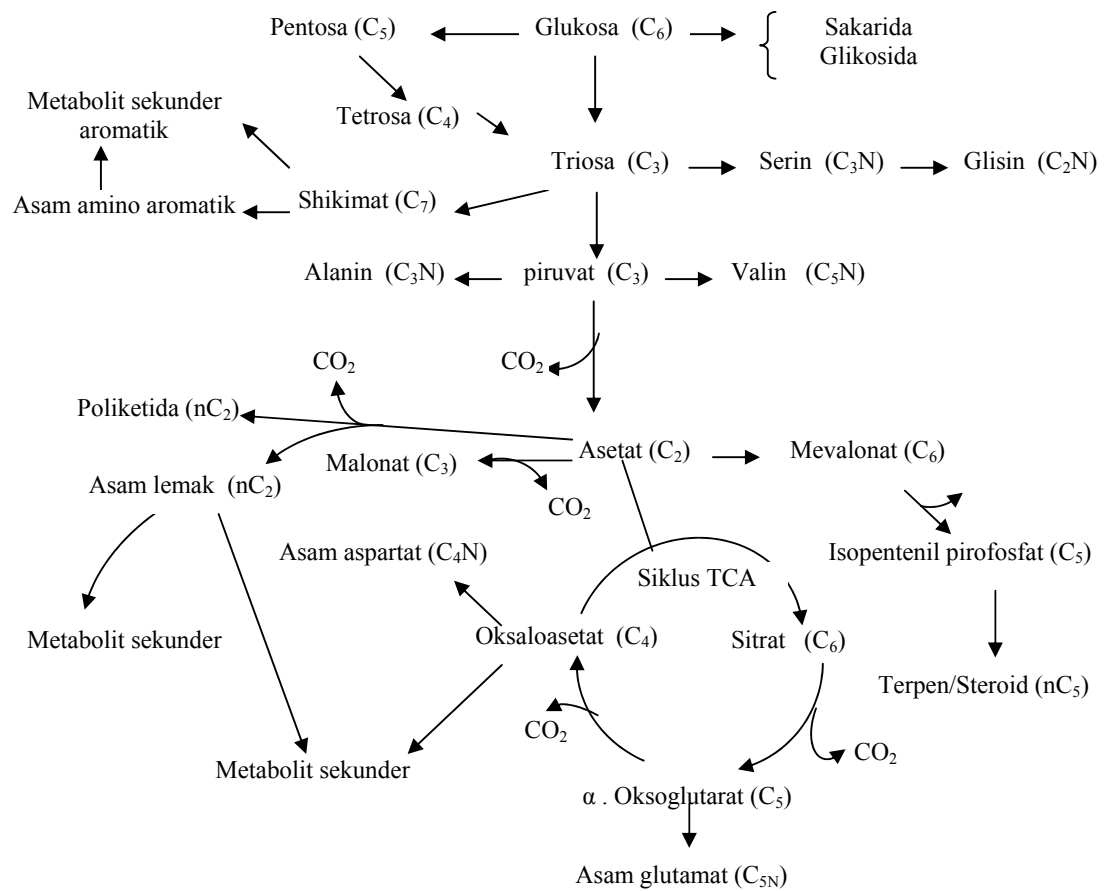
oleh faktor lingkungan, (4) beberapa diproduksi dengan kemiripan struktur. Misalnya salah satu galur *Streptomyces* memproduksi 32 macam antrasiklin, (5) biosintesisnya dikendalikan oleh mekanisme yang berbeda dengan metabolit primer dan (6) metabolit sekunder biasanya dihasilkan secara ekstraseluler.

c. Hubungan metabolisme 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 diferensiasi morfologis (Sudibyo, 1991).

Metabolisme sekunder dapat pula berkompetisi dengan metabolisme primer. Pada biakan *Streptomyces antibioticus* yang menghasilkan aktinomisin, penambahan inhibitor yang menghambat biosintesis protein selama masa idiofase memacu produk antibiotika aktinomisin (Vining, 1986 dalam Retnaningtyas, 2003).

