

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Ubi Jalar Putih

Ubi jalar putih (*Ipomea Batatas Linneaus*) yang juga dikenal sebagai ketela rambut, adalah pohon tahunan tropikan dan subtropika. Umbinya dikenal luas sebagai makanan pokok penghasil karbohidrat dan daunnya sebagai sayuran. Ubi putih seperti terlihat pada Gambar 2.1. merupakan tanaman pangan yang biasa ditanam rakyat hampir di seluruh wilayah Indonesia, sehingga dipertimbangkan sebagai sumber bahan baku pembuatan bioethanol.



Gambar 2.1. Ubi Jalar Putih

Tanaman ubi jalar (*Ipomoea batatas*. L) atau ketela rambut atau “sweet potato” diduga berasal dari Benua Amerika. Para ahli botani dan pertanian memperkirakan daerah asal tanaman ubi jalar adalah Selandia Baru, Polinesia, dan

Amerika bagian tengah. Nikolai Ivanovich Vavilov, seorang ahli botani Soviet, memastikan daerah sentrum primer asal tanaman ubi jalar adalah Amerika Tengah. Ubi jalar mulai menyebar ke seluruh dunia, terutama negara-negara beriklim tropika pada abad ke-16. Orang-orang Spanyol menyebarkan ubi jalar ke kawasan Asia, terutama Filipina, Jepang, dan Indonesia. Cina merupakan penghasil ubi jalar terbesar mencapai 90 persen (rata-rata 114,7 juta ton) dari yang dihasilkan dunia (FAO, 2004).

Ubi jalar termasuk family *Convolvulaceae*, genus *Ipomoea* dan spesies yang banyak digunakan adalah *batatas (L)* Lam. Ubi jalar berasal dari Amerika Tengah atau Selatan yang diketahui dari fosil berumur 10.000 tahun di Peru.(Huaman, 1991)

Komoditas ini mempunyai daya adaptasi luas, sehingga dapat tumbuh dan berkembang dengan baik diseluruh nusantara. Ubi jalar dapat tumbuh dengan baik pada daerah dengan ketinggian 0 – 3000 m dpl. Pada temperatur 24°C tumbuh dengan baik, namun pertumbuhan terhambat jika temperatur di bawah 0°C. Curah hujan yang optimum untuk pertumbuhannya antara 750 mm hingga 1.000 mm per tahun. Menyukai sandy-loam soil dengan kadar bahan organik tinggi dan *permeable sub-soil*. Tumbuh kurang baik pada tanah liat. Tanah dengan kerapatan tinggi atau aerasi jelek menghambat pembentukan akar dan hasil rendah. Media yang gembur diperlukan untuk pertumbuhan umbi, sehingga penanamannya harus dilakukan di atas gundukan. Apabila pertanaman tidak dilakukan di atas gundukan maka umumnya akan dihasilkan umbi yang kecil-kecil sebab biasanya batang menjalar ke segala arah dan setiap perakaran pada buku yang berhubungan dengan tanah menghasilkan umbi yang kecil-kecil. Keasaman tanah optimum untuk pertumbuhannya yaitu antara 5,6 – 6,6. Ubi jalar juga peka terhadap garam. Ubi jalar merupakan tanaman yang suka cahaya dan tumbuh baik pada intensitas cahaya yang relatif tinggi. Pembungaan dan pembentukan akar dipacu dengan hari pendek, 11 jam atau kurang. Pada panjang hari lebih dari 13,5 jam bunga akan gagal terbentuk.(Huaman, 1991)

Konversi bahan baku tanaman yang mengandung pati atau karbohidrat

menjadi bioethanol ditunjukkan pada table dibawah ini :

Table 2.1. Konversi Bahan Baku Tanaman Ubi

Bahan Baku		Kecenderungan gula (kg)	Jumlah hasil Konversi Bioetanol (liter)	Perbandingan bahan baku dan bioetanol
Jenis	Konsumsi (kg)			
Ubi kayu	1000	250 – 300	166,6	6,5 : 1
Ubi jalar	1000	150 - 200	125	8 : 1

Sumber : Rohmadi,2010

Pati ubi jalar putih juga merupakan salah satu bahan dalam proses pembuatan tekstil dan kertas serta pengganti BBM (Bioetanol) setelah terlebih dahulu diolah menjadi alkohol (Yusuf dan Widodo, 2002). Namun penggunaannya dan pmbutan dalam industri tekstil masih relatif kecil, sehingga hasil olahan ubi jalar terutama ubi jalar putih baik berupa tepung, pati maupun olahan makanan lainnya sebagian besar diekspor ke mancanegara.

Tabel 2.2. Kandungan Nutrisi Tepung Ubi Jalar

Nutrisi	Tepung Ubi Jalar	Tepung Beras	Tepung Terigu
Air (%)	7,00	7,00	7,00
Protein (%)	5,12	7,37	13,3
Lemak (%)	0,50	0,53	1,29
Abu (%)	2,13	0,89	0,54
Karbohidrat (%)	85,26	84,21	85,04
Serat (%)	1,95	-	0,62
Kalori	366,89	383,16	375,79

Sumber : Rohmadi,2010

Dibawah ini merupakan tabel komposisi beberapa jenis ubi jalar menurut penelitian Marsono, dkk yang telah dilakukan pada tahun 2002 :

Tabel 2.3. Komposisi dari Jenis-Jenis Ubi Jalar

Jenis	Ubi jalar putih	Ubi jalar kuning	Ubi jalar ungu
Kalori	123 kkal	136 kkal	123 kkal
Karbohidrat	28,79 %	27,47 %	22,64 %
Gas reduksi	0,32 %	0,11 %	0,30 %
Lemak	0,95 %	0,88 %	0,94 %
Protein	0,87 %	0,99 %	0,77 %
Air	65,24 %	67,78 %	70,46 %
Abu	0,93 %	0,99 %	0,77 %
Serat	65,24 %	2,79 %	70,6 %

Sumber : (<http://s3autumn.wordpress.com>)

Industri kecil memungkinkan penyediaan produk antara (tepung dan pati) untuk industri besar yang berorientasi ekspor dengan melakukan pengawasan terhadap kualitas, volume dan kepercayaan negara pengimpor seperti Jepang dan Taiwan. Kualitas produk antara tersebut tidak terlepas dari bahan baku yang bermutu termasuk ukuran umbi. Untuk tujuan konsumsi langsung, ukuran umbi yang diperlukan mempunyai bobot 100 – 200 g per umbi (sedang sampai besar), sementara untuk tujuan industri diperlukan yang berukuran diatas 200 g per umbi.

