

**PENGARUH VARIASI PENAMBAHAN RAGI DAN LAMANYA WAKTU FERMENTASI TERHADAP HASIL FERMENTASI ETANOL DARI SERBUK GERGAJIAN KAYU ULIN (*EUSIDEROXYLON ZWAGERI* T ET B)**

**AHMAD JAUHARI<sup>1\*</sup>, NOOR MIRAD SARI<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Jurusan Teknologi Hasil Hutan, Fakultas Kehutanan, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru

**ABSTRACT**

*The research was aimed to assess the influence of different levels of yeast addition and duration of fermentation on the amount and percentage of ethanol produced from sawdust of ulin wood as raw material.*

*Method used in this experiment was chemical hydrolysis of cellulose by using nitric acid (HNO<sub>3</sub>) as chemical agent. This substrate was inoculated into yeast cell (khamir) to convert glucose into ethanol. The amount of ethanol (ml) was obtained from distilled water (ml) multiplied by the azeotropic value of ethanol (95,5%), while the value ethanol (%) obtained was from the amount of ethanol (ml) divided by the amount of distilled water (ml) multiplied by 100 percent.*

*The study used a factorial design of 3 x 3 with 3 replications and the parameters used were A factor (amount of yeast) consisting of 5, 10, and 15 grams, respectively, and B factor (duration of fermentation) consisting of 1, 3, and 5 days, respectively. Significant differences of ANOVA at test levels of 5% and 1% will be continued by interaction test between the two factors to assess the influence of each factor on the amount and percentage of ethanol.*

*Results indicated that the factors of yeast amount, duration of fermentation and interaction between the two gave a very significant influence on the amount of ethanol (ml) and its percentage (%) as a result of fermentation. Following the treatment on ulin wood sawdust, the lowest yield of ethanol was found at A<sub>1</sub>B<sub>1</sub> treatment (5 g, 1 day) with 1.69 ml, while the highest at A<sub>3</sub>B<sub>3</sub> treatment (15 g, 5 day) with 5.19 ml. In terms of ethanol percentage, the lowest was found at A<sub>1</sub>B<sub>1</sub> treatment with 9.4% and the highest at A<sub>3</sub>B<sub>2</sub> treatment with 29.9 %.*

*Keywords: Eusideroxylon zwageri T et B, fermentation period, yeast addition, ethanol production.*

\*Penulis untuk korespondensi. Tel./Fax: +62-511-4772290 E-mail: jauhar\_jo1@telkom.net

**PENDAHULUAN**

Industri perkayuan dapat menjadi salah satu “pelaku” yang mungkin dapat menimbulkan masalah lingkungan, terutama permasalahan banyaknya limbah yang berdampak pada pencemaran terhadap lingkungan, seperti pencemaran udara, air, dan tanah. Sebagai contoh, penelitian yang telah dilakukan oleh Subari dan Abidin (1991) pada industri-industri yang ada di Komplek Industri Jelapat Kalimantan Selatan menemukan bahwa setiap industri kayu lapis dan

industri penggergajian menghasilkan persentase limbah padatan dengan kisaran 48,16 % - 62,98 % dan 39,16 % - 44,62%.

Pemanfaatan kayu secara maksimal bukan hanya berarti mampu menurunkan besarnya limbah tetapi juga mampu meningkatkan efisiensi penggunaan kayu, menambah rendemen dan meningkatkan nilai ekonomis. Salah satu cara yang ditempuh adalah dengan mengubah/mengolah kembali kayu sisa (*waste*) menjadi produk-produk kayu maupun yang

bukan kayu solid, seperti papan blok, papan partikel, papan serat, *lumber core*, gagang sapu, sumber energi, papan semen, papan wol kayu, dan pulp kertas, serta tidak menutup pula kemungkinan pengolahan limbah kayu padatan dari industri perkayuan dengan mengubah senyawa-senyawa kimia yang ada pada kayu menjadi senyawa lain yang lebih bermanfaat dan bernilai komersial.

Penanganan limbah dengan menggunakan bantuan mikroorganisme dengan sistem bioteknologi saat ini terus dikembangkan, karena senyawa-senyawa kompleks yang ada dalam limbah dapat dimanfaatkan sebagai substrat fermentasi untuk menghasilkan senyawa lain yang lebih berguna. Selain itu, kelebihan dari sistem bioteknologi ini adalah mudah diterapkan dan relatif murah untuk pengoperasian dan pemeliharaannya.

Di Propinsi Kalimantan Selatan banyak terdapat industri penggergajian kayu yang merupakan industri kecil yang dikerjakan oleh tenaga manusia. Bahan utama industri penggergajian ini adalah kayu ulin yang sudah berbentuk pacakan (kayu persegi/plat) yang diperoleh dari tebangan rakyat. Limbah dari industri penggergajian dapat berupa serbuk, serutan dan sebetan yang merupakan limbah padatan yang belum dimanfaatkan secara bioteknologi. Dengan penggunaan limbah padat industri penggergajian yang berupa serbuk gergaji ulin, diharapkan selulosa-selulosa yang ada di dalam kayu ulin sudah terpotong-potong sehingga mempermudah reaksi fermentasi etanol yang dapat digunakan sebagai bahan bakar cair dan sebagai pencampur minyak diesel.

## TINJAUAN PUSTAKA

### Kayu ulin (*Eusideroxylon zwageri* T et B)

Ulin dikenal dengan nama botanis *Eusideroxylon zwageri* T et B (Heyne 1987). Jenis ini dikelompok-

kan dalam famili Lauraceae dengan berbagai nama daerah, antara lain: Belian, Bulian, Bulin (Bangka) Ungalin (Sumatera Tengah), Onglen (Palembang), Bulin, Tebelian (Kalimantan Barat), Balian, Kayo Taba (Busang), Lempahang, Ulin, Tabelien, Tabulin, Tadien, Talium, Talvium, Tawudien, Telien (Kutai).

