

**PEMANFAATAN DEDAK GANDUM
(WHEAT BRAN DAN WHEAT POLLARD)
SEBAGAI SUBSTRAT PEMBUATAN ALKOHOL**

**KARYA ILMIAH TERTULIS
(SKRIPSI)**



**Diajukan guna memenuhi salah satu syarat untuk
menyelesaikan Program Pendidikan Strata Satu
Jurusan Teknologi Hasil Pertanian
Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Jember**

Oleh :

MASRONI

NIM. 971710101072

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER**

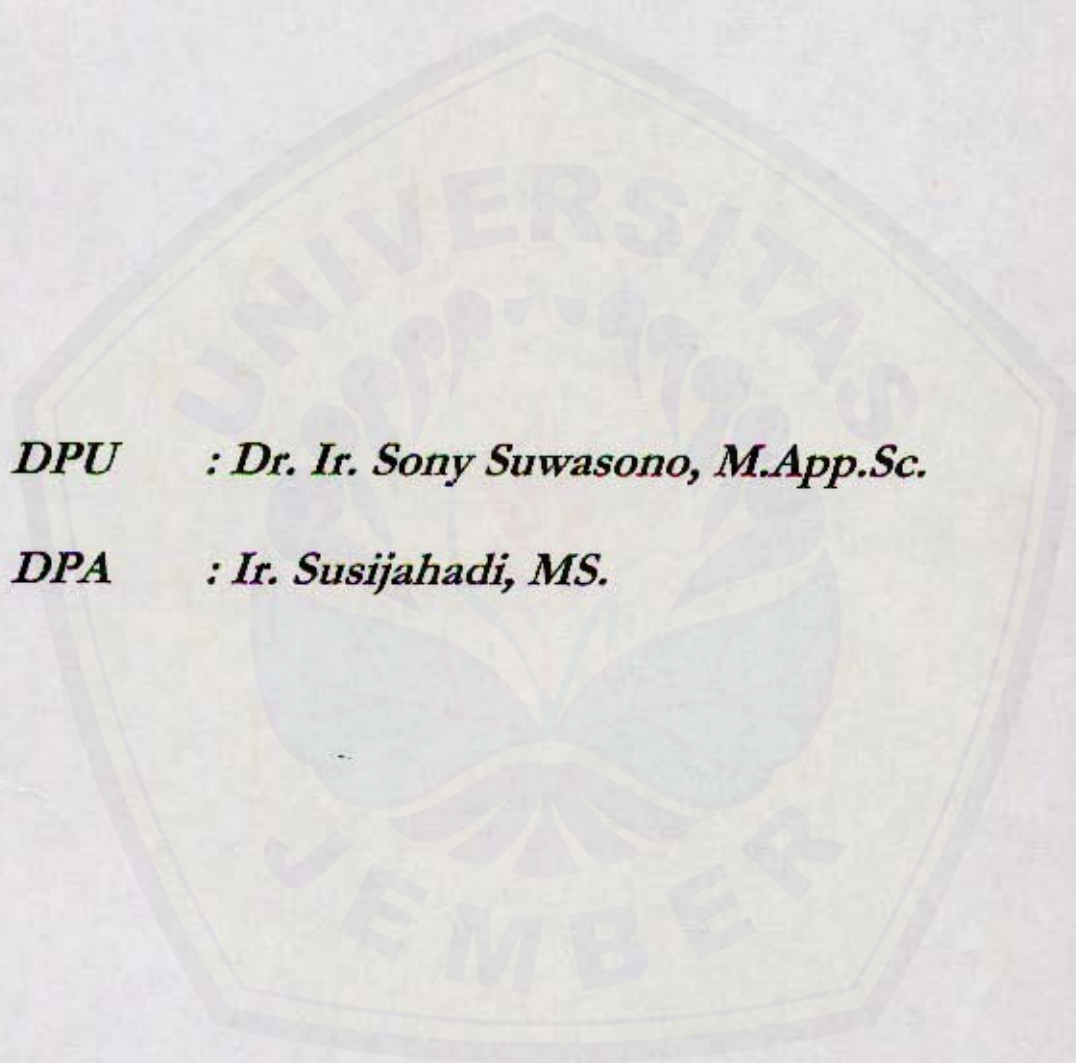
Juni, 2001

Asal :
Terima : 7. III 2001
No 1 : 10236205

5
Klass
661
MAS
P.

DPU : Dr. Ir. Sony Suwasono, M.App.Sc.

DPA : Ir. Susijahadi, MS.



Diterima Jurusan Teknologi Hasil Pertanian
Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Jember

Dipertahankan pada

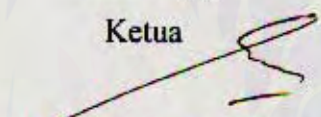
Hari : Rabu

Tanggal : 06 Juni 2001

Tempat : Fakultas Teknologi Pertanian

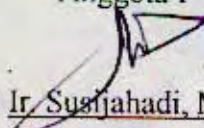
Tim Penguji

Ketua


Dr. Ir. Sony Suwasono, M.App.Sc.

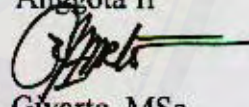
NIP. 131 832 332

Anggota I


Ir. Susjahadi, MS.

NIP. 130 287 109

Anggota II


Ir. Giyanto, MSc

NIP. 132 052 412

Mengesahkan

Bekas

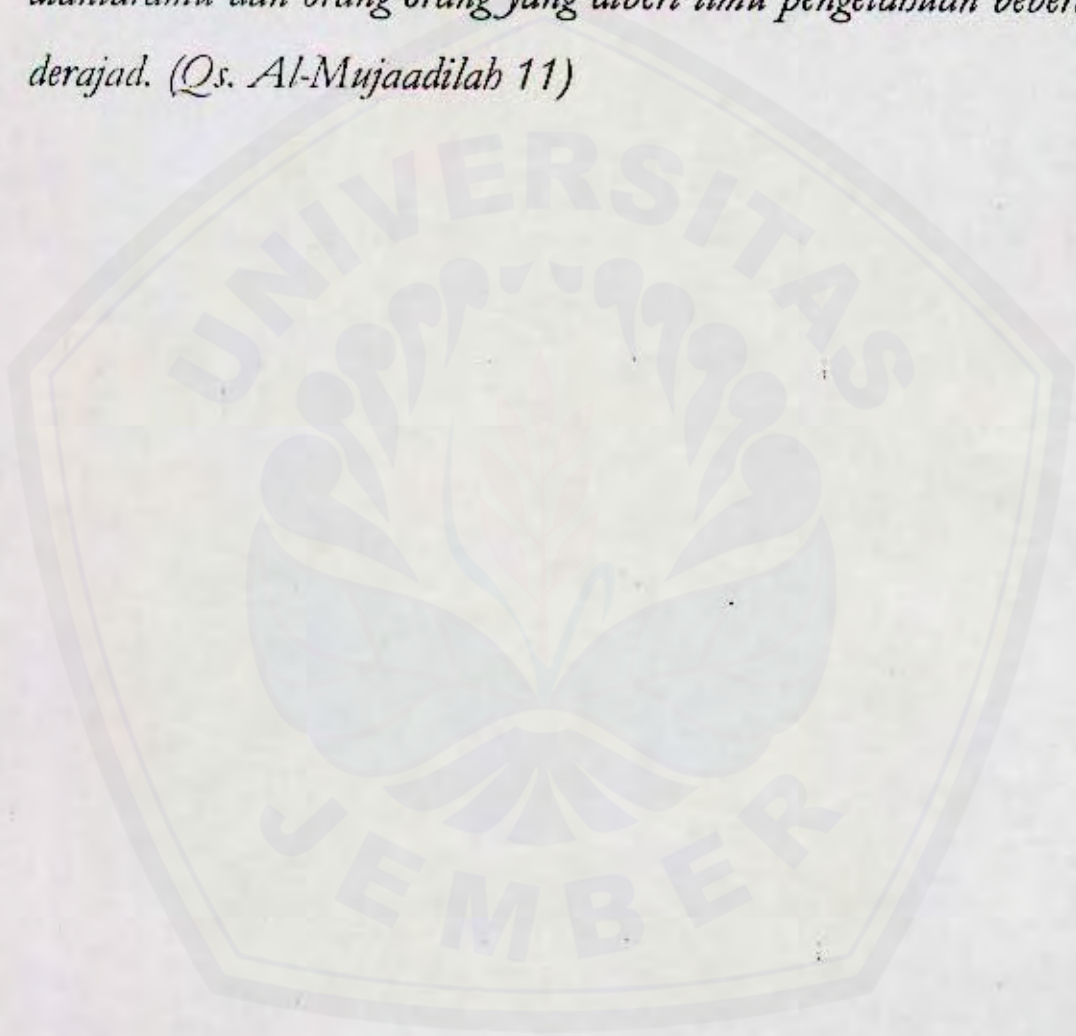

Ir. Hj. Siti Hartanti, MS.

NIP. 130 350 763



Motto

Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman diantaramu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat. (Qs. Al-Mujaadilah 11)



Karya ini kupersembahkan untuk:

1. Bapak dan Ibu tercinta yang selalu mendukung dan mendo'akanku.
2. Adik-adikku (Aan dan Azis) yang selalu kusayangi.
3. Seseorang yang amat aku sayangi dan selalu menjadi motivatorku dan sahabat-sahabatku tersayang (Ira, Frida dan Wiwit).
4. Teman-teman THP'97.
5. PT. Bogasari Flour Mills.
6. Almamater yang selalu kubanggakan.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah s.w.t atas limpahan rahmat, taufiq serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul *"Pemanfaatan Dedak Gandum (Wheat Bran dan Wheat Pollard) sebagai Substrat Pembuatan Alkohol"*.

Tujuan penyusunan skripsi ini disamping sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan Strata I (S₁) pada Jurusan Teknologi Hasil Pertanian – Fakultas Teknologi Pertanian – Universitas Jember, juga sebagai salah satu pelaksanaan dari Tri Dharma Perguruan Tinggi yaitu melakukan penelitian yang berguna bagi masyarakat.

