



**PRODUKTIVITAS YEAST *Candida parapsilosis* STRAIN AUMC  
10417 DAN *Candida guilliermondii* DALAM FERMENTASI  
ETANOL MENGGUNAKAN MEDIA MOLASES**

**SKRIPSI**

Oleh

**Amelia Robby  
NIM 131710101026**

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN  
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2017**



**PRODUKTIVITAS YEAST *Candida parapsilosis* STRAIN AUMC  
10417 DAN *Candida guilliermondii* DALAM FERMENTASI  
ETANOL MENGGUNAKAN MEDIA MOLASES**

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat  
untuk menyelesaikan studi pada Program Studi Teknologi Hasil Pertanian (S-1)  
dan mencapai gelar Sarjana Teknologi Pertanian

Oleh

**Amelia Robby**  
**NIM 131710101026**

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN  
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2017**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ibunda Hj. Istiqomah dan ayahanda H. Walid Mubarak (alm) tercinta serta keluarga dan kerabat yang telah mendoakan, memotivasi, memberi kasih sayang serta pengorbanan selama ini;
2. kakak dan adikku, Icut Maulana dan Qois Salsabila yang memberikan doa, semangat arahan selama menyelesaikan pendidikanku;
3. pembimbing dan penyalur ilmuku, guru-guruku sejak taman kanak-kanak sampai perguruan tinggi;
4. teman seperjuanganku, keluarga Kapak Corporation-THP B 2013;
5. almamater Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

**MOTTO**

“Maka sesungguhnya bersama kesulitan itu ada kemudahan”

— Al-insyirah: 5—

“Dimanapun engkau berada selalulah menjadi yang terbaik dan berikan yang terbaik dari yang bisa kita berikan”

— BJ. Habibie—

“Bukan kecerdasan saja yang membawa sukses, tapi juga **hasrat** untuk sukses, komitmen untuk **bekerja keras**, dan **keberanian** untuk percaya akan dirimu sendiri.”

— Jamie Winship—

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

nama : Amelia Robby

NIM : 131710101026

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa laporan kuliah kerja yang berjudul “Produktivitas Yeast *Candida parapsilosis* Strain AUMC 10417 dan *Candida guilliermondii* dalam Fermentasi Etanol Menggunakan Media Molases” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan disebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya 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, 30 Oktober 2017  
Yang menyatakan,

Amelia Robby  
NIM 131710101026

**SKRIPSI**

**PRODUKTIVITAS YEAST *Candida parapsilosis* STRAIN AUMC  
10417 DAN *Candida guilliermondii* DALAM FERMENTASI  
ETANOL MENGGUNAKAN MEDIA MOLASES**

Oleh

Amelia Robby  
NIM 131710101026

Pembimbing:

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

Dosen Pembimbing Anggota : Dr. Ir. Jayus

**LEMBAR PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Produktivitas Yeast *Candida parapsilosis* Strain AUMC 10417 dan *Candida guilliermondii* dalam Fermentasi Etanol Menggunakan Media Molases” karya Amelia Robby telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Kamis, 9 November 2017

tempat : Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

**Pembimbing:**

Dosen Pembimbing Utama

Dosen Pembimbing Anggota

Dr. Nurhayati, S.TP., M.Si.  
NIP 197904102003122004

Dr. Ir. Jayus  
NIP 196805161992031004

**Tim Penguji:**

Ketua

Anggota

Ir. Giyarto, M.Sc  
NIP 196607181993031013

Dr. Yuli Wibowo, S.TP., M.Si  
NIP 197207301999031002

Mengesahkan  
Dekan,

Dr. Siswoyo Soekarno, S.TP., M.Eng  
NIP 196809231994031009

## RINGKASAN

**Produktivitas Yeast *Candida parapsilosis* Strain AUMC 10417 dan *Candida guilliermondii* dalam Fermentasi Etanol Menggunakan Media Molases;** Amelia Robby; 131710101026; 2017; 43 halaman; Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Faktor yang mempengaruhi peningkatan produksi bioetanol diantaranya substrat, *yeast*, dan kondisi fermentasi. Ketersediaan substrat yaitu molases di Indonesia cukup melimpah, setiap ton tebu menghasilkan 2,7% molases. Molases memiliki harga yang murah dan dapat langsung dikonversi menjadi etanol dengan sedikit *pretreatment* dan memiliki kadar gula 50-60%. Pada umumnya produksi etanol menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*, namun upaya eksplorasi *yeast* digunakan untuk mengetahui produktivitasnya, diantaranya yaitu *C. parapsilosis* strain AUMC 10417 dan *C. guilliermondii* serta optimasi kondisi fermentasi seperti pemberian agitasi dan aerasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui produktivitas *C. parapsilosis* strain AUMC 10417 dan *C. guilliermondii* dalam mengkonversi molases menjadi bioetanol dengan variasi kondisi fermentasi.

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan dua faktor. Faktor A yaitu *C. parapsilosis* strain AUMC 10417 (A1) dan *C. guilliermondii* (A2). Faktor B adalah variasi kondisi fermentasi meliputi agitasi 150 rpm dan tanpa aerasi (B1) dan agitasi 150 rpm dan aerasi 0,3 vvm selama 24 jam (B2). Proses fermentasi dilakukan secara *batch* pada suhu 30 °C selama 72 jam. Medium molases (600 ml, 24 °Brix, pH 4,5) yang telah di preparasi ditambahkan nutrisi diamonium hidrogen fosfat 1 g/L sebagai sumber nutrisi, kemudian diinokulasikan *yeast* *C. parapsilosis* strain AUMC 10417 dan *C. guilliermondii* sebanyak 60 ml (10% v/v) dari volume media yang digunakan. Pengamatan dilakukan secara periodik setiap 12 jam meliputi perubahan populasi *yeast*, kadar gula reduksi, dan kadar etanol.

Hasil penelitian bahwa produksi etanol oleh *C. parapsilosis* strain AUMC 10417 lebih tinggi daripada *C. guilliermondii*. Perlakuan tanpa aerasi oleh *C. parapsilosis* of AUMC 10417 menghasilkan etanol 5,33 g/L dengan produktivitas



0,11 g/L/jam dan Y p/s 0,20, sedangkan dengan aerasi menghasilkan etanol 3,60 g/L dengan produktivitas 0,10 g/L/jam dan Y p/s 0,28. Perlakuan tanpa aerasi oleh *C. guilliermondii* menghasilkan etanol 3,45 g/L dengan produktivitas 0,07 g/L/jam and Y p/s 0,13, sedangkan dengan perlakuan aerasi menghasilkan etanol 3,74 g/L dengan produktivitas 0,10 g/L/jam dan Y p/s 0,22.



## SUMMARY

**Productivity of Yeast *Candida Parapsilosis* Strain AUMC 10417 and *Candida guilliermondii* in Ethanol Fermentation using Molasses Medium;** Amelia Robby; 131710101026; 2017; 43 pages; Department of Agricultural Product of Technology, Faculty of Agricultural Technology, University of Jember.

Factors affected the bioethanol production i.e as substrate, yeast, and fermentation conditions. The availability of molasses substrate in Indonesia is quite abundant, each ton of sugar cane produces 2.7% molasses. Molasses has a low price and can be directly converted to ethanol with a little pretreatment and has a 50-60% sugar content. In generally, ethanol production using *Saccharomyces cerevisiae*, but yeast exploration efforts are used to determine its productivity, including *C. parapsilosis* strain AUMC 10417 and *C. guilliermondii* and optimization of fermentation conditions such as agitation and aeration. These research aimed to determine productivity of *C. parapsilosis* strain of AUMC 10417 and *C. guilliermondii* in converting molasses into bioethanol with variation of fermentation condition.

This research was conducted by using two factors. Factor A were *C. parapsilosis* strain AUMC 10417 (A1 factor) and *C. guilliermondii* (A2 factor). Factor B were variation of fermentation condition i.e agitation 150 rpm without aeration (B1) and agitation 150 rpm with aeration 0,3 vvm during 24 hours (B2). Fermentation processes were carried out batch condition at 30 °C for 72 hours. Medium molasses (600 ml, 24 °Brix, pH 4.5) was prepared by added 1 g/L diamonium hydrogen phosphate as a source of nutrients, then inoculated yeast *C. parapsilosis* strain AUMC 10417 or *C. guilliermondii* (10% v/v). Observations were conducted periodically every 12 hours including yeast population, reduction sugar, and ethanol content.

The results showed that ethanol produced of *C. parapsilosis* strain AUMC 10417 was more higher than *C. guilliermondii*. Without aeration by *C. parapsilosis* of AUMC 10417 resulted 5.33 g/L with the productivity was 0.11 g/L/h and Y p/s 0.20, while using aeration resulted 3.60 g/L with the productivity was 0.10 g/L/h and Y p/s 0.28. Without aeration ethanol produced by *C.*

*guilliermondii* 3.45 g/L with the productivity was 0.07 g/L/h and  $Y_{p/s}$  0.13, while using aeration resulted 3.74 g/L with the productivity was 0.10 g/L/h and  $Y_{p/s}$  0.22.



## PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT skripsi yang berjudul “Produktivitas Yeast *Candida parapsilosis* Strain AUMC 10417 dan *Candida guilliermondii* dalam Fermentasi Etanol Menggunakan Media Molases”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S-1) pada Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

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

1. Dr. Siswoyo Soekarno, S.TP., M.Eng selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember;
2. Ir. Giyarto, M.Sc., selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember sekaligus tim penguji yang memberikan saran dan evaluasi demi perbaikan penulisan skripsi;
3. Dr. Nurhayati, S.TP., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Utama sekaligus Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan, perhatian dalam bentuk nasihat dan teguran yang sangat berarti selama kegiatan bimbingan akademik, serta arahan selama penulisan skripsi;
4. Dr. Ir. Jayus, selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah memberikan bimbingan dan arahan selama penulisan skripsi;
5. Dr. Yuli Wibowo, S.TP., M.Si selaku tim penguji yang memberikan saran dan evaluasi demi perbaikan penulisan skripsi;
6. Seluruh karyawan dan dan teknisi Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan Hasil Pertanian dan Laboratorium Kimia dan Biokimia Hasil Pertanian Universitas Jember yang telah memberikan bimbingan dan informasi selama penelitian berlangsung;
7. Ibunda Hj. Istiqomah dan Aba H. Walid Mubarak (alm), serta seluruh keluarga besar tercinta yang telah memberikan do'a dan dukungan baik moril maupun materil selama ini;

8. Sahabat seperjuangan “Sahabat Bella”, Rohmah Munawaroh dan Rima Meila Sari telah memberikan semangat serta dukungan dalam menjalankan penelitian dan penyelesaian skripsi;
9. Keluarga besar Kapak THP B 2013, terimakasih atas segala dukungan dan semangat dalam segala perjalanan penulis menyelesaikan kuliah S-1 hingga selesai;
10. Keluarga besar HMPPI, HIMAGIHASTA, dan AGRITECHSHIP yang membuat penulis mendapatkan banyak pelajaran dan pengalaman berharga yang tidak didapatkan selama perkuliahan;
11. Rekan-rekan peneliti di Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember yang telah mewujudkan rasa kebersamaan dan turut serta merasakan jerih payah selama penelitian;
12. Semua pihak yang telah memberikan dukungan, bantuan, dan bimbingan selama selama menyelesaikan skripsi ini.

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

Jember, 9 November 2017

Penulis

**DAFTAR ISI**

	<b>Halaman</b>
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>HALAMAN MOTTO</b> .....	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	<b>v</b>
<b>HALAMAN PEMBIMBINGAN</b> .....	<b>vi</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>vii</b>
<b>RINGKASAN</b> .....	<b>viii</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>x</b>
<b>PRAKATA</b> .....	<b>xii</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xvi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xvii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xix</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	<b>1</b>
1.2 Perumusan Masalah .....	<b>2</b>
1.3 Tujuan Penelitian .....	<b>3</b>
1.4 Manfaat Penelitian .....	<b>3</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>4</b>
2.1 Fermentasi Etanol.....	<b>4</b>
2.2 Karakteristik Molases.....	<b>6</b>
2.3 <i>Candida parapsilosis</i> Strain AUMC 10417 .....	<b>9</b>
2.4 <i>Candida guilliermondii</i> .....	<b>10</b>
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b> .....	<b>12</b>
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian .....	<b>12</b>
3.2 Alat dan Bahan Penelitian .....	<b>12</b>
3.3 Pelaksanaan Penelitian .....	<b>12</b>
3.3.1 Rancangan Percobaan.....	<b>12</b>

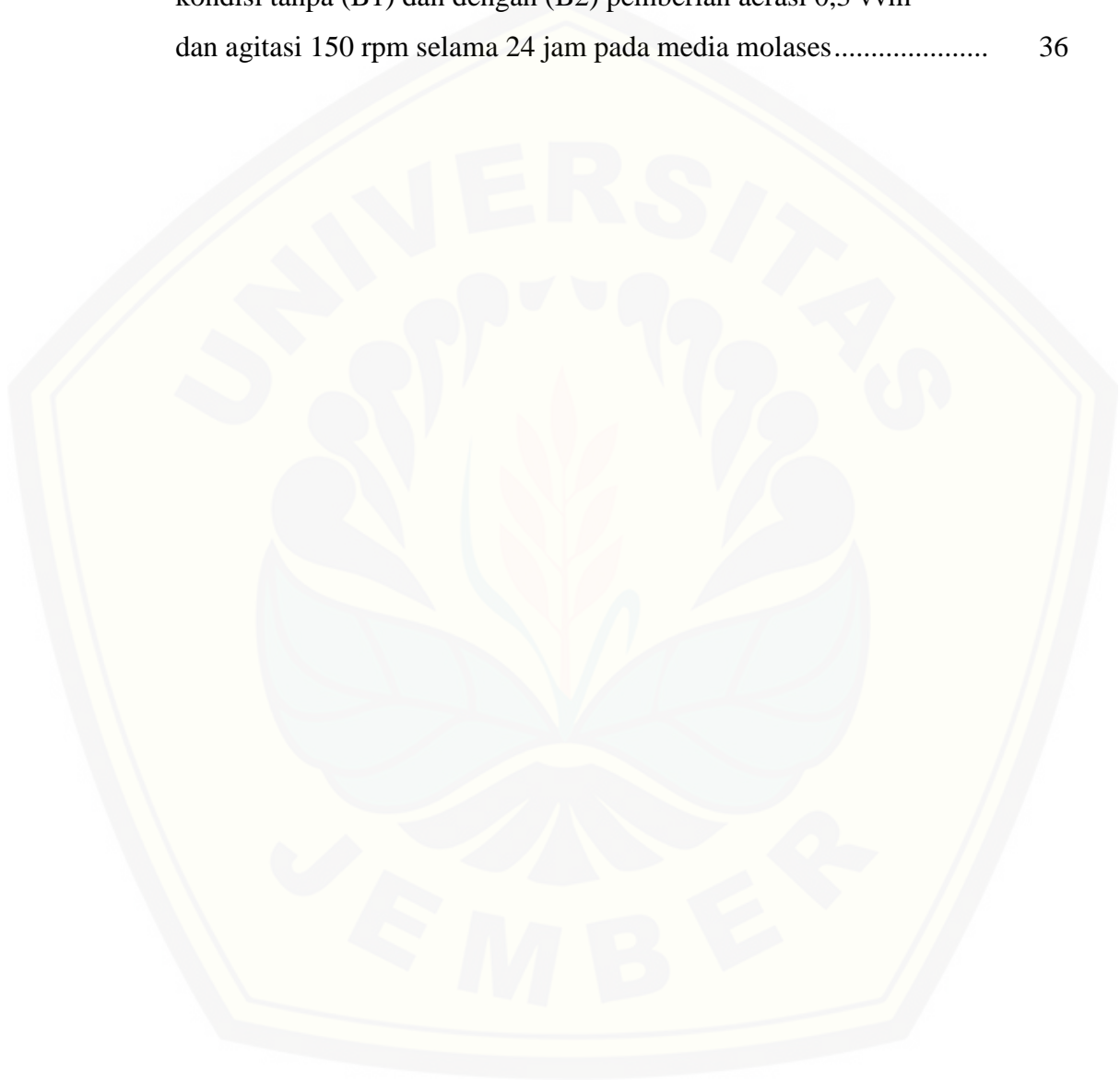
3.3.2 Tahapan Penelitian .....	13
3.4 Parameter Pengamatan .....	14
<b>3.5 Prosedur Analisis .....</b>	<b>15</b>
3.5.1 Populasi <i>yeast</i> .....	15
3.5.2 Kadar Gula Reduksi .....	16
3.5.2 Konsentrasi Etanol .....	18
<b>3.6 Analisis Data .....</b>	<b>21</b>
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>22</b>
<b>4.1 Profil Fermentasi Bioetanol oleh <i>Yeast</i> A1 dan A2 dengan dan Tanpa Pemberian Aerasi pada Media Molases .....</b>	<b>22</b>
4.1.1 Profil Fermentasi Etanol oleh <i>Yeast</i> A1 dengan dan Tanpa Pemberian Aerasi pada Media Molases .....	22
4.1.2 Profil Fermentasi Etanol oleh <i>Yeast</i> A2 dengan dan Tanpa Pemberian Aerasi pada Media Molases .....	24
<b>4.2 Kinetika Fermentasi Bioetanol oleh <i>Yeast</i> A1 dan A2 dengan dan Tanpa Pemberian Aerasi pada Media Molases .....</b>	<b>27</b>
4.2.1 Populasi <i>Yeast</i> .....	27
4.2.2 Laju Konsumsi Gula Pereduksi .....	28
4.2.3 <i>Growth Rate</i> .....	29
4.2.4 <i>Growth Yield</i> .....	30
4.2.5 Jumlah Etanol dan Produktivitas Etanol .....	31
4.2.6 Yield Etanol .....	35
4.2.7 Efisiensi Fermentasi .....	36
<b>BAB 5. PENUTUP .....</b>	<b>38</b>
5.1 Kesimpulan .....	38
5.2 Saran .....	38
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>39</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>44</b>

