

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1. Variabel-Variabel Penelitian**

##### **3.1.1. Variabel yang dikendalikan**

- Massa substrat : 50 g
- Massa yeast/ragi : 0,5 g

##### **3.1.2. Variabel yang divariasi**

- Suhu fermentasi : 20°, 25°, 30°C
- Waktu fermentasi: 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54, 60 jam

##### **3.1.3. Parameter yang dinilai**

- Konsentrasi etanol yang terbentuk
- Waktu, dimana etanol sebagai produk mulai terbentuk.
- Kadar air singkong

#### **3.2. Bahan yang dipergunakan**

1. Singkong dari areal kebun singkong di Desa Meteseh Tembalang
2. Yeast/Ragi Tape merk Walet
3. Kalium Bikromat p.a.
4. Etanol (95%) p.a.
5. Asam Sulfat (96%) p.a.

6. Aquades
7. Kalium Karbonat , p.a.

### 3.3. Peralatan yang dipakai

1. Spektrofotometer UV-Vis Shimadzu
2. Timbangan Metler
3. Almari pendingin merk Sanyo SR-F8
4. Termometer 100°C
5. Peralatan-peralatan dari gelas
6. Kertas saring Whatman 42
7. Oven

### 3.4. Cara Kerja

#### 3.4.1. Preparasi Bahan Fermentasi<sup>[18]</sup>

- a. Pembuatan Larutan  $K_2Cr_2O_7$  (0,0179 M)

520 mg  $K_2Cr_2O_7$  dimasukkan dalam labu takar 100 mL lalu ditambahkan  $H_2SO_4$  sebanyak 27,6 mL kemudian diencerkan dengan aquades hingga tanda batas.

- b. Pembuatan larutan  $K_2CO_3$  jenuh (11,27 M)

$K_2CO_3$  sebanyak 234 gram dilarutkan dalam aquades 150 mL

#### 3.4.2. Penentuan $\lambda_{optimal}$ dan kurva larutan standar Etanol

Dibuat larutan etanol 0,01%, 0,25%, 0,50%, 0,75%, 1%, 1,5%, 2%, 2,5%, 3% dan 4%, kemudian masing-masing diambil 1 mL ditempatkan pada tabung reaksi lalu

dimasukkan 1 mL  $K_2CO_3$  11,27 M dan 1 mL  $K_2Cr_2O_7$  0,0179 M kemudian dipanaskan pada suhu  $40^\circ C$  selama 1 jam, lalu diencerkan dalam labu takar 100 mL. Pada larutan yang mengandung etanol 4% dicari absorbansinya pada panjang gelombang 330, 340, 350, ..., 400 nm sebanyak 3 kali sehingga diperoleh nilai  $\lambda_{optimal}$ . Seri larutan etanol yang lain diukur absorbansinya pada  $\lambda_{optimal}$  yang telah diperoleh.

### 3.4.3. Penentuan kadar air substrat

Cawan porselin dikeringkan dalam oven selama 1 jam pada suhu  $110^\circ C$  kemudian setelah didinginkan cawan tersebut ditimbang beratnya. Singkong setelah dikupas dan siap untuk proses fermentasi diambil secara acak dari seluruh bagian sebanyak 50 gram dan diletakkan pada cawan porselin, kemudian dipanaskan dalam oven selama 2 jam pada suhu  $110^\circ C$ . Lalu dilakukan pendinginan pada singkong tersebut kemudian ditimbang. Langkah di atas hingga diperoleh berat yang konstan.

### 3.4.4. Proses Fermentasi

Singkong sebanyak 2 kg dikupas lalu dicuci hingga bersih, kemudian dipotong - potong hingga ukuran sekitar  $1\text{ cm}^3$ . Setelah ditiriskan hingga kering, potongan-potongan singkong sebanyak 50 gram dimasukkan kedalam panci untuk ditanak (dikukus) selama 0,5 jam. Setelah ditanak, singkong tersebut didinginkan lalu ditempatkan pada gelas fermentasi (gelas Bekker). Ragi (yeast) yang berupa bubuk ditaburkan hingga merata pada singkong dalam gelas bekker kemudian ditutup dengan lembaran plastik. Gelas Bekker yang berisi singkong dan ragi tersebut dimasukkan dalam alat pemanas atau pendingin kemudian diatur suhunya pada  $30^\circ C$ ,

25°C, 20°C. Pada jam-jam ke-18, 24, 30, 36, 42, 48, 54, 60 dari waktu fermentasi sampel diambil untuk dianalisa kadar etanolnya.

#### 3.4.5. Analisa kadar etanol ( Micro Diffusion Conway )

Cairan sampel diambil sebanyak 1 mL ditempatkan pada tabung reaksi kemudian ditambahkan 1 mL  $K_2CO_3$  dan  $K_2Cr_2O_7$  sebanyak 1 mL lalu dipanaskan pada suhu 40°C selama 1 jam. Isi dalam tabung reaksi dipindahkan dalam labu takar 100 mL lalu diencerkan dengan aquades hingga tanda batas kemudian dicari absorbansinya dengan Spektrofotometer Ultra Violet-Visible merk Shimadzu pada  $\lambda_{maks} = 373 \text{ nm}$

#### 3.5. Sistem Pengolahan Data

Data absorbansi dari larutan standar dicari nilai rata-ratanya, kemudian diplotkan pada grafik absorbansi versus konsentrasi, dan ditentukan regresi liniernya sehingga diperoleh persamaannya. Nilai persamaan regresi linier yang diperoleh dipergunakan untuk mencari nilai konsentrasi etanol dari rata-rata absorbansi yang didapat dari sampel. Cara menghitung konsentrasi etanol adalah sebagai berikut:

Konsentrasi etanol =  $(\text{Absorbansi sampel} - C_0) / M_0$  , dengan  $C_0$  adalah nilai intersep dan  $M_0$  adalah nilai slope dari persamaan regresi linier pada kurva standar.

Hasil absorbansi sampel dari 3 kali fermentasi setelah dikonversi dalam konsentrasi etanol dibuat rata-ratanya lalu diplotkan pada grafik antara konsentrasi versus waktu fermentasi, kemudian diolah dengan regresi linier sehingga diperoleh persamaannya.

Pada garis regresi linier tersebut dilakukan ekstrapolasi sehingga terjadi perpotongan

dengan sumbu X. Atau dengan mencari dari persamaan  $Y = m.X + C$  dapat diperoleh titik potong antara garis regresi linier dengan sumbu X ( titik dimana  $Y = 0$  ), yang merupakan nilai pendekatan waktu dimana etanol mulai terbentuk.

Metode tersebut diterapkan pada fermentasi suhu  $30^{\circ}$ ,  $25^{\circ}$  dan  $20^{\circ}\text{C}$  sehingga dapat diperoleh waktu mulai terbentuknya etanol pada variasi suhu.