2.1.1. Manfaat Ubi Jalar Putih

Ubi jalar mengandung berbagai nutrisi yang dapat memberi kita manfaat bagi kesehatan. Kandungan gizi dalam ubi jalar seperti Vitamin A, C dan E, beta karoten, magnesium, kalium dan kaya oksidan. Kita bisa menemukan banyak jenis jenis ini, tetapi biasanya kita tahu itu adalah oranye, putih, kuning, merah dan warna ungu. Menurut sebuah artikel yang diterbitkan oleh *Potato North Carolina Sweet Commission*, dari 58 jenis sayuran yang diteliti, ditemukan bahwa ubi jalar adalah makanan terbaik dalam daftar. Ubi jalar adalah makanan dengan rasa manis bebas

lemak dan mengandung 76,9% dari nilai harian vitamin A dan 65% vitamin C dalam satu porsi (sekitar satu cangkir).

Ubi jalar dapat dikonsumsi hampir oleh semua usia. Makanan cukup aman untuk disajikan kepada bayi yang lebih tua dari 6 bulan. Kandungan serat yang tinggi dalam ubi jalar, juga membantu bayi pencernaan awal dengan mulus transisi ke makanan padat. Ubi jalar mengandung jumlah tinggi beta karoten, yang merupakan antioksidan alami yang dapat membantu untuk meningkatkan pertahanan kuat tubuh terhadap radikal bebas dan penyakit. Ubi jalar juga mengandung Vitamin C, Vitamin B dan fosfor dalam jumlah yang cukup tinggi. Isinya, membuat ubi jalar menjadi alat yang ampuh melawan infeksi.

2.1.2. Kandungan Ubi Jalar Putih

Ditinjau dari komposisi kimia, ubi jalar potensial sebagai sumber karbohidrat, mineral dan vitamin (Tabel 2.4). Selain umbinya yang memiliki gizi cukup tinggi, daun ubi jalar muda dapat dijadikan sayur yang juga mengandung gizi cukup tinggi. Umbi komoditas ini kaya akan energi, vitamin A dan C, tetapi miskin protein, sedangkan daunnya kaya akan mineral dan vitamin A. Apabila ubi jalar dijadikan sebagai makanan pokok maka perlu dilakukan penambahan unsur protein.

Salah satu bentuk olahan ubi jalar yang cukup potensial dalam kegiatan agroindustri sebagai upaya untuk meningkatkannilai tambah adalah tepung dan pati. Tepung ubi jalar, yang merupakan produk antara, mempunyai potensi untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku industri pangan, sekaligus dapat berfungsi sebagai bahan substitusi tepung terigu.

Dalam pembuatan produk pangan, tepung ubi jalar dapat digunakan sebagai bahan campuran (substitusi) dengan tepung lain yang jumlahnya tergantung pada produk yang akan dibuat dan kualitas yang akan dihasilkan. Sebagai contoh, kue kering dan kue lapis dapat diolah dari 100% tepung ubi jalar, sedangkan cake dibuat dari campuran 25-50% tepung ubi jalar dengan 50-75% terigu. Dalam pembuatan

kue, penggunaan tepung ubi jalar dapat menghemat penggunaan gula sebesar 20% dibandingkan dengan penggunaan 100% terigu. Mie dapat dibuat dari campuran 20% tepung ubi jalar dan 80% terigu. Guna menghasilkan mie yang bermutu, tepung ubi jalar yang digunakan berasal dari umbi berwarna putih. Mutu produk yang terbuat dari tepung ubi jalar, tepung beras dan terigu relatif sama karena kandungan nutrisinya tidak jauh berbeda. Pati ubi jalar digunakan sebagai bahan baku produk kimia farmasi, pembuatan alkohol dan fructose (pemanis) dalam industri minuman serta plastik yang cepat terdekomposisi.

Tabel 2.4. Kandungan Gizi Ubi Jalar dan Pangan Lain (per 100gr)

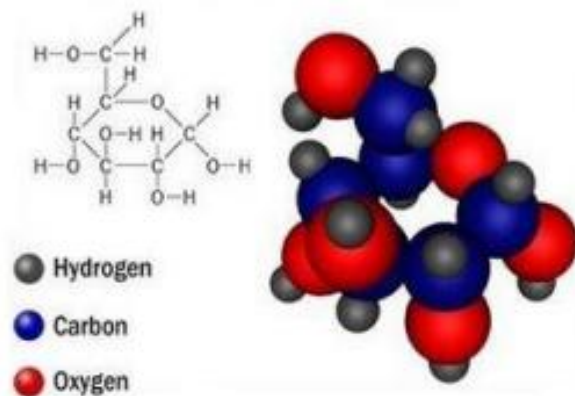
Parameter		Ubi jalar		Ubi kayu	Talas	Kacang Hijau	Beras sosoh
		Umbi	Daun				
Air	(g)	65,5	85,1	63,0	71,0	6,5	11,1
Protein	(g)	1,1	3,3	0,6	2,3	24,4	7,4
Karbohidrat	(g)	31,8	9,1	35,3	25,7	64,1	80,4
Serat	(g)	0,7	2,2	1,6	0,7	4,3	0,4
Lemak	(g)	0,4	0,8	0,2	0,2	1,0	0,5
Abu	(g)	1,2	1,7	0,9	0,8	3,9	0,6
Ca	(mg)	55,0	137,0	30,0	39,0	142,0	27,0
Fe	(mg)	0,7	4,6	1,1	0,9	5,7	1,0
P	(mg)	51,0	60,0	49,0	62,0	337,0	155,0
Vitamin A	(IU)	900,0	5.352,0	-	30,0	133,0	-
Vitamin C	(mg)	35,0	28,0	31,0	9,0	10,0	-
Thiamin	(mg)	0,1	0,1	0,12	0,17	0,66	1,10
Riboflavin	(mg)	0,04	0,13	0,06	0,04	0,22	0,05
Niacin	(mg)	0,6	0,8	2,2	1,2	2,4	2,8
Energy	(kal)	135,0	47,8	75,0	112,0	354,0	367,0

Sumber : Rohmadi,2010

2.2. Proses Perubahan Pati Sampai Menjadi Etanol

2.2.1. Pati

Seperti sifat ubi pada umumnya, karbohidrat pada ubi jalar berpotensi mengalami perubahan selama penyimpanan, perubahan pati menjadi gula selama penyimpanan dan komposisi karbohidrat tersebut menentukan rasa ubi dan sifat kecernaannya. Glukosa, sukrosa, dan fruktosa merupakan gula-gula utama dari hasil perombakan pati, komposisi dari gula-gula tersebut berpengaruh terhadap rasa. Fruktosa umumnya memberi rasa lebih manis dibandingkan sukrosa atau glukosa.