Metabolit primer berasal dari senyawa antara maupun produk metabolit primer, sehingga banyak jalur sebagai penghubung antara jalur metabolisme primer dan metabolisme sekunder seperti pada gambar 3 (Stanbury dan Whitaker, 1987; Dewick, 1999). Hubungan antara metabolisme primer dan sekunder dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Skema hubungan antara metabolisme primer dan metabolisme sekunder (Stanbury dan Whitaker, 1987; Dewick, 1999).

## 4. Etanol

### a. Pengertian etanol

Alkohol, etanol khususnya, dapat dibuat dari berbagai bahan hasil pertanian. Secara umum bahan-bahan tersebut dapat dibagi dalam tiga golongan yaitu bahan yang mengandung turunan gula, sebagai gilingan pertama, antara lain: 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

(misalnya: gandum), kentang dan tapioka. Golongan terakhir adalah bahan yang mengandung selulosa seperti kayu dan beberapa limbah pertanian.

Bahan-bahan yang mengandung monosakarida langsung dapat difermentasikan, akan tetapi disakarida, pati ataupun karbohidrat kompleks harus dihidrolisa terlebih dahulu menjadi komponen sederhana, monosakarida. Oleh karena itu agar tahap proses fermentasi dapat berjalan dengan optimal, bahan-bahan tersebut di atas harus mengalami perlakuan pendahuluan sebelum masuk ke dalam proses fermentasi (Sa'id, 1987).

Etanol merupakan produk fermentasi yang dapat dibuat dari substrat yang mengandung karbohidrat (gula, pati, atau selulosa). Etanol merupakan nama lain dari etil alkohol yang mempunyai rumus struktur  $C_2H_5OH$ , sering pula disebut sebagai "grain alcohol" atau alkohol saja. Bentuknya berupa cairan yang tidak berwarna dan mempunyai bau yang khas. Berat jenisnya pada  $15^\circ C$  adalah sebesar 0,7937 (Judoamidjojo, 1992).

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

#### 1). Pemerian

Cairan bening tak berwarna, mudah menguap dan mudah bergerak, bau khas rasa panas. Dapat terbakar dan menimbulkan warna biru yang tak berasap.

## 2). Kelarutan

Dapat campur dalam segala perbandingan dengan air, dengan eter P, dengan gliserol P, dengan aseton P, dan dengan *chloroform* P.

## 3). Identifikasi

Campuran beberapa tetes etanol dengan 1 ml asam sulfat pekat dan beberapa tetes kalium dikromat LP; cairan itu menjadi hijau dan mengeluarkan bau asetaldehida.

## 4). Jarak Didih dan Bobot Jenis

Jarak didih etanol 77°C sampai 78,5°C dengan bobot jenis 0,8125 sampai 0,8155 (Anonim, 1995).

Di dalam perdagangan dikenal tingkat-tingkat kualitas etanol sebagai berikut:

- a). 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.
- b). 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 dan alat penerangan.
- c). Alkohol murni (96.0-96.5 °GL). Alkohol jenis ini terutama digunakan untuk kepentingan farmasi dan konsumsi (minuman keras dan lain-lain).
- d). 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 didalam pembuatan senyawa-senyawa lain skala laboratorium. Alkohol

absolut yang didenaturasi banyak digunakan sebagai bahan bakar kendaraan bermotor (Soebiyanto, 1993).

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<sup>0</sup> C.

