

**PENGARUH KONSENTRASI LIMBAH AIR CUCIAN BERAS
DAN LAMA FERMENTASI TERHADAP PRODUksi ALKOHOL**
OLEH Saccharomyces cerevisiae 3012



SKRIPSI

Nama : **SUPRIYANTO HS**
NIM : J. 201 88 0109

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS DIPONEGORO
S E M A R A N G**

1995

PENGARUH KONSENTRASI LIMBAH AIR CUCIAN BERAS
DAN LAMA FERMENTASI TERHADAP PRODUKSI ALKOHOL
OLEH *Saccharomyces cerevisiae* 3012

Skripsi Sebagai Salah Satu Syarat Untuk
Mencapai Gelar Sarjana Strata Satu
Pada Jurusan Biologi MIPA
Universitas Diponegoro

Nama : Supriyanto. HS

NIM : J201880109

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG

1995

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Skripsi : PENGARUH KONSENTRASI LIMBAH AIR
CUCIAN BERAS DAN LAMA FERMENTASI
TERHADAP PRODUKSI ALKOHOL OLEH
Saccharomyces cerevisiae 3012

Nama : Supriyanto. HS

NIM : J201880109

Tanggal lulus ujian : 21 Februari 1995



Semarang, Februari 1995

Panitia Penguji Ujian Sarjana

Jurusan Biologi

Ketua



Drs. H. Hendarko S., MS

Dra. Hj. Sriani Hendarko, SU

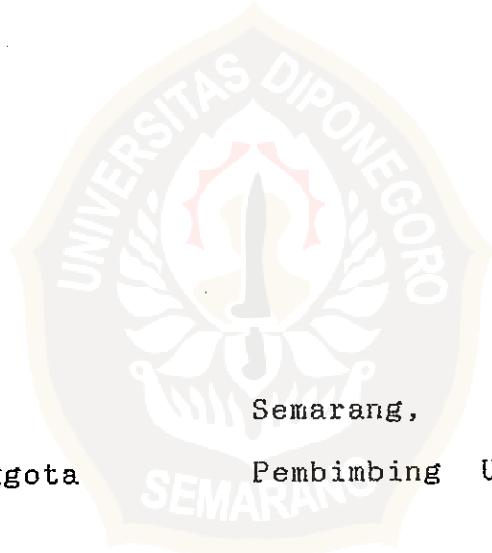
NIP. 130 240 735

NIP. 130 264 123

Judul Skripsi : PENGARUH KONSENTRASI LIMBAH AIR
CUCIAN BERAS DAN LAMA FERMENTASI
TERHADAP PRODUKSI ALKOHOL OLEH
Saccharomyces cerevisiae 3012

Nama : Supriyanto. HS
NIM : J201880109

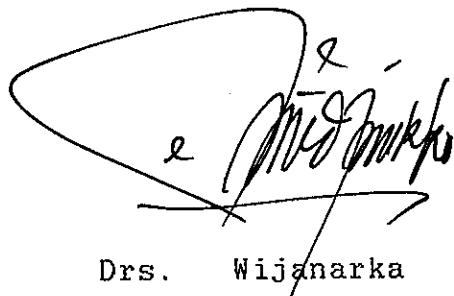
Telah selesai dan layak untuk mengikuti ujian sarjana



Semarang, Februari 1995

Pembimbing Anggota

Pembimbing Utama



Drs. Wijanarka

NIP. 131 962 226



Dra. Hj. Sriani Hendarko, SU

NIP. 130 264 123

KATA PENGANTAR

Bismillaahir rohmanir rohiim

Alhamdulillahir robbil 'aalamin, dengan penuh rasa syukur penulis panjatkan doa ke hadirat Alloh SWT, atas segala nikmat dan karunia yang dilimpahkan kepada penulis, sehingga sampailah keinginan penulis menyelesaikan skripsi ini.

Skripsi ini disusun dalam rangka menyelesaikan pendidikan S1 pada jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Diponegoro sebagai salah satu persyaratan untuk mencapai gelar Sarjana Biologi.

Penelitian mengenai Pengaruh Konsentrasi Limbah Air Cucian Beras Dan Lama Fermentasi Terhadap Produksi Alkohol Oleh *Saccharomyces cerevisiae* 3012 ini dilakukan pada tanggal 3 sampai 30 November 1993, dengan beras umbuk yang berasal dari Pasar Jatingaleh Semarang. Melalui penelitian ini diharapkan diperoleh informasi tentang produksi alkohol yang dihasilkan dari limbah air cucian beras serta dapat dijadikan salah satu bahan kajian sebagai sumber bahan bakar alternatif yang dapat diperbaharui di masa yang akan datang.

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Drs. Koen Praseno, SU, selaku Dekan Fakultas MIPA Universitas Diponegoro.

2. Drs. H. Hendarko Sugondo, MS, selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Diponegoro.
3. Dra. Hj. Sriani Hendarko, SU, selaku pembimbing utama dan Drs. Wijanarka selaku pembimbing anggota yang telah memberikan bimbingan dan pengarahan kepada penulis.
4. Bapak dan Ibu tercinta yang telah memberikan didikan, bimbingan dan pengorbanan yang tulus selama penulis menempuh pendidikan.
5. Rekan-rekan yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini, yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu.

Mengingat terbatasnya waktu serta kemampuan penulis maka tentu saja masih terdapat kekurangan-kekurangan dan jauh dari sempurna dalam penulisan skripsi ini. Meskipun demikian, penulis berharap mudah-mudahan skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca, serta dapat menambah khasanah ilmu pengetahuan Biologi yang semakin berkembang.

Semarang, Februari 1995

Supriyanto.HS

RINGKASAN

SUPRIYANTO. HS. J201880109. PENGARUH KONSENTRASI LIMBAH AIR CUCIAN BERAS DAN LAMA FERMENTASI TERHADAP PRODUKSI ALKOHOL OLEH *Saccharomyces cerevisiae* 3012 (dibawah bimbingan HJ. SRIANI HENDARKO dan WIJANARKA).

Beras menempati urutan pertama dalam konsumsi pangan sehari-hari bagi sebagian besar penduduk Indonesia. Sebagian besar air cucian beras dibuang ke alam, padahal didalamnya masih terkandung beberapa komponen yang bermanfaat seperti karbohidrat, protein, vitamin dan mineral. Sehingga memungkinkan sekali untuk dimanfaatkan serta dirombak menjadi produk yang bernilai ekonomis. Salah satunya dengan proses fermentasi oleh *Saccharomyces cerevisiae* 3012 untuk menghasilkan alkohol.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan produksi alkohol yang dihasilkan oleh *S. cerevisiae* 3012 dari limbah air cucian beras pada konsentrasi dan lama fermentasi yang berbeda.

Dalam penelitian ini menggunakan rancangan dasar Rancangan Acak Lengkap pola Faktorial. Ada 2 faktor yang dicoba : pertama, faktor konsentrasi limbah air cucian beras yang mempunyai taraf 0% (K0), 10% (K1), 20% (K2), 30% (K3) dan kedua, faktor lama fermentasi : hari ke-0 (H0), hari ke-2 (H2), hari ke-4 (H4), hari ke-6 (H6), hari ke-8 (H8).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa hari ke 0 sampai hari ke 6, kadar alkoholnya mengalami kenaikan pada semua konsentrasi. Kadar alkohol tertinggi diperoleh pada konsentrasi limbah air cucian beras 30% pada hari ke-6 (K3H6) sebesar 24,70% dengan total asam 12,02% dan pH 2,262.

SUMMARY

SUPRIYANTO. HS. J20188109. THE EFFECT OF RICE RINSE WATER CONCENTRATION AND LENGTH OF FERMENTATION FOR ALCOHOL PRODUCING BY *Saccharomyces cerevisiae* 3012.

Rice take the first place in most Indonesian people consumption. The greater part of rice water has thrown away to environment, however it may be still consist a number of essential component like carbohydrates, protein, vitamin and minerals. So it can be used and changed for an economical value product. One of them was the fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* 3012 to produce alcohol.

The aim of this research to know the differences of alcohol production from rice rinse water at the different of concentration and the length of fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* 3012.

The experiment used Complete Randomised Designs with factorial method. There were 2 factor tried : the first factor was rice rinse water concentration factor i.e 0% (K0), 10% (K1), 20% (K2), 30% (K3) and the second factor was length fermentation factor : first day (H0), second day (H2), fourth day (H4), sixth day (H6), eighth day (H8).

The result of the research show that from the first day to the sixth day alcohol production increase in all concentration. The highest level of alcohol was taken at 30% of rice rinse water concentration in the sixth day (K3H6) that is 24,70% with total acid 12,02% and pH 2,262.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
KATA PENGANTAR	iv
RINGKASAN	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Formulasi Permasalahan	3
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Beras	5
B. Fermentasi	6
1. Istilah Fermentasi	6
2. Bahan Dasar Fermentasi	7
3. Kondisi Fermentasi	8
4. Mikrobia Fermentasi	8
5. Produk Fermentasi	8
C. Tinjauan Tentang Khamir	9
1. Sistematik	9
2. Habitat	9
3. Medium	10

4. Morfologi Khamir	10
5. Fisiologi Khamir	11
6. Sitologi Khamir	12
7. Reproduksi	12
III. HIPOTESIS PENELITIAN	14
IV. METODOLOGI PENELITIAN	
A. Tempat dan Waktu Penelitian	15
B. Bahan Dan Alat	15
C. Cara Kerja	16
1. Pembuatan Medium Potato Dekstra Agar...	16
2. Persiapan Air Cucian Beras	16
3. Persiapan Stater	18
4. Penetuan Kadar Alkohol	19
5. Penetuan Total Asam	20
6. Penetuan pH	21
D. Analisa Data	21
V. HASIL	
A. Kadar Alkohol	23
B. Total Asam	24
C. pH	25
VI. PEMBAHASAN	26
VII. KESIMPULAN	31
DAFTAR PUSTAKA	32
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

	Halaman
01. Komposisi Kandungan Zat Dalam Beras/100 gram Bahan	6
02. Daftar Sidik Ragam Hasil Transformasi Data Kadar Alkohol	23
03. Daftar Sidik Ragam Hasil Transformasi Data Total Asam	24
04. Daftar Sidik Ragam Hasil Transformasi Data Pengukuran pH	25
05. Hasil Transformasi Data Analisis Kadar Alkohol (dalam mg/ml)% Selama Perlakuan	35
06. Hasil Analisis Data Kadar Alkohol (dalam mg/ml)% Selama Perlakuan	36
07. Perhitungan Statistik Hasil Transformasi Data Kadar Alkohol Selama Perlaku&n	37
08. Hasil Perbandingan Nilai Tengah Transformasi Data Kadar Alkohol yang Dihasilkan pada Konsentrasi 0% , 10% , 20% dan 30% dengan Uji Beda Nyata Jujur	39
09. Hasil Perbandingan Nilai Tengah Transformasi Data Kadar Alkohol yang Dihasilkan pada Hari 0,2,4,6 dan 8 dengan Uji Beda Nyata Jujur...	41
10. Hasil Interaksi Transformasi Data antara Konsentrasi dan Hari Pengamatan pada Produk Alkohol dengan Uji Beda Nyata Jujur	44
11. Hasil Transformasi Data Analisis Total Asam (dalam ml)% Selama Perlakuan	45
12. Hasil Analisis Data Total Asam (dalam ml)% Selama Perlakuan	46

13.	Perhitungan Statistik Hasil Transformasi Data Total Asam Selama Perlakuan	47
14.	Hasil Interaksi Transformasi Data antara antara Konsentrasi dan Hari Pengamatan pada Total Asam dengan Uji Beda Nyata Jujur	50
15.	Hasil Transformasi Data Analisis pH selama Perlakuan	51
16.	Hasil Analisis Data pH Selama Perlakuan ...	52
17.	Perhitungan Statistik Hasil Transformasi Data pH Selama Perlakuan	53
18.	Hasil Interaksi Transformasi Data antara Konsentrasi dan Hari Pengamatan pada pH dengan Uji Beda Nyata Jujur	56



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
01. Gambar Sel Khamir dengan Bagian Organelanya (Pelczar dan Reid, 1958)	12
02. Morfologi Mikroskopis Pada Khamir <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 3012 dalam Medium Nutrien Agar, Umur 24 Jam dengan Perbesaran 400 X	57
03. Morfologi Mikroskopis Pada Khamir <i>Endomycopsis fibuligera</i> dalam Medium Nutrien Agar, Umur 24 Jam dengan Perbesaran 400 X	58
04. Grafik Interaksi antara Hari Pengamatan dan Konsentrasi Terhadap Produksi Alkohol Selama Perlakuan dari Hasil Transformasi Data	59
05. Grafik Interaksi antara Hari Pengamatan dan Konsentrasi Terhadap Total Asam Selama Perlakuan	60
06. Grafik Interaksi antara Hari Pengamatan dan Konsentrasi Terhadap pH Selama Perlakuan	61

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi, khususnya mikrobiologi dan bioteknologi sejalan dengan kebutuhan manusia yang semakin kompleks serta meningkat. Penerapan ilmu tersebut sangat berguna bagi kehidupan manusia, di antaranya pengolahan limbah-limbah industri menjadi produk yang bermanfaat melalui proses teknologi fermentasi. Teknologi fermentasi merupakan salah satu bentuk penelitian dan pengembangan bioteknologi yang hasilnya diharapkan dapat diperoleh suatu bentuk produk dari berbagai macam bahan yang kurang bermanfaat menjadi produk yang bernilai ekonomis terutama dari bahan yang berupa limbah (Sarjono dan Kasmidjo, 1989).