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
2.1 Komposisi molases .....	7
2.2 Kandungan vitamin .....	8
2.3 Konversi bahan baku menjadi bioetanol .....	9
3.1 Seri konsentrasi pengambilan larutan standart glukosa dan nilai pengukuran absorbansi.....	17
3.2 Seri konsentrasi pengambilan larutan standart etanol dan nilai pengukuran absorbansi.....	19
4.1 Jumlah populasi <i>yeast</i> A1 dan A2 selama fermentasi bioetanol pada kondisi tanpa (B1) dan dengan (B2) pemberian aerasi 0,3 vvm dan agitasi 150 rpm selama 24 jam pada media molases.....	27
4.2 Laju konsumsi gula pereduksi <i>yeast</i> A1 dan A2 selama fermentasi bioetanol pada kondisi tanpa (B1) dan dengan (B2) pemberian aerasi 0,3 vvm dan agitasi 150 rpm selama 24 jam pada media molases.....	28
4.3 <i>Growth rate yeast</i> A1 dan A2 selama fermentasi bioetanol pada kondisi tanpa (B1) dan dengan (B2) pemberian aerasi 0,3 vvm dan agitasi 150 rpm selama 24 jam pada media molases.....	29
4.4 <i>Growth yield</i> (Y x/s) pada <i>yeast</i> A1 dan A2 selama fermentasi bioetanol pada kondisi tanpa (B1) dan dengan (B2) pemberian aerasi 0,3 vvm dan agitasi 150 rpm selama 24 jam pada media molases.....	31
4.5 Kadar etanol <i>yeast</i> A1 dan A2 selama fermentasi bioetanol pada kondisi tanpa (B1) dan dengan (B2) pemberian aerasi 0,3 vvm dan agitasi 150 rpm selama 24 jam pada media molases.....	32
4.6 Produktivitas <i>yeast</i> A1 dan A2 selama fermentasi bioetanol pada kondisi tanpa (B1) dan dengan (B2) pemberian aerasi 0,3 vvm dan agitasi 150 rpm selama 24 jam pada media molases .....	34
4.7 Yield etanol (Y p/s) <i>yeast</i> A1 dan A2 selama fermentasi	



bioetanol pada kondisi tanpa (B1) dan dengan (B2) pemberian aerasi 0,3 vvm dan agitasi 150 rpm selama 24 jam pada media molases.....	35
4.8 Efisiensi <i>yeast</i> A1 dan A2 selama fermentasi bioetanol pada kondisi tanpa (B1) dan dengan (B2) pemberian aerasi 0,3 vvm dan agitasi 150 rpm selama 24 jam pada media molases.....	36



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
3.1 <i>Haemacytometer</i> .....	16
3.2 Kotak <i>haemacytometer</i> .....	16
3.3 Kurva standar gula pereduksi.....	18
3.4 Kurva standar etanol .....	20
3.5 Posisi penempatan larutan pada cawan conway dalam analisis etanol	21
4.1 Hubungan peningkatan jumlah populasi <i>yeast</i> (log sel/ml) dan etanol (g/L) dengan penurunan gula pereduksi (g/L) oleh <i>yeast</i> A1 dengan dan tanpa pemberian aerasi pada media molases.....	23
4.2 Hubungan peningkatan jumlah populasi <i>yeast</i> (log sel/ml) dan konsentrasi etanol (g/L) dengan penurunan gula pereduksi (g/L) oleh <i>yeast</i> A2 dengan dan tanpa pemberian aerasi pada media molases .....	25

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
<b>A. Kadar brix dan pH .....</b>	44
<b>B. Kadar Gula Pereduksi.....</b>	46
B.1 Nilai Absorbansi dan Kurva Standart Gula Reduksi .....	46
B.2 Data Kadar Gula Reduksi Selama Fermentasi .....	47
B.3 Laju Konsumsi Gula Pereduksi Selama Fermentasi .....	49
<b>C. Populasi Yeast .....</b>	51
<b>D. Data Perhitungan <i>Growth Rate</i>.....</b>	54
<b>E. Data Perhitungan <i>Growth Yield</i>.....</b>	56
<b>F. Jumlah Etanol dan Produktivitas Etanol Selama Fermentasi .....</b>	58
F.1 Nilai Absorbansi Etanol dan Kurva Standart .....	58
F.2 Data Jumlah etanol dan Produktivitas etanol Selama Fermentasi...	59
<b>G. Data Perhitungan Yield Etanol .....</b>	62
<b>H. Efisiensi Fermentasi .....</b>	64
<b>I. Kinetika Fermentasi .....</b>	66
<b>J. Dokumentasi Penelitian .....</b>	68

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Permintaan kebutuhan etanol dunia semakin meningkat. Pada tahun 2015 kebutuhan etanol dunia mencapai 529,16 juta liter, diperkirakan kebutuhan etanol akan meningkat setiap tahunnya (*Organisation for Economic Co-operation and Development*, 2015). Upaya peningkatan produktivitas etanol, untuk memenuhi kebutuhan masyarakat harus dilakukan. Pengembangan produksi etanol di Indonesia memiliki prospek yang baik, karena ketersediaan bahan baku yang melimpah seperti molases.

Ketersediaan molases di Indonesia cukup melimpah, diperkirakan setiap ton tebu menghasilkan 2,7% molases (El-gendy *et al.*, 2013; Mukhtar *et al.*, 2010). Produksi tebu di Indonesia pada tahun 2014 mencapai 2,6 juta ton (Direktorat Jenderal Perkebunan, 2014). Menurut Hidayat *et al.* (2006), molases memiliki harga yang murah dan dapat langsung dikonversi menjadi etanol dengan sedikit perlakuan dibandingkan dengan bahan-bahan lain dan tidak dapat dibentuk lagi menjadi sukrosa, namun masih memiliki kadar gula 50-60%. Kandungan gula yang tinggi pada molases dapat digunakan sebagai substrat dalam fermentasi etanol. Dengan keunggulan tersebut, molases lebih efektif dan efisien digunakan sebagai produksi etanol.

Jenis *yeast* memiliki peranan yang penting dalam produksi etanol karena berpengaruh terhadap kadar etanol yang dihasilkan. *Yeast* yang umum digunakan dalam produksi etanol adalah *Saccharomyces cerevisiae* (Azizah *et al.*, 2012). Beberapa strain *yeast* memiliki kemampuan produksi etanol yang berbeda. Beberapa hal yang mempengaruhi jenis *yeast* yang digunakan antara lain harus mampu menghasilkan kadar etanol yang tinggi, toleran terhadap kadar etanol yang tinggi, rentan dalam suhu tinggi, stabil selama kondisi fermentasi dan dapat bertahan hidup pada pH rendah (Suyandra, 2007). Produksi bioetanol dengan menggunakan *yeast Saccharomyces sp* yang ditumbuhkan pada media molases memiliki toleran alkohol yang berkisar antara 3-12% (Gupta *et al.*, 2009). Hasil penelitian Thammasittrong *et al.* (2013), etanol yang diproduksi oleh

*Saccharomyces cereviceae* NR1 yang ditumbuhkan dalam media molases menggunakan UVR56 dapat meningkatkan toleran alkohol hingga 15%.

Selain tidak tahan pada kadar alkohol yang tinggi, beberapa strain *yeast* tidak tahan terhadap kadar gula yang tinggi. Produksi etanol pada beberapa jenis strain termasuk *Saccharomyces cerevisiae* NCYC 431, *Saccharomyces cerevisiae* NCYC 975 dan *Saccharomyces diastaticus* NCYC 994 ditumbuhkan pada media molases gula beet dan jus beet. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Saccharomyces cerevisiae* NCYC 975 memiliki toleransi terhadap konsentrasi gula 20,8 % (Zayed dan Foley, 1987 dalam Jayus *et al.*, 2014). Pengembangan produksi etanol salah satunya adalah dengan eksplorasi jenis *yeast* yang digunakan untuk mengetahui produktivitasnya. Eksplorasi *yeast* yang dapat memfermentasi glukosa adalah jenis *yeast Candida guilliermondii* dan *Candida parapsilosis* strain AUMC 10417 yang ditumbuhkan dalam media molases dengan kadar gula yang tinggi mampu memfermentasi jenis gula salah satunya yaitu glukosa (Fitriyah, 2016). Berdasarkan hasil penelitian tersebut, menunjukkan bahwa perbedaan jenis *yeast* memiliki aktivitas yang berbeda dalam fermentasi etanol.

Kondisi pertumbuhan *yeast* akan mempengaruhi produksi bioetanol. Salah satunya adalah penggunaan aerasi dan agitasi. Menurut Arindhani (2015), pemberian aerasi sebesar 0,3 vvm pada produksi bioetanol dengan menggunakan *New Aule Baker Yeast* dalam media molases memiliki kadar bioetanol yang lebih tinggi dibandingkan dengan tanpa pemberian aerasi. Pemberian agitasi diikuti dengan aerasi akan menghomogenkan nutrisi yang terdapat di dalam media fermentasi. Pemilihan jenis *yeast* yang tepat dan kondisi fermentasi yang digunakan (tanpa dan dengan pemberian aerasi dan agitasi) diharapkan meningkatkan produktivitas etanol.

## 1.2 Perumusan Masalah

Produktivitas *yeast* dalam menghasilkan etanol berbeda-beda, tergantung jenis strain yang digunakan dan kondisi fermentasi. Penggunaan strain yang unggul dapat meningkatkan produksi etanol. Hasil penelitian menunjukkan bahwa

pemilihan strain dan kondisi fermentasi dapat meningkatkan produksi bioetanol (Thammasittirong *et al.*, 2013; Khongsay *et al.*, 2012; Yan *et al.*, 2009). Pada umumnya, fermentasi etanol menggunakan *S. cereviceae*, namun upaya kombinasi strain *yeast* diperlukan untuk menghasilkan jumlah etanol yang tinggi. Isolasi strain *yeast* yang telah dilakukan dan ditumbuhkan dari media molases, kemudian diidentifikasi menghasilkan strain *Candida* yang akan digunakan untuk mengetahui produktivitas etanol yang dihasilkan, sehingga perlu dilakukan penelitian produktivitas isolat *yeast* strain *Candida* yang telah diperoleh yaitu *Candida parapsilosis* strain AUMC 10417 dan *Candida guilliermondii* menggunakan media molases pada fermentasi etanol dengan menggunakan kondisi fermentasi yang berbeda yaitu pemberian agitasi dan aerasi.

### 1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Mengetahui produktivitas *Candida parapsilosis* strain AUMC 10417 dan *Candida guilliermondii* dalam fermentasi etanol.
2. Mengetahui pengaruh pemberian agitasi dan aerasi selama fermentasi terhadap produktivitas etanol oleh *Candida parapsilosis* strain AUMC 10417 dan *Candida guilliermondii*.

### 1.4 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

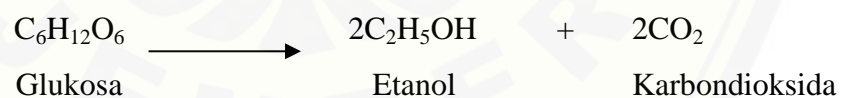
1. Meningkatkan produksi etanol dengan mengoptimalkan *yeast* strain yang digunakan.
2. Meningkatkan nilai guna limbah molases sebagai substrat etanol.
3. Menambah metode alternatif dalam produksi etanol.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Fermentasi Etanol

Bioetanol adalah etanol yang dihasilkan dari proses fermentasi glukosa dengan bantuan mikroorganisme (Firdausi *et al.*, 2013). Proses preparasi fermentasi etanol berbeda-beda, sesuai dengan sifat bahan baku yang digunakan. Bahan baku untuk fermentasi bioetanol dapat dalam bentuk monosakarida/disakarida (gula tebu, tetes tebu), pati (jagung, padi dan umbi-umbian) dan bahan selulosa (kayu dan limbah pertanian). Golongan monosakarida/disakarida biasanya memerlukan sedikit *pretreatment* dalam fermentasi, sedangkan substrat polisakarida (pati dan selulosa) harus dihidrolisis terlebih dahulu menjadi gula sederhana yang akan digunakan oleh *yeast* dalam fermentasi etanol (Riyanti, 2009).

Menurut Judoamidjojo *et al.* (1992), fermentasi etanol dilakukan dengan menggunakan *yeast* tertentu yang dapat mengubah glukosa menjadi etanol. *Yeast* akan melakukan metabolisme glukosa dan fruktosa membentuk asam piruvat melalui tahapan reaksi pada jalur Embden Meyerhof-Parnas. Asam piruvat yang dihasilkan akan mengalami dekarboksilasi menjadi asetaldehida yang kemudian mengalami dehidrogenasi menjadi etanol. Satu molekul glukosa akan membentuk 2 molekul etanol dan 2 molekul CO<sub>2</sub>. Reaksi pembentukan etanol dari glukosa berlangsung sesuai persamaan reaksi berikut ini :



Beberapa faktor yang mempengaruhi keberhasilan fermentasi etanol, antara lain suhu, konsentrasi inokulum, lama inkubasi, kondisi media fermentasi meliputi pH, oksigen, nutrient, konsentrasi media dan kondisi lingkungan lain seperti penambahan agitasi dan aerasi. Faktor-faktor tersebut perlu diperhatikan dan dikontrol selama fermentasi untuk mendapatkan hasil yang optimal (Judoamidjojo *et al.*, 1992).

*Yeast* memiliki suhu pertumbuhan maksimal, optimal, dan minimal. Suhu pertumbuhan optimal *yeast* berkisar antara 25° – 30 °C dan maksimal antara 35° -

47 °C. Suhu berpengaruh terhadap fermentasi melalui dua cara yaitu secara langsung dan tidak langsung. Secara langsung, suhu akan mempengaruhi pertumbuhan *yeast* dan aktivitas enzim yang dihasilkan. Secara tidak langsung, suhu akan mengurangi jumlah alkohol karena penguapan. Suhu yang baik untuk fermentasi alkohol adalah sekitar 31° – 33°C (Machfud *et al.*, 1989).

Konsentrasi biomassa mempengaruhi jumlah produk yang dihasilkan. Jumlah sel *yeast* yang semakin banyak, akan menghasilkan enzim dengan konsentrasi yang semakin tinggi. Hal tersebut akan menyebabkan semakin banyak substrat yang terkonversi menjadi alkohol. Namun, konsentrasi biomassa yang terlalu tinggi akan mengurangi kadar alkohol yang dihasilkan, jika jumlah substrat yang tersedia tidak mencukupi. Bila substrat dalam media telah habis digunakan, maka untuk mencukupi kebutuhan sel terhadap unsur karbon (C), *yeast* akan menggunakan alkohol untuk aktivitas metabolisemenya (Judoamidjojo *et al.*, 1992). Konsentrasi biomassa yang ditanam umumnya berkisar antara 3-10% dari volume media fermentasi (Hidayat *et al.*, 2006). Semakin tinggi konsentrasi substrat, maka konsentrasi alkohol yang dihasilkan akan semakin tinggi pula. Hal ini berlangsung sampai pada batas tertentu, karena konsentrasi substrat yang terlalu tinggi akan menghambat fermentasi (Judoamidjojo *et al.*, 1992). Menurut Xin *et al.*, (2003) melaporkan bahwa pada konsentrasi gula diatas 35% pertumbuhan mikroorganisme telah terhambat akibat tingginya tekanan osmotik medium fermentasi.

Derajat keasaman (pH) merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi produksi bioetanol yang dihasilkan. *Yeast* memiliki pH optimum, minimum dan maksimum. Derajat keasaman (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 (Smith, 2007). Derajat keasaman (pH), yang cocok bagi pertumbuhan *yeast* akan memproduksi etanol yang optimum.

Oksigen adalah salah satu zat nutrisi yang penting dalam proses fermentasi aerob. Mikroorganisme membutuhkan oksigen untuk pertumbuhannya dengan volume yang berbeda tergantung terhadap jenis mikroorganisme yang digunakan.



Kadar oksigen yang berbeda pada media akan berpengaruh terhadap ketersediaan oksigen dalam media tersebut. Namun, ketersediaan oksigen dapat menimbulkan dampak negatif berupa toksik dari oksigen dalam pembentukan radikal bebas pada mikroorganisme yang bersifat anaerob (Schlegel, 1999 dalam Noorvita *et al.*, 2016). *Yeast* akan tumbuh lebih baik dalam keadaan aerob, akan tetapi proses fermentasi gula lebih cepat dalam keadaan anaerob. Penambahan kadar oksigen dapat dilakukan dengan aerasi yang bertujuan untuk meningkatkan konsentrasi oksigen dalam bioreaktor yang dibutuhkan dalam pertumbuhan mikroorganisme. Menurut Khongsay *et al.* (2012), produktivitas etanol mengalami peningkatan dengan pemberian aerasi selama 2 hingga 4 jam pada awal fermentasi tetapi pemberian aerasi terlalu lama (hingga 6 jam) dapat menurunkan produktivitas etanol karena *yeast* mengalami reaksi respirasi untuk memperbanyak jumlah sel dan tidak melakukan reaksi fermentasi untuk memproduksi etanol.

Produksi bioetanol memiliki perbedaan lama waktu fermentasi bergantung pada jenis substrat yang digunakan, *yeast* dan kondisi fermentasi yang digunakan. Waktu fermentasi optimum *yeast* pada beberapa penelitian berkisar antara 48-72 jam (Dake *et al.*, 2010). Pada saat fase sel *yeast* 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 (Satyarana *et al.*, 2012). Semakin lama fermentasi akan mengakibatkan etanol yang dihasilkan akan dikonsumsi oleh sel khamir untuk memproduksi asam-asam organik, seperti asam laktat.

## 2.2 Karakteristik Molases

Molases adalah limbah dari pembuatan gula tebu (*Saccharum officinarum* L). Molases berupa cairan kental dan diperoleh dari tahap pemisahan kristal gula. Molases tidak dapat lagi dibentuk menjadi sukrosa namun masih mengandung gula dengan kadar tinggi 50-60% (sukrosa 30-40%, glukosa 4-9%, dan fruktosa 5-12%), asam amino, dan mineral. Molases bersifat asam dan memiliki kisaran pH antara 5,5 – 6,5 (Hidayat *et al.*, 2006). Tingginya kandungan gula dalam molases berpotensi dimanfaatkan sebagai bahan baku dalam bioetanol. Ketersediaan

molases di Indonesia cukup melimpah. Menurut Hambali *et al.* (2008), setiap 1 ton tebu akan menghasilkan 2,7% limbah molases. Pemilihan molases sebagai bahan baku dapat meningkatkan efektivitas dan efisiensi produksi bioetanol dan salah satu upaya pemanfaatan limbah, karena kandungan gula dalam molases masih cukup tinggi serta dapat langsung dikonversi menjadi etanol dengan sedikit *pretreatment*. Komposisi molases bervariasi sesuai dengan lokasi, varietas/jenis tebu, karakter tanah, iklim, dan metode pemrosesannya di pabrik gula. Secara garis besar rata-rata komposisi molases dalam berat kering ditunjukkan pada **Tabel 2.1**.

