

PERBANDINGAN KADAR ETANOL HASIL FERMENTASI UWI VARIETAS PUTIH, UNGU, DAN ORANGE (*Dioscorea alata* L.)

Nina Yuniawati, Sabikis, Diniatik

Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Purwokerto
Jl. Dukuwaluh PO Box 202 Purwokerto 53182 Tlp (0281) 636751, 630463.**ABSTRAK**

Telah dilakukan Perbandingan Kadar Etanol Hasil Fermentasi Uwi Varietas Putih, Ungu dan Orange (*Dioscorea alata* L.). Penetapan kadar etanol digunakan alat spektrofotometer UV-Vis secara mikrodifusi dengan alat cawan Conway. Panjang gelombang maksimum yang didapat pada 446 nm, persamaan garis regresi yang diperoleh $y = -0,3765x + 0,7835$. Hasil validasi metode diperoleh akurasi metode dan presisi alat yang baik dengan koefisien korelasi (r) -0,9983, dengan limit deteksi 0,0546 g/dL, limit kuantitasi 0,1821 g/dL. Dari hasil penetapan kadar uwi diperoleh kadar rata-rata sebesar 3,2998%; 2,6152%; 2,6947% berturut-turut untuk sampel uwi putih, uwi orange dan uwi ungu. Kadar etanol uwi sampel berbeda bermakna sesuai hasil uji anava, dimana diperoleh nilai signifikan P lebih kecil dari α ($0,000 < 0,05$).

Kata kunci : Uwi (*Dioscorea alata* L.), etanol, spektrofotometri UV-Vis, cawan Conway, fermentasi, perbandingan kadar, mikrodifusi.

ABSTRACT

Has been done a comparison about Ethanol from Fermentation White, Purple, and Orange Uwi Variety. Determination of ethanol using UV-VIS spectrophotometry according to microdifusion and using Conway dish. Beer's law is obeyed maximum length at 446 nm and equality of regrestion line obtained by $y = -0.3765x + 0.7835$. The result of validation method obtained accuration of method and good precision appliance with the correlation coefficient (r) -0.9983. Limit of detection 0.0546 g/dL. Limit of quantitation 0.1821 g/dL. From result determination of uwi's sampels obtained by 3.2998%; 2,6152%; 2,6947% continued for white, orange and purple uwi's samples. Rate of uwi's samples have different meaning of according to result of ANAVA test obtained by meaning value (P) smaller than α value ($0,000 < 0,05$).

*Key words : Uwi (*Dioscorea alata* L.), ethanol, UV-VIS Spectrophotometry, Conway dish, fermentation, comparation, microdifusion.*

PENDAHULUAN

Fermentasi dengan ragi pada bahan dasar karbohidrat seperti beras ketan (*Oryza sativa* var. glutinosa) dan ketela

pohon (*Manihot utilissima*) yang menghasilkan minuman beralkohol telah banyak dikenal dan banyak pula orang menggemarinya. Alkohol hasil

fermentasi ini pada umumnya merupakan cairan yang didapat dari hasil ikutan dan pembuatan "tape" mempunyai rasa manis keasaman, berbau alkohol dan sedikit agak kental. Pada umumnya dibuat dari ketan (*Oryza sativa* var. *glutinosa*) atau ketela pohon (*Manihot utilissima*), selain kedua bahan tersebut, jagung (*Zea mays*), kentang (*Solanum tuberosum*, L) juga digunakan, sedangkan bahan berpati lain dari golongan umbi-umbian seperti uwi atau umbi kelapa (*Dioscorea alata* L.) tentunya dapat difermentasi dan menghasilkan alkohol/etanol walaupun masih jarang digunakan. Nenek moyang dahulu hidup dari umbi-umbian lokal seperti keladi, talas, kimpul, ganyong, garut, uwi, gembili dan lain-lainnya. Namun saat ini umbi-umbian yang beraneka ragam tersebut nyaris tidak ada, hanya ubi kayu dan ubi jalar yang masih dapat kita jumpai. Saat ini kedua jenis umbi-umbian tersebut mendominasi pasar umbi-umbian dan pemanfaatannya pun cukup luas. Pada kenyataannya uwi belum dapat dimanfaatkan secara maksimal oleh masyarakat, hal ini sangat disayangkan. Oleh karena itu sangat menguntungkan apabila dapat mengubah uwi menjadi suatu produk yang mempunyai nilai