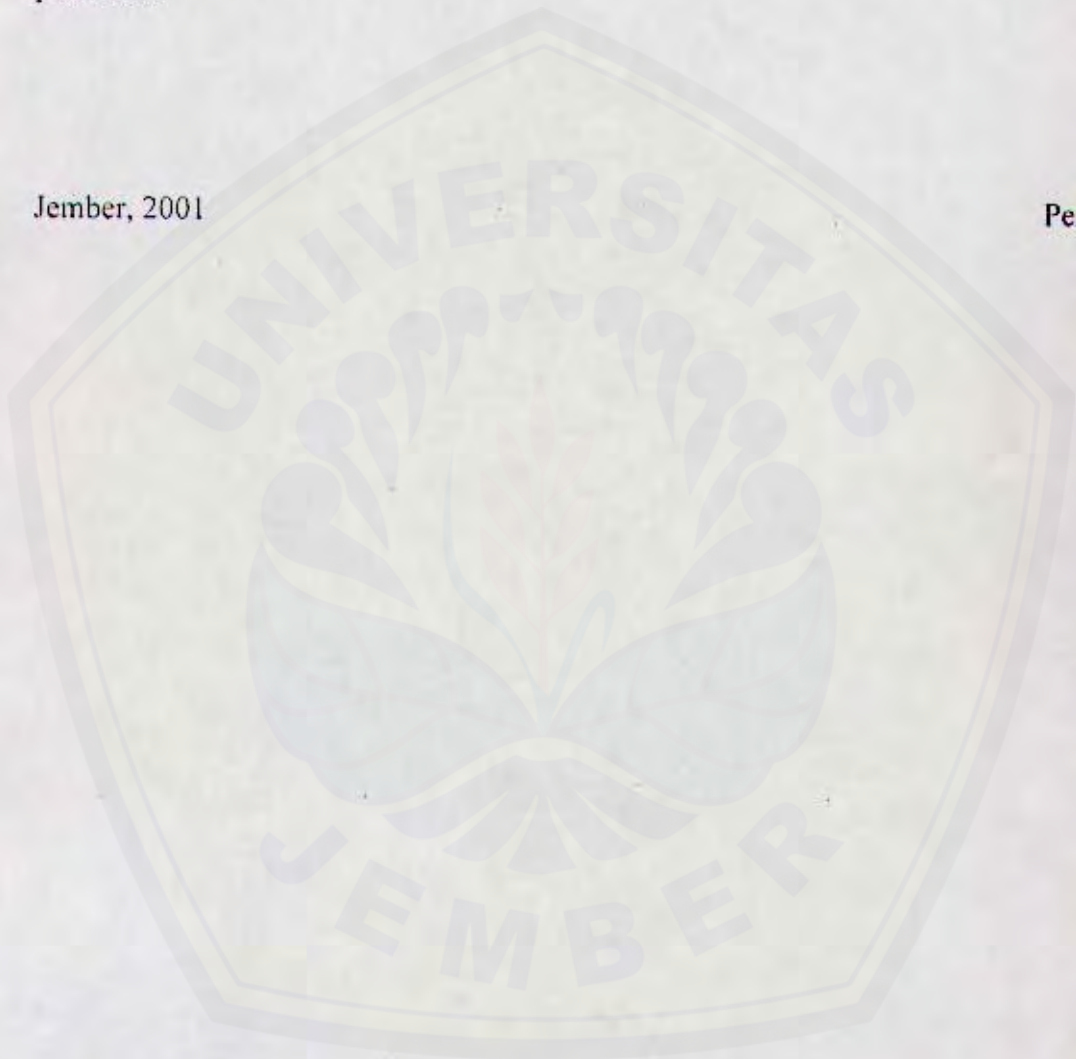
Dengan selesainya penyusunan skripsi ini, penulis menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu Ir. Hj. Siti Hartanti, MS., selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian – Universitas Jember yang telah memberikan kemudahan-kemudahan dalam menyelesaikan skripsi ini,
2. Bapak Ir. Susijahadi, MS., selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian dan Dosen Pembimbing Anggota I,
3. Bapak Dr. Ir. Sony Suwasono, M.App.Sc., selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah banyak membantu dengan memberikan arahan serta bimbingan dalam menyelesaikan skripsi ini,
4. Bapak Ir. Giyarto, MSc., selaku Dosen Pembimbing Anggota II yang telah banyak membantu dalam penyempurnaan skripsi ini,
5. PT. Bogasari Flour Mills, selaku penyandang dana dan sponsor utama dalam menyelesaikan skripsi ini,
6. Seseorang yang amat aku sayangi dan sahabat-sahabatku (Ing, Cuprit dan Twity) yang selalu membantu dan memberikan dorongan dalam menyelesaikan skripsi ini,
7. Teman-teman Tim Dedak 2000(Nuha, Ira, Nurul) yang telah banyak membantu dalam pelaksanaan penelitian dan
8. Semua pihak yang telah banyak membantu khususnya teman-teman THP'97.

Penulis menyadari, bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, untuk itu saran dan kritik yang sifatnya membangun demi sempurnanya skripsi ini sangat penulis harapkan. Dan semoga skripsi ini memberikan manfaat bagi kita semua dan dapat menambah wawasan kita tentang salah satu pemanfaatan limbah hasil pertanian.

Jember, 2001

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN	i
HALAMAN MOTTO.....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
RINGKASAN.....	xi
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Permasalahan	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	2
1.4 Kegunaan Penelitian	3
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Gandum.....	4
2.2 Dedak	4
2.3 Selulosa.....	6
2.4 Organisme Penghasil Selulase	7
2.5 Medium dan Kondisi Fermentasi untuk Produksi Alkohol	8
2.6 Perubahan yang Terjadi selama Fermentasi	10
2.7 Alkohol	10
2.8 Kegunaan Alkohol	12
2.9 <i>Aspergillus fumigatus</i>	12
2.10 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	14

2.11 Kinetika Pertumbuhan <i>A. fumigatus</i> dan <i>S. cerevisiae</i> serta Pembentukan Produk	15
2.12 Hipotesis	17
III. TINJAUAN PUSTAKA	18
3.1 Bahan dan Alat Penelitian.....	18
3.1.1 Bahan	18
3.1.2 Alat	18
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	18
3.3 Metode Penelitian	18
3.3.1 Rancangan Percobaan.....	18
3.3.2 Pelaksanaan Penelitian.....	20
3.4 Pengamatan.....	22
3.4.1 Kadar Alkohol dengan Metode Nicluox.....	22
3.4.2 Gula Reduksi dengan Metode DNS.....	22
3.4.3 Kadar Serat	23
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	24
4.1 Kadar Alkohol	25
4.2 Kadar Sisa Gula Reduksi	28
4.3 Kadar Serat	32
V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	36
5.1 Kesimpulan.....	36
5.2 Saran	36
DAFTAR PUSTAKA.....	37
LAMPIRAN.....	49

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi Kimia <i>Wheat Bran</i> dan <i>Wheat Pollard</i>	6
2. Rekapitulasi Data Hasil Penelitian	24
3. Sidik Ragam Kadar Alkohol pada Dedak Gandum (<i>Wheat Bran</i> dan <i>Wheat Pollard</i>).....	25
4. Uji Beda Jarak Berganda Duncan Kadar Alkohol pada berbagai Lama Fermentasi.....	27
5. Sidik Ragam Kadar Sisa Gula Reduksi pada Dedak Gandum (<i>Wheat Bran</i> dan <i>Wheat Pollard</i>).....	29
6. Uji Beda Jarak Berganda Duncan Sisa Gula Redukai pada berbagai Lama Fermentasi.....	31
7. Sidik Ragam Kadar Serat pada Dedak Gandum (<i>Wheat Bran</i> dan <i>Wheat Pollard</i>).....	32
8. Uji Beda Jarak Berganda Duncan Kadar Serat pada berbagai Perbandingan <i>Wheat Bran</i> dan <i>Wheat Pollard</i>	33
9. Uji Beda Jarak Berganda Duncan Kadar Serat pada berbagai Lama Fermentasi.....	34

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Jaringan Penyusun Dedak Gandum	5
2. Struktur Molekul Selulosa	7
3. Produksi Alkohol melalui Jalur Biokimia	11
4. Diagram <i>Aspergillus</i>	13
5. Kurva Pertumbuhan Bakteri	15
6. Pola Kinetika Pertumbuhan, Penggunaan Nutrien dan Pembentukan Produk pada <i>A. fumigatus</i>	16
7. Pola Kinetika Pertumbuhan, Penggunaan Nutrien dan Pembentukan Produk pada <i>S. cerevisiae</i>	17
8. Diagram Alir Pembentukan Alkohol dari Dedak Gandum.....	21
9. Hubungan antara Lama Fermentasi dan Kadar Alkohol pada berbagai Perbandingan <i>Wheat Bran</i> dan <i>Wheat Pollard</i>	28
10. Hubungan antara Lama Fermentasi dan Sisa Gula Reduksi pada berbagai Perbandingan <i>Wheat Bran</i> dan <i>Wheat Pollard</i>	31
11. Hubungan antara Lama Fermentasi dan Kadar Serat pada berbagai Perbandingan <i>Wheat Bran</i> dan <i>Wheat Pollard</i>	35

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Kurva Standart Analisa Sisa Gula Reduksi	39
2. Analisa Data.....	40
3. Kadar Alkohol	41
4. Tabel Dua Arah Faktor A dan B Kadar Alkohol.....	42
5. Uji Beda Jarak Berganda Duncan Kadar Alkohol.....	43
6. Kadar Sisa Gula Reduksi.....	44
7. Tabel Dua Arah Faktor A dan B Kadar Sisa Gula Reduksi.....	45
8. Uji Beda jarak Berganda Duncan kadar Sisa Gula Reduksi.....	46
9. Kadar Serat	47
10. Tabel Dua Arah Faktor A dan B Kadar Serat.....	48
11. Uji Beda Jarak Berganda Duncan Kadar Serat Faktor A.....	49
12. Uji Beda Jarak Berganda Duncan Kadar Serat Faktor B.....	50

Masroni (971710101072), **Pemanfaatan Dedak Gandum (*Wheat Bran* dan *Wheat Pollard*) sebagai Substrat Pembuatan Alkohol**. Dosen Pembimbing Utama Dr. Ir. Sony Suwasono, M.App.Sc., Dosen Pembimbing Anggota Ir. Susijahadi, MS.

RINGKASAN

Selulosa merupakan sumber karbon bagi sebagian mikroba saprofit, seperti *Aspergillus fumigatus*, yang akan dikonversi menghasilkan molekul glukosa. Dan molekul glukosa tersebut oleh khamir *Saccharomyces cerevisiae* dapat didegradasi menjadi alkohol dan CO₂. Penguraian limbah organik umumnya dilakukan secara sinergisme oleh beberapa mikroba saprofit. Dedak gandum yang berupa *wheat bran* dan *wheat pollard* mengandung cukup banyak selulosa (serat), sehingga berpotensi menjadi bahan baku pada pembuatan alkohol dengan bantuan aktivitas mikroba.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan perbandingan antara *wheat bran* dan *wheat pollard* dan lama fermentasi terhadap kadar alkohol yang tepat dalam pembuatan alkohol sehingga dihasilkan alkohol dengan jumlah yang tinggi.

Penelitian ini dikerjakan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang terdiri 2 faktor. Faktor pertama adalah perbandingan *wheat bran* dan *wheat pollard* yang terdiri dari 5 level (0% *wheat bran* : 100% *wheat pollard*; 25% *wheat bran* : 75% *wheat pollard*; 50% *wheat bran* : 50% *wheat pollard*; 75% *wheat bran* : 25% *wheat pollard* dan 100% *wheat bran* : 0% *wheat pollard*) dan faktor kedua adalah lama fermentasi yang terdiri 5 level (fermentasi 0, 24, 48, 72, dan 96 jam) serta 3 kali ulangan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perbandingan *wheat bran* dan *wheat pollard* tidak berpengaruh terhadap kadar alkohol yang dihasilkan karena komposisi kimia *wheat bran* dan *wheat pollard* hampir sama, sedangkan lama fermentasi sangat berpengaruh terhadap kadar alkohol yang dihasilkan karena semakin lama proses fermentasi semakin sempurna proses hidrolisis selulosa menjadi glukosa sehingga jumlah glukosa yang dapat dikonversi menjadi alkohol semakin besar. Kadar alkohol tertinggi dihasilkan dari perlakuan A₁B₅ yaitu untuk perbandingan 0% *wheat bran* dan 100% *wheat pollard* dan lama fermentasi 96 jam yaitu sebesar 0,68%.

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Butir gandum merupakan sumber nutrisi yang diperlukan dan digunakan oleh manusia sejak dulu. Seperti halnya padi, gandum tidak dapat dikonsumsi secara langsung sebagai sumber pangan, tetapi harus dilakukan penanganan pendahuluan untuk memisahkan antara bagian yang dapat dikonsumsi (endosperm) dengan hasil sampingnya (*by product*) yang berupa dedak dan lembaga. Permasalahan akan muncul saat produksi gandum dalam jumlah besar, sehingga akan menghasilkan dedak yang besar pula. Dedak gandum tersusun atas lapisan aleuron, jaringan-jaringan nusellar, lapisan biji (*testa*), sel-sel silang, hipodermis dan epidermis. Selain selulosa, nutrisi-nutrisi lain yang terdapat pada bagian dedak adalah niasin, piridoksin, asam pantotenat, riboflavin, thiamin dan protein. Secara umum komponen penyusun dedak yang terbesar adalah selulosa.

Adanya selulosa pada dedak gandum yang cukup tinggi apabila terakumulasi dalam jumlah besar akan menimbulkan pencemaran lingkungan. Salah satu cara untuk memanfaatkan limbah selulosa adalah dikonversi secara enzimatik menjadi produk-produk berguna seperti glukosa, protein sel tunggal, etanol dan lain-lain (Mendels, 1982). PT. Bogasari Flour Mills mengolah 9.500 ton gandum perhari untuk Pabrik Jakarta dan 5.500 ton gandum perhari untuk Pabrik Surabaya guna mencukupi kebutuhan tepung terigu negara yang jumlah penduduknya keempat terbesar di dunia (Anonim, 2000). Limbah yang berupa dedak gandum (*wheat bran* dan *wheat pollard*) yang dihasilkan dari proses penggilingan gandum di PT. Bogasari Flour Mills tersebut jumlahnya sekitar 28% dari jumlah total biji gandum yang diproses. Selama ini dedak yang merupakan hasil samping dari pengolahan tepung terigu pada PT. Bogasari Flour Mills belum dimanfaatkan secara optimal, yaitu hanya digunakan sebagai pakan ternak, untuk dicampur dengan jagung, tepung kedelai, dedak padi, tepung ikan dan tepung tulang yang kini industri lokal pakan ternak modern menyebutnya *pellet*. Selain itu PT. Bogasari Flour Mills juga menghasilkan produk sampingan lain yaitu tepung pollard, yang digunakan oleh

industri kayu lapis, pakan ikan dan udang serta dapat ditambahkan pada pembuatan roti *whole wheat* untuk menambah kandungan protein dan serat pada roti tersebut.

