



**PRODUKSI BIOETANOL MENGGUNAKAN RAGI KOMERSIAL
NEW AULE INSTANT DRY YEAST PADA MEDIA MOLASES
SECARA *FED-BATCH***

SKRIPSI

Oleh

**Fifi Dewi Kadita
NIM 111710101045**

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2016**



**PRODUKSI BIOETANOL MENGGUNAKAN RAGI KOMERSIAL
NEW AULE INSTANT DRY YEAST PADA MEDIA MOLASES
SECARA FED-BATCH**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Teknologi Hasil Pertanian (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Teknologi Pertanian

Oleh

**Fifi Dewi Kadita
NIM 111710101045**

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2016**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT, puji syukur atas segala rahmat, hidayah serta Inayah-Nya;
2. Ibunda Siti Nur Fatimah dan Ayahanda Sumariono tercinta, serta keluarga dan kerabat yang telah mendoakan, memotivasi, memberi kasih sayang serta pengorbanan selama ini;
3. Adik-adikku Febriana Banjarsari dan Muhammad Ferdiansyah Putra kebanggaanku yang telah memberikan banyak dukungan, inspirasi, dan motivasi selama penyelesaian pendidikanku;
4. Pembimbing dan penyalur ilmuku, guru-guruku sejak taman kanak-kanak sampai perguruan tinggi;
5. Almamater kebanggaan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

MOTTO

“Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman di antara kamu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat”

(terjemahan Surat *Al-Mujadalah* ayat 11)

“Tiada yang sia-sia dari usaha dan kerja keras yang tulus, dan yakinlah usaha sampai, sampai pada hal yang mulia”

(Penulis)

“Maka sesungguhnya bersama kesulitan itu ada kemudahan”

(*Al-Insyirah*: 5)

“Banyak kegagalan dalam hidup ini dikarenakan orang-orang tidak menyadari betapa dekatnya mereka dengan keberhasilan saat mereka menyerah”

(Thomas Alfa Edison)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Fifi Dewi Kadita

NIM : 111710101045

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Produksi Bioetanol Menggunakan Ragi Komersial *New Aule Instant Dry Yeast* pada Media Molases secara *Fed-Batch*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 23 Juni 2016

Yang menyatakan,

Fifi Dewi Kadita

NIM 111710101045

SKRIPSI

**PRODUKSI BIOETANOL MENGGUNAKAN RAGI KOMERSIAL
NEW AULE INSTANT DRY YEAST PADA MEDIA MOLASES
SECARA *FED-BATCH***

Oleh

Fifi Dewi Kadita
NIM 111710101045

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : Dr. Ir. Jayus

Dosen Pembimbing Anggota : Dr. Nurhayati, S.TP, M.Si.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Produksi Bioetanol Menggunakan Ragi Komersial *New Aule Instant Dry Yeast* pada Media Molases secara *Fed-Batch*” karya Fifi Dewi Kadita NIM. 111710101045 telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Rabu, 29 Juni 2016

tempat : Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember

Tim Penguji:

Ketua,

Anggota,

Ir. Mukhammad Fauzi, M.Si.
NIP 196411091989021002

Dr. Ir. Sony Suwasono, M.App.Sc.
NIP 196411091989021002

Mengesahkan

Dekan,

Dr. Yuli Witono, S.TP., MP
NIP 196912121998021001

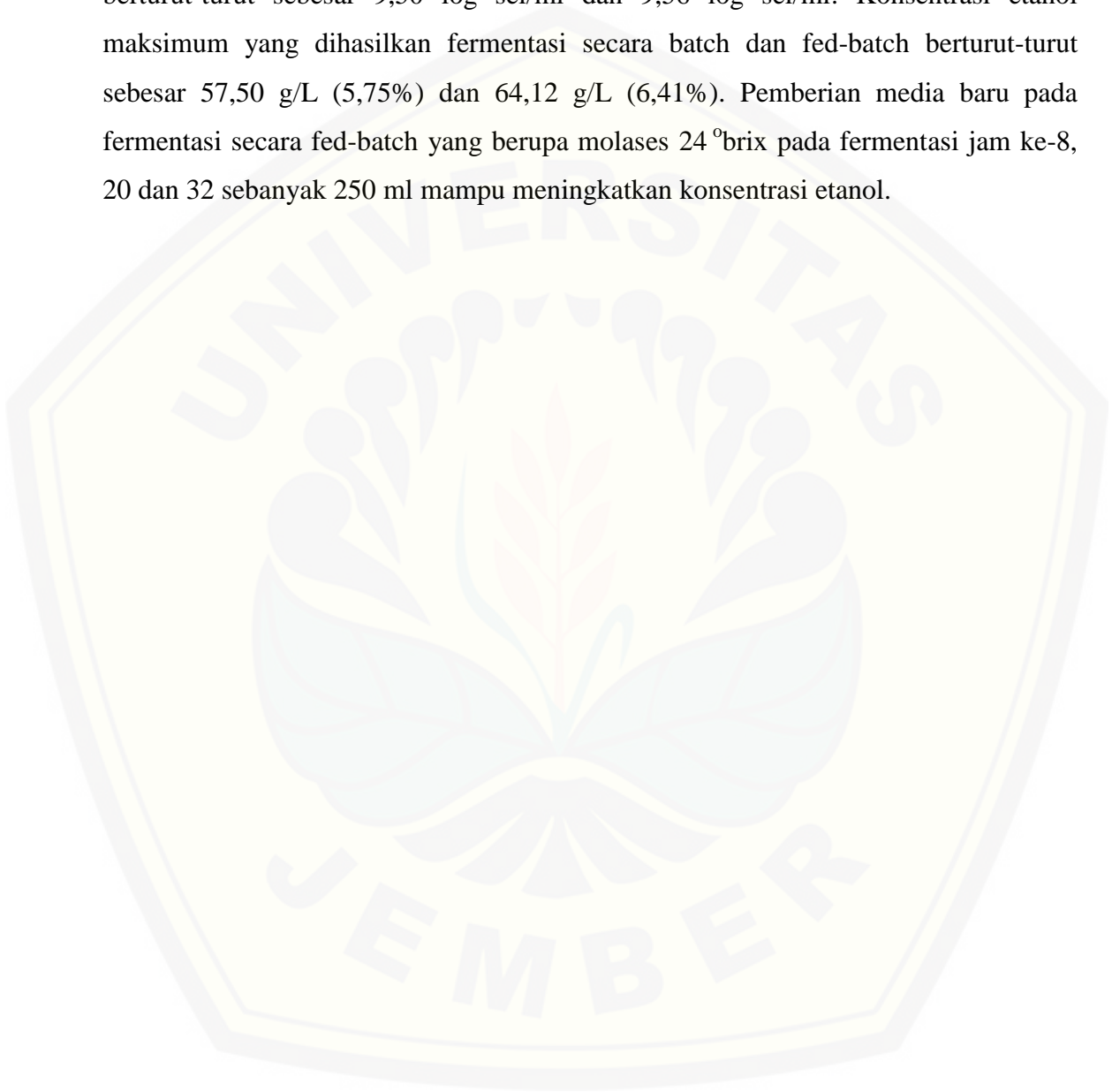
RINGKASAN

Produksi Bioetanol Menggunakan Ragi Komersial *New Aule Instant Dry Yeast* pada Media Molases secara *Fed-Batch*; Fifi Dewi Kadita; 111710101045; 2016; 71 halaman; Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Produksi bioetanol dengan menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* pada media molases telah banyak dilakukan namun hasil yang didapatkan masih belum optimal. Salah satu upaya optimasi produksi bioetanol dapat dilakukan melalui penggunaan sistem fermentasi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penggunaan sistem *fed-batch* dibandingkan dengan sistem *batch* pada produksi bioetanol oleh *Saccharomyces cerevisiae* ragi komersial *New Aule Instant Dry Yeast* pada media molases terhadap produktivitas etanol yang dihasilkan.

Proses fermentasi dilakukan secara *batch* selama 20 jam dan *fed-batch* selama 48 jam dengan pengamatan terhadap media fermentasi dilakukan setiap 4 jam. Data hasil penelitian diolah dengan statistik sederhana seperti rerata dan standart deviasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kedua sistem fermentasi menunjukkan perbedaan aktivitas pertumbuhan populasi yeast, konsumsi gula reduksi, dan produksi bioetanol selama fermentasi. Secara umum dapat diketahui bahwa terdapat hubungan berbalik nilai antara jumlah populasi yeast, konsumsi gula reduksi, dan konsentrasi etanol. Ketika terjadi peningkatan jumlah populasi dan konsentrasi etanol, maka akan diikuti oleh penurunan kadar gula reduksi. Hal ini dikarenakan adanya ketersediaan gula dalam substrat selain digunakan untuk tumbuh dan berkembang biak oleh yeast juga untuk mengkonversi gula menjadi etanol. Adanya konsumsi gula selama fermentasi mengakibatkan terjadinya penurunan kadar gula reduksi dan peningkatan konsentrasi etanol. Maka dari itu, pada fermentasi secara *fed-batch* dilakukan penambahan media baru untuk meningkatkan kembali gula yang menurun.

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa jumlah populasi yeast maksimum pada fermentasi secara *fed-batch* lebih tinggi dibandingkan *batch* yaitu berturut-turut sebesar 9,50 log sel/ml dan 9,56 log sel/ml. Konsentrasi etanol maksimum yang dihasilkan fermentasi secara *batch* dan *fed-batch* berturut-turut sebesar 57,50 g/L (5,75%) dan 64,12 g/L (6,41%). Pemberian media baru pada fermentasi secara *fed-batch* yang berupa molases 24 °brix pada fermentasi jam ke-8, 20 dan 32 sebanyak 250 ml mampu meningkatkan konsentrasi etanol.



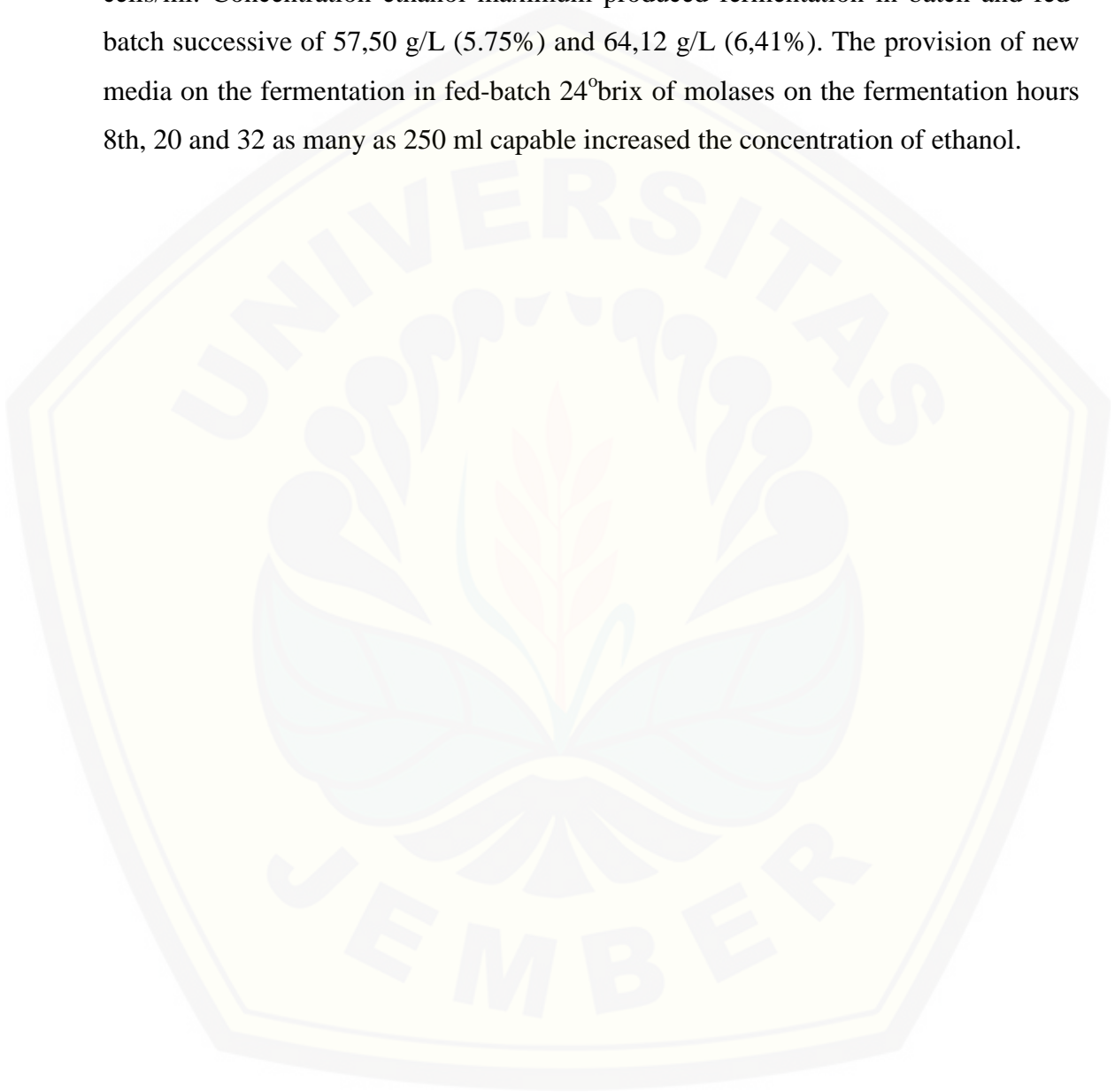
SUMMARY

Bioethanol Production Use Commercial Yeast New Aule Instant Dry Yeast from Sugarcane Molasses by Fed-Batch; Fifi Dewi Kadita; 111710101061; 2016; 71 pages; Agricultural Product of Technology Department, Faculty of Agricultural Technology, University of Jember.

Bioethanol production using *Saccharomyces cerevisiae* on molasses media have been done in many researches, but optimal results are not obtained yet. Optimization in bioethanol production can be done through the fermentation system. The purpose of this research is to determine the effect of the utilization fed-batch system compared with batch system to bioethanol production using *Saccharomyces cerevisiae* commercial yeast *New Aule Instant Dry Yeast* on molasses media against ethanol productivity.

The fermentation is conducted in batch for 20 hours and fed-batch for 48 hours with observation of fermentation media every 4 hours. The data was analyzed by basic statistics such as mean and standard deviation. The results showed that both of the fermentation system differences in activity of yeast population growth, reducing sugar consumption, and bioethanol production during fermentation. Generally, it can be seen that there is an inversely proportional relationship between yeast population growth, reducing sugar consumption, and ethanol concentration. The increasing in number of yeast population growth and ethanol concentration will be followed with the decreasing of reducing sugars concentration. This is happened because the availability of sugar in the substrate is used by yeast to grow and multiply and also to convert sugars to ethanol. The consumption of sugar during fermentation resulting in a decline in sugar reduction and an increase in the concentration ethanol. Therefore, on the fed-batch fermentation was added of new media to increased sugar declining.

Based on the research concluded that a population of yeast maximum on the fermentation fed-batch higher than batch successive 9,56 log cells/ml and 9.50 log cells/ml. Concentration ethanol maximum produced fermentation in batch and fed-batch successive of 57,50 g/L (5.75%) and 64,12 g/L (6,41%). The provision of new media on the fermentation in fed-batch 24°brix of molases on the fermentation hours 8th, 20 and 32 as many as 250 ml capable increased the concentration of ethanol.



PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Produksi Bioetanol Menggunakan Ragi Komersial New Aule Instant Dry Yeast pada Media Molases secara Fed-Batch”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan Strata Satu (S1) pada Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Yuli Witono, S.TP., MP., selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember;
2. Ir. Giyanto, M.Sc., selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember sekaligus Dosen Pembimbing Akademik;
3. Dr. Ir. Jayus, selaku Dosen Pembimbing Utama dan pemilik proyek penelitian, yang telah memberikan bimbingan serta arahan selama penulisan skripsi;
4. Dr. Nurhayati, S.TP., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu dan pikiran guna memberikan bimbingan dan pengarahan demi kemajuan penyelesaian penelitian dan penulisan skripsi;
5. Dr. Sumallika Morakul, Ph.d., selaku dosen pembimbing selama pelaksanaan penelitian di *Fermentation Technology Reseach Center (FTRC) Department of Biotechnology Faculty of Agro-Industry Kasetsart University, Thailand* yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk dapat melaksanakan penelitian serta atas segala bantuan dan pengarahan selama penelitian;
6. Ir. Mukhammad Fauzi, M.Si. dan Dr. Ir. Sony Suwasono, M.App.Sc., selaku tim penguji, atas saran dan evaluasi demi perbaikan penulisan skripsi;

7. Seluruh karyawan dan teknisi Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan Hasil Pertanian, Laboratorium Kimia dan Biokimia Hasil Pertanian, dan Laboratorium Analisa Terpadu Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember;
8. Ibunda dan Ayahanda, serta seluruh keluarga besar yang telah memberikan doa dan dorongan demi terselesaikannya skripsi ini;
9. Sahabatku tercinta SAC (*Samad Community*): Fika, Rika, Alfiyah, Diah, Dian, Siska, Silvi, Irma, Aisyah dan Sayi yang telah memberi arti perjalanan kuliahku;
10. Keluarga besar HMI (Himpunan Mahasiswa Islam) Cabang Jember yang telah menjadi keluarga keduaku khususnya Komisariat Teknologi Pertanian, *I always love you all and thanks a lot for everything*;
11. Saudari-saudariku KOHATI (Korp HMI-Wati): Mbak Elok, Nanik dan Selvi yang selalu memberi semangat;
12. Teman seperjuangan selama *student exchange* di Negeri Gajah Putih Bangkok Thailand: Rika Damayanti dan Nur Aisyah yang telah memberikan semangat dan pengalaman riset yang tidak terlupakan; *oneday let's go International again*.
13. Teman-teman Jurusan Teknologi Hasil Pertanian angkatan 2011 yang telah memberikan dukungan, semangat, serta doa dan persahabatan;
14. Semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini baik secara langsung maupun tidak langsung.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 26 Juni 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
SUMMARY	x
PRAKATA	xii
DAFTAR ISI	xiv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Mekanisme Fermentasi Bioetanol dan Faktor yang Mempengaruhinya	5
2.2 Strain <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	8
2.3 Fermentasi <i>Fed-Batch</i>	9
BAB 3. METODE PENELITIAN	11
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	11
3.2 Bahan dan Alat Penelitian	11

3.3 Metode Penelitian	12
3.3.1 Rancangan Percobaan	12
3.3.2 Pelaksanaan Penelitian	12
3.4 Parameter Pengamatan	16
3.5 Prosedur Analisis	16
3.5.1 Populasi Mikroba	16
3.5.2 Kadar Total Gula	17
3.5.3 Kadar Gula Reduksi	19
3.5.4 Kadar etanol	20
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	23
4.1 Profil Fermentasi Bioetanol secara <i>Batch</i> dan <i>Fed-Batch</i>	23
4.2 Kinetika Fermentasi Bioetanol secara <i>Batch</i> dan <i>Fed-Batch</i>	28
4.2.1 Laju Konsumsi Gula Total	28
4.2.2 <i>Growth Rate</i>	30
4.2.3 <i>Growth Yield</i>	31
4.2.4 Jumlah Etanol dan Produktivitas Etanol	32
4.2.5 Efisiensi Fermentasi	34
BAB 5. PENUTUP	36
5.1 Kesimpulan	36
5.2 Saran	36
DAFTAR PUSTAKA	37
LAMPIRAN DATA	42

