



**PRODUKSI BIOETANOL SECARA SHF DAN SSF MENGGUNAKAN  
*Aspergillus niger*, *Trichoderma viride* dan *New Aule Instant Dry Yeast*  
PADA MEDIA TEPUNG UBI KAYU**

**SKRIPSI**

Oleh

**Moh Ainul Yakin  
NIM 121710101085**

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

**2018**



**PRODUKSI BIOETANOL SECARA SHF DAN SSF MENGGUNAKAN  
*Aspergillus niger*, *Trichoderma viride* dan *New Aule Instant Dry Yeast*  
PADA MEDIA TEPUNG UBI KAYU**

**SKRIPSI**

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

Oleh

**Moh Ainul Yakin**  
**NIM 121710101085**

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

**2018**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT, puji syukur atas segala rahmat, hidayah serta Inayah-Nya;
2. Ibunda Aminah, Ayahanda Sariman tercinta dan kakak Rusyati, adik Rustia Fatmawati, adik Moh Febrian Alfiansyah, serta keluarga dan kerabat yang selama ini memberikan dukungan;
3. Para guru dan dosen dari SD sampai Perguruan Tinggi;
4. Almamater tercinta Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

**MOTTO**

“Barangsiapa bersungguh-sungguh, sesungguhnya kesungguhan itu adalah untuk dirinya sendiri.”

(QS Al-Ankabut [29]: 6)

"Orang-orang yang sukses telah belajar membuat diri mereka melakukan hal yang harus dikerjakan ketika hal itu memang harus dikerjakan, entah mereka menyukainya atau tidak."

(Aldus Huxley)

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

(Thomas Alva Edison)

Laki laki sejati bukanlah yang kuat gertakan dan hentakan ancamannya. Tetapi yang bisa menjalankan amanah dengan baik dan menjaga kehormatan orang lain.

(Umar bin Khattab)

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Moh Ainul Yakin

NIM : 121710101085

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Produksi Bioetanol Secara SHF Dan SSF Menggunakan *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride* Dan *New Aule Instant Dry Yeast* Pada Media Tepung Ubi Kayu” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 11 Desember 2017

Yang menyatakan,

Moh Ainul Yakin  
NIM 121710101085

**PRODUKSI BIOETANOL SECARA SHF DAN SSF MENGGUNAKAN  
*Aspergillus niger*, *Trichoderma viride* dan *New Aule Instant Dry Yeast*  
PADA MEDIA TEPUNG UBI KAYU**

**SKRIPSI**

Oleh

Moh Ainul Yakin  
NIM 121710101085

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : Dr. Ir. Jayus

Dosen Pembimbing Anggota : Ir. Mukhammad Fauzi M.Si.

**PENGESAHAN**


Skripsi berjudul “**Produksi Bioetanol Secara SHF Dan SSF Menggunakan *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride* Dan *New Aule Instant Dry Yeast* Pada Media Tepung Ubi Kayu**” karya Moh Ainul Yakin NIM. 121710101085 telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Senin, 11 Desember 2017

tempat : Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember

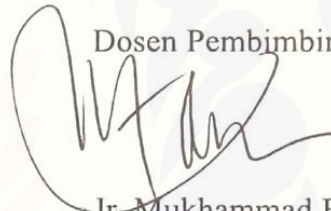
**Pembimbing:**

Dosen Pembimbing Utama,



Dr. Ir. Jayus  
NIP 196805161992031004


Dosen Pembimbing Anggota,



Ir. Mukhammad Fauzi, M.Si.  
NIP 196411091989021002


**Tim Penguji:**

Ketua,



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

Anggota,



Dr. Ir. Maryanto, M.Eng.  
NIP 195410101983031004

**Mengesahkan**

Dekan,



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

## RINGKASAN

**Produksi Bioetanol Secara SHF dan SSF Menggunakan *Aspergillus Niger*, *Trichoderma Viride* dan *New Aule Instant Dry Yeast* pada Media Tepung Ubi Kayu;** Moh Ainul Yakin; 121710101085; 2018 : 65 halaman; Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Produksi bioetanol berbahan pati dan selulosa seperti tepung ubi kayu beberapa kali telah dilakukan, namun bioetanol yang dihasilkan kurang optimal dan membutuhkan alternatif proses yang dapat meningkatkan produktivitas bioethanol. Menurut Dahnum *et al.*, (2015), etanol hasil fermentasi secara SHF dan SSF pada media tandan kosong , secara berurutan menghasilkan etanol 4.74 (g/l) dan 6.05 (g/l) dengan yield etanol masing-masing sebesar 76% (g/g) dan 97% (g/g), sedangkan menurut Sovorawet and Kongkiattikajorn (2012), yield etanol yang dihasilkan pada SHF dan SSF pada media batang ubi kayu tidak jauh berbeda yaitu 98.43% dan 95.29% dan etanol yang dihasilkan metode SSF sebesar 5.42-6.22 g/L dan metode SHF sebesar 5.9-6.23 g/L, waktu fermentasi SSF lebih singkat yaitu 24 jam. Upaya peningkatan produksi bioetanol tepung ubi kayu dapat dilakukan dengan menggunakan metode fermentasi SHF (*Separated Hydrolysis and Fermentation*) dan SSF (*Simultaneous Saccharification and Fermentation*) menggunakan kultur campuran *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride* dan *New Aule Instant Dry Yeast*. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui efisiensi hidrolisis dan fermentasi, serta mengetahui perbandingan hasil bioetanol yang diperoleh dari penggunaan metode SSF dengan SHF.

Proses fermentasi bioetanol menggunakan media tepung singkong 1,5% (w/v) dengan kondisi fermentasi pH 4.4, suhu 30°C, dan kecepatan agitasi 150 rpm. Proses fermentasi menggunakan metode SHF dan SSF selama 72 jam. Metode SHF dilakukan hidrolisis menggunakan starter *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride* selama 48 jam dan dilanjutkan fermentasi menggunakan starter *New Aule Instant Dry Yeast* selama 24 jam. Metode SSF dilakukan secara simultan menggunakan starter *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride* dan *New Aule Instant Dry Yeast* selama 72 jam. Starter *Aspergillus niger* dan *Trichoderma viride* menggunakan sebanyak 50 ml



dengan konsentrasi 40 mg/ml, starter *New Aule Instant Dry Yeast* dengan konsentrasi 2% (w/v). Pengolahan data hasil penelitian menggunakan statistik sederhana seperti rerata dan standart deviasi. Parameter penelitian meliputi kadar etanol, gula pereduksi, total gula, pH, massa sel, dan kinetika fermentasi.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode SHF memiliki efisiensi hidrolisis sebesar 74,73% (w/w) dengan jumlah total gula pereduksi 11,21 g/l. Total gula metode SHF lebih tinggi dibandingkan metode SSF, secara berturut-turut 10,7 g/l dan 10,3 g/l. Produktivitas etanol metode SHF lebih tinggi dibandingkan metode SSF, secara berturut-turut 0,324 g/l/jam dan 0,076 g/l/jam. Metode SHF mampu menghasilkan kadar etanol lebih tinggi dibandingkan SSF berturut-turut sebesar 5,8 g/l dan 3,6 g/l. Efisiensi fermentasi metode SHF lebih tinggi (38,86%) dibandingkan metode SSF (24,36%). Waktu produksi bioethanol metode SSF lebih cepat (48 jam) dibandingkan metode SHF (72 jam).

## SUMMARY

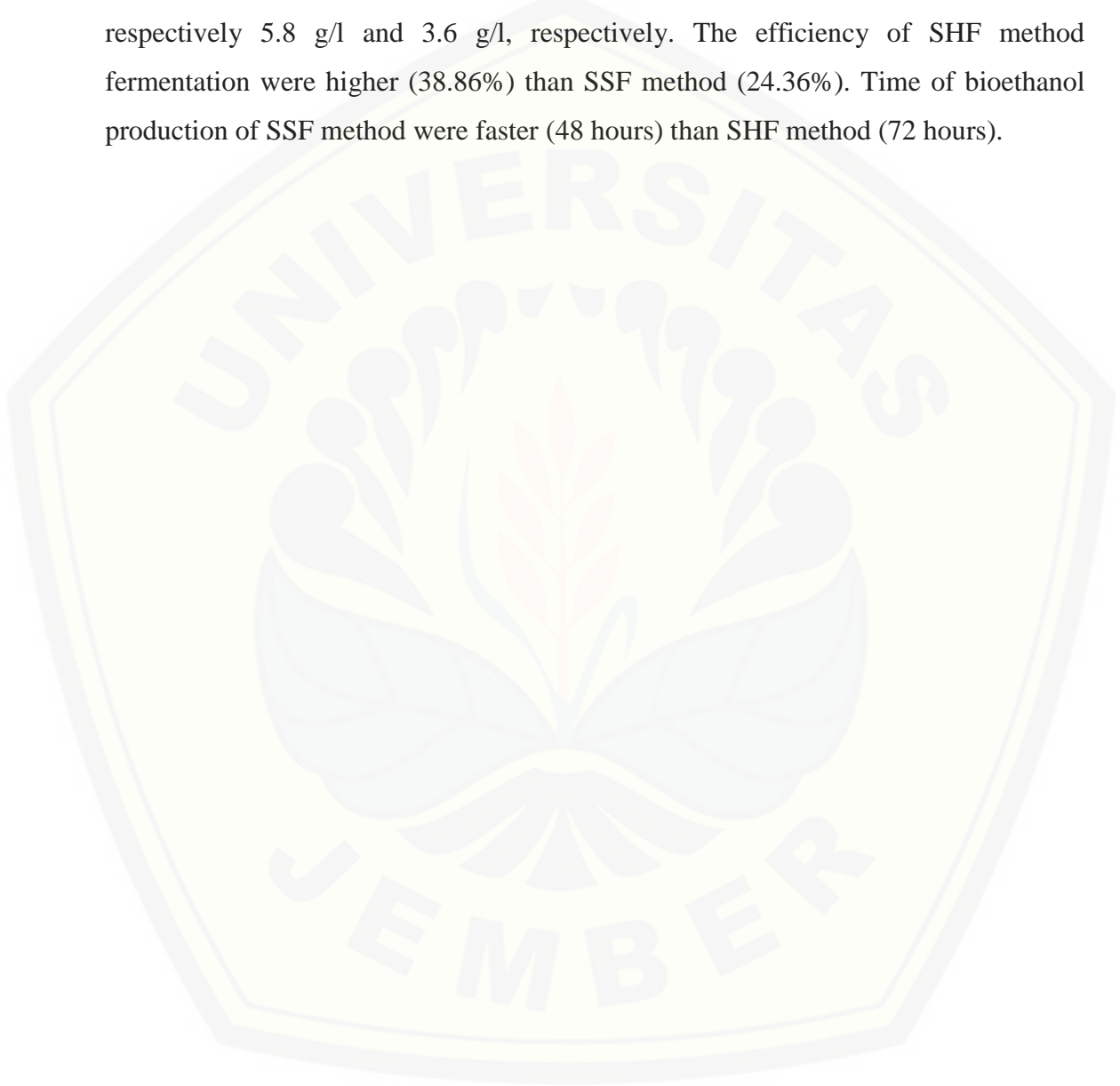
**Separated Hydrolysis and Simultaneous Saccharification for Production of Bioethanol From *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride* and *New Aule Instant Dry Yeast* Using Cassava Flours as Substrate;** Moh Ainul Yakin; 121710101085; 2018: 65 pages; Department of Agricultural Technology Faculty of Agricultural Technology University of Jember.

Bioethanol production of starch and cellulose such as cassava flours has been done several times but it was not optimal and requires several processes. The improvement of bioethanol production of cassava flours could be done with fermentation in SHF (*Separated Hydrolysis And Fermentation*) and SSF (*Simultaneous Saccharification And Fermentation*) using *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride* and *New Aule Instant Dry Yeast*. The purpose of these research were determined bioethanol yield, the efficiency of fermentation, and compare the bioethanol yield between SSF and SHF method.

Bioethanol fermentation using cassava flour medium 1.5% (w/v) with fermentation condition pH 4.4, temperature 30°C, and agitation speed 150 rpm. The fermentation process uses SHF and SSF method for 72 hours. The SHF method was hydrolysed using starter of *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride* for 48 hours and continued fermentation using *New Aule Instant Dry Yeast* for 24 hours. The SSF method performed simultaneously using starter of *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride* and *New Aule Instant Dry Yeast* for 72 hours. *Aspergillus niger* and *Trichoderma viride* starter which used were 50 ml with concentration 40 mg / ml, *New Aule Instant Dry Yeast* starter concentration 2% (w/v). Data obtained was presented as an average and standard deviation. Ethanol content, reducing sugar, total sugar, pH, cell mass, and fermentation kinetics were analyzed in this study.

The result showed that SHF method has hydrolysis efficiency equal to 74,73% (w/w) with reducing sugar 11,21 g/l. The total sugar of SHF method were

higher than SSF method, respectively 10.7 g/l and 10.3 g/l. The ethanol productivity of the SHF method were higher than the SSF method, respectively  $0.324 \text{ g l}^{-1}\text{hr}^{-1}$  and  $0.076 \text{ g l}^{-1}\text{hr}^{-1}$ . Ethanol content of SHF method were higher than SSF method, respectively 5.8 g/l and 3.6 g/l, respectively. The efficiency of SHF method fermentation were higher (38.86%) than SSF method (24.36%). Time of bioethanol production of SSF method were faster (48 hours) than SHF method (72 hours).



## PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Produksi Bioetanol Secara SHF Dan SSF Menggunakan *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride* Dan *New Aule Instant Dry Yeast* Pada Media Tepung Ubi Kayu”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan Strata Satu (S1) pada Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember

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

1. Dr. 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 Dosen Pembimbing Akademik;
3. Dr. Ir. Jayus, selaku Dosen Pembimbing Utama dan pemilik proyek penelitian, yang telah memberikan bimbingan serta arahan selama penulisan skripsi;
4. Ir. Mukhammad Fauzi M.Si. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu dan pikiran guna memberikan bimbingan dan pengarahan demi kemajuan penyelesaian penelitian dan penulisan skripsi;
5. Dr. Nurhayati, S.TP, M.Si. dan Dr. Ir. Maryanto, M.Eng. selaku tim penguji, atas saran dan evaluasi demi perbaikan penulisan skripsi;
6. Seluruh karyawan dan teknisi Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan Hasil Pertanian, Laboratorium Kimia dan Biokimia Hasil Pertanian, dan Laboratorium Manajemen Agroindustri Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember;
7. Ibunda, Ayahanda, Kakak dan Adik Tercinta serta seluruh keluarga besar yang telah memberikan doa dan dukungan demi terselesaikannya skripsi ini;
8. Keluarga Besar Kontrakan Raider Jl. Blimbing 22 dan Jl. Jawa 7 No 50;

9. Sahabat THEBIDA'12, dan teman-teman Jurusan Teknologi Hasil Pertanian angkatan 2012 yang telah berjuang bersama selama ini;
10. Keluarga Besar HMI Komisariat Teknologi Pertanian Cabang Jember serta teman pengurus periode 2014-2015( Hikam, Tari, Rosyad, feri, Indah, Dimas, Rizal, Wiji, Faiq);
11. Keluarga Besar HIMAGIHASTA Angkatan XII yang telah berjuang bersama;
12. Semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini baik secara langsung maupun tidak langsung.