Martawijaya dkk. (1989) yang dikutip oleh Pujiati (2002), menyatakan bahwa pada kayu ulin terkandung selulosa sekitar 51% (tergolong kelas tinggi) dan lignin 28,9% (tergolong sedang). Kandungan zat ekstraktif yang larut dalam alkohol benzen 1 : 2 sebesar 0,6% (tergolong rendah), yang larut dalam air panas 6,9% (tergolong tinggi), yang larut dalam air dingin 0,6% (tergolong rendah), yang larut dalam Natrium hidroksida (NaOH) 1% sebesar 12,7% (tergolong tinggi), kadar pentosan 12,7% (tergolong rendah), dan kadar abu 0,30% (tergolong sedang).

### Hidrolisis selulosa ((C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>)<sub>n</sub>)

Selulosa merupakan homopolisakarida yang tersusun atas unit-unit β-D-glikopiranososa yang terikat satu sama lain dengan ikatan-ikatan glikosida (1-4) yang merupakan pula sebagai konstituen (komponen) utama kayu. Kira-kira 40% - 45% bahan kering dalam kebanyakan spesies kayu adalah selulosa, terutama terdapat dalam dinding sel sekunder (Sjostrom, 1998).

Fengel & Wegner (1995) menyebutkan beberapa metode isolasi selulosa, antara lain; 1) menggunakan asam trifluoroasetat 100% pada hidrolisis tahap awal dengan berbagai tahap-tahap pengenceran, 2) mengekstraksi holoselulosa di bawah nitrogen dalam 2 langkah dengan KOH 5% dan 24%, namun selulosa yang dihasilkan masih cukup banyak mengandung sisa poliosa dan lignin, 3) mereaksikan kayu dengan asam nitrat dalam etanol, dan 4) menggunakan asam

sulfat, yang dimulai dengan konsentrasi 72% pada langkah pertama dalam proses hidrolisis.

### Biokimia fermentasi

Menurut Winarno, dkk (1980) yang dikutip oleh Amrulah (1987) fermentasi dapat terjadi karena adanya aktifitas mikroba penyebab fermentasi pada substrat organik yang sesuai. Sedangkan hasil-hasil fermentasi terutama tergantung pada jenis bahan pangan/substrat, macam mikroba dan kondisi di sekelilingnya yang mempengaruhi pertumbuhan dan metabolisme mikroba tersebut.

### Substrat dan mikroorganisme yang berperan dalam proses fermentasi

Page (1989) mengemukakan dalam glosarinya bahwa substrat diartikan sebagai metabolit spesifik yang diikat dan mengalami tindakan oleh tapak aktif suatu enzim. Fardiaz (1988) menyebutkan bahwa beberapa faktor yang mempengaruhi pemilihan substrat untuk fermentasi adalah: ketersediaan dan kemudahan untuk didapat, sifat fermentasi, harga dan faktor harga, serta faktor lain seperti kecepatan aerasi dan atau agitasi serta biaya transportasi.

### Etanol ( $C_2H_5OH$ )

Etanol atau etil alkohol adalah hasil peragian dari zat-zat yang mengandung glukosa ( $C_6H_{12}O_6$ ). Peragian berlangsung karena pengaruh enzim-enzim atau biokatalis yang ditimbulkan oleh daya-daya hidup dari sel-sel ragi. Yang dimaksud peragian menjadi alkohol ialah perubahan berbagai jenis gula ke dalam etanol dan karbondioksida ( $CO_2$ ).

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada dua lokasi, yaitu pada industri penggergajian di Kalimantan Selatan, dan di Laboratorium MIPA Unlam Banjarbaru untuk proses distilasi etanol hasil fermentasi serbuk gergaji

ulin (*Eusideroxylon zwageri* T et B). Penelitian ini dilaksanakan selama 6 (enam) bulan mulai dari orientasi di lapangan, pengambilan data, analisis laboratorium, pengolahan data dan pembuatan laporan. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini berupa serbuk gergajian kayu ulin yang berasal dari industri penggergajian di Kalimantan Selatan, sedangkan bahan-bahan lain yang digunakan adalah: Ragi tape (*Saccharomyces cerevisiae*), larutan asam nitrat ( $HNO_3$ ), daun pisang, air, dan *handy clean*.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: neraca analitik (untuk menimbang serbuk gergaji kayu ulin), kompor, baskom (untuk merendam serbuk), kertas saring, kertas lakmus universal (untuk mengetahui pH), pipet tetes (untuk memindahkan cairan dalam volume kecil), toples, panci kukus (untuk mengukus serbuk), kain peras (untuk memeras hasil pengukusan), sendok, corong, labu godok, gelas ukur 5 ml dan 100 ml, alat destilasi, ayakan/saringan (untuk menyaring), alat pengukur waktu, kertas stiker (untuk mencap tempat etanol), karet gelang (mengilusan bungkusan serbuk), penangas listrik (alat uji untuk menghasilkan etanol), gelas, termometer (untuk mengukur suhu), alat dokumentasi, dan alat tulis.

Penelitian ini menggunakan percobaan faktorial  $3 \times 3$  dalam pola Rancangan Acak Lengkap (RAL), dengan jumlah ulangan sebanyak 3 kali, sehingga banyaknya sampel yang diperlukan adalah 27 buah sampel.