DAFTAR TABEL

	Halaman
3.1 Seri konsentrasi pengambilan larutan standart glukosa untuk total gula dan nilai pengukuran absorbansi.....	18
3.2 Seri konsentrasi pengambilan larutan standart glukosa untuk gula reduksi dan nilai pengukuran absorbansi	19
3.2 Seri konsentrasi pengambilan larutan standart etanol dan nilai pengukuran absorbansi	22
4.1 Laju konsumsi gula total selama fermentasi secara <i>batch</i> dan <i>fed-batch</i> pada media molases	29
4.2 <i>Growth rate</i> selama fermentasi secara <i>batch</i> dan <i>fed-batch</i> pada media molases	31
4.3 <i>Growth yield</i> selama fermentasi secara <i>batch</i> dan <i>fed-batch</i> pada media molases	32
4.4 Jumlah etanol dan produktivitas etanol selama fermentasi secara <i>batch</i> dan <i>fed-batch</i> pada media molases	33
4.5 Efisiensi fermentasi selama fermentasi secara <i>batch</i> dan <i>fed-batch</i> pada media molases.....	35

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
3.1 Rancangan percobaan produksi bioetanol	12
3.2 Diagram alir persiapan media fermentasi	14
3.3 Diagram alir pembuatan starter.....	15
3.4 Diagram alir produksi bioetanol	16
3.5 Kurva standar total gula	18
3.6 Kurva standar gula reduksi	20
3.7 Kurva standar etanol	22
3.8 Prosedur penggunaan cawan conway dalam analisa jumlah etanol	23
4.1 Hubungan peningkatan jumlah populasi (log sel/ml) dan konsentrasi etanol (g/L) dengan penurunan kadar total gula (g/L) dan °brix selama fermentasi secara <i>batch</i> pada media molases.....	25
4.2 Hubungan peningkatan jumlah populasi (log sel/ml) dan konsentrasi etanol (g/L) dengan penurunan kadar total gula (g/L) dan °brix selama fermentasi secara <i>fed-batch</i> pada media molases	26

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Fermentasi secara <i>Batch</i>	42
A.1 Data pengukuran kadar brix	42
A.2 Data populasi pertumbuhan yeast.....	42
A.3 Data kadar total gula.....	43
A.4 Data kadar gula reduksi	44
A.5 Data kadar etanol dan produktivitas etanol	46
A.6 Data perhitungan <i>growth rate</i>	49
A.7 Data laju konsumsi total gula	49
A.8 Data perhitungan <i>growth yield</i>	50
A.9 Data perhitungan <i>yield etanol</i> dan efisiensi fermentasi.....	51
B. Fermentasi secara <i>Fed-Batch</i>	52
A.1 Data pengukuran kadar brix	52
A.2 Data populasi pertumbuhan yeast.....	53
A.3 Data kadar total gula.....	54
A.4 Data kadar gula reduksi	55
A.5 Data kadar etanol dan produktivitas etanol	56
A.6 Data perhitungan <i>growth rate</i>	57
A.7 Data laju konsumsi total gula	58
A.8 Data perhitungan <i>growth yield</i>	59
A.9 Data perhitungan <i>yield etanol</i> dan efisiensi fermentasi.....	60
C. Dokumentasi Penelitian	61

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kebutuhan energi terutama bahan bakar minyak (BBM) di Indonesia cukup tinggi. Sebagian besar sektor dan kegiatan di Indonesia mengandalkan BBM sebagai sumber energi dalam beraktivitas. Berdasarkan data Ditjen Migas Tahun 2011 konsumsi BBM dalam negeri pada tahun 2011 mencapai 394.052 ribu barel, sedangkan produksi BBM nasional hanya sebesar 238.957 ribu barel. Sehingga hanya sekitar 60% kebutuhan BBM nasional yang dapat dipenuhi dengan produksi nasional, sedangkan sekitar 40% dipenuhi dengan impor. Bahan bakar tersebut umumnya berasal dari bahan bakar fosil yang kita ketahui bahwa bahan bakar fosil merupakan bahan bakar yang tidak terbarukan dan sumber dayanya terbatas. Berdasarkan data dari *International Annual Energy Outlook* (2013), disebutkan bahwa total konsumsi energi dunia tahun 2005-2014 meningkat dari 995,1 juta barel per hari menjadi 1.186,2 juta barel per hari. Konsumsi bahan bakar fosil pada tahun 2011 mencampai hampir 82% dari total konsumsi energi dunia yang merupakan kebutuhan energi primer dunia yang sudah berlangsung selama 25 tahun dan diperkirakan masih akan tetap dominan hingga tahun 2035 (*World Data Bank* dan Dewan Energi Nasional, 2014). Hal ini pun sebanding dengan yang terjadi di Indonesia, pada tahun 2013 tercatat kebutuhan bahan bakar fosil berupa bahan bakar minyak (BBM) di Indonesia sebesar 77,72 juta kilo liter, namun hanya sekitar setengah saja yang dapat terpenuhi, sehingga kekurangan harus dipenuhi dengan melakukan impor sebanyak 31,68 juta kilo liter (Nurrohim, 2014).

Salah satu upaya untuk mengatasi masalah kekurangan BBM yaitu mencari energi alternatif. Hal tersebut juga disebutkan dalam Peraturan Presiden Nomor 5 Tahun 2006 tentang Kebijakan Energi Nasional untuk mengembangkan sumber energi alternatif sebagai pengganti Bahan Bakar Minyak. Salah satu sumber energi alternatif yang dapat digunakan adalah bioetanol. Bioetanol merupakan etanol yang dihasilkan

dari proses fermentasi biomassa dengan bantuan mikroorganisme (Firdausi et al., 2013). Bioetanol (C_2H_5OH) adalah bahan bakar nabati (BBN) yang dihasilkan dari fermentasi biomassa dengan bantuan mikroorganisme (Prihandana et al., 2008). Bioetanol memiliki beberapa keunggulan diantaranya ketersediaannya dapat diperbaharui dan ramah lingkungan karena memiliki bilangan oktan lebih tinggi, sehingga terbakar lebih sempurna dan dapat mengurangi emisi karbon monoksida serta gas-gas lainnya yang menyebabkan polusi (Prihandana et al., 2008).

Mikroorganisme sangat penting dalam proses produksi bioetanol karena akan merubah gula menjadi etanol. Beberapa mikroorganisme yang digunakan dalam produksi bioetanol antara lain *Saccharomyces cerevisiae*, *Zymomonas mobilis*, *Escherichia coli*, *Candida utilis*, *Kluyveromyces fragilis* dan lain-lain. Jenis mikroorganisme yang umum digunakan dalam produksi bioetanol adalah khamir *Saccharomyces cerevisiae*. Menurut Lin dan Tanaka (2005), *Saccharomyces cerevisiae* mampu mengkonversi media yang memiliki kandungan gula sederhana dan disakarida dengan baik, sehingga mampu menghasilkan jumlah etanol 12-18% v/v pada media fermentasi molases. Selain itu, *Saccharomyces cerevisiae* memiliki waktu germinasi singkat sehingga dapat meningkatkan efektifitas fermentasi.

Salah satu bahan yang dapat digunakan sebagai media dalam produksi bioetanol adalah tetes tebu (molases). Molases merupakan salah satu media fermentasi yang banyak digunakan dalam produksi bioetanol, karena memiliki kandungan gula yang cukup tinggi yaitu sukrosa (32%), fruktosa (16%), dan glukosa (14%). Selain itu molases merupakan limbah industri gula yang memiliki harga murah dan dapat langsung dikonversi menjadi etanol dengan sedikit *pretreatment* dibandingkan dengan bahan-bahan lain (Hidayat et al., 2006). Ketersediaan molasses sebagai bahan baku bioetanol di Indonesia cukup melimpah. Setiap ton tebu diperkirakan dapat menghasilkan 2,7% molases (El-gendy et al., 2013; Mukhtar et al., 2010). Berdasarkan keunggulan tersebut, pemanfaatan molases sebagai media fermentasi bioetanol diharapkan dapat meningkatkan efektivitas dan efisiensi produksi bioetanol.

Aktivitas *S.cerevisiae* dalam menghasilkan etanol akan berbeda apabila kondisi selama fermentasi berbeda. Upaya optimasi kondisi fermentasi diantaranya adalah penggunaan sistem *fed-batch* pada produksi bioetanol. Sistem *fed-batch* mampu meningkatkan produksi bioetanol. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan Caylak dan Vardar (1998), penelitian tersebut membandingkan produksi etanol dengan berbagai proses fermentasi yaitu, *batch*, kontinyu, *fed-batch*, dan semi-kontinyu menggunakan glukosa sebagai substrat dengan konsentrasi substrat 220 g/L dan bakteri *Saccharomyces cerevisiae* baik yang *freecells* maupun immobilisasi sel. Dari penelitian yang dilakukan nilai konsentrasi etanol dan *yield* etanol tertinggi yaitu dengan menggunakan proses *fed-batch* masing-masing sebesar 267,76 g/L dan 49,07%. Sedangkan proses *batch* konsentrasi etanol yang dihasilkan 96,71 g/L dengan *yield* 43,96%. Berdasarkan hal tersebut, produksi bioetanol secara *fed-batch* menggunakan *Saccaromyces cerevisiae* ragi komersial merk *New Aule Instan Dry Yeast* pada media molases perlu diteliti sebagai upaya optimasi produksi, sehingga diperoleh produktivitas bioetanol optimal selama fermentasi.

1.2 Rumusan Masalah

Produksi bioetanol menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* pada media molases selama ini masih belum optimal, etanol yang dihasilkan hanya sekitar 10-16% v/v (Bailey, 1986). Oleh karena itu perlu dilakukan beberapa upaya untuk meningkatkan produktivitas etanol. Salah satu upaya peningkatan produktivitas etanol yaitu dengan sistem fermentasi secara *fed-batch*. Pemilihan sistem *fed-batch* didasari oleh beberapa penelitian yang menunjukkan peningkatan produktivitas etanol dibandingkan dengan sistem *batch* maupun kontinyu. Maka dari itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai penggunaan sistem *fed-batch* pada produksi bioetanol oleh *Saccaromyces cerevisiae* ragi komersial merk *New Aule Instan Dry Yeast* pada media molases guna optimasi produktivitas bioetanol.

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah

1. Mengetahui pengaruh penggunaan sistem *fed-batch* dibandingkan dengan sistem *batch* pada produksi bioetanol oleh *Saccaromyces cerevisiae* ragi komersial merk *New Aule Instan Dry Yeast* pada media molases terhadap produktivitas etanol yang dihasilkan.
2. Mengetahui pengaruh pemberian media media baru berupa molases 24^obrix pada fermentasi *fed-batch* jam ke-8, 20 dan 32 terhadap produksi bioetanol.

1.4 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Meningkatkan produksi bioetanol sebagai salah satu sumber energi alternatif.
2. Memberikan alternatif teknik optimasi proses produksi bioetanol.
3. Meningkatkan nilai tambah molases sebagai residu dari proses pengolahan gula tebu.

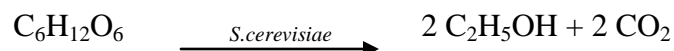
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Mekanisme Fermentasi Bioetanol dan Faktor-faktor yang Mempengaruhinya

Fermentasi merupakan suatu proses produksi energi yang dilakukan sel dalam keadaan tanpa oksigen (anaerob). Dalam arti luas, fermentasi adalah proses pemecahan gula-gula sederhana (glukosa atau fruktosa) menjadi etanol dan CO dengan melibatkan enzim yang dihasilkan oleh ragi. Contoh aplikasi dari fermentasi yaitu proses pengasaman susu, dekomposisi pati dan gula menjadi alkohol dan karbondioksida, serta oksidasi senyawa nitrogen organik (Hidayat, 2006). Ragi (fermipan) dikenal sebagai bahan yang umum digunakan dalam fermentasi untuk menghasilkan etanol dalam bir, anggur dan minuman beralkohol lainnya. Gula adalah bahan yang umum digunakan dalam fermentasi. Beberapa contoh hasil fermentasi adalah etanol, asam laktat, dan hidrogen.

Etanol atau etil alkohol (C₂H₅OH) sering juga dikenal sebagai “*Grain Alcohol*” merupakan alkohol yang sering digunakan dalam kehidupan sehari-hari. Etanol berupa cairan yang tidak berwarna dan berasa tetapi memiliki aroma yang khas. Menurut Jodoamidjojo *et al.*, (1992) berat jenis etanol yaitu 0,7397 pada suhu 15°C sedangkan titik didih etanol adalah 78,31°C pada tekanan 76 mmHg, etanol larut dalam air dan eter serta memiliki panas pembakaran 328 kkal. Etanol dapat dibuat melalui proses fermentasi diikuti kemudian dengan proses destilasi sehingga serat dan gumpalan gula dari bahan dasar (molases) ataupun pengotor lainnya terpisah dari etanol.

Reaksi yang terjadi selama proses fermentasi etanol tergantung pada jenis gula yang digunakan. Glukosa (C₆H₁₂O₆) merupakan jenis gula yang paling sederhana, dimana setelah melalui proses fermentasi akan menghasilkan etanol (2C₂H₅OH). Pada reaksi tersebut satu molekul glukosa akan membentuk dua molekul etanol dan dua molekul CO₂. Reaksi fermentasi etanol yaitu :



Beberapa faktor harus diperhatikan selama fermentasi bioetanol karena dapat mempengaruhi efektifitas dan efisiensi dari produksi bioetanol. Beberapa faktor tersebut adalah temperatur, pH, konsentrasi media, konsentrasi inokulum, nutrisi, ketersediaan oksigen, lama fermentasi serta kondisi lain, seperti pemberian agitasi dan aerasi. Temperatur yang cocok dalam fermentasi merupakan kondisi yang baik untuk pertumbuhan khamir dalam menghasilkan etanol. Secara umum, fermentasi etanol dilakukan pada kisaran temperatur 30-35°C, dimana etanol yang dihasilkan akan memiliki konsentrasi tertinggi (Fauzi, 2009). Produksi bioetanol menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* membutuhkan temperatur optimum pada suhu 32°C±2 karena pada temperatur yang lebih tinggi, efisiensi dari proses produksi alkohol dapat menurun (Mukhtar, 2010).

Derajat keasaman (pH) merupakan faktor penting yang dapat mempengaruhi pertumbuhan sel mikroba dan produksi etanol. Adapun pH awal pada saat fermentasi diatur antara pH 4,0-4,5. Penggunaan pH di bawah 3 dan di atas 5 akan mengakibatkan pada menurunnya aktivitas fermentasi dan yield etanol. Pengaturan dan pengontrolan pH selama fermentasi ini juga bertujuan untuk mengurangi kemungkinan terjadinya kontaminasi selama fermentasi berlangsung (Smith, 2007).

Konsentrasi substrat, dalam hal ini yaitu kandungan gula pada media fermentasi berperan sebagai sumber nutrisi bagi khamir. Pada umumnya, industri menggunakan konsentrasi substrat antara 12-20% dengan beberapa alasan, yaitu mengurangi kebutuhan air, menghambat kontaminasi dari mikroorganisme yang rentan terhadap tekanan osmotik tinggi, dan mengurangi biaya destilasi (Satyanarayana *et al.*, 2012). Qureshi *et. al* (2014) menyatakan bahwa dengan menggunakan konsentrasi yang lebih tinggi akan mengakibatkan plasmolisis dari sel khamir. Pada konsentrasi lebih dari 500 g/L akan menciptakan kondisi toksik bagi pertumbuhan mikroba, sedangkan dengan konsentrasi yang rendah (kurang dari 3 g/L) akan berpengaruh pada menurunnya produktivitas etanol akibat dari keterbatasan sumber nutrisi.

Konsentrasi inokulum yang digunakan dalam fermentasi dapat mempengaruhi produktivitas produk akhir. Penggunaan konsentrasi inokulum yang tinggi akan

meningkatkan produktivitas etanol dan mempersingkat waktu fermentasi, namun dapat mengakibatkan stres pada sel khamir karena adanya persaingan konsumsi substrat (Liu, 2011). Semakin tinggi penambahan konsentrasi inokulum belum tentu akan menghasilkan kadar alkohol yang tinggi. Adapun konsentrasi inokulum yang digunakan umumnya berkisar antara 3-10% dari volume media fermentasi (Satyanarayana *et al.*, 2012).

Mikroba memerlukan asupan nutrisi selama fermentasi, adapun nutrisi yang dibutuhkan terbagi atas nutrisi makro dan mikro. Menurut Bisson (2001), nutrisi makro berperan sebagai suplai dalam pembentukan sel-sel khamir selama pertumbuhan, penyediaan energi utama selama fermentasi, serta menjaga kestabilan sel khamir pada saat fase stasioner. Sedangkan nutrisi mikro dibutuhkan karena berperan sebagai katalis pada reaksi biokimia selama fermentasi. Nutrisi makro yang dibutuhkan terdiri atas unsur C, N, P, dan K. Unsur C (karbon) dapat diperoleh dari substrat yang mengandung gula, seperti sukrosa dan glukosa karena akan digunakan sebagai substrat yang akan dikonversi menjadi etanol oleh khamir. Sedangkan unsur N (nitrogen) dapat diperoleh melalui penambahan urea, dan unsur P (phospor) dan K (kalium) dapat diperoleh melalui penambahan pupuk NPK. Nutrisi mikro meliputi vitamin (tiamin, riboflavin, dan biotin) dan mineral (Mg, Ca, Mn, Zn, Fe, dan Cu).

Lama waktu yang dibutuhkan dalam fermentasi bioetanol sangatlah bervariasi karena bergantung pada jenis substrat, yeast, dan kondisi fermentasi yang digunakan. Namun, beberapa penelitian menunjukkan bahwa lama waktu fermentasi bioetanol yang optimum adalah sekitar 48-72 jam (Dake *et al.*, (2010); Rubio-Arroyo *et al.*, (2011); Sadik dan Halema (2014). Menurut Satyanarayana *et al.*, (2012), pada saat sel khamir mulai memasuki fase eksponensial, maka akan dihasilkan etanol sebagai metabolit primer. Tahap selanjutnya, yaitu sel khamir mulai memasuki fase stasioner dan kematian, sehingga alkohol yang dihasilkan menurun. Selain itu, semakin lama fermentasi maka dapat terjadi kemungkinan etanol yang dihasilkan dikonsumsi oleh sel khamir untuk memproduksi asam-asam organik, seperti asam laktat.