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

Jember, 11 Desember 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN MOTTO</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	v
<b>HALAMAN PEMBIMBINGAN</b> .....	vi
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vii
<b>RINGKASAN</b> .....	viii
<b>SUMMARY</b> .....	x
<b>PRAKATA</b> .....	xii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xiv
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xvii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xviii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xix
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Perumusan Masalah</b> .....	3
<b>1.3 Tujuan Penelitian</b> .....	3
<b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....	4
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	5
<b>2.1 Bioetanol</b> .....	5
<b>2.2 Produksi Bioetanol pada Proses Fermentasi</b> .....	6
<b>2.3 Metode Fermentasi Bioetanol</b> .....	8
2.3.1 Metode <i>Sparated Hydrolysis and Fermentation</i> (SHF).....	8
2.3.2 Metode <i>Simultaneous Saccharification</i> <i>and Fermentation</i> (SSF) .....	9

2.4 Komposisi Singkong (Ubi Kayu) .....	9
2.5 Karakteristik <i>Aspergillus niger</i> , <i>Trichoderma viride</i> dan <i>Saccaromyces cerevisiae</i> .....	10
2.5.1 <i>Aspergillus niger</i> .....	10
2.5.2 <i>Trichoderma viride</i> .....	11
2.5.3 <i>Saccaromyces cerevisiae</i> .....	11
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b> .....	14
<b>3.1 Tempat dan Waktu Penelitian</b> .....	14
<b>3.2 Bahan dan Alat Penelitian</b> .....	14
3.2.1 Bahan Penelitian .....	14
3.2.2 Alat Penelitian.....	15
<b>3.3 Rancangan Penelitian</b> .....	14
<b>3.4 Tahapan Penelitian</b> .....	14
<b>3.5 Prosedur Analisis</b> .....	18
3.6.1 Massa Sel.....	18
3.6.2 Populasi Yeast .....	19
3.6.3 Kadar Total Gula Terlarut .....	20
3.6.4 Kadar Gula Reduksi .....	20
3.6.5 Derajat Keasaman/ Ph .....	21
3.6.6 Kadar Etanol .....	21
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	24
<b>4.1 Profil Fermentasi Bioetanol Metode SHF pada Media Tepung Ubi     Kayu</b> .....	24
4.1.1 Profil Hidrolisis Metode SHF .....	24
4.1.2 Profil Fermentasi Bioetanol Metode SHF.....	26
<b>4. 2 Profil Fermentasi Bioetanol Metode SSF Pada Media Tepung Ubi     Kayu</b> .....	27

<b>4.3 Perubahan pH Fermentasi secara SHF dan SSF pada Media Tepung Ubi Kayu</b> .....	30
<b>4.5 Kinetika Fermentasi Bioetanol Secara SHF dan SSF pada Media Tepung Ubi Kayu</b> .....	32
4.5.1 Populasi Yeast.....	32
4.5.2 Laju Konsumsi Gula Pereduksi .....	32
4.5.3 <i>Growth Rate</i> .....	33
4.5.4 <i>Growth yield</i> .....	34
4.5.5 Jumlah Etanol dan Produktivitas Etanol .....	34
4.5.6 Yield Etanol dan Efisiensi Fermentasi.....	35
<b>BAB 5. PENUTUP</b> .....	37
<b>5.1 Kesimpulan</b> .....	37
<b>5.2 Saran</b> .....	37
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	38
<b>LAMPIRAN</b> .....	44
<b>LAMPIRAN FOTO</b> .....	63



**DAFTAR TABEL**

	Halaman
2.1 Sifat-sifat etanol .....	6
2.2 Komposisi kimia ubi kayu .....	10
3.1 Komposisi <i>mineral salt solution</i> .....	13
4.1 Efisiensi hidrolisis polisakarida pada total gula dan gula pereduksi .....	26
4.2 Parameter kinetika fermentasi pada produksi bioethanol secara SHF dan SSF .....	32

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Struktur molekul etanol.....	5
2.2 Proses fermentasi oleh ragi <i>S. cereviceae</i> .....	7
3.1 Diagram alir tahap penelitian.....	16
3.2 Kotak <i>Haemacytometer</i> .....	20
4.1 Hubungan antara massa sel, etanol, total gula terlarut dan gula reduksi selama proses fermentasi bioetanol secara SHF .....	25
4.2 Hubungan antara massa sel, etanol, total gula terlarut dan gula reduksi selama proses fermentasi bioetanol secara SSF.....	28
4.3 Perubahan etanol menjadi asam asetat.....	30
4.4 Hubungan antara waktu dengan penurunan pH selama fermentasi bioetanol secara SHF dan SSF.....	31

**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
<b>LAMPIRAN PERHITUNGAN</b> .....	43
Lampiran A. Kurva standart.....	43
Lampiran B. Metode SSF ( <i>Simultaneous Saccharification and Fermentation</i> ) ...	48
Lampiran C. Metode SHF ( <i>Separate Hydrolysis and Fermentation</i> ) .....	51
Lampiran D. Kinetika Parameter fermentasi pada produksi bioethanol secara SHF dan SSF .....	54
<b>LAMPIRAN FOTO</b> .....	63

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Kebutuhan etanol dunia semakin meningkat, berdasarkan *Organisation for Economic Co-operation and Development* (2015) kebutuhan etanol dunia mencapai 119.000 juta liter, diperkirakan kebutuhan etanol akan meningkat setiap tahunnya. Upaya peningkatan produktivitas etanol, untuk memenuhi kebutuhan etanol nasional perlu dilakukan. Pengembangan produksi etanol di Indonesia memiliki prospek yang baik, karena ketersediaan bahan baku yang melimpah seperti ubi kayu.

Bioetanol adalah etanol yang dihasilkan dari fermentasi glukosa (gula) dengan bantuan ragi atau *yeast* terutama jenis *Saccharomyces cerevisiae* (Khaidir *et al.*, 2012). Bioetanol dapat meningkatkan efisiensi pembakaran dibandingkan premium, karena mengandung 35% oksigen dan ramah lingkungan (Indartono, 2005). Bioetanol dapat digunakan sebagai pengganti bahan bakar minyak sesuai dengan tingkat kemurniannya. Bioetanol dengan kadar 95-99% dapat dipakai sebagai bahan substitusi premium (bensin), sedangkan bioetanol dengan kadar 40% dapat digunakan sebagai bahan substitusi minyak tanah. Bioetanol dapat diproduksi dari beberapa jenis media yang mengandung gula, pati, selulosa, dan bahan berserat (lignoselulosa). Produksi bioetanol di Indonesia dapat menggunakan singkong karena produksi singkong Indonesia terus meningkat secara konsisten yaitu pada tahun 2011 mencapai 20 juta ton berdasarkan data Kemendag RI 2013. Menurut Prihardana, (2008). Ubi kayu (singkong) sebagai bahan baku sumber energi alternatif memiliki kadar karbohidrat sekitar 32-35% dan rendemen sekitar 83,8% setelah diproses menjadi tepung. Penggunaan ubi kayu sebagai bahan baku bioetanol selama ini lebih banyak hanya memanfaatkan kandungan pati dan tepungnya, karena disebabkan dalam proses hidrolisisnya hanya menggunakan enzim-enzim amilolitik yang mampu menghidrolisis karbohidrat dalam tepung ubi kayu.

Fermentasi etanol (alkohol) pada umumnya menggunakan mikroorganisme *Saccharomyces cerevisiae* untuk mengkonversi gula menjadi etanol (alkohol). Penggunaan *Saccharomyces cerevisiae* untuk produksi bioetanol memiliki kondisi optimum pada suhu fermentasi 36°C, pH 4,8 (Lu *et al.*, 2013). Pada fermentasi singkong menjadi etanol membutuhkan hidrolisis untuk mengkonversi tepung menjadi gula pereduksi (glukosa) sebelum fermentasi. Hidrolisis tepung dapat dilakukan secara kimiawi atau enzimatik. Hidrolisis kimiawi menggunakan asam seperti H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, HCl dan basa seperti NaOH. Hidrolisis dengan asam akan memotong ikatan pada tepung secara acak dan membutuhkan suhu tinggi (120-160°C). Hidrolisis enzimatik dilakukan dengan menggunakan enzim  $\alpha$ -amylase dan amiloglukosidase. Enzim  $\alpha$ -amylase dapat menghidrolisis molekul tepung (amilosa dan amilopektin). Enzim  $\alpha$ -amylase dapat menghidrolisis ikatan  $\alpha$ -1,4-glikosida. Hasil hidrolisis amilosa adalah glukosa dan maltosa, sedangkan hasil hidrolisis amilopektin menghasilkan campuran limit dekstrin, maltose, isomaltosa dan disertai sedikit glukosa. Enzim amiloglukosidase mampu menghidrolisis tepung menjadi molekul-molekul glukosa. Enzim glukoamilase dapat dihasilkan dari strain *Aspergillus niger*, *Rhizopus oryzae*, dan *Trichoderma viride* (Tjokroadikoesoemo 1986).

Menurut Arnata (2009 dan 2015) penggunaan kultur campuran dan penggunaan metode fermentasi yang berbeda dapat meningkatkan kadar bioetanol. Metode fermentasi bioetanol dapat dibagi menjadi dua yaitu *Separate Hydrolysis and Fermentation* (SHF) dan *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF). Menurut Sovorawet dan Kongkiattikajorn (2012), yield etanol yang dihasilkan pada SHF dan SSF tidak berbeda yaitu 98.43% dan 95.29% dengan waktu fermentasi SSF lebih singkat yaitu 24 jam. Berdasarkan hal tersebut produksi bioetanol tepung ubi kayu menggunakan *A.niger*, *T.viride* dan *New Aule Instant Dry Yeast* secara (SHF) dan (SSF) perlu diteliti sebagai upaya optimasi produksi bioetanol.

## 1.2 Rumusan Masalah

Proses pembuatan bioetanol berbahan tepung atau pati membutuhkan proses hidrolisis sebelum dilakukan proses fermentasi. Hidrolisis dapat dilakukan secara kimiawi atau enzimatik. Proses hidrolisis secara kimiawi dengan asam akan memotong ikatan pada tepung dan serat secara acak dan kurang optimal. Hidrolisis enzimatik dapat dilakukan dengan menggunakan enzim  $\alpha$ -amilase, amiloglukosidase. Menurut Selvakumar *et al.*, (1996), proses produksi bioetanol berbahan ubi kayu dapat dilakukan dengan proses hidrolisis dan fermentasi secara *Separate Hydrolysis and Fermentation* (SHF) maupun *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF). Menurut (Ohgren, *et al.*, 2007) penggunaan fermentasi secara *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF) lebih baik daripada *Separate Hydrolysis and Fermentation* (SHF). Menurut Dahnum *et al.*, (2015), etanol hasil fermentasi secara SHF dan SSF pada media tandan kosong, secara berurutan menghasilkan etanol 4.74 (g/l) dan 6.05 (g/l) dengan yield etanol masing-masing sebesar 76% (g/g) dan 97% (g/g), sedangkan menurut Sovorawet and Kongkiattikajorn (2012), yield etanol yang dihasilkan pada SHF dan SSF pada media batang ubi kayu tidak jauh berbeda yaitu 98.43% dan 95.29% dan etanol yang dihasilkan metode SSF sebesar 5.42-6.22 g/L dan metode SHF sebesar 5.9-6.23 g/L, waktu fermentasi SSF lebih singkat yaitu 24 jam. Berdasarkan hal tersebut, produksi bioetanol tepung ubi kayu menggunakan *A.niger*, *T. viride* dan *New Aule Instan Dry Yeast* secara hidrolisis fermentasi bertahap (SHF) dan hidrolisis sakarifikasi simultan (SSF) perlu diteliti sebagai upaya optimasi produksi bioetanol tepung ubi kayu.

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah :

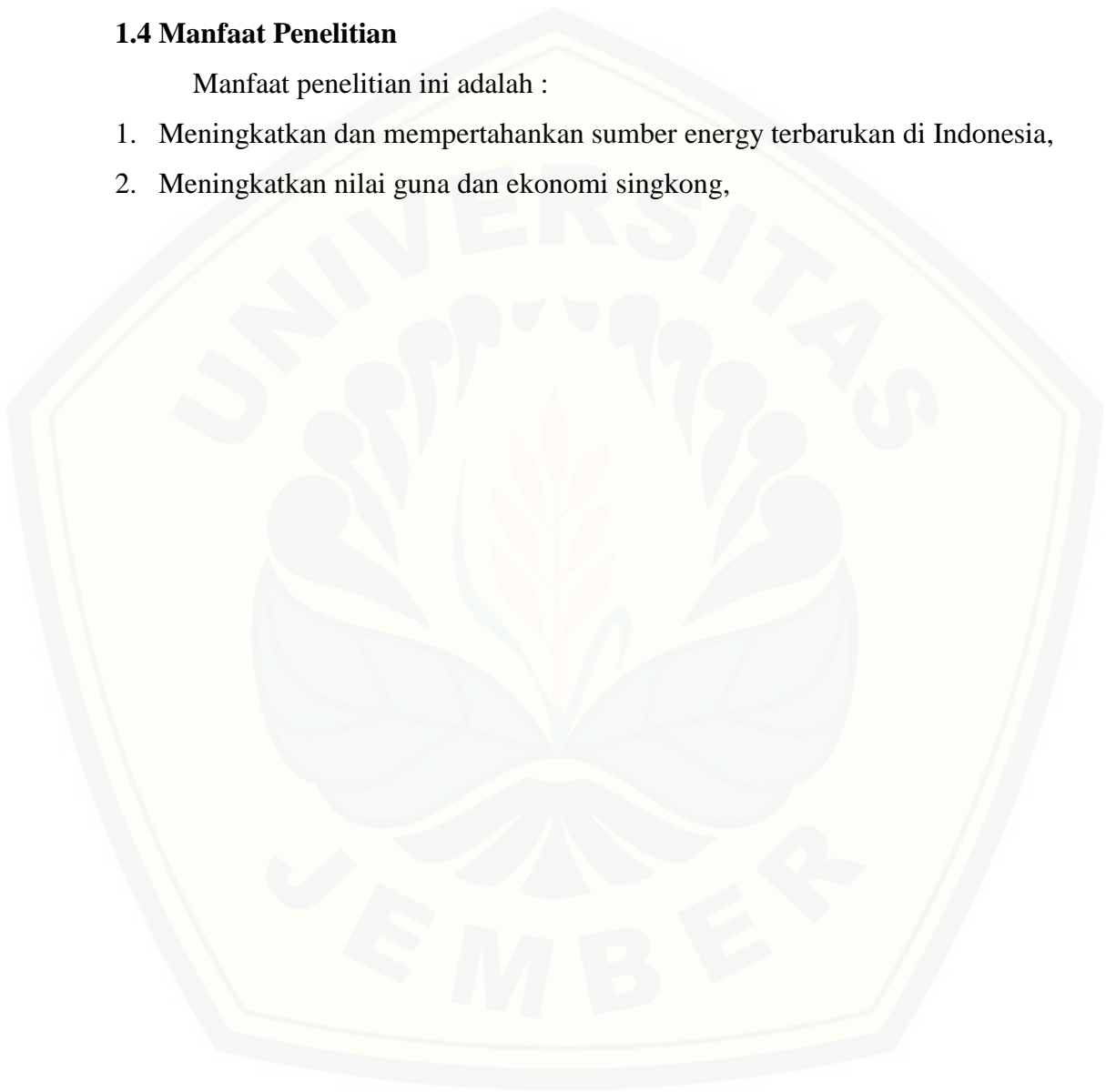
1. Mengetahui jumlah bioetanol yang dihasilkan dari proses fermentasi secara SHF dan SSF menggunakan pertumbuhan sinergis antara kapang *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride* dan ragi *New Aule Instant Dry Yeast*,

2. Mengetahui efisiensi fermentasi secara SHF dan SSF menggunakan pertumbuhan sinergis antara kapang *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride* dan ragi *New Aule Instant Dry Yeast*.

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

Manfaat penelitian ini adalah :

1. Meningkatkan dan mempertahankan sumber energy terbarukan di Indonesia,
2. Meningkatkan nilai guna dan ekonomi singkong,

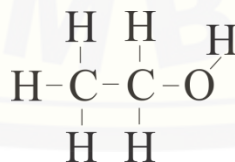


## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Bioetanol

Bioetanol adalah etanol yang dihasilkan dari fermentasi glukosa (gula) menggunakan ragi atau yeast terutama jenis *Saccharomyces cerevisiae* (Khaidir *et al.*, 2012). Bioetanol merupakan senyawa organik golongan alkohol primer yang berwujud cair dalam suhu kamar, tidak berwarna, mudah menguap, mudah terbakar, mudah larut dalam air, dan tembus cahaya. Menurut LIPI (2008), bioetanol (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH) adalah cairan biokimia pada proses fermentasi gula dari sumber karbohidrat yang menggunakan bantuan mikroorganisme. Bahan baku yang dapat digunakan pada pembuatan etanol adalah nira tebu, nira nipah, nira sorgum manis, nira kelapa, nira aren, nira siwalan, sari buah mete, tepung biji sorgum, sagu, singkong, ubi jalar, ganyong, garut, umbi dahlia, kayu, jerami, batang pisang, bagas dan lain-lain.

Sifat fisika dan kimia pada etanol berhubungan dengan gugus hidroksil (-OH) dan alkil (-R) yang dimiliki etanol. Adanya gugus hidroksil dapat mempengaruhi kelarutan dan titik didih etanol di dalam air. Etanol memiliki gugus alkil yang pendek, maka kelarutannya dalam air akan semakin tinggi dan berdampak pada titik didihnya yang semakin rendah, jika dibandingkan dengan butanol, propanol, dan alkohol lain dengan gugus alkil yang lebih banyak (Amarasekara, 2013). Menurut Setiadji (2009), reaksi kimia yang dapat terjadi pada etanol meliputi dehidrasi, dehidrogenasi, oksidasi, dan esterifikasi.



**Gambar 2.1** Struktur molekul etanol (Walker, 2010).

Bioetanol merupakan etanol atau kependekan dari etil alkohol (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH) atau sering juga disebut dengan *grain alcohol* dengan sifat fisik berbentuk cair tidak berwarna dan memiliki aroma khas. Bioetanol dapat meningkatkan efisiensi



pembakaran karena mengandung 35% oksigen dan ramah lingkungan (Indartono, 2005). Sifat-sifat etanol disajikan dalam Tabel 2.1.