Faktor-faktor yang diteliti adalah banyaknya ragi dan lamanya waktu fermentasi pada proses fermentasi kayu ulin yang terdiri dari:

1. Faktor A, yaitu banyaknya ragi yang terdiri dari:  
 $A_1$  = ragi sebanyak 5 g,  $A_2$  = ragi sebanyak 10 g,  
 $A_3$  = ragi sebanyak 15 g
2. Faktor B, yaitu lamanya waktu fermentasi yang terdiri dari:  $B_1$  = 1 hari,  $B_2$  = 3 hari,  $B_3$  = 5 hari.

Pengamatan dilakukan terhadap hasil yang meliputi jumlah volume etanol (ml) dan persentasenya (%). Menurut Perrin & Armarego (1986), perhitungan kedua nilai pengamatan tersebut dapat menggunakan rumus:

1. Jumlah volume etanol

$$\text{Volume etanol} = \frac{95,5}{100} \times \text{hasil destilasi (ml)}$$

dimana 95,5% = persentase alkohol pada titik azeotropik

2. Persentase etanol

$$\% \text{ etanol} = \frac{\text{Volume etanol}}{\text{Volume hasil pengunduhan}} \times 100\%$$

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Jumlah volume etanol

Rata-rata volume etanol hasil fermentasi dari serbuk gergaji kayu ulin dengan perlakuan banyaknya ragi yang diberikan sebesar 5 g, 10 g dan 15 g dalam waktu fermentasi 1 hari, 3 hari dan 5 hari dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata jumlah volume etanol hasil fermentasi serbuk gergaji kayu ulin (ml)

Faktor A (banyaknya ragi)	Faktor B (lama fermentasi)			Rerata
	1 hari	2 hari	3 hari	
A <sub>1</sub> (5 g)	1,69	1,94	2,26	1,69
A <sub>2</sub> (10 g)	3,09	3,95	5,03	4,02
A <sub>3</sub> (15 g)	3,15	4,14	5,19	4,16
Rerata	2,64	3,34	4,15	3,38

Tabel 1 menunjukkan peningkatan jumlah volume etanol pada faktor A dari jumlah ragi sebesar 5 g hingga 15 g adalah sebesar rata-rata 2,20 ml (4,16- 1,96 ml). Besarnya nilai ini diperoleh dari jumlah peningkatan nilai banyaknya ragi 5 g ke 10 g yaitu sebesar 2,06 ml dan dari banyaknya ragi 10 g ke 15 g yaitu rata-rata 0,14 ml.

Jumlah volume etanol yang dihasilkan pada faktor waktu fermentasi (faktor B) juga terlihat cenderung meningkat dari waktu fermentasi (yang

diperlukan selama) 1 menjadi 5 hari yaitu rata-rata sebesar 1,52 ml (4,16-2,64 ml) dengan perincian yaitu peningkatan dari waktu fermentasi 1 ke 3 sebesar 0,70 ml dan dari 3 ke 5 hari sebesar 0,82 ml.

Peningkatan jumlah volume etanol yang dihasilkan pada faktor B ini diduga karena dengan semakin lama waktu fermentasi maka semakin banyak pula waktu yang tersedia bagi fase-fase pertumbuhan mikroorganisme untuk pertumbuhan sel dan pembentukan produk metabolismenya. Waktu pengunduhan yang lebih awal akan mempersingkat atau memutuskan fase-fase pertumbuhan mikroorganisme yang masih aktif sebelum fase kematian atau titik maksimal sehingga hasil yang didapatkan menjadi lebih sedikit.

Pengaruh banyaknya ragi yang diberikan, waktu fermentasi, dan interaksi keduanya terhadap volume etanol yang dihasilkan dapat diketahui dengan melakukan analisis sidik ragam. Data yang digunakan telah lebih dulu diuji menggunakan uji pendahuluan Liliefors dan uji Bartlett untuk mengetahui kenormalan dan kehomogenan ragamnya. Hasil kedua uji pendahuluan ini menunjukkan bahwa data yang diperoleh menyebar normal dan homogen, dengan  $L_{maks} = 0,1214$  lebih kecil dari  $L_{tabel} = 0,1682$  dan  $X^2_{hitung} = 3,555$  lebih kecil dari  $X^2_{tabel} = 15,5070$ . Hasil analisis sidik ragam banyaknya etanol hasil fermentasi serbuk kayu ulin dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Analisis sidik ragam banyaknya etanol hasil fermentasi

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-Hitung
Perlakuan	8	39,625355	4,953169	257,665**
Faktor A	2	27,237335	13,618668	708,445**
Faktor B	2	10,370934	5,185467	269,749**
Interaksi AB	4	2,017085	0,504271	26,232***
Galat	18	0,346020	0,019223	
Total	26	39,971375		

Keterangan: \*\*\*= Berpengaruh sangat nyata/signifikan

Tabel 2 menunjukkan bahwa perlakuan faktor A (banyaknya ragi), faktor B (waktu fermentasi) dan interaksi kedua faktor (AB) berpengaruh sangat signifikan terhadap banyaknya etanol hasil fermentasi. Hal ini berarti bertambahnya jumlah ragi yang diberikan menyebabkan peningkatan banyaknya etanol yang sangat signifikan. Tren yang sama berlaku untuk faktor B.