Alkohol yang dihasilkan dari proses fermentasi masih mengandung zat-zat lain yang tidak diperlukan seperti gas CO₂ yang perlu dibersihkan untuk meningkatkan kualitas alkohol tersebut. Gas CO₂ pada hasil fermentasi dapat mencapai 35% volume, sehingga adanya proses pembersihan sangat diperlukan untuk memperoleh etanol dengan kualitas baik. Proses pembersihan (washing) CO₂ dilakukan dengan menyaring etanol yang terikat oleh CO₂ sehingga dihasilkan etanol yang bersih dari gas CO₂. Selain itu untuk memperoleh etanol yang berkadar 95% diperlukan juga proses lainnya yaitu distilasi. Kadar etanol dalam % volume merupakan volume larutan etanol pada temperatur tertentu (pengukuran). Berdasarkan Balai Kajian Standar (BKS) alkohol spiritus, standar temperatur pengukuran yaitu 27,5°C dengan kadar alkohol 95,5% dan pada temperatur 15°C kadar alkoholnya mencapai 96,2% (Wasito, 2005).

2.2 Strain *Saccharomyces cerevisiae*

Pada umumnya produksi alkohol dilakukan menggunakan starter berupa ragi yang merupakan awetan dari khamir *Saccharomyces cerevisiae* berbentuk padat dan kering. *S. cerevisiae* merupakan mikroorganisme anerob fakultatif yaitu mikroorganisme yang pada keadaan cukup oksigen melakukan respirasi biasa. Akan tetapi, jika dalam keadaan lingkungan kurang oksigen mikroorganisme akan melakukan fermentasi karbohidrat menjadi etanol dan CO₂ (Savitri, 2010). *S. cerevisiae* merupakan organisme uniseluler yang bersifat mikroskopis dan disebut juga sebagai jasad sakarolitik karena menggunakan gula sebagai sumber karbon untuk metabolismenya. Jenis gula yang dapat digunakan oleh *S. cerevisiae* diantaranya yaitu sukrosa, glukosa, fruktosa, galaktosa, mannose, matose dan maltotirosa.

S. cerevisiae memiliki kelebihan dalam menghasilkan alkohol dengan jumlah yang cukup tinggi serta memiliki ketahanan hidup yang cukup tinggi untuk produksi skala industri (Jeffries et al., 2000). Selain itu *S. cerevisiae* juga tahan terhadap kadar gula yang tinggi serta masih tetap aktif melakukan fermentasi pada suhu 4°C

(Siregar, 1992). Strain *S. cerevisiae* bisa diperoleh dalam bentuk kultur murni maupun dalam bentuk ragi, seperti *Baker's yeast* untuk pembuatan roti. Dalam produksi alkohol pemilihan strain *S. cerevisiae* sangat berpengaruh karena pada strain *S. cerevisiae* yang berbeda memiliki sifat dan karakteristik yang berbeda. Strain yang digunakan dalam produksi alkohol harus memiliki kemampuan untuk menghasilkan etanol yang tinggi (Hahn et al., 2001).

Sebagian khamir termasuk *S. cerevisiae* umumnya dapat tumbuh optimal pada suhu sekitar 25°- 46°C dengan kisaran pH 2,5-5,5 dan memproduksi alkohol pada kondisi anaerob (Desroiser, 1988). Dalam kondisi anaerob *S. cerevisiae* akan mengoksidasi asam piruvat menjadi etanol dan CO₂. Beberapa strain *S. cerevisiae* telah diuji kapasitas dalam memproduksi etanol pada beberapa jenis media yaitu Strain *S. cerevisiae* NCYC 431, *S. cerevisiae* NCYC 975 dan *S. diastaticus* NCYC 994 dalam media molases gula beet dan jus beet. Strain *S. cerevisiae* NCYC 975 lebih unggul karena memiliki toleransi terhadap konsentrasi gula yang cukup tinggi yaitu 20,8%, namun strain ini dalam waktu fermentasi 28 jam hanya mampu memproduksi etanol sebesar 10%. Kondisi optimum untuk fermentasi etanol yaitu pH 4,5 dan laju aliran udara 0,125 L/L media per menit (Zayet dan Foley, 1987). Strain *S. cerevisiae* yang juga dapat digunakan dalam proses fermentasi etanol yaitu *S. cerevisiae* strain Zymaflore VL1 dan strain Uvaferm CM yang menghasilkan etanol dengan kadar sekitar 10% (Sener et al., 2007). Hal tersebut menunjukkan bahwa kultur murni single strain tidak selalu lebih baik dari ragi yang beredar di pasaran seperti ragi roti atau ragi tape.

2.3 Fermentasi *Fed-batch*

Menurut Rachman (1989) sistem *fed-batch* adalah suatu sistem yang menambahkan media baru secara teratur pada kultur tertutup, tanpa mengeluarkan cairan kultur yang ada di dalam fermentor sehingga volume kultur makin lamamakin bertambah. Keuntungan sistem *fed-batch* ini yaitu konsentrasi sisa media terbatas dan dapat dipertahankan pada tingkat yang sangat rendah sehingga dapat mencegah

fenomena represi katabolit atau inhibisi media. Stanbury dan Whitaker (1984) juga menyebutkan istilah kultur *fed-batch* untuk menggambarkan kultur *batch* yang pemasokan medianya dilakukan secara kontinyu atau bertahap tanpa pengeluaran cairan kultur. Volume kultur bertambah sesuai dengan perubahan waktu. Proses ini juga dapat menghindarkan efek toksik dari komponen media. Proses *fed-batch* telah diterapkan secara luas dalam berbagai industri fermentasi dan relatif lebih mudah digunakan untuk perbaikan proses *batch* dibandingkan dengan proses kontinyu. Apabila pada fermentasi kontinyu dihasilkan keluaran secara terus-menerus maka pada *fed-batch* diperoleh keluaran tunggal pada akhir inkubasi sehingga dapat ditangani dengan cara yang sama seperti pada proses *batch* (Sinclair dan Kristiansen, 1987).

Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa fermentasi secara *fed-batch* dapat menghasilkan etanol dengan jumlah yang lebih tinggi dibandingkan secara *batch*. Pada penelitian yang dilakukan Kuhad, dkk, 2010 tentang evaluasi fermentasi etanol secara *fed-batch* dan *batch* menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* menghasilkan etanol masing-masing yaitu 14.77 g/L dan 5.64 g/L. Penelitian lain oleh Cheng (2009) menunjukkan bahwa fermentasi secara *fed-batch* dengan konsentrasi gula yang ditambahkan setiap jam yaitu 2 g/L mampu menghasilkan yield etanol sebesar 2.47 g/g sedangkan fermentasi secara *batch* hanya menghasilkan yield etanol sebesar 0.81 g/g. Penelitian yang dilakukan Supatmawati (2010) juga menunjukkan fermentasi secara *fed-batch* mampu meningkatkan jumlah etanol yang diproduksi. Peneliti mendapatkan hasil tertinggi dari etanol yang diproduksi secara *fed-batch* dan *batch* menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoides* pada media berupa hidrolisat pati sagu (*Metroxylon* sp.) secara berurutan yaitu $12.05 \pm 0.00\%$ b/v dan $10.77 \pm 1.60\%$ b/v.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Pusat Penelitian Teknologi Fermentasi Departemen Bioteknologi Fakultas Agro-Industri Universitas Kasetsart Thailand. Pada laboratorium tersebut dilakukan penelitian produksi bioetanol secara *batch*. Selain itu penelitian juga dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan Hasil Pertanian, Laboratorium Kimia dan Biokimia Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian. Bagian penelitian yang dilakukan di laboratorium tersebut yakni penelitian utama produksi bioetanol secara *fed-batch* dan analisa sesuai parameter penelitian.. Waktu penelitian ini dimulai pada bulan Agustus 2015 hingga Mei 2016.

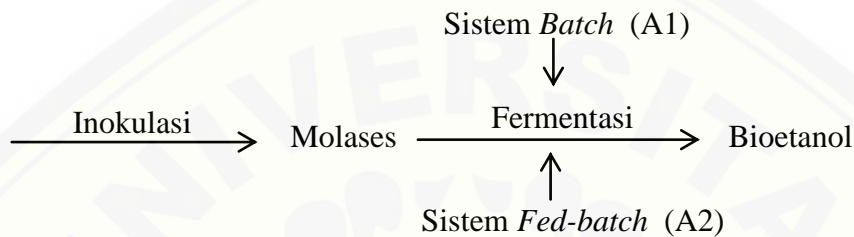
3.2 Bahan dan Alat Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan meliputi bahan baku, bahan kimia dan kultur mikroorganisme. Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini berupa limbah molases dari PG. Djatiroto. Bahan kimia berupa Diammonium fosfat $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, H_2SO_4 98%, fenol ($\text{C}_6\text{H}_6\text{O}$) 5%, *reagen dinitrosalisilic acid* DNS, NaOH (PA), Sodium potassium tartrat/*Rochelle salt* ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6$), Sodium dikromat, etanol absolut ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) dan glukosa absolut. Kultur mikroorganisme yang digunakan yaitu jenis ragi roti instan yaitu *merk New Aule Instant Dry Yeast* dari Xinjiang Shengli Biotechnology Co., Ltd. Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu fermentor *applicon dependable instrument* kapasitas 2 L (*marine impeller 3 blades*), *Laminar Air Flow* (LAF) CRUMAIR, spektrofotometer Genesys 10 UV, autoklaf Sturdy SA-300VL, inkubator Haraeus Instrument, *hand refractometer* ATAGO, mikroskop, hand pH meter, *haemacytometer* dan alat gelas.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Rancangan Percobaan

Penelitian dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor yaitu jenis sistem fermentasi yang digunakan yang dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Rancangan percobaan produksi bioetanol

Keterangan:

Faktor A: Jenis sistem fermentasi

A1: fermentasi secara *batch* A2: fermentasi secara *fed-batch*

Masing-masing perlakuan dilakukan pengulangan produksi sebanyak dua kali dan pengulangan analisis sebanyak tiga kali. Data hasil penelitian diolah dengan statistik sederhana seperti rerata dan standart deviasi. Data yang diperoleh akan disajikan secara deskriptif dalam bentuk grafik.

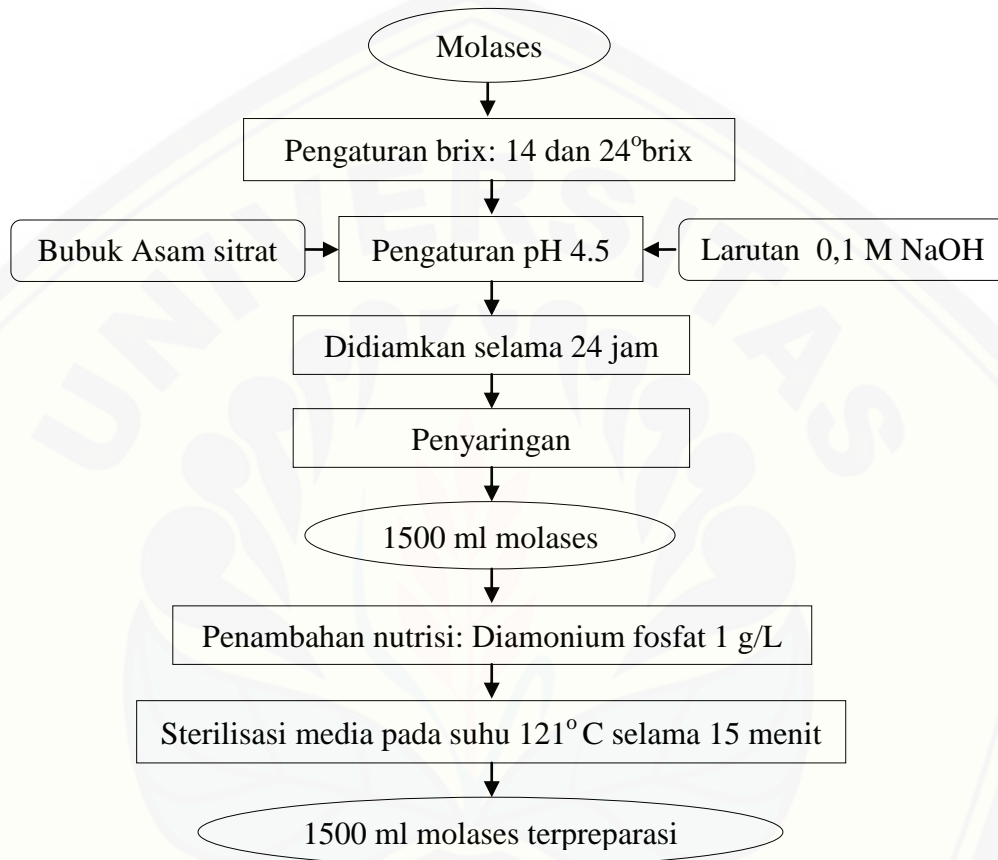
3.3.2 Pelaksanaan Penelitian

Tahap awal dari penelitian ini adalah produksi bioetanol secara *batch* menggunakan ragi komersial pada media molases. Produksi bioetanol pada tahap ini bertujuan untuk mengetahui waktu terjadinya penurunan kadar gula selama fermentasi berlangsung pada media molases guna dijadikan acuan waktu penambahan media pada produksi bioetanol secara *fed-batch*. Tahap selanjutnya yaitu produksi bioetanol secara *fed-batch* dengan penambahan konsentrasi molases sebesar 24^obrix yang ditambahkan pada waktu yang didapatkan dari hasil penelitian tahap awal.

Penelitian ini terdiri dari tiga tahap antara lain:

1. Preparasi media fermentasi

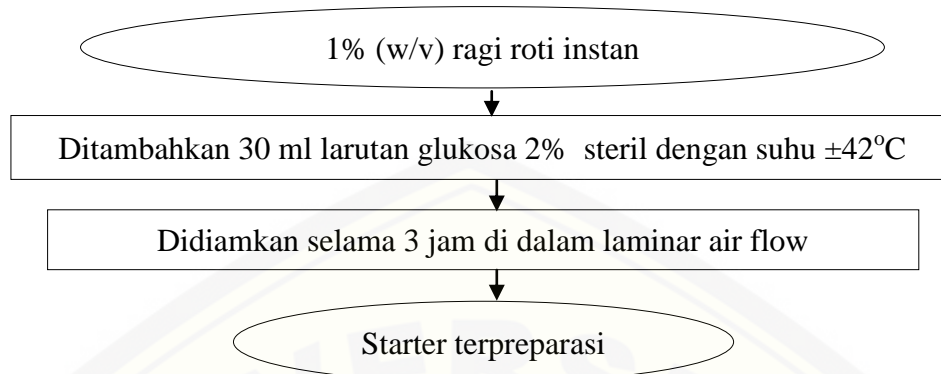
Sampel yang digunakan pada penelitian ini berupa molases yang diperoleh dari limbah pengolahan tebu di PG. Djatiroto. Molases murni dengan kadar brix 80% diencerkan hingga kadar brix 14% untuk fermentasi secara *batch* dengan volume kerja sebanyak 1.5 L molases sedangkan pada fermentasi secara *fed-batch* menggunakan molases dengan kadar brix 14% sebanyak 750 ml molases di awal dan 24% sebanyak 750 ml yang digunakan untuk *feeding* sesuai dengan waktu penambahan yang telah ditetapkan. pH molases diturunkan dari pH awal 5,2 menjadi pH 4,5 menggunakan larutan H_2SO_4 pekat dengan konsentrasi 97%. Molases dipanaskan hingga suhu $90^\circ C$ dan didiamkan selama 24 jam yang bertujuan untuk memisahkan padatan tidak terlarut pada molases. Media molases ditambahkan dengan 1 g/L diamonium fosfat yang berfungsi memperkaya nutrisi media fermentasi. Kemudian molases disterilisasi pada suhu $121^\circ C$ dan tekanan 1,72 atm selama 15 menit menggunakan autoklaf. Diagram alir persiapan media fermentasi dapat dilihat pada Gambar 3.2.



Gambar 3.2 Diagram alir persiapan media fermentasi

2. Preparasi starter

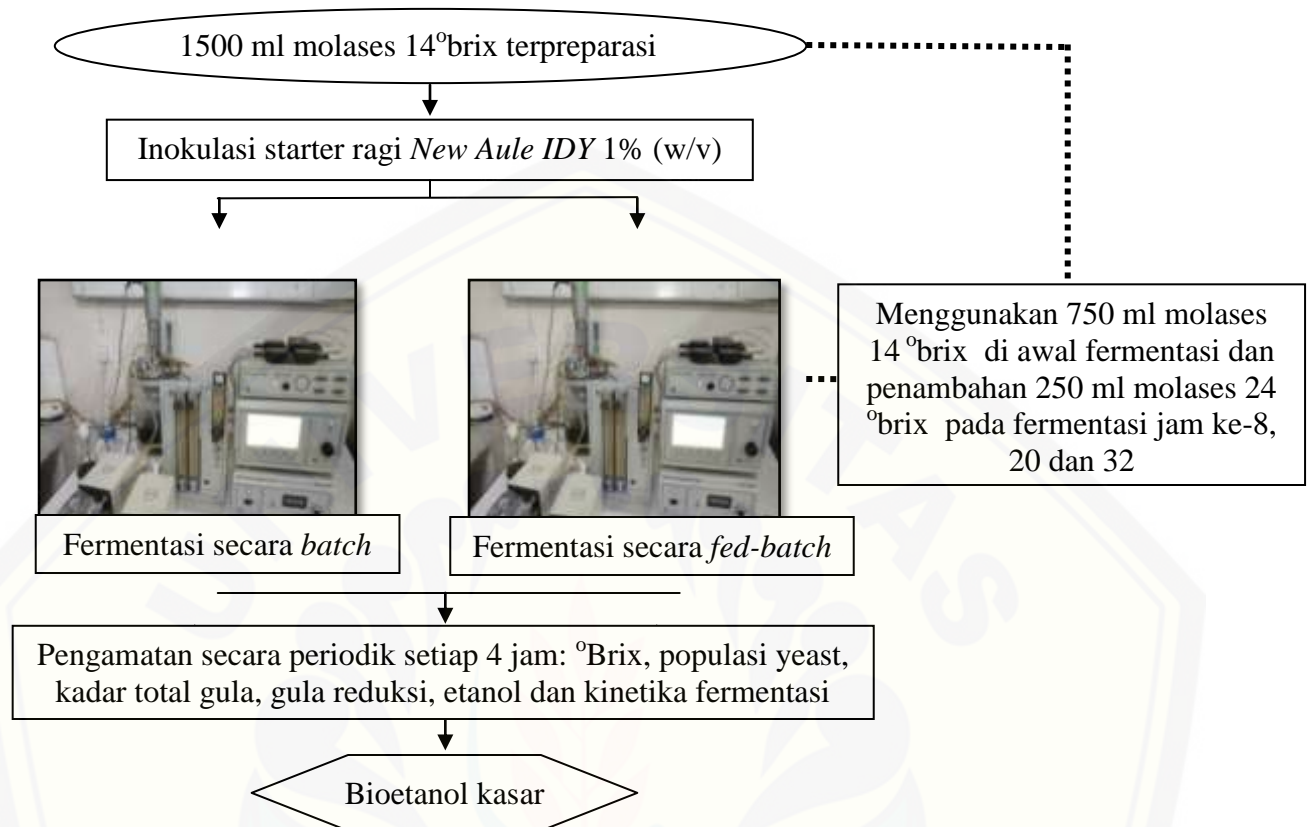
Starter dari ragi roti instan dibuat dengan cara menimbang yeast sebanyak 1% (w/v) dari jumlah media yang digunakan dalam fermentasi, kemudian yeast dicampur dengan 2% larutan glukosa steril pada suhu $\pm 42^{\circ}\text{C}$ dan didiamkan selama 3 jam di dalam *laminar air flow* sebelum digunakan. Diagram alir pembuatan starter dapat dilihat pada Gambar 3.3.