Gambar 2.2. Rumus Bangun Karbohidrat

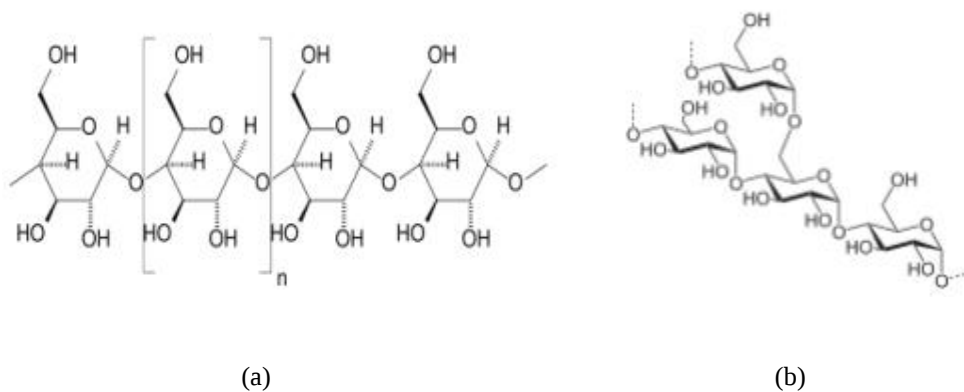
Selama penyimpanan karbohidrat (pati) dalam ubi akan dirombak menjadi molekul yang lebih kecil berupa gula untuk mendapatkan energi yang diperlukan dalam proses respirasi. Makin lama penyimpanan rasa ubi akan menjadi manis, tetapi penyimpanan yang terlalu lama menyebabkan ubi menjadi keriput karena adanya proses transpirasi. (Febriana, 2012)

Menurut Salsabila (2013), Etanol dari pati akan terbentuk jika pati atau amilum diubah terlebih dahulu menjadi gula sederhana (glukosa dan sebagian fruktosa) melalui reaksi hidrolisis dan dilanjutkan dengan fermentasi alkohol yang mengubah glukosa menjadi etanol dengan menambah yeast atau ragi. Reaksi hidrolisis merupakan reaksi yang melibatkan air atau asam sebagai reaktan agar suatu persenyawaan dapat terpecah atau terurai. Reaksi hidrolisis merupakan reaksi yang

berlangsung lambat karenanya untuk mempercepat laju sering ditambahkan katalis.

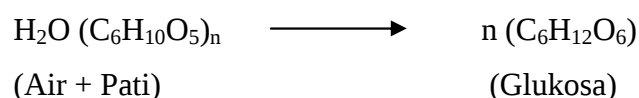
Katalis yang dapat dipakai pada reaksi hidrolisis pati adalah katalis asam, seperti asam mineral HCl atau H₂SO₄. Fermentasi merupakan proses perubahan kimia yang disebabkan oleh aktivitas mikroorganisme untuk memperoleh energi dengan memecah substrat untuk pertumbuhan dan metabolisme dari mikroorganisme tersebut. Proses fermentasi yang terjadi pada pembentukan etanol adalah fermentasi anaerob atau tanpa oksigen. Penggunaan ragi *Saccharomyces cerevisiae* banyak digunakan untuk meningkatkan hasil produksi bioetanol dari gula karena tidak membutuhkan sinar matahari dalam pertumbuhannya. *Saccharomyces cerevisiae* dalam bentuk ragi dapat langsung digunakan sebagai inokulum pada kultivasi etanol sehingga tidak diperlukan penyiapan inokulum secara khusus.

Di dalam pati tersusun atas dua macam karbohidrat, amilosa dan amilopektin (struktur bangun dapat dilihat pada Gambar 2.3.), dalam komposisi yang berbeda-beda. Dua fraksi ini dapat dipisahkan dengan air panas. Fraksi terlarut disebut amilosa dan fraksi tidak terlarut disebut amilopektin. Secara struktur amilosa mempunyai struktur lurus, sedang amilopektin bercabang. (Dian, 2010)

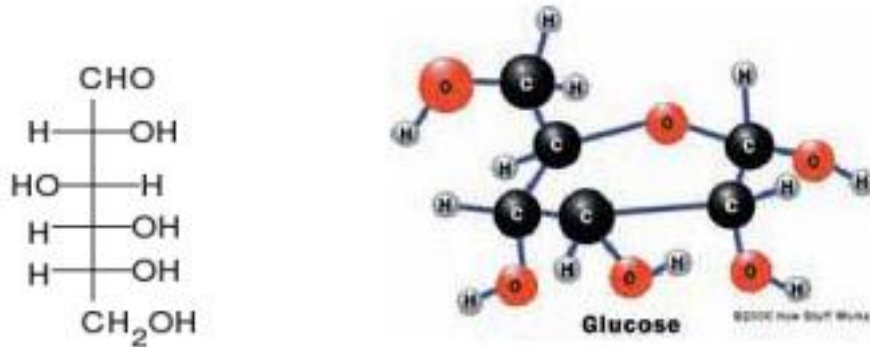


Gambar 2.3. (a) Rumus Bangun Amilosa, (b) Rumus Bangun Amilopektin

Berikut ini adalah reaksi pembentukan gula dari pati :



Glukosa ($C_6H_{12}O_6$) adalah monosakarida yang paling banyak terdapat di alam. Rumus bangun glukosa dapat dilihat pada gambar 2.4.

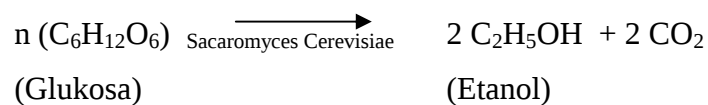


Gambar 2.4. Rumus Bangun Glukosa

2.2.2. Bioetanol

Terbentuknya etanol dari proses peragian gula atau pati. Secara besar-besaran, etanol dibuat dengan jalan meragikan ‘tetes’ yang berasal dari pembuatan gula pasir.

Reaksinya :



Bioetanol yang diperoleh pada proses peragian ini tidak murni. Untuk mendapatkan etanol murni harus dilakukan penyulingan bertingkat. *(Respati, 1986)*

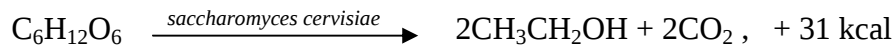
a. Sifat-sifat fisis bioetanol

- Berat molekul : 46,07 gram/mol
- Warna : Tidak berwarna
- Bentuk : Cair
- Titik didih normal : 78,4°C
- Titik beku : -112°C
- *Specific gravity* : 0,7893
- Warna api : Biru



b. Sifat-sifat kimia etanol

- Diperoleh dari fermentasi gula oleh ragi misalnya *saccharomyces cerevisiae*



- Pembakaran etanol menghasilkan CO_2 dan H_2O



Kegunaan etanol antara lain sebagai berikut :

- Campuran dalam minuman
- Farmasi : sebagai pelarut dalam membuat esen, ekstrak dan sebagainya.
- Untuk sintesis : misalnya eter, yodoform, kloroform dan sebagainya
- Larutan 70% digunakan sebagai antiseptik.
- Digunakan sebagai pengawet contoh-contoh biologis.
- Campuran 85% bensin dengan 15% etanol memiliki angka oktan lebih tinggi, hal ini berarti mesin dapat terbakar lebih panas dan lebih efisien.
- Bioethanol bersifat multi-guna karena dicampur dengan bensin pada komposisi berapapun memberi dampak yang positif.