**Tabel 2.1** Komposisi molases/100 gram berat kering

Komponen	Persentase (%)
Total gula	46-52
Sukrosa	30-40
Dekstrosa	4-9
Fruktosa	5-12
Gula reduksi lain	1-5
Karbohidrat lain	2-5
Senyawa nitrogen	2-6
Asam-asam non-nitrogen	2-8
Abu	7-15
Lilin sterol dan fosfolipid	0,1-1

Sumber: Hidayat *et al.* (2006).

Selain mengandung bermacam-macam gula dan mineral, molases juga mengandung beberapa vitamin yang diketahui dapat menstimulasi aktivitas mikroba. Selain itu, molases juga memiliki pH yang bervariasi karena dipengaruhi oleh proses ekstraksi pengolahan gula yang dilakukan masing-masing pabrik, namun pH molases diketahui berkisar antara 5,5-6,5. Berbagai macam mikroorganisme juga dapat ditemukan di dalam molases, seperti *E. coli*, *Leuconostoc mesenteroids*, *Bacillus sp*, *Pseudomonas*, dan lain-lain. Kehadiran mikroorganisme tersebut akan memberikan efek negatif selama proses fermentasi karena dapat mempengaruhi yield dan produktivitas fermentasi (Kristiansen *et al.*, 2002). Adapun kandungan vitamin yang terdapat dalam molases dapat dilihat pada **Tabel 2.2**.

**Tabel 2.2.** Kandungan vitamin di dalam molases

Vitamin	Kandungan (mg/100 g)
Tiamin	0,16
Riboflavin	0,30
Piridoksin	1,15
Asam nikotinat	2,10
Asam pantetonat	3,60
Asam folat	0,06
Biotin	0,13
Inositol	158,0

Sumber : Smirnow dalam Kristiansen *et al.* (2002).

Selain itu, molases secara umum dapat dimanfaatkan sebagai sumber pakan ternak atau biomassa untuk fermentasi etanol, asam glutamat, asam laktat, asam sitrat, dan sebagainya. Molases saat ini secara luas telah digunakan sebagai media untuk fermentasi etanol karena harganya yang murah, siap tersedia, dan hanya membutuhkan sedikit *pretreatment* jika dibandingkan dengan bahan-bahan lain. Beberapa negara seperti India, Thailand, Brazil, Indonesia, dan lain-lain, banyak dijumpai pabrik-pabrik produksi gula, sehingga hasil samping seperti molases juga banyak dihasilkan. Melalui pemanfaatan molases sebagai media fermentasi pada akhirnya dapat meningkatkan nilai tambah dari molases (Takara *et al.*, 2007).

Molases yang diproduksi oleh industri gula terbagi menjadi dua macam, seperti *black strap molasses* merupakan residu dari kristalisasi nira tebu dan memiliki kandungan gula sebesar 50-60% dan *light test molasses* merupakan residu dari evaporasi nira tebu dan memiliki kandungan gula yang lebih rendah. Jenis molases yang biasanya digunakan sebagai media fermentasi adalah *black strap molasses* karena masih memiliki kandungan gula yang tinggi (Yusma, 1999). Selain itu, menggunakan molases dalam produksi etanol memberikan keuntungan tersendiri sebab keuntungan yang dapat dicapai adalah hingga sebesar 24%; rasio antara molases sebagai bahan baku (media) yang diperlukan dan bioetanol sebagai hasilnya memiliki rasio yang terendah jika dibandingkan dengan bahan lain (Nurdyastuti, 2008). Konversi mengenai bahan baku tanaman yang dapat dikonversi menjadi bioetanol secara rinci dapat dilihat pada **Tabel 2.3**.

**Tabel 2.3** Konversi bahan baku tanaman yang mengandung pati atau karbohidrat dan tetes menjadi bioetanol

Bahan Baku (/1000kg)	Kandungan Gula dalam Bahan Baku (kg)	Jumlah Hasil Konversi dalam bentuk Bioetanol (l)	Perbandingan Bahan Baku dan Bioetanol
Ubi Kayu	250-300	166,6	6,5 : 1
Ubi Jalar	150-200	125	8 : 1
Jagung	600-700	200	5 : 1
Sagu	120-160	90	12 : 1
Tetes tebu	500	250	4 : 1

Sumber: Nurdyastuti (2008).

### 2.3 Karakteristik *Candida parapsilosis* Strain AUMC 10417

*Candida parapsilosis* merupakan mikroorganisme yang biasa ditemukan di lingkungan. Menurut Asbeck *et al.* (2009), *C. parapsilosis* dapat di isolasi dari tanah, air laut maupun tanaman. Menurut Ridawati *et al.*, (2010), *C. parapsilosis* termasuk salah satu *yeast* osmofilik yang diisolasi dari makanan Indonesia dengan konsentrasi gula tinggi yaitu selai stroberi, selai nanas dan susu dari Sumatera Selatan. Menurut Kreger-van (1987) dalam Fitriyah (2016), genus *Candida* memiliki bentuk sel bervariasi dari bulat, oval, silindris hingga memanjang, jarang apikulat, ogival, triangular atau bentuk botol dengan atau tanpa pseudohifa. Reproduksi aseksual dengan pertunasan multilateral. Genus *Candida* tidak membentuk askospora, arthrospora, teliospora, atau pun ballistospora, tetapi klamidospora mungkin terbentuk pada beberapa spesies. Tidak memiliki pigmen karotenoid sehingga berwarna putih hingga krem.

Menurut Obasi *et al.* (2014), hasil diisolasi dan identifikasi *yeast* yang fermentasi jus jeruk salah satunya adalah *Candida spp.* *Yeast* yang termasuk dalam *Candida spp.* memiliki karakteristik fisiologi seperti membentuk atau tidak membentuk pseudomicellium atau true mycelium, membentuk atau tidak membentuk pelikel, mampu tumbuh pada 50% (w/v) glukosa, tumbuh pada 3% etanol (v/v), tumbuh pada 3% (w/v) NaCl, tumbuh atau tidak tumbuh pada 10% (w/v) NaCl, tumbuh pada suhu 30°C, 35°C, 37°C dan 42°C. *Yeast* tersebut diidentifikasi berdasarkan uji asimilasi karbon menggunakan kit API 20C Aux. Hasil uji asimilasi karbon *C. parapsilosis* yaitu mampu mengasimilasi D-glucose,

glyserol, calcium 2-keto gluconate, D-xylose, adonitol, xylitol, D-galactose, Methyl- $\alpha$ -D glucopyranoside, N-acetyl-glucosamine, D-maltose, D-saccharose, D-trehalose, D-melezitose. *Candida parapsilosis* tidak dapat mengasimilasi L-arabinose, inositol, sorbitol, D-cellobiose, D-lactose, D-raffinose.

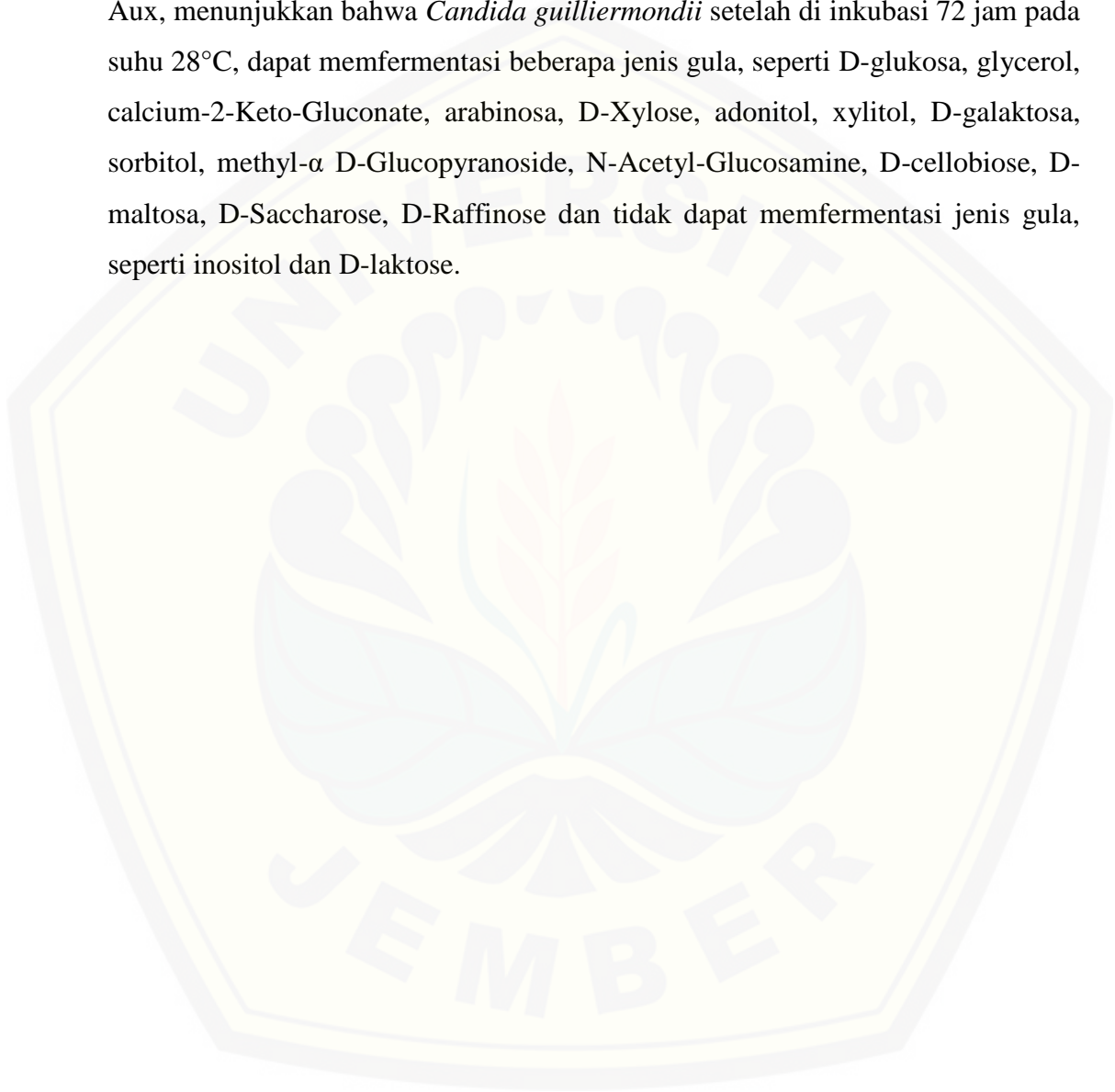
#### 2.4 Karakteristik *Candida guilliermondii*

*Yeast* merupakan mikroorganisme golongan fungi yang berbentuk uniseluler yang memiliki daya tahan yang tinggi oleh adanya antibiotik, dan memiliki ketahanan terhadap garam, asam dan gula (Roostita, 1993). Menurut Fardiaz (1992), ditinjau dari mikroorganismenya, mikroorganisme yang hidup pada konsentrasi gula tinggi termasuk mikroba osmofilik. Hampir semua *yeast* yang bersifat osmofilik termasuk dalam jenis *Saccharomyces*, yaitu *Saccharomyces rouxii*, *Saccharomyces rouxiivar*, *Saccharomyces polymorphus* dan *Saccharomyces nelis*. Pada penelitian Ridawati *et al.* (2010), dilakukan isolasi pada *yeast* osmofilik dari makanan Indonesia dengan konsentrasi gula tinggi. Jenis *yeast* yang diidentifikasi yaitu *Candida metapsilosis*, *Candida etchelsii*, *Candida parapsilosis*, *Candida orthopsilosis* dan *Sterigmatomyces halophilus*.

Masing-masing *yeast* mempunyai batas aktivitas air minimal dan kisaran aktivitas air untuk pertumbuhan berbeda-beda, yaitu dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti kandungan nutrisi substrat, pH, suhu, tersedianya oksigen, ada tidaknya senyawa penghambat, dan sebagainya. Kisaran suhu untuk pertumbuhan kebanyakan *yeast* pada umumnya hampir sama dengan kapang, yaitu dengan suhu optimum 25-30°C dan suhu maksimum 35-46°C. Kebanyakan *yeast* lebih menyukai tumbuh pada keadaan asam, yaitu pada pH 4-4,5 dan tidak dapat tumbuh dengan baik pada medium alkali, kecuali jika telah beradaptasi. *Yeast* tumbuh baik pada kondisi aerobik, tetapi yang bersifat fermentatif dapat tumbuh secara anaerobik meskipun lambat (Fardiaz, 1992).

Karakteristik morfologi *Candida guilliermondii* terbagi atas dua yaitu karakteristik makroskopis dan mikroskopis. Karakteristik makroskopis *Candida guilliermondii* memiliki bentuk koloni bulat, warna koloni putih keruh, sedangkan karakteristik mikroskopis yang dimiliki meliputi bentuk sel silinder, dan ada

pertunasan dengan tipe multilateral. Menurut Fitriyah (2016), *Candida guilliermondii* memiliki karakteristik fisiologi dengan pengamatan suhu pertumbuhan yang cukup baik pada 30°C dan 40°C, sedangkan pH pertumbuhan optimal 5. Dengan pengukuran uji fermentasi gula menggunakan kit API 20C Aux, menunjukkan bahwa *Candida guilliermondii* setelah di inkubasi 72 jam pada suhu 28°C, dapat memfermentasi beberapa jenis gula, seperti D-glukosa, glycerol, calcium-2-Keto-Gluconate, arabinosa, D-Xylose, adonitol, xylitol, D-galaktosa, sorbitol, methyl- $\alpha$  D-Glucopyranoside, N-Acetyl-Glucosamine, D-cellobiose, D-maltosa, D-Saccharose, D-Raffinose dan tidak dapat memfermentasi jenis gula, seperti inositol dan D-laktose.



## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan Hasil Pertanian dan Laboratorium Kimia dan Biokimia Pangan Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember pada bulan Januari-Agustus 2017.

### 3.2 Alat dan Bahan Penelitian

#### 3.2.1 Alat Penelitian

Alat penelitian yang digunakan yaitu *glass ware*, *Laminar Air Flow* (LAF) merek Crume SA 9005-FL, fermentor *applicon biotechnology* kapasitas 1 L, autoklaf Sturdy SA-300VL, inkubator merk Heracus Instruments–tipe B-6200, shaking inkubator-wise tube, *hand* refraktometer ATAGO, cawan conway, spektrofotometer Genesys 10S UV-VIS, pH meter HANNA, mikroskop, dan *haemocytometer*.

#### 3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan meliputi bahan baku, bahan kimia dan kultur *yeast*. Bahan baku molases diperoleh dari PTPN XI pabrik Pengolahan Gula Djatiroto. Bahan kimia yang digunakan antara lain diamonium hidrogen fosfat ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>), NaOH (PA), asam sitrat (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>), metilen blue 0,1%, fenol (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>O) 5%, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, reagen *dinitrosalisilic acid* (DNS), K-Na Tartarat, pepton, glukosa, media MEA (Merck), dan MEB (Merck). Kultur *yeast* yang digunakan adalah *Candida parapsilosis* strain AUMC 10417 dan *Candida guilliermondii* yang diperoleh dari Laboratorium *Center for Development of Advanced Sciences and Technology* (CDAST) Universitas Jember.

### 3.3 Pelaksanaan Penelitian

#### 3.3.1 Rancangan Percobaan

Penelitian dilakukan dengan dua variasi perlakuan yaitu jenis strain *yeast* (A) dan variasi kondisi fermentasi (B). Adapun jenis *yeast* yang digunakan yaitu *Candida parapsilosis* strain AUMC 10417 (A1) dan *Candida guilliermondii*

(A2). Kondisi fermentasi meliputi agitasi 150 rpm dan tanpa aerasi (B1) dan agitasi 150 rpm dan aerasi 0,3 vvm selama 24 jam (B2).

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 Tahapan Penelitian

#### a. Preparasi Media Fermentasi

Media yang digunakan adalah molases yang diperoleh dari limbah industri pengolahan gula tebu di PG. Djatiroto. Molases yang diperoleh memiliki kadar brix yang tinggi yaitu 80 °Brix. Molases di encerkan menggunakan aquadest hingga 24 °Brix. pH awal molases diturunkan hingga 4,5 dengan asam sitrat. Molases kemudian dipanaskan hingga mencapai suhu 90°C, kemudian diturunkan hingga suhu 30°C dan di diamkan hingga 24 jam, sehingga terpisah padatan yang tidak larut dalam molases, kemudian dilakukan penyaringan untuk memisahkan antara padatan tidak terlarut dan filtrat molases. Molases ditambahkan diamonium hidrogen phospat  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  sebanyak 1 gram/L sebagai sumber nutrisi. Molases yang telah dipreparasi, kemudian disterilisasi dengan menggunakan suhu 121°C selama 15 menit.

#### b. Preparasi Starter

Beberapa tahapan proses dalam preparasi starter antara lain pembuatan media MEA untuk peremajaan, pembuatan media *Yeast Extract Malt Extract* (YM), dan pembuatan starter. Media MEA sebanyak 2,4 gram dibuat dengan melarutkan ke dalam 50 ml aquadest. Media MEA yang telah dibuat kemudian dimasukkan ke dalam 10 tabung reaksi (@5 ml) dan di sterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Media MEA yang telah steril kemudian diletakkan dalam keadaan miring (agar miring).

Pembuatan media YM dilakukan dengan menyiapkan *yeast extract* 3 g/L, pepton 5 g/L, *malt extract broth* 3 g/L dan glukosa 10 g/L dalam erlenmeyer. Media YM dilarutkan dalam aquadest dengan volume media 10% (v/v) dari



volume substrat. Media YM kemudian ditutup dengan aluminium foil dan disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

Pembuatan starter dilakukan dengan meremajakan masing-masing kultur *Candida parapsilosis* strain AUMC 10417 maupun *Candida guilliermondii* dengan menginokulasikan ke agar miring MEA dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 48 jam. Setelah proses peremajaan, kultur pada media agar miring diinokulasikan dalam media YM. Kemudian diinkubasi pada dalam *shaking incubator* pada suhu 30°C dengan agitasi 150 rpm selama 24 jam.

c. Produksi Bioetanol

Produksi bioetanol dilakukan secara *batch*. Sebanyak 600 ml molases dengan derajat brix 24 °Brix yang telah dipreparasi, kemudian ditambahkan starter sesuai dengan perlakuan yaitu *yeast* yaitu *Candida parapsilosis* strain AUMC 10417 dan *Candida guilliermondii* sebanyak 60 ml (10% v/v) dari volume media yang digunakan. Kemudian dilakukan pengaturan tingkat aerasi pada fermentor sesuai dengan perlakuan yaitu fermentasi tanpa aerasi dan fermentasi pada tingkat aerasi 0,3 vvm selama 24 jam. Fermentasi dilakukan secara *batch* pada suhu 30 °C selama 72 jam. Pengamatan dilakukan secara periodik setiap 12 jam meliputi perubahan populasi *yeast*, kadar gula reduksi, dan kadar etanol.