Gambar 3.3 Diagram alir pembuatan starter

3. Fermentasi Bioetanol

Fermentasi bioetanol merupakan penelitian utama yang dilakukan secara *fed-batch*. Media yang digunakan yaitu untuk fermentasi secara *batch* dengan volume kerja sebanyak 1.5 L molases dengan kadar brix 14% sedangkan pada fermentasi secara *fed-batch* menggunakan molases dengan kadar brix 14% sebanyak 750 ml molases di awal dan 24% sebanyak 750 ml yang digunakan untuk *feeding* yang telah dipreparasi dan disterilkan. Kemudian ditambahkan yeast sebanyak 1% (w/v) dari jumlah medium fermentasi yang digunakan pada masing-masing perlakuan. Fermentasi berlangsung selama 20 jam untuk sistem *batch* dan 48 jam untuk *fed-batch* menggunakan fermentor dengan kecepatan agitasi 200 rpm dan aerasi 1 vvm (selama 6 jam di awal fermentasi pada suhu ruang $\pm 30^{\circ}\text{C}$. Selama fermentasi, dilakukan pengamatan secara periodik setiap 4 jam meliputi populasi yeast, brix, kadar total gula, kadar gula reduksi, dan kadar etanol. Diagram alir penelitian utama disajikan pada Gambar 3.4.



Gambar 3.4 Diagram alir produksi bioetanol

3.4 Parameter Pengamatan

Parameter yang diamati dalam penelitian ini meliputi parameter mikrobiologi dan kimia. Parameter mikrobiologi berupa perhitungan populasi mikroba metode *counting chamber* (Lay, 1994). Parameter kimia berupa analisis kadar total gula metode fenol sulfat (Apriyantono *et al.*, 1989), kadar gula reduksi metode *dinitrosalisilic acid* (DNS) (Miller, 1959) dan kadar etanol menggunakan metode *Chamber Conway* (Kartika *et al.*, 1992).

3.5 Prosedur Analisis

3.5.1 Perhitungan Populasi *Yeast* Metode *Counting Chamber* (Lay, 1994)

Medium fermentasi yang akan dianalisa dilakukan pengenceran menggunakan aquades steril. Kemudian dari pengenceran tersebut diambil 0.5 ml. *Haemocytometer* diletakkan di atas meja preparat dan kamar-kamarnya dicari serta diamati di bawah mikroskop dengan menggunakan perbesaran terkecil terlebih dahulu, yaitu 4x10. Jika kamar-kamarnya telah ditemukan *yeast* diamati dengan perbesaran yang lebih besar agar lebih jelas terlihat yaitu 10x10 kemudian 40x10. Jumlah *yeast* yang berada di kotak kecil di dalam kamar kaca dihitung setelah ditambahkan *methylene blue* dengan menggunakan *counter*. Perhitungan dilakukan secara representatif. Setelah dihitung, jumlah *yeast* dicatat dan dihitung kepadatannya.

3.5.2 Penentuan total gula metode fenol sulfat (Apriyantono *et al.*, 1989)

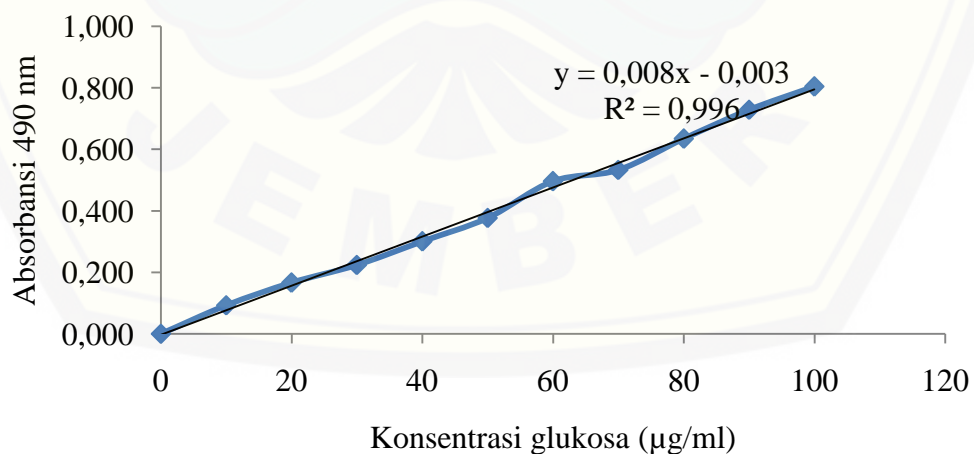
Metode ini dapat digunakan untuk menetapkan total gula semua bahan pangan dengan persiapan sampel terlebih dahulu. Gula sederhana, oligosakarida, polisakarida dan turunannya bereaksi dengan fenol dalam asam sulfat pekat menghasilkan warna orange-kekuningan yang stabil. Kurva standar dibuat dengan menggunakan larutan glukosa standar yang mengandung 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 dan 100 µg/ml glukosa, masing-masing dipipet sebanyak 1 ml lalu dimasukkan ke dalam tabung rekasi. Ditambahkan larutan fenol 5% lalu dikocok. Kemudian ditambahkan secara cepat larutan H₂SO₄ (asam sulfat) pekat dengan cara menuangkan secara tegak lurus ke permukaan larutan. Biarkan selama 10 menit, kocok. Diukur absorbansinya pada 490 nm.

Penetapan sampel dilakukan dengan mengambil sampel yang telah diencerkan sebanyak 1 ml lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan larutan 1 ml fenol 5% lalu di kocok. Kemudian ditambahkan secara cepat larutan 5 ml H₂SO₄ (asam sulfat) pekat dengan cara menuangkan secara tegak lurus ke permukaan larutan dan dibiarkan selama 10 menit, selanjutnya dikocok. Kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 490 nm. Kurva standar diperoleh dengan

memplotkan absorbansi dan konsentrasi glukosa. Seri pengambilan larutan standart glukosa dan nilai pengukuran absorbansi dapat dilihat pada Tabel 3.1 serta kurva standart gula reduksi dapat dilihat pada Gambar 3.5.

Tabel 3.1 Seri konsentrasi pengambilan larutan standart glukosa dan nilai pengukuran absorbansi

Glukosa ($\mu\text{g/ml}$)	H ₂ O (ml)	Volume glukosa standart 0.01% (ml)	Absorbansi
0	1	0	0
10	0.9	0.1	0.093
20	0.8	0.2	0.166
30	0.7	0.3	0.224
40	0.6	0.4	0.301
50	0.5	0.5	0.377
60	0.4	0.6	0.496
70	0.3	0.7	0.533
80	0.2	0.8	0.635
90	0.1	0.9	0.729
100	0	1	0.804



Gambar 3.5 Kurva standart total gula

Jumlah total gula sampel dihitung dari perbandingan persamaan linear yang diperoleh dari kurva standart dengan volume pengambilan sampel 1 ml. Persamaan Linier yang diperoleh adalah $y = 0.008x - 0.003$.

$$\text{Jumlah total gula} = \frac{x}{\text{volume pengambilan}}; \text{dimana } x = \frac{y + 0.003}{0.008}$$

Keterangan : y = Absorbansi sampel; Volume pengambilan sampel = 1 ml

3.5.3 Penentuan Kadar Gula Reduksi Menggunakan Metode dinitrosalisilic acid DNS (Miller, 1959)

a. Pembuatan reagen DNS

Sebanyak 1,76 g NaOH (PA) 2 g DNS dan 60 g K-Na Tartarat ditambahkan 100 ml akuades dan diaduk hingga larut. Setelah itu larutan ditera hingga 200 ml dan disimpan dalam botol coklat.

b. Pembuatan kurva standar

Kurva standar diperoleh dengan cara membuat seri konsentrasi glukosa dari larutan glukosa standar 0,1% dan dimasukkan dalam tabung reaksi. Sebanyak 1 ml DNS ditambahkan ke masing-masing tabung dan dipanaskan dengan penangas 100°C selama 5 menit. Setelah dingin, semua tabung ditambahkan 10 ml akuades dan divorteks hingga homogen. Selanjutnya diukur absorbansi larutan pada panjang gelombang 540 nm. Kurva standar diperoleh dengan memplotkan absorbansi dan konsentrasi glukosa.

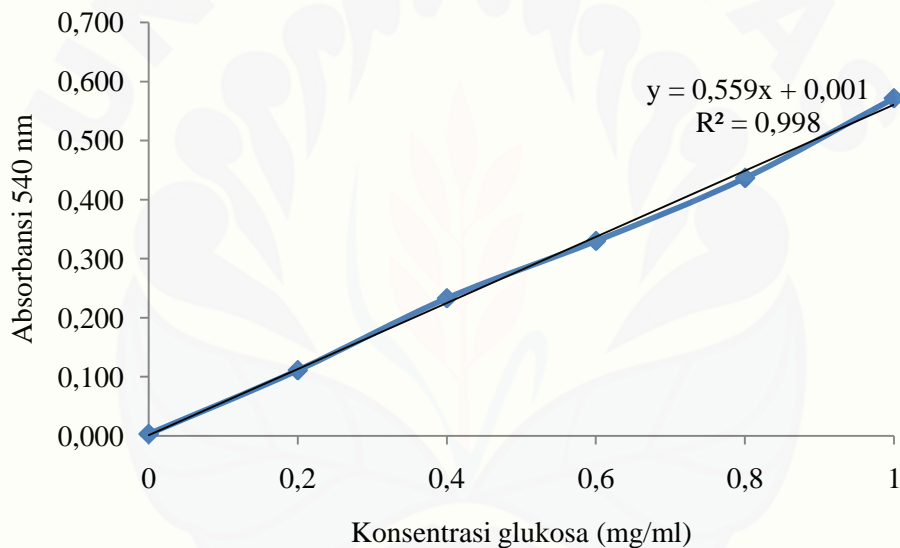
c. Penentuan kadar gula reduksi

Sebanyak 1 ml sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 ml reagen DNS. Semua tabung dididihkan dalam penangas air selama 5 menit, didinginkan dan ditambah 10 ml akuades. Larutan dihomogenisasi dan diukur absorbansinya pada 540 nm. Jumlah gula reduksi sampel dihitung dari perbandingan persamaan linear yang diperoleh dari kurva standart dengan volume pengambilan sampel. Seri pengambilan konsentrasi larutan standar glukosa dan nilai pengukuran

absorbansi dapat dilihat pada Tabel 3.2 serta kurva standar gula reduksi dapat dilihat pada Gambar 3.6.

Tabel 3.2 Seri konsentrasi pengambilan larutan standart glukosa dan nilai pengukuran absorbansi

Glukosa standar (ml)	Absorbansi
0	0.003
0.2	0.111
0.4	0.233
0.6	0.330
0.8	0.437
1	0.559



Gambar 3.6 Kurva standar gula reduksi

Jumlah gula reduksi sampel dihitung dari perbandingan persamaan linear yang diperoleh dari kurva standart dengan volume pengambilan sampel 1 ml. Persamaan Linier yang diperoleh adalah $y = 0.559x - 0.001$

$$\text{Jumlah total gula} = \frac{x}{\text{volume pengambilan}} ; \text{dimana } x = \frac{y+0.001}{0.559}$$

Keterangan : y = Absorbansi sampel; Volume pengambilan sampel = 1 ml

3.5.4 Kadar Etanol Metode *Chamber Conway* (Kartika et al., 1992)

Analisis etanol menggunakan metode *Chamber Conway* membutuhkan 3 larutan, yaitu larutan A, larutan B, dan larutan C. Larutan A merupakan Na_2CO_3 jenuh yang diperoleh dengan menimbang 10 g Na_2CO_3 lalu dilarutkan dengan 50 ml akuades. Larutan B dibuat dengan melarutkan 0,74 g $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ dalam 30 ml akuades lalu ditambah 56 ml H_2SO_4 pekat secara perlahan lahan dan diaduk dengan magnetik stirer. Larutan B diencerkan hingga 100 ml. Larutan C merupakan larutan stok yang dibuat dari 1 ml etanol 96% yang ditera akuades hingga 100 ml.

Pembuatan kurva standart dibuat dengan cara menambahkan campuran berikut ke dalam cawan conway :

1. 2 ml Larutan B + 1 ml akuades (blanko)
2. 2 ml Larutan B + 0,2 ml larutan C + 0,8 ml akuades
3. 2 ml Larutan B + 0,4 ml larutan C + 0,6 ml akuades
4. 2 ml Larutan B + 0,6 ml larutan C + 0,4 ml akuades
5. 2 ml Larutan B + 0,8 ml larutan C + 0,2 ml akuades
6. 2 ml Larutan B + 1 ml larutan C

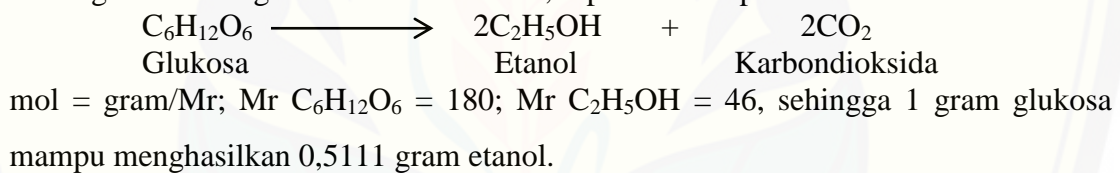
Tambahkan 1 ml larutan A dan digoyangkan untuk mencampurkan larutan A dan C, kemudian cawan conway ditutup. Cawan conway didiamkan selama 2 jam pada suhu kamar. Setelah 2 jam, 2 ml akuades ditambahkan dalam larutan B dan diamati absorbansinya pada panjang gelombang 605 nm.

Prosedur analisa pengukuran jumlah etanol sampel dilakukan dengan cara memasukkan larutan B sebanyak 2 ml pada bagian tengah cawan conway, kemudian memasukkan 1 ml larutan A pada sisi kanan cawan conway dan memasukkan 1 ml larutan C (sampel) pada sisi kiri cawan conway, selanjutnya cawan conway yang telah berisi larutan A, B, dan C ditiutup dan digoyangkan untuk mencampurkan larutan A dan C, kemudian didiamkan selama 2 jam pada suhu kamar. Setelah 2 jam, 2 ml akuades ditambahkan dalam larutan B dan diamati absorbansinya pada panjang gelombang 605 nm. Kemudian konsentrasi etanol yang terdapat di dalam sampel

dihitung dengan memasukkan nilai absorbansi pada persamaan regresi linier $y = bx + a$ (Kartika *et al.*, 1992). Setelah konsentrasi etanol sampel diketahui, dilakukan beberapa perhitungan lanjutan, seperti berikut:

- Yield etanol (g/g) = $\frac{\text{Etanol yang dihasilkan}}{\text{Gula yang dikonsumsi}}$
- Produktivitas etanol (g/L/jam) = $\frac{\text{Etanol yang dihasilkan}}{\text{Lama fermentasi}}$
- Efisiensi fermentasi (%) = $\frac{\text{Etanol yang dihasilkan}}{\text{Etanol teoritis}} \times 100$
- Growth rate (log sel/ml/jam) = $\frac{\text{Ln populasi yeast saat fase log} - \text{Ln populasi yeast jam ke 0}}{\text{Lama fase log (jam ke 12 - jam ke 0)} (\Delta t)}$
- Growth yield ((log cfu/ml) / (g/L)) = $\frac{\text{populasi yeast jam ke } x - \text{populasi yeast jam ke 0} (\Delta x)}{\text{gula reduksi jam ke 0} - \text{gula reduksi jam ke } x (\Delta s)}$

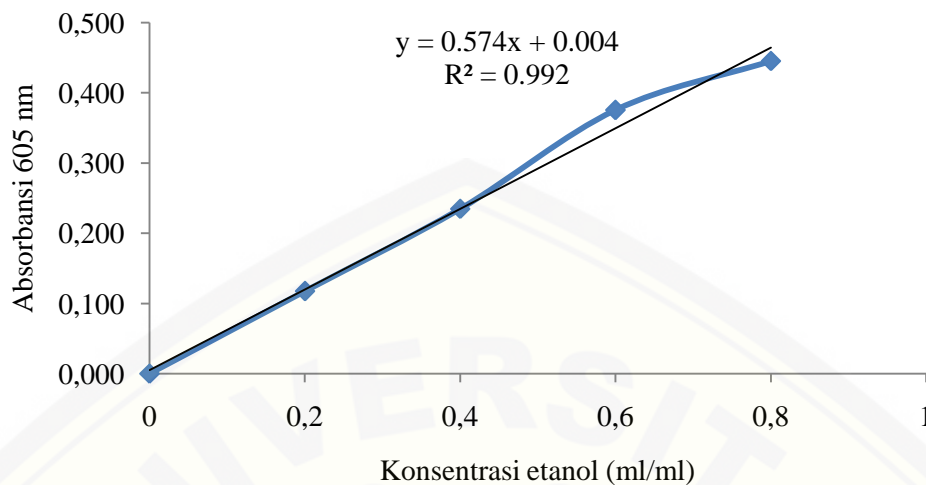
Etanol teoritis diperoleh mengacu pada reaksi stoikiometri fermentasi alkohol dimana 1 mol glukosa menghasilkan 2 mol etanol, seperti dalam persamaan berikut:



Seri pengambilan konsentrasi larutan standar etanol dan nilai pengukuran absorbansi dapat dilihat pada Tabel 3.3 serta kurva standar etanol dapat dilihat pada Gambar 3.7. Dan prosedur penggunaan cawan caway dalam analisa jumlah etanol dapat dilihat pada Gambar 3.7.