2.3. Fermentasi

Respirasi anaerob (fermentasi) adalah respirasi yang terjadi dalam keadaan ketersediaan oksigen bebas. Asam piruvat yang merupakan produk glikolisis jika dalam ketiadaan oksigen bebas akan diubah menjadi alkohol atau asam laktat. Pada manusia, kekurangan oksigen sering terjadi pada atlet-atlet yang berlari jauh dengan kencang. Atlet tersebut membutuhkan kadar oksigen yang lebih banyak dari pada yang diambil dari pernafasan. Dan kurangnya oksigen dalam tubuh, maka proses embongkaran zat dilakukan dengan cara anaerob, yang disebut dengan fermentasi, seperti terlihat pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5. Fermentasi Anaerob

2.3.1. Kinetika Mikroba

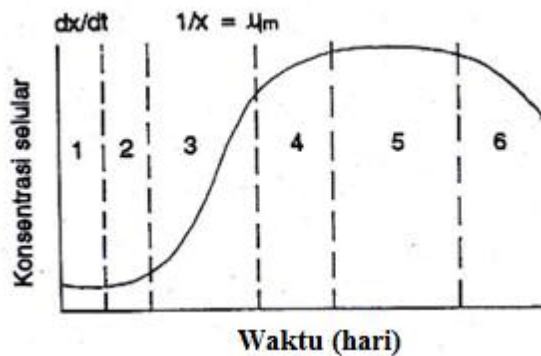
Bila sejumlah kecil sel-sel mikroba ditanamkan ke suatu larutan hara esensial pada kondisi (suhu dan pH) yang sesuai, maka sel akan tumbuh. Hal ini menunjukkan aktivitas hayati dalam hubungan dengan kelompok selular itu sendiri dan kondisi lingkungan. Aktivitas ini menunjukkan kedua aspek yang saling terkait.

- ✓ Perkembang biakan mikroba yang ditunjukkan oleh suatu kenaikan konsentrasi biomassa dan biosintesis penyusun selular bermula dari persenyawaan dalam media biakan.
- ✓ Pada saat bersamaan mikroba menyekresikan produk-produk penting melewati dinding selnya. Dalam kaitannya dalam bioteknologi aktivitas kedua ini mempunyai arti penting. Selanjutnya produk tersebut meningkat konsentrasinya dan dimurnikan serta dipanen pada akhir pembiakan. (Djumali, 1993)

2.3.2. Kinetika pertumbuhan mikroba

Teknik evaluasi suatu populasi mikroba baik secara kuantitatif maupun secara kualitatif dapat digunakan untuk memantau dan mengkaji fenomena pertumbuhan. Untuk itu dilakukan suatu pembiakan secara klasik. Laju pertumbuhan

ditetapkan berdasarkan evolusi seluler (dapat dinyatakan dalam jumlah sel persatuan volume kultur). Dapat pula dinyatakan dalam biomassa (g massa sel kering per satuan volume kultur). Semua itu tergantung pada jenis mikroba (uniseluler atau berfilamen) dan metoda pengukuran yang digunakan. Secara umum pertumbuhan mikroba tersebut secara curah mengikuti pola seperti dikajikan pada Gambar 2.6. yang terdiri atas 6 fase.



Gambar 2.6. Pola Pertumbuhan Mikroba pada Fermentasi

Fasa awal (*lag*) merupakan fase penyesuaian mikroba, sejak inokulasi sel mikroba di inokulasi ke media biakan. Pada fase ini terjadi sintesis enzim oleh sel yang diperlukan untuk metabolisme metabolit. Selama periode ini tak terjadi penangkaran sel. Oleh karena itu,

$$X = X_0 = \text{Tetap} \dots \dots \dots (1)$$

dengan X_0 = konsentrasi seluler, pada $t = 0$

laju pertumbuhan (g/l.j) sama dengan nol.

$$R_x = d_x/d_t = 0 \dots \dots \dots (2)$$

demikian pula laju pertumbuhan spesifik, μ (j^{-1}) adalah nol.

$$dx/dt \cdot 1/X = \mu = 0 \dots \dots \dots (3)$$

Setelah fasa awal selesai, mulai terjadi reproduksi selular. Konsentrasi selular atau biomassa meningkat, mula-mula perlahan kemudian makin lama makin meningkat. Dengan demikian laju produksi atau pertumbuhan, dX/dt dan laju

pertumbuhan spesifik meningkat.

Pada saat laju pertumbuhan atau reproduksi selular mencapai titik maksimal, maka terjadi perumbuhan secara logaritmik atau eksponensial. Pada fasa ini keadaan pertumbuhan adalah mantap, sedangkan komposisi kimiawi media berubah akibat terjadinya sintesis produk dan penggunaan substrat. Laju penggandaan secara sederhana dapat dievaluasi berdasarkan waktu penggandaan sel. Nilai ini beragam antara dengan mikroba lainnya. Sebagai contoh, bakteri memerlukan waktu 20 menit pada suhu 37°C, jenis khamir tertentu, waktu generasi berkisar antara 1 – 2 jam.

Selama fasa eksponensial, laju pertumbuhan, dx/dt meningkat berbanding dengan X . Pengajian secara grafik semilogaritmik, $\log X = f(t)$ menghasilkan garis lurus. Laju pertumbuhan spesifik tetap dan mencapai nilai maksimal.

$$dx/dt \cdot 1/X = \mu_m \dots\dots\dots (4)$$

Berikut ini adalah faktor-faktor yang mempengaruhi kehidupan ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*). (Elina, 2012)

1. pH

PH dari media sangat mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme. Pengukuran PH dapat dilakukan menggunakan kertas lakmus atau menggunakan pH meter seperti terlihat pada Gambar 2.7. Setiap mikroorganisme mempunyai pH minimal, maksimal, dan optimal untuk pertumbuhannya. Untuk yeast, pH optimal untuk pertumbuhannya ialah berkisar antara 4,0 sampai 4,5. Pada pH 3,0 atau lebih rendah lagi fermentasi alkohol akan berjalan dengan lambat.



Gambar 2.7. pH Meter

2. Nutrien

Dalam pertumbuhannya mikroba memerlukan nutrien. Nutrien yang dibutuhkan digolongkan menjadi dua yaitu nutrien makro dan nutrien mikro. Nutrien makro meliputi unsur C, N, P, K. Unsur C didapat dari substrat yang mengandung karbohidrat, unsur N didapat dari penambahan urea (lihat Gambar 2.8), sedang unsur P dan K dari pupuk NPK (Halimatuddahlia, 2003). Unsur mikro meliputi vitamin dan mineral-mineral lain yang disebut *trace element* seperti Ca, Mg, Cl, Fe, Mn, Cu, Bo, Zn, Mo, dan Al.