Enzim yang digunakan untuk konversi enzimatik dedak menjadi produk-produk berguna tersebut adalah enzim selulase (Winarno, 1986). Pada kondisi aerob mikroorganisme yang dapat menghasilkan enzim selulase diantaranya adalah *Aspergillus fumigatus* (Schlegel, 1994). Pada umumnya limbah hasil pertanian mengandung 30-40% selulosa dan sampai saat ini selulosa tersebut belum dimanfaatkan secara optimal.

Atas dasar pemikiran di atas, perlu kiranya dilakukan penelitian untuk dapat menghasilkan produk yang berguna bagi manusia yaitu alkohol yang akan dipergunakan sebagai salah satu cara penanganan limbah industri pengolahan gandum yang banyak mengandung selulosa.

1.2 Permasalahan

Dedak gandum (*wheat bran* dan *wheat pollard*) dapat digunakan sebagai substrat pembuatan alkohol apabila bagian selulosanya telah dihidrolisis dengan enzim selulase yang dihasilkan oleh *Aspergillus fumigatus* menjadi glukosa. Selanjutnya glukosa yang dihasilkan akan dikonversi menjadi alkohol oleh *Saccharomyces cerevisiae*. Namun berapa rasio *wheat bran* dan *wheat pollard* yang digunakan dan lama fermentasi yang sesuai belum diketahui, oleh karena itu perlu dilakukan penelitian.

1.3 Tujuan Penelitian

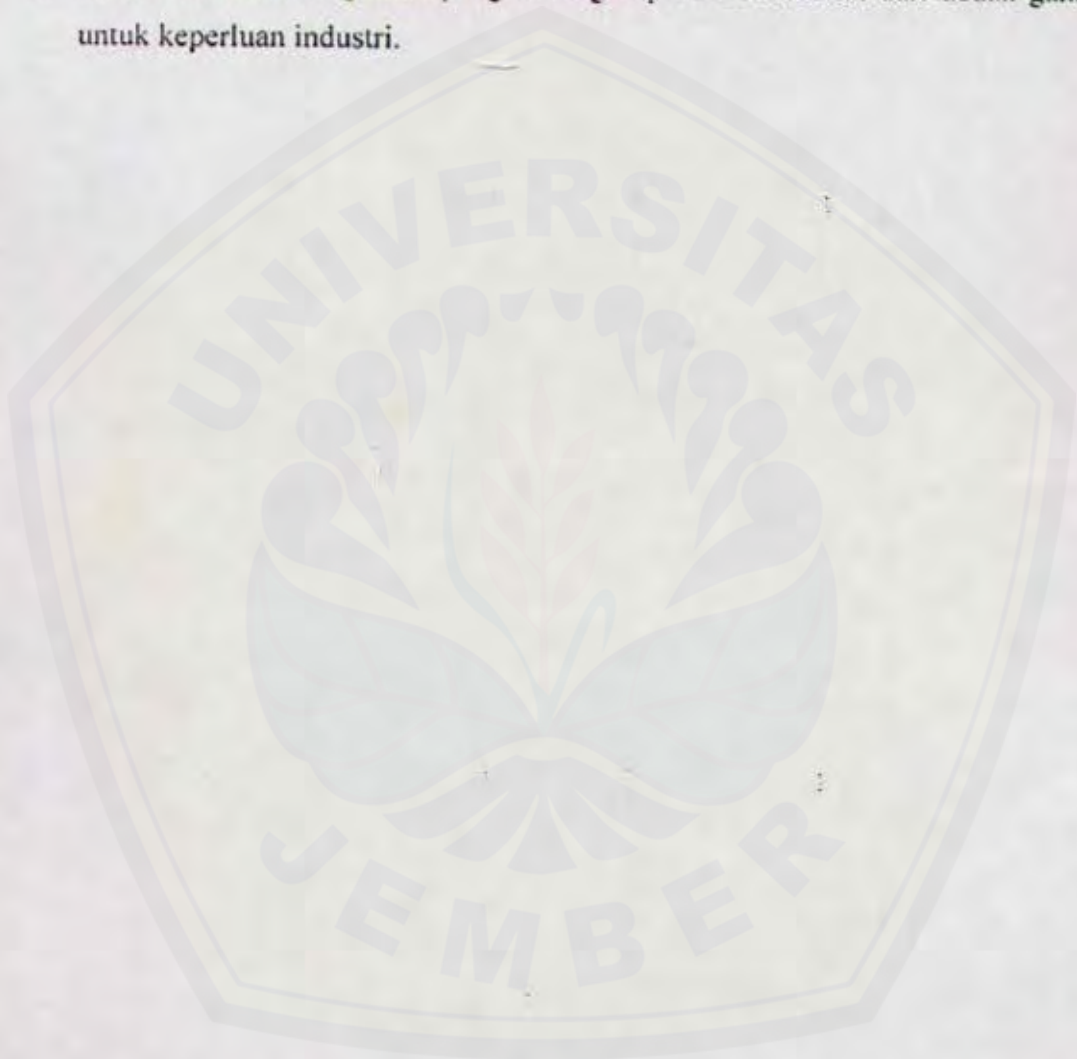
Tujuan penelitian ini adalah:

1. Mengetahui pengaruh perbandingan antara *wheat bran* dan *wheat pollard* sebagai bahan baku media terhadap alkohol yang dihasilkan.
2. Mengetahui pengaruh lama fermentasi terhadap alkohol yang dihasilkan.
3. Mengetahui pengaruh kombinasi perbandingan *wheat bran* dan *wheat pollard* dan lama fermentasi terhadap alkohol yang dihasilkan.

1.4 Kegunaan Penelitian

Kegunaan penelitian ini adalah:

1. Memberikan informasi alternatif pemecahan pemanfaatan limbah hasil pertanian yang mengandung sumber karbon potensial untuk mengurangi pencemaran.
2. Memberikan kemungkinan pengembangan produksi alkohol dari dedak gandum untuk keperluan industri.



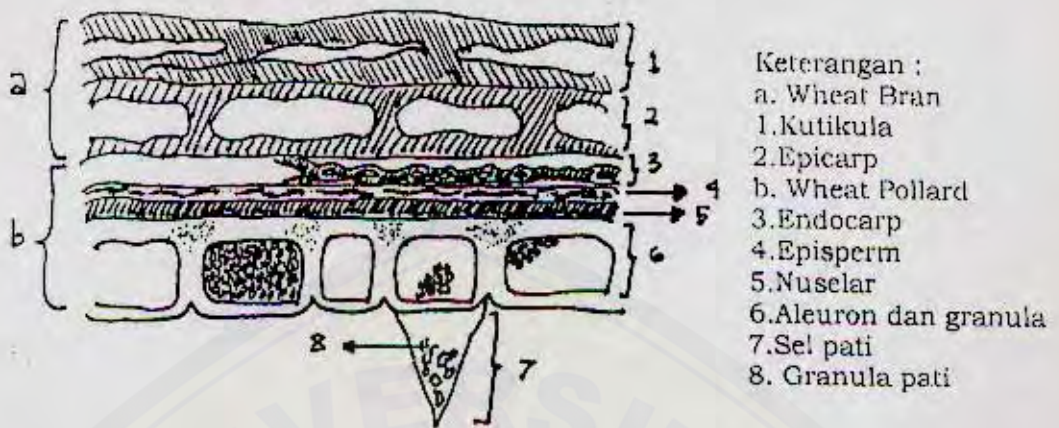
BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Gandum

Gandum merupakan salah satu tanaman pangan yang terpenting di dunia. Di dalam butir gandum terdapat nutrisi-nutrisi yang diperlukan dan digunakan oleh manusia sejak dulu. Produk-produk dari gandum merupakan sumber vitamin B seperti thiamin, niasin dan riboflavin, unsur-unsur lainnya mineral, besi, protein dan kalsium. Secara umum gandum dibagi atas tiga bagian, yaitu endosperm, dedak dan lembaga. Endosperm butir gandum terdiri atas granula-granula pati di dalam matriks protein, selulosa dan lapisan aleuron. Bagian ini menyusun $\pm 83\%$ dari seluruh butir. Merupakan sumber bagi tepung yang putih. Dedak terdiri atas lapisan aleuron, jaringan-jaringan nusellar, lapisan biji, sel-sel tabung, sel-sel silang, hipodermis dan epidermis, sekitar $\pm 14.5\%$ dari butir gandum. Lembaga terdiri atas scutellum, lembaran daun (*sheet of shoot*), lembaran rudimen, lembaran akar dan tudung akar, sekitar $\pm 2.5\%$ dari butir gandum (Novijanto, 1997).

2.2 Dedak

Lapisan dedak atau perikarpium merupakan bagian luar dari butir gandum, tersusun atas epidermis, epikarpium dan endokarpium. Lapisan dedak sebagian besar tersusun atas selulosa, beberapa jenis protein dan mineral dalam jumlah kecil. Menurut Bushuk (1986), dedak gandum tersusun atas $\pm 70\%$ senyawa karbohidrat dengan komposisi 50% adalah pentosan (hemiselulosa), 40% senyawa selulosa dan sisanya 10% senyawa gula dalam berbagai bentuk. Bagian-bagian dari dedak gandum selengkapnya dapat dilihat pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Jaringan Penyusun Dedak Gandum (Anonim, 1966).

Dedak gandum merupakan hasil samping dari proses penggilingan gandum. Dari proses penggilingan gandum tersebut dihasilkan produk berdasarkan ukuran dan kandungannya, yaitu:

1. Pollard

Merupakan kulit ari gandum yang halus, mempunyai kandungan serat dan protein yang tinggi. Pollard berasal dari bagian gandum yang dekat endosperm, sehingga mutu proteinnya lebih baik dibandingkan dengan bran walaupun jumlahnya lebih sedikit dan ukuran granulanya lebih kecil. Pollard sering digunakan untuk meningkatkan kandungan serat pada makanan (terutama pada roti *whole wheat*) dan dapat juga untuk pakan ternak.

2. Bran

Merupakan kulit gandum yang kasar dan besar dibandingkan pollard. Bran berukuran lebih besar dan berkadar protein lebih banyak daripada pollard. Bran sering digunakan sebagai bahan penambah protein dan serat pada roti *whole wheat* dan juga sebagai bahan baku pembuatan pakan ternak (Anonim, 1999).

Adapun komposisi kimia yang terdapat dalam *wheat bran* dan *wheat pollard* ditentukan pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi Kimia *Wheat Bran* dan *Wheat Pollard*

Komposisi Kimia	Wheat Bran	Wheat Pollard
% Kadar air	max. 14.0	max. 14.0
% Protein (N x 6,25) (db)	min. 14.5	min. 14.5
% Kadar abu (db)	max. 6.50	max. 5.50
% Kadar pati	max. 20.0	max. 30.0
% Lemak kasar (db)	max. 4.00	max. 4.30
% Serat kasar (db)	min. 9.50	min. 7.00

Sumber: Anonim (2000).

2.3 Selulosa

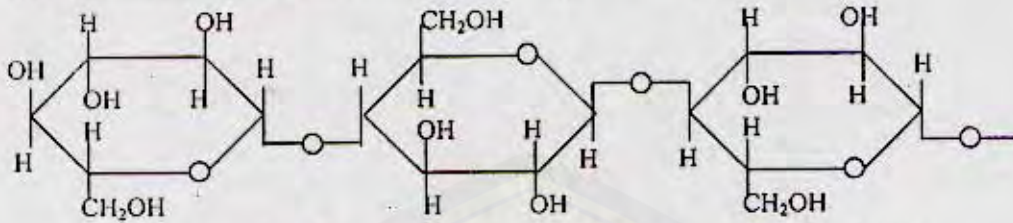
Selulosa merupakan komponen dasar dari bahan-bahan asal tumbuhan, dan produksi selulosa melampaui semua zat-zat alamiah lain. Secara kimia, selulosa adalah glukukan, karena tersusun atas satuan D-glukosa dengan ikatan 1,4- β glikosida dan membentuk molekul rantai lurus (Loveless, 1987).