Tabel 3.3 Seri konsentrasi pengambilan larutan standar etanol dan nilai pengukuran absorbansi

Etanol standar (ml/ml)	Absorbansi
0.0	0.000
0.2	0.118
0.4	0.235
0.6	0.376
0.8	0.446



Gambar 3.7 Kurva standar etanol

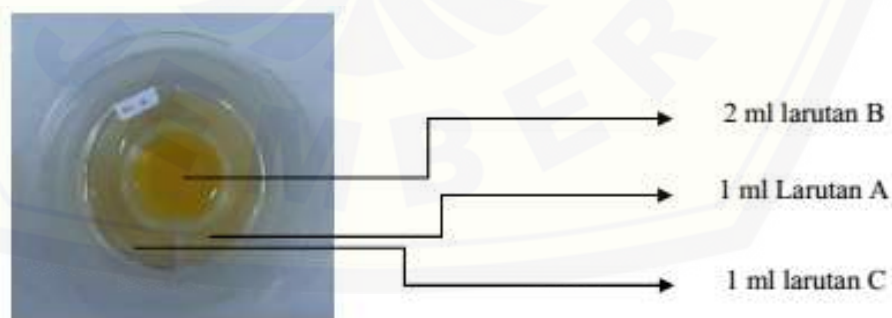
Jumlah etanol sampel dihitung dari perbandingan persamaan linear yang diperoleh dari kurva standart dengan volume pengambilan sampel 1 ml. Persamaan Linier yang diperoleh adalah $y = 0.574x + 0.004$

$$\text{Jumlah etanol} = \frac{x}{\text{volume pengambilan}} ; \text{dimana } x = \frac{y - 0.004}{0.574}$$

Keterangan : y = Absorbansi sampel; Volume pengambilan sampel = 1 ml

Etanol (g/L) = volume etanol sampel \times berat jenis etanol

Berat jenis etanol = 0.789 g/mL



Gambar 3.8 Prosedur penggunaan cawan Conway dalam analisa jumlah etanol

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Produksi bioetanol pada penelitian ini dilakukan secara *batch* dan *fed-batch*. Yeast yang digunakan pada penelitian ini yaitu jenis ragi roti instan *New Aule Instant Dry Yeast* dengan konsentrasi penambahan media molases 24°brix. Fermentasi *fed-batch* dilakukan selama 48 jam dan 20 jam untuk fermentasi *batch*, agitasi 200 rpm dan aerasi 1 vvm selama 6 jam di awal fermentasi. Selama fermentasi dilakukan pengambilan sampel secara periodik setiap 4 jam dan dilakukan pengamatan langsung untuk parameter jumlah populasi yeast dan derajat brix. Setelah itu semua sampel disimpan dalam *freezer* untuk dilakukan pengamatan parameter lainnya yang meliputi kadar total gula, kadar gula reduksi dan konsentrasi etanol. Hasil pengamatan setiap parameter dan pembahasan diuraikan secara rinci dalam sub bab – sub bab berikut.

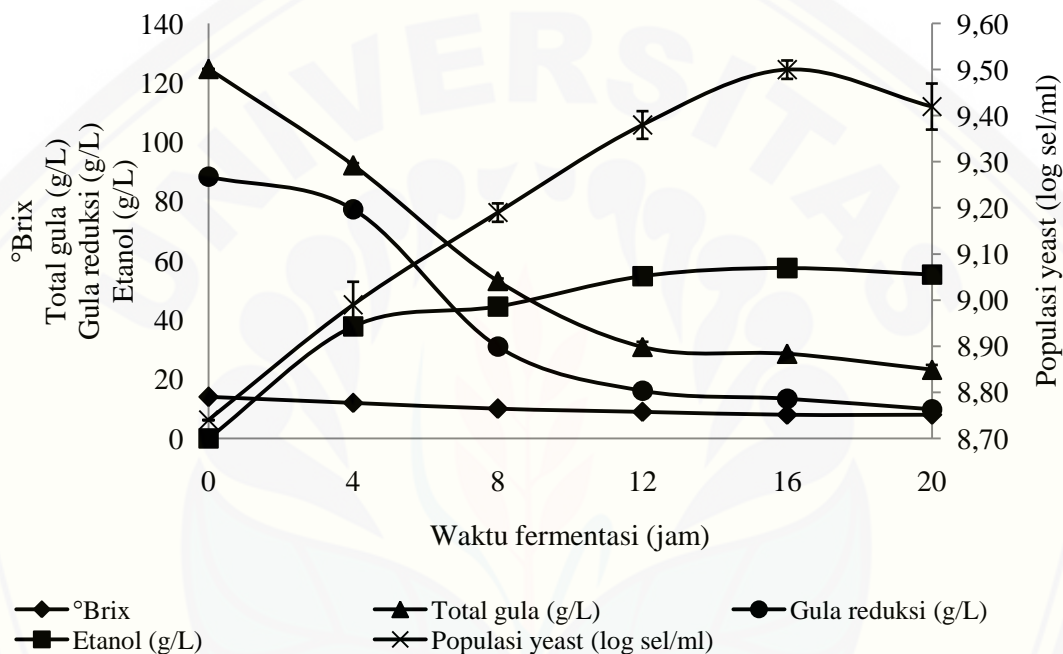
4.1 Profil Fermentasi Bioetanol secara *Batch* dan *Fed-batch*

Menurut Iman (2008), fermentasi secara *batch* merupakan fermentasi dengan cara memasukkan media dan inokulum secara bersamaan ke dalam bioreaktor dan pengambilan produk dilakukan pada akhir fermentasi. Sedangkan fermentasi secara *fed-batch* merupakan fermentasi dengan cara menambahkan media baru secara teratur pada kultur tertutup tanpa mengeluarkan cairan kultur yang ada di dalam fermentor sehingga volume kultur semakin bertambah (Widjaja, 2010). Menurut Rusmana (2008), pada fermentasi secara *fed-batch* dilakukan dengan memasukkan sebagian sumber nutrisi (sumber C, N dan lain-lain) ke dalam bioreaktor dengan volume tertentu hingga diperoleh produk yang mendekati maksimal, akan tetapi konsentrasi sumber nutrisi dibuat konstan.

Salah satu strategi yang dapat diterapkan dalam upaya optimasi produksi bioetanol adalah penggunaan sistem *fed-batch*. Beberapa keuntungan dari sistem *fed-batch* yaitu meningkatkan produktivitas, meningkatkan kelarutan oksigen dalam

medium fermentasi dan mengurangi efek toksik dari komponen media (Stanbury dan Whitaker, 1984).

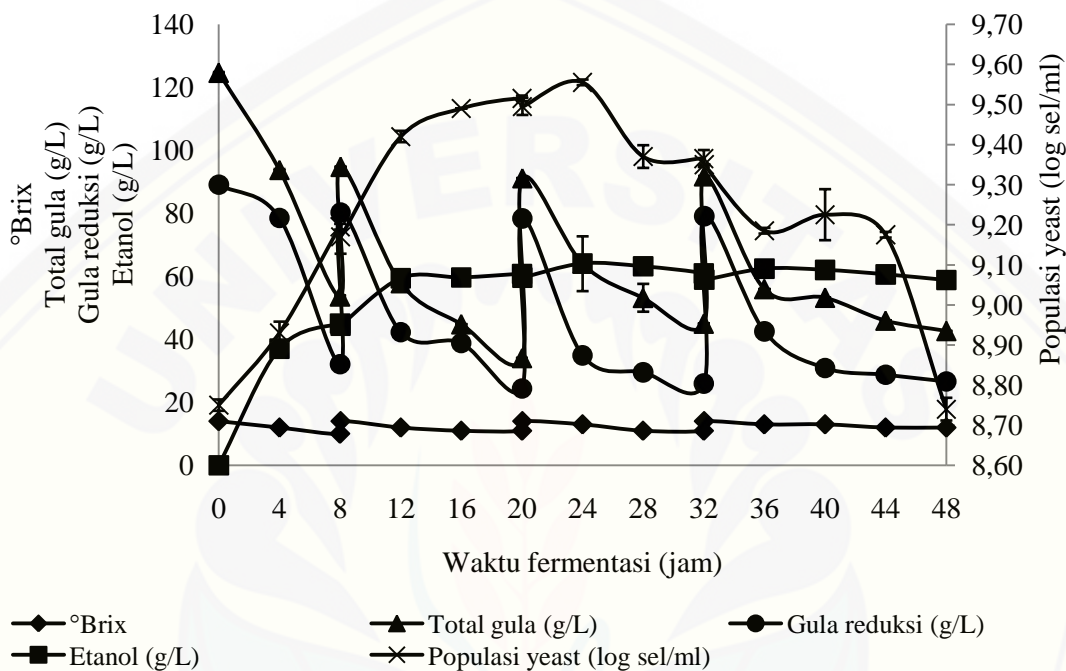
Kurva hubungan antara jumlah populasi yeast, etanol, total gula, gula reduksi dan °brix selama fermentasi secara *batch* dan *fed-batch* pada media molases masing-masing dapat dilihat pada Gambar 4.1 dan Gambar 4.2.



Gambar 4.1 Hubungan peningkatan jumlah populasi (log sel/ml) dan konsentrasi etanol (g/L) dengan penurunan kadar total gula (g/L), gula reduksi (g/L) dan °brix selama fermentasi secara *batch* pada media molases

Gambar 4.1 Menunjukkan ketersediaan substrat berupa gula dari molases yang awalnya sebesar 125 g/L turun hingga 23 g/L yang berarti bahwa 81,6% substrat digunakan oleh yeast untuk aktivitas pertumbuhan, perkembangbiakan dan produksi metabolit berupa etanol sehingga terjadi penurunan jumlah gula. Selain digunakan oleh yeast, penurunan gula yang terus terjadi selama fermentasi dikarenakan pada sistem *batch* tidak ada penambahan substrat baru seperti halnya pada fermentasi secara *fed-batch*. Maka dari itu, produksi bioetanol secara *batch* ini hanya dilakukan

selama 20 jam karena pada fermentasi jam tersebut konsentrasi gula pada media sudah sangat rendah dan tidak mencukupi kebutuhan yeast untuk memproduksi etanol.



Gambar 4.2 Hubungan peningkatan jumlah populasi (log sel/ml) dan konsentrasi etanol (g/L) dengan penurunan kadar total gula (g/L), gula reduksi (g/L) dan °brix selama fermentasi secara *fed-batch* pada media molases

Gambar 4.1 dan Gambar 4.2 menunjukkan bahwa yeast pada fermentasi bioetanol secara *batch* maupun *fed-batch* tumbuh dan berkembangbiak selama fermentasi yang ditandai dengan adanya peningkatan jumlah populasi hingga kurun waktu tertentu. Yeast pada fermentasi bioetanol secara *batch* berada pada fase logaritmik (fase pertumbuhan sel hingga mencapai jumlah maksimum) selama 16 jam fermentasi, sedangkan pada fermentasi secara *fed-batch* berada pada fase logaritmik 24 jam fermentasi. Jumlah populasi maksimum pada fermentasi secara *fed-batch* dengan pemberian tambahan media baru 24 °brix pada fermentasi jam ke-8, 20 dan 32 sebanyak 250 ml molases dicapai lebih lama (pada 24 jam fermentasi) dibandingkan dengan fermentasi secara *batch* (tanpa penambahan media baru) yaitu 16 jam. Jumlah

populasi maksimum fermentasi secara *fed-batch* memiliki nilai lebih tinggi dibandingkan dengan fermentasi secara *batch*, masing-masing sebesar 9,56 log sel/ml dan 9,50 log sel/ml. Berdasarkan Gambar 4.1 dan Gambar 4.2 diketahui pula bahwa setelah fermentasi 16 jam pada fermentasi *batch* mulai mengalami penurunan jumlah populasi yeast dari 9,50 log sel/ml hingga mencapai 9,42 log sel/ml pada fermentasi 20 jam. Sedangkan pada fermentasi *fed-batch*, jumlah populasi yeast pada fermentasi 16 hingga 20 jam masih mengalami peningkatan dari 9,49 log sel/ml hingga 9,52 log sel/ml. Dan mulai mengalami penurunan setelah fermentasi 24 jam. Hal ini terjadi karena pada fermentasi secara *fed-batch* dilakukan penambahan substrat ketika konsentrasi gula pada media fermentasi mulai menurun sehingga kebutuhan sumber karbon bagi yeast dapat dipenuhi untuk melakukan pertumbuhan dan perkembangan hingga kurun waktu tertentu (lihat Gambar 4.2).

Terjadinya peningkatan jumlah populasi yeast berkaitan dengan penurunan jumlah sustrat dan peningkatan jumlah etanol pada media fermentasi. Substrat pada media molases berfungsi sebagai sumber nutrisi yang digunakan oleh yeast untuk aktivitas pertumbuhan, perkembangbiakan dan produksi metabolit berupa etanol, sehingga terjadi penurunan jumlah total gula, gula reduksi dan °brix serta peningkatan jumlah etanol. Pada fermentasi secara *batch* jumlah gula pada sampel mengalami penurunan hingga akhir fermentasi sedangkan pada fermentasi secara *fed-batch* terjadi penurunan dan peningkatan jumlah gula seiring penambahan substrat baru selama fermentasi berlangsung.

Jumlah etanol maksimum yang dihasilkan pada fermentasi secara *batch* tercapai saat 16 jam fermentasi yaitu sebesar 57,50 g/L (5,75%) sedangkan pada fermentasi secara *fed-batch* tercapai saat 24 jam fermentasi yaitu sebesar 64,12 g/L (6,41%) dan pada 16 jam fermentasi menghasilkan etanol sebesar 59,65 g/L (5,97%). Konsentrasi etanol yang dihasilkan pada sistem *fed-batch* lebih tinggi dibandingkan *batch*, hal ini dikarenakan adanya penambahan media baru pada sistem *fed-batch* dapat menambah nutrisi bagi yeast untuk melakukan metabolisme dan menghasilkan enzim alkohol dehidrogenase lebih banyak daripada *batch*, sehingga konversi gula

menjadi etanol lebih tinggi. Pada fermentasi secara *batch*, terjadi penurunan etanol pada fermentasi 20 jam sedangkan pada fermentasi secara *fed-batch* konsentrasi etanol mulai menurun pada fermentasi 28 hingga 48 jam. Menurut Suwasono, dkk. (2002), berdasarkan perbandingan produk dan pertumbuhan sel, fermentasi alkohol termasuk tipe fermentasi pertumbuhan terpadu (*associated growth*), yaitu suatu proses dengan pertumbuhan sel dan pembentukan produk berjalan seiring.

Penurunan konsentrasi etanol pada masing-masing sistem diduga karena adanya penurunan jumlah populasi yeast dan kadar gula. Ketersediaan gula sebagai sumber karbon bagi sel-sel yeast sudah menurun, sehingga tidak mencukupi kebutuhan yeast dalam melakukan metabolisme. Selain itu yeast telah memasuki fase stasioner dan kematian, sehingga sel-sel yeast sebagian telah mati dan menurun kemampuannya untuk tumbuh, berkembangbiak dan menghasilkan enzim alkohol dehidrogenase (Buglass, 2011). Kurang optimalnya enzim alkohol dehidrogenase yang dihasilkan oleh yeast pada masing-masing sistem akan berdampak pada menurunnya konversi gula menjadi etanol, sehingga konsentrasi etanol yang dihasilkan juga berkurang. Khusus untuk fermentasi secara *batch*, penurunan produktivitas etanol terjadi karena pada kondisi tertentu etanol yang dihasilkan menjadi inhibitor yang akan meracuni mikroorganisme sehingga mengurangi aktivitas enzim. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan Reksowardojo (2007) tentang produksi etanol menggunakan cara *batch*. Penelitian yang dilakukan oleh Minier dan Goma (1982) dalam Hakim (2010) memperkuat bahwa fermentasi secara *batch* mempunyai kendala yaitu konsentrasi etanol yang dihasilkan sangat rendah karena produksi etanol yang terakumulasi akan meracuni mikroorganisme pada proses fermentasi. Akumulasi dari produk terlarut yang bersifat racun akan menurunkan secara perlahan-lahan bahkan dapat menghentikan pertumbuhan serta produksi dari mikroorganisme.

4.2 Kinetika Fermentasi Bioetanol secara *Batch* dan *Fed-Batch*

4.2.1 Laju Konsumsi Gula Total

Nilai laju konsumsi gula total diperoleh dari perbandingan antara konsumsi gula total selama fermentasi dengan lama fermentasi yang berlangsung. Laju konsumsi gula total pada fermentasi secara *batch* dan *fed-batch* mencapai maksimum secara berturut-turut sebesar 8,94 g/L/jam dan 8,88 g/L/jam. Nilai laju konsumsi gula total dihitung dengan cara membandingkan delta dari gula total yang dikonsumsi dengan lama fermentasi. Berdasarkan Tabel 4.1 dan Tabel 4.2 dapat diketahui pada fermentasi 8 jam laju konsumsi gula total memiliki nilai tertinggi baik pada fermentasi bioetanol secara *batch* maupun *fed-batch*. Hal ini menunjukkan bahwa pada jam tersebut yeast berada pada fase logaritmik sehingga konsumsi gula sangat tinggi.

Fermentasi secara *fed-batch* memiliki nilai laju konsumsi gula yang lebih rendah dibandingkan *batch*. Hal ini dikarenakan adanya penambahan substrat secara teratur pada fermentasi secara *fed-batch* membuat jumlah gula yang tersisa kembali naik hampir seperti kondisi awal fermentasi, sehingga perbandingan antara delta gula total dengan waktu fermentasi lebih kecil dibandingkan *batch*. Laju konsumsi gula total pada kedua sistem fermentasi mengalami penurunan setelah fermentasi 8 jam. Perbandingan laju konsumsi gula total pada fermentasi secara *batch* dan *fed-batch* pada media molases dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Laju konsumsi gula total selama fermentasi secara *batch* dan *fed-batch* pada media molases

Waktu (jam)	Laju konsumsi total gula (g/L/jam)	
	<i>Batch</i>	<i>Fed-batch</i>
0	0.0±0.00	0.00±0.00
4	8.13±0.20	7.71±0.11
8	8.94±0.10	8.88±0.02
8.03	-	3.72±0.04
12	7.81±0.15	5.57±0.03
16	6.01±0.03	4.99±0.01
20	5.08±0.08	4.53±0.01
20.03	-	1.67±0.01
24	-	2.53±0.35
28	-	2.56±0.15
32	-	2.49±0.00
32.03	-	1.03±0.01
36	-	1.91±0.01
40	-	1.79±0.01
44	-	1.79±0.01
48	-	1.71±0.00

4.2.2 Growth Rate

Nilai growth rate menunjukkan perbandingan antara peningkatan biomassa terhadap satuan unit waktu. Nilai growth rate merupakan representasi dari rata-rata laju pertumbuhan semua sel mikroba yang ada dalam media, namun tidak menunjukkan laju pertumbuhan maksimum dari masing-masing sel mikroba karena laju pertumbuhan yang ditunjukkan merupakan laju pertumbuhan saat mikroba mencapai fase log (Lee, 2006). Nilai growth rate pada fermentasi secara *batch* dan *fed-batch* dapat dilihat pada Tabel 4.2. Nilai growth rate tertinggi pada fermentasi *batch* dan *fed-batch* masing-masing yaitu 0,14 ln sel/ml/jam dan 0,13 ln sel/ml/jam. Nilai growth rate masing-masing sistem fermentasi tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan substrat pada fermentasi secara *fed-batch* tidak memberikan pengaruh berarti terhadap laju pertumbuhan yeast,

walaupun masih dapat meningkatkan jumlah populasi yeast maksimum hingga 24 jam fermentasi.

Nilai growth rate masing-masing sistem fermentasi akan mempengaruhi konsentrasi etanol yang dihasilkan saat fermentasi. Semakin tinggi nilai growth rate, maka akan semakin cepat dan tinggi pula peningkatan populasi pertumbuhan yeast sehingga meningkatkan produksi enzim alkohol dehidrogenase dalam menghasilkan etanol.