Gambar 2.8. Urea

3. Suhu

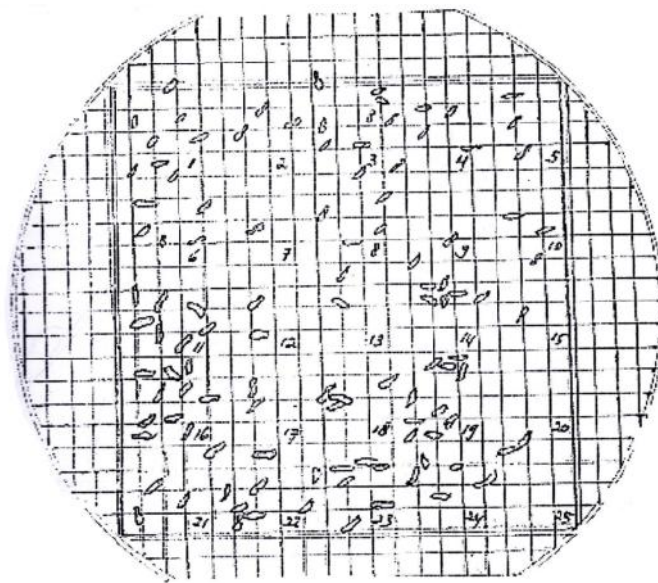
Mikroorganisme mempunyai temperatur maksimal, optimal, dan minimal, untuk pertumbuhannya. Temperatur minimal untuk yeast berkisar antara 25-30°C dan temperatur maksimal antara 35-47°C. Beberapa jenis yeast dapat hidup pada suhu 0°C. Temperatur selama fermentasi perlu mendapatkan perhatian, karena di samping temperatur mempunyai efek yang langsung terhadap pertumbuhan yeast juga mempengaruhi komposisi produk akhir. Pada temperatur yang terlalu tinggi akan menonaktifkan yeast. Pada temperatur yang terlalu rendah yeast akan menjadi tidak aktif.



Gambar 2.9. Thermometer

2.4. Penentuan Jumlah Mikroba

Suatu ruang hitung (*counting chamber*) merupakan suatu kaca objek tebal seperti terlihat pada Gambar 2.10., di atasnya diasahkan suatu daratan yang dalamnya 0,1 mm. pada daratan ini dibuat garis-garis berbentuk 16 persegi besar, pada setiap persegi besar dibagi lagi menjadi 16 persegi kecil, panjang sisi persegi kecil 0,05 mm. Jika diatas bagian yang diasah ini diletakkan sebuah kaca tutup maka terbentuk suatu ruangan yang tingginya adalah 0,1 mm.

Gambar 2.10. Penampang Permukaan *Counting Chamber*

Tiap-tiap persegi kecil di bawah kaca tutup tersebut merupakan suatu ruangan dengan isi $0,05 \times 0,05 \times 0,1 \text{ mm}^3 = 25 \times 10^{-5} \text{ mm}^3$. Jika dibawah kaca tutup tersebut dimasukkan setetes suspensi ragi, maka dengan mikroskop dapat dihitung jumlah sel dalam tiap-tiap persegi tersebut. Sehingga dapat dihitung pula jumlah sel per mL dari suspensi tersebut.

Counting chamber memiliki dua saluran yang dalam pada kedua sisi ruang hitungnya yang berfungsi untuk menampung kelebihan cairan. Kaca tutup yang diletakkan di atas ruang hitung harus kering agar ketinggian dari ruang hitung tetap terjaga.

Pada *Counting Chamber* model baru, di atas suatu kaca objek dibuat 2 ruang hitung yang satu sama lain dipisahkan dengan saluran. (Siti, 2012)

Cara menghitung sel mikroorganisme dengan ruang hitung:

Karena letak mikroorganisme hidup tak teratur, maka dalam menghitung dibuat suatu perjanjian supaya sel yang terletak pada garis tidak dihitung dua kali, yaitu sebagai berikut :

1. Sel-sel pada sisi kanan dan bawah tidak termasuk pada kotak yang sedang dihitung selnya (Contoh: Pada kotak 1 jumlah selnya = 6)
2. Sel-sel pada sisi kiri dan atas termasuk pada kotak yang sedang dihitung (Contoh: pada kotak dua = 3 sel dan pada kotak enam = 5 sel)

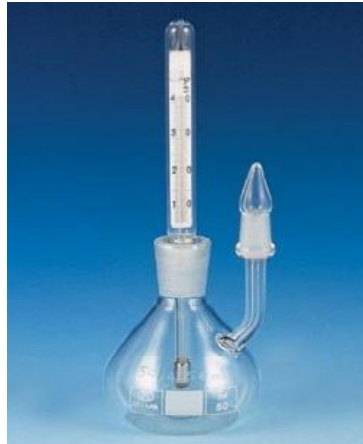
2.5. Penentuan Berat Jenis

Berat jenis didefinisikan sebagai massa suatu bahan persatuan volume bahan tersebut. Bentuk persamaannya adalah :

$$\text{Berat jenis} = \frac{\text{massa}}{\text{volume}} \quad \text{atau} \quad \frac{m}{v} \dots\dots\dots (5)$$

Satuan berat jenis adalah kg/dm^3 , gr/cm^3 atau gr/mL . Berat jenis memiliki harga konstan pada suatu temperature tertentu dan tidak tergantung pada bahan cuplikan (sampel).

Dikenal beberapa alat yang dapat digunakan untuk menentukan berat jenis yaitu; aerometer, piknometer, piknometer dfan, neraca whestpal.



Gambar 2.11. Piknometer

a. Penentuan Berat Jenis Dengan Zat Cair dengan Areometer

Penentuan berat jenis zat cair dengan aerometer didasarkan prinsip hukum Archimedes : “ Setiap benda yang dicelupkan ke dalam suatu cairan akan mengalami gaya angkat yang besarnya sama dengan berat zat cair yang dipindahkan”.

Aerometer berbentuk sebuah silinder yang berlubang, agar aerometer dapat tercelup dengan posisi yang tepat (sekala tercelup dalam cairan), maka aerometer diisi dengan butir-butir Pb. Skala pada aerometer menunjukkan berat jenis cairan, semakin berat jenis cairan, aerometer akan tercelup semakin dalam. Oleh karena itu skala aerometer menunjukkan angka yang semakin besar dari atas kebawah.

b. Penentuan Berat Jenis dengan Piknometer

Berat jenis zat cair dapat dihitung dengan mengukur secara langsung berat zat cair dalam piknometer (menimbang) dan volume zat ditentukan berdasarkan volume piknometer.

$$\text{Berat jenis zat cair} = \frac{\text{Berat zat cair dalam piknometer}}{\text{volume zat cair dalam piknometer}}$$

$$\rho_c = \frac{Gr_c}{V_c} \dots\dots\dots (6)$$

Dimana :

Berat zat cair dalam piknometer = (berat piknometer + zat cair) – (berat piknometer kosong)

Volume zat cair dalam piknometer = volume piknometer

Volume piknometer ditentukan dengan menggunakan zat cair lain yang telah diketahui berat jenisnya.