Limbah adalah sampah cair dari suatu lingkungan masyarakat dan terutama terdiri dari air yang telah dipergunakan, di dalamnya terdiri atas 0,1% berupa benda-benda padat baik zat organik maupun anorganik (Mahida, 1986). Limbah juga diartikan merupakan benda atau bahan yang tidak dipergunakan lagi. Selanjutnya secara garis besar zat-zat yang terdapat di dalam air limbah dapat dikelompokkan menjadi bahan padat sekitar 0,1% yang terdiri atas bahan organik yang berupa protein sekitar 65%, karbohidrat 25%, dan lemak 10% serta bahan anorganik lain (Sugiharto, 1987).

Limbah dapat dibedakan menjadi limbah padat (solid wastes), limbah cair (liquid wastes) dan limbah gas (gaseous wastes). Salah satu contoh limbah padat adalah tinja, limbah cair yaitu air cucian beras dan limbah gas berupa gas karbon monoooksida. Selanjutnya air limbah diartikan sebagai kotoran dari masyarakat dan rumah tangga termasuk juga yang berasal dari air permukaan serta air buangan lainnya (Sugiharto, 1987). Dalam hal ini penulis akan membatasi masalah untuk penulisan skripsi ini pada limbah air cucian beras.

Sebagian besar penduduk Indonesia memanfaatkan beras sebagai bahan makanan pokok (Hardjono, 1984). Hasil olahan beras dapat dijadikan tepung beras, roti, makaroni dan mie (Makfoeld, 1982). Beras menempati urutan pertama dalam konsumsi pangan sehari-hari bagi sebagian besar penduduk Indonesia yaitu sekitar 69% berupa padi-padian, 10% umbi-umbian, 2% buah-buahan, 6% kacang-kacangan 1% gula dan sirup, 5% bahan hewan, 5% lemak dan minyak serta 2% lain-lain, maka bangsa Indonesia sangat potensial untuk dapat memanfaatkan beras, terutama limbahnya yang berupa air cucian beras secara maksimal (Hardjono, 1984). Ditambahkan oleh Djajasukma dan Sastraatmadja (1990) bahwa limbah air cucian beras jumlahnya sangat melimpah, mudah didapat serta masih mengandung zat yang bermanfaat bagi manusia dan limbah ini belum banyak dimanfaatkan.

Komponen yang terkandung dalam air cucian beras berupa karbohidrat, protein, vitamin dan mineral lainnya. Sehubungan dengan komponen yang terkandung dalam air cucian beras tersebut maka penggunaan serta pemanfaatan limbah air cucian beras sebagai media untuk dapat dimanfaatkan oleh mikrobia tertentu menjadi produk yang bermanfaat sangat memungkinkan sekali (Djajasukma dan Sastraatmadja, 1990). Salah satunya dengan proses fermentasi oleh *Endomyces fibuligera* untuk merubah pati menjadi bentuk karbohidrat yang lebih sederhana, selanjutnya komponen ini oleh *Saccharomyces cerevisiae* dirombak menjadi alkohol.

Apabila suatu karbohidrat atau polisakarida digunakan sebagai substrat untuk memproduksi alkohol, bahan tersebut harus mengalami hidrolisa terlebih dahulu baik secara kimia maupun enzimatis, kemudian baru dapat dikonversi lebih lanjut menjadi alkohol (Wibowo, 1990). Proses perubahan gula menjadi alkohol biasanya digunakan mikrobia dari jenis *Saccharomyces*. Mikrobia ini sering digunakan dalam industri alkohol berkadar tinggi baik sebagai kemikalia atau bahan bakar dari spesies *Saccharomyces cerevisiae* (Munadjin, 1983).

B. Formulasi Permasalahan

Berdasarkan pada latar belakang tersebut di atas, maka dapat dirumuskan permasalahannya sebagai berikut : berapa besar kadar alkohol yang diproduksi oleh

Saccharomyces cerevisiae 3012 dengan berbagai konsentrasi limbah air cucian beras serta pada hari ke berapa produk alkohol tersebut menunjukkan prosentase yang tertinggi ?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan produksi alkohol yang dihasilkan oleh *Saccharomyces cerevisiae* 3012 dari limbah air cucian beras pada konsentrasi dan hari yang berbeda.

D. Manfaat Penelitian

Dari penelitian diharapkan dapat diperoleh informasi mengenai kadar alkohol yang diproduksi oleh *Saccharomyces cerevisiae* 3012 dari limbah air cucian beras serta dapat dijadikan salah satu bahan kajian sebagai sumber bahan bahan alternatif yang dapat diperbaharui di masa yang akan datang, yang dikenal dengan nama gasohol (Prentis, 1985 terjemahan Thenawidjaja, 1990).

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Beras

Beras merupakan bahan makanan yang dihasilkan dari tanaman padi (*Oryza sativa*). Bahan makanan ini merupakan makanan pokok bagi sebagian besar penduduk Indonesia. Sekitar 70% dari petani Indonesia mengusahakan tanaman padi untuk memenuhi kebutuhan makanan pokok tersebut. Di dalam beras terkandung beberapa komponen penting bagi manusia diantaranya karbohidrat, protein, lemak, vitamin dan mineral (Hardjono, 1984).

Sebagian terbesar dari karbohidrat dalam beras berupa pati dan hanya sebagian kecil berupa selulosa, gula dan bentuk lain. Pati beras tersusun atas rangkaian-rangkaian unit gula (glukosa) yang terdiri dari fraksi rantai bercabang amilopektin dan fraksi rantai lurus amilosa (Saono, Winarno dan Karjodi, 1982).

Prosentase kehilangan zat-zat yang terkandung didalam beras sulit ditentukan dengan tepat karena beberapa faktor seperti kuat tidaknya dalam mengaduk, lamanya mencuci serta suhu air yang digunakan (Hardjono, 1984).

Komposisi zat-zat yang terkandung dalam beras menurut Makfoeld (1982) yang mengutip sumber dari

Laforteza (1950) yang dihitung per 100 gram bahan adalah sebagai berikut :

Tabel 01. Komposisi Kandungan Zat dalam Beras/100 gram Bahan

Kandungan Zat	Jenis Beras		
	Tumbuk	Setengah Giling	Giling
Kalori	347,0	339,0	343,0
Karbohidrat	73,0	75,0	78,0
Protein	8,0	7,5	7,0
Lemak	2,5	1,1	0,3
Vitamin B ₁	100,0	60,0	10,0
Mineral (mg)			
Ca	14,0	7,0	7,0
Fe	1,9	1,3	0,7
P	199,0	230,0	140,0

B. Fermentasi

1. Istilah Fermentasi

Istilah fermentasi berasal dari kata "fervore" yaitu istilah Latin yang berarti mendidih dan ini digunakan untuk menyebut adanya aktivitas khamir pada ekstrak buah, larutan malt serta biji-bijian. Peristiwa pendidihan tersebut terjadi akibat terbentuknya

gelembung karbondiksida oleh proses katabolisme gula dalam ekstrak (Wibowo ,1990).

Istilah fermentasi dalam sejarahnya telah mengalami perubahan pengertian, yang cakupannya lebih meluas (Judoamidjojo, Darwis dan Said, 1992). Istilah fermentasi sekarang diartikan mencakup setiap proses pertumbuhan mikrobia dalam jumlah besar untuk menghasilkan setiap bentuk produk fermentasi dan bukan hanya alkohol (Prentis, 1985, terjemahan Thenawidjaja, 1990).

2. Bahan Dasar Fermentasi

Dalam industri fermentasi, karbohidrat merupakan bahan baku yang memegang peranan penting untuk menghasilkan bentuk produk yang lebih bermanfaat dengan nilai ekonomis (Djojonegoro, 1983). Salah satu komponen yang terdapat di dalam beras adalah karbohidrat, sehingga beras juga dapat dimanfaatkan sebagai bahan dasar fermentasi (Djajasukma dan Sastraatmadja, 1990). Pati atau karbohidrat dalam beras akan diubah terlebih dahulu menjadi glukosa dengan proses hidrolisa atau dengan enzim glukoamilase dan enzim α amilase . Dalam penelitian ini digunakan khamir *Endomycopsis fibuligera* untuk proses sakarifikasi yaitu merubah pati dari beras menjadi glukosa atau fruktosa dan kedua komponen ini difermentasi lebih lanjut oleh *Saccharomyces cerevisiae* menjadi produk alkohol (Wibowo, 1990).

3. Kondisi Fermentasi

Beberapa faktor yang perlu dipertimbangkan dalam proses fermentasi seperti suhu, pH, aerasi dan pencegahan kontaminasi medium (Judoamidjojo dkk., 1992). Proses fermentasi biasanya dilakukan pada suhu 25-35°C, selama waktu sekitar 7 sampai 10 hari (Said, 1987). Lebih lanjut dikatakan oleh Munadjin (1983) bahwa fermentasi dapat berlangsung sampai hari ke-14.

4. Mikrobia Fermentasi

Mikrobia yang banyak digunakan dalam proses fermentasi terutama dari golongan khamir, kapang dan bakteri (Said, 1987), hal ini disesuaikan dengan pH medium. Jika khamir yang digunakan maka pengaturan pH berkisar antara 4,0-5,5, untuk kapang sekitar 2,0-8,5 dan bakteri sekitar 7 atau netral (Winarno, 1983).

5. Produk Fermentasi

Produk-produk fermentasi dapat berupa alkohol, asam asetat, asam laktat, asam suksinat, gliserol, tiamin, biotin, riboflavin, streptomycin, penicillin, roti, kecap, tauco, tempe dan yoghurt (Said, 1987).

Lebih lanjut dikatakan oleh Kartika, Guritno, Purwadi dan Ismoyowati (1992) bahwa alkohol produk fermentasi, mempunyai titik didih 78,4°C, tidak berwarna dan mempunyai bau serta rasa yang spesifik. Pada kadar alkohol 16% umumnya aktifitas khamir mulai menurun. Namun kadar alkohol dapat mencapai sekitar 20% bila dalam substrat ditambahkan sejumlah fermipan

dengan konsentrasi gula , pH dan kondisi suhu tertentu serta menggunakan khamir yang khusus (Saono dkk., 1982; Chadir, Ibrahim, Dharma, Mardiah dan Salim, 1991).

Sehingga dalam hal ini, produk fermentasi merupakan salah satu alternatif untuk memenuhi kebutuhan penduduk dunia yang sebagian besar memanfaatkan proses fermentasi sebagai salah satu cara di dalam pembuatan makanan atau produk lain (Kapti dan Sudarmadji, 1986; Yusti dan Suwaryono, 1987).

C. Tinjauan Tentang Khamir

1. Sistematik

Kedudukan *Saccharomyces cerevisiae* dalam klasifikasi menurut Alexopoulos dan Mims (1979) sebagai berikut :

Devisio : Amastigomycota

Classis : Ascomycetes

Ordo : Endomycetales

Famili : Saccharomycetaceae

Sub Famili : Saccharomycetoideae

Genus : *Saccharomyces*

Spesies : *Saccharomyces cerevisiae*

2. Habitat

Habitat khamir cukup luas, terdapat di permukaan maupun di dalam tanah yang pernah ditumbuhinya tanaman. Khamir dapat diisolasi dari tanah maupun hasil pertanian seperti buah-buahan, dalam tubuh insekta (Said, 1987).

Khususnya khamir *Saccharomyces cerevisiae* dapat ditemukan pada cairan mentimun, produk fermentasi dan saluran intestinal Drosophila. Khamir hidupnya saprofit dan sebagian parasit (Cook, 1958).

3. Medium

Saccharomyces cerevisiae dapat ditumbuhkan dalam medium ekstrak malt atau taoge 0,03% b/v, D glukosa 1,0% b/v dan pepton 0,5 % b/v . Dapat juga ditumbuhkan dalam medium sporulasi yang mengandung sodium asetat 0,7% b/v dalam aquadest dan medium malt ekstrak agar 5% (Presscot and Dunn, 1959).

4. Morfologi Khamir

Khamir termasuk fungi uniseluler yang mikroskopik. Pada beberapa jenis ada yang membentuk miselium atau pseudomiselium . Sel khamir mempunyai bentuk yang tetap sehingga membantu dalam identifikasi. Bentuk sel khamir ada beberapa macam di antaranya bulat atau spheroid, bulat telur atau elips, batang atau silindris dan ukuran yang bervariasi yaitu panjang 1 sampai 20 mikron atau lebih dengan lebar 1 sampai 9 mikron atau lebih (Said, 1987).

Khususnya pada khamir *Saccharomyces cerevisiae* selnya berbentuk bulat, oval atau batang. Mempunyai ukuran sekitar (3-10) x (4,5-15) mikron pada suhu 25°C, hari ke 3 dengan karakteristik permukaan yang halus (Berry, 1982).

Morfologi sel-khamir dapat diamati dengan beberapa cara seperti :

- a. Pengamatan langsung dengan mikroskop biasa.
- b. Pengamatan dengan mikroskop biasa setelah diwarnai dengan pewarna tertentu.
- c. Pengamatan dengan mikroskop elektron terhadap dinding sel yang telah dipisahkan dari selnya.
- d. Pengamatan dengan mikroskop elektron terhadap irisan tipis sel khamir (Fardiaz, 1992).