Tabel 4.2 *Growth rate* selama fermentasi secara *batch* dan *fed-batch* pada media molases

Waktu (jam)	<i>Growth rate</i> (ln sel/ml/jam)	
	<i>Batch</i>	<i>Fed-batch</i>
0	0.00±0.00	0.00±0.00
4	0.14±0.06	0.11±0.01
8	0.13±0.02	0.13±0.00
8.03	-	0.12±0.01
12	0.12±0.01	0.13±0.01
16	0.11±0.01	0.11±0.00
20	0.08±0.00	0.09±0.00
20.03	-	0.09±0.00
24	-	0.08±0.00
28	-	0.05±0.00
32	-	0.04±0.00
32.03	-	0.04±0.00
36	-	0.03±0.00
40	-	0.03±0.01
44	-	0.02±0.00
48	-	0.00±0.00

4.2.3 Growth yield

Growth yield merupakan suatu cara untuk menyatakan kebutuhan nutrisi oleh suatu mikroba secara kuantitatif. Nilai *growth yield* diperoleh dari perbandingan kenaikan jumlah mikroba terhadap jumlah substrat yang digunakan oleh mikroba. (Stanburry dan Whitaker, 1990). Panikov (2014) menyatakan juga bahwa nilai *growth yield* menunjukkan secara jelas kebutuhan nutrisi bagi pertumbuhan sel mikroorganisme secara kuantitatif: berapa banyak satuan massa dari substrat yang harus dikonsumsi agar dapat dihasilkan satu satuan massa dari sel mikroorganisme.

Berdasarkan Tabel 4.3 dapat diketahui bahwa nilai *growth yield* pada fermentasi secara *fed-batch* lebih tinggi dibandingkan pada fermentasi secara *batch*. Nilai *growth yield* pada fermentasi secara *batch* tidak ada peningkatan signifikan selama fermentasi berlangsung. Nilai maksimum *growth yield* pada fermentasi *batch* dan fermentasi *fed-batch* yaitu berkisar 0.010 log sel/ml/g/L dan 0.020 log sel/ml/g/L.

Tabel 4.3 *Growth yield* selama fermentasi secara *batch* dan *fed-batch* pada media molases

Waktu (jam)	<i>Growth yield</i> (log sel/ml/g/L)	
	<i>Batch</i>	<i>Fed-batch</i>
0	0.000±0.000	0.000±0.000
4	0.010±0.003	0.010±0.000
8	0.010±0.001	0.010±0.000
8.03	-	0.020±0.010
12	0.010±0.000	0.010±0.000
16	0.010±0.001	0.010±0.000
20	0.010±0.000	0.010±0.000
20.03	-	0.020±0.000
24	-	0.010±0.000
28	-	0.010±0.000
32	-	0.010±0.000
32.03	-	0.020±0.000
36	-	0.010±0.000
40	-	0.010±0.000
44	-	0.010±0.000
48	-	0.000±0.000

4.2.4 Jumlah Etanol dan Produktivitas Etanol

Produktivitas etanol merupakan perbandingan antara konsentrasi etanol yang dihasilkan dengan lama waktu fermentasi. Produktivitas etanol menunjukkan laju produksi etanol oleh mikroba yang dihasilkan tiap satuan waktu. Produktivitas etanol tertinggi dari kedua sistem fermentasi didapatkan pada 4 jam fermentasi. Hal ini menunjukkan bahwa pada jam tersebut sudah terjadi pembentukan metabolit primer berupa etanol. Rathore (2008) menyatakan bahwa pembentukan etanol terbagi dalam tiga fase, yaitu fase lag, fase log, dan fase stasioner. Selama fase lag, hampir tidak ada etanol yang terbentuk karena yeast masih beradaptasi dengan lingkungan, selanjutnya dalam fase log sudah mulai terbentuk etanol secara eksponensial karena yeast telah beradaptasi dengan lingkungan. Selama fase stasioner, produksi etanol masih dapat terjadi namun tidak secepat saat fase log karena kecepatan produksi

etanol sudah mulai menurun. Jumlah etanol dan produktivitasnya pada fermentasi secara *batch* dan *fed-batch* selama fermentasi pada media molases dapat dilihat pada Tabel 4.4.

Penurunan produktivitas etanol terjadi setelah 4 jam fermentasi karena adanya penurunan konsentrasi etanol baik pada fermentasi secara *batch* maupun *fed-batch*. Hal ini dikarenakan setelah 4 jam fermentasi terjadi penurunan ketersediaan gula dalam substrat, sehingga kebutuhan sel yeast dalam produksi etanol tidak dapat tercukupi secara optimal. Buglass (2011) menyatakan bahwa ketika konsentrasi gula terlalu rendah, maka yeast akan melakukan respirasi jika tidak ada suplai oksigen yang nantinya akan menghasilkan karbondioksida dan air, bukan etanol, sehingga akan berdampak pada menurunnya kadar etanol yang dihasilkan. Adanya penambahan substrat pada fermentasi secara *fed-batch* mampu meningkatkan jumlah maupun produktivitas etanol dibandingkan fermentasi secara *batch*.

Tabel 4.4 Jumlah etanol dan produktivitasnya pada fermentasi *batch* dan *fed-batch* selama fermentasi pada media molases

Waktu (jam)	Jumlah etanol (g/L)		Produktivitas (g/L/jam)	
	<i>Batch</i>	<i>Fed-batch</i>	<i>Batch</i>	<i>Fed-batch</i>
0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
4	37.80±0.36	37.02±0.33	9.45±0.09	9.26±0.08
8	44.53±0.27	45.04±0.32	5.57±0.03	5.63±0.04
8.03	-	44.35±0.65	-	5.53±0.08
12	54.75±0.29	59.38±0.06	4.56±0.02	4.95±0.01
16	57.50±0.35	59.65±0.07	3.59±0.02	3.73±0.00
20	55.34±0.32	60.78±0.04	2.77±0.02	3.04±0.00
20.03	-	59.58±1.78	-	2.98±0.09
24	-	64.12±0.10	-	2.67±0.00
28	-	63.20±0.03	-	2.26±0.00
32	-	60.89±0.33	-	1.91±0.01
32.03	-	58.94±1.98	-	1.84±0.06
36	-	62.43±0.16	-	1.74±0.01
40	-	62.03±0.33	-	1.56±0.01
44	-	60.61±0.33	-	1.38±0.01
48	-	58.85±0.29	-	1.23±0.01

4.2.5 Efisiensi Fermentasi

Nilai efisiensi fermentasi diperoleh dari perbandingan antara konsentrasi etanol yang dihasilkan dengan konsentrasi etanol teoritis yang kemudian dikalikan dengan seratus persen. Konsentrasi etanol teoritis diketahui berdasarkan reaksi stoikiometri fermentasi alkohol, dimana 1 mol glukosa akan menghasilkan 2 mol etanol. Pada umumnya, setiap 100 g glukosa yang digunakan dapat menghasilkan etanol sebanyak 45-49 g etanol dengan batas etanol teoritis yang dapat dihasilkan sebanyak 51,1 g (Patrascu *et.al*, 2009). Hal ini juga disebutkan oleh Kent (2013) yang menyatakan bahwa efisiensi produksi bioetanol dapat dievaluasi dari tiga parameter, yakni yield, produktivitas dan konsentrasi produk akhir. Yield etanol dapat disebut juga sebagai metabolik yield yang dihitung sebagai produksi etanol berdasarkan konsumsi gula.

Metabolik yield maksimum dari kedua heksosa dan pentosa adalah 0.51 gram etanol per gram gula yang digunakan.

Tabel 4.5 menunjukkan bahwa nilai efisiensi produksi etanol secara *fed-batch* lebih tinggi dibandingkan secara *batch*. Hal ini dikarenakan adanya penambahan substrat pada fermentasi secara *fed-batch* menyebabkan yield etanol yang dihasilkan meningkat sehingga efisiensi fermentasinya pun juga meningkat. Efisiensi fermentasi ini dihasilkan dari perbandingan antara yield etanol yang dihasilkan selama fermentasi dengan etanol teoritis yang kemudian diprosentasekan.

Tabel 4.5 Efisiensi fermentasi selama fermentasi *batch* dan *fed-batch* pada media molases

Waktu (jam)	Efisiensi fermentasi (%)	
	<i>Batch</i>	<i>Fed-batch</i>
0	0.00±0.00	0.00±0.00
4	228.11±7.37	235.67±1.17
8	122.13±1.32	124.43±0.72
8.03	-	291.17±1.36
12	114.54±2.72	174.25±1.03
16	117.33±0.65	146.51±0.59
20	106.94±2.31	131.55±0.50
20.03	-	348.73±7.34
24	-	209.48±29.63
28	-	174.19±10.70
32	-	149.92±1.05
32.03	-	351.67±7.93
36	-	178.21±1.15
40	-	170.31±0.33
44	-	151.08±1.26
48	-	140.72±0.91

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Konsentrasi etanol maksimum yang dihasilkan pada fermentasi secara *fed-batch* lebih tinggi dibandingkan pada fermentasi secara *batch* berturut-turut sebesar 64.12 g/L (6.41%) dan 57.50 g/L (5.75%).
2. Pemberian media baru dengan konsentrasi 24°brix pada jam ke-8, 20 dan 32 pada fermentasi secara *fed-batch* mampu meningkatkan konsentrasi etanol yaitu sebesar 0.66% dari konsentrasi etanol yang dihasilkan pada fermentasi secara *batch*.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai penggunaan molases dengan konsentrasi yang lebih tinggi sebagai upaya peningkatan konsentrasi etanol yang dihasilkan. Selain itu penelitian lanjutan mengenai waktu penambahan penambahan media baru yang tepat sebelum gula yang terdapat pada media fermentasi menurun drastis perlu dilakukan agar yeast dapat tumbuh optimal dan etanol yang dihasilkan dapat meningkat.



DAFTAR PUSTAKA

- Aprianto, Fardiaz, Puspitasari, Sedarnawati dan Budiyanto. 1989. *Analisa Pangan*. Bogor: IPB Press.
- Bailey, James E. and David F. Ollis, 1986. *Biochemical Engineering Fundamentals*. 2nd edition. McGraw-Hill Book Co. Singapore.
- Bisson, L. 2001. *The Alcoholic Fermentation*. Davis: University of California.
- Buglass, A.J. 2011. *Handbook of Alcoholic Beverages: Technical, Analytical and Nutritional*. https://books.google.co.id/books?id=gNc34oNpg0AC&dq=factors+affecting+alcoholic+fermentation&source=gbs_navlinks_s. [diakses 20 September 2015].
- Dake, M.S., Amarapurkar, S.V., Salunkha, M.L., dan Kamble, S.R. 2010. *Production of Alcohol by Saccharomyces sp. Using Natural Carbohydrate Sources. Advance Biotech Vol. 10 (06): 37-41*.
- Dewan Energi Nasional. 2014. *Outlook Energi Indonesia*. <http://energy.nusantara.com/wp-content/uploads/2011/10/paparan-Outlook-Energi-Nasional-2014-.pdf> [diakses 03 Oktober 2015].
- Caylak, B. dan F. Vardar-Sukan. 1998. *Comparison of Different Production Processes for Bioethanol*. Turk.J.Chem. 22 : 351-359.
- Cheng, Ngoh G., Masitah Hasan, Andri C. K., Chew F. L. dan Tham, Margaret. 2009. *Production of Ethanol by Fed-batch Fermentation*. Pertanika J. Sci. & Technol. 17 (2): 399-408. Universiti Putra Malaysia Press.
- Desroisier. 1989. *Teknologi Pengawetan Pangan*. Penerjemah M. Muljoharjo. Jakarta: UI-Press.
- Direktorat Jenderal Minyak dan Gas Bumi. 2011. *Statistika Minyak Bumi 2011*. [serialonline]. <http://prokum.esdm.go.id/Publikasi/Statistik/Statistik%20Minyak%20Bumi.pdf>. [diakses 27 Desember 2015].

- El-Gendy, N.S., Madian, H.R. dan Abu-Amr, S.S. 2013. *Design and Optimization of a Process for Sugarcane Molasses Fermentation by Saccharomyces cerevisiae Using Response Surface Methodology*. *International Journal of Microbiology*. Vol. 2013. Article ID 815631: 1-9.
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan I*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Fauzi, M. 2009. *Production of Bioethanol from Tapioca Starch Using Saccharomyces cerevisiae : Effects of Temperature and Agitation Speed*. Tesis. Pahang : Faculty of chemical and Natural Resources Engineering, University of Pahang Malaysia.
- Firdausi, Z.N., Samodra, B.N. dan Handoko. 2013. *Pemanfaatan Pati Singkong Karet (Manihot glaziovii) untuk Produksi Bioetanol Fuel Grade melalui Proses Disrilasi Dehifrasi Menggunakan Zrolit Alam*. <http://www.e-jurnal.com/2013/10/pemanfaatan-pati-singkong-karet-manihot.html> [diakses 17 September 2015].
- Hidayat, N., Padaga, M.C., dan Suhartini, S. 2006. *Mikrobiologi Industri*. Yogyakarta: Andi offset.
- International Annual Energy Outlook. 2013. *World Total Energy Consumption by Region and Fuel*. Online. DOE/EIA-0383(2013).
- Jeffries, T.W. dan Jin, Y.S. 2000. *Ethanol and Thermotolerance in The Bioconversion of Xylose by Yeast*. *Adv. Appl. Microbiology*. 47: 221-268.
- Judoamidjojo, M., Said, E. G., dan Darwis, A. A. 1992. *Teknologi Fermentasi*. Jakarta: Rajawali Press.
- Kartika, B., A.D., Guritno, D., Purwadi, & Ismoyowati. 1992. *Petunjuk Evaluasi Produk Industri Hasil Pertanian*. Yogyakarta: PAU Pangan dan Gizi UGM.
- Kent, J.A. 2013. *Handbook of Industrial Chemistry and Biotechnology*. https://books.google.co.id/books?id=7VxDAAAAQBAJ&dq=yield+ethanol+calculation&source=gbs_navlinks_s [diakses 15 November 2015].
- Kuhad, Ramesh C., Giriya, M., Rishi, G. dan Krishna, K. S. 2010. *Fed-batch Enzymatic Saccharification of Newspaper Cellulosics Improves The Sugar Content in The Hydrolysates and Eventually The Ethanol Fermentation by*

Saccharomyces cerevisiae. Biomass and Bioenergy 1189-1194. Universiti of Delhi South Campus.

Lay, B. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Jakarta: Raja Grafindo Persada.

Lee, Y.K. 2006. *Microbial Technology: Principles and Applications*. https://books.google.co.id/books?id=P3enKvasnywC&dq=microbial+growth+rate+is&source=gbs_navlinks_s [diakses 23 November 2015].

Lin, T. dan Tanaka, S. 2006. *Ethanol Fermentation From Biomass Resources: Current Status And Prospects*. *J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* Vol.69:627-642.

Liu, Z.L. 2011. *Microbial Stress Tolerance for Biofuels: Systems Biology*. https://books.google.co.id/books?id=axa36SwndHkC&source=gbs_navlink [diakses 17 September 2015].

Miller, G.L. 1959. *Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent For Determination of Reducing Sugar*. *Anal Chem.* Vol. (31): 426-428.

Mukhtar, K., Asgher, M., Afghan, S., Hussain, K., dan Zia-ul-Hussain, S. 2010. *Comparative Study on Two Commercial Strains of Saccharomyces cerevisiae for Optimum Ethanol Production on Industrial Scale*. *Journal of Biomedicine and Bioechnology* Vol. 7 (05): 12-17.

Nurrohim, A. 2014. *Perlu Terobosan Kebijakan untuk Pencapaian Target Pemakaian Bahan Bakar Nabati. IPTEK untuk Indonesia Sejahtera, Berdaulat & Bermartabat : Bunga Rampai Pemikiran Anggota Dewan Riset Nasional 2014*. Jakarta: Dewan Riset Nasional.

Panikov, N.S. 2014. *Kinetics, Microbial Growth*. https://www.researchgate.net/profile/Nicolai_Panikov/publication/220042850_Kinetics_Microbial_Growth/links/0fcfd50bfa37eb6dcd000000.pdf [diakses 21 Januari 2016].

Prihandana, R., Noerwijati, K., Adinurani, P.G., Setyaningsih, D., Setiadi, S., dan Hendroko, R. 2008. *Bioetanol Ubi Kayu Bahan Bakar Masa Depan*. Jakarta: Agromedia Pustaka.

- Patrascu, E., Rapeanu, G., dan Hopulele, T. 2009. Current Approaches to Efficient Biotechnological Production of Ethanol. *Innovative Romanian Food Biotechnology (2009) 4* : 1-11.
- Patrascu, E., Rapeanu, G., Bonciu, C., Vicol, C., dan Bahrin. 2009. *Investigation of Yeast Performances in The Fermentation of Beet and Cane Molasses to Ethanol Production*. Ovidius University Press, 20 (2):202-203.
- Prihandana, R., Noerwijati, K., Adinurani, P.G., Setyaningsih, D., Setiadi, S., dan Hendroko, R. 2008. *Bioetanol Ubi Kayu Bahan Bakar Masa Depan*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Qureshi, N., Hodge, D., dan Vertes, A. 2014. *Biorefineries: Biochemical Processes for Liquid Biofuels*. [https://books.google.co.id/books?id=2Uh1AgAAQBAJ&dq=factors affecting ethanol fermentation & source=gbs_navlinks_s](https://books.google.co.id/books?id=2Uh1AgAAQBAJ&dq=factors+affecting+ethanol+fermentation+&source=gbs_navlinks_s) [diakses 17 September 2015].
- Rathore, S.S.S. 2008. *Decision Making in Dry-Grind Ethanol Industry Using Near-Infrared Spectroscopy*. Disertasi [https://books.google.com/books?id=8uGW3WoH210C & pg = PA63 & lpg = PA63 & dq=](https://books.google.com/books?id=8uGW3WoH210C&pg=PA63&lpg=PA63&dq=) [diakses 11 Januari 2016].
- Reksowardojo, Soehadi. 2007. *Seminar Teknik Kimia ISSN 0854-7769*. Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknologi Industri Institut Teknologi Surabaya.
- Rubio-Arroyo, M.F., Vivanco-Loyo, P., Juarez, M., Poisot, M., dan Ramirez-Galicia, G. 2011. *Bio-Ethanol Obtained by Fermentation Process with Continous Feeding of Yeast*. *J. Mex. Chem. Soc.* 2011, 55(4): 242-245.
- Rusmana, Iman. 2008. *Sistem Operasi Fermentasi*. Departemen Biologi FMIPA IPB, Bogor Jawa Barat.
- Sadik, M.W. dan Halema, A.A. 2014. *Production of Ethanol from Molasses and Whey Permeate using Yeasts and Bacterial Strains*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences Volume 3 Number 3*: 804-818.
- Satyanarayana, T., Johri, B.I., dan Prakash, A. 2012. *Microorganisms in Sustainable Agriculture and Biotechnology*. Springer Science and Business Media.
- Smith, P.G. 2007. *Application of Fluidization to Food Processing*. Oxford: Blackwell Publishing Company.