Selulosa terdiri dari rantai β -D-glukosa dengan derajat polimerisasi sebesar kurang lebih 14.000. Sifat-sifat fisik dari fibril selulosa terutama kekokohannya dan ketidaklarutannya, tidak sesuai dengan struktur berupa rantai tunggal. Rantai-rantai ini harus saling berhubungan dengan cara menutupi gugus hidrofil dan peningkatan stabilitas. Scutas benang selulosa terdiri dari fibril selulosa yang diliputi oleh selaput lilin dan pektin (Schlegel, 1994).

Selulosa merupakan serat-serat panjang yang bersama-sama hemiselulosa, pektin dan lignin membentuk struktur jaringan yang memperkuat dinding sel tanaman. Selulosa bila dihidrolisis menghasilkan 2 molekul glukosa dari ujung rantai sehingga dihasilkan selobiosa (β -(1,4)-glikosida) (Winarno, 1995).

Daerah kekristalan selulosa lebih rapat dan lebih tahan terhadap enzim dan reaksi kimia bila dibandingkan dengan daerah non kristal. Daerah kristal sulit menyerap air. Selain daerah kristal, dalam selulosa juga terdapat daerah amorf yang bersifat mudah menyerap air dan mengembang. Pemanasan selulosa dapat mengakibatkan pengurangan ikatan hidrogen secara terbatas, sehingga

pengembangan lebih besar karena kandungan kristal menurun (Deman, 1989). Struktur molekul selulosa selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 2.



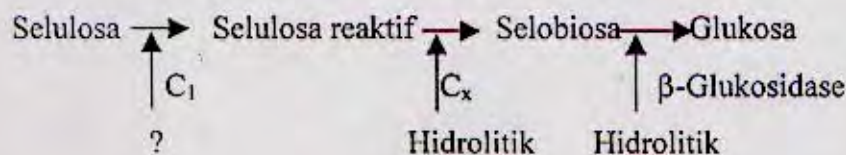
Gambar 2. Struktur Molekul Selulosa (Deman, 1989).

2.4 Organisme Penghasil Selulase

Selulase merupakan nama umum atau trivial bagi enzim, sedang nama sistematiknya adalah β -1,4 glukon-4-glukanohidrolase (EC.3.2.1.4). Istilah selulase mula-mula digunakan khusus untuk enzim yang dapat memecah selulosa kapan saja. Kini digunakan dalam arti yang lebih luas yaitu asal dapat memecahkan ikatan glikosida β -1,4 (Winarno, 1995).

Sistem katalisa dari mikroorganisme yang mengubah selulosa menjadi gula-gula sederhana tergantung tiga type enzim (Rahman, 1992). Menurut Winarno (1995), ada 3 jenis selulase yang dikenal :

- a. Faktor C_1 , yaitu suatu faktor yang belum jelas benar perannya, diperlukan untuk menghancurkan selulosa dalam bentuk kristal dengan tingkat polimerisasi yang tinggi.
- b. β -Glukanase yang terbagi dalam dua jenis, yaitu :
 1. Ekso- β -1,4-glukanase menyerupai glucoamilase.
 2. Endo- β -1,4-glukanase menghidrolisis molekul selulosa secara acak. Endo- β -1,4-glukanase inilah yang disebut faktor C_x .
- c. β -Glukosidase afinitasnya tinggi terhadap molekul kecil.



Di dalam tanah yang mendapat pengudaraan yang baik, selulosa diuraikan dan diolah oleh mikroorganisme aerob (fungi, mikrobakteri dan eubakteri), pada kondisi anaerob oleh klostridium.

Pada kondisi aerob, fungi mempunyai saham yang nyata pada penguraian selulosa. Fungi ini membuktikan diri lebih unggul dari bakteri. Spesies dari fungi yang dikenal selulolitik diantaranya adalah *Aspergillus fumigatus* (Schlegel, 1994).

2.5 Medium dan Kondisi Fermentasi untuk Produksi Alkohol

Menurut Chalal (1985), berdasarkan jenis mediumnya proses fermentasi dibagi menjadi 2 golongan yaitu fermentasi medium padat dan fermentasi medium cair. Fermentasi medium padat adalah proses fermentasi yang substratnya tidak larut dan tidak mengandung air untuk keperluan mikroba. Sebaliknya fermentasi medium cair ialah proses fermentasi yang substratnya larut dan tersuspensi di dalam fase cair.

Untuk proses fermentasi yang dibutuhkan senyawa sumber nitrogen dan mineral (baik mineral makro maupun mineral mikro). Salah satu contoh formulasi mineral dan nitrogen tersebut seperti yang dikemukakan oleh Curie (1917) di dalam Prescott dan Dunn (1959).

NH_4NO_3	2,00 – 2,50 g/l
KH_2PO_4	0,75 – 1,00 g/l
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,20 – 0,25 g/l

Menurut Buckle (1987), kemampuan mikroorganisme untuk tumbuh dan tetap hidup merupakan hal yang penting dalam ekosistem pangan. Beberapa faktor utama yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme meliputi suplai gizi, waktu, suhu, air, pH, dan ketersediaan oksigen.

a. Suplai Zat Gizi

Seperti halnya makhluk lain, mikroorganisme juga membutuhkan suplai makanan yang akan menjadi sumber energi dan menyediakan unsur-unsur kimia dasar untuk pertumbuhan sel. Unsur-unsur dasar tersebut adalah karbon, nitrogen, hidrogen, oksigen, sulfur, fosfor, magnesium, zat besi dan sejumlah kecil logam lainnya. Karbon adalah sumber energi untuk hampir semua mikroorganisme yang berhubungan dengan bahan pangan diperoleh dari

karbohidrat sederhana seperti glukosa. Kebutuhan nitrogen dapat diperoleh dari sumber-sumber anorganik seperti $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ atau NaNO_3 atau sumber-sumber organik seperti asam amino dan protein.

b. Waktu

Waktu antara masing-masing pembelahan sel berbeda tergantung spesies dan kondisi lingkungannya, tetapi untuk kebanyakan bakteri waktu ini berkisar antara 10–60 menit.

c. Suhu

Suhu adalah salah satu faktor lingkungan terpenting yang mempengaruhi kehidupan dan pertumbuhan mikroorganisme. Apabila suhu naik, kecepatan metabolisme akan naik dan pertumbuhan dipercepat. Sebaliknya apabila suhu turun, kecepatan metabolisme turun dan pertumbuhan diperlambat. Menurut Sa'id (1987), suhu yang baik untuk proses fermentasi adalah dibawah 30°C . Makin rendah suhu fermentasi makin tinggi alkohol yang dihasilkan, karena pada suhu rendah fermentasi akan lebih komplit dan kehilangan alkohol karena terbawa oleh gas CO_2 akan lebih sedikit.

d. Nilai pH

Setiap mikroorganisme mempunyai kisaran pH dimana pertumbuhannya bisa optimum. Kebanyakan mikroorganisme dapat tumbuh pada kisaran pH 6,0-8,0 dan nilai pH diluar kisaran 2,0 – 10,0 biasanya bersifat merusak. Menurut Sa'id (1987), pH optimum untuk pertumbuhan sel khamir adalah 4,0-4,5. Untuk pengaturan pH dapat digunakan NaOH untuk menaikkan dan asam nitrat untuk menurunkan. Pada pH 3,5 atau lebih rendah sedikit fermentasi masih dapat berjalan dengan baik dan pada pH ini bakteri pembusuk akan terhambat.

e. Aktivitas Air

Semua mikroorganisme membutuhkan air untuk kehidupannya. Jumlah air yang terdapat dalam bahan pangan atau larutan dikenal sebagai aktivitas air (*Water Activity = Aw*). Khamir membutuhkan nilai Aw (0,87 – 0,91) sedangkan kapang (0,80 – 0,87).

f. Ketersediaan O₂

Mikroorganisme berbeda nyata dalam kebutuhan akan oksigen untuk metabolismenya. Organisme aerob membutuhkan oksigen untuk kehidupannya, organisme anaerob tidak membutuhkan oksigen untuk kehidupannya, dan untuk golongan fakultatif bila ada oksigen akan digunakan dan bila tidak ada oksigen maka masih tetap hidup.

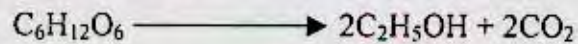
2.6 Perubahan yang Terjadi Selama Fermentasi

Selama proses fermentasi, sukrosa pada bahan mula-mula dihidrolisa menjadi glukosa dan fruktosa oleh enzim invertase, kemudian oleh aktivitas beberapa enzim, glukosa dan fruktosa ini diubah menjadi alkohol. Dalam proses fermentasi akan diperoleh hasil ikutan seperti gliserol, asam laktat, asam asetat, asetaldehid, dan 2,3 butilen glikol. Jumlah alkohol yang dihasilkan menurut teori adalah 51,1 persen dari bobot gula, tetapi dalam praktek hanya dihasilkan alkohol sebanyak 47 persen dari bobot gula. Lemak pada substrat akan diubah (dipecah) oleh enzim lipase menjadi asam lemak dan asam lemak ini akan bereaksi dengan alkohol menjadi ester, dimana ester inilah yang menjadi komponen utama pembentuk aroma dan flavour. Aroma dan flavour dari minuman beralkohol terutama disebabkan oleh alkohol, ester, asam lemak dan komponen karbonil (Sa'id, 1987).

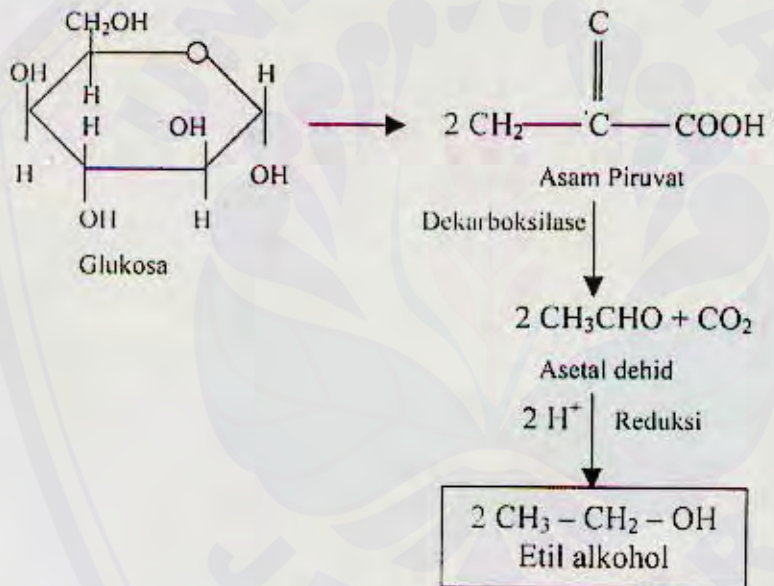
2.7 Alkohol

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 golongan pertama antara lain molase, gula tebu, gula bit dan sari buah yang umumnya adalah sari anggur. Golongan kedua adalah bahan-bahan yang mengandung pati seperti biji-bijian (gandum misalnya), kentang dan tapioka. Jenis atau golongan yang terakhir adalah bahan yang mengandung selulosa seperti kayu dan beberapa limbah pertanian. Selain ketiga jenis bahan tersebut di atas, khususnya etanol dapat dibuat juga dari bahan bukan asli pertanian tetapi dari bahan yang merupakan hasil proses lain, sebagai contohnya adalah etilen (Sa'id, 1987).

Secara kimiawi, reaksi dalam proses fermentasi ini berjalan cukup panjang, karena terjadi suatu deret reaksi yang masing-masing dipengaruhi oleh enzim khusus. Tetapi secara sederhana dapat ditunjukkan dengan reaksi sebagai berikut:



Fermentasi alkohol dilakukan dalam keadaan anaerob dengan menggunakan khamir tertentu yang dapat mengubah glukosa menjadi etanol melalui jalur Emden Meyerhoff-Parnas Pathway. Dari satu molekul glukosa akan membentuk 2 molekul etanol dan 2 molekul CO_2 (Judoamidjojo, dkk, 1992). Reaksi selengkapnya dapat dilihat pada **Gambar 3**.



Gambar 3. Produksi Alkohol Melalui Jalur Biokimia (Cappucino dan Sherman, 1992)

Pemilihan mikroorganisme yang digunakan pada proses fermentasi biasanya didasarkan pada jenis karbohidrat yang digunakan sebagai medium. Sebagai contoh untuk memproduksi alkohol dari pati dan gula digunakan *Saccharomyces cerevisiae* dan kadang-kadang digunakan juga *Saccharomyces ellipsoides*. 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).