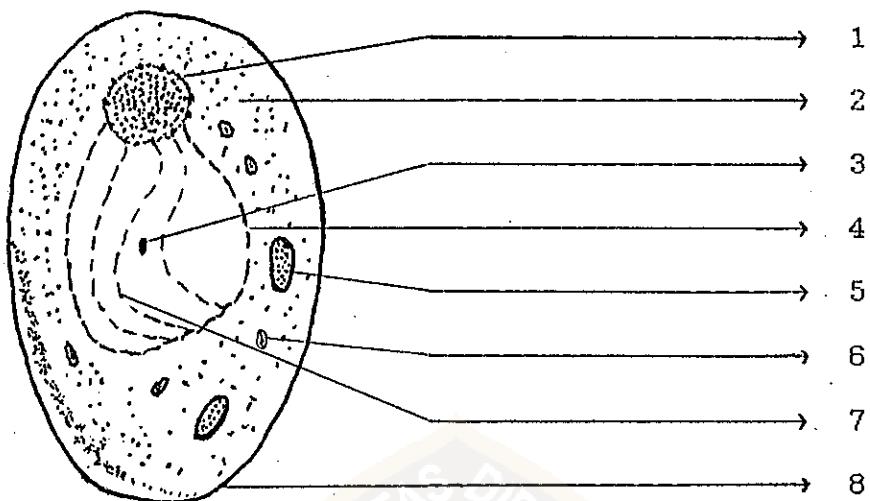
5. Fisiologi Khamir

Sifat fisiologi penting hubungannya dalam hal kemampuan suatu spesies dalam memfermentasi suatu bahan, pemanfaatan nitrogen, penggunaan sumber karbon dan kemampuan mengolah bahan-bahan tersebut. Sifat-sifat ini berbeda-beda antara spesies yang satu dengan spesies yang lain (Cook, 1958).

Berdasarkan sifat metabolismenya, khamir dapat dibedakan atas dua kelompok yaitu yang bersifat fermentatif dan bersifat oksidatif. Khamir fermentatif dapat melakukan fermentasi alkohol dengan memecah glukosa melalui jalur glikolisis, sedangkan yang bersifat oksidatif yaitu mampu mengubah produk alkohol menjadi karbondioksida dan air, disamping juga menghasilkan produk antara yang berupa asam walaupun jumlahnya kecil. Produk asam tersebut diantaranya adalah asam asetat, asam suksinat dan asam laktat (Berry, 1982).

6. Sitologi Khamir

Mikrostruktur sel khamir secara umum, termasuk pada khamir *S. cerevisiae* terdiri atas dinding sel dari chitin, membran sitoplasma, nukleus, satu atau lebih vakuola, mitokondria dan sitoplasma (Fardiaz, 1992).



Gambar 01. Diagram Sel Khamir dengan Bagian Organellnya (Pelczar and Reid, 1958).

- Keterangan :
1. Sentrosoma
 2. Sitoplasma
 3. Nukleolus
 4. Membran inti
 5. Glikogen
 6. Mitokondria
 7. Kromosoma
 8. Dinding sel

7. Reproduksi

Khamir dapat berkembang biak secara bertunas, pembelahan, pembentukan spora aseksual dan konjugasi atau reproduksi seksual, yang sering terjadi adalah pembentukan tunas. Pada khamir *S. cerevisiae* dapat berkembang biak dengan cara pembentukan tunas dan

pembentukan spora dan dapat pula dengan cara seksual (Stainer, Doudoroff and Adelberg, 1963).

Pertunasan dimulai dengan terbentuknya suatu saluran pada vakuola di dekat nukleus menuju dinding sel, dengan adanya penipisan dinding sel, maka protoplasma pada dinding tersebut akan tersebul keluar, kemudian membesar dan diisi dengan komponen-komponen nukleus dan sitoplasma dari induknya. Tunas terus tumbuh dan membentuk dinding sel baru dan jika ukuran tunas sudah hampir sama besar dengan induknya, komponen-komponen nukleus terpisah menjadi dua dan terbentuk dinding penyekat. Selanjutnya anak sel melepaskan diri dari induknya atau tetap menempel pada induknya dan membentuk tunas baru (Stainer *et al.*, 1963).

Proses pembentukan spora dimulai dari bentuk khas dari sel khamir yaitu terjadinya pembelahan inti yang menghasilkan 4 inti. Kemudian 4 inti ini bergabung dalam askospora yang berkembang dalam dinding sel diploid, yang kemudian dimodifikasi menjadi askus. Tahap akhir pembentukan spora yaitu terbentuknya askospora dan pematangan askospora. Pembentukan askospora memerlukan waktu sekitar 15 sampai 48 jam (Stainer *et al.*, 1963).

Secara seksual dimulai dengan pertemuan dua gamet melalui proses konjugasi. Kemudian diikuti dengan plasmogami dan karyogami. Setelah itu akan diikuti dengan pembelahan meiosis.

III. HIPOTESIS PENELITIAN

Konsentrasi limbah air cucian beras dan lamanya fermentasi mempengaruhi kadar alkohol yang diproduksi oleh *Saccharomyces cerevisiae* 3012.



IV. METODE PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Tempat : Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi MIPA
dan Laboratorium Penelitian Tugas Akhir
Kimia Jurusan Kimia Murni MIPA Universitas
Diponegoro.

Waktu : 3 - 30 November 1993.

B. Bahan dan Alat

Bahan : - Biakan murni *Endomyces fibuligera*
- Biakan murni *Saccharomyces cerevisiae* 3012
- Medium Potato Dextra Agar (PDA)
- Beras umbuk
- Gula Pasir
- HCl 0,1 N
- NaOH 0,1 N
- Indikator PP 1%
- Spiritus
- Aquadest
- Vaselin

Alat : - Seperangkat alat destilasi - Buret
- pH meter elektronik - Autoklaf
- Kompor listrik - Ose
- Timbangan halus (digital) - Erlenmeyer
- Timbangan - Gelas ukur
- Botol fermentasi - Tabung reaksi

C. Cara Kerja

1. Pembuatan Medium Potato Dextra Agar (PDA) (Cook ,1958)

Komposisi medium :

- Potato	300,00	gram
- Dekstrosa	20,00	gram
- Agar	15,00	gram
- aquades	1,00	liter

Menimbang sejumlah 4,875 gram medium PDA atau sesuai dengan kebutuhan, kemudian ditambahkan 125 ml aquadest yang dituangkan ke dalam enlenmeyer. Dipanaskan sampai medium tampak homogen. Ditambahkan beberapa tetes HCl 0,1 N, pH diukur sekitar 4,5 sampai 5,5. Kemudian dituangkan ke dalam tabung reaksi, ditutup dengan kapas dan dibungkus dengan kertas. Disterilisasi dengan autoklaf pada tekanan 2 atm, suhu 121°C selama 15 menit. Dibuat agar miring, kemudian dibuat isolat baru dari biakan murni *Endomyopsis fibuligera* dan biakan murni *Saccharomyces cerevisiae* 3012 yang disesuaikan dengan hari penelitian .

2. Persiapan Air Cucian Beras (Djajasukma dan Sastraatmadja, 1990)

Beras ditimbang sebanyak 100 g, 200 g dan 300 g. Dimasukkan dalam bejana,ditambahkan air sebanyak 1 liter kemudian diaduk selama 5 menit dan disaring serta dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Volume filtrat ditambah air hingga 1 liter. Kemudian ditambahkan gula pasir 10% . Dipasteurisasi pada suhu 70°C selama 15 menit dan

pH diatur sekitar 4,5 - 5,5 (Chaidir dkk., 1991).

Filtrat ini dimasukkan ke dalam tabung fermentasi steril secara aseptik sebanyak 200 ml dengan masing-masing kode sebagai berikut:

K = menunjukkan konsentrasi

H = menunjukkan lamanya hari.

KOH0 = limbah air cucian beras dengan konsentrasi 0% untuk hari ke-0

KOH2 = limbah air cucian beras dengan konsentrasi 0% untuk hari ke-2

KOH4 = limbah air cucian beras dengan konsentrasi 0% untuk hari ke-4

KOH6 = limbah air cucian beras dengan konsentrasi 0% untuk hari ke-6

KOH8 = limbah air cucian beras dengan konsentrasi 0% untuk hari ke-8

K1H0 = limbah air cucian beras dengan konsentrasi 10% untuk hari ke-0

K1H2 = limbah air cucian beras dengan konsentrasi 10% untuk hari ke-2

K1H4 = limbah air cucian beras dengan konsentrasi 10% untuk hari ke-4

K1H6 = limbah air cucian beras dengan konsentrasi 10% untuk hari ke-6

K1H8 = limbah air cucian beras dengan konsentrasi 10% untuk hari ke-8

- K2H0 = limbah air cucian beras dengan konsentrasi 20% untuk hari ke-0
- K2H2 = limbah air cucian beras dengan konsentrasi 20% untuk hari ke-2
- K2H4 = limbah air cucian beras dengan konsentrasi 20% untuk hari ke-4
- K2H6 = limbah air cucian beras dengan konsentrasi 20% untuk hari ke-6
- K2H8 = limbah air cucian beras dengan konsentrasi 20% untuk hari ke-8
- K3H0 = limbah air cucian beras dengan konsentrasi 30% untuk hari ke-0
- K3H2 = limbah air cucian beras dengan konsentrasi 30% untuk hari ke-2
- K3H4 = limbah air cucian beras dengan konsentrasi 30% untuk hari ke-4
- K3H6 = limbah air cucian beras dengan konsentrasi 30% untuk hari ke-6
- K3H8 = limbah air cucian beras dengan konsentrasi 30% untuk hari ke-8

3. Persiapan Stater (Djajasukma dan Sastraatmadja, 1990)

Sebanyak 1 liter filtrat air cucian beras dengan konsentrasi 0%, 10%, 20%, dan 30% masing-masing diambil 200 ml dan dimasukkan dalam erlenmeyer, pH diatur sekitar 4,5 sampai 5,5. Mengambil 2 ose dari biakan *Endomycopsis fibuligera* umur 24 jam dan dimasukkan ke dalam masing-masing filtrat tersebut secara aseptik. Di

shaker selama 1 x 24 jam dan diinkubasikan pada suhu kamar ($\pm 28^{\circ}\text{C}$, Wibowo, 1990). Metode yang sama dilakukan pada biakan *S. cerevisiae* 3012 dalam pembuatan stater.

Setelah masing-masing stater siap, tiap stater dari *E. fibuligera* diambil sebanyak 10 ml (Wibowo, 1990), dimasukkan dalam tiap-tiap botol fermentasi secara aseptik dan diinkubasikan selama ± 18 jam. Selaput yang muncul di permukaan air dalam botol fermentasi dikeluarkan secara aseptik (Kapti dan Sudarmadji, 1986). Kemudian mengambil 10 ml stater dari *S. cerevisiae* 3012 dan dimasukkan pada masing-masing perlakuan tersebut secara aseptik. Setelah itu di inkubaskan selama 0, 2, 4, 6 dan 8 hari pada suhu kamar. Kemudian hasilnya dianalisa meliputi kadar alkohol, pH dan total asamnya selama perlakuan tersebut.

4. Penentuan Kadar Alkohol (Metode Wiseman)

Penentuan kadar alkohol ditentukan dengan titik didih alkohol dengan proses destilasi.

Sampel masing-masing perlakuan diambil sebanyak 100 ml dimasukkan dalam labu takar destilasi dan ditutup. Dipanaskan dengan pemanas atau kompor listrik sampai mencapai titik didih alkohol $78,4^{\circ}\text{C}$ (Perry, 1984). Pada saat titik didih tersebut tercapai, tetesan yang keluar dari alat destilasi ditampung dalam suatu botol selama kurang lebih 15 menit. Sedangkan tetesan yang mengalir baik sebelum maupun sesudah titik didih alkohol

ditampung di tempat lain dan ini tidak dianalisa. Hasil yang diperoleh pada saat titik didih alkohol tersebut ditimbang dengan timbangan halus (digital) sebagai kadar alkohol.

Perhitungan kadar alkohol diperoleh dengan rumus :

$$\% \text{ alkohol (b/v)} = \frac{A}{B} \times 100 \%$$

Di mana :

A = hasil proses destilasi yang ditampung (mg)

B = filtrat sampel yang diambil untuk dianalisa (100 ml)

% alkohol = kadar alkohol (dalam berat per volume) dalam prosen (%)

(Wiseman, 1985)

5. Penentuan Total Asam (Kartika dkk., 1992)

Keasaman total sampel diukur dengan cara titrasi dengan larutan NaOH 0,1 N dengan cara sebagai berikut : sampel air cucian beras dari masing-masing perlakuan diambil sebanyak 100 ml. Kemudian sampel tersebut dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Diambil dengan pipet sebanyak 25 ml dan diberi beberapa tetes (2-3 tetes) indikator PP 1%. Selanjutnya dititrasi dengan larutan NaOH 0,1 N sehingga terbentuk warna merah muda. Setelah muncul warna merah muda, titrasi dihentikan dan dicatat volume NaOH yang digunakan.

Total asam dihitung dengan menggunakan rumus sebagai keasaman total dalam prosen :

$$\text{Rumus : } A = \frac{B \times C}{D}$$

Di mana :

A = keasaman total sebagai volume (ml) 0,1 NaOH setiap 100 ml sampel

B = 100 (digunakan karena perhitungan didasarkan pada 100 ml sampel)

C = volume 0,1 N NaOH yang digunakan

D = volume sampel yang digunakan

6. Penentuan pH

pH diukur dengan menggunakan pH meter elektronik. pH awal diukur pada saat perlakuan-perlakuan tersebut diinkubasikan pada suhu kamar. pH akhir diukur pada waktu tiap perlakuan akan dianalisa kadar alkoholnya dan total asamnya.

D. Analisa Data (Steel and Torrie, 1991; Srigandono, 1987)

Hasil yang telah diperoleh kemudian dihitung, meliputi kadar alkohol, total asam dan pH. Kemudian hasil-hasil tersebut dianalisa dengan Rancangan Acak Lengkap dengan pola percobaan Faktorial 4 x 5 dengan masing-masing 3 ulangan, diuji dengan Uji Beda Nyata Jujur (HSD) pada taraf uji 1% dan 5% .