Interaksi kedua faktor (AB) berpengaruh sangat signifikan terhadap banyaknya etanol yang dihasilkan. Hal ini menunjukkan bahwa faktor-faktor itu tidak bebas, pengaruh tiap faktor bergantung pada taraf faktor lainnya. Untuk itu perlu dilakukan analisis lanjutan untuk mengetahui pengaruh sederhana setiap faktor terhadap banyaknya etanol hasil fermentasi seperti yang tertera pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil perhitungan pemeriksaan interaksi AB terhadap banyaknya etanol

Perbandingan Perlakuan	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-Hitung
A dalam B1	2	4,115556	2,057778	107,0477**
A dalam B2	2	8,876067	4,438033	230,871**
A dalam B3	2	16,262820	8,131411	423,0043**
B dalam A1	2	0,4949857	0,247433	12,87173**
B dalam A2	2	5,689756	2,844878	147,9934**
B dalam A3	2	6,203467	3,101733	161,3553**

Keterangan: \*\*= Berpengaruh sangat nyata/signifikan

Tabel 3 menunjukkan bahwa perlakuan pemberian ragi (faktor A) dalam berbagai level faktor waktu fermentasi (faktor B) pada rentang waktu 1 hari, 3 hari, dan 5 hari, memberikan pengaruh yang berbeda sangat signifikan terhadap banyaknya etanol hasil fermentasi. Demikian pula, lama waktu fermentasi (faktor B) dalam berbagai faktor banyak ragi (faktor A) memberikan pengaruh yang sangat signifikan terhadap volume etanol yang dihasilkan dari proses fermentasi.

Untuk mengetahui lebih jauh level faktor interaksi perlakuan mana yang memberikan pengaruh yang berbeda maka dilakukan uji beda

nyata terkecil. Secara tabular, hasilnya dapat dilihat pada Tabel 4 berikut.

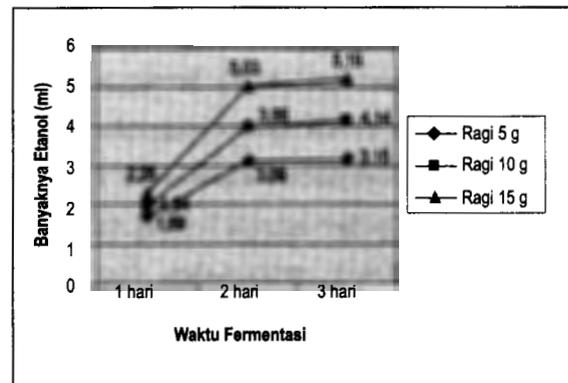
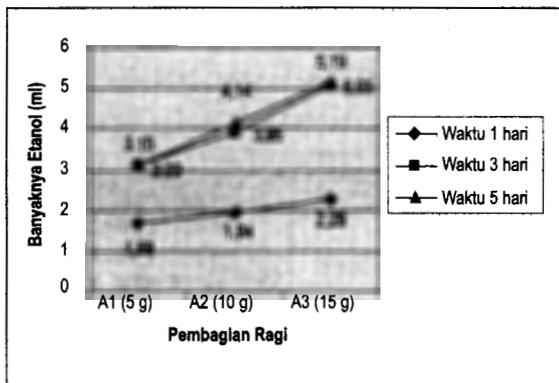
Tabel 4. Hasil uji LSD beda volume etanol pada tingkat kepercayaan 95%

Perlakuan	Uji Beda LSD 95%
A dalam B1	A1B1, A2B1, A3B1
A dalam B2	A1B2, A2B2, A3B2
A dalam B3	A1B3, A2B3, A3B3
B dalam A1	A1B1, A1B2, A1B3
B dalam A2	A2B1, A2B2, A2B3
B dalam A3	A3B1, A3B2, A3B3

Tabel 4 menunjukkan bahwa pada perlakuan pemberian ragi dengan berbagai level waktu fermentasi (A dalam berbagai level B) terlihat perlakuan yang homogen (tidak berbeda), yaitu perlakuan A2B1 dengan A3B1 pada A dalam B1, A2B2 dengan A3B2 pada A dalam B2 dan A2B3 dengan A3B3 pada A dalam B3. Sedangkan pada perlakuan waktu fermentasi dengan berbagai level banyaknya pemberian ragi (B dalam berbagai level A) terlihat tidak ada perlakuan yang homogen. Interaksi antara faktor banyaknya ragi dan lamanya waktu fermentasi disajikan pada Gambar 1.

Dari Gambar 1 secara umum dapat dikatakan bahwa pertambahan jumlah ragi dan waktu fermentasi cenderung meningkatkan volume etanol hingga batas tertentu. Banyaknya etanol di antara tiga kelas jumlah ragi pada porsi A dalam B1, B2, dan B3, sangat signifikan. Hal ini berarti banyaknya hasil etanol mempunyai kisaran nilai yang sangat berbeda, baik pada jumlah ragi 5 g, 10 g dan 15 g dalam tiga kelas waktu yang berbeda. Penambahan ragi yang besar cenderung menaikkan hasil produk dari proses biokonversi ini dengan limit tertentu, yaitu dengan melalui fase eksponensial oleh beberapa generasi sel yang lebih panjang.

Dengan waktu fermentasi 1 hari (A dalam B1), penambahan ragi dari 5 g (A1B1) menjadi 10 g (A2B1) dan menjadi 15 g (A3B1) memberikan peningkatan yang sangat signifikan terhadap



Gambar 1. Pengaruh interaksi banyaknya ragi dan waktu fermentasi terhadap volume etanol hasil fermentasi

banyaknya etanol, yaitu sebesar 1,4 ml dan 1,5 ml. Tetapi, pada penambahan ragi dari 10 g (A2B1) menjadi 15 g (A3B1) tidak terjadi peningkatan yang signifikan (0,1 ml). Tren yang sama terjadi pada pemberian ragi sebanyak 5, 10 dan 15 g dengan waktu fermentasi 3 hari (A dan B2) dan 5 hari (A dalam B3).