Menurut Sa'id (1987), bahwa pada hasil fermentasi biasanya hanya terbentuk larutan alkohol yang encer, karena sel-sel khamir akan mati bila kadar alkohol melebihi 12-15 persen. Untuk mendapatkan alkohol yang lebih pekat, larutan tersebut harus disuling bertingkat. Dengan penyulingan ini dapat diperoleh alkohol yang kadarnya mencapai 95 persen.

Alkohol tersebut masih mengandung minyak arak, yaitu suatu campuran amil alkohol yang sangat beracun. Bila disulingkan sekali lagi akan didapatkan alkohol (etanol) murni, akan tetapi kadarnya tidak lebih dari 95,5 persen. Hal ini disebabkan karena garis didih dari susunan H_2O : C_2H_5OH mempunyai harga minimum pada 4,5 persen air dan 95,5 persen alkohol sehingga larutan 95,5 persen mempunyai titik didih tetap dan tidak dapat dipekatkan lagi dengan penyulingan (Sa'id, 1987).

2.8 Kegunaan Alkohol

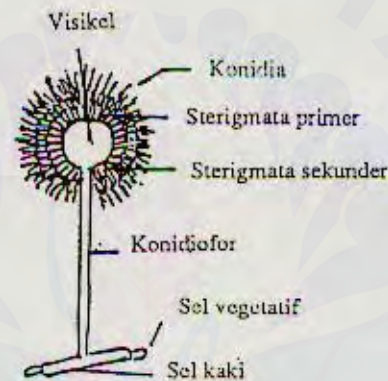
Alkohol mempunyai bermacam-macam kegunaan, salah satu diantaranya ialah sebagai bahan baku dalam pembuatan senyawa-senyawa anorganik lain seperti asam asetat. Pada pembuatan asam asetat alkohol dioksidasikan dengan bantuan mikroba *Acetobacter*. Eter diperoleh dengan memanaskan alkohol dan asam sulfat pekat pada suhu $135^{\circ}C$. Kloroform diperoleh dengan jalan memanaskan etanol dengan kapur klor, pengoksidasi dan basa. Iodoform diperoleh dengan mereaksikan alkohol dengan KOH dan Iod.

Alkohol merupakan pelarut pada pembuatan pernis, juga pelarut bagi bahan organik lainnya seperti minyak wangi, iodium tinctur, kamper spiritus, brand spiritus. Di Laboratorium digunakan untuk melarutkan senyawaan yang bersifat polar tetapi tidak diharapkan terjadinya hidrolisa. Kegunaan lainnya ialah sebagai bahan bakar, setelah terlebih dahulu didenaturasikan, yaitu ditambahkan metanol yang racun dan piridinan yang biasanya busuk serta suatu zat warna, sehingga alkohol tersebut tidak dapat diminum dan harganya lebih ekonomis (Sa'id, 1987).

2.9 *Aspergillus fumigatus*

Karakteristik dari genus *Aspergillus* adalah miseliumnya terdiri dari hifa yang bercabang-cabang dan berseptat, berwarna terang atau tak berwarna. Miseliumnya

sebagian masuk ke dalam medium dan sebagian keluar. Sel kaki terkadang di dalam medium dan terkadang di luar dan lebih besar dari bagian lain serta berdinding lebih tebal. Dan sel kaki timbul konidiofor dan tumbuh tegak lurus. Apeks atau ujung atasnya membentuk visikel dengan membesar. Visikel tersebut akan ditumbuhi sterigmata primer dan sekunder. Sterigmata menghasilkan konidia. Konidia terbentuk oleh pemanjangan atau pembelahan sel sterigmata. Kepala spora bervariasi dalam pengaturan, warna, ukuran dan bentuk (Judoamidjodo, dkk, 1992).



Gambar 4. Diagram *Aspergillus* (Judoamidjodo, dkk, 1992)

Jamur *Aspergillus* hidup berkoloni pada makanan, pakaian dan alat-alat rumah tangga. koloninya berwarna abu-abu, hitam, kuning atau coklat, dan hidup baik pada tempat-tempat yang lembab atau kurang sinar matahari (Prawirobartono, 1991).

Berbagai *Aspergillus* yang banyak digunakan dalam industri fermentasi adalah *A. flavus*, *A. oryzae* dan *A. fumigatus* (Judoamidjodo, dkk, 1992). Dari beberapa jenis *Aspergillus* tersebut yang dikenal selulolitik yaitu memiliki kemampuan menghasilkan enzim selulase ekstraseluler yang dapat menghidrolisis selulosa menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana adalah *A. fumigatus* (Schlegel, 1994).

2.10 *Saccharomyces cerevisiae*

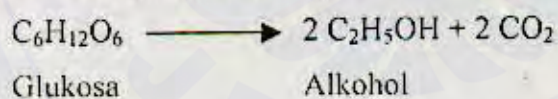
Spesies ini di dalam kehidupan sehari-hari disebut ragi atau khamir yang diperlukan untuk membuat tape dan roti (Prawirohartono, 1991).

Pada umumnya ragi untuk roti dan minuman keras biasanya menggunakan strain *Saccharomyces cerevisiae* karena populasinya lebih murni. *Saccharomyces cerevisiae* dalam kondisi lingkungan yang terisolasi dari udara mampu memfermentasi karbohidrat menjadi etanol dan CO₂ (Pederson, 1971). Selain populasinya yang lebih murni, kelebihan lain yang dimiliki oleh *S. cerevisiae* yaitu mampu menghasilkan alkohol dalam jumlah yang cukup tinggi, mampu tumbuh lebih cepat pada substrat organik dan toleransi terhadap perubahan kondisi sekeliling tidak terlalu besar (Kuswanto dan Sudarmadji, 1987).

Menurut Anonim (1997), khamir ada dua jenis, yaitu:

- Oksidatif, yang memerlukan oksigen untuk pertumbuhan misalnya pada film yeast.
- Fermentatif, bersifat fakultatif anaerob. Jadi apabila ada oksigen tumbuhnya cepat dan apabila tidak ada oksigen tumbuhnya lambat karena pemecahan gula secara anaerob (fermentatif).

Khamir fermentatif dapat melakukan fermentasi alkohol, yaitu memecah glukosa melalui glikolisis menghasilkan alkohol dan CO₂ dengan reaksi:



Khamir yang digunakan dalam pembuatan bir adalah spesies *Saccharomyces* yang bersifat fermentatif kuat. Dengan adanya oksigen *S. cerevisiae* dapat melakukan respirasi yaitu merubah gula menjadi CO₂ dan H₂O.



Energi yang dihasilkan pada respirasi lebih tinggi dibandingkan dengan fermentatif.

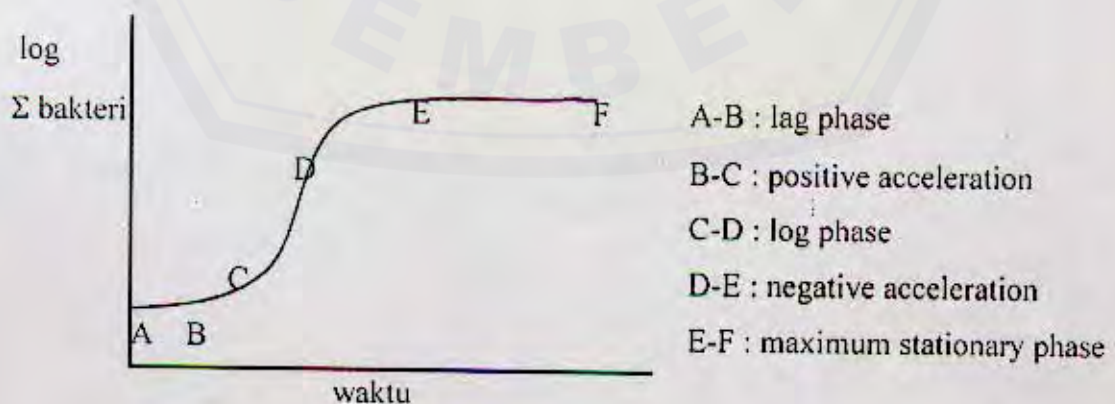
2.11 Kinetika Pertumbuhan *A. fumigatus* dan *S. cerevisiae* serta Pembentukan Produk

Secara umum pertumbuhan atau perbanyakan mikroba dibagi menjadi beberapa fase yaitu lag phase, positive acceleration, log phase, negative acceleration

dan maximum stationary phase. Pada "lag phase" atau fase adaptasi mikroba mengalami suatu adaptasi lingkungan, sehingga tidak ada pertumbuhan/perbanyakan.

Setelah melewati "lag phase" atau fase penyesuaian maka bakteri mulai memperbanyak diri, sehingga disini mulai terlihat adanya pertumbuhan mikroba dan fase ini disebut dengan pertumbuhan mulai naik atau "positive acceleration". Selanjutnya dalam kondisi lingkungan yang sangat menunjang kehidupan bakteri maka akan terjadi pembelahan dan pertumbuhan yang kecepatannya luar biasa dan mengikuti bilangan eksponensial yang disebut dengan fase logaritmis atau "log phase" (exponential phase). Terbentuknya sejumlah besar bakteri dalam suatu medium yang jumlahnya tertentu maka kemudian terjadi hambatan perbanyakan dan pertumbuhan sehingga akibat kondisi lingkungan yang kurang mendukung seperti "over crowded", tumbuhnya zat penghambat dan zat makanan yang mulai terbatas sehingga terjadi pertumbuhan yang mulai berkurang atau "negative acceleration".

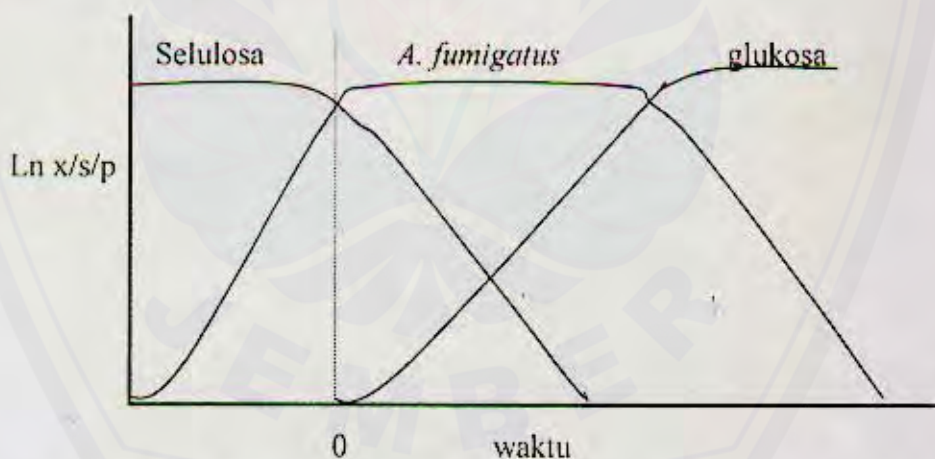
Kondisi yang kurang menguntungkan ini semakin bertambah waktu semakin buruk bagi perbanyakan dan pertumbuhan bakteri sehingga yang terjadi adalah jumlah hasil pembelahan sama atau sepadan dengan jumlah kematian. Oleh karena itu jumlahnya selalu tetap, maka fase ini dinamakan stasioner atau "maximum stationary phase" (Mangunwidjaja dan Suryani, 1994). Untuk memperjelas kinetika pertumbuhan bakteri tersebut dapat dilihat dari **Gambar 5**.



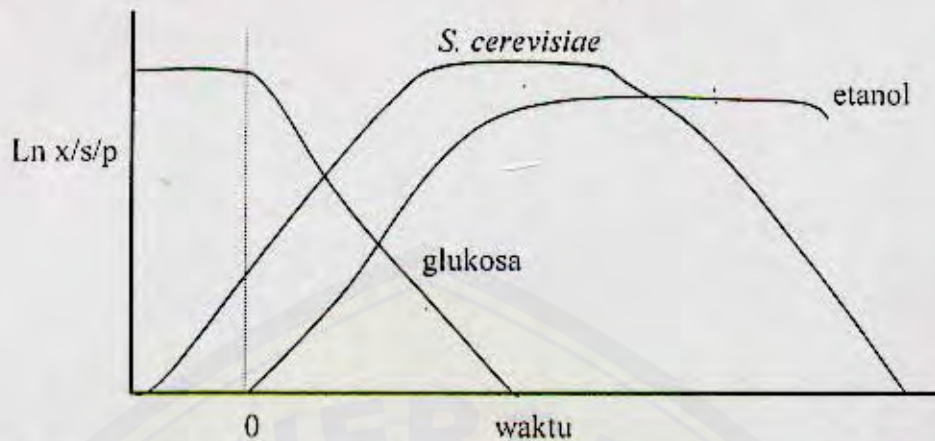
Gambar 5. Kurva Pertumbuhan Bakteri (Mangunwidjaja dan Suryani, 1994)

Menurut Sa'id (1987), grafik pertumbuhan bakteri di atas dapat dipadukan dengan grafik penggunaan nutrisi dan pembentukan produk, karena ketiganya dapat dihubungkan secara stoikiometri.