Model matematisnya adalah sebagai berikut :

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}$$

Di mana :

Y_{ij} = kadar alkohol / total asam / pH pada perlakuan konsentrasi ke-i, hari ke-j

μ = nilai rata-rata/efek tetap

α_i = efek konsentrasi ke-i

β_j = efek hari ke-j

ε_{ij} = efek error/ galat pada konsentrasi ke-i, hari ke-j



V. HASIL

Berdasarkan data dari parameter yang diamati, diperoleh hasil yang meliputi kadar alkohol, total asam dan pH sebagai berikut :

A. Kadar Alkohol

Analisa kadar alkohol dilakukan untuk tiap 100 ml sampel pada tiap perlakuan. Setelah analisa, diperoleh hasil transformasi data kadar alkohol (lihat Tabel 05 - Lampiran) . Pada Tabel 05 terlihat, kadar alkohol yang diperoleh bervariasi dari 0,00% sampai 24,70% . Kadar alkohol 0,00% diperoleh pada semua perlakuan pada hari ke-0 dan kadar tertinggi diperoleh pada konsentrasi 30% hari ke-6 (K3H6).

Pada Tabel 02 terlihat daftar sidik ragam yang menunjukkan adanya perbedaan sangat nyata pada semua perlakuan.

Tabel 02. Daftar Sidik Ragam Hasil Transformasi Data Kadar Alkohol

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	19	3424,56	180,24	901,20**	1,84	2,37
Konsentrasi (K)	3	466,88	155,63	778,15**	2,84	4,31
Hari (H)	4	2820,66	705,17	3525,85**	2,61	3,83
K x H	12	137,02	11,42	57,10**	2,00	2,66
Galat	40	7,95	0,20			
Total	59	3432,51	58,18			

Koefisien Keragaman = 3,52 %

Keterangan : ** = Berbeda sangat nyata
(F Hitung > F Tabel)

B. Total Asam

Analisa total asam dilakukan untuk tiap 100 ml sampel pada tiap perlakuan (dalam ml)%. Setelah dilakukan transformasi data diperoleh hasil total asam (lihat Tabel 11 - Lampiran). Dalam Tabel 11 terlihat bahwa total asam yang diperoleh bervariasi dari 5,13% sampai 12,48%. Total asam 5,13% diperoleh pada semua perlakuan pada hari ke 0 dan total asam tertinggi diperoleh pada konsentrasi limbah air cucian beras 30% pada hari ke-8 (K3H8).

Pada Tabel 03 terlihat daftar sidik ragam yang menunjukkan perbedaan sangat nyata pada semua perlakuan.

Tabel 03. Daftar Sidik Ragam Hasil Transformasi Data Total Asam

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan Konsentrasi (K)	19	364,60	19,19	76,76**	1,84	2,37
	3	59,01	19,67	78,68**	2,84	4,31
	4	289,32	72,33	289,32**	2,61	3,83
	12	16,27	1,36	5,44**	2,00	2,66
	40	9,81	0,25			
Total	59	374,41	6,35			

Koefisien Keragaman = 5,49 %

Keterangan : ** = Berbeda sangat nyata
(F Hitung > F Tabel)

C. pH

Analisa pH dilakukan pada tiap-tiap sampel.

Setelah dilakukan analisa didapat hasil pH seperti tercantum pada Tabel 15 (lihat - Lampiran). Dalam Tabel 15 terlihat bahwa pH yang diperoleh bervariasi dari 2,241 sampai 2,319. pH terendah terjadi pada konsentrasi 30 hari ke-8 (K₃H₈) dan pH tertinggi terjadi pada semua perlakuan.

Pada Tabel 04 terlihat daftar daftar sidik ragam yang menunjukkan adanya perbedaan sangat nyata pada semua perlakuan.

Tabel 04. Daftar Sidik Ragam Hasil Transformasi Data Pengukuran pH

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	19	0,03740	0,00197	985,00**	1,84	2,37
Konsentrasi (K)	3	0,00230	0,00077	385,00**	2,84	4,31
Hari (H)	4	0,03423	0,0856	4280,00**	2,61	3,83
K x H	12	0,00087	0,00007	5,44**	2,00	2,66
Galat	40	0,00009	0,000002			
Total	59	0,03749	0,00064			

Koefisien Keragaman = 0,20%

Keterangan : ** = Berbeda sangat nyata
(F hitung > F Tabel)

VI. PEMBAHASAN

Hasil transformasi data penelitian tentang kadar alkohol disajikan pada Tabel 05 (lihat - Lampiran). Pada tabel tersebut terlihat bahwa kadar alkohol yang tertinggi diperoleh pada perlakuan K3H6 sebesar 24,70% , sedang kadar terendah didapatkan pada KOHO, K1HO, K2HO dan K3HO sebesar 0% . Dari hasil penelitian ini terlihat bahwa produk alkohol tertinggi yang diperoleh menunjukkan kadar yang lebih tinggi daripada kadar alkohol pada umumnya yang dihasilkan oleh khamir yaitu sekitar 16 % . Kemungkinan hal ini disebabkan oleh beberapa faktor di antaranya kondisi suhu, konsentrasi gula, dan pH yang tertentu serta khamir yang digunakan dari jenis khamir yang khusus. Hal ini sesuai dengan pendapat Saono dkk., (1982) bahwa produk alkohol yang dihasilkan dari proses fermentasi dengan menggunakan jenis khamir yang khusus , kondisi suhu dan konsentrasi gula serta pH yang optimum dapat mencapai kadar sekitar 21% .

Rata-rata kadar alkohol yang diproduksi oleh *S. cerevisiae* 3012 pada hari ke-6 (H6) menunjukkan hasil yang lebih tinggi daripada hari ke-0, 2, 4 dan 8 (lihat Gambar 04 - Lampiran). Hal ini kemungkinan disebabkan karena pada hari ke-6 aktivitas mikrobia dalam merombak glukosa menjadi alkohol pada tingkatan yang optimum sehingga didapatkan produk alkohol yang

tertinggi, seperti yang yang dikemukakan oleh Yusti dan Suwaryono (1992) bahwa perombakan komponen-komponen selama fermentasi terlihat nyata setelah 5 hari dan berakhir pada hari ke-8. Kemudian pada Tabel 08 (Lampiran) terlihat K3 menunjukkan prosentase kadar alkohol yang dihasilkan lebih tinggi daripada K0, K1, dan K2. Hal ini diduga karena kandungan karbohidrat pada K3 lebih banyak sehingga kemungkinan pengubahan menjadi glukosa serta pengolahan lebih lanjut menjadi alkohol juga lebih besar. Seperti yang dikatakan oleh Said (1987) bahwa satu molekul glukosa akan dibentuk menjadi dua molekul alkohol dan CO_2 sehingga 1 gram glukosa akan menghasilkan 0,51 gram alkohol sehingga kemungkinan terbentuknya alkohol juga lebih banyak.

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan adanya perbedaan sangat nyata pada perlakuan (konsentrasi, hari, dan interaksinya) terhadap perubahan kadar alkohol (lihat Tabel 02). Sedang perhitungan analisis statistik (lihat - lampiran). Hasil analisis menunjukkan bahwa besarnya konsentrasi dan lamanya hari berpengaruh sangat nyata terhadap besarnya kadar alkohol yang diproduksi. Kemudian pada Tabel 08 dan 09 (Lampiran) memperlihatkan adanya pasangan perlakuan yang menunjukkan perbedaan sangat nyata setelah diuji dengan Uji Beda Nyata Jujur (Lampiran). Hal ini diduga karena pada awal perlakuan, khamir *S. cerevisiae* 3012 berada dalam tingkatan lag fase dan belum menunjukkan

aktivitas perombakan komponen yang besar . Seperti yang dikemukakan oleh Yusti dan Suwaryono (1992) bahwa khamir fermentasi dalam mengawali aktifitasnya dengan beradaptasi dan berada dalam tingkatan fase setelah fase lag fase sehingga belum besar perubahan-perubahannya . Kemudian setelah fase ini maka akan terjadi perombakan-perombakan dari komponen yang lebih kompleks menjadi komponen yang lebih sederhana yang ditunjukkan adanya perbedaan pada produk yang dihasilkan. Proses ini berakhir selama kurang lebih 192 jam pada suhu kamar (Yusti dan Suwaryono, 1992). Sedang pengaruh interaksi antara konsentrasi dan lamanya hari pengamatan terhadap produksi alkohol disajikan pada Tabel 10 (Lampiran).

Pada Tabel 11 terlihat hasil transformasi data penelitian total asam yang tertinggi diperoleh pada K3H8 sebesar 12,48 % dan terendah pada KOHO, K1HO, K2HO dan K3HO yaitu 5,13 % . Dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa angka tersebut masih dalam kisaran yang standard seperti yang dikatakan oleh Kartika dkk., (1992) bahwa keasaman total berkisar antara 0,1 sampai 15 % pada produk-produk fermentasi. Jadi hasil penelitian tersebut masih tergolong baik jika dilihat dari nilai keasaman totalnya.

Berdasarkan hasil penelitian total asam pada hari ke-0 sampai hari ke-8 menunjukkan kenaikan (lihat Gambar 05 - Lampiran). Hal ini diduga bahwa keasaman setelah hari ke-0 meningkat dengan dihasilkannya beberapa

asam, seperti yang dikatakan oleh Reed and Rehn (1987) bahwa *S. cerevisiae* juga menghasilkan asam asetat, asam suksinat dan asam laktat sehingga kondisi keasaman pada medium menjadi lebih tinggi dan meningkat.

Dalam Tabel 03 terlihat hasil transformasi data analisis sidik ragam menunjukkan bahwa besarnya konsentrasi dan lamanya hari memperlihatkan perbedaan sangat nyata terhadap perubahan total asam.

Hasil transformasi data pengukuran pH disajikan pada Tabel 15 (lihat - Lampiran) yang menunjukkan perlakuan awal KOHO, K1HO, K2HO dan K3HO mempunyai pH yang tertinggi yaitu sebesar 2,319 sedang pH terendah diperoleh pada perlakuan K3H8 yaitu 2,241. pH tertinggi tersebut kemungkinan disebabkan karena pada awal fermentasi belum terbentuk produk-produk fermentasi sehingga pH-nya belum berubah. Kemudian setelah produk-produk fermentasi dihasilkan termasuk beberapa asam seperti asam asetat, asam suksinat dan asam laktat (Reed and Rehn, 1987) maka pH-nya menjadi menurun.

Tabel 04 memperlihatkan bahwa hasil analisis sidik ragam hasil transformasi data menunjukkan adanya pengaruh sangat nyata pada perlakuan (konsentrasi, hari dan interaksinya) terhadap perubahan pH. Hasil analisis menunjukkan bahwa besarnya konsentrasi dan lamanya hari berpengaruh sangat nyata terhadap perubahan pH.

Keseluruhan hasil dari transformasi data menunjukkan bahwa kadar alkohol tertinggi diperoleh pada perlakuan K3H₆ sebesar 24,70% (lihat Tabel 05) dengan total asam 12,02 % (lihat Tabel 11) dan pH sebesar 2,262 (lihat Tabel 15). Hal ini dimungkinkan adanya hubungan antara produk fermentasi yang dihasilkan dengan mikrobia dan kondisi mediumnya, seperti yang dikatakan Kartika dkk. (1992) kondisi pH semakin menurun dengan meningkatnya produk samping berupa asam setelah produk alkohol mencapai kadar sekitar 20 %. Ditambahkan oleh Cook (1958) di samping bersifat fermentatif yaitu menghasilkan alkohol, *S. cerevisiae* juga bersifat oksidatif yaitu mampu mengubah alkohol menjadi CO₂ dan H₂O sehingga juga akan terbentuk asam diantaranya. Sehingga setelah hari ke-6 kadar alkohol menurun seperti pada perlakuan KOH₈, K1H₈,K2H₈ dan K3H₈ (lihat Tabel 05) yang diperjelas dengan Gambar 04 (lihat Lampiran). Di samping itu dengan kadar alkohol yang tinggi sekitar 25% ke atas akan menyebabkan kematian sel-sel khamir (Saono dkk., 1982). Kemudian kondisi pH dan total asam, keduanya menunjukkan adanya hubungan. Hal ini sesuai dengan pendapat Yusti dan Suwaryono (1992) bahwa selama fermentasi terjadi perubahan komponen-komponen yang menyebabkan kenaikan jumlah total asam dan penurunan pH. Perubahan-perubahan tersebut kelihatan nyata setelah hari ke-5 dan berakhir sekitar hari ke-8.

VII. KESIMPULAN

A. Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Besarnya konsentrasi limbah air cucian beras dan lamanya hari mempengaruhi produksi alkohol yang dihasilkan oleh *Saccharomyces cerevisiae* 3012.
2. Kadar alkohol tertinggi diperoleh pada konsentrasi limbah air cucian beras 30% pada hari ke-6 (K3H6) dengan pH 2,262 dan total asamnya sebesar 12,02% .