Pada pemberian ragi sebanyak 5 g (B dalam A1) terlihat bahwa penambahan waktu fermentasi dari 1 hari (A1B1) menjadi 3 hari (A1B2) dan 5 hari (A1B3) memberikan pengaruh yang signifikan terhadap peningkatan volume etanol, yaitu sebesar 0,2 dan 0,6 ml. Penambahan waktu fermentasi dari 3 hari (A1B2) menjadi 5 hari (A1B3) juga meningkatkan volume etanol secara signifikan, yaitu sebesar 0,4 ml. Kecenderungan yang sama juga terlihat pada pemberian ragi sebanyak 10 g (B dalam A2) dan 15 g (B dalam A3) dengan semua penambahan waktu fermentasi meningkatkan volume etanol secara signifikan.

Dari data yang ada diperoleh bahwa interaksi faktor AB dan pengaruh sederhana tiap faktor sangat signifikan terhadap jumlah etanol yang dihasilkan, dengan kata lain semakin banyak jumlah ragi yang diberikan dan semakin lama waktu fermentasi yang disediakan, jumlah etanol yang diperoleh cenderung semakin tinggi. Untuk itu, perlu diperhatikan

kombinasi perlakuan yang menghasilkan etanol dengan jumlah yang optimal.

Selisih nilai yang sangat kecil (0,16 ml) antara kombinasi perlakuan A<sub>3</sub>B<sub>3</sub> (rata-rata 5,19 ml) dan A<sub>2</sub>B<sub>3</sub> (rata-rata 5,03 ml) mengindikasikan bahwa perlakuan A<sub>2</sub>B<sub>3</sub> adalah kombinasi perlakuan yang lebih efisien dalam hal penerapan, karena dengan jumlah ragi yang lebih sedikit dihasilkan volume etanol yang kurang lebih sama.

### Persentase etanol

Rata-rata persentase etanol hasil fermentasi dari kayu ulin pada masing-masing kelas jumlah ragi dan lamanya waktu fermentasi dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Persentase etanol hasil fermentasi serbuk gergajian kayu ulin (%)

A1 (5 g)	9,04	10,86	16,30	12,07
A2 (10 g)	11,81	14,05	18,34	14,73
A3 (15 g)	26,79	29,85	25,30	27,31
Rerata	15,88	18,25	19,98	18,04

Pada Tabel 5 terlihat bahwa nilai rata-rata persentase etanol hasil fermentasi tertinggi terjadi pada kombinasi perlakuan A<sub>3</sub>B<sub>2</sub> (29,85%) dan nilai rata-rata terkecil terjadi pada kombinasi perlakuan A<sub>1</sub>B<sub>1</sub> (9,04%). Peningkatan nilai rata-rata persentase etanol yang dihasilkan seiring dengan bertambahnya jumlah ragi yang diberikan dan lamanya waktu

fermentasi yang disediakan, kecuali pada perlakuan  $A_3B_3$ .

Persentase etanol hasil fermentasi pada faktor A (banyaknya ragi) meningkat dengan bertambahnya jumlah ragi yang diberikan, yaitu rata-rata sebesar 15,24%. Peningkatan persentase etanol hasil fermentasi dari jumlah ragi 5 g ke 10 g adalah 2,66%, sedangkan dari jumlah ragi 10 g ke 15 g adalah 12,58%. Peningkatan ini sangat dipengaruhi oleh volume etanol yang dihasilkan, yang berbanding lurus terhadap nilai persentase etanol. Jumlah sel (ragi) awal yang diinokulasikan ke dalam media akan mempengaruhi kecepatan penghabisan oksigen yang ada sebelum respirasi aerob untuk menghasilkan etanol. Dengan demikian, semakin banyak ragi yang diinokulasikan maka semakin cepat pula waktu untuk menghabiskan oksigen dan fase adaptasinya sehingga produk metabolismenya lebih awal terbentuk.

Persentase etanol pada faktor B juga meningkat dari waktu fermentasi 1 hari ke 5 hari yaitu (4,10%) dengan rincian peningkatan persentase etanol dari waktu fermentasi 1 hari ke 3 hari sebesar 2,37% dan dari waktu 3 hari ke 5 hari sebesar 1,73%. Peningkatan persentase etanol ini diduga karena peningkatan lamanya waktu fermentasi memberikan kesempatan mikrobial untuk merombak substratnya lebih lama dan banyak. Sutariningsih & Yuni (1989) menjelaskan bahwa lamanya waktu inkubasi berbanding lurus dengan hasil produk fermentasi. Namun demikian, ada batasan-batasan tertentu dari mikrobial untuk menghasilkan produk metabolitnya dalam setiap proses biokonversi, diantaranya yang berkenaan langsung dengan teknologi pengunduhan.

Kombinasi perlakuan  $A_3B_2$  menunjukkan nilai persentase etanol hasil fermentasi yang tertinggi dibandingkan dengan kombinasi perlakuan  $A_3B_3$ . Diduga hal ini terjadi karena titik maksimal

pertumbuhan sel ragi telah tercapai pada perlakuan  $A_3B_2$  (29,86%). Pada perlakuan  $A_3B_2$  lebih tercium aroma harum dan menimbulkan kesan rasa yang manis. Sutariningsih & Yuni (1989) dalam hasil studinya mendukung adanya kondisi seperti itu dengan penjelasan bahwa pada proses biokonversi sering terjadi hambatan oleh produk yang dihasilkan. Etanol yang dihasilkan pada proses fermentasi glukosa akan menghambat aktivitas enzim *alcohol dehidrogenase Saccharomyces cerevisiae*.