Pola pertumbuhan *A. fumigatus* dan *S. cerevisiae* juga mengikuti pola pertumbuhan bakteri di atas, namun keduanya memiliki pola pembentukan produk yang berbeda. Pola pembentukan produk pada *A. fumigatus* mengikuti pola sintesis produk setelah pertumbuhan terhenti (Alexander, dkk, 1995). Sedangkan pada *S. cerevisiae* pertumbuhan terjadi tanpa adanya pembentukan produk, tetapi setelah selang waktu tertentu produk mulai terbentuk dan pertumbuhan terus berlangsung (Sa'id, 1987). Menurut Mangunwidjaja dan Suryani (1994), pola pembentukan produk dalam proses fermentasi gula menjadi alkohol adalah pola pertumbuhan berasosiasi dengan pembentukan produk. Untuk memperjelas pola pertumbuhan, penggunaan nutrisi dan pembentukan produk pada *A. fumigatus* dan *S. cerevisiae* dapat dilihat pada **Gambar 6.** dan **Gambar 7.**



Gambar 6. Pola Kinetika Pertumbuhan, Penggunaan Nutrien dan Pembentukan Produk pada *A. fumigatus* (Alexander, dkk, 1995).



Gambar 7. Pola Kinetika Pertumbuhan, Penggunaan Nutrien dan Pembentukan Produk pada *S. cerevisiae* (Sa'id, 1987).

Keterangan:

X : Konsentrasi sel *A. fumigatus* atau *S. cerevisiae*

S : Konsentrasi substrat yang digunakan *A. fumigatus* atau *S. cerevisiae*

P : Konsentrasi produk yang dihasilkan *A. fumigatus* atau *S. cerevisiae*

2.12 Hipotesa

Hipotesa dalam penelitian ini adalah:

1. Perbandingan antara *wheat bran* dan *wheat pollard* akan berpengaruh terhadap kadar alkohol.
2. Lama fermentasi oleh *A. fumigatus* dan *S. cerevisiae* akan berpengaruh terhadap kadar alkohol.
3. Kombinasi perlakuan antara perbandingan *wheat bran* dan *wheat pollard* dan lama fermentasi oleh *A. fumigatus* dan *S. cerevisiae* akan berpengaruh terhadap kadar alkohol.
4. Pada perbandingan *wheat bran* dan *wheat pollard* dan lama fermentasi tertentu akan dihasilkan alkohol dalam jumlah besar.

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

3.1 *Bahan dan Alat Penelitian*

3.1.1 *Bahan*

Bahan-bahan yang digunakan ada 2 jenis, yaitu:

- a. Bahan dasar yang digunakan adalah dedak gandum (*wheat bran* dan *wheat pollard*), isolat *Aspergillus fumigatus*, *Saccharomyces cerevisiae*, PDA (Potato Dextrose Agar, dan MEB (Malt Extract Broth).
- b. Bahan kimia yang digunakan adalah KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, aquadest, $\text{Ca}(\text{OH})_2$, DNS (Dinitro Salisilat), NaOH, $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, NH_4NO_3 , KI, Na-Thiosulfat, amilum 1% dan glukosa anhidrat.

3.1.2 *Alat*

Alat-alat yang digunakan antara lain erlenmeyer (500 ml, 250 ml, 100 ml dan 25 ml), tabung reaksi, penangas air, water bath, pipet volume, pipet tetes, corong, timbangan, shaker, termometer, kertas whatman, ayakan 40 mesh, oven, autoklaf, sentrifuge, jarum ose, bunsen, spectronic 20, kuvet, pendingin balik, spatula, labu ukur (250 ml, 100 ml, 50 ml dan 10 ml), buret dan pH-meter.

3.2 *Tempat dan Waktu Penelitian*

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Pengendalian Mutu bagian Mikrobiologi Pengolahan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember. Penelitian dilaksanakan selama 6 bulan mulai bulan September 2000 sampai bulan Maret 2001.

3.3 *Metode Penelitian*

3.3.1 *Rancangan Percobaan*

Penelitian ini dilaksanakan dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang terdiri dari 2 faktor dan faktor A terdiri dari 5 level, faktor B terdiri dari 5 level serta 3 kali ulangan.

Faktor yang pertama yang digunakan dalam penelitian ini adalah perbandingan antara *wheat bran* dan *wheat pollard* (faktor A).

A_1 : 0% : 100%

A_2 : 25% : 75%

A_3 : 50% : 50%

A_4 : 75% : 25%

A_5 : 100% : 0%

Sedangkan faktor yang kedua adalah lama fermentasi (faktor B)

B_1 : fermentasi 0 jam

B_2 : fermentasi 24 jam

B_3 : fermentasi 48 jam

B_4 : fermentasi 72 jam

B_5 : fermentasi 96 jam

Dalam penelitian ini terdapat kombinasi perlakuan sebagai berikut:

A_1B_1

A_2B_1

A_3B_1

A_4B_1

A_5B_1

A_1B_2

A_2B_2

A_3B_2

A_4B_2

A_5B_2

A_1B_3

A_2B_3

A_3B_3

A_4B_3

A_5B_3

A_1B_4

A_2B_4

A_3B_4

A_4B_4

A_5B_4

A_1B_5

A_2B_5

A_3B_5

A_4B_5

A_5B_5

Menurut Gaspersz (1991), model linier yang digunakan adalah:

$$Y_{ijk} = \mu + K_k + A_i + B_j + (AB)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Dimana:

Y_{ijk} = nilai pengamatan dari kelompok ke-k yang memperoleh tahap ke-i dari faktor A dan taraf ke-j dari faktor B

μ = nilai rata-rata sesungguhnya

K_k = pengaruh aditif dari kelompok ke-k

A_i = pengaruh aditif dari taraf ke-i faktor A

B_j = pengaruh aditif dari taraf ke-j faktor B

$(AB)_{ij}$ = pengaruh interaksi ke-i faktor A dan taraf ke-j faktor B

ϵ_{ijk} = pengaruh galat percobaan pada kelompok ke-k yang memperoleh taraf ke- i faktor A, taraf ke-j faktor B

Pada penelitian ini juga digunakan uji lanjutan yaitu Uji Beda Jarak Berganda Duncan, yang digunakan untuk mengetahui level mana yang memberikan hasil yang maksimum terhadap perlakuan.

3.3.2 Pelaksanaan Penelitian

a. Tahap Persiapan Bahan Baku Media

Dedak gandum yang terdiri dari *wheat bran* dan *wheat pollard* digiling kemudian diayak menggunakan ayakan 40 mesh.

b. Tahap Pembuatan Medium Terendam (Submerged Culture)

Dedak gandum yang sudah digiling (20 g) ditambah aquadest (200 ml) dengan perbandingan 1:10 (konsentrasi 10%)

c. Persiapan Kultur Mikroba

1). Kultur *Aspergillus fumigatus*

Kultur murni *A. fumigatus* diperbanyak pada media PDA (Potato Dextrose Agar) dengan metode agar miring. Inokulasi perbanyakan dilakukan selama 48 jam pada suhu kamar.

2). Starter *Saccharomyces cerevisiae*

Satu ose biakan *S. cerevisiae* dari agar miring diinokulasikan dalam 100 ml MEB (Malt Extract Broth) dan diinkubasikan pada suhu 30°C selama 24 jam.

d. Inokulasi

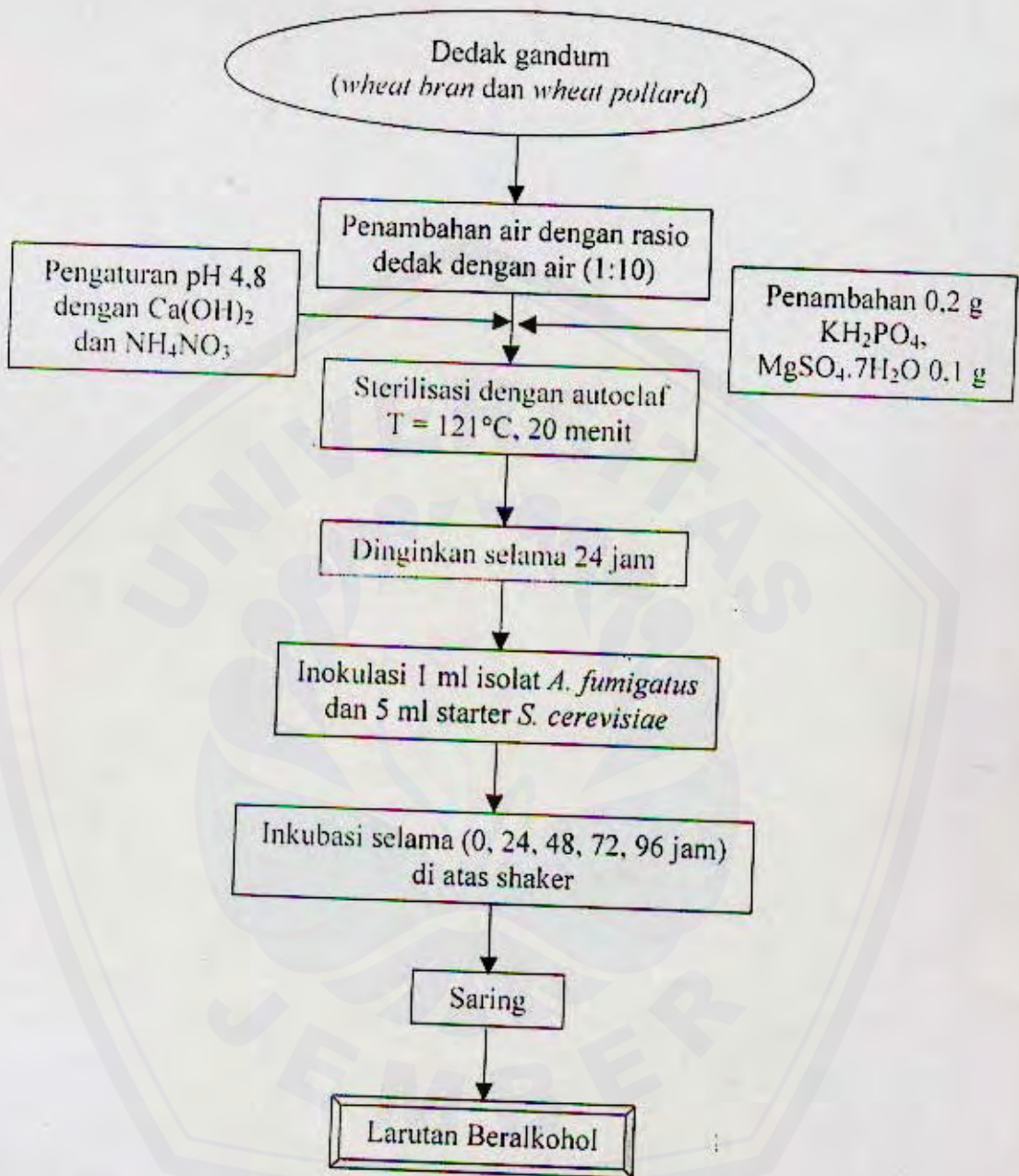
1). Kultur murni *A. fumigatus* yang telah diinkubasikan diambil dan dimasukkan ke dalam 100 ml aquadest steril. Suspensi tersebut kemudian diambil 1 ml dan dimasukkan dalam medium terendam (submerged culture) yang telah disterilkan.

2). Inokulan *S. cerevisiae* dari starter diambil 5 ml dan diinokulasikan ke dalam medium cair yang telah disterilkan bersama-sama dengan inokulan *A. fumigatus*.

e. Inkubasi dan Analisa Hasil

Media yang telah diinokulasikan dengan suspensi kultur murni *A. fumigatus* dan starter *S. cerevisiae*, selanjutnya diinkubasi di atas shaker pada suhu kamar dengan lama fermentasi tertentu sesuai dengan perlakuan. Setelah lama fermentasi selesai kemudian dilakukan penyaringan dan dihasilkan alkohol, yang kemudian dapat dilakukan analisa hasil.