### 3.4 Parameter Pengamatan

Parameter pengamatan dalam penelitian ini yaitu pengamatan mikrobiologi dan kimia. Parameter mikrobiologi yang diamati dalam penelitian ini yaitu populasi *yeast* dengan metode *counting chamber* menggunakan *haemocytometer* (Lay, 1994), kadar etanol menggunakan metode *Chamber Conway* (Kartika *et al.*, 1992), dan kadar gula reduksi metode *dinitrosalistic acid* (DNS) (Miller, 1959 dalam Suhartini, 2015).

### 3.5 Prosedur Analisis

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

Perhitungan populasi yeast menggunakan metode *Counting Chamber* dengan alat *haemocytometer* Medium fermentasi yang akan dianalisa sebanyak 1 ml dilakukan pengenceran menggunakan aquades steril hingga pengenceran  $10^2$ . Kemudian dari pengenceran tersebut diambil 0,5 ml dan ditambahkan 0,5 ml *metilen blue* 0,1%. Setelah itu dipindahkan dengan mikro pipet ke *haemocytometer*, kemudian kotak-kotak yang berisi sel dicari serta populasi yeast diamati di bawah mikroskop dengan menggunakan perbesaran terkecil terlebih dahulu, yaitu 4x10. Jika kotak-kotaknya telah ditemukan yeast diamati dengan perbesaran yang lebih besar agar lebih jelas terlihat yaitu 10x10 kemudian 40x10. Jumlah yeast yang berada di kotak ukuran kecil dihitung dengan menggunakan *counter*. Perhitungan dilakukan secara representatif pada 5 kotak, jumlah yeast dicatat dan dihitung kepadatannya. Berikut rumus perhitungan populasi yeast:

Luas kotak yang dihitung =  $p \times l$

Volume kotak yang dihitung (kotak sedang) = luas kotak yang dihitung  $\times$  kedalaman

Jumlah sel/ml dalam kotak sedang:

$$\frac{\text{Jumlah sel (sel)}}{\text{Volume kotak yang dihitung (ml)} \times \text{jumlah kotak yang dihitung}} \times \text{FP sampel} \times \text{FP metilen blue}$$

Keterangan:

FP : Faktor pengenceran

Ukuran kotak sedang pada *haemocytometer*:

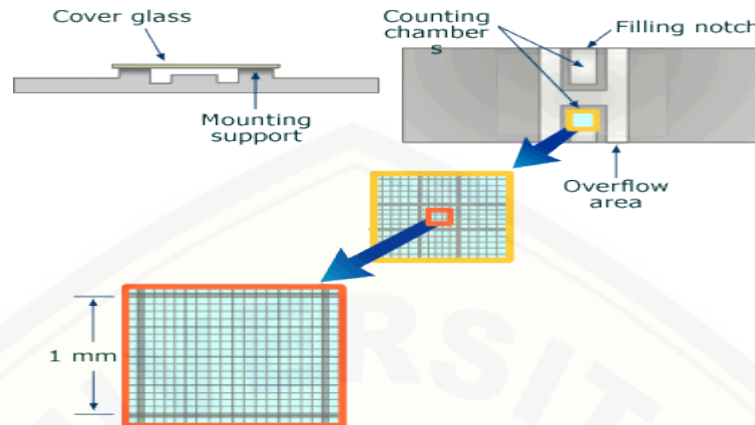
Kotak sedang:

Panjang = 0,2 mm

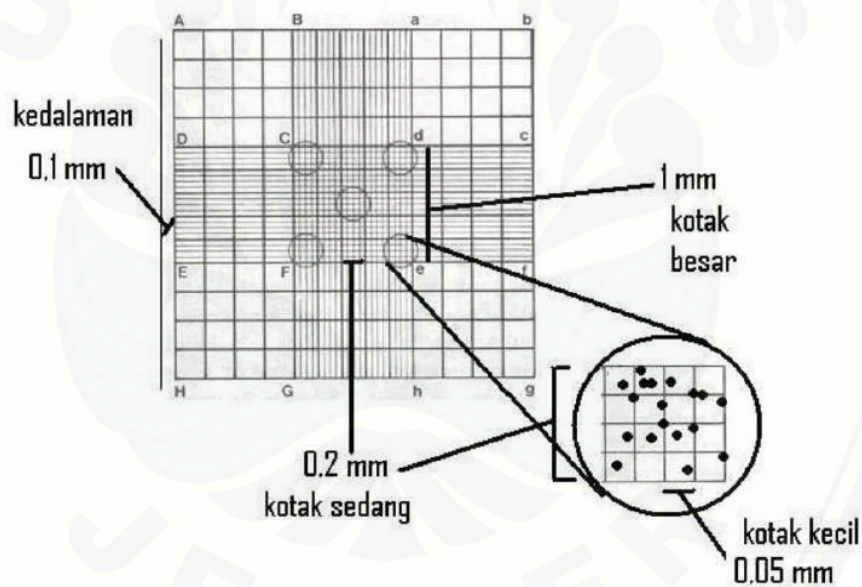
Lebar = 0,2 mm

Tinggi = 0,1 mm

Gambar *haemocytometer* dan kotak-kotaknya dapat dilihat pada **Gambar 3.1** dan **Gambar 3.2**.



**Gambar 3.1** Haemacytometer  
Sumber: Simulab (2017)



**Gambar 3.2** Kotak haemacytometer  
Sumber: Laboratorium Medik (2017)

### 3.5.2 Penentuan Kadar Gula Reduksi (Miller, 1959 dalam Arindhani, 2015).

Tahapan penentuan kadar gula reduksi menggunakan metode *dinitrosalisilic acid* DNS meliputi pembuatan reagen *dinitrosalisilic acid* (DNS), pembuatan kurva standart dan penentuan kadar gula reduksi sampel.

a. Pembuatan reagen *dinitrosalisilic acid* (DNS)

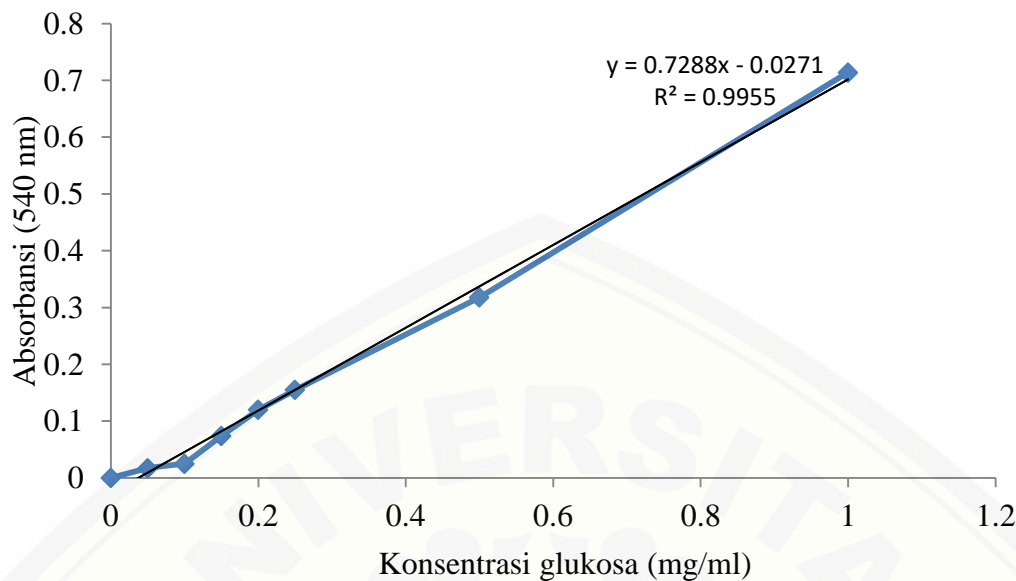
Sebanyak 1,76 gram NaOH, 2 gram DNS dan 60 g K-Na Tartarat ditambahkan 100 ml aquades dan diaduk hingga larut. Setelah itu larutan ditera hingga 200 ml dan disimpan dalam botol coklat.

b. Pembuatan kurva standart.

Kurva standar diperoleh dengan cara membuat seri konsentrasi glukosa dari larutan glukosa standart 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 5 ml aquades dan divorteks hingga homogen. Selanjutnya, larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 540 nm. Kurva standar diperoleh dengan memplotkan absorbansi dan konsentrasi glukosa. Seri pengambilan konsentrasi larutan standart glukosa dan nilai pengukuran absorbansi dapat dilihat pada **Tabel 3.1** serta kurva standart gula reduksi dapat dilihat pada **Gambar 3.3**.

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

Volume pengambilan glukosa standart (ml) [0,1%]	Aquadest (ml)	Konsentrasi glukosa (mg/ml)	Absorbansi (540 nm)
0	1	0	0
0,05	0,95	0,05	0,017
0,1	0,9	0,1	0,025
0,15	0,85	0,15	0,074
0,2	0,8	0,2	0,12
0,25	0,75	0,25	0,155
0,5	0,5	0,5	0,318
1	0	1	0,714



**Gambar 3.3** Kurva standar gula pereduksi

c. Penentuan kadar gula reduksi.

Sampel yang akan dianalisis sebanyak 1 ml diencerkan dengan aquadest hingga seri pengenceran  $10^2$ . Kemudian dari pengenceran tersebut diambil sebanyak 0,5 ml sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 ml reagen DNS. Semua tabung dididihkan dalam penangas air selama 15 menit, didinginkan dan ditambah 5 ml aquades. Larutan dihomogenisasi dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 540 nm. Jumlah gula reduksi sampel dihitung dari perbandingan persamaan linear yang diperoleh dari kurva standart dengan volume pengambilan sampel. Kadar gula reduksi yang terdapat di dalam sampel dihitung dengan memasukkan nilai absorbansi pada persamaan regresi linier  $y = bx + a$ .

$$\text{Jumlah gula pereduksi} = \frac{x}{\text{volume pengambilan}} \times \text{FP}; x = \frac{y + 0.0271}{0.7288}$$

$y$  = Absorbansi sampel; FP = Faktor Pengenceran

### 3.5.3 Perhitungan Konsentrasi Etanol (Kartika *et al.*, 1992).

Analisis etanol menggunakan metode *Chamber Conway* membutuhkan 3 larutan, yaitu larutan A, larutan B, dan larutan C. Larutan A merupakan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  jenuh yang diperoleh dengan menimbang 10 g  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  lalu dilarutkan dengan 50 ml aquades. Larutan B dibuat dengan melarutkan 0,74 g  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  dalam 30 ml

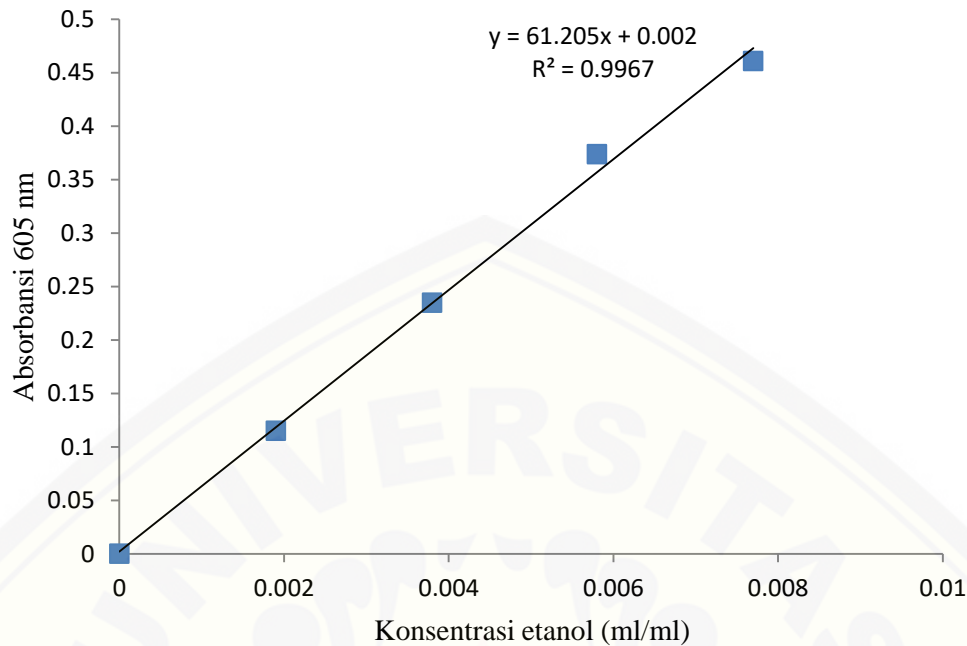
aquades lalu ditambah 56 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat secara perlahan lahan dan diaduk dengan magnetik stirer. Larutan B diencerkan hingga 100 ml. Larutan C merupakan larutan stok yang dibuat dari 1 ml etanol 96% yang ditera aquades hingga 100 ml. Pembuatan kurva standart dibuat dengan cara menambahkan campuran berikut ke dalam cawan *conway*:

- a. 2 ml Larutan B + 1 ml aquades (blanko)
- b. 2 ml Larutan B + 0,2 ml larutan C + 0,8 ml aquades
- c. 2 ml Larutan B + 0,4 ml larutan C + 0,6 ml aquades
- d. 2 ml Larutan B + 0,6 ml larutan C + 0,4 ml aquades
- e. 2 ml Larutan B + 0,8 ml larutan C + 0,2 ml aquades
- f. 2 ml Larutan B + 1 ml larutan C

Sebelum cawan *conway* ditutup, ditambahkan 1 ml larutan A dan digoyangkan untuk mencampurkan larutan A dan C. Cawan *conway* diinkubasi selama 2 jam pada suhu kamar. Setelah 2 jam, 2 ml aquades ditambahkan dalam larutan B dan diamati absorbansinya pada panjang gelombang 605 nm. Konsentrasi etanol yang terdapat di dalam sampel dihitung dengan memasukkan nilai absorbansi pada persamaan regresi linier  $y = bx + a$  (Kartika *et al.*, 1992). Prosedur penggunaan cawan *conway* dapat dilihat pada **Gambar 3.5**. Nilai dari hasil pengukuran absorbansi larutan standar etanol dan kurva standar etanol dapat dilihat pada **Tabel 3.2** dan **Gambar 3.4**.

**Tabel 3.2** Seri konsentrasi pengambilan larutan standar etanol dan nilai pengukuran absorbansi

Volume Pengambilan (ml)	Aquadest (ml)	Konsentrasi etanol (ml/ml)	Absorbansi (605 nm)
0	1	0	0
0,2	0,8	0,0019	0,115
0,4	0,6	0,0038	0,235
0,6	0,4	0,0058	0,374
0,8	0,2	0,0077	0,461



**Gambar 3.4** Kurva standar etanol

Setelah konsentrasi etanol sampel diketahui, kemudian dilakukan beberapa perhitungan lanjutan, seperti berikut:

- Konsentrasi etanol (ml/ml) =  $\frac{y-0.002}{61,205}$
- Konsentrasi etanol (g/ml) =  $\frac{y-0.002}{61,205} \times \text{Berat Jenis}$
- Konsentrasi etanol (g/L) = Konsentrasi etanol (g/ml)  $\times \frac{1000 \text{ ml}}{1 \text{ L}}$
- 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* (/jam) =  $\frac{\text{Ln populasi yeast saat fase log} - \text{Ln populasi yeast jam ke 0}}{\text{Lama fase log ( jam ke T2 - jam ke T0 )} (\Delta t)}$
- Growth yield* ( $\frac{\log cfu/ml}{\frac{g}{L}}$ ) =  $\frac{\text{populasi yeast jam ke x} - \text{populasi yeast jam ke 0} (\Delta x)}{\text{gula reduksi jam ke 0} - \text{gula reduksi jam ke x} (\Delta s)}$

disebabkan oleh lama fermentasi yang disebabkan semakin menurunnya substrat yang dikonversi menjadi etanol. Menurut Fauzi *et al.* (2009), beberapa faktor yang mempengaruhi efisiensi fermentasi tersebut adalah temperatur, pH, konsentrasi media, konsentrasi inokulum, nutrisi, ketersediaan oksigen, lama fermentasi serta kondisi lain, seperti pemberian agitasi dan aerasi. Hal tersebut menunjukkan bahwa penurunan produktivitas dan Yield ( $Y_p/s$ ) yang dihasilkan selama fermentasi seperti penjelasan dalam sub bab sebelumnya.





## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Produktivitas *C. parapsilosis* strain AUMC 10417 dalam mengkonversi etanol menggunakan media molases sebesar 0,11 g/L/jam dengan jumlah etanol 5,33 g/L dan yield 0,20, sedangkan produktivitas *C. guilliermondii* sebesar 0,07 g/L/jam dengan jumlah etanol 3,45 g/L dan yield 0,13 pada kondisi fermentasi tanpa pemberian aerasi dengan lama fermentasi 48 jam.

Pemberian aerasi 0,3 vvm dan agitasi 150 rpm menurunkan jumlah etanol yang dihasilkan oleh *C. parapsilosis* strain AUMC 10417 yaitu 3,60 g/L dengan produktivitas 0,10 g/L/jam dan yield 0,28, sedangkan pada *C. guilliermondii* mampu meningkatkan jumlah etanol yang dihasilkan oleh menjadi 3,74 g/L dengan produktivitas 0,10 g/L/jam dan yield 0,22 dengan waktu fermentasi 36 jam.