guna yaitu diambil alkoholnya (etanol) dengan cara yang sederhana, karena pada uwi mengandung karbohidrat sehingga dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan alkohol (etanol) melalui proses fermentasi. Uwi memiliki varietas yang bermacam-macam diantaranya uwi ungu, putih, orange, dll. Setiap varietas uwi memiliki kandungan karbohidrat yang berbeda-beda.

Pati merupakan salah satu senyawa yang terdapat dalam umbi uwi dan dapat menghasilkan etanol. Metode analisis yang digunakan untuk penentuan kadar etanol adalah dengan spektrofotometer UV-Vis karena metode tersebut memiliki sensitivitas yang tinggi. Etanol tidak dapat memberikan serapan pada spektrofotometer UV-Vis, sehingga diperlukan kromofor warna antara etanol dengan asam dikromat. Berdasarkan kromofor warna antara etanol dan asam dikromat maka penetapan kadar etanol dapat dilakukan dengan metode Spektrofotometri UV-Vis secara mikrodifusi.

METODE KERJA

Alat Penelitian

Alat yang digunakan adalah seperangkat alat Spektrofotometer Ultraviolet Visibel

Merk Genesis 10S, seperangkat alat-alat gelas, neraca analitik Shimadzu AY 220, pipet volume, fermentor, kompor listrik, panci, neraca gram, cawan Conway, botol timbang.

Bahan Penelitian

Uwi putih, uwi ungu, uwi orange (diambil dari kebun), ragi cap matahari (cakra), aquabidest Merck, kalium dikromat Merck, asam sulfat (Merck), kalium permanganat Merck, asam asetat (Merck), natrium nitroferisianida P (Merck), NaOH (Merck), Iodium Merck, piperazina P, etanol absolut (E. Merck), silicon grease (Merck), Na₂CO₃ (Merck), asam fosfat (Merck), asam oksalat (Merck), HCl (Merck), rosanilin klorida (Merck), natrium sulfat (Merck).

Cara Kerja

1. Persiapan Sampel

Sebanyak 5 Kg umbi uwi yang diambil dari kebun kecamatan Rancah kabupaten Ciamis.

2. Proses Fermentasi

Bahan dasar ditimbang 250 g, kemudian dicuci bersih dengan air, ditambahkan air 1200 mL, dimasak sampai matang, didinginkan dan dicampur ragi dengan konsentrasi 5% dari jumlah uwi yang digunakan. Setelah dilakukan pemeraman selama 5 hari dalam fermentor. Setelah diperoleh cairan

fermentasi, kemudian dilakukan uji kualitatif dan kuantitatif.

3. Pembuatan Larutan Pereaksi

a. Pembuatan pereaksi Schiff

Seratus gram rosanilin klorida dilarutkan dalam 50 ml aquabidest dengan cara dipanaskan. Setelah itu ditambahkan 1,25 g natrium sulfat dan 20 ml HCl 6N.

b. Pembuatan Larutan Standar

Dibuat larutan standar etanol konsentrasi 0,5 g/dL dan konsentrasi 0,1; 0,3; 0,5; 0,7; 0,9 g/dL dengan cara menimbang dengan botol timbang sebanyak 0,5; 0,1; 0,3; 0,5; 0,7; 0,9 gram etanol, kemudian dilarutkan dalam aquabidest 100 mL. Standar yang digunakan adalah etanol absolut (99,5%) v/v.

c. Pembuatan Larutan K₂Cr₂O₇ asam

Dibuat 4,26 gram kalium dikromat dan dilarutkan dalam aquabidest hingga 100 mL kemudian ditambahkan 500 mL asam sulfat pekat lambat-lambat sambil didinginkan.

d. Pembuatan Larutan NaCO₃ 20%

Dibuat 20 gram natrium karbonat dalam aquabidest hingga 100 mL.