B. Saran

Berdasarkan hasil penelitian, ternyata pada konsentrasi limbah air cucian beras 30% pada hari ke-6 produksi alkohol yang diperoleh menunjukkan kadar yang tertinggi, oleh sebab itu maka penulis menyarankan adanya penelitian lanjutan untuk mengetahui konsentrasi limbah air cucian beras yang optimum dengan menaikkan konsentrasinya sampai pada konsentrasi 100% dan juga dianalisa gula reduksinya.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexopoulos and Mims., 1979., Introductory Mycology., Third Edition., John Wiley and Sons., New York.
- Berry D.R., 1982., The Biology of Yeast., Edward Arnold Publisher Limited., London.
- Chaidir.Z., S. Ibrahim., A. Dharma., E. Mardiah dan M. Salim., 1991., Pengaruh Penambahan Gula Terhadap Kadar Alkohol., Pusat Penelitian Universitas Andalas., Padang.
- Cook. A.H., 1958., The Chemistry And Biology of Yeast., Academic Press Publishers., New York.
- Defigneiredo M.P., 1976 ., Food Microbiology., The Avi Publishing Company Inc., West Port Connecticut.
- Djajasukma. E., dan D.D. Sastraatmadja., 1990 ., Pemanfaatan Limbah Air Cucian Beras Untuk Produksi Enzim Amilase oleh *Mucor javanicus*., Puslitbang Biologi., LIPI., Bogor.
- Djojonegoro. W., 1983., Mikrobiologi., Universitas Indonesia Press., Jakarta.
- Fardiaz Srikanthi., 1992., Mikrobiologi Pangan 1., Gramedia Pustaka Umum., Jakarta.
- Frazier and Westhoff.D.C., 1987., Food Microbiology., McGraw-Hill Book Company., New York.
- Hardjono., 1984., Padi., Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan., Bogor.
- Judoamidjojo. M., A.A. Darwis dan E.G. Said., 1992., Teknologi Fermentasi., Pusat Antar Universitas., Biotehnologi., Institut Teknologi Bandung., Rajawali Press., Jakarta.
- Kapti. R. K. dan Sudarmadji., 1986., Proses-proses Mikrobiologi Pangan., P.A.U., Pangan dan Gizi. Universitas Gajah Mada., Yogyakarta.
- Kartika.B., A.Dj.Guritno., D. Purwadi dan D.Ismoyowati., 1992., Evaluasi Produk Industri Hasil Pertanian., P.A.U. Pangan dan Gizi., Yogyakarta.
- Mahida., 1986., Limbah., Universitas Indonesia Press., Universitas Indonesia., Jakarta.

- Makfoeld., 1982., Deskripsi Pengolahan Hasil Nabati., Agritech., Bogor.
- Munadjin., 1983., Teknologi Pengolahan Pisang., Gramedia., Jakarta.
- Pelczar. M.J. and Reid. R.D., 1958., Microbiology., Tata McGraw-Hill Publishing Co., New York.
- Perry. R.H., 1984., Chemical Engineers', Hand Book., Sixth Edition., Doud Green.
- Prescott. S.C and C.G. Dunn., 1959., Industrial Microbiology., Third Edition., McGraw-Hill Book Company Inc., New York.
- Prentis. S., 1985., Biotechnology A New Industrial Revolution., terjemahan M. Thenawidjaja., 1990., Bioteknologi., Erlangga., Jakarta.
- Reed and Rehn., 1987., Biotechnology., John F. Kennedy Publisher., Florida.
- Said. E.G., 1987., Bioindustri Penerapan Teknologi Fermentasi., Mediyatama Sarana Perkasa., Jakarta.
- Saono. S., F.G. Winarno., dan Karjodi., 1982., Tradisional Food Fermentation as Industrial Resources in Asea Countries., The Institute of Sciences., Jakarta.
- Sarjono. dan R.B. Kasmijo., 1989., Teknologi Fermentasi Pangan., P.A.U. Pangan dan Gizi., UGM., Yogyakarta.
- Siliker., J.H., 1980., Microbial Ecology Of Food., Academic Press Inc. Vich Publisher., New York.
- Srigandono. B., 1987., Rancangan Percobaan., Universitas Diponegoro., Semarang.
- Stainer. R.Y., M. Doudoroff and E.A. Adelberg., 1963., The Microbial World., Prentice Hall Inc.
- Steel. R.G.D. and J.H. Torrie., 1991., Prinsiples and Procedures of Statistics., McGraw-Hill Kogakusha, Ltd., Tokyo.
- Sugiharto., 1987., Dasar-dasar Pengolahan Air Limbah., Universitas Indonesia Press., Jakarta.
- Suparmo., 1989., Aspek Nutrisi Makanan Hasil Fermentasi., P.A.U., UGM., Yogyakarta.

Wibowo. J., 1990., Dasar-dasar Teknologi Fermentasi., P.A.U., UGM., Yogyakarta.

Winarno. F.G., 1983., Enzim Pangan., Gramedia., Jakarta.

Wiseman F.L., 1985., Chemistry in The Modern World Concepts and Applications., Student Super Saver.

Yusti. I. dan O. Suwaryono., 1992., Fermentasi Bahan Berpati., P.A.U., UGM., Yogyakarta.



Lampiran — lampiran



Lampiran 01

Tabel 05. Hasil Transformasi Data Analisis Kadar Alkohol
(dalam mg/ml)% Selama Perlakuan

Per-lakuan	U l a n g a n			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
KOH0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00 ^x
KOH2	8,21	6,65	7,29	22,15	7,38
KOH4	10,06	9,92	9,77	29,75	9,92
KOH6	13,74	14,01	12,47	40,22	13,41
KOH8	12,41	11,17	11,38	34,96	11,65
K1H0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00 ^x
K1H2	10,72	11,87	10,70	33,29	11,10
K1H4	15,91	14,63	15,22	45,76	15,25
K1H6	18,08	17,90	18,02	54,00	18,00
K1H8	15,81	16,27	16,36	48,44	16,15
K2H0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00 ^x
K2H2	12,82	12,38	12,43	37,63	12,54
K2H4	18,42	18,43	17,51	54,36	18,12
K2H6	21,07	21,51	21,35	63,93	21,31
K2H8	19,32	18,93	19,06	57,31	19,10
K3H0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00 ^x
K3H2	13,48	14,78	14,98	43,24	14,41
K3H4	19,54	19,09	19,52	58,15	19,38
K3H6	24,71	24,69	24,70	74,10	24,70*
K3H8	21,57	21,35	20,91	63,83	21,28
Jumlah	255,87	253,58	251,67	761,12	253,70

Keterangan : * = kadar alkohol yang tertinggi

x = kadar alkohol yang terendah

Lampiran 02.

Tabel 06. Hasil Analisis Data Kadar Alkohol
(dalam mgr/ml)% Selama Perlakuan

Konsentrasi Hari Pengamatan Ulangan	K0	K1	K2	K3	Jumlah
HO	1 0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2 0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3 0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Jumlah Rerata		0,00 0,00	0,00 0,00	0,00 0,00	0,00 0,00
H2	1 2,04	3,46	4,92	5,43	15,85
	2 1,34	4,23	4,60	6,51	16,68
	3 1,61	3,45	4,63	6,68	16,37
Jumlah Rerata		4,99 1,66	11,14 3,71	14,15 4,72	18,62 6,21
H4	1 3,05	7,51	9,98	11,19	31,73
	2 2,97	6,38	10,00	10,70	30,05
	3 2,88	6,89	9,05	11,17	29,99
Jumlah Rerata		8,90 2,97	20,78 6,93	29,03 9,65	33,06 11,02
H6	1 5,64	9,63	12,93	17,47	45,67
	2 5,86	9,45	13,45	17,45	46,21
	3 4,66	9,57	13,25	17,46	44,94
Jumlah Rerata		16,16 5,39	28,65 9,55	39,63 13,21	52,38 17,46
H8	1 4,62	7,42	10,95	13,51	36,50
	2 3,75	7,85	10,52	13,25	35,37
	3 3,89	7,93	10,66	12,74	35,22
Jumlah Rerata		12,26 4,09	23,20 7,73	32,13 10,71	39,50 13,17
Jumlah Total Rerata Total		42,31 2,82	83,77 5,58	114,94 7,66	143,56 9,57
					384,58 6,41

Sumber : Data primer oleh Supriyanto. HS, tahun 1993

Lampiran 03.

Tabel 07. Perhitungan Statistik Hasil Transformasi Data Kadar Alkohol Selama Perlakuan

Konsentrasi Hari Pengamatan. Ulangan	K0	K1	K2	K3	Jumlah
HO	1 0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2 0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3 0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Jumlah Rerata		0,00	0,00	0,00	0,00
		0,00	0,00	0,00	0,00
H2	1 8,21	10,72	12,82	13,48	45,23
	2 6,65	11,87	12,38	14,78	45,68
	3 7,29	10,70	12,43	14,98	45,40
Jumlah Rerata		22,15	33,29	37,63	43,24
		7,38	11,10	12,54	14,41
					136,31
					11,36
H4	1 10,06	15,91	18,42	19,54	63,93
	2 9,92	14,63	18,43	19,09	62,07
	3 9,77	15,22	17,51	19,52	62,02
Jumlah Rerata		29,75	45,76	54,36	58,15
		9,92	15,25	18,12	19,38
					188,02
					15,67
H6	1 13,74	18,08	21,07	24,71	77,60
	2 14,01	17,90	21,51	24,69	78,11
	3 12,47	18,02	21,35	24,70	76,54
Jumlah Rerata		40,22	54,00	63,93	74,10
		13,41	18,00	21,31	24,70
					232,25
					19,35
H8	1 12,41	15,81	19,32	21,57	69,11
	2 11,17	16,27	18,93	21,35	67,72
	3 11,38	16,36	19,06	20,91	67,71
Jumlah Rerata		34,96	48,44	57,31	63,83
		11,65	16,15	19,10	21,28
					204,54
					17,05
Jumlah Total Rerata		127,08	181,48	213,23	239,32
		8,47	12,10	14,22	15,95
					761,12
					12,69

Lampiran 03 (lanjutan).

Perhitungan Analisis Statistik Hasil Transformasi Data
Kadar Alkohol Selama Perlakuan

$$FK = \frac{(761,12)^2}{60} = 9655,06$$

$$JKT = (8,21^2 + 10,72^2 + \dots + 20,91^2) - FK$$

$$= 13087,57 - 9655,06$$

$$= 3432,51$$

$$JKP = \frac{(22,15^2 + 33,29^2 + \dots + 63,83^2)}{3} - FK$$

$$= 13079,63 - 9655,06$$

$$= 3424,56$$

$$JK_{Hari} = \frac{(136,31^2 + 188,02^2 + 232,25^2 + 204,54^2)}{12} - FK$$

$$= 12475,72 - 965,06$$

$$= 2820,66$$

$$JK_{Kons} = \frac{(127,08^2 + 181,49^2 + 213,23^2 + 239,32^2)}{15} - FK$$

$$= 1021,94 - 965,06$$

$$= 466,88$$

$$JK_{KxH} = JKP - JK_{Kons} - JK_{Hari}$$

$$= 3424,56 - 466,88 - 2820,66$$

$$= 137,02$$

$$JK_{Galat} = JKT - JKP$$

$$= 3432,51 - 3424,56$$

$$= 7,95$$

Lampiran 04.

Perhitungan Uji Beda Nyata Jujur untuk Konsentrasi Selama Hari Pengamatan pada Kadar Alkohol

$$\begin{aligned} BNJ (\alpha) &= q(\alpha) \times \sqrt{0,20 / (3 \times 5)} \\ &= q(\alpha) \times 0,12 \end{aligned}$$

p	2	3	4	5
q (40, p, 5% 1%)	2,86 3,82	3,44 4,37	3,79 4,70	4,04 4,93
w (40, p, 5% 1%)	0,34 0,46	0,41 0,52	0,45 0,56	0,48 0,59

Tabel 08. Hasil Perbandingan Nilai Tengah Transformasi Data Kadar Alkohol yang Dihasilkan pada Konsentrasi 0%, 10%, 20% dan 30% dengan Uji Beda Nyata Jujur

KO

Hari Pe-n-gamatan	H6	H8	H4	H2	HO
HO	13,41**	11,65**	9,92**	7,38**	-
H2	6,03**	4,27**	2,54**	-	
H4	3,49**	1,73**	-		
H8	1,76**	-			
H6	-				

K1

Hari Pe-n-gamatan	H6	H8	H4	H2	HO
HO	18,00**	16,15**	15,25**	11,10**	-
H2	6,90**	5,05**	4,15**	-	
H4	2,75**	0,90**	-		
H8	1,85**	-			
H6	-				

Lampiran 04 (lanjutan)

K2

Hari Pe-nngamatan	H8	H6	H4	H2	HO
HO	21,31**	19,10**	18,12**	12,54**	-
H2	8,77**	6,56**	5,58**	-	
H4	3,19**	0,98**	-		
H6	2,21**	-			
H8	-				

K3

Hari Pe-nngamatan	H8	H6	H4	H2	HO
HO	24,70**	21,28**	19,38**	14,41**	-
H2	10,29**	6,87**	4,97**	-	
H4	5,32**	1,90**	-		
H6	3,42**	-			
H8	-				

Keterangan :

K0, K1, K2, K3 : menunjukkan konsentrasi 0%, 10%, 20%, 30%

HO, H2, H4, H6, H8 : menunjukkan hari pengamatan ke..

* : menunjukkan perbedaan nyata pada taraf uji 0,05

** : menunjukkan perbedaan sangat nyata pada taraf uji 0,01

(Steel and Torrie, 1991; Srigandoro, 1987)

Lampiran 05.