Volume zat padat yang bentuknya tidak beraturan dapat ditentukan secara langsung dengan menggunakan piknometer, bila volume dan berat zat padat tersebut diketahui, maka dapat diketahui berat jenisnya.

Berat jenis zat padat dengan bentuk tidak beraturan dapat ditentukan dengan rumus berikut :

$$\text{Berat jenis zat padat} = \frac{\text{Berat zat padat dalam piknometer}}{\text{volume zat padat dalam piknometer}}$$

$$\rho_p = \frac{Gr_p}{V_p} \dots\dots\dots (7)$$

Dimana :

Volume zat padat dalam piknometer = volume piknometer – volume zat cair

$$\text{Volume zat cair} = \frac{\text{Berat zat cair dalam piknometer}}{\text{Berat jenis zat cair}} \dots\dots\dots (8)$$

Berat jenis dinyatakan dengan simbol ρ (rho) atau d biasanya pada praktikum diberi simbol d.

Berat jenis relative (berat jenis spesifik) adalah perbandingan antara berat jenis zat pada suhu tertentu terhadap berat jenis air pada suhu tertentu.

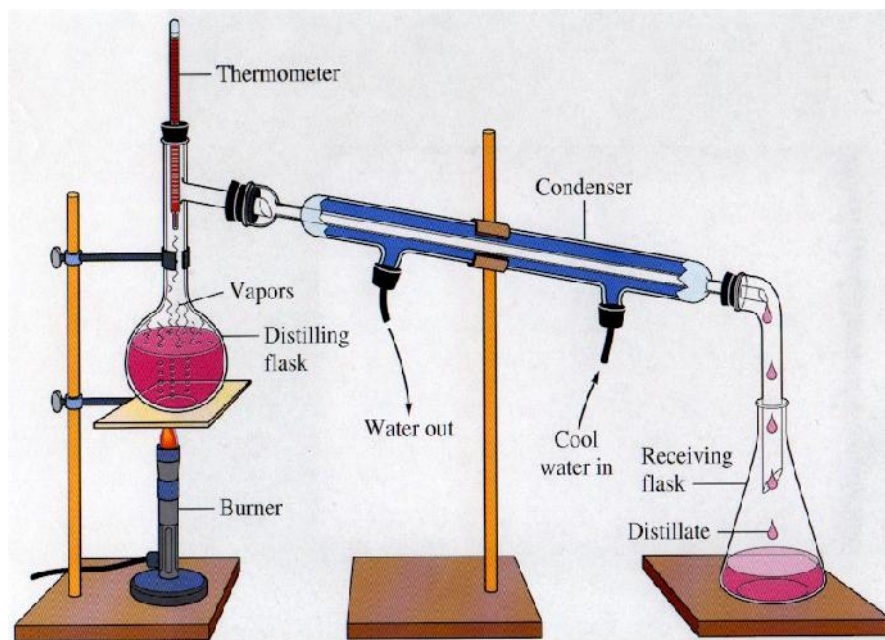
Contoh d^{30} ethanol adalah perbandingan antara berat jenis etanol pada suhu 30°C

terhadap air pada suhu 20°C . berat jenis relative tidak mempunyai satuan, berat jenis telatif akan sama dengan berat jenis absolute bila senagai perbandingannya adalah air pada suhu 4°C .

2.6. Destilasi

Distilasi adalah suatu metode operasi yang digunakan pada proses pemisahan suatu komponen dari campurannya dengan menggunakan panas sebagai tenaga pemisah berdasarkan titik didih dari masing-masing komponen. Misalnya pemisahan air (100°C) dan etanol ($78,4^{\circ}\text{C}$) seperti terlihat pada Gambar 2.12.

Pada proses distilasi, fase uap akan segera terbentuk setelah larutan dipanaskan. Uap dan cairan dibiarkan mengadakan kontak sehingga dalam waktu yang cukup semua komponen yang ada dalam larutan akan terdestilasi dalam fase membentuk destilat. Dalam destilat banyak mengandung komponen dengan tekanan uap murni lebih tinggi atau mempunyai titik didih lebih rendah. Sedangkan komponen yang tekanan uap murni rendah atau titik didih tinggi sebagian besar terdapat dalam residu. (Geancoplis,1983)



Gambar 2.12. Proses Destilasi

2.7. Analisis Kemurnian Menggunakan Kromatografi Gas

Kromatografi gas adalah suatu cara pemisahan lain yang penting didalam analisis kimia. Didalam gas kromatografi diperlukan adanya dua fase yang tidak saling mencampur, yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diamnya disini dapat berupa suatu zat padat yang ditempatkan didalam suatu kolom atau dapat juga berupa cairan yang terserap (teradsorpsi) berupa lapisan yang tipis pada butir-butir halus suatu zat padat pendukung (solid support material) yang ditempatka didalam kolom. Fasa geraknya dapat berupa gas (gas pembawa) atau cairan seperti terlihat pada Gambar 2.13.



Gambar 2.13. *Gas Chromatography*

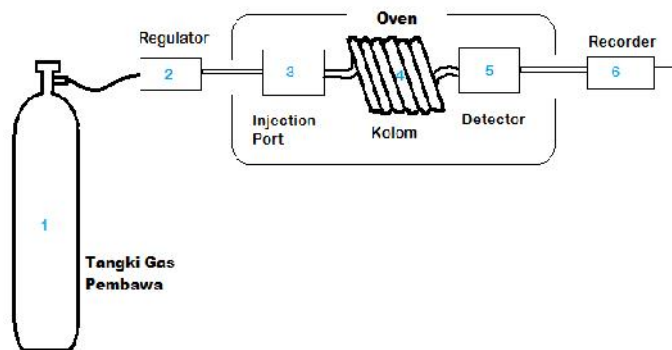
Campuran yang akan dipisahkan komponen-komponennya, dimasukkan ke dalam kolom yang mengandung fasa diam. Dengan bantuan fasa gerak, komponen-komponen campuran itu kemudian dibawa bergerak melalui fasa diam di dalam kolom. Perbedaan antaraksi atau afinitas antara komponen-komponen campuran itu dengan kedua fasa, menyebabkan komponen-komponen itu bergerak dengan kecepatan berbeda melalui kolom. Akibat adanya perbedaan kecepatan (*differential migration*), komponen-komponen itu terpisah satu sama lain.

Pada kromatografi gas-cairan (GLC, *Gas Liquid Chromatography*), fasa geraknya berupa gas, fasa diamnya berupa cairan. Partisi komponen cuplikan berdasarkan kelarutan uap komponen itu didalam fasa diam. Kromatografi Gas-Cairan sering disebut juga Kromatografi Gas (GC) saja.