**Tabel 2.1** Sifat-sifat etanol

Komponen	Nilai
Massa molekul relatif	46,07 g/mol
Titik beku	-114,1 °C
Titik didih normal	78,32 °C
Densitas pada 20°C	0,7893 g/ml
Kelarutan dalam air	Sangat larut
Viskositas pada 20°C	1,17 Cp
Kalor spesifik 20°C	0,579 kal/g °C
Kalor pembakaran 25°C	7092,1 kal/g
Kalor penguatan 78,32°C	200,6 kal/g
Nilai oktan	92 oktan

Sumber : Sari, 2009

## 2.2 Produksi Bioetanol dengan Fermentasi

Bioetanol adalah senyawa hidrokarbon berupa gugus hidroxy (-OH) dengan 2 atom karbon (C). Spesies alkohol yang banyak digunakan adalah  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$  yang disebut metil alkohol (metanol),  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  yang diberi nama etil alkohol (etanol), dan isopropil alkohol (IPA) atau propanol-2, dalam dunia perdagangan.

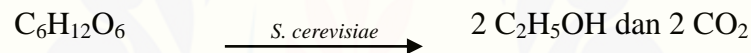
Proses pengolahan ubi kayu menjadi bahan bakar nabati (BNN) dilakukan dengan urutan sebagai berikut.

1. Proses hidrolisis, yaitu proses konversi tepung menjadi glukosa
2. Proses fermentasi, yaitu proses konversi glukosa menjadi etanol dan  $\text{CO}_2$
3. Proses destilasi, yaitu proses pemurnian etanol hasil fermentasi menjadi etanol dengan kadar 95-96%
4. Proses dehidrasi, yaitu proses penghilangan air dari 96% menjadi 99,5%.

Fermentasi merupakan suatu proses produksi energi yang dilakukan sel dalam keadaan tanpa oksigen (*anaerob*). Dalam arti luas, fermentasi adalah proses pemecahan gula-gula sederhana (glukosa atau fruktosa) menjadi etanol dan  $\text{CO}$  dengan melibatkan enzim yang dihasilkan oleh ragi. Contoh aplikasi dari fermentasi yaitu proses pengasaman susu, dekomposisi tepung dan gula menjadi alkohol dan karbondioksida, serta oksidasi senyawa nitrogen organik (Hidayat,

2006). Ragi dikenal sebagai bahan yang umum digunakan dalam fermentasi untuk menghasilkan etanol dalam bir, anggur dan minuman beralkohol lainnya. Gula adalah bahan yang umum digunakan dalam fermentasi. Beberapa contoh hasil fermentasi adalah etanol, asam laktat, dan hidrogen.

Menurut Retno dan Nuri (2011), produksi bioetanol dengan menggunakan bahan bertepung harus diawali dengan proses pemecahan tepung menjadi gula sederhana atau glukosa secara hidrolisis asam atau enzimatis. Reaksi yang terjadi selama proses fermentasi etanol tergantung pada jenis gula yang digunakan. Glukosa ( $C_6H_{12}O_6$ ) merupakan jenis gula yang paling sederhana, dimana setelah melalui proses fermentasi akan menghasilkan etanol ( $2C_2H_5OH$ ). Pada reaksi tersebut satu molekul glukosa akan membentuk dua molekul etanol dan dua molekul  $CO_2$ . Reaksi kimia glukosa menjadi etanol dapat dilihat pada **Gambar 2.2**



**Gambar 2.2** Proses fermentasi oleh ragi *S. cereviceae*

Menurut Winarno (1990) untuk memperoleh hasil yang optimal terdapat beberapa faktor yang perlu diperhatikan seperti pH, kadar substrat, suhu fermentasi serta kemurnian ragi yang digunakan. Teknik fermentasi sangat berpengaruh terhadap rendemen etanol yang dihasilkan. Selama proses fermentasi dilakukan pengendalian suhu agar tidak melebihi  $36^\circ C$  dan pHnya dipertahankan 4,5–5. Proses fermentasi dapat diakhiri setelah tidak terdapat lagi gelembung-gelembung udara. Kadar etanol dalam media fermentasi kurang lebih 7%-10%. Kadar etanol dapat ditingkatkan dengan cara penyulingan (destilasi) yang bertujuan untuk memisahkan alkohol dengan air berdasarkan titik didihnya, sehingga kadar alkohol menjadi lebih tinggi (Fardiaz, 1992).

Alkohol yang dihasilkan dari proses fermentasi masih mengandung zat-zat lain yang tidak diperlukan seperti gas  $CO_2$  yang perlu dibersihkan untuk meningkatkan kualitas alkohol tersebut. Gas  $CO_2$  pada hasil fermentasi dapat mencapai 35% volume, sehingga adanya proses pembersihan sangat diperlukan untuk memperoleh etanol dengan kualitas baik. Proses pembersihan (*washing*)

CO<sub>2</sub> dilakukan dengan menyaring etanol yang terikat oleh CO<sub>2</sub>. Selain itu untuk memperoleh etanol yang berkadar 95% diperlukan juga proses destilasi. Kadar etanol dalam % volume merupakan volume larutan etanol pada temperatur tertentu (pengukuran). Berdasarkan Balai Keujian Standart (BKS) alkohol spiritus, standart temperatur pengukuran yaitu 27,5°C dengan kadar alkohol 95,5% dan pada temperatur 15°C kadar alkoholnya mencapai 96,2% (Wasito, 2005).

### 2.3 Metode Fermentasi Bioetanol

Fermentasi merupakan suatu proses konversi gula pereduksi menjadi etanol yang dilakukan oleh mikroorganisme. Proses fermentasi dipengaruhi oleh substrat yang digunakan, strain yang digunakan serta kondisi proses fermentasi. Kondisi fermentasi merupakan faktor penting yang akan mempengaruhi produk etanol yang dihasilkan. Terdapat 2 jenis metode fermentasi untuk memproduksi etanol, yaitu fermentasi secara *Separated Hydrolysis And Fermentation* (SHF) dan fermentasi secara *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF) (Sari, 2016).

#### 2.3.1 Fermentasi secara *Separated Hydrolysis and Fermentation* (SHF)

SHF merupakan proses produksi etanol dimana tahap hidrolisis dan tahap fermentasi berlangsung secara terpisah sehingga memudahkan pengontrolan pada setiap tahap, agar diperoleh hasil sesuai yang diinginkan. Menurut Taherzadeh dan Karimi (2007), keuntungan dari fermentasi secara SHF yaitu hidrolisis dapat dilakukan oleh enzim selulase dan fermentasi oleh mikroorganisme dapat dilakukan pada masing-masing kondisi optimum. Menurut Joshi *et al.*, (2011), salah satu kelemahan dari fermentasi secara SHF yaitu pada akhir hidrolisis terjadi penghambatan kerja enzim sehingga dapat membatasi kinerja dari enzim. Kelemahan lain yaitu inhibitor produk akhir yang dapat menurunkan kadar bioetanol yang dihasilkan dan rentan terhadap kontaminan.

#### 2.3.2 Fermentasi secara *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF)

SSF adalah proses produksi bioetanol yang menggabungkan tahapan hidrolisis enzimatik dengan proses fermentasi (Olofsson *et al.*, 2008). Fermentasi

secara SSF pertama kali dikenalkan oleh Takagi *et al.*, pada tahun 1977 yang merupakan kombinasi antara hidrolisis menggunakan enzim selulase dan mikroorganisme *S. cerevisiae* secara simultan. Proses SSF sebenarnya hampir sama dengan SHF, tetapi dalam proses SSF fermentasi dilakukan dalam satu reaktor. Kelebihan penggunaan fermentasi secara SSF yaitu dapat mencegah terhambatnya kerja enzim oleh produk glukosa dan selobiosa yang selama ini menjadi kelemahan dari fermentasi secara pembuatan etanol secara terpisah (Olofsson *et al.* 2008). Keuntungan lain dari proses ini yaitu polisakarida yang terkonversi menjadi monosakarida tidak kembali menjadi polisakarida karena monosakarida langsung difermentasi oleh *yeast* menjadi etanol. Selain itu dengan menggunakan satu reaktor maka akan meminimalisir biaya peralatan (Samsuri, 2007). Kelemahan dari fermentasi secara SSF yaitu proses hidrolisis dan fermentasi masing-masing memiliki rentang suhu optimum yang berbeda. Kondisi optimum aktivitas enzim selulase yaitu pada pH 4,8 dan suhu 50°C (Samsuri *et al.*, 2009)

#### **2.4 Komposisi Ubi Kayu (Singkong)**

Ubi kayu (singkong) merupakan salah satu jenis umbi-umbian yang menjadi sumber bahan baku utama pembuatan bioetanol karena mempunyai kemampuan untuk tumbuh di tanah yang tidak subur, tahan terhadap serangan hama penyakit dan dapat diatur masa panennya. Ubi kayu merupakan sumber karbohidrat karena kandungan tepungnya yang cukup tinggi, harga di saat panen raya seringkali sangat rendah sehingga dengan mengolahnya menjadi etanol diharapkan harga menjadi lebih stabil, dan menguatkan *security of supply* bahan bakar berbasis kemasyarakatan (Prihandana *et al.*, 2007).

Ubi kayu sebagai bahan baku energi alternatif hanya memiliki kadar karbohidrat sekitar 32-37% dan kadar tepung sekitar 83,8% setelah diproses menjadi tepung. Jenis polisakarida yang menyusun umbi ubi kayu antara lain tepung, selulosa dan hemiselulosa (Winarno 1992). Menurut Wahono (2006), konversi biomassa menjadi bioetanol hasil bioetanol yang dihasilkan 166,6 L/ 1000 kg. Komposisi kimia ubi kayu segar dan tepung ubi kayu pada Tabel 2.2.

**Tabel 2.2** Komposisi Kimia Ubi Kayu

Komponen	Komposisi Ubi Kayu segar % (a)	Komposisi Tepung Ubi Kayu % (b)
Air	63	7,80
Abu	1,2	2,22
Lemak	0,2	0,51
Protein	0,3	1,60
karbohidrat	35,3	87,87
• Pati	33,7	84,31
• Serat kasar	1,6	2,69

Sumber : Widiastoety dan Purbadi, (2003)

## 2.5 Karakteristik *A. niger*, *T. viride* dan *S. cerevisiae*

### 2.5.1 *Aspergillus Niger*

*Aspergillus niger* merupakan fungi dari *ascomycota* yang berfilamen, mempunyai hifa, bercabang-cabang dan bersekat, berwarna terang atau tidak berwarna dan dapat ditemukan melimpah di alam. *Aspergillus niger* tumbuh optimum pada suhu 35-37°C dan suhu minimum 6-8°C. Pertumbuhan *Aspergillus niger* adalah *aerobic*. *Aspergillus niger* menghasilkan enzim amilase, pektinase, amiloglukosida, dan selulosa (Ingrid, 2012). *Aspergillus niger* dikenal sebagai kapang penghasil asam sitrat, anilin, pektinase, selulase,  $\beta$ -1,4-glikan hidrolase, protease,  $\alpha$ -amilase, glukoamilase, maltase,  $\beta$ -galakto sidase,  $\alpha$ -glukosidase,  $\beta$ -glukosidase, asam glukonat, glukosa oksidase, asam oksalat, fosfodiesterase, ribonuklease, pupulan 4- glukanohidrolase,  $\beta$ -xilosidase, xilanase dan lipase. Glukoamilase dari *A. niger* menunjukkan bobot molekul berkisar 54-112 kD dan pH optimum berkisar antara 4,0-5,0. Temperatur optimum aktivasi berkisar antara 40-65 °C (Selvakumar *et al.* 1996).

### 2.5.2 *Trichoderma viride*

*Trichoderma viride* merupakan salah satu jenis kapang yang mudah dilihat karena memiliki penampakan seperti kapas, namun ketika spora telah timbul akan tampak berwarna hijau tua. *Trichoderma viride* mampu memproduksi enzim selulase komplek yaitu endoselulase dan eksoselulase. *T.viride* dapat tumbuh optimal pada pH 4, dan untuk memproduksi enzim selulase pH optimum

mendekati pH 3. Selama memproduksi enzim, pH dipertahankan pada kondisi 3-4 karena apabila pH dibawah 2 maka akan terjadi inaktivasi enzim. Suhu optimum untuk pertumbuhan mikroba jenis ini yaitu antara 32-35°C dan sedangkan untuk memproduksi enzim antara 25-28°C. Enzim selulase *T.viride* optimum pada kondisi pH 4 dan akan tetap stabil pada pH 3-7 dengan suhu optimum 50°C dan aktivitasnya akan menurun pada suhu lebih dari 50°C (Arnata, 2009). Menurut Ujiie *et al.* (1991), *T.viride* selain menghasilkan enzim selulase, mikroorganismenya jenis ini juga dapat menghasilkan enzim endo-1,4- $\beta$ -xilanase yang mampu mendegradasi xilan. Mikroorganismenya jenis *Trichoderma* mampu memetabolisme gula dari golongan pentosa maupun heksosa dan memiliki karakteristik yang tidak terlalu sensitif terhadap material-material lignoselulistik (Larsson *et al.*, 1999).

### 2.5.3 *Saccharomyces cerevisiae*

Pada umumnya produksi alkohol dilakukan menggunakan starter berupa ragi yang merupakan awetan dari khamir *Saccharomyces cerevisiae* berbentuk padat dan kering. *S. cerevisiae* merupakan mikroorganismenya anerob fakultatif yaitu mikroorganismenya yang pada keadaan cukup oksigen melakukan respirasi biasa. Akan tetapi, jika dalam keadaan lingkungan kurang oksigen mikroorganismenya akan melakukan fermentasi karbohidrat menjadi etanol dan CO<sub>2</sub> (Savitri, 2010). *S. cerevisiae* merupakan organismenya uniseluler yang bersifat mikroskopis dan disebut juga sebagai jasad sakarolitik karena menggunakan gula sebagai sumber karbon untuk metabolismenya. Jenis gula yang dapat digunakan oleh *S. cerevisiae* diantaranya yaitu sukrosa, glukosa, fruktosa, galaktosa, mannose, matose dan maltotirosa.

*S. cerevisiae* memiliki kelebihan dalam menghasilkan alkohol dengan jumlah yang cukup tinggi serta memiliki ketahanan hidup yang cukup tinggi untuk produksi skala industri (Jeffries *et al.*, 2000). Selain itu *S. cerevisiae* juga tahan terhadap kadar gula yang tinggi serta masih tetap aktif melakukan fermentasi pada suhu 4°C (Siregar, 1992). Strain *S. cerevisiae* bisa diperoleh dalam bentuk kultur murni maupun dalam bentuk ragi, seperti *Baker's yeast* untuk pembuatan roti. Dalam produksi alkohol pemilihan strain *S. cerevisiae* sangat berpengaruh karena pada strain *S. cerevisiae* yang berbeda memiliki sifat dan

karakteristik yang berbeda. Strain yang digunakan dalam produksi alkohol harus memiliki kemampuan untuk menghasilkan etanol yang tinggi (Hahn dkk, 1996). Menurut Jayus *et al.*, (2016) penggunaan ragi instant mampu menghasilkan etanol yang lebih tinggi pada media molases.

Menurut Kumalasari (2011), menyatakan bahwa *Saccharomyces cerevisiae* akan tumbuh optimal dalam kisaran suhu 30-35°C dan puncak produksi alkohol dicapai pada suhu 33°C. Jika suhu terlalu rendah, maka fermentasi akan berlangsung secara lambat dan sebaliknya jika suhu terlalu tinggi maka *Saccharomyces cerevisiae* akan mati sehingga proses fermentasi tidak akan berlangsung. Derajat keasaman (pH) merupakan salah satu faktor penting yang perlu untuk diperhatikan pada saat proses fermentasi. pH mempengaruhi pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae*. Pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* adalah pada pH 3,5-6,5. Pada kondisi basa, *Saccharomyces cerevisiae* tidak dapat tumbuh (Roukas, 1994). Ditambahkan oleh Elevri dan Putra (2006), bahwa produksi etanol oleh *Saccharomyces cerevisiae* paling maksimal dapat dicapai pada pH 4,5. Dalam kondisi *anaerob* *S.cerevisiae* akan mengoksidasi asam piruvat menjadi etanol dan CO<sub>2</sub>. Beberapa strain *S. cerevisiae* telah diuji kapasitas dalam memproduksi etanol pada beberapa jenis media yaitu Strain *S. cerevisiae* NCYC 431, *S. cerevisiae* NCYC 975 dan *S. diastaticus* NCYC 994 dalam media molases gula beet dan jus beet. Strain *S. cerevisiae* NCYC 975 lebih unggul karena memiliki toleransi terhadap konsentrasi gula yang cukup tinggi yaitu 20,8%, namun strain ini dalam waktu fermentasi 28 jam hanya mampu memproduksi etanol sebesar 10%. Kondisi optimum untuk fermentasi etanol yaitu pH 4,5 dan laju aliran udara 0,125 L/L substrat per menit (Zayet dan Foley, 1987). Strain *S. cerevisiae* yang juga dapat digunakan dalam proses fermentasi etanol yaitu *S. cerevisiae* strain Zymaflore VL1 dan strain Uvaferm CM yang menghasilkan etanol dengan kadar sekitar 10% (Sener *et al.*, 2007). Hal tersebut menunjukkan bahwa kultur murni single strain tidak selalu lebih baik dari ragi yang beredar di pasaran seperti ragi roti atau ragi tape.