4. Uji organoleptis dan kualitatif

Cairan hasil fermentasi yang terbentuk dilakukan uji organoleptis untuk mengetahui warna, bau dan bentuk dari

sampel hasil fermentasi dan uji kualitatif untuk mengetahui ada tidaknya :

a. Etanol

Reaksi iodoform : Pada 5 mL larutan sampel tambahkan 1 mL NaOH 1N dan perlahan-lahan (setelah 3 menit) ditambahkan 2 mL iodium 0,1N : timbul bau iodoform dan terbentuk endapan kuning dalam waktu 30 menit jika terdapat etanol.

b. Aseton

Lima ml cairan sampel ditambahkan 1 ml larutan dinatrium pentasianonitrosilferat (II) 2,5% ditambah 0,5 ml NH_4Cl dan NH_4OH . jika reaksi positif, akan terbentuk warna ungu. (percobaan legal Rothera).

c. Metanol

Sejumlah 0,2 ml larutan sampel direaksikan dengan 5 ml larutan kalium permanganat 1% dan 0,5 ml asam fosfat, 15 menit kemudian ditambahkan 2 ml larutan asam oksalat 5% dalam asam sulfat 50%. Sesudah ditambahkan pereaksi Schiff, jika ada metanol maka akan terbentuk warna merah.

d. Asam asetat

Campuran 1 ml sampel dan 5 ml NaOH 3N direaksikan dengan 1 ml larutan besi (III) klorida 10%. Jika positif ada asam asetat, maka akan terbentuk warna merah.

e. Asetaldehida

Sampel dilarutkan dalam aquabidest, diasamkan dengan HCl 3N lalu ditambahkan pereaksi Schiff dengan volume sama banyak. Setelah beberapa waktu, jika ada asetaldehid maka akan terbentuk warna merah sampai ungu.

5. Optimasi dan Validasi Metode Spektrofotometri UV-Vis

a. Pembuatan Seri Larutan Standar Etanol

Disiapkan seri larutan standar etanol konsentrasi 0,5 g/dL dan konsentrasi 0,1; 0,3; 0,5; 0,7; 0,9 g/dL.

b. Penentuan panjang gelombang maksimum

Larutan dikromat asam diambil 1 mL, dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL dan diencerkan dengan aquabidest sampai garis tanda. Larutan dikocok sampai homogen kemudian baca absorbansi pada panjang gelombang 400-800 nm.

c. Penentuan *operating time*

Bagian tengah cawan Conway diisi dengan 3 ml larutan dikromat dalam asam sulfat. Dipipetkan bersebelahan pada bagian (lingkaran) luar cawan Conway 0,5 ml larutan standar 0,5 g/dL dan 1 ml larutan Na_2CO_3 . Cawan Conway ditutup dengan penutupnya yang telah diberi silicon grease, kemudian dikeram

pada suhu 90°C, selama 20 menit. Diambil larutan dikromat yang terdapat di bagian cawan, dimasukkan kedalam labu takar 25 ml. Bilas tempat tadi 2X dengan aquabidest dan masukan hasil bilasan ke dalam labu, tambahkan aquabidest sampai 25 ml. Kemudian dibaca absorbansinya pada menit 5, 10, 15, 20, sampai 25 dibaca pada panjang gelombang maksimum sampai diperoleh absorbansi yang stabil.