### 5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan kombinasi *yeast* yang potensial untuk produksi etanol. Selain itu, perlu dilakukan pengoptimalan kondisi fermentasi dengan perbedaan tingkat aerasi dan agitasi yang digunakan, sehingga dapat menghasilkan jumlah etanol yang optimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Alfenore, S., Cameleyre, X., Benbadis, L., Bideaux, C., Uribe Larrea, J.L., Goma, C., Molina-Jouve, C., dan Guillouet, S.E. 2004. Aeration Strategy: A Need for Very High Ethanol Performance in *Saccharomyces cerevisiae* Fed-Batch Process. *Applied Microbiology Biotechnology*. Vol. (63): 537–542. Angel
- Arindhani, S. 2015. “Produksi Bioetanol Menggunakan Ragi Roti Instan dengan dan Tanpa Pemberian Aerasi Pada Media Molases”. *Skripsi*. Jember: Universitas Jember
- Asbeck, E.V.C., K.V. Clemons., dan D.A. Steven. 2009. *Candida parapsilosis*: a review of its epidemiology, pathogenesis, clinical aspects, typing and antimicrobial susceptibility. *Critical Reviews in Microbiology*. Vol. 35(4): 283–309
- Azizah, N., A. N. Al- Baarri., S. Mulyani. 2012. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kadar Alkohol, pH, dan Produksi Gas pada Proses Fermentasi Bioetanol dari Whey dengan Substitusi Kulit Nanas. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. Vol. 1 (2): 72-77.
- Buglass, A.J., 2011. *Handbook of Alcoholic Beverages: Technical, Analytical and Nutritional Aspects*. United States: John Wiley&Sons.
- Dake, M. S., Amrapurkar, 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.
- Direktorat Jenderal Perkebunan. 2016. *Statistik Perkebunan Indonesia 2013-2015 Tebu*. Jakarta: Kementerian Pertanian
- El-Gendy, N. S., Madian, H. R., dan Abu-Amr, S. S. 2013. Design and Optimization of a Process for Sugarcane Molases Fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* Using Response Surface Methodology. *International Journal of microbiology*. Vol.2013. Article ID 815631: 1-9.
- Estela-Escalante, W., Rychtera, M., Melzoch, K., dan Hatta-Sakoda, B. 2012. Effect of Aeration on The Fermentative Activity of *Saccharomyces Cerevisiae* Cultured In Apple Juice. *Revista Mexicana de Ingenieria Quimica*. Vol. 11(2): 211-226
- 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., Samodea, B.N., dan Hargono. 2013. Pemanfaatan Pati Singkong Karet (*Manihot glaziovii*) untuk Produksi Bioetanol *Fuel Grade* Melalui Proses Distilasi-Dehidrasi Menggunakan Zeolit Alam. *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri*. Vol. 2 (3): 76-81.
- Fitriyah, I. 2016. "Isolasi dan Identifikasi *Yeast* Osmofilik Asal Tetes Tebu". *Skripsi*. Jember: Universitas Jember
- Gupta, N., Dubey, S., dan Tewari, L. 2009. High Efficiency Alcohol Tolerant *Saccharomyces* Isolates of *Phoenix dactylifera* for Bioconversion of Sugarcane Juice Into Bioethanol. *Journal of Scientific and Industrial Research*. Vol. 68: 401-405.
- Hambali, E., Mujdalipah, S., Tambunan, H.A., Pattiwiri, A.W., dan Hendroko, R. 2008. *Teknologi Bioenergi*. <https://books.google.co.id/books?id=7a4H9357oIsC&printsec=frontcover&dq=teknologi+bioenergi&hl=id&sa=X&ved=0ahUKEwiPvu3gws3MAhWJjJQKHfTACQYQ6AEIGjAA#v=onepage&q=teknologi%20bioenergi&f=false> [10 Mei 2016]
- Hidayat, N., Padaga, M.C., dan Suhartini, S. 2006. *Mikrobiologi Industri*. Yogyakarta: Andi offset.
- Jayus., B. Piluharto., dan Nurhayati. 2014. *Karakterisasi Fenotip Saccharomyces cereviceae Strain ATCC 9763 dan FNCC 3210 untuk Produksi Bioetanol pada Media Molases Tebu*. Laporan Penelitian PUPT. Jember: Universitas Jember.
- Jayus., Nurhayati., A. Mayzuhroh, S. Arindhani dan C. Caroenchai. 2016. Studies on Bioethanol Production of Commercial Baker's and Alcohol *Yeast* under Aerated Culture Using Sugarcane Molasses as The Media. *J. Elsevier*. Vol 9: 493-499
- 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.
- Khongsay, N., Laopaiboon, L., Jaisil, P., dan Laopaiboon, P. 2012. Optimization of Agitation and Aeration for Very High Gravity Ethanol Fermentation

from Sweet Sorghum Juice by *Saccharomyces cerevisiae* Using an Orthogonal Array Design. *J. Energies*. Vol. 5: 561-576.

Kristiansen, B., Linden, J., dan Matthey, M. 2002. *Citric Acid Biotechnology*. London: CRC Press.

Laboratorim Medik. Pemeriksaan Hitung Jumlah Leukosit (Kamar Hitung Neubauer). <http://www.infolabmed.com/2017/04/pemeriksaan-hitung-jumlah-leukosit.html>. [Diakses pada 22 Januari 2017]

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=gb\\_s\\_navlinks\\_s](https://books.google.co.id/books?id=P3enKvasnywC&dq=microbial+growth+rate+is&source=gb_s_navlinks_s) [diakses 23 September 2017].

Lin, Y., Zhang, W., Li, C., Sakakibara, K., Tanaka, S., Kong, H., 2012. Factors Affecting Ethanol Fermentation Using *Saccharomyces cerevisiae* BY4742. *Biomass and Energy*. Vol. (30): 1-7.

Liu, Y.; Qi, T.; Shen, N.; Gan, M.; Jin, Y.; Zhao, H. 2009. Improvement of ethanol concentration and yield by initial aeration and agitation culture in very high gravity fermentation. *Chin. J. Appl. Environ. Biol.* Vol. (15): 563–567.

Machfud., Said, E. G., Krisnani. 1989. *Manual Laboratorium Fermentor*. Bogor: Laboratorium Rekayasa Proses Pangan, Pusat Antar Universitas (PAU) Pangan dan Gizi, Institut Pertanian Bogor.

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 Volume 2010*.

Noorvita, I. V., J. Jayus., dan N. Nurhayati. 2016. Produksi Bioetanol oleh *Saccharomyces cereviceae* FNCC 3210 pada Media Molasses dengan kecepatan Agitasi dan Aerasi yang Berbeda. *Jurnal Agroteknologi*. Vol. 10 (2): 184-192.

Nurdyastuti, I. 2008. *Teknologi Proses Bio-Etanol*. Jakarta: Balai Besar Teknologi Pati-BPPT.

Obasi, B.C., Whong, C.M.Z., Ado, S.A and Abdullahi, I.O. 2014. Isolation and Identification Of Yeast Associated With Fermented Orange Juice. *The International Journal Of Engineering And Science (IJES)*. Vol. 3 (9): 64-69

- OECD. 2015. *OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) Agricultural Statistik*.  
<http://dx.doi.org/10.1787/888933229613> [15 Mei 2016].
- Ridawati., Jenie, B.S.L., Djuwita, I., Sjamsuridzal, W. 2010. Genetic Diversity of Osmophilic Yeasts Isolated from Indonesian Foods with High Concentration of Sugar. *Microbiology*. Vol. 4 (3): 113-118. ISSN 1978-3477.
- Riyanti, E.I. 2009. Biomassa sebagai Bahan Baku Etanol. *Jurnal Litbang Pertanian*. Vol. 28 (3): 101-110.
- Satyanarayana, T., Johri, B.I., dan Prakash, A. 2012. *Microorganisms in Sustainable Agriculture and Biotechnology*. Springer Science and Business Media.
- Simulab. 2016. The Haemocytometer. <http://simulab.ltt.com.au/4/laboratory/studynotes/SNHaemo.htm>. [ Diakses pada 25 Oktober 2017]
- Smith, P.G. 2007. *Application of Fluidization to Food Processing*. Oxford: Blackwell Publishing Company.
- Suhartini, A. 2015. "Produksi Bioetanol Oleh *Saccharomyces cerevisiae* Strain FNCC 3210 dan ATCC 9763 pada Media Molases". Skripsi. Jember: Universitas Jember
- Suyandra, I.D. 2007. "Pemanfaatan Hidrolisat Pati Sagu (*Metroxylon sp.*) sebagai Sumber Karbon pada Fermentasi Etanol oleh *S.cerevisiae*". Skripsi. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Takara, K., Ushijima, K., Wada, K., Iwasakai, H., dan Yamashita, M. 2007. Phenolic Compounds from sugarcane Molasses Possesing Antibacterial Activity against Cariogenic Bacteria. *Journal of Oleo Science* 56. Vol. (11):611-614.
- Thammasittirong, S. N., Thirasaklana, T.D., Thammasittirong, A dan Srisodsuk, M. 2013. Improvment of Ethanol Production by ethanol tolerant *Saccharomyces cereviceae* UVNR56. *Springer Plus Journal*. Vol. 2013 (2): 538.
- Stanburry, P. F. dan Whitaker, A. 1990. *Principles of Fermentation Technology*. Oxford: Pergamon Press.

- Xin, Yongfei, Zuoying dan Zhouygui. 2003. The Effect Of Different Substrate Concentration On Ethanol Fermentation. *Journal Ferment Indus.* Vol.29: 21-23.
- Yan, L., Tiansheng, Q., Naikun, S., Mingzhe, G., Yanling, G., dan Hai, Z. 2009. Improvement of Ethanol Concentration and Yield by Initial Aeration and Agitation Culture in Very High Gravity Fermentation. *Chin J Appl Environ Biol.* ISSN 1006-687X. Vol.15(4): 563-567.
- Yingling, B., Zongcheng, Y., Honglin, W., and Li, C. 2010. Optimization of Bioethanol Production during Simultaneous Saccharification and Fermentation in Very High-Gravity Cassava Mash. *Antonie van Leeuwenhoek* (2011) 99:329-339.
- Yusma, 1999. Pemanfaatan Limbah Molase dalam Pembuatan Etanol secara Fermentasi. *Media Litbang Kesehatan.* Bagian IX no.3

LAMPIRAN

Lampiran A

Parameter : Kadar Brix dan pH

A1B1: *Candida parapsilosis* strain AUMC 10417 Agitasi 150 rpm

Waktu (Jam)	Kadar Brix		Rerata	Stdev	pH		Rerata	Stdev
	1	2			1	2		
0	24	24	24	0	4,5	4,5	4,50	0
12	23	23	23	0	4,55	4,56	4,56	0,005
24	23	23	23	0	4,57	4,58	4,58	0,005
36	22	22	22	0	4,6	4,6	4,60	0
48	21	21	21	0	4,65	4,65	4,65	0
60	21	21	21	0	4,7	4,7	4,70	0
72	21	21	21	0	4,7	4,7	4,70	0

A1B2: *Candida parapsilosis* strain AUMC 10417 Agitasi 150 rpm Aerasi 0,3 vvm

Waktu (Jam)	Kadar Brix		Rerata	Stdev	pH		Rerata	Stdev
	1	2			1	2		
0	24	24	24	0	4,5	4,5	4,50	0,00
12	24	24	24	0	4,52	4,54	4,53	0,01
24	23	23	23	0	4,55	4,6	4,58	0,02
36	22	22	22	0	4,6	4,63	4,62	0,02
48	22	22	22	0	4,65	4,69	4,67	0,02
60	21	21	21	0	4,7	4,72	4,71	0,01
72	21	21	21	0	4,75	4,8	4,78	0,02

A2B1: *Candida guilliermondii* Agitasi 150 rpm

Waktu (Jam)	Kadar Brix		Rerata	Stdev	pH		Rerata	Stdev
	1	2			1	2		
0	24	24	24	0	4,5	4,5	4,50	0
12	23	23	23	0	4,52	4,53	4,53	0,005
24	23	23	23	0	4,55	4,55	4,55	0
36	22	22	22	0	4,6	4,6	4,60	0
48	21	21	21	0	4,63	4,65	4,64	0,01
60	21	21	21	0	4,7	4,7	4,70	0
72	21	21	21	0	4,7	4,7	4,70	0

A2B2: *Candida guilliermondii* Agitasi 150 rpm Aerasi 0,3 vvm

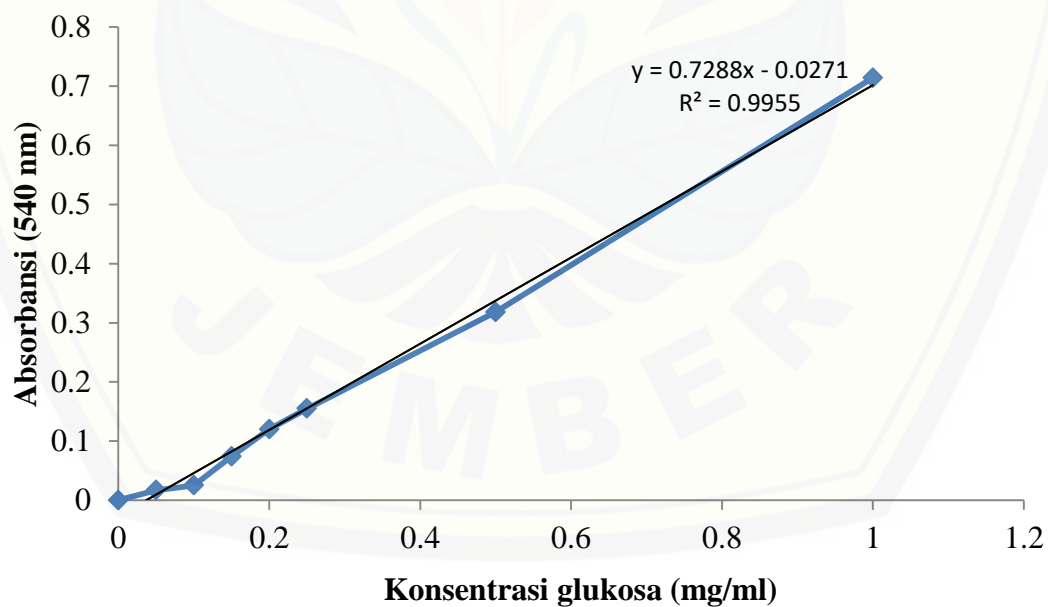
Waktu (Jam)	Kadar Brix		Rerata	Stdev	pH		Rerata	Stdev
	1	2			1	2		
0	24	24	24	0	4,5	4,5	4,50	0,00
12	24	24	24	0	4,53	4,52	4,53	0,01
24	22	22	22	0	4,58	4,58	4,58	0,00
36	21	21	21	0	4,6	4,62	4,61	0,01
48	21	21	21	0	4,65	4,65	4,65	0,00
60	21	21	21	0	4,7	4,69	4,70	0,00
72	21	21	21	0	4,76	4,71	4,74	0,02



**Lampiran B.****Parameter: Kadar Gula Pereduksi****B.1 Nilai Absorbansi dan Kurva Standart Gula Reduksi**

Larutan gula standart = 0,1% = 0,1 g/100ml = 1mg/ml

Lar, gula standar [0,01%] (mL)	Aquadest (ml)	Konsentrasi Glukosa (mg/ml)	Absorbansi (490 nm)
0	1	0	0
0,05	0,95	0,05	0,017
0,1	0,9	0,1	0,025
0,15	0,85	0,15	0,074
0,2	0,8	0,2	0,12
0,25	0,75	0,25	0,155
0,5	0,5	0,5	0,318
1	0	1	0,714

**Kurva Standar Gula Reduksi**

**B.2 Data Kadar Gula Reduksi Selama Fermentasi**A1B1: *Candida parapsilosis* strain AUMC 10417 Agitasi 150 rpm

Waktu (Jam)	Absorbansi		Gula pereduksi (g/L)		Rerata	Stdev
	1	2	1	2		
0	0,315	0,303	93,88	90,59	92,23	1,65
12	0,302	0,296	90,40	88,57	89,49	0,91
24	0,288	0,281	86,38	84,55	85,46	0,91
36	0,273	0,257	82,45	77,87	80,16	2,29
48	0,225	0,203	69,09	63,14	66,12	2,97
60	0,209	0,180	64,79	56,92	60,86	3,93
72	0,194	0,162	60,68	51,98	56,33	4,35

A1B2: *Candida parapsilosis* strain AUMC 10417 Agitasi 150 rpm Aerasi 0,3 vvm

Waktu (Jam)	Absorbansi		Gula pereduksi (g/L)		Rerata	Stdev
	1	2	1	2		
0	0,345	0,332	102,20	98,64	100,42	1,78
12	0,339	0,314	100,56	93,61	97,08	3,48
24	0,329	0,305	97,63	91,04	94,34	3,29
36	0,307	0,276	91,59	83,09	87,34	4,25
48	0,294	0,264	88,21	79,79	84,00	4,21
60	0,283	0,254	85,10	77,05	81,07	4,02
72	0,273	0,245	82,45	74,67	78,56	3,89

A2B1: *Candida guilliermondii* Agitasi 150 rpm

Waktu (Jam)	Absorbansi		Gula pereduksi (g/L)		Rerata	Stdev
	1	2	1	2		
0	0,373	0,354	109,71	104,49	107,10	2,61
12	0,365	0,324	107,60	96,35	101,98	5,63
24	0,357	0,300	105,31	89,76	97,54	7,78
36	0,318	0,285	94,61	85,56	90,08	4,53
48	0,275	0,264	82,81	79,88	81,35	1,46
60	0,266	0,222	80,34	72,84	76,59	3,75
72	0,264	0,235	79,15	71,93	75,54	3,61

A2B2: *Candida guilliermondii* Agitasi 150 rpm Aerasi 0,3 vvm

Waktu (Jam)	Absorbansi		Gula pereduksi (g/L supernatan)		Rerata	Stdev
	1	2	1	2		
0	0,372	0,340	109,61	100,65	105,13	4,48
12	0,361	0,333	106,50	98,82	102,66	3,84
24	0,332	0,298	98,45	89,12	93,79	4,67
36	0,306	0,284	91,32	85,37	88,35	2,97
48	0,282	0,277	84,92	83,45	84,18	0,73
60	0,264	0,268	79,88	80,98	80,43	0,55
72	0,264	0,256	79,79	77,60	78,70	1,10

Analisis gula reduksi yaitu dengan menyiapkan 1 ml sampel kemudian ditera dengan 10 ml aquadest, pengenceran dilakukan hingga faktor pengenceran  $10^2$ , kemudian di cuplik sebanyak 0,5 ml.