Perhitungan Uji Beda Nyata Jujur untuk Hari Pengamatan pada Kadar Alkohol

$$\begin{aligned} BNJ (\alpha) &= q(\alpha) \times \sqrt{0,20 / (3 \times 4)} \\ &= q(\alpha) \times 0,13 \end{aligned}$$

P	2	3	4	5
q (40, p, 5%)	2,86 1%	3,44 3,82	3,79 4,37	4,04 4,93
w (40, p, 5%)	0,37 1%	0,45 0,50	0,49 0,57	0,53 0,61

Tabel 09. Hasil Perbandingan Nilai Tengah Transformasi Data Kadar Alkohol yang Dihasilkan pada Hari 0,2,4,6 dan 8 dengan Uji Beda Nyata Jujur

H0

Konsentrasi	K3	K2	K1	K0
K0	0	0	0	-
K1	0	0	-	
K2	0	-		
K3	-			

H2

Konsentrasi	K3	K2	K1	K0
K0	7,03**	5,16**	3,32**	-
K1	3,31**	1,44**	-	
K2	1,87**	-		
K3	-			

Lampiran 05 (lanjutan)

H4

Konsentrasi	K3	K2	K1	K0
K0	9,46**	8,20**	1,26**	-
K1	4,13**	2,87**	-	
K2	1,26**	-		
K3	-			

H6

Konsentrasi	K3	K2	K1	K0
K0	11,29**	7,90**	4,59**	-
K1	6,70**	3,31**	-	
K2	3,39**	-		
K3	-			

H8

Konsentrasi	K3	K2	K1	K0
K0	9,63**	7,455**	4,50**	-
K1	5,13**	2,95**	-	
K2	2,18**	-		
K3	-			

Keterangan :

K0, K1, K2, K3 : menunjukkan konsentrasi 0%, 10%, 20% dan 30%

H0, H2, H4, H6, H8 : menunjukkan hari pengamatan ke...

* : menunjukkan perbedaan nyata pada taraf uji 0,05

** : menunjukkan perbedaan sangat nyata pada taraf uji 0,01

(Steel and Torrie, 1991; Srigandono, 1987)

Lampiran 06.

Perbandingan Nilai Tengah Interaksi Perlakuan Terhadap Kadar Alkohol dari Hasil Transformasi Data dengan Uji Beda Nyata Jujur

$$BNJ (\alpha) = q(\alpha) \times S_x$$

$$S_x = \sqrt{0,20/3}$$

$$= 0,26$$

p	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
q (40,p,5%)	2,86	3,44	3,79	4,04	4,23	4,39	4,52	4,63	4,74	4,82	4,91	4,98	5,05	5,11	5,16	5,22
1%	3,82	4,37	4,70	4,93	5,11	5,27	5,39	5,50	5,60	5,69	5,77	5,84	5,90	5,96	6,02	6,07
w (40,p,5%)	0,74	0,89	0,99	1,05	1,10	1,14	1,18	1,20	1,23	1,25	1,28	1,29	1,31	1,33	1,34	1,36
1%	0,99	1,14	1,22	1,28	1,33	1,37	1,40	1,43	1,46	1,48	1,50	1,52	1,53	1,55	1,57	1,58

Lampiran 06 (lanjutan).

Tabel 10. Hasil Interaksi Transformasi Data antara Konsentrasi dan Hari Pengamatan pada Produk Alkohol dengan Uji Beda Nyata Jujur

Perlakuan:	K3H6	K2H6	K3H3	K3H4	K2H8	K2H4	K1H5	K1H4	K3H2	KOH5	K2H2	KOH8	K1H2	KOH4	KOH2	KOH/K1H0 :
:	24,70	21,31	21,28	19,38	15,10	18,12	18,00	16,15	15,25	14,41	13,41	12,54	11,65	11,10	9,92	7,38
:KOH0/K1H0 :	24,70**	21,31**	21,28**	19,38**	19,10**	18,12**	18,00**	16,15**	15,25**	14,41**	13,41**	12,54**	11,65**	11,10**	9,92**	7,38**
:K2H0/K3H0 :	17,32**	13,93**	13,50**	12,00**	11,72**	10,74**	10,62**	8,77**	7,67**	7,03**	6,03**	5,16**	4,27**	3,72**	2,54**	-----
:KOH2 :	14,78**	11,39**	11,36**	9,46**	9,18**	8,20**	8,08**	6,23**	5,33**	4,49**	3,49**	2,62**	1,73**	1,18**	-----	-----
:KOH4 :	13,60**	10,21**	10,18**	8,28**	8,00**	7,02**	6,90**	5,05**	4,15**	3,31**	2,31**	1,43**	0,55	-----	-----	-----
:K1H2 :	13,05**	9,66**	9,63**	7,73**	7,75**	6,47**	6,35**	4,50**	3,60**	2,76**	1,76**	1,76**	1,71**	1,87**	0,87*	-----
:KOH8 :	12,16**	8,77**	8,74**	6,84**	6,56**	5,58**	5,46**	3,61**	2,71**	1,87**	0,87*	-----	-----	-----	-----	-----
:K2H2 :	11,25**	7,90**	7,87**	5,97**	5,69**	4,71**	4,59**	2,74**	1,84**	1,00**	0,84*	-----	-----	-----	-----	-----
:KOH6 :	10,29**	6,90**	6,87**	4,97**	4,69**	3,71**	3,53**	1,74**	1,84**	0,84*	-----	-----	-----	-----	-----	-----
:K3H2 :	9,45**	6,06**	6,05**	4,13**	3,85**	2,87**	2,75**	0,90*	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
:K1H4 :	8,55**	5,16**	5,13**	3,23**	2,95**	1,97**	1,83**	0,90*	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
:K1H6 :	6,70**	3,31**	3,28**	1,38**	1,10**	0,12	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
:K2H4 :	6,58**	3,19**	3,16**	1,26**	0,93*	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
:K2H6 :	5,60**	2,21**	2,18**	0,28	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
:K3H4 :	5,32**	1,93**	1,90**	0,03	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
:K3H6 :	3,42**	0,03	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
:K2H6 :	3,39**	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

Keterangan : ** : menunjukkan adanya perbedaan sangat nyata pada taraf uji 0,01
 * : menunjukkan adanya perbedaan nyata pada taraf uji 0,05

Lampiran 07

Tabel 11. Hasil Transformasi Data Analisis Total Asam
(dalam ml)% Selama Perlakuan

Per-lakuan	U l a n g a n			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
KOH0	5,13	5,13	5,13	15,39	5,13 ^x
KOH2	7,27	7,27	6,29	20,83	6,69
KOH4	8,13	8,13	6,29	22,55	7,52
KOH6	8,13	8,91	9,63	26,67	8,89
KOH8	8,91	10,30	10,30	29,51	9,84
K1H0	5,13	5,13	5,13	15,39	5,13 ^x
K1H2	8,91	8,13	7,27	24,31	8,10
K1H4	8,91	8,91	8,91	26,73	8,91
K1H6	10,94	10,30	10,30	31,54	10,51
K1H8	10,94	10,94	10,94	32,82	10,94
K2H0	5,13	5,13	5,13	15,39	5,13 ^x
K2H2	10,30	8,91	9,63	28,84	9,61
K2H4	10,30	9,63	10,30	30,23	10,08
K2H6	11,83	11,83	12,11	35,77	11,92
K2H8	12,11	11,97	12,66	36,74	12,25
K3H0	5,13	5,13	5,13	15,39	5,13 ^x
K3H2	10,30	10,94	10,94	31,54	10,51
K3H4	10,94	11,54	10,30	32,78	10,93
K3H6	12,11	12,11	11,83	36,05	12,02
K3H8	12,66	12,66	12,11	37,43	12,48*
Jumlah	183,21	183,00	179,69	545,90	181,72

Keterangan : * = total asam tertinggi
 x = total asam terendah

Lampiran 08.

Tabel 12. Hasil Analisis Data Total Asam (dalam ml)% Selama Perlakuan

Konsentrasi Hari Pengamatan Ulangan	K0	K1	K2	K3	Jumlah
H0	1 0,80	0,80	0,80	0,80	3,20
	2 0,80	0,80	0,80	0,80	3,20
	3 0,80	0,80	0,80	0,80	3,20
Jumlah Rerata		2,40 0,80	2,40 0,80	2,40 0,80	9,60 0,80
H2	1 1,60	2,40	3,20	3,20	10,40
	2 1,60	2,00	2,40	3,60	9,60
	3 1,20	1,60	2,80	3,20	8,80
Jumlah Rerata		4,40 1,47	6,00 2,00	8,40 2,80	10,00 3,33
H4	1 2,00	2,40	3,20	3,60	11,20
	2 2,00	2,40	2,80	4,00	11,20
	3 1,20	2,40	3,20	3,20	10,00
Jumlah Rerata		5,20 1,73	7,20 2,40	9,20 3,07	10,80 3,60
H6	1 2,00	3,60	4,20	4,40	14,20
	2 2,40	3,20	4,20	4,40	14,20
	3 2,80	3,20	4,40	4,20	14,60
Jumlah Rerata		7,20 2,40	10,00 3,33	12,80 4,27	13,00 4,33
H8	1 2,40	3,60	4,40	4,80	15,20
	2 3,20	3,60	4,36	4,80	15,96
	3 3,20	3,60	4,80	4,40	16,00
Jumlah Rerata		8,80 2,93	10,80 3,60	13,56 4,52	14,00 4,67
Jumlah Total Rerata		28,00 1,87	36,40 2,43	46,36 3,09	50,20 3,35
					160,96 2,68

Sumber : Data primer oleh Supriyanto.HS, tahun 1993

Lampiran 09

Tabel 13. Perhitungan Statistik Hasil Transformasi Data Total Asam Selama Perlakuan

Konsentrasi Hari Pengamatan Ulangan	K0	K1	K2	K3	Jumlah
HO	1 5,13	5,13	5,13	5,13	20,52
	2 5,13	5,13	5,13	5,13	20,52
	3 5,13	5,13	5,13	5,13	20,52
Jumlah Rerata	15,39 5,13	15,39 5,13	15,39 5,13	15,39 5,13	61,56 5,13
H2	1 7,27	8,91	10,30	10,30	36,78
	2 7,27	8,13	8,91	10,94	35,25
	3 6,29	7,27	9,63	10,30	33,49
Jumlah Rerata	20,83 6,96	24,31 8,10	28,84 9,61	31,54 10,51	105,52 8,79
H4	1 8,13	8,91	10,30	10,94	38,28
	2 8,13	8,91	9,63	11,54	38,21
	3 6,29	8,91	10,30	10,30	35,80
Jumlah Rerata	22,55 7,52	26,73 8,91	30,23 10,08	32,78 10,93	112,29 9,36
H6	1 8,13	10,94	11,83	12,11	43,01
	2 8,91	10,30	11,83	12,11	43,15
	3 9,63	10,30	12,11	11,83	43,87
Jumlah Rerata	26,67 8,89	31,54 10,51	35,77 11,92	36,05 12,02	130,03 10,84
H8	1 8,91	10,94	12,11	12,66	44,62
	2 10,30	10,94	11,97	12,66	45,87
	3 10,30	10,94	12,66	12,11	46,01
Jumlah Rerata	29,51 9,84	32,82 10,94	36,74 12,25	37,43 12,48	136,50 11,38
Jumlah Total Rerata	114,95 7,66	130,79 8,72	146,97 9,80	153,19 10,21	545,90 9,10

Lampiran 09 (lanjutan)

Perhitungan Analisis Statistik Hasil Transformasi Data
Total Asam Selama Perlakuan

$$FK = \frac{(545,90)^2}{60} = 4966,78$$

$$\begin{aligned} JKT &= (5,13^2 + 5,13^2 + \dots + 12,11^2) - FK \\ &= 5341,19 - 4966,78 \\ &= 374,41 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JKP &= \frac{(15,39^2 + 15,39^2 + \dots + 37,43^2)}{3} - FK \\ &= 5331,38 - 4966,78 \\ &= 364,60 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK_{Hari} &= \frac{(61,56^2 + 105,52^2 + 112,29^2 + 130,03^2 + 136,50)}{12} - FK \\ &= 5256,10 - 4966,78 \\ &= 289,32 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK_{Kons} &= \frac{(114,95^2 + 130,79^2 + 146,97^2 + 153,19^2)}{15} - FK \\ &= 5025,79 - 4966,78 \\ &= 59,01 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK_{KxH} &= JKP - JK_{Kons} - JK_{Hari} \\ &= 364,60 - 59,01 - 289,32 \\ &= 16,27 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK_{Galat} &= JKT - JKP \\ &= 374,41 - 364,60 \\ &= 9,81 \end{aligned}$$

Lampiran 10.