Pada kombinasi perlakuan  $A_3B_3$ , seiring dengan pertumbuhan mikroba yang maksimum, terjadi konsumsi nutrisi dan pembentukan produk yang maksimum. Produk tersebut mempengaruhi pertumbuhan mikroba. Setelah beberapa waktu, kecepatan tumbuh mikroba menurun dan akhirnya berhenti. Hal ini disebabkan karena habisnya nutrisi di dalam media dan tertimbunnya hasil-hasil yang meracuni sel (Sutariningsih & Yuni, 1989). Kematian yang terjadi pada mikroba mendukung proses pembusukan. Hal ini disebabkan karena pada pertumbuhan eksponensial dalam proses fermentasi pada sistem *batch* atau sekali unduh tidak dilakukan penambahan nutrisi dan hanya berlangsung singkat selama beberapa generasi (Fardiaz, 1988), sehingga setelah fase kematian terjadilah fase pembusukan. Hal ini terbukti dengan kecilnya jumlah etanol yang dihasilkan, hangusnya daun pisang pembungkus, dan terciumnya bau busuk pada sampel.

Pengaruh banyaknya ragi (faktor A), waktu fermentasi (B), dan interaksinya (AB) terhadap nilai persentase etanol hasil fermentasi ini dapat diketahui dengan melakukan analisis sidik ragam dengan menggunakan uji Liliefors dan uji Bartlett untuk mengetahui kenormalan dan kehomogenan ragamnya. Hasil kedua uji pendahuluan ini menunjukkan bahwa data menyebar normal dan homogen, dimana  $L_{maks} = 0,1332$  lebih kecil atau sama dari  $L_{tabel} =$

0,1682 dan  $X^2$  hitung = 8,5640 lebih kecil daripada  $X^2$  tabel = 15,5070.

Hasil perhitungan analisis sidik ragam persentase etanol hasil fermentasi kayu ulin dapat dilihat pada Tabel 6. Tabel 6 menunjukkan bahwa baik faktor A, faktor B maupun interaksi keduanya AB memberikan pengaruh yang sangat signifikan terhadap persentase etanol hasil fermentasi. Hal ini berarti, dengan jumlah ragi dan lamanya fermentasi akan berpengaruh sangat signifikan dalam peningkatan dan penurunan nilai persentase etanol hasil fermentasi.

Tabel 6. Analisis sidik ragam persentase etanol hasil proses fermentasi

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-Hitung
Perlakuan	8	1.377,479858	172,184982	334,159**
Faktor A	2	1.193,670410	596,835205	1158,276**
Faktor B	2	76,133896	38,066948	73,876**
Interaksi AB	4	107,675552	26,918888	52,241**
Galat	18	9,275024	0,545279	
Total	26	1.386,7544883		

Keterangan: \*\*= Berpengaruh sangat nyata/signifikan

Interaksi AB menunjukkan pengaruh yang sangat signifikan terhadap persentase etanol. Hal ini mengindikasikan bahwa faktor-faktor itu tidak bebas, pengaruh tiap faktor bergantung pada taraf faktor lainnya. Untuk itu, perlu dilakukan analisis lanjutan untuk mengetahui pengaruh sederhana (*simple effect*) setiap faktor terhadap persentase etanol hasil fermentasi seperti yang terlihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Pengaruh interaksi AB terhadap persentase etanol hasil proses fermentasi

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-Hitung
A dalam B1	2	574,2726	273,63363	531,045**
A dalam B2	2	620,4362	310,2181	602,0391**
A dalam B3	2	133,636	66,81801	129,6735**
B dalam A1	2	85,63776	42,81888	83,09843**
B dalam A2	2	65,94576	32,97288	63,99034**
B dalam A3	2	32,22507	16,11253	31,26953**

Keterangan: \*\*= Berpengaruh sangat nyata/signifikan

Tabel 7 menunjukkan bahwa dengan pemberian ragi (faktor A) dalam berbagai level waktu

fermentasi (faktor B), baik pada 1 hari, 3 hari, dan 5 hari memberikan pengaruh yang sangat signifikan terhadap persentase etanol hasil fermentasi. Demikian pula, perlakuan lamanya waktu fermentasi (faktor B) dalam berbagai jumlah ragi baik 5 g, 10 g dan 15 g memberikan pengaruh yang sangat signifikan terhadap persentase etanol yang dihasilkan dari proses fermentasi.

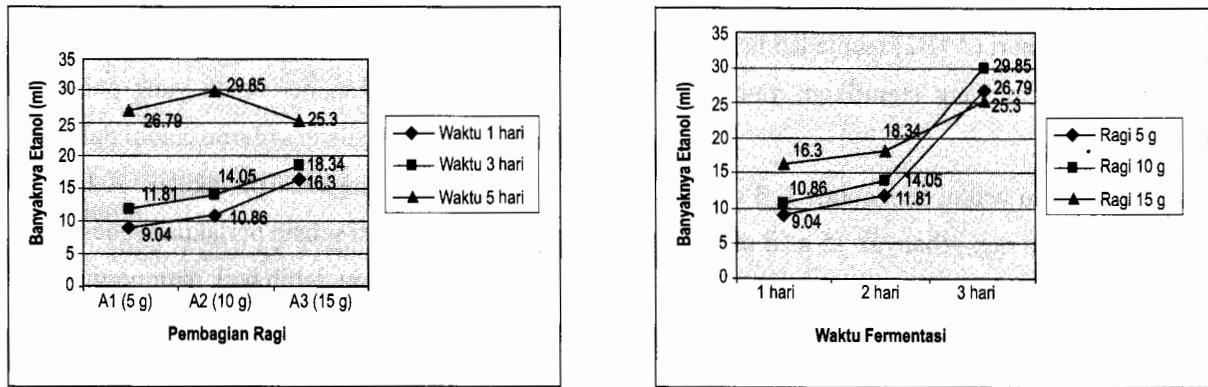
Untuk mengetahui lebih jauh level faktor interaksi perlakuan yang memberikan pengaruh yang berbeda maka dilakukan uji beda nyata terkecil. Secara tabular, hasilnya dapat dilihat pada Tabel 8 berikut.