- Sener, A., Chambas, A., dan Onal, O. 2007. *Effect of Fermentation Temperature of Kinetic Growth Saccharomyces cerevisiae*. University of Cukurova Faculty of Agriculture, Department of Food Engineering, Balcali, Adana-Turkey.
- Stanburry, P. F. dan Whitaker, A. 1984. *Principles of Fermentation Technology*. Oxford: Pergamon Press.
- Stanburry, P. F. dan Whitaker, A. 1990. *Principles of Fermentation Technology*. Oxford: Pergamon Press.
- Suwasono, S., Fauzi, M., Lindriati, T. 2002. *Teknologi Fermentasi*. Jember: Fakultas Teknologi Pertanian Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Jember.
- Widjaja, Tri., Hariani, Natalia., Gunawan, Setio, dan Darmawan, R., 2010. *Teknologi Immobilisasi Sel Ca-Alginat untuk Memproduksi Etanol secara Fermentasi Kontinyu dengan Zymomonas Mobilis Termutasi*. Jurusan Teknik Kimia ITS.
- World Data Bank. 2014. *World Development Indicators : Energy production and Use*. <http://wdi.worldbank.org/table/3.6> [diakses 09 September 2015].
- Zayed, G.Z.A. dan Foley, J. 1987. The Influence of Fermentation Conditions on Ethanol Yields from Sugar Beet Molases and Fodder Beet Juice Using *Saccharomyces cerevisiae* Strains. *Irish Journal of Food Science and Technology*. Vol.11:119-133.

LAMPIRAN

A. Fermentasi secara Batch

A.1 Data pengukuran kadar brix

Waktu (jam)	°Brix		Rerata	Stdev
	1	2		
0	14	14	14	0.00
4	12	12	12	0.00
8	10	10	10	0.00
12	9	9	9	0.00
16	8	8	8	0.00
20	8	8	8	0.00

A.2 Data populasi pertumbuhan yeast

Waktu (jam)	Populasi yeast		sel/ml		log sel/ml		Rerata	Stdev
	1	2	1	2	1	2		
0	10	12	5×10^8	6×10^8	8.70	8.78	8.74	0.06
4	21	18	1.1×10^9	9×10^8	9.02	8.95	8.99	0.05
8	32	30	1.6×10^9	1.5×10^9	9.20	9.18	9.19	0.02
12	46	50	2.3×10^9	2.5×10^9	9.36	9.40	9.38	0.03
16	66	62	3.3×10^9	3.1×10^9	9.52	9.49	9.50	0.02
20	49	57	2.5×10^9	2.9×10^9	9.39	9.45	9.42	0.05

Sampel 1 ml diencerkan dengan aquades steril dan ditera hingga 10 ml. Faktor pengenceran yang digunakan adalah 100. Dan faktor pengenceran pewarna (metilen blue) yang digunakan adalah 2.

Contoh perhitungan populasi yeast:

Diketahui volume kotak sedang haemacytometer yaitu: $4 \times 10^{-3} \text{ mm}^3 = 4 \times 10^{-6} \text{ ml}$

Rumus: $\frac{\text{jumlah sel}}{\text{volume kotak sedang}} \times \text{FP sampel} \times \text{FP pewarnaan (metilen blue)}$

Keterangan: FP = faktor pengenceran

- Jumlah populasi yeast pada 4 jam fermentasi ulangan 1 = 21

$$\text{Jumlah populasi yeast} = \frac{21}{4 \times 10^{-6}} \times 100 \times 2 = 5 \times 10^8 \text{ sel/ml}$$

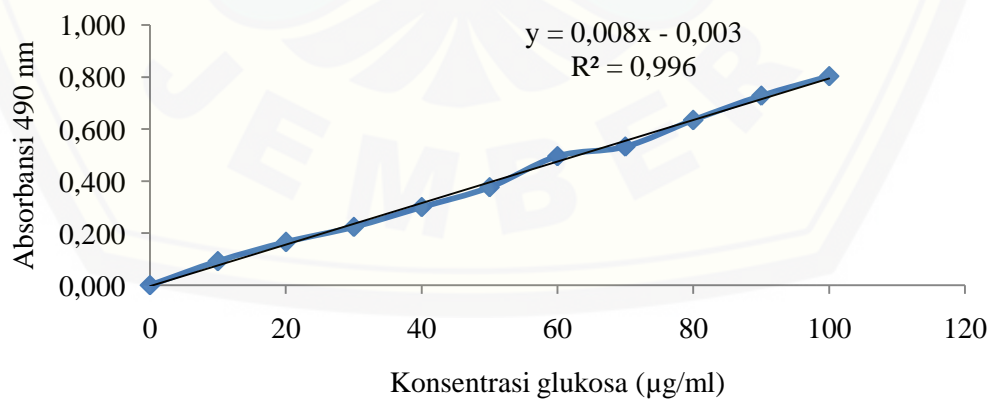
A.3 Kadar total gula

A.3.1 Nilai absorbansi glukosa dan kurva standar total gula

- Larutan glukosa standar = 0.01% = 0.01 g/100 ml = 10 mg/100 ml

Konsentrasi glukosa ($\mu\text{g/ml}$)	Aquades (ml)	Volume glukosa standar 0.01% (ml)	Absorbansi
0	1	0	0.000
10	0.9	0.1	0.093
20	0.8	0.2	0.166
30	0.7	0.3	0.224
40	0.6	0.4	0.301
50	0.5	0.5	0.377
60	0.4	0.6	0.496
70	0.3	0.7	0.533
80	0.2	0.8	0.635
90	0.1	0.9	0.729
100	0	1	0.804

Kurva standar total gula:



Sebelum dianalisa 1 ml sampel diencerkan dengan aquades dan ditera hingga 10 ml. Faktor pengenceran yang digunakan dalam analisa total gula adalah 1000.

A.3.2 Data kadar total gula

Waktu (jam)	Absorbansi			Total gula (g/L)			Rerata	Stdev
	1	2	3	1	2	3		
0	0.995	0.994	0.994	124.75	124.63	124.63	124.67	0.07
4	0.729	0.733	0.741	91.50	92.00	93.00	92.17	0.76
8	0.424	0.415	0.428	53.38	52.25	53.88	53.17	0.83
12	0.232	0.259	0.242	29.38	32.75	30.63	30.92	1.71
16	0.223	0.225	0.229	28.25	28.50	29.00	28.58	0.38
20	0.191	0.167	0.189	24.25	21.25	24.00	23.17	1.66

Contoh perhitungan total gula:

- Nilai absorbansi total gula pada 4 jam fermentasi ulangan 1 = 0.995

$$\text{Kadar total gula} = x; \text{ dimana } x = \frac{y+0.003}{0.008}$$

$$\text{Absorbansi} = y$$

$$x = \frac{0.995+0.003}{0.008} = 124,75 \mu\text{g/ml}$$

Volume total pada saat analisa adalah 7 ml yang terdiri dari:

sampel (ml)	fenol 5% (ml)	H2SO4 98%	volume total (ml)
1	1	5	7

Faktor pengenceran = 1000

$$\begin{aligned} \text{Sehingga kadar total gula (g/L)} &= 124,75 \mu\text{g/ml} \times \text{Faktor pengenceran} \\ &= 124,75 \mu\text{g/ml} \times 1000 \\ &= 124.750 \mu\text{g/ml} = 124,75 \text{ g/L} \end{aligned}$$

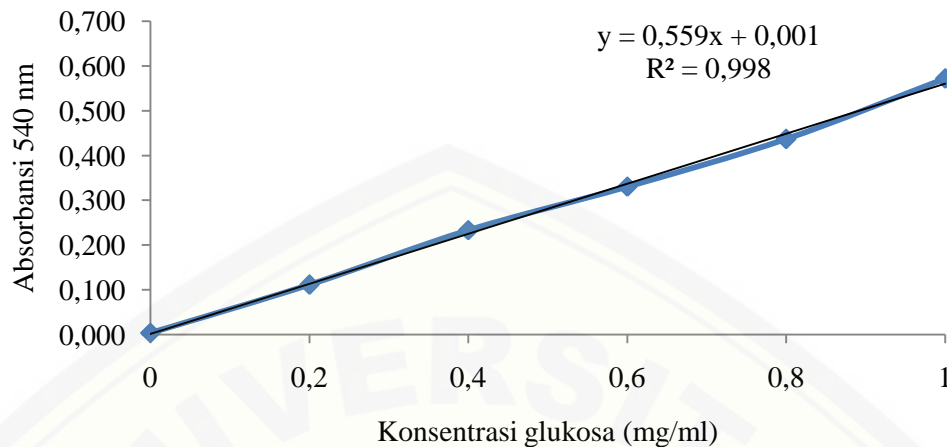
A.4 Kadar gula reduksi

A.4.1 Nilai absorbansi glukosa dan kurva standar gula reduksi

- Larutan glukosa standar = 0.1% = 0.1 g/100 ml = 1 mg/ml

Volume glukosa standar 0.1% (ml)	Aquades (ml)	Absorbansi
0	1	0.003
0.2	0.8	0.111
0.4	0.6	0.233
0.6	0.4	0.330
0.8	0.2	0.437
1	0	0.572

Kurva standar gula reduksi:



Sebelum dianalisa 1 ml sampel diencerkan dengan aquades dan ditera hingga 10 ml. Faktor pengenceran yang digunakan dalam analisa total gula adalah 100.

A.4.2 Data kadar gula reduksi

Waktu (jam)	Absorbansi			Gula reduksi (g/L)			Rerata	Stdev
	1	2	3	1	2	3		
0	0.494	0.492	0.498	88.19	87.84	88.91	88.31	0.55
4	0.439	0.431	0.430	78.35	76.92	76.74	77.34	0.88
8	0.173	0.175	0.175	30.77	31.13	31.13	31.01	0.21
12	0.090	0.090	0.093	15.92	15.92	16.46	16.10	0.31
16	0.074	0.079	0.075	13.06	13.95	13.24	13.42	0.47
20	0.056	0.056	0.055	9.84	9.84	9.66	9.78	0.10

Contoh perhitungan gula reduksi:

- Nilai absorbansi gula reduksi pada 4 jam fermentasi ulangan 1 = 0.494

$$\text{Kadar total gula} = x; \text{ dimana } x = \frac{y - 0.001}{0.559}$$

$$\text{Absorbansi} = y$$

$$x = \frac{0.494 - 0.001}{0.559} = 0.8819 \text{ mg/ml} = 0.8819 \text{ g/L}$$

Volume total pada saat analisa adalah 7 ml yang terdiri dari:

sampel (ml)	DNS (ml)	Aquades yang ditambahkan setelah pemanasan	volume total (ml)
1	1	10	12

Faktor pengenceran = 100

$$\begin{aligned}\text{Sehingga kadar gula reduksi (g/L)} &= 0.8819 \text{ g/L} \times \text{Faktor pengenceran} \\ &= 0.8819 \text{ g/L} \times 100 \\ &= 88.19 \text{ g/L}\end{aligned}$$

A.5 Kadar etanol

A.5.1 Nilai absorbansi etanol dan kurva standar etanol

Sebanyak 1 ml etanol 96% (v/v) ditara hingga 100 ml:

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

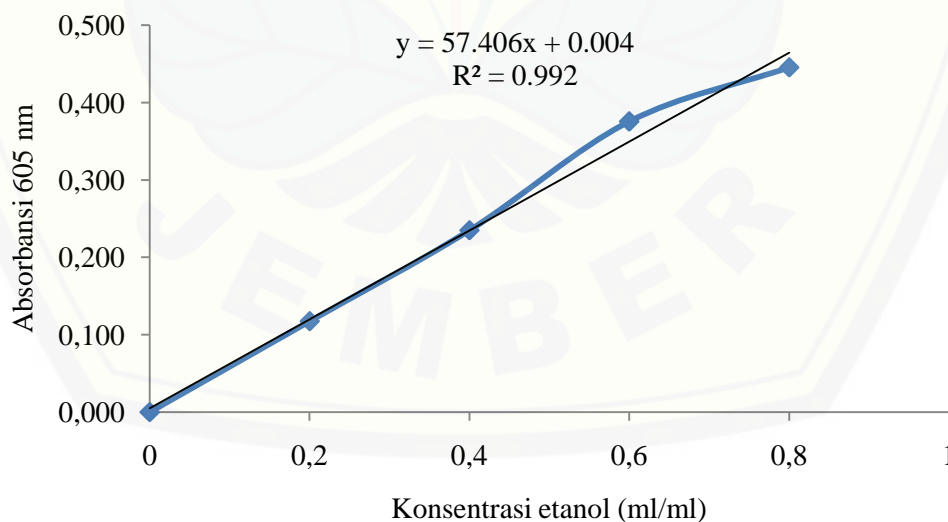
$$1 \text{ ml} \times 96\% = 100 \times M_2$$

$$M_2 = 0.96\%$$

Selanjutnya dari etanol 0.96% (v/v) diambil:

Ethanol standar 0.96% (ml)	Aquades (ml)	Absorbansi	Stdev
0.0	1.0	0	0
0.2	0.8	0.118	0.004
0.4	0.6	0.235	0.001
0.6	0.4	0.376	0.001
0.8	0.2	0.446	0.002

Kurva standar etanol:



Sebelum dianalisa 1 ml sampel diencerkan dengan aquades dan ditara hingga 10 ml. Faktor pengenceran yang digunakan dalam analisa kadar etanol adalah 10.

$$a. \text{ Etanol sampel } \left(\frac{\text{ml}}{\text{ml}} \right) x = \frac{y - 0.004}{57.406}$$

$$b. \text{ Konsentrasi etanol sampel } \left(\frac{\text{ml}}{\text{L}} \right) = \frac{\text{ml etanol sampel}}{\text{vol pengambilan}} \times \frac{1000 \text{ mL}}{1 \text{ L}}$$

$$c. \text{ Etanol } \left(\frac{\text{g}}{\text{L}} \right) = \text{volume etanol sampel} \times \text{berat jenis etanol} \times \text{FP}$$

Ket : y = absorbansi sampel; Volume pengambilan = 1 ml;

Berat jenis etanol = 0,789 g/mL

Perhitungan kinetika produksi etanol :

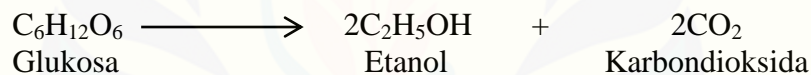
$$a. \text{ Yield Etanol } (\text{g/g}) = \frac{\text{Etanol yang dihasilkan}}{\text{Gula yang dikonsumsi}}$$

$$b. \text{ Produktivitas Etanol } (\text{g/L/jam}) = \frac{\text{Etanol yang dihasilkan}}{\text{Waktu fermentasi}}$$

$$c. \text{ Efisiensi Fermentasi } (\%) = \frac{\text{Etanol yang dihasilkan}}{\text{Etanol teoritis}} \times 100$$

Perhitungan etanol teoritis :

1 mol glukosa menghasilkan 2 mol etanol, seperti dalam persamaan berikut:



$\text{mol} = \frac{\text{gram}}{\text{Mr}}$; Mr $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 = 180$; Mr $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 46$, sehingga 1 gram glukosa

mampu menghasilkan 0,5111 gram etanol.

A.5.2 Data jumlah etanol dan produktivitas etanol selama fermentasi

Waktu (jam)	Absorbansi			Konsentrasi etanol (ml/L)					Etanol (g/L)					Produktivitas (g/L/jam)					
	1	2	3	1	2	3	Rerata	Stdev	1	2	3	Rerata	Stdev	1	2	3	Rerata	Stdev	
0	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4	0.276	0.281	0.280	4.74	4.83	4.81	4.79	0.05	37.38	38.07	37.93	37.80	0.36	9.35	9.52	9.48	9.45	0.09	
8	0.330	0.328	0.326	5.68	5.64	5.61	5.64	0.03	44.81	44.53	44.26	44.53	0.27	5.60	5.57	5.53	5.57	0.03	
12	0.400	0.404	0.403	6.90	6.97	6.95	6.94	0.04	54.43	54.98	54.84	54.75	0.29	4.54	4.58	4.57	4.56	0.02	
16	0.422	0.425	0.420	7.28	7.33	7.25	7.29	0.04	57.45	57.86	57.18	57.50	0.35	3.59	3.62	3.57	3.59	0.02	
20	0.408	0.404	0.408	7.04	6.97	7.04	7.01	0.04	55.53	54.98	55.53	55.34	0.32	2.78	2.75	2.78	2.77	0.02	

Contoh perhitungan jumlah etanol pada 4 jam fermentasi ulangan 1:

- Etanol sampel (ml/ml) = $\frac{0.276-0.004}{57.406} = 0.00474$ ml/ml
- Konsentrasi etanol sampel (ml/L) = $\frac{0.00474 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times \frac{1000 \text{ mL}}{1 \text{ L}} = 4.74$ ml/L
- Etanol (g/L) = $4.74 \times 0.789 \times 10 = 37.38$ g/L
- Produktivitas = $37.38/4 = 9.35$ g/L/jam

A.6 Data perhitungan *growth rate*

Waktu (jam)	Populasi yeast (sel/ml)		ln		<i>Growth rate</i> (ln sel/ml/jam)		Rerata	Stdev
	1	2	1	2	1	2		
0	5×10^8	6×10^8	20.03	20.21	0.00	0.00	0.00	0.00
4	1.1×10^9	9×10^8	20.77	20.62	0.19	0.10	0.14	0.06
8	1.6×10^9	1.5×10^9	21.19	21.13	0.15	0.11	0.13	0.02
12	2.3×10^9	2.5×10^9	21.56	21.64	0.13	0.12	0.12	0.01
16	3.3×10^9	3.1×10^9	21.92	21.85	0.12	0.10	0.11	0.01
20	2.5×10^9	2.9×10^9	21.62	21.77	0.08	0.08	0.08	0.00

Contoh perhitungan *growth rate* pada 4 jam fermentasi ulangan 1:

Rumus: $\frac{\ln \text{populasi jam ke } -4 - \ln \text{populasi jam ke } -0}{\Delta t}$

$$\text{Growth rate} = \frac{20.77 - 20.03}{4 - 0} = 0.19 \text{ ln sel/ml/jam}$$

A.7 Data laju konsumsi total gula

Waktu (jam)	Total gula (S) (g/L)			ΔS			Laju konsumsi gula (g/L/jam)			Rerata	Stdev
	1	2	3	1	2	3	1	2	3		
0	124.75	124.63	124.63	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4	91.50	92.00	93.00	33.25	32.63	31.63	8.31	8.16	7.91	8.13	0.20
8	53.38	52.25	53.88	71.37	72.38	70.75	8.92	9.05	8.84	8.94	0.10
12	29.38	32.75	30.63	95.37	91.88	94.00	7.95	7.66	7.83	7.81	0.15
16	28.25	28.50	29.00	96.50	96.13	95.63	6.03	6.01	5.98	6.01	0.03
20	24.25	21.25	24.00	100.50	103.38	100.63	5.03	5.17	5.03	5.08	0.08