d. Pembuatan Kurva Baku

Bagian tengah cawan Conway diisi dengan 3 ml larutan dikromat dalam asam sulfat. Dipipetkan bersebelahan pada bagian (lingkaran) luar cawan Conway 0,5 ml larutan standar etanol dari konsentrasi 0,1; 0,3; 0,5; 0,7; 0,9 g/dL (b/v) dan 1 ml larutan Na₂CO₃. Cawan Conway ditutup dengan penutupnya yang telah diberi silicon grease, kemudian dikeram pada suhu 90°C, selama 20 menit. Kemudian diambil larutan dikromat asam yang terdapat di bagian cawan, dimasukkan ke dalam labu takar 25 ml. Tempat dikromat asam dibilas 2X dengan aquabidest dan hasil bilasan dimasukkan ke dalam labu, kemudian ditambahkan aquabidest sampai 25 ml. Absorbansi dibaca menggunakan spektrofotometri UV – Vis pada panjang gelombang

maksimal. Dari data hasil absorbansi, selanjutnya dihitung persamaan kurva bakunya. Diperoleh persamaan garis $y = bx + a$

e. Validasi metode penetapan kadar etanol secara spektrofotometri UV-Vis

1. Ketelitian (*Precision*)

Bagian tengah cawan Conway diisi dengan 3 ml larutan dikromat dalam asam sulfat. Dipipetkan bersebelahan pada bagian (lingkaran) luar cawan Conway 0,5 ml larutan standar 0,1 g/dL dan 1 ml larutan Na₂CO₃. Cawan Conway ditutup dengan penutupnya yang telah diberi silicon grease, kemudian dikeram pada suhu 90°C, selama 20 menit. Larutan dikromat asam yang terdapat di bagian cawan diambil dan dimasukkan ke dalam labu takar 25 ml. Tempat dikromat asam dibilas 2X dengan aquabidest dan hasil bilasan dimasukkan ke dalam labu, kemudian ditambahkan aquabidest sampai 25 ml. Didiamkan selama waktu *operating time* kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum kemudian diulangi sebanyak enam kali. Data yang diperoleh berupa nilai serapan kemudian dihitung SD dan RSD nya dengan rumus :

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(x - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

$$RSD = \frac{SD}{\bar{x}}$$

Nilai *relative standart deviation* (RSD) respon $\leq 2,0\%$ (Harmita, 2004:122)

2. Linieritas (*Linearity*)

Hasil absorbansi digunakan untuk membuat kurva baku dan dapat diperoleh harga koefisien korelasinya. Dengan harga koefisien korelasi tersebut dapat ditentukan linieritasnya bagus atau tidak dan untuk mengikuti Hukum Lambert-Beer. Persamaan garis linearitasnya yaitu $y = bx + a$ yang nantinya juga dapat digunakan untuk menghitung harga batas deteksi dan batas kuantitasi.

3. Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi (LOD & LOQ)

Batas deteksi dan batas kuantitasi dengan metode Spektrofotometri UV-Vis dapat dihitung secara statistik melalui garis linier dari kurva kalibrasi (Harmita, 2004:131).

Untuk menentukan batas kuantitasi maka dihitung nilai y pada batas kuantitasi dengan persamaan $y = Y_B + 10 S_B$, maka LOQ dapat dihitung (Miller & Miller, 1991:122).

4. Ketepatan (*Accuracy*)

Dalam penelitian ini ketepatan diekspresikan dengan menggunakan metode penambahan baku (*standard addition method*). Sampel dianalisis, lalu sejumlah tertentu analit yang diperiksa ditambahkan ke dalam sampel, dicampur dan dianalisis lagi (Harmita, 2004:118). Dari sini dapat dihitung persentase *recovery* dan ditentukan persen kesalahannya.