Berdasarkan persamaan kurva standart gula reduksi yaitu  $y = 0,7288 x - 0,0271$ .

sehingga  $x = \frac{y+0,0271}{0,7288}$ ; x = kadar gula reduksi, sedangkan y = nilai absorbansi.

Contoh perhitungan total gula A2B2 36 jam fermentasi Ulangan 2:

Absorbansi A2B2 36 jam  $U_2 = 0,284$

$$x = \frac{0,284+0,0271}{0,7288} = 0,4268$$

Kadar Gula Pereduksi =  $\frac{x}{\text{volume cuplikan}} \times \text{Faktor pengenceran}$

$$= \frac{0,4268}{0,5} \times 100$$

$$= 85,37 \text{ g/L}$$

**B.3 Laju Konsumsi Gula Pereduksi Selama Fermentasi**A1B1: *Candida parapsilosis* strain AUMC 10417 Agitasi 150 rpm

Waktu (jam)	Gula pereduksi (S) (g/L)		$\Delta S$ g/L		Laju konsumsi gula (g/L/jam)		Rerata	Stdev
	1	2	1	2	1	2		
	0	93,88	90,59	0,00	0,00	0,00		
12	90,40	88,57	3,48	2,01	0,29	0,17	0,23	0,06
24	86,38	84,55	7,50	6,04	0,31	0,25	0,28	0,03
36	82,45	77,87	11,43	12,71	0,32	0,35	0,34	0,02
48	69,09	63,14	24,79	27,45	0,52	0,57	0,54	0,03
60	64,79	56,92	29,09	33,66	0,48	0,56	0,52	0,04
72	60,68	51,98	33,21	38,60	0,46	0,54	0,50	0,04

A1B2: *Candida parapsilosis* strain AUMC 10417 Agitasi 150 rpm Aerasi 0,3 vvm

Waktu (jam)	Gula pereduksi (S) (g/L)		$\Delta S$ (g/L)		Laju konsumsi gula (g/L/jam)		Rerata	Stdev
	1	2	1	2	1	2		
	0	102,20	98,64	0,00	0,00	0,00		
12	100,56	93,61	1,65	5,03	0,14	0,42	0,28	0,14
24	97,63	91,04	4,57	7,59	0,19	0,32	0,25	0,06
36	91,59	83,09	10,61	15,55	0,29	0,43	0,36	0,07
48	88,21	79,79	14,00	18,84	0,29	0,39	0,34	0,05
60	85,10	77,05	17,11	21,59	0,29	0,36	0,32	0,04
72	82,45	74,67	19,76	23,97	0,27	0,33	0,30	0,03

A2B1: *Candida guilliermondii* Agitasi 150 rpm

Waktu (jam)	Gula pereduksi (S) (g/L)		$\Delta S$ (g/L)		Laju konsumsi gula (g/L/jam)		Rerata	Stdev
	1	2	1	2	1	2		
	0	109,71	104,49	0,00	0,00	0,00		
12	107,60	96,35	2,10	8,14	0,18	0,68	0,43	0,25
24	105,31	89,76	4,39	14,73	0,18	0,61	0,40	0,22
36	94,61	85,56	15,09	18,94	0,42	0,53	0,47	0,05
48	82,81	79,88	26,89	24,61	0,56	0,51	0,54	0,02
60	80,34	68,27	29,36	36,22	0,49	0,60	0,55	0,06
72	79,88	71,93	29,82	32,56	0,41	0,45	0,43	0,02

A2B2: *Candida guilliermondii* Agitasi 150 rpm Aerasi 0,3 vvm

Waktu (jam)	Gula pereduksi (S) (g/L)		$\Delta S$ (g/L)		Laju konsumsi gula (g/L/jam)		Rerata	Stdev
	1	2	1	2	1	2		
0	109,61	100,65	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
12	106,50	98,82	3,11	1,83	0,26	0,15	0,21	0,05
24	98,45	89,12	11,16	11,53	0,46	0,48	0,47	0,01
36	91,32	85,37	18,29	15,28	0,51	0,42	0,47	0,04
48	84,92	83,45	24,70	17,20	0,51	0,36	0,44	0,08
60	79,88	80,98	29,73	19,67	0,50	0,33	0,41	0,08
72	79,79	77,60	29,82	23,05	0,41	0,32	0,37	0,05

Contoh perhitungan laju konsumsi gula pereduksi A1B1 48 jam U2:

Jumlah gula reduksi 0 jam A1B1 U2 = 90,59 g/L

Jumlah gula reduksi 36 jam A1B1 U2 = 63,14 g/L

Maka,  $\Delta S = (90,59 - 63,14) \text{ g/L} = 27,45 \text{ g/L}$

Laju konsumsi gula pereduksi =  $\frac{\Delta S}{\text{Waktu fermentasi}} = \frac{27,45 \text{ g/L}}{48 \text{ jam}} = 0,57 \text{ g/L/jam}$

## Lampiran C

## Parameter: Populasi Yeast

A1B1: *Candida parapsilosis* strain AUMC 10417 Agitasi 150 rpm

Waktu (Jam)	Populasi Yeast		sel/ml		log sel/ml		Rerata	stdev
	1	2	1	2	1	2		
0	61	58	$6,05 \times 10^8$	$5,80 \times 10^8$	8,78	8,76	8,77	0,01
12	75	70	$7,50 \times 10^8$	$7,00 \times 10^8$	8,88	8,85	8,86	0,02
24	86	79	$8,55 \times 10^8$	$7,90 \times 10^8$	8,93	8,90	8,91	0,02
36	90	92	$8,95 \times 10^8$	$9,20 \times 10^8$	8,95	8,96	8,96	0,01
48	94	111	$9,40 \times 10^8$	$1,11 \times 10^8$	8,97	9,04	9,01	0,05
60	49	64	$4,90 \times 10^8$	$6,35 \times 10^8$	8,69	8,80	8,75	0,08
72	19	41	$1,90 \times 10^8$	$4,05 \times 10^8$	8,28	8,61	8,44	0,23

A1B2: *Candida parapsilosis* strain AUMC 10417 Agitasi 150 rpm Aerasi 0,3 vvm

Waktu (Jam)	Populasi Yeast		sel/ml		log sel/ml		Rerata	stdev
	1	2	1	2	1	2		
0	55	47	$5,50 \times 10^8$	$4,70 \times 10^8$	8,74	8,67	8,71	0,05
12	83	73	$8,25 \times 10^8$	$7,30 \times 10^8$	8,92	8,86	8,89	0,04
24	122	139	$1,22 \times 10^9$	$1,39 \times 10^9$	9,09	9,14	9,11	0,04
36	70	99	$6,95 \times 10^8$	$9,90 \times 10^8$	8,84	9,00	8,92	0,11
48	41	46	$4,10 \times 10^8$	$4,55 \times 10^8$	8,61	8,66	8,64	0,03
60	32	33	$3,20 \times 10^8$	$3,30 \times 10^8$	8,51	8,52	8,51	0,01
72	27	23	$2,65 \times 10^8$	$2,30 \times 10^8$	8,42	8,36	8,39	0,04

A2B1: *Candida guilliermondii* Agitasi 150 rpm

Waktu (Jam)	Populasi Yeast		sel/ml		log sel/ml		Rerata	stdev
	1	2	1	2	1	2		
0	56	54	$5,55 \times 10^8$	$5,40 \times 10^8$	8,74	8,73	8,74	0,01
12	69	62	$6,85 \times 10^8$	$6,20 \times 10^8$	8,84	8,79	8,81	0,03
24	70	74	$7,00 \times 10^8$	$7,40 \times 10^8$	8,85	8,87	8,86	0,02
36	83	92	$8,30 \times 10^8$	$9,20 \times 10^8$	8,92	8,96	8,94	0,03
48	99	108	$9,85 \times 10^8$	$1,08 \times 10^9$	8,99	9,03	9,01	0,03
60	49	46	$4,90 \times 10^8$	$4,60 \times 10^8$	8,69	8,66	8,68	0,02
72	25	24	$2,50 \times 10^8$	$2,40 \times 10^8$	8,40	8,38	8,39	0,01

A2B2: *Candida guilliermondii* Agitasi 150 rpm Aerasi 0,3 vvm

Waktu (Jam)	Populasi Yeast		sel/ml		log sel/ml		Rerata	stdev
	1	2	1	2	1	2		
0	60	53	$6 \times 10^8$	$5,25 \times 10^8$	8,78	8,72	8,75	0,04
12	79	75	$7,90 \times 10^8$	$7,45 \times 10^8$	8,90	8,87	8,88	0,02
24	104	109	$1,04 \times 10^9$	$1,09 \times 10^9$	9,01	9,04	9,03	0,01
36	55	69	$5,5 \times 10^8$	$6,85 \times 10^8$	8,74	8,84	8,79	0,07
48	30	55	$2,95 \times 10^8$	$5,45 \times 10^8$	8,47	8,74	8,60	0,19
60	31	42	$3,10 \times 10^8$	$4,20 \times 10^8$	8,49	8,62	8,56	0,09
72	12	28	$1,15 \times 10^8$	$2,80 \times 10^8$	8,06	8,45	8,25	0,27

Analisis perhitungan populasi yeast yaitu 1 ml sampel ditera dengan faktor pengenceran sampel adalah 100, sedangkan faktor pengenceran MB (*metilen blue*) adalah 2. *Yeast* kemudian dihitung dalam kotak sedang, pada *haemacytometer* dibawah mikroskop,

Diketahui volume kotak yang dihitung pada *haemacytometer* yaitu:

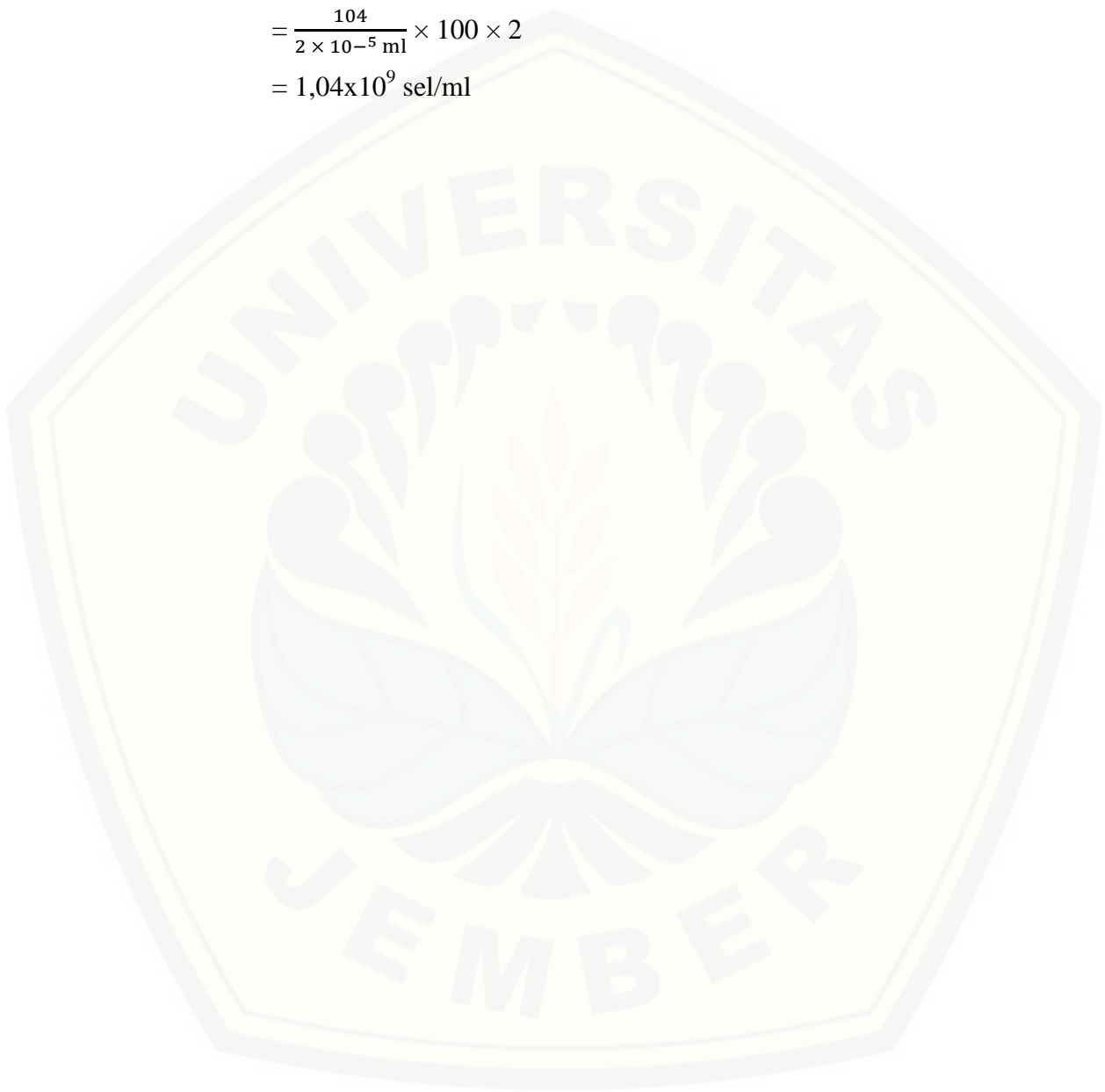
$$\begin{aligned}
 &= p \times l \times t \times \text{jumlah kotak yang dihitung} \\
 &= 0,2 \text{ mm} \times 0,2 \text{ mm} \times 0,1 \text{ mm} \times 5 \\
 &= 0,02 \text{ mm}^3 = 0,02 \times 10^{-3} \text{ ml} = 2 \times 10^{-5} \text{ ml}
 \end{aligned}$$

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

Keterangan: FP = faktor pengenceran

Contoh perhitungan A2B2 36 jam U1:

$$\begin{aligned}\text{Populasi yeast} &= \frac{\text{jumlah sel}}{\text{volume kotak yang dihitung}} \times \text{FP sampel} \times \text{FP pewarnaan (MB)} \\ &= \frac{104}{2 \times 10^{-5} \text{ ml}} \times 100 \times 2 \\ &= 1,04 \times 10^9 \text{ sel/ml}\end{aligned}$$





**Lampiran D****Parameter: Data Perhitungan Growth Rate**A1B1: *Candida parapsilosis* strain AUMC 10417 Agitasi 150 rpm

Waktu (jam)	Populasi yeast (sel/ml)		Ln		Rerata	Stdev	Growth rate		Rerata	Stdev
	1	2	1	2			1	2		
0	605000000	580000000	20,22	20,18	20,20	0,02	0,00	0,00	0,00	0,000
12	750000000	700000000	20,44	20,37	20,40	0,03	1,70	1,70	1,70	0,003
24	855000000	790000000	20,57	20,49	20,53	0,04	1,71	1,71	1,71	0,003
36	895000000	920000000	20,61	20,64	20,63	0,01	1,72	1,72	1,72	0,001
48	940000000	1105000000	20,66	20,82	20,74	0,08	1,72	1,74	1,73	0,007
60	490000000	635000000	20,01	20,27	20,14	0,13	1,67	1,69	1,68	0,011
72	190000000	405000000	19,06	19,82	19,44	0,38	1,59	1,65	1,62	0,032

A1B2: *Candida parapsilosis* strain AUMC 10417 Agitasi 150 rpm Aerasi 0,3 vvm

Waktu (jam)	Populasi yeast (sel/ml)		ln		Rerata	Stdev	Growth rate		Rerata	Stdev
	1	2	1	2			1	2		
0	550000000	470000000	20,13	19,97	20,05	0,08	0,00	0,00	0,00	0,000
12	825000000	730000000	20,53	20,41	20,47	0,06	1,71	1,70	1,71	0,005
24	1220000000	1385000000	20,92	21,05	20,99	0,06	1,74	1,75	1,75	0,005
36	695000000	990000000	20,36	20,71	20,54	0,18	1,70	1,73	1,71	0,015
48	410000000	455000000	19,83	19,94	19,88	0,05	1,65	1,66	1,66	0,004
60	320000000	330000000	19,58	19,61	19,60	0,02	1,63	1,63	1,63	0,001
72	265000000	230000000	19,40	19,25	19,32	0,07	1,62	1,60	1,61	0,006

A2B1: *Candida guilliermondii* Agitasi 150 rpm

Waktu (jam)	Populasi yeast (sel/ml)		Ln		Rerata	Stdev	Growth rate		Rerata	Stdev
	1	2	1	2			1	2		
0	555000000	540000000	20,13	20,11	20,12	0,01	0,00	0,00	0,00	0,000
12	685000000	620000000	20,34	20,25	20,30	0,05	1,70	1,69	1,69	0,004
24	700000000	740000000	20,37	20,42	20,39	0,03	1,70	1,70	1,70	0,002
36	830000000	920000000	20,54	20,64	20,59	0,05	1,71	1,72	1,72	0,004
48	985000000	1075000000	20,71	20,80	20,75	0,04	1,73	1,73	1,73	0,004
60	490000000	460000000	20,01	19,95	19,98	0,03	1,67	1,66	1,66	0,003
72	250000000	240000000	19,34	19,30	19,32	0,02	1,61	1,61	1,61	0,002

A2B2: *Candida guilliermondii* Agitasi 150 rpm Aerasi 0,3 vvm

Waktu (jam)	Populasi yeast (sel/ml)		Ln		Rerata	Stdev	Growth rate		Rerata	Stdev
	1	2	1	2			1	2		
0	600000000	525000000	20,21	20,08	20,15	0,07	0,00	0,00	0,00	0,000
12	790000000	745000000	20,49	20,43	20,46	0,03	1,71	1,70	1,70	0,002
24	1035000000	1085000000	20,76	20,80	20,78	0,02	1,73	1,73	1,73	0,002
36	550000000	685000000	20,13	20,34	20,24	0,11	1,68	1,70	1,69	0,009
48	295000000	545000000	19,50	20,12	19,81	0,31	1,63	1,68	1,65	0,026
60	310000000	420000000	19,55	19,86	19,70	0,15	1,63	1,65	1,64	0,013
72	115000000	280000000	18,56	19,45	19,01	0,44	1,55	1,62	1,58	0,037