A.8 Data perhitungan *growth yield*

Waktu (jam)	log sel/ml		ΔX		Total gula (g/L)		ΔS		<i>Growth yield</i> (log sel/ml/g/L)		Rerata	Stdev
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2		
0	8.70	8.78	0.00	0.00	124.75	124.63	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.000
4	9.02	8.95	0.32	0.17	91.50	92.00	33.25	32.63	0.01	0.01	0.01	0.003
8	9.20	9.18	0.50	0.40	53.38	52.25	71.37	72.38	0.01	0.01	0.01	0.001
12	9.36	9.40	0.66	0.62	29.38	32.75	95.37	91.88	0.01	0.01	0.01	0.000
16	9.52	9.49	0.82	0.71	28.25	28.50	96.50	96.13	0.01	0.01	0.01	0.001
20	9.39	9.45	0.69	0.67	24.25	21.25	100.50	103.38	0.01	0.01	0.01	0.000

A.9 Data perhitungan *yield etanol* dan efisiensi fermentasi

Waktu (jam)	Total gula (g/L) (S)			ΔS			Etanol (g/L) (P)			Yield (P/ ΔS)			Efisiensi fermentasi (%)			Rerata	Stdev	
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3			
0	124.75	124.63	124.63	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4	91.50	92.00	93.00	33.25	32.63	31.63	37.38	38.07	37.93	1.12	1.17	1.20	220.43	228.77	235.13	228.11	7.37	
8	53.38	52.25	53.88	71.37	72.38	70.75	44.81	44.53	44.26	0.63	0.62	0.63	123.11	120.63	122.66	122.13	1.32	
12	29.38	32.75	30.63	95.37	91.88	94.00	54.43	54.98	54.84	0.57	0.60	0.58	111.91	117.33	114.39	114.54	2.72	
16	28.25	28.50	29.00	96.50	96.13	95.63	57.45	57.86	57.18	0.60	0.60	0.60	116.73	118.02	117.24	117.33	0.65	
20	24.25	21.25	24.00	100.50	103.38	100.63	55.53	54.98	55.53	0.55	0.53	0.55	108.34	104.28	108.20	106.94	2.31	

B. Fermentasi secara Fed-Batch**B.1 Data pengukuran kadar brix**

Waktu (jam)	°Brix		Rerata	Stdev
	1	2		
0	14	14	14	0.00
4	12	12	12	0.00
8	10	10	10	0.00
8.03	14	14	14	0.00
12	12	12	12	0.00
16	11	11	11	0.00
20	11	11	11	0.00
20.03	14	14	14	0.00
24	13	13	13	0.00
28	11	11	11	0.00
32	11	11	11	0.00
32.03	14	14	14	0.00
36	13	13	13	0.00
40	13	13	13	0.00
44	12	12	12	0.00
48	12	12	12	0.00

B.2 Data populasi pertumbuhan yeast

Waktu (jam)	Populasi yeast		sel/ml		log sel/ml		Rerata	Stdev
	1	2	1	2	1	2		
0	11	12	5.5×10^8	5.8×10^8	8.74	8.76	8.75	0.01
4	17	18	8.3×10^8	9.0×10^8	8.91	8.95	8.93	0.03
8	31	32	1.6×10^9	1.6×10^9	9.19	9.20	9.20	0.01
8.03	32	28	1.6×10^9	1.4×10^9	9.2	9.14	9.17	0.04
12	54	52	2.7×10^9	2.6×10^9	9.43	9.41	9.42	0.01
16	62	63	3.1×10^9	3.1×10^9	9.49	9.49	9.49	0.00
20	65	66	3.2×10^9	3.3×10^9	9.51	9.52	9.51	0.01
20.03	65	60	3.3×10^9	3.0×10^9	9.51	9.48	9.49	0.02
24	71	73	3.6×10^9	3.6×10^9	9.55	9.56	9.55	0.01
28	45	50	2.3×10^9	2.5×10^9	9.35	9.39	9.37	0.03
32	45	48	2.3×10^9	2.4×10^9	9.35	9.38	9.36	0.02
32.03	45	45	2.3×10^9	2.2×10^9	9.35	9.35	9.35	0.00
36	31	31	1.6×10^9	1.5×10^9	9.19	9.18	9.19	0.00
40	31	30	1.5×10^9	1.5×10^9	9.18	9.18	9.18	0.01
44	30	30	1.5×10^9	1.5×10^9	9.17	9.18	9.17	0.01
48	11	12	5.3×10^8	5.8×10^8	8.72	8.76	8.74	0.03

B.3 Kadar total gula

Waktu (jam)	Absorbansi		Total gula (g/L)		Rerata	Stdev
	1	2	1	2		
0	0.992	0.996	124.75	124.46	124.61	0.21
4	0.741	0.751	93.63	93.96	93.80	0.23
8	0.441	0.414	53.83	53.38	53.61	0.32
8.03	0.758	0.755	94.67	94.79	94.73	0.08
12	0.460	0.460	57.71	57.88	57.80	0.12
16	0.356	0.356	44.75	44.79	44.77	0.03
20	0.270	0.269	33.96	34.08	34.02	0.08
20.03	0.726	0.726	91.04	91.17	91.11	0.09
24	0.511	0.508	70.13	57.83	63.98	8.70
28	0.435	0.401	56.29	50.04	53.17	4.42
32	0.359	0.355	45.00	44.92	44.96	0.06
32.03	0.736	0.726	91.63	91.83	91.73	0.14
36	0.446	0.445	55.88	55.96	55.92	0.06
40	0.421	0.424	53.17	53.21	53.19	0.03
44	0.364	0.366	45.92	45.96	45.94	0.03
48	0.339	0.338	42.67	42.54	42.61	0.09

B.4 Kadar gula reduksi

Waktu (jam)	Absorbansi		Gula reduksi (g/L)		Rerata	Stdev
	1	2	1	2		
0	0.503	0.495	89.56	88.67	89.12	0.63
4	0.440	0.441	78.47	78.65	78.56	0.13
8	0.181	0.181	32.14	32.14	32.14	0.00
8.03	0.444	0.455	79.61	80.92	80.27	0.93
12	0.237	0.239	42.16	42.34	42.25	0.13
16	0.219	0.219	38.76	38.88	38.82	0.08
20	0.138	0.136	24.57	24.27	24.42	0.21
20.03	0.433	0.443	77.46	79.31	78.39	1.31
24	0.195	0.196	34.88	34.94	34.91	0.04
28	0.167	0.166	29.58	29.46	29.52	0.08
32	0.146	0.146	26.00	25.94	25.97	0.04
32.03	0.445	0.445	79.07	79.13	79.10	0.04
36	0.239	0.238	42.58	42.46	42.52	0.08
40	0.172	0.173	30.89	30.95	30.92	0.04
44	0.159	0.164	28.44	29.04	28.74	0.42
48	0.150	0.150	26.60	26.65	26.63	0.04

B.5 Data jumlah etanol dan produktivitas etanol selama fermentasi

Waktu (jam)	Absorbansi			Konsentrasi etanol (ml/L)			Rerata	Stdev	Etanol (g/L)			Rerata	Stdev	Produktivitas (g/L/jam)			Rerata	Stdev	
	1	2	3	1	2	3			1	2	3			1	2	3			
0	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4	0.268	0.280	0.272	4.60	4.81	4.67	4.69	0.11	36.28	37.93	36.83	37.02	0.84	9.07	9.48	9.21	9.25	0.21	
8	0.328	0.330	0.337	5.64	5.68	5.80	5.71	0.08	44.53	44.81	45.77	45.04	0.65	5.57	5.60	5.72	5.63	0.08	
8.03	0.334	0.319	0.327	5.75	5.49	5.63	5.62	0.13	45.36	43.29	44.39	44.35	1.03	5.65	5.39	5.53	5.52	0.13	
12	0.435	0.436	0.437	7.51	7.53	7.54	7.53	0.02	59.24	59.37	59.51	59.37	0.14	4.94	4.95	4.96	4.95	0.01	
16	0.438	0.439	0.437	7.56	7.58	7.54	7.56	0.02	59.65	59.79	59.51	59.65	0.14	3.73	3.74	3.72	3.73	0.01	
20	0.445	0.449	0.445	7.68	7.75	7.68	7.71	0.04	60.61	61.16	60.61	60.80	0.32	3.03	3.06	3.03	3.04	0.02	
20.03	0.439	0.438	0.436	7.57	7.56	7.53	7.55	0.02	59.72	59.65	59.37	59.58	0.18	2.98	2.98	2.96	2.97	0.01	
24	0.474	0.469	0.469	8.19	8.10	8.09	8.13	0.05	64.60	63.91	63.84	64.12	0.42	2.69	2.66	2.66	2.67	0.02	
28	0.464	0.461	0.467	8.01	7.96	8.06	8.01	0.05	63.22	62.81	63.57	63.20	0.38	2.26	2.24	2.27	2.26	0.01	
32	0.450	0.444	0.447	7.77	7.66	7.72	7.72	0.05	61.30	60.47	60.89	60.89	0.41	1.92	1.89	1.90	1.90	0.01	
32.03	0.433	0.436	0.430	7.47	7.53	7.42	7.47	0.05	58.96	59.37	58.55	58.96	0.41	1.84	1.85	1.83	1.84	0.01	
36	0.459	0.457	0.459	7.92	7.89	7.93	7.91	0.02	62.47	62.26	62.54	62.42	0.14	1.74	1.73	1.74	1.73	0.00	
40	0.442	0.464	0.460	7.63	8.01	7.94	7.86	0.20	60.20	63.22	62.67	62.03	1.61	1.50	1.58	1.57	1.55	0.04	
44	0.450	0.437	0.448	7.77	7.54	7.73	7.68	0.12	61.30	59.51	61.02	60.61	0.96	1.39	1.35	1.39	1.38	0.02	
48	0.439	0.425	0.433	7.58	7.33	7.47	7.46	0.12	59.79	57.86	58.96	58.87	0.97	1.25	1.21	1.23	1.23	0.02	

B.6 Data perhitungan *growth rate*

Waktu (jam)	Populasi yeast		sel/ml		ln		Growth rate (ln sel/ml)		Rerata	Stdev
	1	2	1	2	1	2	1	2		
0	11	12	5.5×10^8	5.8×10^8	20.13	20.17	0.00	0.00	0.00	0.00
4	17	18	8.3×10^8	9.0×10^8	20.53	20.62	0.10	0.11	0.11	0.01
8	31	32	1.6×10^9	1.6×10^9	21.16	21.19	0.13	0.13	0.13	0.00
8.03	32	28	1.6×10^9	1.4×10^9	21.18	21.04	0.13	0.11	0.12	0.01
12	54	52	2.7×10^9	2.6×10^9	21.72	21.67	0.13	0.12	0.13	0.01
16	62	63	3.1×10^9	3.1×10^9	21.85	21.86	0.11	0.11	0.11	0.00
20	65	66	3.2×10^9	3.3×10^9	21.89	21.92	0.09	0.09	0.09	0.00
20.03	65	60	3.3×10^9	3.0×10^9	21.90	21.82	0.09	0.08	0.09	0.01
24	71	73	3.6×10^9	3.6×10^9	21.99	22.01	0.08	0.08	0.08	0.00
28	45	50	2.3×10^9	2.5×10^9	21.53	21.63	0.05	0.05	0.05	0.00
32	45	48	2.3×10^9	2.4×10^9	21.53	21.59	0.04	0.04	0.04	0.00
32.03	45	45	2.3×10^9	2.2×10^9	21.53	21.52	0.04	0.04	0.04	0.00
36	31	31	1.6×10^9	1.5×10^9	21.16	21.15	0.03	0.03	0.03	0.00
40	31	30	1.5×10^9	1.5×10^9	21.15	21.13	0.03	0.02	0.03	0.01
44	30	30	1.5×10^9	1.5×10^9	21.11	21.13	0.02	0.02	0.02	0.00
48	11	12	5.3×10^8	5.8×10^8	20.08	20.17	0.00	0.00	0.00	0.00

B.7 Data laju konsumsi gula total

Waktu (jam)	Total gula (g/L)		ΔS		Laju konsumsi gula (g/L/jam)		Rerata	Stdev
	1	2	1	2	1	2		
0	124.75	124.46	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4	93.63	93.96	31.12	30.50	7.78	7.63	7.71	0.11
8	53.83	53.38	70.92	71.08	8.86	8.89	8.88	0.02
8.03	94.67	94.79	30.08	29.67	3.75	3.69	3.72	0.04
12	57.71	57.88	67.04	66.58	5.59	5.55	5.57	0.03
16	44.75	44.79	80.00	79.67	5.00	4.98	4.99	0.01
20	33.96	34.08	90.79	90.38	4.54	4.52	4.53	0.01
20.03	91.04	91.17	33.71	33.29	1.68	1.66	1.67	0.01
24	70.13	57.83	54.62	66.63	2.28	2.78	2.53	0.35
28	56.29	50.04	68.46	74.42	2.45	2.66	2.56	0.15
32	45.00	44.92	79.75	79.54	2.49	2.49	2.49	0.00
32.03	91.63	91.83	33.12	32.63	1.03	1.02	1.03	0.01
36	55.88	55.96	68.87	68.50	1.91	1.90	1.91	0.01
40	53.17	53.21	71.58	71.25	1.79	1.78	1.79	0.01
44	45.92	45.96	78.83	78.50	1.79	1.78	1.79	0.01
48	42.67	42.54	82.08	81.92	1.71	1.71	1.71	0.00

B.8 Data perhitungan *growth yield*

Waktu (jam)	log sel/ml		ΔX		Total gula (g/L)		ΔS		Growth yield (log sel/ml/g/L)		Rerata	Stdev
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2		
0	8.74	8.76	0.00	0.00	124.75	124.46	0.00	0.00	0.00	0.00	0.000	0.000
4	8.91	8.95	0.17	0.19	93.63	93.96	31.12	30.50	0.01	0.01	0.010	0.000
8	9.19	9.20	0.45	0.44	53.83	53.38	70.92	71.08	0.01	0.01	0.010	0.000
8.03	9.20	9.14	0.46	0.38	94.67	94.79	30.08	29.67	0.02	0.01	0.015	0.007
12	9.43	9.41	0.69	0.65	57.71	57.88	67.04	66.58	0.01	0.01	0.010	0.000
16	9.49	9.49	0.75	0.74	44.75	44.79	80.00	79.67	0.01	0.01	0.010	0.000
20	9.51	9.52	0.77	0.76	33.96	34.08	90.79	90.38	0.01	0.01	0.010	0.000
20.03	9.51	9.48	0.77	0.72	91.04	91.17	33.71	33.29	0.02	0.02	0.020	0.000
24	9.55	9.56	0.81	0.80	70.13	57.83	54.62	66.63	0.01	0.01	0.010	0.000
28	9.35	9.39	0.61	0.63	56.29	50.04	68.46	74.42	0.01	0.01	0.010	0.000
32	9.35	9.38	0.61	0.62	45.00	44.92	79.75	79.54	0.01	0.01	0.010	0.000
32.03	9.35	9.35	0.61	0.59	91.63	91.83	33.12	32.63	0.02	0.02	0.020	0.000
36	9.19	9.18	0.45	0.42	55.88	55.96	68.87	68.50	0.01	0.01	0.010	0.000
40	9.18	9.18	0.44	0.42	53.17	53.21	71.58	71.25	0.01	0.01	0.010	0.000
44	9.17	9.18	0.43	0.42	45.92	45.96	78.83	78.50	0.01	0.01	0.010	0.000
48	8.78	8.76	0.04	0.00	42.67	42.54	82.08	81.92	0.00	0.00	0.000	0.000

B.9 Data perhitungan *yield etanol* dan efisiensi fermentasi

Waktu (jam)	Total gula (g/L) (S)		ΔS		Etanol (g/L) (P)		Yield (P/ ΔS)		Efisiensi fermentasi (%)		Rerata	Stdev
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2		
0	124.75	124.46	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4	93.63	93.96	31.12	30.50	37.25	36.79	1.20	1.21	234.84	236.49	235.67	1.17
8	53.83	53.38	70.92	71.08	44.81	45.26	0.63	0.64	123.92	124.94	124.43	0.72
8.03	94.67	94.79	30.08	29.67	44.81	43.89	1.49	1.48	292.13	290.21	291.17	1.36
12	57.71	57.88	67.04	66.58	59.33	59.42	0.88	0.89	173.52	174.98	174.25	1.03
16	44.75	44.79	80.00	79.67	59.60	59.70	0.75	0.75	146.09	146.92	146.51	0.59
20	33.96	34.08	90.79	90.38	60.75	60.80	0.67	0.67	131.19	131.90	131.55	0.50
20.03	91.04	91.17	33.71	33.29	60.84	58.32	1.80	1.75	353.92	343.54	348.73	7.34
24	70.13	57.83	54.62	66.63	64.19	64.05	1.18	0.96	230.43	188.52	209.48	29.63
28	56.29	50.04	68.46	74.42	63.18	63.22	0.92	0.85	181.75	166.62	174.19	10.70
32	45.00	44.92	79.75	79.54	60.66	61.12	0.76	0.77	149.18	150.66	149.92	1.05
32.03	91.63	91.83	33.12	32.63	60.34	57.54	1.82	1.76	357.27	346.06	351.67	7.93
36	55.88	55.96	68.87	68.50	62.31	62.54	0.90	0.91	177.39	179.02	178.21	1.15
40	53.17	53.21	71.58	71.25	62.26	61.80	0.87	0.87	170.54	170.08	170.31	0.33
44	45.92	45.96	78.83	78.50	60.38	60.84	0.77	0.78	150.19	151.97	151.08	1.26
48	42.67	42.54	82.08	81.92	58.64	59.05	0.71	0.72	140.08	141.36	140.72	0.91

C. Dokumentasi Penelitian



Preparasi media (molases)



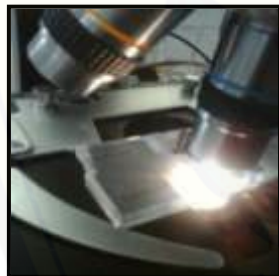
Preparasi starter



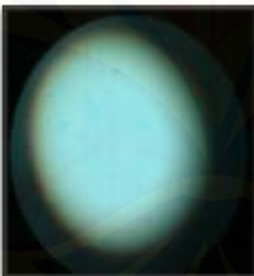
Autoklaf media dan fermentor



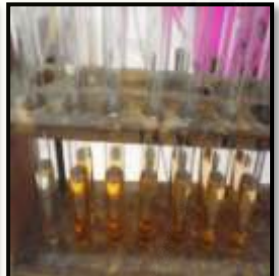
Produksi bioetanol



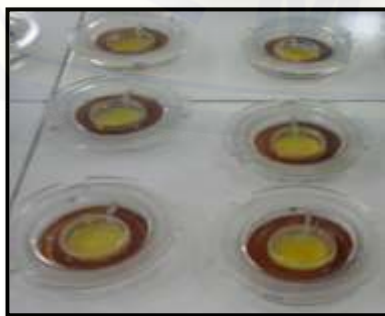
Analisa populasi mikroba



Analisa gula reduksi



Analisa total gula



Analisa etanol