Tabel 8. Hasil uji LSD beda persentase etanol uji pada tingkat kepercayaan 95%

Perlakuan	Uji Beda LSD 95%
A dalam B1	A1B1, A2B1, A3B1
A dalam B2	A1B2, A2B2, A3B2
A dalam B3	A1B3, A2B3, A3B3
B dalam A1	A1B1, A1B2, A1B3
B dalam A2	A2B1, A2B2, A2B3
B dalam A3	A3B1, A3B2, A3B3

Tabel 8 menunjukkan bahwa pada perlakuan pemberian ragi dengan berbagai level waktu fermentasi (A dalam berbagai level B), terlihat perlakuan yang tidak homogen (berbeda). Demikian juga pada perlakuan waktu fermentasi dengan berbagai level banyaknya pemberian ragi (B dalam berbagai level A), terlihat tidak ada perlakuan yang homogen (berbeda). Interaksi antara faktor banyaknya ragi dan lamanya waktu fermentasi dapat dilihat dalam Gambar 2.

Gambar 2 menunjukkan bahwa persentase etanol diantara tiga macam banyaknya ragi yang diperlihatkan pada porsi A dalam taraf B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, dan B<sub>3</sub> sangat signifikan. Hal ini berarti persentase etanol mempunyai kisaran yang sangat berbeda, baik pada ragi 5 g, 10 g maupun 15 g pada waktu fermentasi yang berbeda. Perbedaan ini diduga karena adanya penambahan jumlah ragi yang mampu meningkatkan



Gambar 2. Pengaruh interaksi banyaknya ragi dan waktu fermentasi terhadap persentase etanol hasil fermentasi

efektifitas kerja khamir sehingga etanol yang dihasilkan menjadi besar. Semakin besar jumlah etanol yang dihasilkan maka nilai persentase etanol cenderung akan semakin besar pula. Namun, dengan jumlah inokulum awal yang besar, kondisi lingkungan media/fermenter pada sistem sekali unduh akan semakin cepat berubah ke arah kondisi yang tidak mendukung bagi pertumbuhan sel perombak, bahkan ada kemungkinan tumbuhnya mikrobia lain dan terbentuknya produk lain yang tidak diharapkan.

Pada pemberian ragi sebanyak 5, 10 dan 15 g dengan waktu fermentasi 1 hari, 3 (A dalam B1), terlihat penambahan banyaknya ragi dari 5 g (A1B1) menjadi 10 g (A2B1) dan 15 g (A3B1) memberikan peningkatan yang sangat signifikan terhadap prosentase alkohol, yaitu sebesar 2,77 dan 17,75 %. Pada penambahan ragi dari 10 g (A2B1) menjadi 15 g (A3B1) terjadi peningkatan yang signifikan juga, yaitu sebesar 14,98%.

Pada pemberian ragi sebanyak 5, 10 dan 15 g dengan waktu fermentasi 3 hari (A dalam B2), terlihat penambahan banyaknya ragi dari 5 g (A1B2) menjadi 10 g (A2B2) dan 15 g (A3B2), memberikan peningkatan yang sangat signifikan terhadap prosentase alkohol, yaitu sebesar 3,19 dan 18,99%. Pada penambahan ragi dari 10 g (A2B2) menjadi 15 g (A3B2) juga terjadi peningkatan yang signifikan

sebesar 15,8%. Dengan pemberian ragi sebanyak 5, 10 dan 15 g dengan waktu fermentasi 5 hari (A dalam B3), terlihat penambahan banyaknya ragi dari 5 g (A1B3) menjadi 10 g (A2B3) menjadi 15 g (A3B3) juga terjadi peningkatan yang signifikan, yaitu sebesar 6,96 %.

Persentase etanol pada porsi B dalam taraf A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> dan A<sub>3</sub>, sangat signifikan. Hal ini berarti persentase etanol mempunyai kisaran nilai yang sangat berbeda, baik pada waktu fermentasi 1 hari, 3 hari maupun 5 hari pada banyaknya ragi 5 g, 10 g dan 15 g. Perbedaan ini dikarenakan oleh adanya rentangan waktu yang berbeda dalam pertumbuhan sel dan pembentukan produk, sedangkan masa pertumbuhan/pembelahan sel itu sendiri terjadi dalam waktu singkat. Seperti yang diutarakan oleh Suratiningih & Yuni (1989), bahwa khamir memerlukan waktu ganda untuk pembelahan selnya selama 2-6 jam, sehingga dengan rentang waktu tertentu akan memungkinkan pembentukan produk yang berbeda nyata antar kombinasi perlakuan.

Perlakuan waktu fermentasi 1, 3, dan 5 hari dengan pemberian ragi sebanyak 5 g (B dalam A1), terlihat pada penambahan waktu fermentasi dari 1 hari (A1B1) menjadi 3 hari (A1B2) dan 5 hari (A1B3) memberikan pengaruh yang signifikan terhadap peningkatan prosentase alkohol, yaitu sebesar 1,82 dan 7,26%. Penambahan waktu

fermentasi dari 3 hari (A1B2) menjadi 5 hari (A1B3) terjadi peningkatan yang signifikan, yaitu sebesar 5,40 %.

Pada perlakuan waktu fermentasi 1, 3 dan 5 hari dengan pemberian ragi sebanyak 15 g (B dalam A3), terlihat pada penambahan waktu fermentasi dari 1 hari (A3B1) menjadi 3 hari (A3B2), memberikan pengaruh yang signifikan terhadap peningkatan prosentase alkohol, yaitu sebesar 3,06 %, kemudian pada waktu fermentasi dari 3 hari ke 5 hari (A3B3), prosentase alkohol justru menurun sebanyak 1,49%. Penambahan waktu fermentasi dari 3 hari (A3B2) menjadi 5 hari (A3B3) terjadi penurunan yang signifikan, yaitu sebesar 4,55 %. Penurunan ini diduga disebabkan oleh karena substrat yang dapat diolah bakteri sudah habis sehingga bakteri mengalami kematian.