Kromatografi gas yang kami gunakan dalam penelitian ini adalah GC yang terdapat di laboratorium Teknik Kimia Politenik Negeri Sriwijaya yang bernama GC-2010Af Shimadzu Rtx-1 dimana Peralatan ini dilengkapi dengan monitor atau PC dan printer sebagai pencetak data.

Bagian-bagian pokok alat kromatografi gas dapat dilihat pada Gambar 2.15. berikut bagian-bagian kromatografi gas :

1. Tangki gas pembawa. Gas yang bertindak sebagai fasa gerak disebut juga gas pembawa (*carrier gas*). Gas-gas pembawa yang biasa digunakan ialah helium dan nitrogen.



Gambar 2.14. Bagian-Bagian Alat Kromatografi Gas

2. Alat pengatur tekanan (Regulator), regulator digunakan untuk mengatur tekanan gas-gas yang digunakan.
3. *Injection port* adalah lubang untuk memasukkan cuplikan dengan cara penyuntikan. Penyuntikan harus dilakukan dengan cepat, injeksi yang lambat atau berlebihan menyebabkan pita melebar dan resolusi yang jelek. Metode yang paling sering digunakan adalah metode syring, yang

akan menginjeksikann cairan atau sampel gas melalui diafragma karet ke vaporizer di atas kolom. Temperature injeksi biasanya dibawah 50 °C dari titik didih komponen kurang volatile.

4. Kolom. Tempat terjadinya proses pemisahan komponen-komponen cuplikan. Kolom ini ditempatkan di dalam oven yang bersuhu tinggi, sehingga koomponen-komponen cuplikan tetap berupa uap.

Kolom yang digunakan pada penelitian ini adalah jenis Rtx-1 dimana kolom ini dapat dapat digunakan untuk bahan-bahan organik seperti bioethanol, tetradecane, pentadecane dll. Berikut ini waktu retensi dan nama-nama zat yang dapat dianalisis menggunakan kolom Rtx-1.

Tabel 2.5. Zat yang Dapat Dianalisis Dengan Rtx-1

Retention (min)	Name	Area	Peak Area Ratio	Asymmetry	K
3.07	1,6-Hexanediol	77770	0.57	0.995	1.28
3.79	4-Chlorophenol	84270	0.61	1.005	1.81
4.41	Methyl Nonanoate	98701	0.72	0.947	2.27
5.02	4-Propylaniline	121617	0.88	0.945	2.72
6.54	Tridecanol	137642	1.00	0.952	3.86
8.48	1-Undecanol	119631	0.87	0.990	5.30
11.33	Acenaphthylene	157212	1.14	0.946	7.41
17.31	Pentadecane	143075	1.04	0.928	11.8

Sumber: Restek,2011

Dengan kondisi operasi dan karakteristik sebagai berikut:

Panjang : 30 m
 ID : 0,25 mm
 Df : 0,25 μ m
 Inj temp : 250 °C
 Det temp : 330 °C
 Split flow : 70 ml/min

Terdapat dua jenis kolom pada kromatografi gas, yaitu kolom isian dan kolom tabung atau kapiler. Awalnya kolom isian lebih banyak digunakan, namun sekarang penggunaan kolom kapiler lebih disukai karena lebih efisien dan cepat.

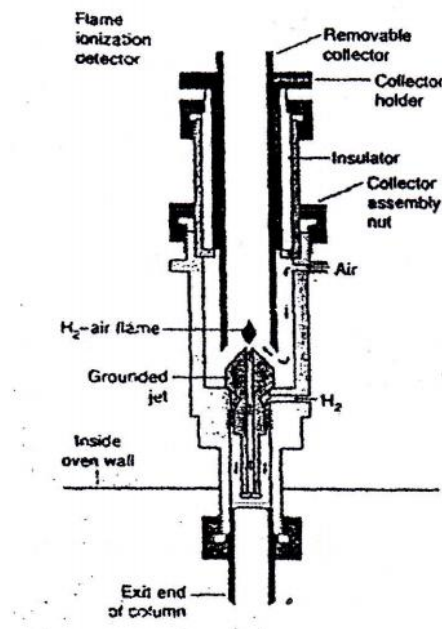
5. Detektor.

Untuk mendeteksi komponen-komponen yang keluar dari kolom. Detektor ini akan mengirimkan isyarat listrik ke alat pencatat (*recorder*). Detektor yang ideal mempunyai karakteristik seperti berikut: sensitive, stabil dan mempunyai kemampuan yang tinggi, respon linier terhadap solute, mempunyai rentang temperature sedikitnya 400 °C dari temperature ruang, waktu respon cepat, handal dan mudah digunakan, tidak merusak sampel.

Terdapat bermacam detektor, berikut beberapa detektor yang paling sering digunakan untuk KG:

a. Detektor Ionisasi Nyala

Sering disebut juga FID (dari *Flame Ionization Detektor*) yang merupakan detector yang paling banyak digunakan. FID mempunyai burner atau pembakar, dan efluen dari kolom dicampur dengan gas hydrogen dan udara, kemudian dinyalakan dengan listrik seperti terlihat pada Gambar 2.15. Kebanyakan senyawa organik ketika dipanaskan pada nyala api H₂/udara menghasilkan ion dan elektron yang dapat menghantarkan listrik melalui nyala tersebut. Tegangan listrik beberapa ratus volt kemudian diberikan melalui ujung burner dan sebuah pengumpul elektroda diletakkan diatas nyala. Hasilnya berupa arus listrik ($- 10^{-12}$ A) yang kemudian diberikan ke amplifier opsional untuk kemudian diukur.



Gambar 2.15. *FID Detector*

Jumlah ion yang dihasilkan pada pembakaran sebanding dengan jumlah carbon atom yang terbakar, sehingga FID merupakan alat pengukur massa, bukan konsentrasi. Ini menguntungkan karena laju alir fasa gerak tidak mempunyai pengaruh besar terhadap respon detektor.

Gugus fungsi seperti karbonil, alkohol, halogen dan amina tak menghasilkan ion pada nyala dan juga tidak sensitive terhadap gas tak mampu bakar seperti H_2O , CO_2 , SO_2 , dan NO_x hal ini menyebabkan FID cocok untuk analisis sampel organik yang terkontaminasi oleh air, oksida nitrogen atau sulfur.

b. Detector Konduktivitas Panas

Detector konduktivitas thermal panas (*Thermal Conductivity Detector / TCD*) disebut juga katerometer merupakan detector pertama untuk kromatografi gas. Alat ini bekerja berdasarkan konduktivitas panas dari aliran gas dikarenakan adanya analit. Alat sensor pada detektor berupa elemen yang dipanaskan secara elektrik dengan daya konstan yang

temperaturnya tergantung pada konduktifitas panas gas didalam detektor tersebut. Elemen pemanas dapat terbuat dari emas, platina atau kawat tungsten atau termistor semikonduktor. Konduktifitas panas dari gas *hydrogen* ataupun *Helium* 6 – 10 X lebih besar dibandingkan konduktivitas panas senyawa organik, sehingga adanya zat organik yang sangat kecilpun akan menyebabkan penurunan cukup besar pada konduktivitas di kolom effluent. Keuntungan TCD adalah sederhana, rentang kerja dinamis yang lebar, respon terhadap repsi organik dan anorganik , bersifat tidak merusak sampel sehingga sampel dapat dikumpulkan setelah deteksi.(Yohandri, 2012)

6. *Recorder*

Recorder adalah alat pencatat yang berfungsi untuk mencatat isyarat-isyarat listrik. Isyarat listrik ini berbentuk kurva-kurva elusi atau kromatogram untuk tiap-tiap komponen itu.