Untuk memperjelas proses pembuatan alkohol dari dedak gandum tersebut dapat dilihat dari diagram alir yang ditunjukkan pada **Gambar 8**.



Gambar 8. Diagram Alir Pembuatan Alkohol dari Dedak Gandum

3.4 Pengamatan

Pengamatan penelitian dilakukan pada jam ke-0, ke-24, ke-48, ke-72 dan ke-96 terhadap kadar alkohol, sisa gula terfermentasi dan kadar serat.

3.4.1 Kadar Alkohol dengan Metode Nicloux (Anonim, 1996)

- Pipet filtrat (hasil fermentasi *S. cereviceae*) sebanyak 1 ml ke dalam erlenmeyer, tambahkan $K_2Cr_2O_7$ 0,3472 N sebanyak 2,5 ml secara hati-hati sambil digoyang-goyang.
- Dipanaskan pada pendingin balik selama 15 menit untuk oksidasi alkohol menjadi asam cuka secara sempurna.
- Dinginkan dan aduk baik-baik, tambahkan kedalamnya 1,5 gr KI kemudian diamkan selama 5 menit.
- Titrasi dengan Na-thiosulfat 0,1 N setelah ditambahkan indikator amilum 1% 1ml. Titrasi dilakukan sampai terjadi perubahan warna.
- Dibuat blanko dengan prosedur analisa sama, hanya bahan yang digunakan aquadest.
- Selisih titrasi blanko dengan sampel ekuivalen dengan jumlah ml larutan $K_2Cr_2O_7$ 0,3472 N yang digunakan untuk mengoksidasi alkohol (1 ml $K_2Cr_2O_7$ 0,3472 N dapat mengoksidasi 4 mg alkohol menjadi asam asetat).

$$\text{Kadar Alkohol} = \frac{\text{ml } K_2Cr_2O_7 \times 4 \times fp}{\text{Jumlah Sampel}} \times 100\%$$

3.4.2 Gula reduksi dengan Metode DNS (Chaplin and Kennedy, 1994)

- Pembuatan kurva standart
 - Membuat larutan glukosa anhidrat standart (10 mg / 100 ml). Ditimbang glukosa anhidrat 10 mg dan dilarutkan dalam labu ukur 100 ml.
 - Dibuat larutan glukosa 0 mg/ml, 0.1 mg/ml, 0.2 mg/ml, 0.4 mg/ml, 0.6 mg/ml, 0.8 mg/ml dan 1.0 mg/ml.
 - Disiapkan 7 tabung reaksi yang telah diberi tanda batas dari hasil kalibrasi dengan volume 10 ml aquadest. Setiap tabung diisi 1 ml larutan glukosa anhidrat standart dan ditambahkan 1 ml pereaksi DNS dan dipanaskan pada penangas air suhu 100°C selama 20 menit.

- Setelah endapan melarut tambahkan aquadest sampai batas 10 ml.
- Diukur absorbansinya pada $\lambda = 570$ nm dan ditentukan kurva standartnya.
- Pengujian sampel
 - Ambil 1 ml sampel dan tambahkan 1 ml larutan DNS.
 - Masukkan dalam penangas air selama 20 menit pada suhu 100° C.
 - Setelah didinginkan tambahkan aquadest sampai tanda batas 10 ml.
 - Mengukur absorbansinya pada $\lambda=570$ nm dengan spectronic 20.

3.4.3 Kadar Serat

- Timbang 1 gr bahan.
- Ekstraksi lemak dengan soxhlet.
- Tambahkan 100 ml H_2SO_4 0,255 N mendidih kemudian panaskan pada pendingin balik selama 30 menit.
- Saring residu yang tertinggal dalam erlenmeyer, cuci erlenmeyer tersebut dengan aquadest mendidih dan residu yang tertinggal dalam kertas saring tambah pp 1% 2 tetes dan cuci dengan NaOH 0,313 N sampai tidak asam.
- Residu dalam kertas saring dicuci dengan aquadest mendidih 100 ml dan panaskan pada pendingin balik selama 30 menit.
- Saring dengan kertas yang telah diketahui beratnya dan cuci kertas saring dengan K_2SO_4 10% (5 ml) dan erlenmeyer dengan aquadest mendidih.
- Tambahkan 7,5 ml alkohol 95% pada kertas saring.
- Oven kertas saring pada suhu 100° C selama 24 jam.

$$\text{Kadar Serat} = \frac{C - B}{A} \times 100\%$$

Keterangan:

A = Berat bahan awal

B = Berat kertas saring

C = Berat bahan dan kertas saring setelah dioven.



BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan hal-hal sebagai berikut:

1. Rasio perbandingan antara *wheat bran* dan *wheat pollard* tidak berpengaruh terhadap jumlah alkohol yang dihasilkan selama proses fermentasi pada medium terendam (submerged culture) *wheat bran* dan *wheat pollard*.
2. Lama fermentasi sangat berpengaruh terhadap jumlah alkohol yang dihasilkan selama proses fermentasi pada medium terendam (submerged culture) *wheat bran* dan *wheat pollard*.
3. Selama proses fermentasi terjadi penurunan secara nyata kadar serat yang terkandung pada medium terendam (submerged culture) *wheat bran* dan *wheat pollard* dan peningkatan kadar gula reduksi sampai dengan 148,443 mg/ml lalu diikuti penurunan kembali gula tersebut sampai 13,957 mg/ml.
4. Kadar alkohol tertinggi diperoleh dari perlakuan A₁B₅ yaitu ratio 0% *wheat bran* dan 100% *wheat pollard* dengan lama fermentasi 96 jam, perlakuan ini menghasilkan alkohol dengan kadar 0,683%.

4.2 Saran

1. Ketersediaan substrat dan kondisi acerasi yang mamadahi sangat mendukung keberhasilan dan efisiensi proses fermentasi alkohol. Pada proses produksi alkohol dari dedak gandum diperlukan sinergisme antara kapang dan khamir yang digunakan. Dan mengingat kedua jenis mikroba tersebut mempunyai lama fase-fase pertumbuhan dan masa inkubasi yang berbeda. Maka kemungkinan efisiensi dan produktivitas fermentasi alkohol dapat ditingkatkan dengan penelitian pengaturan saat inkubasi *Aspergillus fumigatus* dan *Saccharomyces cerevisiae*.
2. Perlu dilakukan kalibrasi alat dan bahan kimia sebelum digunakan dalam penelitian atau mencari metode pengukuran kadar alkohol yang lebih baik agar dihasilkan alkohol dengan kadar yang lebih tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexander, M., D.A Hopwood, B.H Iglewski dan A.T Lasken, 1992, *Encyclopedia of Microbiology Volume 1 A-C*, Academic Press, Inc, San Diego.
- Alexander, M., D.A Hopwood, B.H Iglewski dan A.T Lasken, 1995, *Encyclopedia of Microbiology Volume 2 D-L*, Academic Press, Inc, San Diego.
- Anonim, 1966, *The Practise of Flour Mills*, The Nothern Publishing Co. Ltd., Liverpool.
- Anonim, 1996, *Analisis Hasil Pertanian*, Jember University – Press, Jember.
- Anonim, 1997, *Mikrobiologi Pengolahan I*, FTP-Unej, Jember.
- Anonim, 1999, *Warta Bogasari (Bogasari Baru menuju Milenium Baru) No. 37 Th x/1999*, Jakarta.
- Anonim, 2000, *Warta Bogasari*, Jakarta.
- Buckle, K.A., 1987, *Ilmu Pangan*, UI-Press, Jakarta.
- Bushuk, W., 1986, *Wheat: Chemistry and User*, University of Manoitoba Winnipeg, Canada.
- Cappucino, J.G dan N. Sherman, 1992, *Microbiology a Laboratory Manual Third Eddition*, The Benjamin/Cummings Publishing Company Inc. West Port, London.
- Chalal, D.S., 1985, Solid Stage Fermentation with *Trichoderma reesei* for Cellulase Production, *Apll, Environ, Microbial*.
- Daman, J.M., 1989, *Kimia Makanan*, ITB-Press, Bandung.
- Judoamidjojo, M., A. Darwis dan E.G Sa'id, 1992, *Teknologi Fermentasi*, Rajawali Press, Jakarta.
- Kuswanto, K. dan S. Sudarmadji, 1987, *Proses-proses Mikrobiologi Pangan*, Pusat antar Universitas Pangan dan Gizi UGM-Press, Yogyakarta.
- Loveless, A.R., 1987, *Prinsip-prinsip Biologi Tumbuhan untuk Daerah Tropik I*, Gramedia, Jakarta.
- Mangunwidjaja, D. dan A. Suryani, 1994, *Teknologi Bio Proses*, Penebar Swadaya, Jakarta.
- Mendels, 1982, *Cellulases*, Annual Reports on Fermentation Process 5, 34-44.

- Novijanto, N., 1997, *Pengetahuan Bahan*. Jember University – Press, Jember.
- Pederson, C.S., 1971, *Microbiology of Food Fermentation*, The Avi Publishing Company Inc. West Port, London.
- Prescot, S.C dan C.G Dunn, 1959, *Industrial Microbiology*. Mc Grow Hill Book Company. New York.
- Prawirohartono, S., 1991, *Biologi*. Erlangga, Jakarta.
- Rahman, A., 1992, *Kimia Makanan*, ITB-Press, Bandung.
- Sa'id, E.G., 1992, *Bio Industri: Penerapan Teknologi Fermentasi*, Mediyatama Sarana Perkasa, Jakarta.
- Schlegel, 1994. *Mikrobiologi Umum*, Gadjah Mada University-Press, Yogyakarta.
- Sudarmadji, dkk., 1989, *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*, Liberty, Yogyakarta.
- Winarno, F.G., 1986, *Kimia Pangan dan Gizi*, Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Winarno, F.G., 1995, *Enzim Pangan*, Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.

LAMPIRAN 1

Kurva Standart Analisa Sisa Gula Reduksi

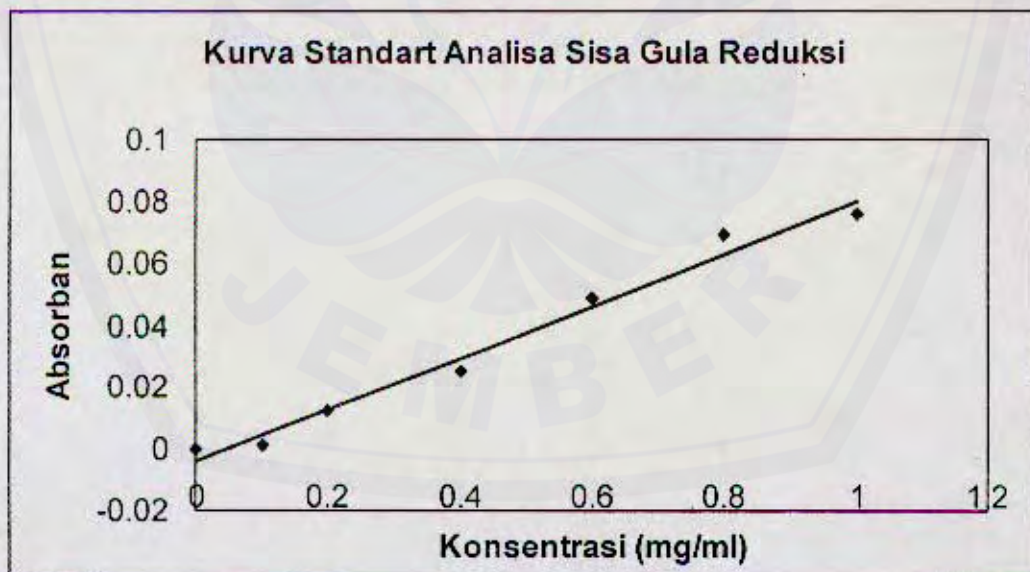
<i>Konsentrasi (mg/ml)</i>	<i>Absorban pada $\lambda = 570 \text{ nm}$</i>
0,1	0,001
0,2	0,012
0,4	0,025
0,6	0,049
0,8	0,069
1,0	0,076

$$y = bx + a$$

$$y = 0,087506849 x - 6,54520547 \cdot 10^{-3}$$

y = Absorbansi pada pada $\lambda = 570 \text{ nm}$

x = Konsentrasi gula reduksi (mg/ml)