Respati (1986), memberikan hasil prosentase etanol hayati dari proses fermentasi lain, seperti peragian zat pati (kentang, padi-padian, jagung) sebesar  $\pm 18\%$ , bir (3-4%), anggur (8-10%), brandy (40-50%). Etanol dengan kandungan 95,6% dapat diperoleh dengan perlakuan distilasi bertingkat, untuk memperoleh alkohol absolut, maka alkohol 95,6 % ditambah CaO yang akan mengikat airnya, kemudian dilakukan distilasi sekali lagi.

Nilai rata-rata prosentase etanol hasil fermentasi dari serbuk gergaji kayu ulin ini berkisar antara 9,04% - 29,85%. Sedangkan Jazuli (2003), bahwa nilai rata-rata prosentase etanol hasil fermentasi serbuk pengampelasan kayu lapis berkisar 15,77-30,41%.

#### KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, dapat ditarik kesimpulan diantaranya sebagai berikut:

1. Perlakuan A<sub>2</sub>B<sub>3</sub> (pemberian ragi 10 g selama 5 hari), merupakan perlakuan yang paling efisien untuk menghasilkan volume etanol dalam jumlah besar dibandingkan perlakuan A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>, karena dilihat dari nilai selisih perlakuan sebesar 0,16 ml. Dengan kata lain, lebih baik mempergunakan ragi 10 g yang menghasilkan nilai banyaknya etanol lebih kurang sama dengan yang dihasilkan dari ragi 15 g.
2. Nilai banyaknya etanol yang terendah terdapat pada perlakuan A<sub>1</sub>B<sub>1</sub> (pemberian ragi 5 g dan waktu fermentasi selama 1 hari) sebesar 1,69 ml dan yang tertinggi terdapat pada perlakuan A<sub>3</sub>B<sub>3</sub> (pemberian ragi 15 g selama 5 hari) sebesar 5,19%.
3. Nilai prosentase etanol yang terendah terdapat pada perlakuan A<sub>1</sub>B<sub>1</sub> sebesar 9,04% dan yang tertinggi terdapat pada perlakuan A<sub>3</sub>B<sub>2</sub> (pemberian ragi 15 g selama 3 hari) sebesar 29,85%.
4. Berdasarkan hasil uji beda LSD, prosentase etanol yang dihasilkan berbeda sangat signifikan pada berbagai perlakuan pemberian ragi dengan berbagai level waktu fermentasi (A dalam berbagai level B), juga pada perlakuan waktu fermentasi dengan berbagai level banyaknya pemberian ragi (B dalam berbagai level A).
5. Berdasarkan hasil uji beda LSD, banyaknya etanol yang dihasilkan tidak berbeda pada perlakuan A<sub>2</sub>B<sub>1</sub>, dengan A<sub>3</sub>B<sub>1</sub> pada A dalam B<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>B<sub>2</sub> dengan A<sub>3</sub>B<sub>2</sub> pada A dalam B<sub>2</sub>, dan A<sub>2</sub>B<sub>3</sub> dengan A<sub>3</sub>B<sub>3</sub> pada A dalam B<sub>3</sub>. Sedangkan, banyaknya etanol yang dihasilkan pada perlakuan waktu fermentasi dengan berbagai level banyaknya pemberian ragi (B dalam berbagai level A), tampak sangat berbeda signifikan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Amrullah, S. D. 1987. *Mempelajari Karakteristik Chaoteri dan Campuran Tape Beras dan Tape Ketan. Bioproces dalam Industri Pangan*. Pusat Antar Universitas Pangan & Gizi dan Liberty, Yogyakarta
- Fardiaz, S. 1988. *Fisiologi Fermentasi*. Pusat Antar Universitas IPB dan Lembaga Sumber Daya Informasi IPB. Bogor.
- Fengel, D. dan W. Wegner. 1995. *Kayu : kimia, Ultrastruktur, Reaksi-reaksi*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Jilid I. Yayasan Sarana Wana Jaya, Jakarta.
- Jazuli, A. 2003. *Pemanfaatan Limbah Serbuk Pengampelasan Kayu Lapis menjadi Etanol melalui Proses Fermentasi*. Skripsi Fakultas Kehutanan Unlam Banjarbaru. (Tidak Dipublikasikan).
- Page, S.D. 1989. *Prinsip-Prinsip Biokimia*. Edisi Kedua. Erlangga Surabaya.
- Pujiati, G.A. 2002. *Pengawasan Kualitas Papan Kayu Ulin (Eusideraxylon zwageri T et B) dengan Diagram Shewchart pada UD. H. Hasan Basry di Desa Bulau Luar Kab. HST, Kalsel*. Skripsi Fakultas Kehutanan Universitas Lambung Mangkurat. Banjarbaru. Tidak Dipublikasikan.
- Respati, 1986. *Pengantar Kimia Organik*. Aksara Baru. Jakarta.
- Sjostrom, E. 1998. *Kimia Kayu.; Dasar-dasar dan penggunaan*. Edisi II. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta
- Subari, D & Z. Abidin. 1991. *Laporan Penelitian Efisiensi Bahan Baku dan Kemungkinan Pemanfaatan Limbah Kayu Dari Kompleks Industri Jelapat Kalimantan Selatan*. Media Persaki Edisi III No. 7/9. Jakarta.
- Sutariningsih, S. E. & Yuni, S. 1989. *Biokonversi*. Pusat Antar Universitas Bioteknologi UGM. Yogyakarta.