7. Oven.

Oven digunakan untuk memanaskan kolom. Suhu optimum yang digunakan adalah tergantung dari :

- Titik didih cuplikan
- Tingkat pemisahan yang diinginkan

Suhu kolom yang terlalu tinggi kurang baik karena jarak antara kurva elusi komponen yang satu dengan yang lainnya terlalu dekat. Sebaliknya, bila suhu terlalu rendah, jaraknya terlalu jauh. (Endang, 1996)

2.8. Pengukuran Konsentrasi Bioetanol Menggunakan Refraktometer

Refraktometer seperti terlihat pada Gambar 2.16. adalah alat yang digunakan untuk mengukur kadar/ konsentrasi bahan terlarut. Misalnya gula, garam protein, dsb. Priinsip kerja dari refraktometer sesuai dengan namanya adalah

memanfaatkan frefaksi cahaya. Refraktometer dikemukakan oleh Dr. Ernest Abbe seorang ilmuan dari Jerman pada permulaan abad 20. (<http://mc-tester.com>)

Pembiasan cahaya berarti pembelokan arah rambat cahaya saat melewati bidang batas dua medium bening yang berbeda indeks biasnya. Misalnya cahaya merambat dari medium udara ke medium air.



Gambar 2.16. Refraktometer

Indeks bias dibedakan atas indeks bias mutlak dan indeks bias relatif. Indeks bias mutlak medium yaitu indeks bias medium saat berkas cahaya dari ruang hampa melewati medium tersebut. Pada Tabel 2.6. terlihat bahwa tekanan dan suhu mempengaruhi indeks bias zat khususnya udara. Perbedaan itu tampak kecil saja. Dalam beberapa buku, Indeks bias udara sama dengan satu.

Indeks bias relatif adalah perbandingan indeks bias dua medium yang berbeda. Indeks bias relatif medium kedua terhadap medium pertama didefinisikan sebagai perbandingan indeks bias medium kedua terhadap medium kedua terhadap medium pertama. (<http://holik62.webs.com>)

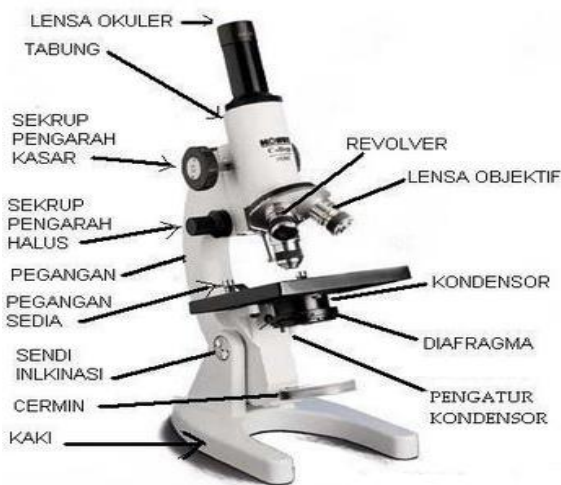
Tabel 2.6. Indeks Bias Mutlak dari Beberapa Zat

Medium	Indeks Bias Mutlak
Udara (1 atm, 0°C)	1,00029
Udara (1 atm, 0°C)	1,00028
Udara (1 atm, 0°C)	1,00026
Air	1,33
Etanol	1,36
Gliserin	1,47
Kaca kuarsa	1,46
Kaca keron	1,52
Kaca flinta	1,65
Intan	2,42

Sumber : (<http://holik62.webs.com>)

2.9. Penentuan Mikroba Menggunakan Mikroskop

Mikroskop adalah alat yang di gunakan untuk melihat, atau mengenali benda-benda renik yang terlihat kecil menjadi lebih besar dari aslinya (lihat Gambar 2.17).



Gambar 2.17. Mikroskop

Berikut adalah bagian-bagian mikroskop beserta fungsinya:

1. Lensa Okuler, yaitu lensa yang dekat dengan mata pengamat lensa ini berfungsi untuk membentuk bayangan maya, tegak, dan diperbesar dari lensa objektif
2. Lensa Objektif, lensa ini berada dekat pada objek yang di amati, lensa ini membentuk bayangan nyata, terbalik, di perbesar. Di mana lensa ini di atur oleh revolver untuk menentukan perbesaran lensa objektif.
3. Tabung Mikroskop (Tubus), tabung ini berfungsi untuk mengatur fokus dan menghubungkan lensa objektif dengan lensa okuler.
4. Makrometer (Pemutar Kasar), makrometer berfungsi untuk menaik turunkan tabung mikroskop secara cepat.
5. Mikrometer (Pemutar Halus), pengatur ini berfungsi untuk menaikkan dan menurunkan mikroskop secara lambat, dan bentuknya lebih kecil daripada makrometer.
6. Revolver, revolver berfungsi untuk mengatur perbesaran lensa objektif dengan cara memutarnya.
7. Reflektor, terdiri dari dua jenis cermin yaitu cermin datar dan cermin cekung. Reflektor ini berfungsi untuk memantulkan cahaya dari cermin ke meja objek melalui lubang yang terdapat di meja objek dan menuju mata pengamat. Cermin datar digunakan ketika cahaya yang di butuhkan terpenuhi, sedangkan jika kurang cahaya maka menggunakan cermin cekung karena berfungsi untuk mengumpulkan cahaya.
8. Diafragma, berfungsi untuk mengatur banyak sedikitnya cahaya yang masuk.
9. Kondensor, kondensor berfungsi untuk mengumpulkan cahaya yang masuk, alat ini dapat putar dan di naik turunkan.
10. Meja Mikroskop, berfungsi sebagai tempat meletakkan objek yang akan di amati.
11. Penjepit Kaca, penjepit ini berfungsi untuk menjepit kaca yang melapisi objek

agar tidak mudah bergeser.

12. Lengan Mikroskop, berfungsi sebagai pegangan pada mikroskop.
13. Kaki Mikroskop, berfungsi untuk menyangga atau menopang mikroskop.
14. Sendi Inklinasi (Pengatur Sudut), untuk mengatur sudut atau tegaknya mikroskop.(<http://sulistyaindriani.wordpress.com>)