Nilai *recovery* dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Recovery} = (\text{Kadar Terukur}) / (\text{Kadar Sebenarnya}) \times 100\%$$

6. Uji kuantitatif

Disediakan 3 cawan Conway dengan tutupnya. Bagian tengah cawan Conway diisi dengan 3 ml larutan dikromat dalam asam sulfat. Dipipetkan bersebelahan pada bagian (lingkaran) luar cawan Conway 0,5 ml larutan sampel dan 1 ml larutan Na_2CO_3 . Cawan Conway ditutup dengan penutupnya yang telah diberi silicon grease, kemudian dikeram pada suhu 90°C , selama 20 menit. Diambil larutan dikromat yang terdapat di bagian cawan, kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 25 ml. Tempat dikromat asam dibilas 2X dengan aquabidest dan hasil bilasan dimasukan ke dalam labu, kemudian ditambahkan aquabidest sampai 25 ml. Sebagai blanko,

dimasukan 3 ml dikromat dalam asam sulfat. Didiamkan pada *operating time* kemudian dibaca serapannya pada λ maksimal. Dikromat dalam asam sulfat mengoksidasi etanol menjadi asetat. Berkurangnya warna dikromat, sebanding dengan jumlah etanol yang terdapat didalam larutan.

8. Analisis Data

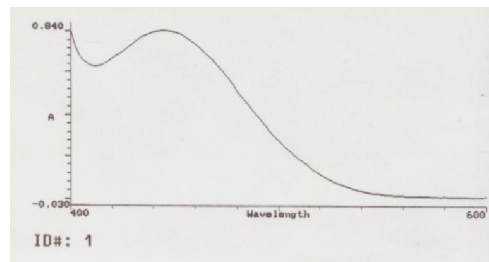
Dari data hasil penetapan kadar yang diperoleh diuji secara statistik dengan analisis variansi (ANOVA) satu jalur dengan taraf kepercayaan 95%. Hal ini digunakan untuk mengetahui perbedaan yang terjadi pada semua sampel. Apabila ada perbedaan yang bermakna maka dilanjutkan dengan BNT (Beda Nyata Terkecil).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Proses Fermentasi

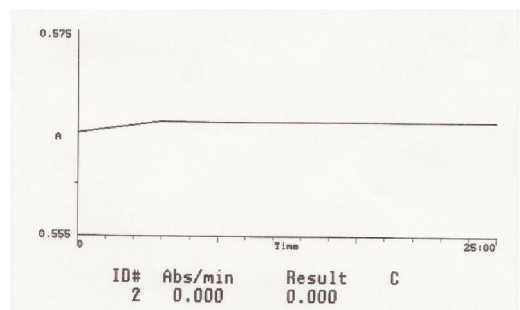
Cairan hasil fermentasi yang diperoleh untuk masing-masing sampel adalah uwi putih 1160 mL, uwi ungu 985 mL dan uwi orange 970 mL.

Panjang Gelombang Maksimum



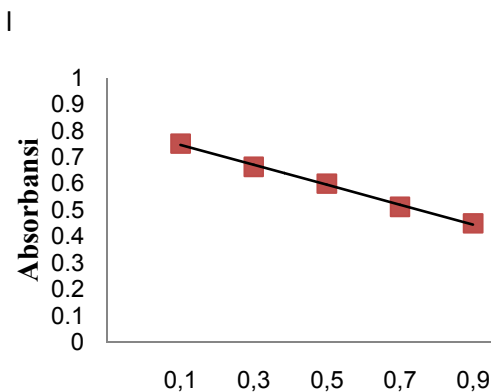
Gambar 1 .Panjang gelombang maksimum larutan dikromat asam dengan λ max = 446 nm.

Operating Time



Gambar 2. Hasil penentuan *operating time* larutan standar etanol konsentrasi 0,5 g/dL

Kurva Baku



Gambar 3. Hasil absorbansi kurva larutan standar etanol

Akurasi

Persen perolehan kembali yang diperoleh berturut-turut adalah 94,83%; 103,17%; 107,17% untuk konsentrasi larutan standar 0,5 g/dL. Nilai tersebut

membuktikan kedekatan hasil analisis dengan nilai sebenarnya karena memenuhi persyaratan perolehan kembali metode analisis adalah 80 % - 120 % dari kadar yang tertera pada label (Mulja & Suharman, 1995:6) sehingga metode yang digunakan dapat diterima untuk penetapan kadar etanol secara spektrofotometri UV-Vis.