**Lampiran E.****Data Perhitungan Growth Yield**A1B1: *Candida parapsilosis* strain AUMC 10417 Agitasi 150 rpm

Waktu (jam)	log sel/ml		$\Delta x$		Rerata	Stdev	$\Delta s$		Rerata	Stdev	Y x/s		Rerata	Stdev
	1	2	1	2			1	2			1	2		
0	8,78	8,76	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,000
12	8,88	8,85	0,09	0,08	0,09	0,01	3,48	2,01	2,74	0,73	0,03	0,04	0,03	0,007
24	8,93	8,90	0,15	0,13	0,14	0,01	7,50	6,04	6,77	0,73	0,02	0,02	0,02	0,001
36	8,95	8,96	0,17	0,20	0,19	0,02	11,43	12,71	12,07	0,64	0,01	0,02	0,02	0,000
48	8,97	9,04	0,19	0,28	0,24	0,04	24,79	27,44	26,12	1,33	0,01	0,01	0,01	0,001
60	8,69	8,80	-0,09	0,04	-0,03	0,07	29,09	33,66	31,38	2,29	0,00	0,00	0,00	0,002
72	8,28	8,61	-0,50	-0,16	-0,33	0,17	33,21	38,60	35,90	2,70	-0,02	0,00	-0,01	0,006

*Candida parapsilosis* strain AUMC 10417 Agitasi 150 rpm Aerasi 0,3 vvm

Waktu (jam)	log sel/ml		$\Delta x$		Rerata	Stdev	$\Delta s$		Rerata	Stdev	Y x/s		Rerata	Stdev
	1	2	1	2			1	2			1	2		
0	8,74	8,67	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,000
12	8,92	8,86	0,18	0,19	0,18	0,01	1,65	5,03	3,34	2,39	0,11	0,04	0,07	0,034
24	9,09	9,14	0,35	0,47	0,41	0,06	4,57	7,59	6,08	2,13	0,08	0,06	0,07	0,007
36	8,84	9,00	0,10	0,32	0,21	0,11	10,61	15,55	13,08	3,49	0,01	0,02	0,02	0,006
48	8,61	8,66	-0,13	-0,01	-0,07	0,06	14,00	18,84	16,42	3,43	-0,01	0,00	-0,005	0,004
60	8,51	8,52	-0,24	-0,15	-0,19	0,04	17,11	21,59	19,35	3,17	-0,01	-0,01	-0,01	0,003
72	8,42	8,36	-0,32	-0,31	-0,31	0,00	19,76	23,97	21,86	2,98	-0,02	-0,01	-0,01	0,002

A2B1: *Candida guilliermondii* Agitasi 150 rpm

Waktu (jam)	log sel/ml		$\Delta x$		Rerata	Stdev	$\Delta s$		Rerata	Stdev	Y x/s		Rerata	Stdev
	1	2	1	2			1	2			1	2		
0	8,74	8,73	0,00	0,00	0,00	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,000
12	8,84	8,79	0,09	0,06	0,08	0,016	2,10	8,14	5,12	3,02	0,04	0,01	0,03	0,018
24	8,85	8,87	0,10	0,14	0,12	0,018	4,39	14,73	9,56	5,17	0,023	0,01	0,02	0,007
36	8,92	8,96	0,17	0,23	0,20	0,028	15,09	18,94	17,01	1,92	0,01	0,01	0,01	0,000
48	8,99	9,03	0,25	0,30	0,27	0,025	26,89	24,61	25,75	1,14	0,01	0,01	0,01	0,001
60	8,69	8,66	-0,05	-0,07	-0,06	0,008	29,36	36,22	32,79	3,43	-0,002	-0,002	-0,002	0,000
72	8,40	8,38	-0,35	-0,35	-0,35	0,003	29,82	32,56	31,19	1,37	-0,01	-0,01	-0,01	0,000

A2B2: *Candida guilliermondii* Agitasi 150 rpm Aerasi 0,3 vvm

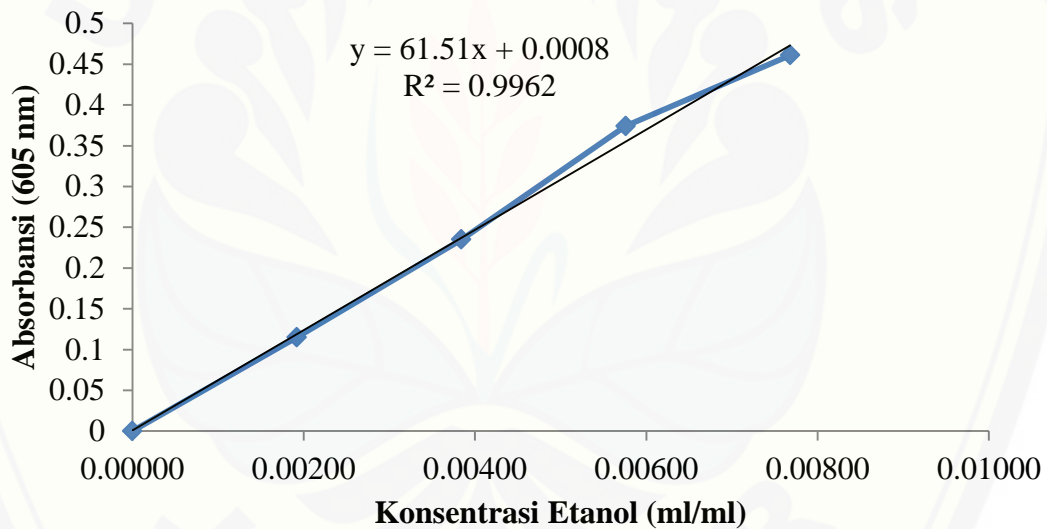
Waktu (jam)	log sel/ml		$\Delta x$		Rerata	Stdev	$\Delta s$		Rerata	Stdev	Y x/s		Rerata	Stdev
	1	2	1	2			1	2			1	2		
0	8,78	8,72	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,000
12	8,90	8,87	0,12	0,15	0,14	0,02	3,11	1,83	2,47	0,64	0,04	0,08	0,06	0,022
24	9,01	9,04	0,24	0,32	0,28	0,04	11,16	11,53	11,34	0,18	0,02	0,03	0,02	0,003
36	8,74	8,84	-0,04	0,12	0,04	0,08	18,29	15,28	16,79	1,51	-0,002	0,01	0,00	0,005
48	8,47	8,74	-0,31	0,02	-0,15	0,16	24,70	17,20	20,95	3,75	-0,01	0,00	-0,01	0,007
60	8,49	8,62	-0,29	-0,10	-0,19	0,09	29,73	19,67	24,70	5,03	-0,01	0,00	-0,01	0,002
72	8,06	8,45	-0,72	-0,27	-0,50	0,22	29,82	23,05	26,44	3,38	-0,02	-0,01	-0,02	0,006

Contoh perhitungan growth yield sampel A2B1 lama fermentasi 48 jam ulangan 2:

$$\text{Rumus growth yield} = \frac{\Delta x}{\Delta s} = \frac{(\text{Populasi yeast jam ke 48} - \text{populasi yeast jam ke 0})}{(\text{Gula reduksi jam ke 0} - \text{gula reduksi jam ke 48})} = \frac{(9,03 - 8,73)}{(104,49 - 79,88)} = 0,01 \text{ log sel/ml/g/L}$$

**Lampiran F.****Parameter : Jumlah etanol dan Produktivitas etanol Selama Fermentasi****F.1 Nilai Absorbansi Etanol dan Kurva Standart**

Volume Etanol (ml) [96%]	Aquadest (ml)	Konsentrasi etanol (ml/ml)	Absorbansi (605 nm)
0	1	0,00000	0
0,2	0,8	0,00192	0,115
0,4	0,6	0,00384	0,235
0,6	0,4	0,00576	0,374
0,8	0,2	0,00768	0,461

**Kurva Standart**

1 ml etanol [96%] dilakukan peneraan dengan menggunakan aquadest hingga 100 ml, sehingga  $V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$

$$1\text{ml} \times 0,96 = 100\text{ ml} \times M_2$$

Maka  $M_2 = 0,0096\text{ ml/ml}$

Larutan etanol dengan konsentrasi = 0096 ml/ml pada cuplikan volume etanol 0,8 ml.

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

0,8 ml  $\times$  0,0096 ml/ml = 1 ml  $\times$   $M_2$ , maka,  $M_2 = 0,00768\text{ ml/ml}$

## F.2 Data Jumlah etanol dan Produktivitas etanol Selama Fermentasi

AIB1: *Candida parapsilosis* strain AUMC 10417 Agitasi 150 rpm

Waktu (Jam)	Absorbansi		Konsentrasi etanol (ml/L)		Rerata	Stdev	Etanol (g/L supernatan)		Rerata	Stdev	Produktivitas (g/L/jam)		Rerata	Stdev
			1	2			1	2			1	2		
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2		
0	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
12	0,184	0,128	2,97	2,06	2,52	0,45	2,35	1,63	1,99	0,36	0,20	0,14	0,17	0,03
24	0,340	0,262	5,52	4,24	4,88	0,64	4,36	3,35	3,85	0,50	0,18	0,14	0,16	0,02
36	0,076	0,066	6,05	5,20	5,62	0,42	4,77	4,10	4,44	0,33	0,13	0,11	0,12	0,01
<b>48</b>	<b>0,080</b>	<b>0,089</b>	<b>6,40</b>	<b>7,11</b>	<b>6,75</b>	<b>0,35</b>	<b>5,05</b>	<b>5,61</b>	<b>5,33</b>	<b>0,28</b>	<b>0,11</b>	<b>0,12</b>	<b>0,11</b>	<b>0,01</b>
60	0,066	0,078	5,26	6,24	5,75	0,49	4,15	4,92	4,53	0,39	0,07	0,08	0,08	0,01
72	0,056	0,067	4,41	5,28	4,85	0,44	3,48	4,17	3,82	0,34	0,05	0,06	0,05	0,005

AIB2: *Candida parapsilosis* strain AUMC 10417 Agitasi 150 rpm Aerasi 0,3 vvm

Waktu (Jam)	Absorbansi		Konsentrasi etanol (ml/L)		Rerata	Stdev	Etanol (g/L supernatan)		Rerata	Stdev	Produktivitas (g/L/jam)		Rerata	Stdev
			1	2			1	2			1	2		
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2		
<b>0</b>	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
<b>12</b>	0,093	0,074	1,49	1,17	1,33	0,22	1,17	0,92	1,05	0,12	0,10	0,08	0,09	0,01
<b>24</b>	0,097	0,131	1,55	2,11	1,83	0,40	1,22	1,66	1,44	0,22	0,05	0,07	0,06	0,01
<b>36</b>	<b>0,239</b>	<b>0,323</b>	<b>3,88</b>	<b>5,25</b>	<b>4,56</b>	<b>0,97</b>	<b>3,06</b>	<b>4,14</b>	<b>3,60</b>	<b>0,54</b>	<b>0,08</b>	<b>0,12</b>	<b>0,10</b>	<b>0,02</b>
<b>48</b>	0,212	0,282	3,43	4,57	4,00	0,81	2,71	3,61	3,16	0,45	0,06	0,08	0,07	0,01
<b>60</b>	0,166	0,201	2,68	3,26	2,97	0,40	2,12	2,57	2,34	0,23	0,04	0,04	0,04	0,004
<b>72</b>	0,069	0,105	1,09	1,69	1,39	0,42	0,86	1,33	1,10	0,23	0,01	0,02	0,02	0,003

A2B1: *Candida guilliermondii* Agitasi 150 rpm

Waktu (Jam)	Absorbansi		Konsentrasi etanol (ml/L)		Rerata	Stdev	Etanol (g/L supernatan)		Rerata	Stdev	Produktivitas (g/L/jam)		Rerata	Stdev
			1	2			1	2			1	2		
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
<b>0</b>	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
<b>12</b>	0,094	0,077	1,50	1,23	1,36	0,19	1,18	0,97	1,07	0,11	0,10	0,08	0,09	0,01
<b>24</b>	0,128	0,135	2,06	2,17	2,12	0,08	1,62	1,71	1,67	0,05	0,07	0,07	0,07	0,002
<b>36</b>	0,140	0,207	2,25	3,35	2,80	0,78	1,78	2,65	2,21	0,43	0,05	0,07	0,06	0,01
<b>48</b>	0,270	0,270	4,37	4,38	4,38	0,00	3,45	3,45	3,45	0,00	0,07	0,07	0,07	0,00
<b>60</b>	0,243	0,207	3,94	3,35	3,64	0,42	3,11	2,64	2,87	0,23	0,05	0,04	0,05	0,004
<b>72</b>	0,204	0,175	3,29	2,83	3,06	0,33	2,60	2,23	2,41	0,18	0,04	0,03	0,03	0,003

A2B2: *Candida guilliermondii* Agitasi 150 rpm Aerasi 0,3 vvm

Waktu (Jam)	Absorbansi		Konsentrasi etanol (ml/L)		Rerata	Stdev	Etanol (g/L supernatan)		Rerata	Stdev	Produktivitas (g/L/jam)		Rerata	Stdev
			1	2			1	2			1	2		
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
<b>0</b>	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	0,000
<b>12</b>	0,096	0,088	1,53	1,41	1,47	0,09	1,21	1,11	1,16	0,05	0,10	0,09	0,10	0,004
<b>24</b>	0,238	0,268	3,86	4,35	4,11	0,35	3,05	3,43	3,24	0,19	0,13	0,14	0,13	0,008
<b>36</b>	0,303	0,282	4,91	4,57	4,74	0,24	3,88	3,61	3,74	0,14	0,11	0,10	0,10	0,004
<b>48</b>	0,215	0,202	3,47	3,27	3,37	0,15	2,74	2,58	2,66	0,08	0,06	0,05	0,06	0,002
<b>60</b>	0,162	0,189	2,61	3,06	2,83	0,31	2,06	2,41	2,24	0,17	0,03	0,04	0,04	0,003
<b>72</b>	0,147	0,169	2,37	2,73	2,55	0,25	1,87	2,15	2,01	0,14	0,03	0,03	0,03	0,002

Berdasarkan persamaan kurva standart etanol yang diperoleh yaitu  $y = 61,51x + 0,0008$ , sehingga  $x = \frac{y-0,0008}{61,51}$ ;

$x$  = kadar etanol, sedangkan  $y$  = nilai absorbansi,

Contoh perhitungan A2B2 pada 36 jam fermentasi ulangan 2 (nilai  $y=0,282$ ):

a. Konsentrasi etanol (ml/L) =  $\frac{y-0,0008}{61,51} \times \frac{1000 \text{ ml}}{1 \text{ L}} = \frac{0,282-0,0008}{61,51} \times \frac{1000 \text{ ml}}{1 \text{ L}} = 4,57 \text{ ml/L}$

b. Konsentrasi etanol (g/L) =  $\frac{y-0,0008}{61,51} \times \frac{1000 \text{ ml}}{1 \text{ L}} \times \text{BJ etanol (0,789 g/ml)} = \frac{y-0,0008}{61,51} \times \frac{1000 \text{ ml}}{1 \text{ L}} \times 0,789 \text{ g/ml} = 3,61 \text{ g/L}$

c. Produktivitas (g/L/jam) =  $\frac{\text{Etanol yang dihasilkan } (\frac{\text{g}}{\text{L}})}{\text{waktu fermentasi (jam)}} = \frac{3,61 \text{ g/L}}{36 \text{ jam}} = 0,10 \text{ g/L/jam}$

Keterangan: BJ Etanol = 0,789 g/ml



**Lampiran G.****Data Perhitungan Yield Etanol**AIB1: *Candida parapsilosis* strain AUMC 10417 Agitasi 150 rpm

Waktu (jam)	P		$\Delta s$		Y P/s		Rerata	Stdev
	1	2	1	2	1	2		
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
12	2,35	1,63	3,48	2,01	0,67	0,81	0,74	0,07
24	4,36	3,35	7,50	6,04	0,58	0,55	0,57	0,01
36	4,77	4,10	11,43	12,71	0,42	0,32	0,37	0,05
48	5,05	5,61	24,79	27,44	0,20	0,20	0,20	0,000
60	4,15	4,92	29,09	33,66	0,14	0,15	0,14	0,002
72	3,48	4,17	33,21	38,60	0,10	0,11	0,11	0,002

AIB2: *Candida parapsilosis* strain AUMC 10417 Agitasi 150 rpm Aerasi 0,3 vvm

Waktu (jam)	P		$\Delta s$		Y P/s		Rerata	Stdev
	1	2	1	2	1	2		
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
12	1,17	0,92	1,65	5,03	0,71	0,18	0,45	0,26
24	1,22	1,66	4,57	7,59	0,27	0,22	0,24	0,02
36	3,06	4,14	10,61	15,55	0,29	0,27	0,28	0,01
48	2,71	3,61	14,00	18,84	0,19	0,19	0,19	0,001
60	2,12	2,57	17,11	21,59	0,12	0,12	0,12	0,002
72	0,86	1,33	19,76	23,97	0,04	0,06	0,05	0,01

A2B1: *Candida guilliermondii* Agitasi 150 rpm

Waktu (jam)	P		$\Delta s$		Y P/s		Rerata	Stdev
	1	2	1	2	1	2		
0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
12	12	1,18	0,97	2,10	8,14	0,56	0,12	0,34
24	24	1,62	1,71	4,39	14,73	0,37	0,12	0,24
36	36	1,78	2,65	15,09	18,94	0,12	0,14	0,13
48	48	3,45	3,45	26,89	24,61	0,13	0,14	0,13
60	60	3,11	2,64	29,36	36,22	0,11	0,07	0,09
72	72	2,60	2,23	29,82	32,56	0,09	0,07	0,08

A2B2: *Candida guilliermondii* Agitasi 150 rpm Aerasi 0,3 vvm

Waktu (jam)	P		$\Delta s$		Y P/s		Rerata	Stdev
	1	2	1	2	1	2		
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
12	1,21	1,11	3,11	1,83	0,39	0,61	0,50	0,11
24	3,05	3,43	11,16	11,53	0,27	0,30	0,29	0,01
36	3,88	3,61	18,29	15,28	0,21	0,24	0,22	0,01
48	2,74	2,58	24,70	17,20	0,11	0,15	0,13	0,02
60	2,06	2,41	29,73	19,67	0,07	0,12	0,10	0,03
72	1,87	2,15	29,82	23,05	0,06	0,09	0,08	0,02

Jumlah gula reduksi 0 jam A2B2 U2 = 100,65 g/L

Jumlah gula reduksi 36 jam A2B2 U2 = 85,37 g/L

Maka,  $\Delta S = (105,13 - 85,37) \text{ g/L} = 15,28 \text{ g/L}$

Contoh perhitungan A2B2 pada 36 jam fermentasi ulangan 2 :

$$\text{Rumus yield etanol} = \frac{\text{Jumlah etanol yang dihasilkan}}{\text{Jumlah gula reduksi yang dikonsumsi}} = \frac{3,61 \text{ g/L}}{15,28 \text{ g/L}} = 0,24$$