LAMPIRAN 2

ANALISA DATA

Rumus-rumus yang digunakan:

$$FK = \frac{\sum ij^2}{t.r}$$

$$JKT = \sum Y_{ij}^2 - FK$$

$$JKP = \frac{\sum p^2}{r} - FK = \frac{(Y_{10}^2 + Y_{11}^2 + \dots + Y_{ij}^2 + \dots + Y_{rt}^2)}{r} - FK$$

$$JKA = \frac{\sum A^2}{r.b} - FK = \frac{(Y_{10}^2 + Y_{11}^2 + \dots + Y_{ij}^2 + \dots + Y_{rt}^2)}{r.b} - FK$$

$$JKB = \frac{\sum B^2}{r.a} - FK = \frac{(Y_{10}^2 + Y_{11}^2 + \dots + Y_{ij}^2 + \dots + Y_{rt}^2)}{r.a} - FK$$

$$JKAB = JKP - (JKA + JKB)$$

$$KT = \frac{JK}{db}$$

$$F \text{ hitung} = \frac{KT}{KTG}$$

$$KK = \frac{\sqrt{KTG}}{y} \times 100\%$$

$$y = \frac{\sum ij}{rt}$$

Keterangan:

FK = faktor koreksi KK = koefisien korelasi
 JK = jumlah kuadrat T,P,A,B,G = total, perlakuan, faktor A, faktor B, galat
 KT = kuadrat tengah db = derajat bebas

LAMPIRAN 3

Parameter : **Kadar Alkohol**
 Desain : RAK Faktorial 5x5

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	I	II	III		
A1B1	0	0.01	0.03	0.04	0.013
A1B2	0.14	0.44	0.24	0.82	0.273
A1B3	0.4	0.57	0.49	1.46	0.487
A1B4	0.45	0.58	0.65	1.68	0.560
A1B5	0.64	0.7	0.71	2.05	0.683
A2B1	0.05	0.03	0.02	0.1	0.033
A2B2	0.19	0.17	0.09	0.45	0.150
A2B3	0.45	0.31	0.4	1.16	0.387
A2B4	0.5	0.58	0.53	1.61	0.537
A2B5	0.61	0.64	0.66	1.91	0.637
A3B1	0.02	0.04	0.04	0.1	0.033
A3B2	0.14	0.12	0.22	0.48	0.160
A3B3	0.21	0.17	0.48	0.86	0.287
A3B4	0.46	0.36	0.55	1.37	0.457
A3B5	0.61	0.64	0.58	1.83	0.610
A4B1	0.06	0.05	0.02	0.13	0.043
A4B2	0.15	0.1	0.22	0.47	0.157
A4B3	0.26	0.2	0.44	0.9	0.300
A4B4	0.55	0.49	0.52	1.56	0.520
A4B5	0.57	0.66	0.58	1.81	0.603
A5B1	0.01	0.04	0.02	0.07	0.023
A5B2	0.1	0.12	0.2	0.42	0.140
A5B3	0.28	0.29	0.5	1.07	0.357
A5B4	0.55	0.4	0.62	1.57	0.523
A5B5	0.64	0.56	0.63	1.83	0.610
Jumlah	8.04	8.27	9.44	25.75	
Rata-rata	0.321	0.331	0.378		0.343

LAMPIRAN 4

Tabel dua arah Faktor A dan B

Faktor A	Faktor B					Jumlah	Rata-rata
	B1	B2	B3	B4	B5		
A1	0.04	0.82	1.46	1.68	2.05	6.05	0.403
A2	0.1	0.45	1.16	1.61	1.91	5.23	0.349
A3	0.1	0.48	0.86	1.37	1.83	4.64	0.309
A4	0.13	0.47	0.9	1.56	1.81	4.87	0.325
A5	0.07	0.42	1.07	1.57	1.83	4.96	0.331
Jumlah	0.44	2.64	5.45	7.79	9.43	25.75	
Rata-rata	0.029	0.176	0.363	0.519	0.629		0.343

LAMPIRAN 5

Uji Beda Jarak Berganda Duncan

Parameter	:	Kadar Alkohol
Faktor	:	Lama Fermentasi
KT Galat	=	0.189502
dB Galat	=	48
SD	=	0.112399

Perlakuan	B1	B2	B3	B4	B5
Rata-rata	0.029	0.176	0.363	0.519	0.629
p		2	3	4	5
SSR 5%		2.852	2.998	3.092	3.158
DMRT 5%		0.320	0.337	0.347	0.355
Beda rata-rata					
B1		0.147	0.334	0.49	0.599
B2			0.187	0.343	0.453
B3				0.156	0.265
B4					0.109
B1	-----	-----	-----		
B2		-----	-----	-----	
B3			-----	-----	-----
B4				-----	-----
Notasi	-C	bc	bc	ab	a

Hasil uji beda jarak berganda Duncan

Perlakuan	Rata-rata	Rank	SSR 5%	DMRT 5%	Notasi
B5	0.629	1	3.158	0.355	a
B4	0.519	2	3.092	0.347	ab
B3	0.363	3	2.998	0.337	bc
B2	0.176	4	2.852	0.3200	bc
B1	0.029	5			c

Keterangan : Huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada Uji Duncan taraf 5%

LAMPIRAN 6

Parameter : Kadar Sisa Gula Reduksi
 Desain : RAK Faktorial 5x5

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	I	II	III		
A1B1	97.65	22.34	13.57	133.56	44.520
A1B2	158.56	101.43	131.93	391.92	130.640
A1B3	166.22	112.89	166.22	445.33	148.443
A1B4	131.93	86.22	154.79	372.94	124.313
A1B5	12.43	33.38	12.05	57.86	19.287
A2B1	93.84	25.38	13.19	132.41	44.137
A2B2	109.08	93.84	105.27	308.19	102.730
A2B3	131.93	143.36	128.13	403.42	134.473
A2B4	101.46	105.24	116.5	323.2	107.733
A2B5	17.38	26.91	12.81	57.1	19.033
A3B1	90.03	18.91	18.91	127.85	42.617
A3B2	101.46	120.51	86.22	308.19	102.730
A3B3	143.36	149.08	108.88	401.32	133.773
A3B4	105.27	93.84	97.45	296.56	98.853
A3B5	17.63	18.53	9.77	45.93	15.310
A4B1	90.03	18.91	11.29	120.23	40.077
A4B2	109.08	86.22	91.64	286.94	95.647
A4B3	124.32	131.88	135.74	391.94	130.647
A4B4	109.08	109.05	108.88	327.01	109.003
A4B5	11.67	20.43	9.77	41.87	13.957
A5B1	97.65	21.95	10.53	130.13	43.377
A5B2	112.89	86.22	112.69	311.8	103.933
A5B3	158.6	131.93	128.13	418.66	139.553
A5B4	105.27	97.65	93.44	296.36	98.787
A5B5	15.48	20.43	8.98	44.89	14.963
Jumlah	2412.3	1876.53	1886.78	6175.61	
Rata-rata	96.492	75.061	75.471		82.341

LAMPIRAN 7

Tabel dua arah Faktor A dan B

Faktor A	Faktor B					Jumlah	Rata-rata
	B1	B2	B3	B4	B5		
A1	133.56	391.92	445.33	372.94	57.86	1401.61	93.441
A2	132.41	308.19	403.42	323.2	57.1	1224.32	81.621
A3	127.85	308.19	401.32	296.56	45.93	1179.85	78.657
A4	120.23	286.94	391.94	327.01	41.87	1167.99	77.866
A5	130.13	311.8	418.66	296.36	44.89	1201.84	80.123
Jumlah	644.18	1607.04	2060.67	1616.07	247.65	6175.61	
Rata-rata	42.945	107.136	137.378	107.738	16.51		82.342

LAMPIRAN 8

Uji Beda Jarak Berganda Duncan

Parameter : Kadar Sisa Gula Reduksi
 Faktor : Lama Fermentasi

KT Galat = 11055.21
 dB Galat = 48
 SD = 27.14801

Perlakuan	B1	B2	B3	B4	B5
Rata-rata	42.945	107.136	137.378	107.738	16.510
p		2	3	4	5
SSR 5%		2.852	2.998	3.092	3.158
DMRT 5%		77.426	81.389	83.942	85.733
Beda rata-rata					
B1		64.191	94.433	64.793	-26.435
B2			30.242	0.602	-90.626
B3				-29.64	-120.868
B4					-91.228
B1	-----	-----		-----	-----
B2		-----		-----	-----
B3			-----	-----	-----
B4				-----	-----
Notasi	c	bc	bc	ab	a

Hasil uji beda jarak berganda Duncan

Perlakuan	Rata-rata	Rank	SSR 5%	DMRT 5%	Notasi
B5	16.510	1	3.158	85.733	a
B4	107.738	2	3.092	83.942	ab
B3	137.378	3	2.998	81.389	bc
B2	107.136	4	2.852	77.426	bc
B1	42.945	5			c

Keterangan : Huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada Uji Duncan taraf 5%

LAMPIRAN 9

Parameter : Kadar Serat

Desain : RAK Faktorial 5x2

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	I	II	III		
A1B1	21.84	20.8	16.12	58.76	19.587
A1B5	6.83	6.45	12.01	25.29	8.430
A2B1	22.8	26.14	19.58	68.52	22.840
A2B5	10.44	10.99	13.51	34.94	11.647
A3B1	22.92	24.32	31.58	78.82	26.273
A3B5	11.39	14.67	13.63	39.69	13.233
A4B1	21.46	21.74	20.26	63.46	21.153
A4B5	13.39	12.04	12.32	37.75	12.583
A5B1	25.3	24.3	18.24	67.84	22.613
A5B5	11.63	13.89	12.66	38.18	12.727
Jumlah	168	175.34	169.91	513.25	
Rata-rata	16.8	17.534	16.991		17.108

LAMPIRAN 10

Tabel dua arah Faktor A dan B

Perlakuan	Faktor B		Jumlah	Rata-rata
	B1	B5		
A1	58.76	25.29	84.05	14.008
A2	68.52	34.94	103.46	17.243
A3	78.82	39.69	118.51	19.752
A4	63.46	37.75	101.21	16.868
A5	67.84	38.18	106.02	17.670
Jumlah	337.4	175.85	513.25	
Rata-rata	22.493	11.723		17.108

LAMPIRAN 11

Uji Beda Jarak Berganda Duncan

Parameter : Kadar Serat
 Faktor : A

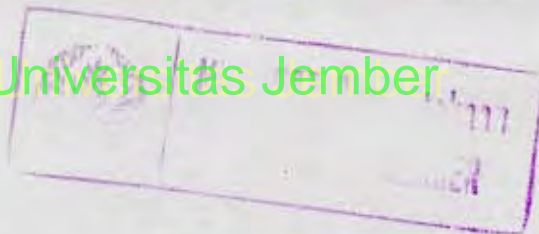
KT Galat = 8.037988
 dB Galat = 18
 SD = 1.157439

Perlakuan	A1	A4	A2	A5	A3
Rata-rata	14.008	16.868	17.243	17.670	19.752
p		2	3	4	5
SSR 5%		2.97	3.12	3.21	3.27
DMRT 5%		3.437	3.611	3.715	3.785
Beda rata-rata					
A1		2.86	3.235	3.662	5.743
A4			0.375	0.802	2.883
A2				0.427	2.508
A5					2.082
A1	-----	-----	-----	-----	
A4		-----	-----	-----	-----
A2			-----	-----	-----
A5				-----	-----
Notasi	b	ab	ab	ab	a

Hasil uji beda jarak berganda Duncan

Perlakuan	Rata-rata	Rank	SSR 5%	DMRT 5%	Notasi
A3	19.752	1	3.27	3.785	a
A5	17.670	2	3.21	3.715	ab
A2	17.243	3	3.12	3.611	ab
A4	16.868	4	2.97	3.437	ab
A1	14.008	5			b

Keterangan : Huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada Uji Duncan taraf 5%



LAMPIRAN 12

Uji Beda Jarak Berganda Duncan

Parameter : Kadar Serat
 Faktor : B

KT Galat = 8.037988
 dB Galat = 18
 SD = 0.732029

Perlakuan	B5	B1
Rata-rata	11.723	22.493
p		2
SSR 5%		2.97
DMRT 5%		2.174
Beda rata-rata		
B5		10.77
B5	-----	
Notasi	b	A

Hasil uji beda jarak berganda Duncan

Perlakuan	Rata-rata	Rank	SSR 5%	DMRT 5%	Notasi
B1	22.493	1	2.97	2.174	a
B5	11.723	2			b

Keterangan : Huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada Uji Duncan taraf 5%.