(2). Kelarutan dalam air

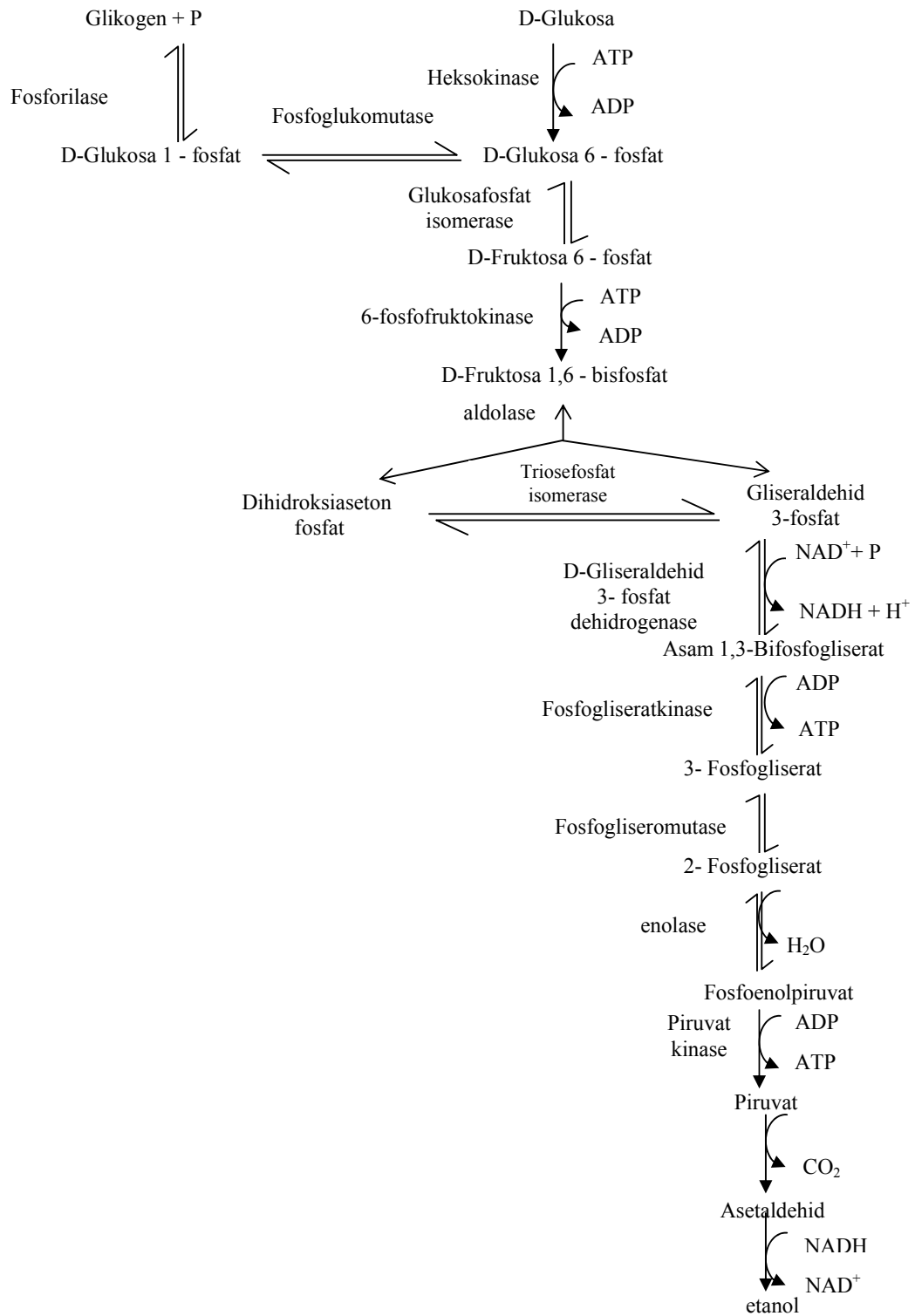
Alkohol dengan berat molekul rendah dan larut dalam air. Kelarutan dalam air ini langsung disebabkan oleh ikatan hidrogen antara alkohol dan air (Fessenden dan Fessenden, 1997).