Perbandingan Nilai Tengah Interaksi Perlakuan Terhadap Total Asam dari Hasil Transformasi Data dengan Uji Beda Nyata Jujur

$$BNJ (\alpha) = q(\alpha) \times S_x$$

$$S_x = \sqrt{0,25/3}$$

$$= 0,29$$

p	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
q (40,p,5%)	2,86	3,44	3,79	4,04	4,23	4,39	4,52	4,63	4,74	4,82	4,91	4,98	5,05	5,11	5,16	5,22
I%	3,82	4,37	4,70	4,93	5,11	5,27	5,39	5,50	5,60	5,69	5,77	5,84	5,90	5,96	6,02	6,07
W (40,p,5%)	0,83	1,00	1,10	1,17	1,23	1,27	1,31	1,34	1,37	1,40	1,42	1,44	1,46	1,48	1,50	1,51
I%	1,11	1,27	1,36	1,43	1,48	1,53	1,56	1,60	1,62	1,65	1,67	1,69	1,71	1,73	1,75	1,76

Lampiran 10 (lanjutan)

Tabel 14. Hasil Interaksi Transformasi Data antara Konsentrasi dan Hari Pengamatan pada Total Asam dengan Uji Beda Nyata Jujur

	K3H8	K2H8	K3H6	K2H6	K1H8	K3H4	K1H6/K3H2	K2H4	K0H8	K2H2	K1H4	K0H6	K1H2	K0H4	K0H2	K0H0, K1H0, K2H0, K3H0
Periklauan:	12,48	12,05	12,02	11,92	10,94	10,93	10,51	10,68	9,84	9,61	8,91	8,89	8,10	7,52	6,96	5,13
:K0H0/K1H0:																
:K2H0/K3H0:	7,35**	7,12**	6,89**	6,79**	5,81**	5,80**	5,38**	4,95**	4,71**	4,48**	3,78**	3,76**	2,97**	2,39**	1,83**	
:K0H2	5,52**	5,22**	5,06**	4,96**	3,98**	3,97**	3,55**	3,12**	2,88**	2,64**	1,95**	1,93**	1,14**	0,56		
:K0H4	4,35**	4,17**	4,50**	4,40**	3,12**	3,41**	2,99**	2,56**	2,32**	2,09**	1,39**	1,37**	0,58			
:K1H2	4,36**	4,15**	3,92**	3,82**	2,84**	2,83**	2,41**	1,98**	1,74**	1,51**	0,81	0,79				
:K0H6	3,59**	3,36**	3,13**	3,03**	2,05**	2,04**	1,62**	1,19**	0,95	0,72	0,02					
:K1H4	3,57**	3,33**	3,11**	3,01**	2,03**	2,02**	1,60**	1,17**	0,93	0,70						
:K2H2	2,87**	2,64**	2,41**	2,41**	2,18**	2,31**	1,33**	1,32**	0,90	0,47	0,23					
:K0H8	2,69**	2,49**	2,18**	2,08**	1,10	1,09	0,67	0,67	0,43	0,24						
:K2H4	2,40**	2,15**	1,94**	1,84**	0,96	0,85	0,42									
:K1H6/K3H2:	1,37**	1,74**	1,51**	1,41**	0,43	0,42										
:K3H4	1,35**	1,32*	1,09	0,99	0,01											
:K1H8	1,59**	1,31*	1,08*	0,98*												
:K2H6	0,56	0,33	0,10	0,23												
:K3H6	0,16	0,23														
:K2H8	0,25															
:K3H8																

Keterangan : ** : Merunjukkan adanya perbedaan sangat nyata pada taraf uji 0,01
 * : Merunjukkan adanya perbedaan nyata pada taraf uji 0,05

Lampiran 11.

Tabel 15. Hasil Transformasi Data Analisis pH
Selama Perlakuan

Per-lakuan	U l a n g a n			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
KOH0	2,319	2,319	2,319	6,957	2,319 ^x
KOH2	2,313	2,315	2,311	6,939	2,313
KOH4	2,296	2,296	2,296	6,888	2,296
KOH6	2,265	2,263	2,263	6,815	2,272
KOH8	2,265	2,263	2,263	6,791	2,264
K1H0	2,319	2,319	2,319	6,957	2,319 ^x
K1H2	2,302	2,307	2,304	6,913	2,304
K1H4	2,280	2,283	2,285	6,848	2,283
K1H6	2,267	2,267	2,267	6,801	2,267
K1H8	2,258	2,256	2,254	6,768	2,256
K2H0	2,319	2,319	2,319	6,957	2,319 ^x
K2H2	2,296	2,293	2,291	6,880	2,293
K2H4	2,276	2,276	2,276	6,828	2,276
K2H6	2,263	2,265	2,263	6,791	2,264
K2H8	2,249	2,245	2,245	6,739	2,246
K3H0	2,319	2,319	2,319	6,957	2,319 ^x
K3H2	2,289	2,289	2,289	6,867	2,289
K3H4	2,272	2,272	2,272	6,816	2,272
K3H6	2,261	2,263	2,261	6,785	2,262
K3H8	2,243	2,2412	2,238	6,722	2,241*
Jumlah	45,675	45,679	45,665	137,019	45,674

Keterangan : x = pH tertinggi
 * = pH terendah

Lampiran 12.

Tabel 16. Hasil Analisis Data pH Selama Perlakuan

Konsentrasi Hari Pengamatan Ulangan	K0	K1	K2	K3	Jumlah
HO	1 4,88	4,88	4,88	4,88	19,52
	2 4,88	4,88	4,88	4,88	19,52
	3 4,88	4,88	4,88	4,88	19,52
Jumlah Rerata	14,64	14,64	14,64	14,64	58,56
	4,88	4,88	4,88	4,88	4,88
H2	1 4,85	4,80	4,77	4,74	19,16
	2 4,86	4,82	4,76	4,74	19,18
	3 4,84	4,81	4,75	4,74	19,14
Jumlah Rerata	14,55	14,43	14,28	14,22	57,84
	4,85	4,81	4,76	4,74	4,79
H4	1 4,77	4,70	4,68	4,66	18,81
	2 4,77	4,71	4,68	4,66	18,82
	3 4,77	4,72	4,68	4,66	18,83
Jumlah Rerata	14,31	14,13	14,04	13,98	56,46
	4,77	4,71	4,68	4,66	4,71
H6	1 4,65	4,64	4,62	4,61	18,52
	2 4,66	4,64	4,63	4,62	18,55
	3 4,67	4,64	4,62	4,61	18,54
Jumlah Rerata	13,98	13,92	13,87	13,84	55,61
	4,66	4,64	4,62	4,61	4,63
H8	1 4,63	4,60	4,56	4,53	18,32
	2 4,62	4,59	5,54	4,52	18,27
	3 4,62	4,58	4,54	4,51	18,25
Jumlah Rerata	13,87	13,77	13,64	13,56	54,84
	4,62	4,59	4,55	4,52	4,57
Jumlah Total Rerata Total	71,35 4,76	70,89 4,73	70,47 4,70	70,24 4,69	282,95 4,72

Sumber : Data primer oleh Supriyanto. HS, tahun 1993

Lampiran 13.

Tabel 17. Perhitungan Statistik Hasil Transformasi Data pH Selama Perlakuan

Konsentrasi Hari Pengamatan Ulangan	K0	K1	K2	K3	Jumlah	
HO	1	2,319	2,319	2,319	2,319	9,276
	2	2,319	2,319	2,319	2,319	9,276
	3	2,319	2,319	2,319	2,319	9,276
Jumlah Rerata	6,957	6,957	6,957	6,957	27,828	
	2,319	2,319	2,319	2,319	2,319	
H2	1	2,313	2,302	2,296	2,289	9,200
	2	2,315	2,307	2,293	2,289	9,204
	3	2,311	2,304	2,291	2,289	9,195
Jumlah Rerata	6,939	6,913	6,880	6,867	27,599	
	2,313	2,303	2,293	2,289	2,300	
H4	1	2,296	2,280	2,276	2,272	9,124
	2	2,296	2,283	2,276	2,272	9,127
	3	2,296	2,285	2,276	2,272	9,129
Jumlah Rerata	6,888	6,848	6,828	6,816	27,380	
	2,296	2,283	2,276	2,272	2,282	
H6	1	2,269	2,267	2,263	2,261	9,060
	2	2,272	2,267	2,265	2,263	9,067
	3	2,274	2,267	2,263	2,261	9,065
Jumlah Rerata	6,815	6,801	6,791	6,785	27,192	
	2,272	2,267	2,264	2,262	2,266	
H8	1	2,265	2,258	2,249	2,243	9,015
	2	2,263	2,256	2,245	2,241	9,005
	3	2,263	2,254	2,245	2,238	9,000
Jumlah Rerata	6,791	6,768	6,739	6,722	27,020	
	2,264	2,256	2,246	2,241	2,252	
Jumlah Rerata	34,390	34,287	34,195	34,147	137,019	
	2,293	2,286	2,280	2,276	2,284	

Lampiran 13 (lanjutan).

Perhitungan Analisa Statistik Hasil Transformasi Data pH Selama Perlakuan

$$FK = \frac{(137,019)^2}{60} = 312,90344$$

$$\begin{aligned} JKT &= (2,319^2 + 2,319^2 + \dots + 2,238^2) - FK \\ &= 312,94093 - 312,90344 \\ &= 0,03749 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JKP &= \frac{(6,957^2 + 6,957^2 + \dots + 6,722^2)}{3} - FK \\ &= 312,94084 - 312,90344 \\ &= 0,03740 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK_{Hari} &= \frac{(27,828^2 + 27,599^2 + 27,380^2 + 27,192^2 + 27,020^2)}{12} - FK \\ &= 312,93767 - 312,90344 \\ &= 0,03423 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK_{Kons} &= \frac{(34,390^2 + 34,287^2 + 34,195^2 + 34,147^2)}{15} - FK \\ &= 312,90574 - 312,90344 \\ &= 0,00230 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK_{KxH} &= JKP - JK_{Kons} - JK_{Hari} \\ &= 0,03740 - 0,00230 - 0,03423 \\ &= 0,0087 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK_{Galat} &= JKT - JKP \\ &= 0,03749 - 0,03740 \\ &= 0,00009 \end{aligned}$$

Lampiran 14.

Perbandingan Nilai Tengah Interaksi Perlakuan Terhadap pH dari Hasil Transformasi Data dengan Uji Beda Nyata Jujur

$$\begin{aligned} BNJ(\alpha) &= q(\alpha) \times S_x \\ S_x &= \sqrt{0,000002/3} \\ &= 0,0008 \end{aligned}$$

p	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
---	---	---	---	---	---	---	---	---	----	----	----	----	----	----	----	----

$q(40, p, 5\%)$	2,860	3,440	3,790	4,040	4,230	4,390	4,520	4,630	4,740	4,820	4,910	4,980	5,050	5,110	5,160	5,220
1%	3,820	4,370	4,700	4,930	5,110	5,270	5,390	5,500	5,600	5,690	5,770	5,840	5,900	5,960	6,020	6,070

$q(40, p, 5\%)$	0,002	0,003	0,003	0,003	0,003	0,004	0,004	0,004	0,004	0,004	0,004	0,004	0,004	0,004	0,004	0,004
1%	0,003	0,003	0,004	0,004	0,004	0,004	0,004	0,004	0,004	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005

Lampiran 14 (lanjutan)

Tabel 18. Hasil Interaksi Transformasi Data antara Konsentrasi dan Hari Pengamatan pada pH dengan Uji Beda Nyata Jujur

Perilakuant	KOH0/K1HO/K2HO/K3HO	KOH2	KOH4	K2H2	K3H2	K1H4	K2H4	K3H4/KOH6	K1H6	K2H6	K1H8	K2H8	K3HS
2,319	2,313	2,304	2,295	2,293	2,289	2,283	2,276	2,272	2,267	2,264	2,253	2,256	2,246
K3HS	0,078***	0,072***	0,063***	0,055***	0,052***	0,048***	0,042***	0,035***	0,031***	0,026***	0,023***	0,015*	---
K2H6	0,073***	0,067***	0,058***	0,050***	0,047***	0,043***	0,037***	0,030***	0,026***	0,021***	0,018***	0,010	---
K1H6	0,063***	0,057***	0,048***	0,040***	0,042***	0,037***	0,033***	0,027***	0,020***	0,016	0,011	0,008	0,006
K3H6	0,057***	0,051***	0,042***	0,034***	0,031***	0,027***	0,021***	0,019***	0,014	0,010	0,005	0,002	---
K2H6/KOH6	0,055***	0,049***	0,042***	0,032***	0,029***	0,025***	0,019***	0,013***	0,012	0,008	0,003	---	---
K1H6	0,052***	0,046***	0,037***	0,029***	0,026***	0,022***	0,016***	0,016***	0,009	0,005	0,005	---	---
K3H4/KOH6	0,047***	0,041***	0,032***	0,024***	0,021***	0,017***	0,011	0,004	0,007	0,007	0,007	---	---
K2H4	0,043***	0,037***	0,028***	0,020***	0,017***	0,013	0,010	0,013	0,013	0,010	0,010	0,005	---
K1H4	0,036***	0,030***	0,024***	0,021***	0,015	0,007	0,004	0,004	0,003	0,003	0,003	0,003	---
K3H2	0,026***	0,020***	0,011	0,011	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008	---
KOH4	0,023***	0,017***	0,008	0,008	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005	---
K1H2	0,015*	0,005	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
KOH0/K1HO:	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
K2HO/K3HO:	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

Keterangan : *** : menunjukkan adanya perbedaan sangat nyata pada taraf uji 0,01

: menunjukkan adanya perbedaan nyata pada taraf uji 0,05

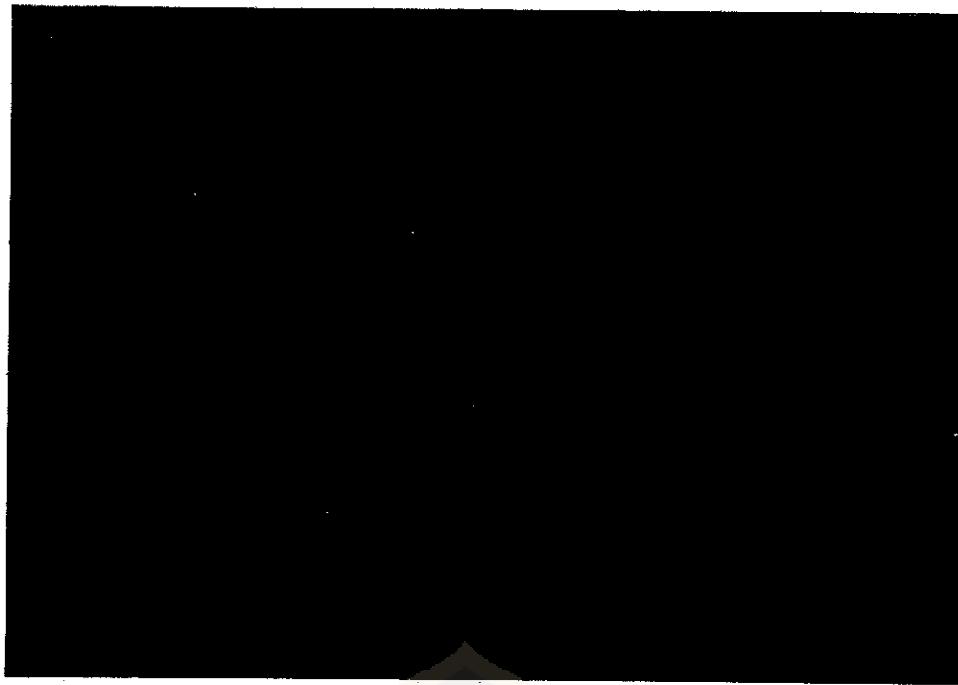
Lampiran 15.