### BAB 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan Hasil Pertanian dan Laboratorium Biokimia Pangan dan Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember. Waktu penelitian dilakukan pada bulan Oktober 2016 sampai Juni 2017.

#### 3.2 Bahan dan Alat Penelitian

##### 3.2.1 Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan meliputi bahan baku, bahan kimia dan kultur kapang dan *yeast*. Bahan baku yang digunakan berupa singkong yang diperoleh dari petani desa Condong Kec. Gading Kab. Probolinggo. Bahan kimia yang digunakan yaitu NaOCl 1%, *yeast extract*, NaOH (PA), Asam sitrat, *mineral salt solution* (**Tabel 3.1**), MEA,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ , *metilen blue* (MB), glukosa, larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , K-Na Tartarat, fenol, etanol dan DNS. Kultur mikroorganisme yang digunakan yaitu kapang jenis *Aspergillus niger* dan *Trichoderma viride* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember serta Ragi *New Aule Instant Dry Yeast* dari Xinjiang Shengli Biotechnology Co.,Ltd.

**Tabel 3.1** Komposisi *mineral salts solution* (Pitt & Bull, 1982)

Komponen	g/L
$\text{K}_2\text{HPO}_4$	15
$\text{Na}_2\text{HPO}_4$	15
$\text{EDTA.Na}_2.2\text{H}_2\text{O}$	12,5
$\text{Na}_2\text{SO}_4$	8,5
$\text{MgSO}_4.7\text{H}_2\text{O}$	5
$\text{FeSO}_4.7\text{H}_2\text{O}$	2
$\text{CaCl}_2$	1
$\text{ZnSO}_4.7\text{H}_2\text{O}$	0,4
$\text{MnSO}_4.4\text{H}_2\text{O}$	0,4
$\text{CuSO}_4.5\text{H}_2\text{O}$	0,1
$\text{H}_2\text{SO}_4$ (conc.)	0,5 ml
$\text{Na}_2\text{MoO}_4.2\text{H}_2\text{O}$	0,1



### 3.2.2 Alat penelitian

Alat yang digunakan yaitu terdiri dari alat utama dan alat analisis. Alat utama yaitu fermentor *applicon dependable instrument* kapasitas 2 L (*marine impeller 3 blades*), *Laminar Air Flow* (LAF) CRUMAIR, *autoclave Sturdy SA-300VL*. Alat analisis yaitu spektrofotometer Genesys 10 UV, *Haemocytometer*, mikroskop, hand pH meter dan *cawan conway*, oven (*Scientific Series 2000*), orbital shaker inkubator *Wise Cube*<sup>®</sup>, ayakan Tyler 60 mesh, serta alat gelas.

### 3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan faktor tunggal yaitu metode fermentasi. Jenis metode fermentasi berupa SHF dan SSF. *Separate Hydrolysis and Fermentation* (SHF) dilakukan dengan menggunakan kultur *A.niger* dan *T.viride* yang dilanjutkan oleh starter *New Aule Instant Dry Yeast* (A1). *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF) dilakukan dengan menggunakan kultur *A.niger*, *T.viride* dan *New Aule Instant Dry Yeast* (A2). Tahapan penelitian terdiri dari 3 tahapan, yaitu preparasi substrat, penyiapan starter dan proses fermentasi menggunakan metode SHF dan SSF. Preparasi substrat meliputi proses pembuatan tepung ubi kayu dan pengkondisian sebagai media utama dalam fermentasi. Penyiapan starter terdiri dari starter *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride* dan *New Aule Instant Dry Yeast*. Kondisi proses fermentasi yaitu pH 4,4, suhu 30°C, agitasi 150 rpm. Proses fermentasi dilakukan dengan menggunakan metode SHF dan SSF selama 72 jam dan dilakukan pengamatan parameter analisis secara periodik (6 jam). Diagram alir tahapan penelitian dapat dilihat pada **Gambar 3.1**.

### 3.4 Tahapan Penelitian

Tahapan pertama yaitu proses pembuatan tepung ubi kayu. Proses pembuatan diawali dengan membersihkan ubi kayu (singkong) dari kulit dan kotoran. Ubi kayu yang telah bersih kemudian dipotong tipis (chip). Selanjutnya dilakukan pengeringan dengan sinar matahari dan dioven pada suhu 70°C selama

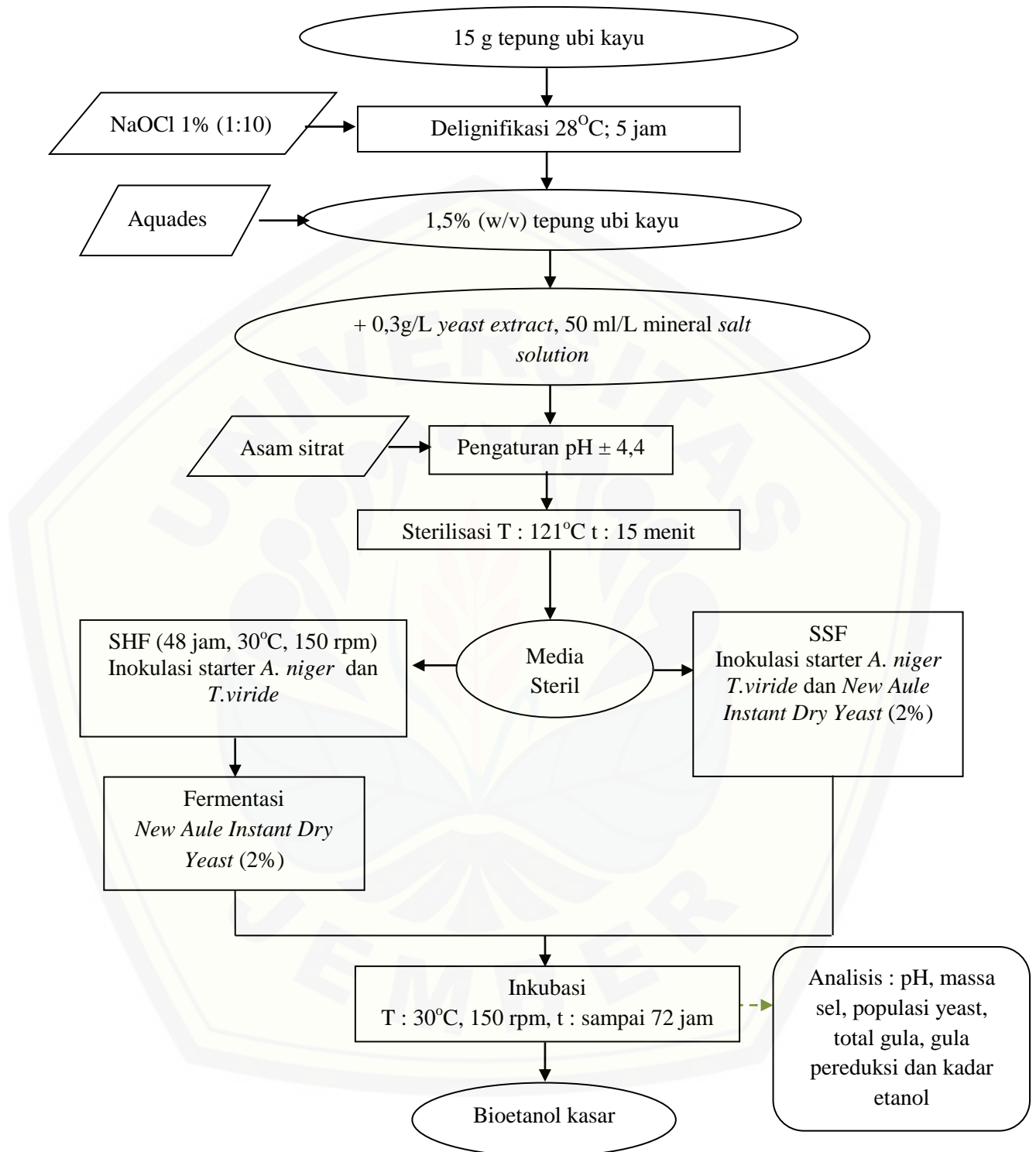
2 jam. Chip ubi kayu kering selanjutnya dilakukan penepungan menggunakan blender dan pengayakan 80 mesh.

Penyiapan starter terdiri dari starter kapang dan khamir. Pertama penyiapan starter kapang *A. niger* dan *T. viride*, starter dibuat dari kultur stok yang telah diremajakan pada media agar miring (MEA). Tahapan pembuatan starter pertama menyiapkan media inokulum yaitu larutan fisiologis steril sebanyak 50 ml dan selanjutnya diinokulasikan kultur *A. niger* dan *T. viride* sampai konsentrasi inokulum mencapai 40 mg/ml. inokulum tersebut diinkubasi menggunakan orbital shaker inkubator pada 150 rpm selama 20 menit dengan suhu 30°C. Selanjutnya starter siap digunakan untuk menghidrolisis tepung pada proses fermentasi. Pembuatan Starter *S. cerevisiae* (*New Aule Instant Dry Yeast*). Penyiapan starter khamir *New Aule Instant Dry Yeast* dibuat dengan cara menimbang *yeast* sebanyak 2% (w/v) dari jumlah media yang digunakan dalam fermentasi (1000 ml), kemudian *yeast* dicampur dengan 1% larutan glukosa steril 50 ml pada suhu  $\pm 42^{\circ}\text{C}$  dan didiamkan selama 3 jam suhu 30°C di dalam *laminar air flow* sebelum digunakan.

Proses fermentasi produksi bioetanol dari tepung ubi kayu menggunakan dua metode fermentasi yaitu fermentasi secara *Separate Hydrolysis and Fermentation* (SHF) dan *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF) menggunakan kultur *A. niger*, *T. viride* dan *New Aule Instant Dry Yeast*. Tahapan produksi bioetanol, pertama tepung ubi kayu 15 gram di delignifikasi dengan larutan NaOCl 1% pada suhu 28°C selama 5 jam dengan perbandingan (w/v) 1:10. Selanjutnya penyesuaian konsentrasi tepung ubi kayu dengan menambahkan aquadest menjadi 1,5%. Kemudian ditambah 0,3g/L *yeast extract*, 50 ml/L mineral *salt solution*. Selanjutnya pengaturan pH  $\pm 4,5$  dengan asam sitrat dan dilakukan sterilisasi pada 121°C selama 15 menit. Media setelah disterilisasi dilakukan inokulasi starter yang telah dipreparasi sebelumnya. Pada SHF dilakukan inokulasi starter *A. niger* dan *T. viride*, selanjutnya diinkubasi selama 48 jam. Pada saat 48 jam dilakukan inokulasi starter *New Aule Instant Dry Yeast* dan diinkubasi hingga 24 jam untuk menghasilkan etanol. Pada SSF dilakukan inokulasi starter *A. niger*, *T. viride* dan *New Aule Instant Dry Yeast* secara

bersamaan dan diinkubasi hingga 72 jam untuk menghasilkan etanol. Penggunaan *A. niger*, *T. viride* pada setiap perlakuan memerlukan 5 tabung reaksi (agar miring) perjenis kapang untuk mencapai konsentrasi 40 mg/ml dan untuk penggunaan ragi pada setiap perlakuan yaitu sebanyak 20 g. Masing-masing perlakuan dilakukan pengamatan secara periodik setiap 6 jam sekali. Pengujian yang dilakukan meliputi pH, massa sel, populasi *yeast*, total gula terlarut, gula pereduksi, dan kadar etanol. Proses produksi bioetanol dapat dilihat pada **Gambar 3.1.**





**Gambar 3.1** Diagram alir tahap penelitian

Masing-masing perlakuan dilakukan pengulangan produksi sebanyak dua kali dan pengambilan sampel secara periodik 6 jam. Data yang diperoleh disajikan

dalam bentuk tabel, grafik dan histogram dengan hasil penyelesaian berupa rata-rata dan standart deviasi.

### 3.5 Prosedur Analisis

#### 3.5.1 Penentuan Massa sel

Analisis penentuan massa sel menggunakan metode spektrofotometri. Metode ini terdiri dari tahapan penyiapan kurva standart dan penentuan massa sel pada sampel. Pembuatan kurva standart diawali dengan mengambil spora pada biakan *A. niger* dan *T. viride*. Biakan sebanyak 5 tabung reaksi (agar miring) dimasukkan pada aquades steril dalam labu takar 50 ml dan ditera sampai 50 ml. suspensi tersebut diambil sebanyak 10 ml menggunakan pipet ukur dan dimasukkan kedalam botol timbang yang sebelumnya telah diketahui beratnya (a gr), dan dilakukan pengeringan menggunakan microwave pada suhu 100°C selama 1 jam. Suspensi yang telah kering dimasukkan kedalam eksikator selama 10 menit dan dilakukan penimbangan (b gr). Berat sel dapat diketahui dengan menghitung selisih (a gram) dengan (b gram). Selanjutnya suspensi awal di masukkan kedalam 6 buah labu takar 50 ml dengan volume 0-10 ml dan ditera sampai 50 ml. suspensi dengan berbagai pengenceran diukur absorbansinya dengan panjang gelombang 600 nm. Kemudian dibuat kurva standart dari hubungan berat sel (massa sel/ml) dengan nilai absorbansi dan tentukan persamaan  $y = ax + b$ .

Penentuan massa sel diawali dengan penyiapan sampel yang dilakukan dengan pengambilan 10 ml cairan fermentasi ke dalam tabung sentrifuge, kemudian dilakukan pemisahan antara massa sel dan cairan media dengan pemusingan 4000 rpm dengan suhu 10°C selama 10 menit dan kemudian dilakukan dekantasi. Selanjutnya ditambahkan aquades steril dan digojok dan dilakukan pemisahan kembali sebanyak 2 kali. Endapan sel dipindahkan kedalam labu takar 50 ml dan ditera menggunakan aquades steril. Kemudian suspensi dilakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 600 nm dan hitung massa sel/ml menggunakan kurva standar yang telah dibuat.

### 3.5.2 Penentuan Populasi *Yeast*

Analisis penentuan populasi *yeast* dengan menggunakan metode *counting chamber* (Lay, 1994). Sampel hasil fermentasi yang akan dianalisis dilakukan pengenceran menggunakan aquades steril hingga  $10^2$ . Kemudian dari pengenceran tersebut diambil 0,5 ml dan ditambahkan 0,5 ml *metilen blue* 0,1%. Setelah itu dipindahkan ke *haemocytometer* menggunakan mikro pipet, kemudian kotak-kotak yang berisi suspensi diamati populasi *yeast* dibawah mikroskop dengan perbesaran terkecil terlebih dahulu, yaitu 4x10. Jika kotak-kotaknya telah ditemukan, kemudian *yeast* diamati dengan perbesaran 10x10 dan 40x10. Jumlah *yeast* yang berada di kotak ukuran sedang dihitung dengan menggunakan *counter*. Perhitungan dilakukan secara representatif pada 5 kotak, jumlah *yeast* dicatat. 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:

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

Keterangan:

FP: Faktor pengenceran

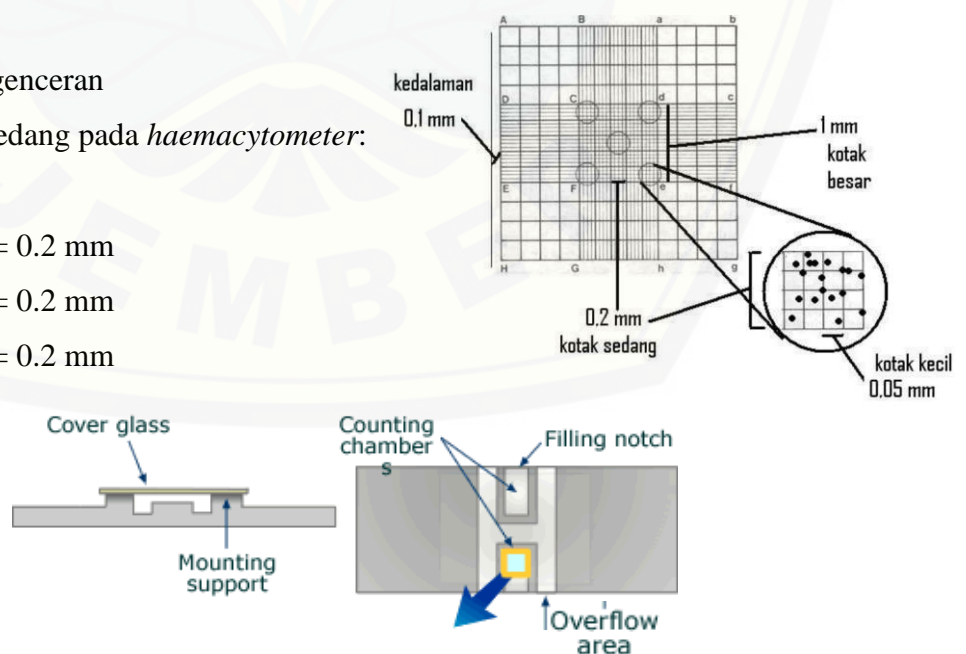
Ukuran kotak sedang pada *haemocytometer*:

Kotak kecil:

Panjang = 0.2 mm

Lebar = 0.2 mm

Tinggi = 0.2 mm



Gambar 3.2 Kotak *Haemocytometer*

### 3.5.3 Penentuan Kadar Total Gula Terlarut

Analisis penentuan kadar total gula terlarut menggunakan metode fenol sulfat (Dubois, 1956). Metode ini terdiri dari pembuatan kurva standart dan penentuan kadar total gula terlarut. Pembuatan kurva standart total gula dibuat dengan menggunakan larutan glukosa standart yang mengandung 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 dan 100 µg glukosa/ml, masing-masing diambil sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya sampel ditambahkan 1 ml larutan fenol 5% dan divortex secara cepat. Kemudian suspensi ditambahkan 5 ml larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (asam sulfat) pekat dengan cara menuangkan secara tegak lurus ke permukaan suspensi. Selanjutnya suspensi didiamkan selama 10 menit dan divortex. Suspensi tersebut diukur absorbansinya pada panjang gelombang 490 nm. Kemudian dibuat kurva standart dari hubungan kadar glukosa (µg /ml) dengan nilai absorbansi dan tentukan persamaan  $y = ax + b$ .