**Lampiran H****Efisiensi Fermentasi**A1B1: *Candida parapsilosis* strain AUMC 10417 Agitasi 150 rpm

Waktu (jam)	Kadar Etanol (g/L)		Kadar Etanol Teoritis (g/L)		Efisiensi		Rerata Efisiensi (%)	Stdev
	1	2	1	2	1	2		
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
12	2,35	1,63	1,78	1,03	1,32	1,58	145,23	0,13
24	4,36	3,35	3,83	3,09	1,14	1,09	111,09	0,03
36	4,77	4,10	5,84	6,50	0,82	0,63	72,40	0,09
48	5,05	5,61	12,67	14,02	0,40	0,40	39,92	0,001
60	4,15	4,92	14,86	17,20	0,28	0,29	28,25	0,004
72	3,48	4,17	16,97	19,73	0,21	0,21	20,82	0,003

A1B2: *Candida parapsilosis* strain AUMC 10417 Agitasi 150 rpm Aerasi 0,3 vvm

Waktu (jam)	Kadar Etanol (g/L)		Kadar Etanol Teoritis (g/L)		Efisiensi		Rerata Efisiensi (%)	Stdev
	1	2	1	2	1	2		
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
12	1,17	0,92	0,84	2,57	1,39	0,36	87,68	0,52
24	1,22	1,66	2,34	3,88	0,52	0,43	47,54	0,05
36	3,06	4,14	5,42	7,95	0,56	0,52	54,28	0,02
48	2,71	3,61	7,15	9,63	0,38	0,37	37,67	0,002
60	2,12	2,57	8,74	11,03	0,24	0,23	23,76	0,005
72	0,86	1,33	10,10	12,25	0,09	0,11	9,72	0,01

A2B1: *Candida guilliermondii* Agitasi 150 rpm

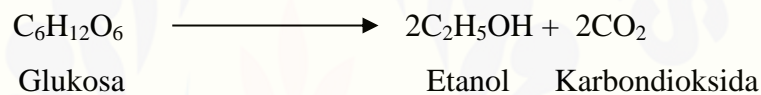
Waktu (jam)	Kadar Etanol (g/L)		Kadar Etanol Teoritis (g/L)		Efisiensi		Rerata Efisiensi (%)	Stdev
	1	2	1	2	1	2		
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
12	1,18	0,97	1,08	4,16	1,10	0,23	66,58	0,43
24	1,62	1,71	2,24	7,53	0,72	0,23	47,59	0,25
36	1,78	2,65	7,71	9,68	0,23	0,27	25,21	0,02
48	3,45	3,45	13,74	12,57	0,25	0,27	26,29	0,01
60	3,11	2,64	15,00	18,51	0,21	0,14	17,49	0,03
72	2,60	2,23	15,24	16,64	0,17	0,13	15,23	0,02

A2B2: *Candida guilliermondii* Agitasi 150 rpm Aerasi 0,3 vvm

Waktu (jam)	Kadar Etanol (g/L)		Kadar Etanol Teoritis (g/L)		Efisiensi		Rerata Efisiensi (%)	Stdev
	1	2	1	2	1	2		
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
12	1,21	1,11	1,59	0,93	0,76	1,19	97,28	0,21
24	3,05	3,43	5,70	5,89	0,53	0,58	55,86	0,02
36	3,88	3,61	9,35	7,81	0,41	0,46	43,82	0,02
48	2,74	2,58	12,62	8,79	0,22	0,29	25,53	0,04
60	2,06	2,41	15,19	10,05	0,14	0,24	18,78	0,05
72	1,87	2,15	15,24	11,78	0,12	0,18	15,27	0,03

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.

Contoh perhitungan efisiensi fermentasi A2B2 36 jam ulangan 2:

Jumlah gula reduksi 0 jam A2B2 = 100,65 g/L

Jumlah gula reduksi 36 jam A2B2 = 85,37 g/L

Maka,  $\Delta S = (105,13 - 85,37) \text{ g/L} = 15,28 \text{ g/L}$ ,

Etanol teoritis =  $15,28 \text{ g/L} \times 0,5111 \text{ g} = 7,81 \text{ g/L}$

Efisiensi fermentasi (%) =  $\frac{\text{Etanol yang dihasilkan}}{\text{Etanol teoritis}} = \frac{3,61}{7,81} = 0,46 \times 100\% = 46\%$

**Lampiran I. Kinetika Fermentasi Etanol**A1B1: *Candida parapsilosis* strain AUMC 10417 Agitasi 150 rpm

Waktu (jam)	Populasi Yeast (Log sel/ml)	Gula Reduksi (g/L)	$\Delta S$ (g/L)	Laju Konsumsi (g/L/jam)	Y (x/s)	Etanol teoritis (g/L)	Etanol (g/L)	Produktivitas (g/L/jam)	Growth rate	Y (p/s) (g/g)	Efisiensi (%)
0	8,77	92,23	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
12	8,86	89,49	2,74	0,23	0,03	1,40	1,99	0,17	1,70	0,74	145,23
24	8,91	85,46	6,77	0,28	0,02	3,46	3,85	0,16	1,71	0,57	111,09
36	8,96	80,16	12,07	0,34	0,02	6,17	4,44	0,12	1,72	0,37	72,40
48	9,01	66,12	26,12	0,54	0,01	13,35	5,33	0,11	1,73	0,20	39,92
60	8,75	60,86	31,38	0,52	0,00	16,03	4,53	0,08	1,68	0,14	28,25
72	8,44	56,33	35,90	0,50	-0,01	18,35	3,82	0,05	1,62	0,11	20,82

A2B2: *Candida parapsilosis* strain AUMC 10417 Agitasi 150 rpm Aerasi 0,3 vvm (A1B2)

Waktu (jam)	Populasi Yeast (Log sel/ml)	Gula Reduksi (g/L)	$\Delta S$ (g/L)	Laju Konsumsi (g/L/jam)	Y (x/s)	Etanol teoritis (g/L)	Etanol (g/L)	Produktivitas (g/L/jam)	Growth rate	Y (p/s) (g/g)	Efisiensi (%)
0	8,71	100,42	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
12	8,89	97,08	3,34	0,28	0,07	1,71	1,05	0,09	1,71	0,45	87,68
24	9,11	94,34	6,08	0,25	0,07	3,11	1,44	0,06	1,75	0,24	47,54
36	8,92	87,34	13,08	0,36	0,02	6,68	3,60	0,10	1,71	0,28	54,28
48	8,64	84,00	16,42	0,34	0,00	8,39	3,16	0,07	1,66	0,19	37,67
60	8,51	81,07	19,35	0,32	-0,01	9,89	2,34	0,04	1,63	0,12	23,76
72	8,39	78,56	21,86	0,30	-0,01	11,17	1,10	0,02	1,61	0,05	9,72

A2B1: *Candida guilliermondii* Agitasi 150 rpm

Waktu (jam)	Populasi Yeast (Log sel/ml)	Total gula (g/L)	Gula Reduksi (g/L)	$\Delta S$ (g/L)	Laju Konsumsi (g/L/jam)	Y (x/s)	Etanol teoritis (g/L)	Etanol (g/L)	Produktivitas (g/L/jam)	Growth rate	Y (p/s) (g/g)	Efisiensi (%)
0	8,74	855,57	107,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
12	8,81	843,07	101,98	5,12	0,43	0,03	2,62	1,07	0,09	1,69	0,34	66,58
24	8,86	818,26	97,54	9,56	0,40	0,02	4,88	1,67	0,07	1,70	0,24	47,59
36	8,94	793,88	90,08	17,01	0,47	0,01	8,69	2,21	0,06	1,72	0,13	25,21
48	9,01	782,85	81,35	25,75	0,54	0,01	13,16	3,45	0,07	1,73	0,13	26,29
60	8,68	760,95	76,59	30,51	0,51	-0,002	15,59	2,87	0,05	1,66	0,09	18,52
72	8,39	738,23	75,54	31,56	0,44	-0,01	16,13	2,41	0,03	1,61	0,08	15,03

A2B2: *Candida guilliermondii* Agitasi 150 rpm Aerasi 0,3 vvm (A2B2)

Waktu (jam)	Populasi Yeast (Log sel/ml)	Gula Reduksi (g/L)	$\Delta S$ (g/L)	Laju Konsumsi (g/L/jam)	Y (x/s)	Etanol teoritis (g/L)	Etanol (g/L)	Produktivitas (g/L/jam)	Growth rate	Y (p/s) (g/g)	Efisiensi (%)
0	8,74	107,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
12	8,81	101,98	5,12	0,43	0,03	2,62	1,07	0,09	1,69	0,34	66,58
24	8,86	97,54	9,56	0,40	0,02	4,88	1,67	0,07	1,70	0,24	47,59
36	8,94	90,08	17,01	0,47	0,01	8,69	2,21	0,06	1,72	0,13	25,21
48	9,01	81,35	25,75	0,54	0,01	13,16	3,45	0,07	1,73	0,13	26,29
60	8,68	76,59	30,51	0,51	0,00	15,59	2,87	0,05	1,66	0,09	18,52
72	8,39	75,54	31,56	0,44	-0,01	16,13	2,41	0,03	1,61	0,08	15,03

Lampiran J, Dokumentasi penelitian



Pengukuran kadar brix



pH awal molases



Pengukuran pH (4,5)



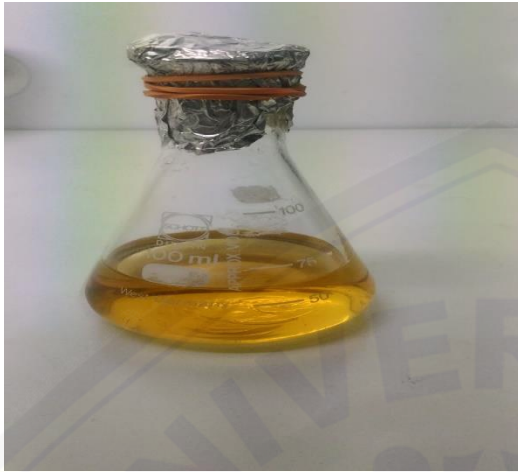
Pemanasaan (90°C)



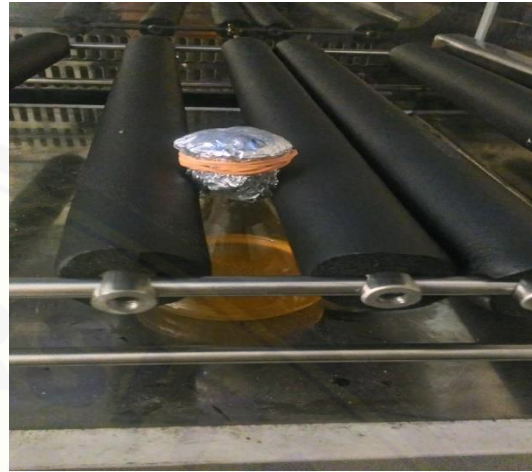
Penyaringan



Peremajaan yeast



Media YM (Yeast Extract Malt Extract)



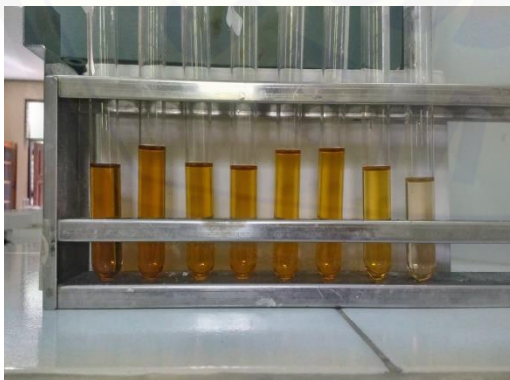
Shaker 30°C (24 jam)



Setelah inkubasi 24 jam



Inokulasi Starter

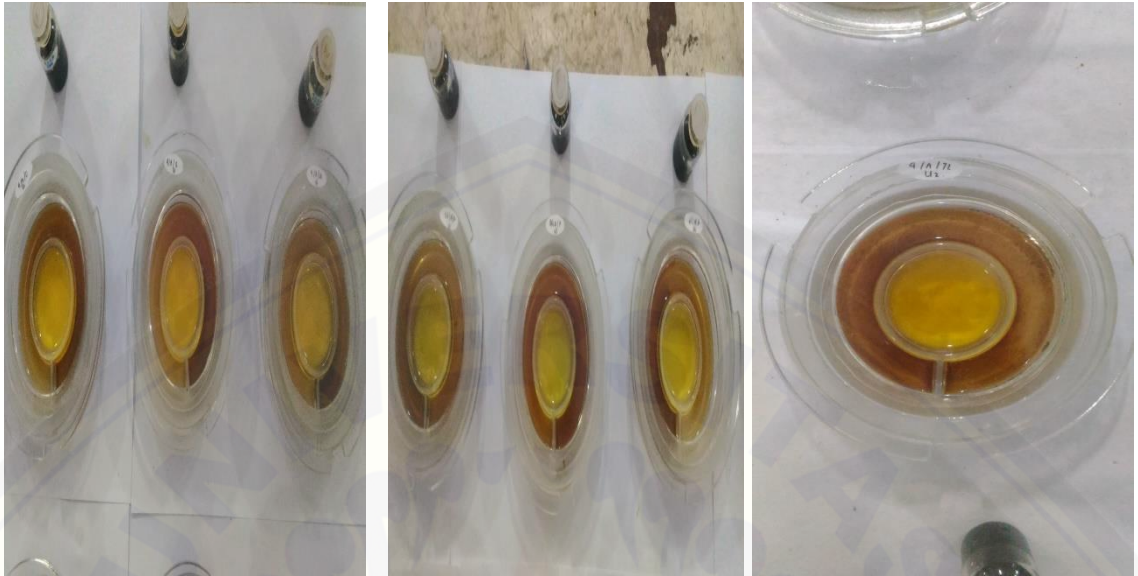


Analisis Total Gula

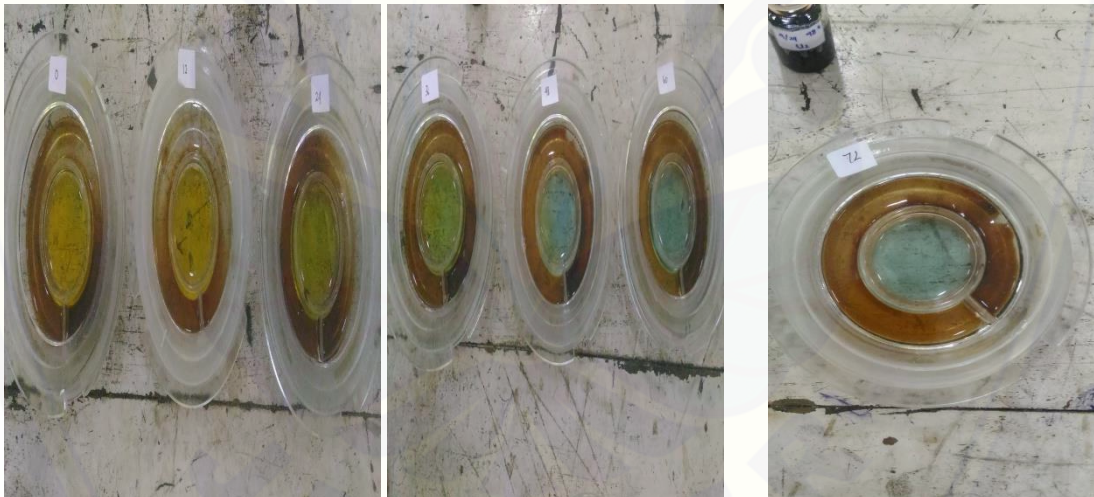


Analisis Gula Pereduksi

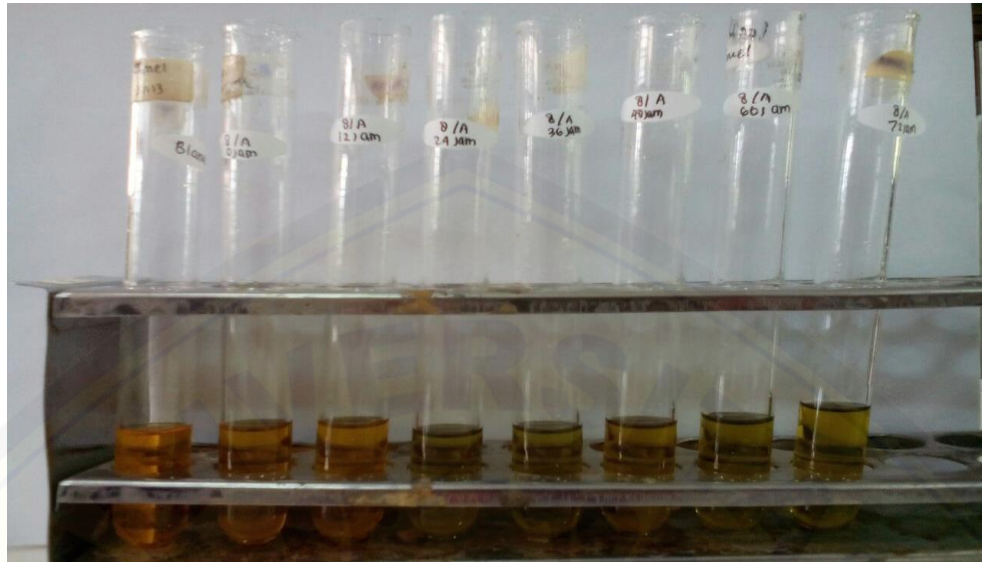




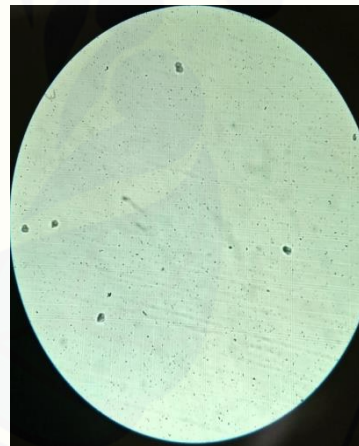
Sebelum di inkubasi



Setelah inkubasi 2 jam A1B1



Setelah Inkubasi 2 jam A2B2



Analisis Populasi yeast