b. Biosintesis etanol

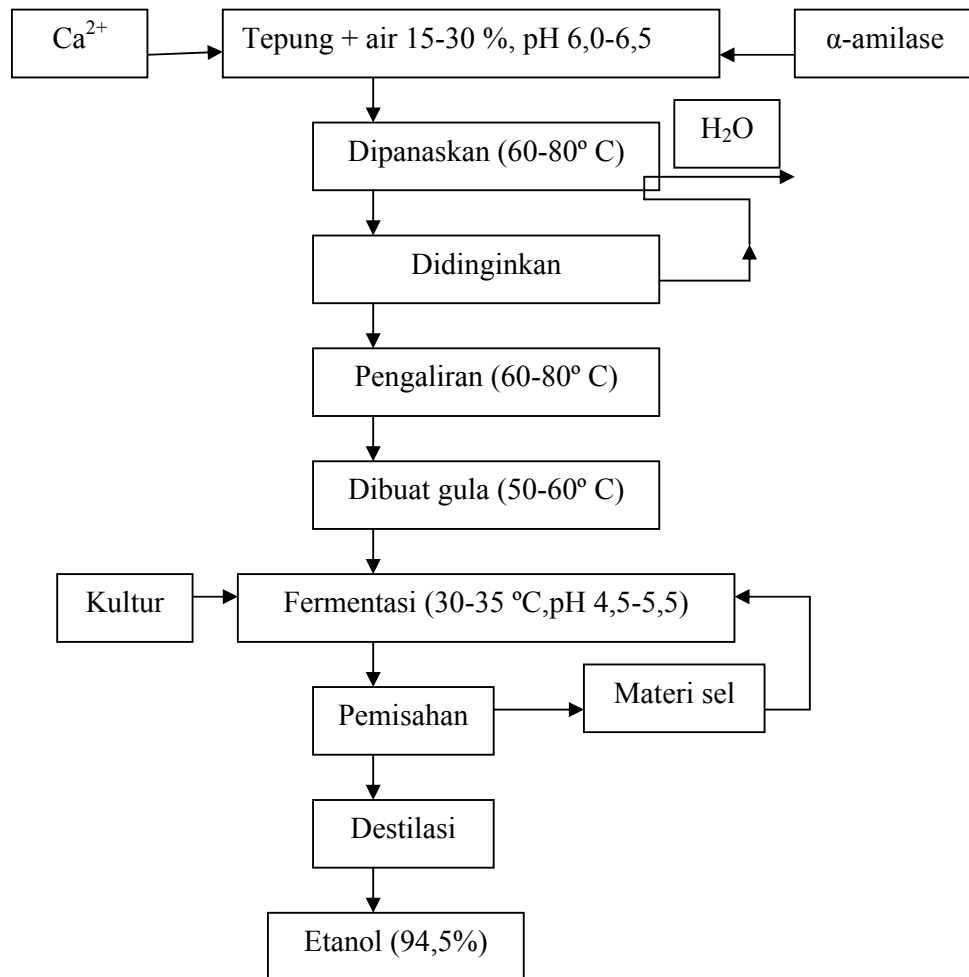
Etanol dapat diperoleh dengan mengubah glukosa dari fermentasi menggunakan khamir tertentu. Biosintesis etanol dapat dilihat pada Gambar 4. Dari 1 molekul glukosa akan terbentuk 2 molekul etanol dan karbondioksida, sehingga berdasarkan bobotnya secara teoritis 1 gram glukosa akan menghasilkan 0,51 gram etanol.

c. Fermentasi etanol

Fermentasi etanol dari tepung dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 4. Biosintesis etanol melalui jalur glikolisis



Gambar 5. Fermentasi etanol dari tepung



## 5. Kromatografi Gas

Penetapan kadar etanol dapat dilakukan dengan beberapa cara, namun kecuali dinyatakan lain, penetapan kadar etanol dilakukan dengan cara penyulingan (Hartono, 2004).

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. Pada GLC pemisahannya didasarkan atas dasar partisi (Soemarno, 2001). Bila fase diam berupa zat padat, disebut *kromatografi gas-padat* (KGP). Bila fase diam berupa zat cair, disebut *kromatografi gas-cair* (KGC). KGC digunakan untuk menganalisis gas, zat cair, dan zat padat (McNair dan Bonelli, 1998).