Penentuan kadar total gula diawali dengan penyiapan sampel dengan mengambil sebanyak 1 ml dari 10 ml stok sampel hasil sentrifuge yang telah dipisahkan dari endapan. Sampel dilakukan pengenceran sampai 10<sup>3</sup>. Sampel dengan pengenceran 10<sup>3</sup> diambil 1 ml dimasukkan kedalam tabung reaksi. Selanjutnya sampel ditambahkan 1 ml larutan fenol 5% dan divortex secara cepat. Kemudian suspensi ditambahkan 5 ml larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (asam sulfat) pekat dengan cara menuangkan secara tegak lurus ke permukaan suspensi. Selanjutnya suspensi didiamkan selama 10 menit dan divortex. Selanjutnya diukur absorbansi pada panjang gelombang 490 nm. Kadar total gula diperoleh dengan menggunakan kurva standart.

### 3.5.4 Penentuan Kadar Gula Pereduksi

Analisis penentuan kadar gula pereduksi dengan menggunakan metode DNS (Miller, 1959). Metode ini terdiri dari pembuatan reagen DNS, Pembuatan kurva standart dan penentuan kadar gula pereduksi. Pembuatan reagen DNS dilakukan dengan menimbang NaOH (PA) 1,76 g, DNS 2 g dan 60 g K-Na tartarat. Ketiga bahan tersebut dijadikan satu kedalam beaker glass 250ml dan ditambahkan 100 ml aquades dan dilakukan pengadukan diaduk hingga larut.

Setelah itu larutan dimasukkan kedalam labu takar 200 ml dan ditera, kemudian disimpan dalam botol gelap.

Pembuatan kurva standart dilakukan dengan membuat beberapa konsentrasi glukosa (0-10ml) dari larutan glukosa standar 0,1% dan dimasukkan kedalam tabung reaksi. Larutan glukosa tersebut ditambahkan 1 ml DNS dan dipanaskan pada suhu 100°C selama 5 menit. Setelah dingin, suspensi tersebut ditambahkan 10 ml aquades dan divortex hingga homogen. Selanjutnya suspensi diukur absorbansinya pada panjang gelombang 540 nm. Kurva standart diperoleh dari hubungan antara nilai absorbansi dan konsentrasi glukosa.

Penentuan kadar gula pereduksi dilakukan dengan mengambil sampel sebanyak 1 ml dan dimasukkan kedalam tabung reaksi. Kemudian sampel ditambahkan 1 ml reagen DNS dan dipanaskan pada suhu 100°C selama 5 menit. Selanjutnya suspensi diukur absorbansinya pada panjang gelombang 540 nm.

#### 3.5.5 Derajat Keasaman/ pH

Nilai derajat keasaman sampel ditentukan menggunakan pH meter digital. Penentuan derajat pH dilakukan dengan mengambil sampel sebanyak 5-10 ml dan dimasukkan kedalam beaker glass. Selanjutnya pH meter dikalibrasi menggunakan larutan buffer pH 4 dan pH 7. Setelah dikalibrasi, pH meter dicuci dengan aquades dan dikeringkan. Selanjutnya elektroda pada pH meter dicelupkan pada sampel dan diukur nilai pH dengan membaca angka pada layar pH meter.

#### 3.5.6 Penentuan Kadar Etanol

Analisis etanol dilakukan dengan menggunakan metode conway chamber (Kartika *et al.*, 1992). Metode ini membutuhkan 3 larutan, yaitu larutan A, larutan B, dan larutan C/sampel. Larutan A merupakan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  jenuh yang diperoleh dengan menimbang 10 g  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  dan dilarutkan kedalam 50 ml akuades. Larutan B dibuat dengan melarutkan 0,74 g  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  kedalam 30 ml akuades dan ditambah 56 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat secara perlahan lahan dan diaduk dengan magnetik stirer. Larutan B yang dihasilkan ditera hingga 100 ml. Larutan C merupakan larutan stok yang dibuat dari 1 ml alkohol 96% yang ditera akuades hingga 250 ml.



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

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

Penentuan kadar etanol dengan metode ini dilakukan dengan mengambil 2 ml larutan B dimasukkan kebagian tengah cawan Conway, 1 ml larutan A dimasukkan kebagian samping kanan, selanjutnya 1 ml larutan C dimasukkan kebagian samping kiri. Kemudian cawan conway ditutup dan digoyangkan untuk mencampur larutan A dengan larutan C. Selanjutnya larutan tersebut didiamkan selama 2 jam. Setelah 2 jam, larutan B ditambahkan 2 ml aquades dan dipindahkan kedalam tabung reaksi, selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang 605 nm. Kemudian dibuat kurva standart dari hubungan kadar alkohol (ml /ml) dengan nilai absorbansi dan tentukan persamaan  $y = ax + b$ .

Penentuan kadar etanol sampel dengan mengambil 10 ml sampel dan di sentrifuge pada kecepatan 4000 rpm dengan suhu  $10^{\circ}\text{C}$ . setelah sentrige dilakukan pemisahan antara filtrat dengan endapan. Proses penentuan kadar etanol dilakukan dengan mengambil 2 ml larutan B dimasukkan kebagian tengah cawan Conway, 1 ml larutan A dimasukkan kebagian samping kanan, selanjutnya 1 ml filtrat sampel dimasukkan kebagian samping kiri. Kemudian cawan conway ditutup dan digoyangkan untuk mencampur larutan A dengan filtrat. Selanjutnya larutan tersebut didiamkan selama 2 jam. Setelah 2 jam, larutan B ditambahkan 2 ml aquades dan dipindahkan kedalam tabung reaksi, kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 605 nm. Kadar etanol pada sampel dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier  $y = ax + b$  pada kurva standart. Setelah kadar etanol sampel diketahui, dilakukan beberapa perhitungan, seperti berikut :

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

$$\begin{aligned}
 \text{b. Produktivitas Etanol } \left( \frac{\text{g/l}}{\text{jam}} \right) &= \frac{\text{Etanol yang dihasilkan}}{\text{Lama fermentasi}} \\
 \text{c. Efisiensi Fermentasi } (\%) &= \frac{\text{Etanol yang dihasilkan}}{\text{Jumlah substrat}} \times 100 \\
 \text{d. Growth rate} (\text{jam}) &= \frac{\text{Ln populasi yeast saat fase log}(X_2 - X_0)}{\Delta t} \\
 \text{e. Growth yield } \left( \frac{\log \text{cfu/ml}}{\left( \frac{\text{g}}{\text{L}} \right)} \right) &= \frac{(\Delta x)}{(\Delta s)}
 \end{aligned}$$

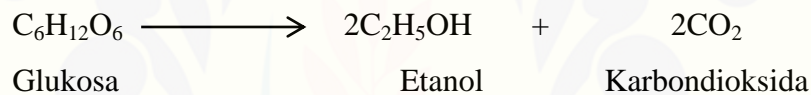
Keterangan,

$\Delta x$  : populasi *yeast* jam ke  $T_2$  – populasi *yeast* jam ke  $T_0$

$\Delta s$  : gula pereduksi jam ke  $T_0$  – gula pereduksi jam ke  $T_2$

$\Delta t$  : lama fase log jam ke  $T_2$  - lama fase log jam ke  $T_0$

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



Mol = gram/BM; BM  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$  = 180; BM  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  = 46, sehingga 1 gram glukosa mampu menghasilkan 0,5111 gram etanol.

## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Fermentasi metode SHF (*A. niger* dan *T. viride* dilanjutkan *New Aule Instant Dry Yeast*) menghasilkan kadar etanol lebih tinggi (5.830 g/l) dibandingkan metode SSF ((*A. niger*, *T. viride* dan *New Aule Instant Dry Yeast*) sebesar 3.645 g/ l. Efisiensi fermentasi metode SHF (*A. niger* dan *T. viride* dilanjutkan *New Aule Instant Dry Yeast*) lebih tinggi (38,86%) dibandingkan metode SSF (*A. niger*, *T. viride* dan *New Aule Instant Dry Yeast*) sebesar 24,36 %.

### 5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai pengontrolan suhu, dan pH pada substrat serta penggunaan konsentrasi substrat, konsentrasi inokulum yang digunakan pada produksi bioetanol tepung ubi kayu secara SHF ataupun SSF. Selain itu, perlu dilakukan pengoptimalan kondisi fermentasi dengan perbedaan tingkat aerasi dan agitasi yang digunakan, sehingga dapat menghasilkan kadar etanol yang optimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Arnata, I, W. 2009. “Pengembangan Alternatif Teknologi Bioproses Pembuatan Bioetanol Dari Ubi Kayu Menggunakan *Trichoderma Viride*, *Aspergillus Niger* Dan *Saccharomyces Cerevisiae*”. *Tesis Mater*. Bogor : IPB.
- Arnata, I, W. 2015. “Produksi Bioetanol Dari Hidrolisat Asam Tepung Ubi Kayu Dengan Kultur Campuran *Trichoderma Viride* Dan *Saccharomyces Cerevisiae*”. *Jurnal Agritech*, Vol. 35.
- Amarasekara, A. S. 2013. *Handbook of Cellulosic Ethanol*.  
[https://books.google.co.id/books?id=RNRiAgAAQBAJ&dq=physical+properties+of+ethanol&source=gbs\\_navlinks\\_s](https://books.google.co.id/books?id=RNRiAgAAQBAJ&dq=physical+properties+of+ethanol&source=gbs_navlinks_s) [diakses 6 oktober 2016].
- Buglass, A.J. 2011. *Handbook of Alcoholic Beverages: Technical, Analytical and Nutritional Aspects*.[https://books.google.co.id/books?id=gNc34oNpg0AC&dq=factors+and+affecting+and+alcoholic+and+fermentation&source=gbs\\_navlinkss](https://books.google.co.id/books?id=gNc34oNpg0AC&dq=factors+and+affecting+and+alcoholic+and+fermentation&source=gbs_navlinkss) [diakses 26 Juli 2017].
- Dahnum, D., Tasum, S.O., Triwahyuni, E., Nurdin, M., dan Abimanyu, H. 2014. “Comparison of SHF and SSF Processes Using Enzyme And Dry Yeast For Optimization Of Bioethanol Production From Empty Fruit Bunch”. *Journal Energy Procedia* 68, 107-116.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Robers, P.A, dan Smith, F. 1956. Colorimetri method fot determination of sugar and related substances. *Journal Analytical Chemistry*. 28 (3) : 350.
- Dyah T. R., dan Wasir N. (2011), Pembuatan Bioetanol dari Kulit Pisang, Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia “Kejuangan”: *Pengembangan Teknologi Kimia untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia*, ISSN 1693 – 4393, Yogyakarta, 22 Februari 2011
- Elevri, P., dan Surya R. P. 2006. *Produksi Etanol Menggunakan Saccharomyces cerevisiae yang Diamobilisasi dengan Agar Batang*. *Kimia ITS. Akta Kimindo* 1(2): 109-110.
- Faiqoh, H. 2017. *Efisiensi Hidrolisis Tepung Kulit Ubi Kayu Menggunakan T.viride Dan A.niger*. Skripsi. Jember : Universitas Jember.
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan I*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Gandjar, Indrawati, Wellyzar S., dan Ariyanti O. 2006. *Mikologi Dasar dan Terapan*. Jakarta : Yayasan Obor Indonesia.

- Hahn-Hagerdahl Olsson L, B. 1996. "Fermentation of Lignocellulosic Hydrolysates for Ethanol Production". *Enzyme and Microbial Technology*, 18:312-331.
- Hidayat, N., Padaga, M.C., dan Suhartini, S. 2006. *Mikrobiologi Industri*. Yogyakarta: Andi offset.
- Indartono, Y. 2005. *Bioetanol, Alternatif Energi Terbarukan : Kajian Prestasi Mesin dan Implementasi di Lapangan*. Bogor : LIPI.
- Inggriid, M., dan Suharto, I. 2012. *Fermentasi Glukosa oleh Aspergillus Niger Menjadi Asam Glukonat*. Universitas Katolik Parahayangan: Lembaga penelitian dan Pengabdian Masyarakat.
- 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. *Journal Agriculture and Agricultural Science Procedia* 9 493 – 499.
- Jeffries, T.W. dan Jin, Y.S. 2000. Ethanol and Thermotolerance in The Bioconversion of Xylose by Yeast. *Adv. Appl. Microbiology*. 47: 221-268.
- Joshi, B., Bhatt, M. R., Sharma, D., Joshi, J., Malla, R., and Sreerama, L. 2011. Lignocellulosic ethanol product: current practices and recent developments. *Biotechnology and Molecular Biology Review* Vol.6(8), pp. 172-182.
- Judoamidjojo, M., Said, E. G., dan Darwis, A. A. 1992. *Teknologi Fermentasi*. Jakarta: Rajawali Press.
- Kadita, F. D. 2016. Produksi Bioetanol Menggunakan Ragi Komersial *New Aule Instant Dry Yeast* Pada Media Molases Secara *Fed-Batch*. *Skripsi*. Jember : Universitas Jember.
- Kartika, B., A.D., Guritno, D., Purwadi, & Ismoyowati. 1992. *Petunjuk Evaluasi Produk Industri Hasil Pertanian*. Yogyakarta: PAU Pangan dan Gizi UGM.
- Kemendag RI. 2013. *Market Brief: Ubi kayu, ubi jalar, dan Talas*. KBRI Tokyo, Higashi Gotanda, Shinagawa-ku, Tokyo.
- Kementerian Perindustrian. 2013. *Industri Indonesia Berjaya di pasar lokal Bersaing di pasar global*. [www.kemenperin.go.id](http://www.kemenperin.go.id) [diakses tanggal 20 juni 2016].
- Kent, J.A. 2013. Handbook of Industrial Chemistry and Biotechnology. [https://books.google.co.id/books?id=7VxDAAAAQBAJ&dq=yielddanethanolandcalculation&source=gbs\\_navlinks\\_s](https://books.google.co.id/books?id=7VxDAAAAQBAJ&dq=yielddanethanolandcalculation&source=gbs_navlinks_s) [diakses 15 November 2016].