Penetapan Kadar Hasil Fermentasi

kadar rata-rata etanol dari uwi putih adalah 3,2%, uwi orange 2,6%, dan uwi ungu 2,6%.

Analisis Hasil

Pengambilan kesimpulan dari anava adalah dengan membandingkan harga signifikan dengan taraf kepercayaan 95 %. Hasil uji anava kadar masing-masing varietas uwi memiliki perbedaan yang bermakna.

KESIMPULAN

1. Fermentasi uwi varietas putih, orange dan ungu dengan ragi dapat menghasilkan etanol yang ditunjukkan dengan uji kualitatif etanol dalam cairan hasil fermentasi. Cairan fermentasi yang diperoleh adalah 1160 mL, 970 mL, 985 mL berturut-turut untuk uwi putih, orange dan ungu.

2. Metode spektrofotometri UV-Vis dengan cawan conway dapat digunakan untuk penetapan kadar etanol. Validasi metode yang dilakukan, didapat akurasi, presisi dan sensitivitas metode alat yang baik. Nilai linieritas sebesar $r = 0,9983$. Dengan limit deteksi 0,0546 g/dL, limit kuantitasi 0,1821 g/dL.

3. Dari hasil penetapan kadar etanol dalam uwi, diperoleh kadar rata-rata sebesar 3,2998%, 2,6152%, 2,6947% berturut-turut untuk sampel uwi putih, orange dan ungu. Kadar sampel uwi berbeda bermakna sesuai hasil uji anava, diperoleh nilai signifikan 0,000 (P) lebih kecil dari 0,05, sehingga dilanjutkan dengan uji BNT. Hasil uji BNT menunjukkan bahwa dari ketiga jenis sampel memiliki perbedaan yang bermakna.

DAFTAR PUSTAKA

- Day & Underwood. 1991. *Kimia Analisis Kuantitatif Anorganik*. Jakarta;EGC.
- Djien, Ko S. 1982. *Tape Fermentation*. Jakarta; LIPI.
- Harmita, 2004. *Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya*. Jakarta. Departemen Farmasi FMIPA-UI.

- <http://dinkesbonebalango.org>.18 juli 2009.
- Liesbetini, H dan Ibrahim Sastramiharja. 1987. *Pembuatan Etanol Immobilized Cell Saccharomyces cerevisiae Dan Bahan Baku Molase Di Reaktor Unggun Terfluidakan, naskah seminar teknologi fermentasi*.Bandung;PAU Bioteknologi ITB.
- Mika, I K., 1981. *Mutu Brem Beras Ketan yang Dibuat dari Dua Macam Ragi dan Diperam Dalam Berbagai Wadah, Thesis sarjana THP Fetemeta IPB*, hal 5-6, 9, 11, 13-14, 17. Bogor; IPB press.
- Miller, J. C., and Miller, J. N., 1991. *Statistika untuk Kimia Analitik (Terjemahan)*. Suroso. Bandung. ITB. Hal. 110-124.
- Mulja, M., and Suharman. 1995. *Analisis Instrumental*. Surabaya. Airlangga University Press.
- Sastrohamidjojo, H. 2001. *Spektroskopi*. Yogyakarta : Liberty.
- Stewart, CP & Stolman, A. 1960. *Mechanism and Analytical Methods Vol. I*. New York & London; Academic Press.
- Widia, S, 2001. *Biokimia Eksperimen Laboratorium*. Jakarta; Widya Medika.
- Wilson, et al. 1971.*Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry, Sixth Edition*. Philadelphia, London; Lippinot Company.
- Wirahadikusumah,M.1985. *Biokimia, Metabolisme Energi, Karbohidrat, dan Lipid*.Bandung; Penerbit ITB.
- Yashinta, Y. 1989. *Isolasi dan Identifikasi Alkohol Hasil Fermentasi Ketan Hitam, Ketan Putih (Oryza sativa var. glutinosa), Beras Merah, Beras Putih (Oryza sativa L.) Skripsi*. Yogyakarta; UGM.