Dasar kerja GLC 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 GLC, yaitu :

### a. Kecepatan

- 1). Gas yang merupakan fase bergerak sangat cepat mengadakan kesetimbangan antara fase bergerak dengan fase diam.
- 2). Kecepatan gas yang tinggi dapat juga digunakan.

b. Sederhana

Alat GLC relatif mudah dioperasikan. Interpretasi langsung dari data yang diperoleh dapat dikerjakan.

c. Sensitif

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

d. Pemisahan

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

e. Analisis

a. Analisis kualitatif yaitu dengan membandingkan waktu retensi.

b. Analisa kuantitatif yaitu dengan perhitungan luas puncak.

f. Alat GLC dapat dipakai dalam waktu yang lama dan berulang-ulang.

(Sastrohamidjojo, 2005).

## **6. Medium**

Rancang bangun medium nutrien untuk pertumbuhan dan pembentukan produk merupakan langkah penentu dalam menjamin keberhasilan eksperimen atau pelaksanaan produksi. Konstituen kimiawi medium harus memenuhi semua kebutuhan elemen massa sel dan produk, dan harus dapat memasok energi secukupnya untuk sintesis dan pemeliharaan. Juga harus dicukupi nutrien spesifik seperti vitamin dan mineral yang diperlukan sangat sedikit (Judoamidjojo, 1992).

Setiap medium pertumbuhan mikrobial harus mengandung minimal elemen-elemen C, N, P, S dan Mg dalam dosis yang tepat. Misalnya, bila diinginkan mensintesa 30 g/L massa khamir menggunakan ammonium sulfat sebagai sumber N dan S, maka diperlukan suplai  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  sebanyak 12 g/L, dosis ini akan menyuplai 2,4 g/L nitrogen dan 30 g/L sulfur. Dapat dilihat bahwa kebutuhan sulfur biasanya lebih tinggi sedikit daripada nitrogen (Sa'id, 1987).

Penggunaan medium fermentasi tergantung pada jenis mikroba dan produk yang ingin diperoleh, karena medium yang tidak sesuai dapat menyebabkan perubahan jenis produk selama proses tersebut berlangsung. Senyawa-senyawa sumber karbon dan nitrogen merupakan komponen terpenting dalam medium fermentasi, karena sel-sel mikroba dan berbagai produk fermentasi sebagian besar dari unsur karbon dan nitrogen, disamping itu medium fermentasi juga harus mengandung air, garam-garam anorganik dan beberapa vitamin (Purwanti dalam Fardiaz, 2003).

### **E. Landasan Teori**

Fermentasi etanol didefinisikan sebagai perombakan anaerob karbohidrat yang menghasilkan pembentukan produk fermentasi yang stabil. Etanol merupakan produk fermentasi yang dapat dibuat dari substrat yang mengandung karbohidrat. Fermentasi etanol terjadi pada kondisi anaerob dengan menggunakan khamir tertentu yang dapat mengubah glukosa menjadi etanol. Khamir yang dapat menghasilkan etanol dari gula adalah *Saccharomyces cerevisiae*. Penelitian Santosa menyebutkan bahwa 100 kilogram kulit pisang diperoleh sekitar 120 liter

cuka pisang yang dapat digunakan sebagai cuka pada bakso dan sebagai penghilang amis pada ikan. Buah pisang raja (*Musa paradisiaca* L. var *sapientum*) mengandung karbohidrat 31,8 gram, diperkirakan kulit pisang raja (*Musa paradisiaca* L. var *sapientum*) juga mengandung karbohidrat yang dapat difermentasikan oleh *Saccharomyces cerevisiae*. Hasil dari fermentasi kulit pisang raja (*Musa paradisiaca* L. var *sapientum*) adalah etanol.

#### **F. Hipotesis**

1. Kulit pisang raja (*Musa paradisiaca* L. var *sapientum*) dapat difermentasikan oleh *Saccharomyces cerevisiae* menjadi etanol.
2. Adanya pengaruh penambahan ammonium sulfat pada media fermentasi yang dilakukan dengan substrat kulit pisang raja (*Musa paradisiaca* L. var *sapientum*), penambahan ammonium sulfat akan menghasilkan etanol yang lebih banyak dibanding tanpa penambahan ammonium sulfat.