- Khaidir, Setyaningsih, Haerudin. 2012. *Dehidrasi bioetanol menggunakan zeolit alam termodifikasi*. Bogor : IPB
- Larsson, S., A. Reimann., N. O. Nilvebrant., dan L. J. Jonsson. 1999. Comparison of Different Methods for the Detoxification of Lignocellulose Hydrolyzates of Spruce. *Appl Biochemistry Biotechnology* 77-103.
- Lay, B. W. dan Sugyo, H. 1992. *Mikrobiologi*. Jakarta : Rajawali Pers.
- Lee, Y.K. 2006. Microbial Technology: Principles and Applications. [https://books.google.co.id/books?id=P3enKvasnywC&dq=microbial+dan+gr+owth+dan+rated+anis&source=gbs\\_navlinks\\_s](https://books.google.co.id/books?id=P3enKvasnywC&dq=microbial+dan+gr+owth+dan+rated+anis&source=gbs_navlinks_s) [diakses 23 November 2016].
- Lin, Y. dan Tanaka, S. 2006. Ethanol Fermentation from Biomass Resources : Current States and Prospect. *Appl Microbiol Biotechnol* 69: 627-642.
- LIPI. 2008. *Jurnal Ekonomi dan Pembangunan*. Cibinong : LIPI
- Lu, Jie. Li, Xuezhi. Yang, Ruifeng. Yang, Lei. Zhao, Jian. Liu, Yanjun. Qu, Yinbo. 2013. *Fed-batch semi-simultaneous saccharification and fermentation of reed pretreated with liquid hot water for bio-ethanol production using Saccharomyces cerevisiae*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2013.07.007>.
- Mahyati, Abdul Rauf Patong, Muh. Nasir Djide, Paulina Taba, Muhammad Saleh. 2013. Produksi Bioetanol dari Tongkol Jagung (Zeamays.L) Menggunakan Mikroba Campuran (Aspergillus niger, Zymomonas mobilis dan Saccharomyces cerevisiae). *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Industri I* 2013.
- Mayzuhroh, A. 2015. *Produksi Bioetanol Menggunakan Ragi Alkohol Instan (Angel Alcohol Active Dry Yeast Dan New Aule Alcohol Yeast) Dengan Dan Tanpa Pemberian Aerasi Dan Agitasi Pada Media Molasses*. Skripsi. Jember : Universitas Jember.
- Miller, G. L. 1959. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent For Determination of Reducing Sugar. *Journal Anal Chem.* 31:426-428.
- OECD. 2015. *OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) Agricultural Statistik*. <http://dx.doi.org/10.1787/888933229613> [15 Desember 2017].
- Ohgren, K., R. Bura, G. Lesnicki, J. Saddler, dan G. Zacchi. 2007. A comparison between simultaneous saccharification and fermentation and separate hydrolysis and fermentation using steam-pretreated corn stover. *Proc. Biochem.* 42: 834–839.
- Olofsson, K., Rudolf, A., Lidén, G. 2008. Designing Simultaneous Saccharification and Fermentation for improved xylose conversion by a

- recombinant strain of *Saccharomyces cerevisiae*. *Jurnal Biotechno.* 134:112-120.
- Panikov, N.S. 2014. Kinetics, Microbial Growth. <https://www.researchgate.net/profile/NicolaiPanikov/publication/220042850KineticsMicrobialGrowth/links/0fcfd50bfSSF7eb6dcd000000.pdf> [diakses 26 Juli 2017].
- Patrascu, E., Rapeanu, G., dan Hopulele, T. 2009. Current Approaches to Efficient Biotechnological Production of Ethanol. *Innovative Romanian Food Biotechnology (2009) 4 : 1-11*.
- Pitt, D. E. dan Bull, A. T. 1982. Influence of culture conditions on the physiology and composition of *Trichoderma aureoviride*. *Journal of General Microbiology.* 128: 1517-1527.
- Prihardana, Rama. N., Ainurani P. G. S., dwi. S., Sigit dan Hendroko, roy. 2008. *Bioetanol Ubi Kayu Bahan Bakar Masa Depan*. Jakarta: Agro media.
- Rathore, S.S.S. 2008. *Decision Making in Dry-Grind Ethanol Industry Using Near-Infrared Spectroscopy*. Disertasi <https://books.google.com/books?id=8uGW3WoH210C&pg=PA63&lpg=PA63&dq=> [diakses 26 Juli 2017].
- Richanna, N. 2011. *Bioetanol : Bahan baku, Teknologi, Produksi dan Pengendalian Mutu*. Bandung: Nuansa
- Ristiati, N. P. 2000. Pengantar Mikrobiologi Umum. Proyek Pengembangan sekolah menengah IBRD Loan Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi: Departemen Pendidikan Nasional
- Roukas, T. 1994. Continuous Ethanol Productions from Carob Pod Extract by Immobilized *Saccharomyces cerevisiae* in a Packed Bed Reactor. *J. Chem. Technology biotechnol.*, 59; 387-393.
- Samsuri, M., Gozan, M., Mardias, R., Baiquni, M., Hermansyah, H., Wijanarko, A., Prasetya, B., Nasikin, M. 2007. *Pemanfaatan Sellulosa Bagas Untuk Produksi Ethanol melalui Sakarifikasi Dan Fermentasi Serentak dengan Enzim Xylanase*. Bogor : LIPI Bogor
- Samsuri, M., Gozan, M., Prasetya, B., Nasikin, M. 2009. Enzymatic Hidrolisisi of Lignocellulosic Bagasse for Bioethanol Production. *Jurnal of Biotechnology Reasearch in Tropical Region.*2.
- Sari, R. N., Sugiyono., dan Assadad, L. 2013. Optimasi Waktu Proses Hidrolisis Dan Fermentasi Dalam Produksi Bioetanol Dari Limbah Pengolahan Agar (*Gracilaria Sp.*) Industri. *Jurnal JPB Perikanan* Vol. 8 No. 2 Tahun 2013: 133–142.

- Sari, R.M. 2016. Optimasi Produksi Bioetanol dari Tandan Kosong Kelapa Sawit Menggunakan Fermentasi secara Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak. *Skripsi*. Lampung : Universitas Lampung.
- Selvakumar, P., Ashakumary, Helen dan Ashok. 1996. Purification and Characteristic of *Glucoamylase* by *Aspergillus niger* in Solid State Fermentation. *Appl. Microbiol*, 23: 403-406.
- Sener, A., Chambas, A., dan Onal, O. 2007. *Effect of Fermentation Temperature of Kinetic Growth Saccharomyces cerevisiae*. University of Cukurova Faculty of Agriculture, Department of Food Engineering, Balcali, Adana-Turkey.
- Setiadji. 2009. *Diktat Kuliah Kimia Organik*. Jember: Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember. Siregar, T. H. S., S. Riyadi dan L. Nuraeni. 1992. *Budidaya Pengolahan dan Pemasaran Cokelat*. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Sovorawet, B., dan Kongkiattakajorn, J. 2012. "Bioproduction of Ethanol in SHF and SSF from Cassava Stalks". *KKU Res. J.* 2012; 17(4):565-572.
- Stanbury PF, Whitaker A. 1984. *Principles of Fermentation Technology*. Oxford: Pagamon Pr.
- Sudarmadji, S., B. Haryono, dan Suhardi. 1984. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty
- Taherzadeh, M. J., dan K. Karimi. 2007. Acid-Based Hydrolysis Processes For Ethanol From Lignocellulosic Materials. *A Review*. Isfahan University of Technology : Departement of chemical engineering.
- Takagi, M., S. Abe, G. Suzuki, G. Emert, dan N. Yata. 1977. *A method for production of alcohol direct from cellulose using cellulase and yeast. Proceedings of the Bioconversion Symposium IIT*. Delhi 551-571
- Tjokroadikoesoemo, P. S. 1986. *HFS dari Industri Ubi Kayu dan Lainnya*. Jakarta: Gramedia. 229 hlm.
- Ujiie, M., Roy, C., dan Yaguchi, M. 1991. Low-molecular-weight xylanase from *Tricoderma viride*. *Applied and Environmental Mycrobiology* 57 (6): 1860-1862.
- Wahono, Satriyo Krido. Rosyida, Vita Taufika. Darsih, Cici. Pratiwi, Diah. Frediansyah, Andri Hernawan. 2014. Optimization of Simultaneous Saccharification and Fermentation Incubation Time Using Cellulose Enzyme for Sugarcane Bagasse on The Second-Generation Bioethanol Production Technology. *Conference and Exhibition Indonesia - New, Renewable Energy and Energy Conservation (The 3rd Indo-EBTKE ConEx 2014)*



- Walker, G. M. 2010. *Bioethanol: Science and Technology of Fuel Alcohol*. <http://www.zums.ac.ir/files/research/site/ebooks/petroleumgasoil/bioethanolscience-and-technology-of-fule-alcohol.pdf> [diakses 05 Juli 2016]. Wasito, 2005. *Proses Pembuatan Etanol*. <http://www.suaramerdeka.co.id> [diakses tanggal 16 oktober 2016]
- Widiastoety, d. dan Purbadi, (2003), “Pengaruh Bubur Ubi Kayu dan Ubi Jalar terhadap Pertumbuhan Plantlet Anggrek *Dendrobium*”, *Jurnal Hortikultural* 13(1), p. 1-6.
- Wignyanto, Suharjono, dan Novita. 2001. Pengaruh Konsentrasi Gula Reduksi Sari Hati Nanas dan Inokulum *Saccharomyces cerevisiae* Pada Fermentasi Etanol. *Jurnal Teknologi Pertanian*. Vol. 2 No. 1 : 68-77.
- Winarno FG. 1992. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta. PT. Gramedia.
- Zayed, G.Z.A. dan Foley, J. 1987. The Influence of Fermentation Conditions on Ethanol Yields from Sugar Beet Molases and Fodder Beet Juice Using *Saccharomyces cerevisiae* Strains. *Irish Journal of Food Science and Technology*. Vol.11:119-133.

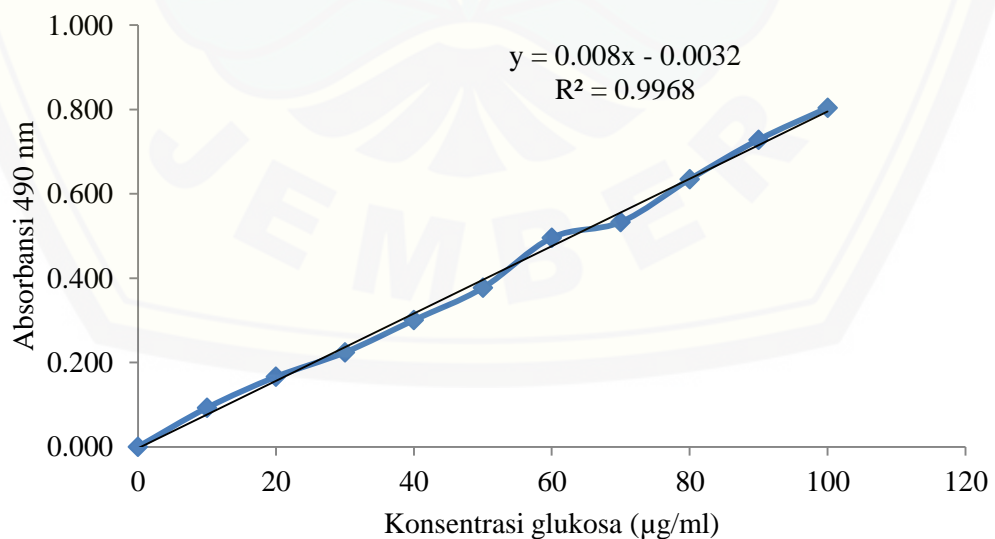
## LAMPIRAN

## LAMPIRAN A

## 1. kurva standar total gula

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

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

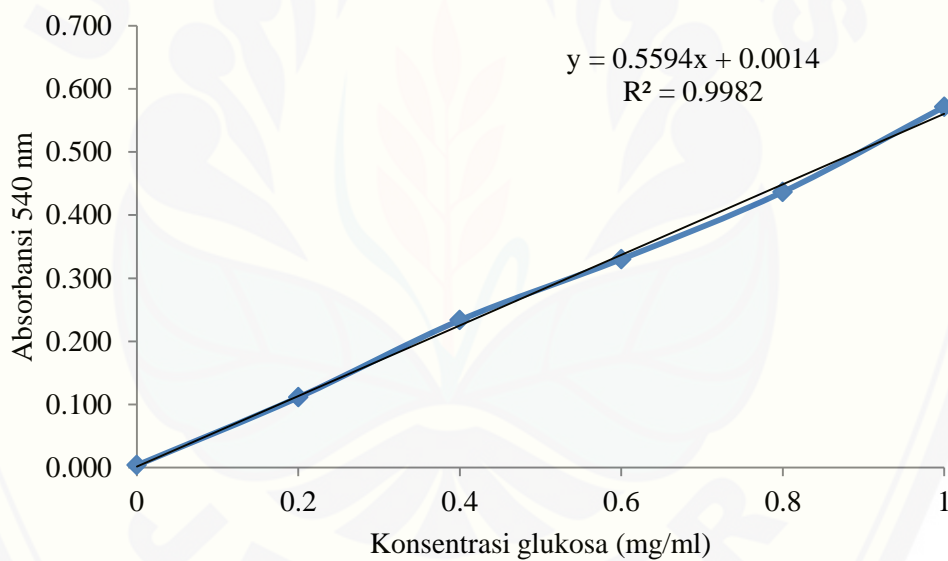


## 2. Kurva Standart gula pereduksi

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

Volume pengambilan glukosa standar (ml)	H <sub>2</sub> O (ml)	Konsentrasi glukosa (mg/ml)	Absorbansi
0.0	1.0	0.00	0.003
0.2	0.8	0.20	0.111
0.4	0.6	0.40	0.233
0.6	0.4	0.60	0.330
0.8	0.2	0.80	0.437
1.0	0.0	1.00	0.572

Kurva standar gula pereduksi:



### 3. Kurva Standart Etanol

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

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

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

$$M_2 = 0.96\%$$

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

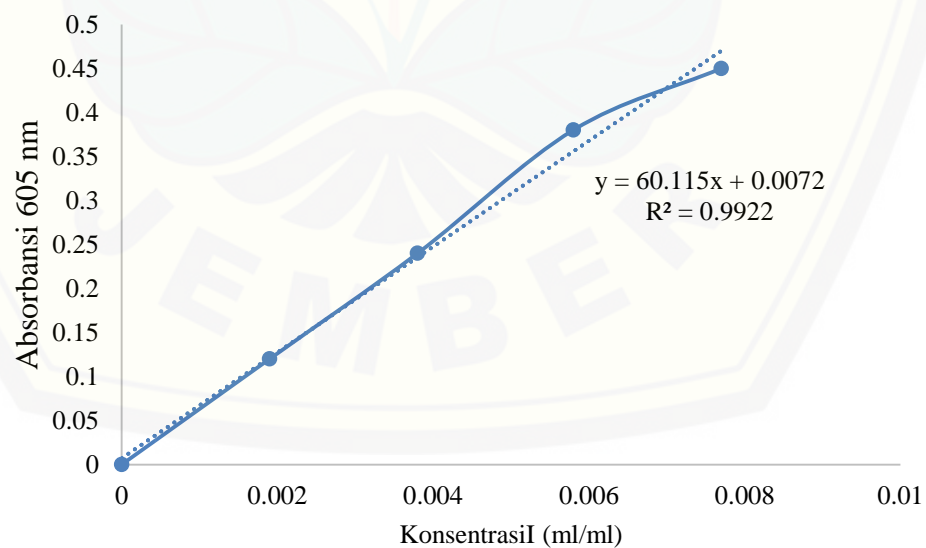
Volume pengambilan (ml)	Konsentrasi EtOH (ml/ml)	Aquades (ml)	Absorbansi
0.0	0.0000	1.0	0.00
0.2	0.0019	0.8	0.12
0.4	0.0038	0.6	0.24
0.6	0.0058	0.4	0.38
0.8	0.0077	0.2	0.45

Contoh perhitungan kadar etanol (ml/ml) pada volume pengambilan 0.2 ml:

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2 \gg 0.2 \text{ ml} \times 0.96\% = 1 \text{ ml} \times M_2 \gg M_2 = 0.19\% =$$

$$0.0019 \text{ ml/ml}$$

Kurva standar etanol:

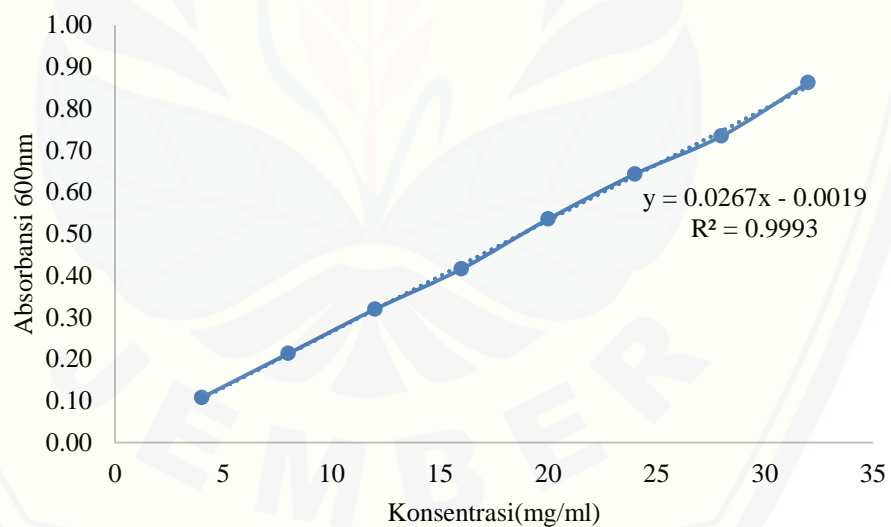


#### 4. Kurva Standart Massa Sel

##### a. Hidrolisis (*T. viride*, *A. niger*)

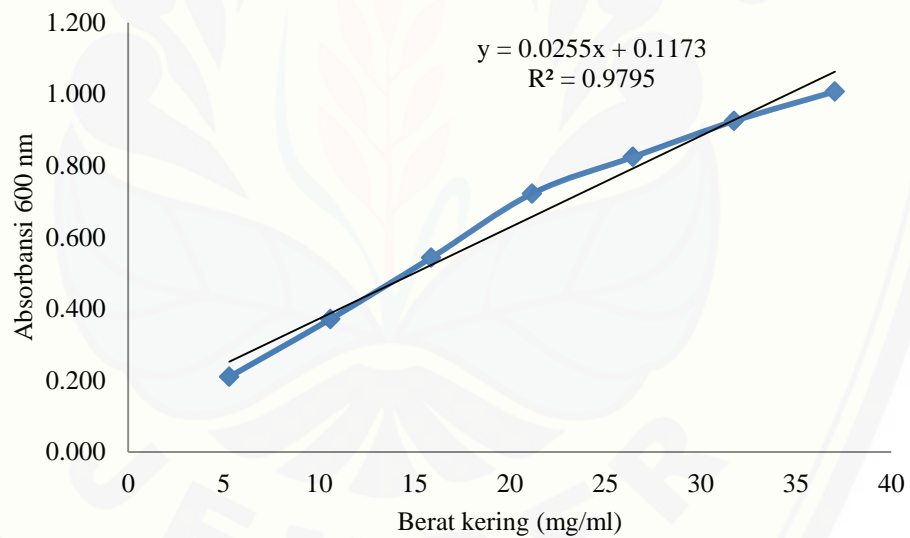
Kapang yang digunakan masing-masing 4 tabung reaksi

volume	Konsentrasi (mg/ml)	Absorbansi			rerata	Stdev
		1	2	3		
1	0.108	0.108	0.109	0.106	0.108	0.00
2	0.213	0.217	0.213	0.21	0.213	0.00
3	0.319	0.319	0.32	0.319	0.319	0.00
4	0.416	0.416	0.417	0.415	0.416	0.00
5	0.535	0.532	0.54	0.534	0.535	0.00
6	0.643	0.646	0.642	0.641	0.643	0.00
7	0.734	0.738	0.733	0.731	0.734	0.00
8	0.862	0.864	0.86	0.862	0.862	0.00