Gambar 02. Morfologi Mikroskopis Pada Khamir
Saccharomyces cerevisiae Dalam Medium
Nutien Agar , Umur 24 Jam
Dengan Perbesaran 400 X

Keterangan : 1. Sel *Saccharomyces cerevisiae*

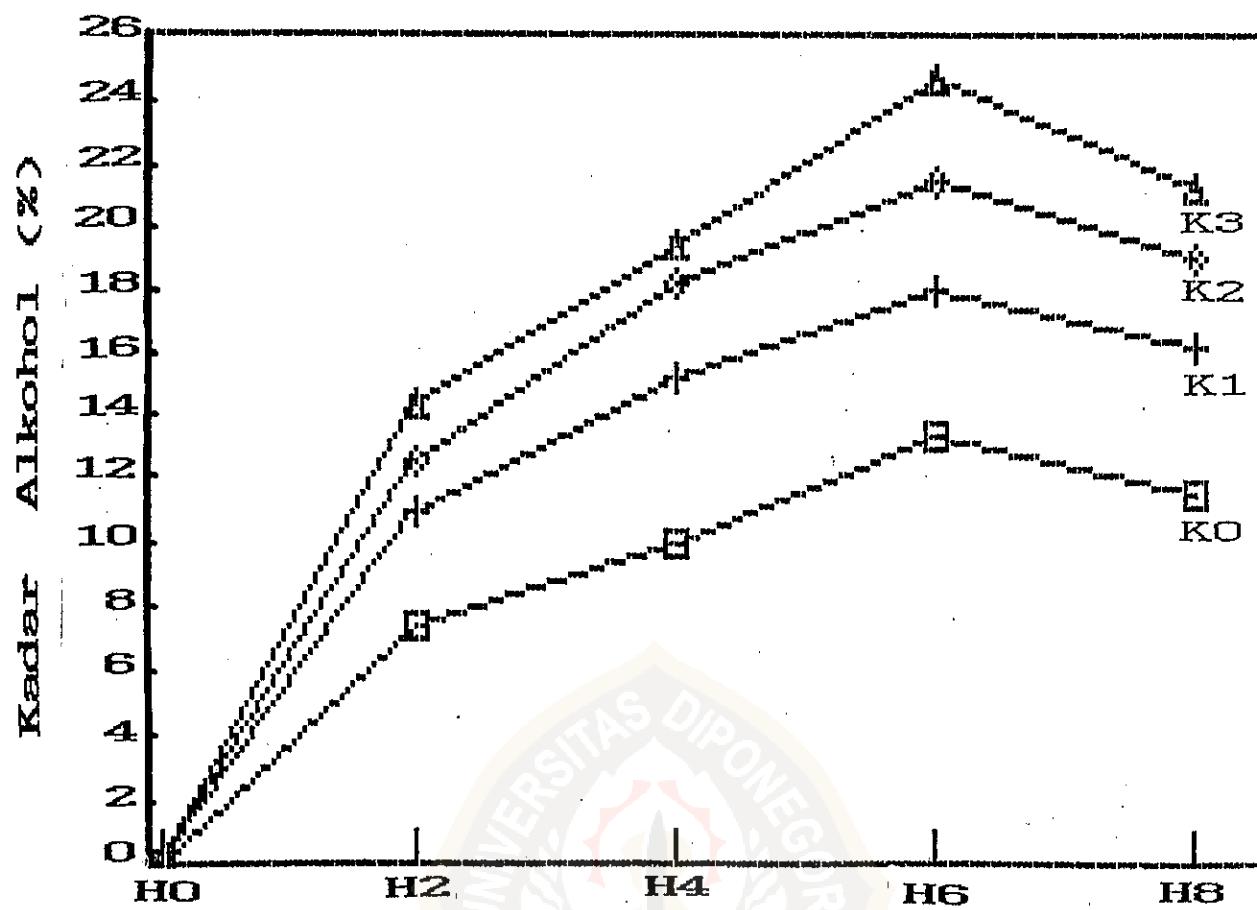
Lampiran 16.



Gambar 03. Morfologi Mikroskopis Pada Khamir
Endomycopsis fibuligera Dalam Medium
Nutrien Agar , Umur 24 Jam
Dengan Perbesaran 400 X

Keterangan : 1. Sel *Endomycopsis fibuligera*
2. Pseudomycelium pada *E. fibuligera*

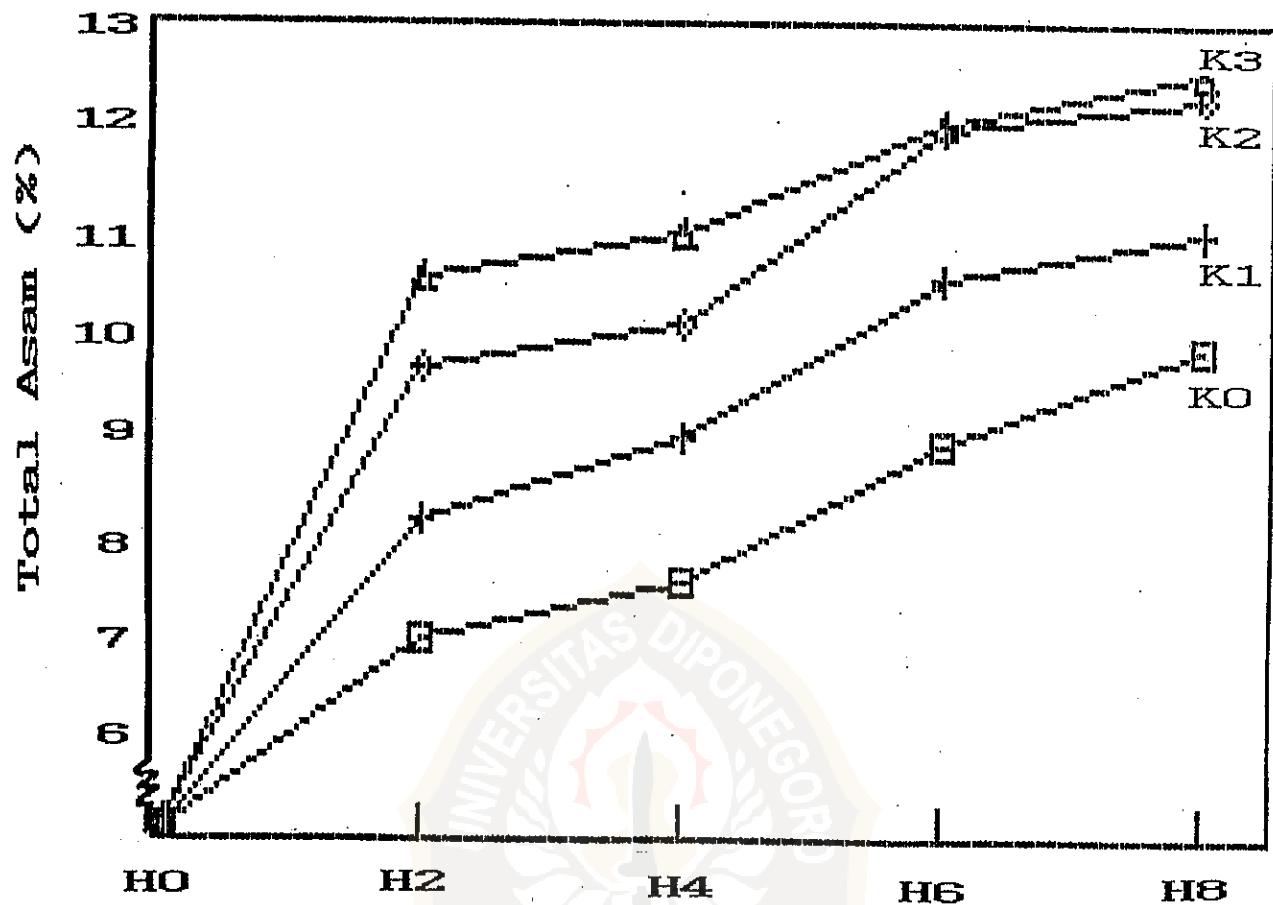
Lampiran 17.



Gambar 04. Grafik Interaksi antara Hari Pengamatan dan Konsentrasi Terhadap Produksi Alkohol Selama Hari Pengamatan dari Hasil Transformasi Data

Keterangan : H0, H2, H4, H6, H8 : Hari Pengamatan
 K0, K1, K2, K3 : Konsentrasi limbah air cucian beras

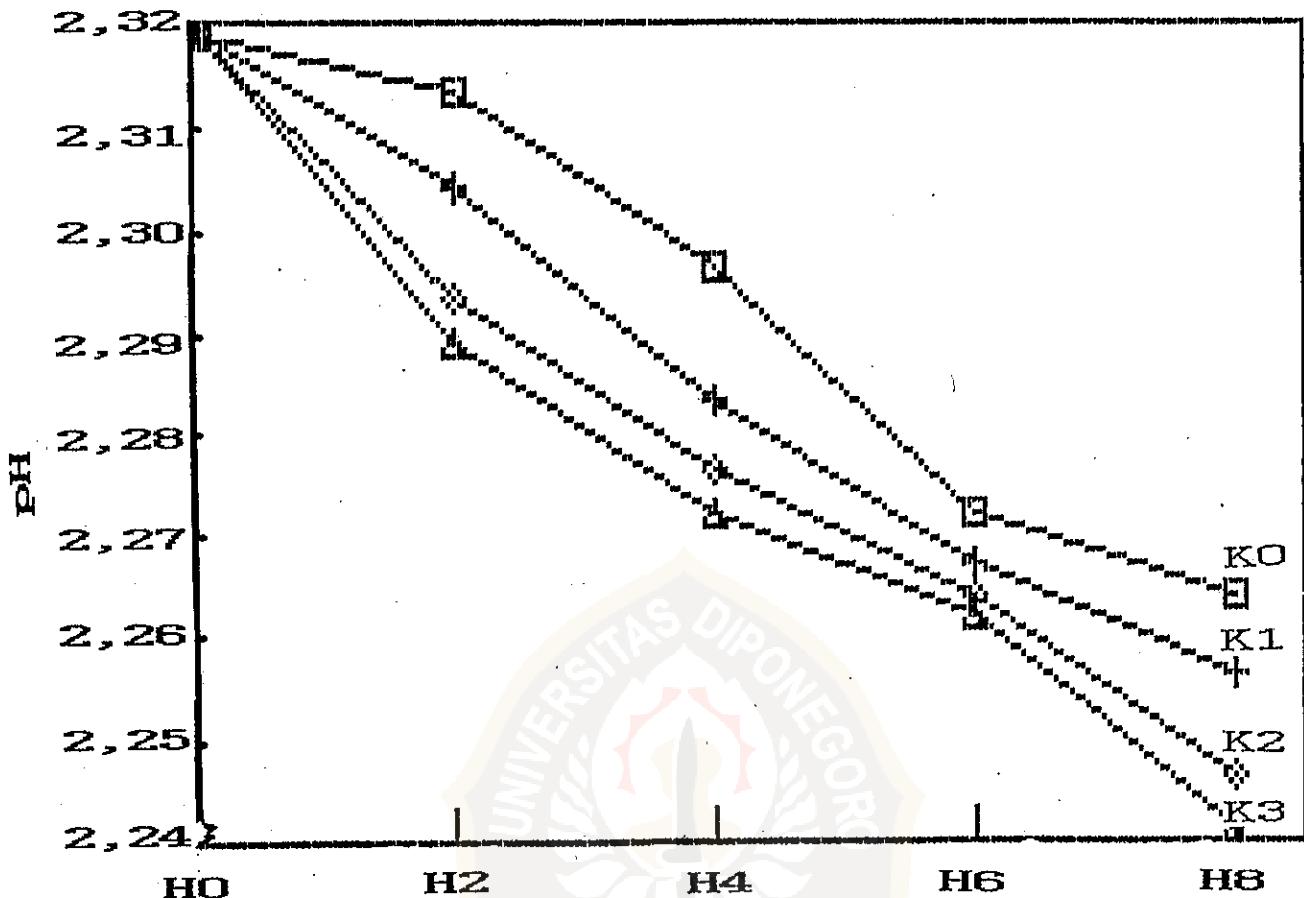
Lampiran 18:



Gambar 05. Grafik Interaksi antara Hari Pengamatan dan Konentrasi Terhadap Pengukuran Total Asam Selama Perlakuan dari Hasil Transformasi Data

Keterangan : H0, H2, H4, H6, H8 : Hari Pengamatan
 K0, K1, K2, K3 : Konentrasi limbah air cucian beras

- Lampiran 19.



Gambar 06. Grafik Interaksi antara Hari Pengamatan dan Konsentrasi Terhadap Pengukuran pH Selama Hari Pengamatan dari Hasil Transformasi Data

Keterangan : H0, H2, H4, H6, H8 : Hari Pengamatan
 K0, K1, K2, K3 : Konsentrasi limbah air cucian beras