- b. Fermentasi (*T. viride*, *A. niger*, dan *S. cereviceae*)  
 Kapang yang digunakan masing-masing 4 tabung reaksi  
 New Aule (2%) : 20 g

volume	Konsentrasi (mg/ml)	Absorbansi			rerata	Stdev
		1	2	3		
0.02	5.292	0.21	0.209	0.211	0.210	0.00
0.04	10.58	0.37	0.372	0.371	0.371	0.00
0.06	15.88	0.544	0.542	0.542	0.543	0.00
0.08	21.17	0.72	0.723	0.724	0.722	0.00
0.1	26.46	0.823	0.824	0.826	0.824	0.00
0.12	31.75	0.923	0.925	0.926	0.925	0.00
0.14	37.04	1.005	1.007	1.01	1.007	0.00



**LAMPIRAN B****1. METODE SSF (*Simultaneous Saccharification and Fermentation*)****a. Kadar Etanol**

waktu	Absorbansi		Etanol (g/L supernatan)		rerata	Stdev
	1	2	1	2		
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.00
6	0.018	0.018	0.146	0.157	0.152	0.01
12	0.036	0.036	0.386	0.367	0.377	0.01
18	0.050	0.050	1.022	1.024	1.023	0.00
24	0.072	0.073	1.667	1.719	1.693	0.04
30	0.117	0.118	2.021	2.034	2.028	0.01
36	0.145	0.151	2.389	2.415	2.402	0.02
42	0.213	0.245	2.914	2.900	2.907	0.01
48	0.295	0.298	3.659	3.649	3.654	0.01
54	0.275	0.275	3.442	3.465	3.453	0.02
60	0.231	0.231	2.940	2.940	2.940	0.00
66	0.201	0.201	2.546	2.546	2.546	0.00
72	0.179	0.179	2.257	2.257	2.257	0.00

**b. Gula pereduksi**

waktu	Absorbansi		Gula pereduksi (g/L supernatan)		rerata	stdev
	1	2	1	2		
0	0.052	0.054	0.641	0.668	0.655	0.02
6	0.094	0.096	1.079	1.100	1.090	0.01
12	0.095	0.097	1.094	1.107	1.101	0.01
18	0.201	0.202	2.191	2.206	2.198	0.01
24	0.464	0.466	4.926	4.942	4.934	0.01
30	0.386	0.386	4.112	4.112	4.112	0.00
36	0.299	0.301	3.212	3.225	3.218	0.01
42	0.158	0.155	1.745	1.711	1.728	0.02
48	0.061	0.062	0.741	0.745	0.743	0.00
54	0.058	0.058	0.710	0.703	0.706	0.00
60	0.054	0.053	0.668	0.656	0.662	0.01
66	0.053	0.050	0.650	0.619	0.634	0.02
72	0.050	0.047	0.623	0.590	0.607	0.02

## c. Total Gula

waktu	Absorbansi		Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )		Konsentrasi (g/L Supernatan)		rerata	stdev
	1	2	1	2	1	2		
0	0.064	0.064	8.402	8.346	8.402	8.346	8.374	0.04
6	0.066	0.066	8.651	8.582	8.651	8.582	8.617	0.05
12	0.076	0.073	9.881	9.499	9.881	9.499	9.690	0.27
18	0.080	0.080	10.339	10.388	10.339	10.388	10.363	0.03
24	0.076	0.082	9.917	10.582	9.917	10.582	10.249	0.47
30	0.065	0.074	8.513	9.610	8.513	9.610	9.061	0.78
36	0.051	0.061	6.804	7.985	6.804	7.985	7.394	0.83
42	0.040	0.046	5.346	6.165	5.346	6.165	5.756	0.58
48	0.025	0.024	3.526	3.415	3.526	3.415	3.471	0.08
54	0.024	0.023	3.429	3.249	3.429	3.249	3.339	0.13
60	0.023	0.024	3.318	3.360	3.318	3.360	3.339	0.03
66	0.022	0.023	3.165	3.263	3.165	3.263	3.214	0.07
72	0.020	0.021	2.943	3.054	2.943	3.054	2.999	0.08

## d. pH

Waktu	1	2	Rata	Stedev
0	4.4	4.4	4.40	0.00
6	4.4	4.4	4.40	0.00
12	4.4	4.4	4.40	0.00
18	4.4	4.4	4.40	0.00
24	4.3	4.3	4.30	0.00
30	4.3	4.3	4.30	0.00
36	4.3	4.2	4.25	0.04
42	4.2	4.2	4.20	0.00
48	4.2	4.2	4.20	0.00
54	4.2	4.2	4.20	0.00
60	4.1	4.1	4.10	0.00
66	4.1	4.1	4.10	0.00
72	4.1	4.1	4.10	0.00



## e. Mikroba (Yeast)

Waktu	Populasi yeast		Vol Kotak	FP	FP Pewarna	sel/ml		log sel/ml		Rerata	Stdev
	1	2				1	2	1	2		
0	60	63	0.00002	100	2	6.02E+08	6.25E+08	8.78	8.80	8.79	0.01
6	66	66	0.00002	100	2	6.55E+	6.62E+08	8.82	8.82	8.82	0.00
12	69	70	0.00002	100	2	6.9E+08	7E+08	8.84	8.85	8.84	0.00
18	71	72	0.00002	100	2	7.13E+08	7.22E+08	8.85	8.86	8.86	0.00
24	75	78	0.00002	100	2	7.5E+08	7.77E+08	8.88	8.89	8.88	0.01
30	82	83	0.00002	100	2	8.23E+08	8.33E+08	8.92	8.92	8.92	0.00
36	91	93	0.00002	100	2	9.07E+08	9.27E+08	8.96	8.97	8.96	0.01
42	103	105	0.00002	100	2	1.03E+09	1.05E+09	9.01	9.02	9.02	0.01
48	118	120	0.00002	100	2	1.18E+09	1.2E+09	9.07	9.08	9.08	0.00
54	109	106	0.00002	100	2	1.09E+09	1.06E+09	9.04	9.02	9.03	0.01
60	102	100	0.00002	100	2	1.02E+09	1E+09	9.01	9.00	9.00	0.00
66	95	97	0.00002	100	2	9.48E+08	9.65E+08	8.98	8.98	8.98	0.01
72	88	86	0.00002	100	2	8.75E+08	8.62E+08	8.94	8.94	8.94	0.00

f. Massa Sel ( *T. viride*, *A. niger*, dan *A. cereviceae* )

waktu	Absorbansi		massa sel(mg/ supernatan)		massa sel g/supernatan		rata	stdev
	U1	U2	U1	U2	u1	u2		
0	0.365	0.360	9726.80	9530.72	9.73	9.53	9.63	0.14
6	0.381	0.378	10341.18	10236.60	10.34	10.24	10.29	0.07
12	0.405	0.400	11269.28	11086.27	11.27	11.09	11.18	0.13
18	0.409	0.412	11426.14	11543.79	11.43	11.54	11.48	0.08
24	0.421	0.423	11896.73	11988.24	11.90	11.99	11.94	0.06
30	0.428	0.430	12184.31	12262.75	12.18	12.26	12.22	0.06
36	0.434	0.435	12419.61	12471.90	12.42	12.47	12.45	0.04
42	0.436	0.437	12484.97	12550.33	12.48	12.55	12.52	0.05
48	0.451	0.452	13086.27	13138.56	13.09	13.14	13.11	0.04
54	0.449	0.444	13020.92	12798.69	13.02	12.80	12.91	0.16
60	0.439	0.436	12602.61	12511.11	12.60	12.51	12.56	0.06
66	0.430	0.434	12262.75	12432.68	12.26	12.43	12.35	0.12
72	0.426	0.429	12118.95	12210.46	12.12	12.21	12.16	0.06

**LAMPIRAN C****2. METODE SHF (*Separate Hydrolysis and Fermentation*)****a. Alkohol (Fermentasi setelah hidrolisis 48 jam)**

Waktu	Absorbansi		kadar etanol (g/L supernatan)		Rata	Stdev
	1	2	1	2		
0	0	0	0	0	0	0.00
6	0.198	0.200	2.505	2.559	2.532	0.04
12	0.305	0.303	3.911	3.898	3.905	0.01
18	0.461	0.449	5.963	5.696	5.830	0.19
24	0.447	0.412	5.776	5.302	5.539	0.02

**b. Gula pereduksi (Hidrolisis jam 0-48)**

waktu	Absorbansi		Gula pereduksi (g/L supernatan)		rerata	stdev
	1	2	1	2		
0	0.065	0.066	0.778	0.788	0.783	0.01
6	0.093	0.081	1.072	0.947	1.009	0.09
12	0.122	0.120	1.374	1.349	1.361	0.02
18	0.134	0.134	1.491	1.490	1.491	0.00
24	0.151	0.148	1.671	1.640	1.656	0.02
30	0.166	0.157	1.824	1.730	1.777	0.07
36	0.356	0.355	3.801	3.786	3.793	0.01
42	0.722	0.718	7.604	7.561	7.582	0.03
48	1.068	1.071	11.192	11.228	11.210	0.03
54	0.371	0.367	3.953	3.912	3.932	0.03
60	0.327	0.328	3.500	3.508	3.504	0.01
66	0.312	0.303	3.339	3.249	3.294	0.06
72	0.224	0.196	2.431	2.143	2.287	0.20

## c. Total Gula

waktu	Absorbansi		Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )		Konsentrasi (g/L Supernatan)		rerata	stdev
	1	2	1	2	1	2		
0	0.064	0.065	8.430	8.457	8.430	8.457	8.443	0.02
6	0.067	0.067	8.735	8.804	8.735	8.804	8.769	0.05
12	0.077	0.078	10.041	10.138	10.041	10.138	10.089	0.07
18	0.081	0.083	10.568	10.763	10.568	10.763	10.665	0.14
24	0.084	0.085	10.863	10.999	10.863	10.999	10.931	0.10
30	0.087	0.088	11.311	11.388	11.311	11.388	11.349	0.05
36	0.090	0.091	11.624	11.804	11.624	11.804	11.714	0.13
42	0.094	0.095	12.093	12.221	12.093	12.221	12.157	0.09
48	0.096	0.097	12.378	12.471	12.378	12.471	12.424	0.07
54	0.089	0.087	11.485	11.304	11.485	11.304	11.394	0.13
60	0.074	0.074	9.582	9.575	9.582	9.575	9.578	0.00
66	0.053	0.051	6.999	6.790	6.999	6.790	6.894	0.15
72	0.026	0.023	3.638	3.228	3.638	3.228	3.433	0.29

## d. pH

Waktu	1	2	Rata	Stedev
0	4.4	4.4	4.40	0.00
6	4.4	4.4	4.40	0.00
12	4.4	4.4	4.40	0.00
18	4.4	4.4	4.40	0.00
24	4.4	4.4	4.40	0.07
30	4.4	4.4	4.40	0.07
36	4.3	4.3	4.30	0.04
42	4.3	4.3	4.30	0.07
48	4.4	4.4	4.40	0.14
54	4.3	4.3	4.30	0.07
60	4.3	4.2	4.25	0.07
66	4.1	4	4.05	0.07
72	4	3.9	3.95	0.14

## e. Mikroba (yeast)

Waktu	Populasi yeast		Vol Kotak	FP	FP Pewarna	sel/ml		log sel/ml		Rerata	Stdev
	1	2				1	2	1	2		
0	73.83	75.17	0.00002	100	2	7.4E+08	7.5E+08	8.87	8.88	8.87	0.01
6	79.83	81.33	0.00002	100	2	8E+08	8.1E+08	8.90	8.91	8.91	0.01
12	94.33	96.33	0.00002	100	2	9.4E+08	9.6E+08	8.97	8.98	8.98	0.01
18	117.5	120.50	0.00002	100	2	1.2E+09	1.2E+09	9.07	9.08	9.08	0.01
24	99.17	103.50	0.00002	100	2	9.9E+08	1E+09	9.00	9.01	9.01	0.01

## f. Massa Sel

waktu	Absorbansi		massa sel(mg/ supernatan)		massa sel g/L		Rata	stdev
	1	2	1	2	1	2		
Hidrolisis ( <i>T. viride</i> , <i>A. niger</i> )								
0	0.289	0.328	1119.23	1267.95	1.12	1.27	1.19	0.11
6	0.398	0.434	1537.18	1676.92	1.54	1.68	1.61	0.10
12	0.426	0.455	1647.44	1757.69	1.65	1.76	1.70	0.08
18	0.459	0.467	1774.36	1805.13	1.77	1.81	1.79	0.02
24	0.472	0.477	1824.36	1842.31	1.82	1.84	1.83	0.01
30	0.488	0.490	1885.90	1891.03	1.89	1.89	1.89	0.00
36	0.507	0.509	1958.97	1964.10	1.96	1.96	1.96	0.00
42	0.512	0.513	1976.92	1980.77	1.98	1.98	1.98	0.00
Inokulasi starter New Aule Insant Dry yeast								

Fermentasi ( <i>T. viride</i> , <i>A. niger</i> , dan <i>A. cereviceae</i> )									
48	0.538	0.540	16511.11	16576.47	16.51	16.58	16.54	0.05	
54	0.571	0.574	17779.08	17896.73	17.78	17.90	17.84	0.08	
60	0.562	0.560	17439.22	17360.78	17.44	17.36	17.40	0.06	
66	0.552	0.560	17047.06	17373.86	17.05	17.37	17.21	0.23	
72	0.542	0.549	16641.83	16942.48	16.64	16.94	16.79	0.21	

## LAMPIRAN D

### 3. KINETIKA

#### a. Jumlah etanol dan produktivitas etanol selama fermentasi

SHF (*Separate Hydrolysis and Fermentation*)

Waktu	Absorbansi		Etanol (ml/ L supernatan)			Stdev	Etanol (g/ L supernatan)			Stdev	Produktivitas Etanol (g/L supernatan/ jam)		rerata	Stdev
	1	2	1	2	rerata		1	2	rerata		1	2		
0	0	0	0.000	0.000	0.000	0.00	0.000	0.000	0.000	0.00	0.000	0.000	0.000	0.00
6	0.198	0.200	3.175	3.244	3.210	0.05	2.505	2.559	2.532	0.04	0.418	0.427	0.422	0.01
12	0.305	0.303	4.957	4.941	4.949	0.01	3.911	3.898	3.905	0.01	0.326	0.325	0.325	0.00
18	0.461	0.449	7.558	7.219	7.389	0.24	5.963	5.696	5.830	0.19	0.331	0.316	0.324	0.01
24	0.447	0.412	7.321	6.720	7.021	0.42	5.776	5.302	5.539	0.34	0.241	0.221	0.231	0.01

SSF (*Simultaneous Saccharification and Fermentation*)

waktu	Absorbansi		Etanol (ml/L supernatan)				Etanol (g/L supernatan)				Produktivitas Etanol (g/L supernatan/ jam)					
					rerata	Stdev					rerata	Stdev			rerata	Stdev
	1	2	1	2			1	2	1	2						
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.00	0.000	0.000	0.000	0.000	0.00	0.000	0.000	0.000	0.00	0.000
6	0.151	0.152	2.403	2.395	2.399	0.01	1.896	1.890	1.893	0.00	0.316	0.315	0.315	0.00	0.315	0.00
12	0.182	0.182	2.911	2.911	2.911	0.00	2.297	2.297	2.297	0.00	0.191	0.191	0.191	0.00	0.191	0.00
18	0.186	0.186	2.970	2.978	2.974	0.01	2.344	2.349	2.346	0.00	0.130	0.131	0.130	0.00	0.130	0.00
24	0.191	0.191	3.059	3.044	3.052	0.01	2.414	2.402	2.408	0.01	0.101	0.100	0.100	0.00	0.100	0.00
30	0.193	0.194	3.101	3.094	3.098	0.01	2.447	2.441	2.444	0.00	0.082	0.081	0.081	0.00	0.081	0.00
36	0.198	0.198	3.174	3.177	3.175	0.00	2.504	2.507	2.505	0.00	0.070	0.070	0.070	0.00	0.070	0.00
42	0.236	0.245	3.815	3.759	3.787	0.04	3.010	2.966	2.988	0.03	0.072	0.071	0.071	0.00	0.071	0.00
48	0.296	0.300	4.815	4.857	4.836	0.03	3.799	3.832	3.816	0.02	0.079	0.080	0.079	0.00	0.079	0.00
54	0.230	0.246	3.702	3.726	3.714	0.02	2.921	2.940	2.930	0.01	0.054	0.054	0.054	0.00	0.054	0.00
60	0.188	0.188	3.015	3.028	3.021	0.01	2.379	2.389	2.384	0.01	0.040	0.040	0.040	0.00	0.040	0.00
66	0.184	0.183	2.941	2.911	2.926	0.02	2.320	2.297	2.309	0.02	0.035	0.035	0.035	0.00	0.035	0.00
72	0.179	0.179	2.861	2.861	2.861	0.00	2.257	2.257	2.257	0.00	0.031	0.031	0.031	0.00	0.031	0.00

Contoh perhitungan jumlah etanol pada 18 jam fermentasi ulangan 1SHF:

- Konsentrasi etanol sampel (ml/L supernatan) =  $\frac{y-0.007}{60.115} \times \frac{1000 \text{ mL}}{1 \text{ L}} = \frac{0.461-0.007}{60.115} \times \frac{1000 \text{ ml}}{1 \text{ L}} = 7.558 \text{ ml/L supernatan}$
- Konsentrasi etanol (g/L supernatan) =  $\frac{y-0.007}{60.115} \times \text{berat jenis etanol} \times \frac{1000 \text{ ml}}{1 \text{ L}} \times \text{FP} = \frac{0.461-0.007}{60.115} \times 0.789 \frac{\text{g}}{\text{ml}} \times \frac{1000 \text{ ml}}{1 \text{ L}} \times 1 = 52.04 \text{ g/L supernatan}$
- Produktivitas (g/L supernatan/jam) =  $\frac{\text{Etanol yang dihasilkan } (\frac{\text{g}}{\text{L}})}{\text{Waktu fermentasi (jam)}} = 5.963/18 = 0.331 \text{ g/L supernatan/jam}$

Keterangan:

FP = Faktor pengenceran

y = Absorbansi

**b. Growth rate***SHF (Separate Hydrolysis and Fermentation)*

Waktu	Populasi		ln Populasi Yeast		Rata	Stdev	Growth Rate		Rata	Stdev
	1	2	1	2			1	2		
0	7.4E+08	7.5E+08	20.42	20.44	20.43	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
6	8E+08	8.1E+08	20.50	20.52	20.51	0.01	0.01	0.01	0.01	0.00
12	9.4E+08	9.6E+08	20.66	20.69	20.68	0.01	0.02	0.02	0.02	0.00
18	1.2E+09	1.2E+09	20.88	20.91	20.90	0.02	0.03	0.03	0.03	0.00
24	9.9E+08	1E+09	20.71	20.76	20.74	0.03	0.01	0.01	0.01	0.00

*SHF (Separate Hydrolysis and Fermentation)*

Waktu	Populasi		ln Populasi Yeast		rata	Stdev	Growth Rate		rata	Stdev
	1	2	1	2			1	2		
0	6.02E+08	6.25E+08	20.22	20.25	20.23	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00
6	6.55E+08	6.62E+08	20.30	20.31	20.31	0.01	0.01	0.01	0.01	0.00
12	6.9E+08	7E+08	20.35	20.37	20.36	0.01	0.01	0.01	0.01	0.00
18	7.13E+08	7.22E+08	20.39	20.40	20.39	0.01	0.01	0.01	0.01	0.00
24	7.5E+08	7.77E+08	20.44	20.47	20.45	0.02	0.01	0.01	0.01	0.00
30	8.23E+08	8.33E+08	20.53	20.54	20.53	0.01	0.01	0.01	0.01	0.00
36	9.07E+08	9.27E+08	20.63	20.65	20.64	0.02	0.01	0.01	0.01	0.00
42	1.03E+09	1.05E+09	20.75	20.77	20.76	0.01	0.01	0.01	0.01	0.00
48	1.18E+09	1.2E+09	20.89	20.90	20.90	0.01	0.01	0.01	0.01	0.00

54	1.09E+09	1.06E+09	20.81	20.78	20.80	0.02	0.01	0.01	0.01	0.00
60	1.02E+09	1E+09	20.74	20.73	20.73	0.01	0.01	0.01	0.01	0.00
66	9.48E+08	9.65E+08	20.67	20.69	20.68	0.01	0.01	0.01	0.01	0.00
72	8.75E+08	8.62E+08	20.59	20.57	20.58	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00

Contoh perhitungan *growth rate* ulangan 1 SHF pada jam ke-18:

$$\text{Rumus: } \frac{\ln \text{populasi jam ke-18} - \ln \text{populasi jam ke-0}}{\Delta t} \quad \text{Growth rate} = \frac{20.88 - 20.42}{18 - 0} = 0.03/\text{jam}$$

### c. laju konsumsi gula pereduksi

SHF (*Separate Hydrolysis and Fermentation*)

waktu	Gula pereduksi (g/L supernatan)		$\Delta S$ (g/L supernatan)		rerata	Stdev	Laju konsumsi Gula (g/L supernatan/jam)		rerata	Stdev
	1	2	1	2			1	2		
	0	11.192	11.228	0.000			0.000	0.000		
6	3.953	3.912	7.239	7.316	7.278	0.05	1.206	1.219	1.213	0.01
12	3.500	3.508	7.692	7.720	7.706	0.02	0.641	0.643	0.642	0.00
18	3.339	3.249	7.853	7.979	7.916	0.09	0.436	0.443	0.440	0.00
24	2.431	2.143	8.761	9.085	8.923	0.23	0.365	0.379	0.372	0.01



SSF (*Simultaneous Saccharification and Fermentation*)

waktu	Gula pereduksi (g/L supernatan)		$\Delta S$ (g/L supernatan)		rerata	Stdev	Laju konsumsi Gula (g/L supernatan/jam)		rerata	Stdev
	1	2	1	2			1	2		
0	0.641	0.668	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
6	1.079	1.100	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
12	1.094	1.107	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
18	2.191	2.206	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
24	4.926	4.942	4.926	4.942	4.934	0.01	0.000	0.000	0.000	0.00
30	4.112	4.112	0.814	0.830	0.822	0.01	0.027	0.028	0.027	0.00
36	3.212	3.225	1.714	1.717	1.716	0.00	0.048	0.048	0.048	0.00
42	1.745	1.711	3.181	3.231	3.206	0.04	0.076	0.077	0.076	0.00
48	0.741	0.745	4.185	4.197	4.191	0.01	0.087	0.087	0.087	0.00
54	0.710	0.703	4.216	4.239	4.228	0.02	0.078	0.079	0.078	0.00
60	0.668	0.656	4.258	4.286	4.272	0.02	0.071	0.071	0.071	0.00
66	0.650	0.619	4.276	4.323	4.300	0.03	0.065	0.066	0.065	0.00
72	0.623	0.590	4.303	4.352	4.327	0.03	0.060	0.060	0.060	0.00

$$\text{Rumus laju konsumsi gula pereduksi} = \frac{\Delta S}{\text{Waktu fermentasi}}$$

Contoh perhitungan laju konsumsi gula pereduksi pada fermentasi 18 jam ulangan 1SHF:

$$\text{Laju konsumsi gula pereduksi} = \frac{7.853 - 0.00}{18} = 0.436 \text{ g/L supernatan/jam}$$

**d. Growth Yield***SHF (Separate Hydrolysis and Fermentation)*

Waktu	log sel/ml		$\Delta X$ (log sel/ml)		rerata	Stdev	Gula pereduksi (g/L supernatan)		$\Delta S$ (g/L)		rerata	Stdev	Growth Yield (log sel/ml/g/L supernatan)		rerata	Stdev
	1	2	1	2			1	2	1	2			1	2		
0	8.87	8.88	0.00	0.00	0.00	0.00	11.192	11.228	0.000	0.000	1.500	0.71	0.00	0.00	0.00	0.00
6	8.90	8.91	0.03	0.03	0.03	0.00	3.953	3.912	7.239	7.316	0.000	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
12	8.97	8.98	0.10	0.10	0.10	0.00	3.500	3.508	7.692	7.720	7.278	0.05	0.01	0.01	0.01	0.00
18	9.07	9.08	0.20	0.20	0.20	0.00	3.339	3.249	7.853	7.979	7.706	0.02	0.03	0.03	0.03	0.00
24	9.00	9.01	0.13	0.13	0.13	0.01	2.431	2.143	8.761	9.085	7.916	0.09	0.01	0.01	0.01	0.00

*SSF (Simultaneous Saccharification and Fermentation)*

Waktu	log sel/ml		$\Delta X$ (log sel/ml)		rerata	Stdev	Gula pereduksi (g/L supernatan)		$\Delta S$ (g/L Supernatan)		rerata	Stdev	Growth Yield (log sel/ml/g/L supernatan)		rerata	Stdev
	1	2	1	2			1	2	1	2			1	2		
0	8.78	8.80	0.00	0.00	0.00	0	0.641	0.668	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
6	8.82	8.82	0.04	0.02	0.03	0.01	1.079	1.100	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
12	8.84	8.85	0.06	0.05	0.05	0.01	1.094	1.107	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
18	8.85	8.86	0.07	0.06	0.07	0.01	2.191	2.206	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

24	8.88	8.89	0.10	0.09	0.09	0.00	4.926	4.942	4.926	4.942	4.934	0.01	0.02	0.02	0.02	0.00
30	8.92	8.92	0.14	0.12	0.13	0.01	4.112	4.112	0.814	0.830	0.822	0.01	0.17	0.15	0.16	0.01
36	8.96	8.97	0.18	0.17	0.17	0.01	3.212	3.225	1.714	1.717	1.716	0.00	0.10	0.10	0.10	0.00
42	9.01	9.02	0.23	0.22	0.23	0.01	1.745	1.711	3.181	3.231	3.206	0.04	0.07	0.07	0.07	0.00
48	9.07	9.08	0.29	0.28	0.29	0.01	0.741	0.745	4.185	4.197	4.191	0.01	0.07	0.07	0.07	0.00
54	9.04	9.02	0.26	0.22	0.24	0.02	0.710	0.703	4.216	4.239	4.228	0.02	0.06	0.05	0.06	0.01
60	9.01	9.00	0.23	0.20	0.21	0.02	0.668	0.656	4.258	4.286	4.272	0.02	0.05	0.05	0.05	0.00
66	8.98	8.98	0.20	0.18	0.19	0.01	0.650	0.619	4.276	4.323	4.300	0.03	0.05	0.04	0.04	0.00
72	8.94	8.94	0.16	0.14	0.15	0.02	0.623	0.590	4.303	4.352	4.327	0.03	0.04	0.03	0.03	0.00

$$\text{Rumus growth yield} = \frac{\Delta X}{\Delta S}$$

Contoh perhitungan *growth yield* ulangan 1SHF pada jam ke-18:

$$\text{Growth yield} = \frac{9.07 - 8.87}{11.192 - 3.339} = \frac{0.20}{7.853} = 0.03 \text{ log sel/ml/g/L supernatan}$$

**e. Yield Etanol Dan Efisiensi Fermentasi***SHF (Separate Hydrolysis and Fermentation)*

waktu	Gula pereduksi (g/L supernatan)		$\Delta S$ (g/ L supernatan)		$\Delta P$ (g/ L supernatan)		Yield ( $\Delta P/\Delta S$ )		Efisiensi (%)		rerata	Stdev
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2		
0	11.192	11.228	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0	0	0.000	0.00
6	3.953	3.912	7.239	7.316	2.505	2.559	0.346	0.350	16.70	17.06	16.882	0.13
12	3.500	3.508	7.692	7.720	1.406	1.339	0.183	0.173	26.07	25.99	26.031	0.03
18	3.339	3.249	7.853	7.979	3.458	3.137	0.440	0.393	39.75	37.97	38.864	0.63
24	2.431	2.143	8.761	9.085	3.271	2.743	0.373	0.302	38.51	35.35	36.929	1.12

*SSF (Simultaneous Saccharification and Fermentation)*

waktu	Gula pereduksi (g/L supernatan)		$\Delta S$ (g/ L supernatan)		$\Delta P$ (g/ L supernatan)		Yield ( $\Delta P/\Delta S$ )		Efisiensi (%)		rerata	Stdev
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2		
0	0.641	0.668	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00	0.00	0.00
6	1.079	1.100	0.000	0.000	1.896	1.890	0.000	0.000	0.97	1.05	1.01	0.05
12	1.094	1.107	0.000	0.000	0.401	0.404	0.000	0.000	2.58	2.45	2.51	0.09
18	2.191	2.206	0.000	0.000	0.448	0.453	0.000	0.000	6.81	6.82	6.82	0.01
24	4.926	4.942	4.926	4.942	0.518	0.515	0.000	0.000	11.11	11.46	11.29	0.25
30	4.112	4.112	0.814	0.830	0.551	0.551	0.677	0.664	13.47	13.56	13.52	0.06

36	3.212	3.225	1.714	1.717	0.608	0.612	0.355	0.357	15.92	16.10	16.01	0.12
42	1.745	1.711	3.181	3.231	1.114	1.095	0.350	0.339	19.42	19.34	19.38	0.06
48	0.741	0.745	4.185	4.197	1.903	1.923	0.455	0.458	24.39	24.32	24.36	0.05
54	0.710	0.703	4.216	4.239	1.025	1.037	0.243	0.245	22.94	23.10	23.02	0.11
60	0.668	0.656	4.258	4.286	0.483	0.491	0.113	0.114	19.60	19.60	19.60	0.00
66	0.650	0.619	4.276	4.323	0.424	0.416	0.099	0.096	16.97	16.97	16.97	0.00
72	0.623	0.590	4.303	4.352	0.361	0.364	0.084	0.084	15.05	15.05	15.05	0.00

Rumus:

$$\text{Kadar etanol (g/L)} = \frac{y-0.007}{60.115} \times \text{berat jenis etanol} \times \frac{1000 \text{ ml}}{1 \text{ L}} \times \text{FP}$$

$$\text{Yield etanol} = \frac{\Delta P}{\Delta S}$$

$$\text{Efisiensi fermentasi (\%)} = \frac{\text{Etanol yang dihasilkan}}{\text{jumlah substrat}} \times 100$$

Yield etanol

$$= \frac{3.458}{7.7853} = 0.440$$

Keterangan:

FP = Faktor pengenceran = 10

Berat jenis etanol = 0.789 g/ml

y = 60.115x dan 0.007

y = Absorbansi

Etanol teoritis = 0.511 (51%)

Efisiensi fermentasi (%)

$$= \frac{5.830}{15} \times 100 = 38,86\%$$

Contoh perhitungan ulangan 1 SHF fermentasi 18 dan 66 jam:

LAMPIRAN FOTO



Proses autoklaf alat dan bahan fermentasi



Proses fermentasi pada bioreaktor



Proses inokulasi inoculum pada media tepung ubi kayu



Hasil sampling secara periodik 6 jam



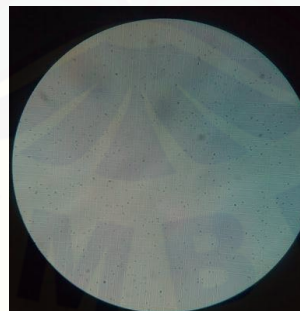
Proses Sentrifus untuk mengambil filtrat



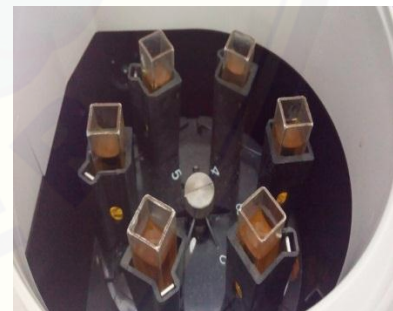
Hasil pengukuran total gula setelah absorbansi



Proses perhitungan populasi *yeast*



Kenampakan sel pada kotak sedang dengan perbesaran 10x40



Proses absorbansi



Proses pengukuran alkohol metode *conway*



Kenampakan hasil pengukuran kadar alkohol



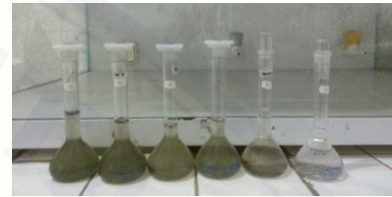
Hasil pengukuran gula pereduksi



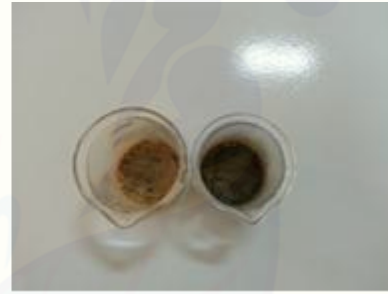
Biakan *T. viride*



Biakan *A. niger*



Proses pengukuran massa sel



Proses Pengeringan mikroba pada pengukuran massa sel