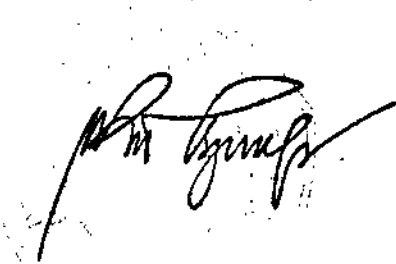


**LEMBAR PENGESAHAN LAPORAN HASIL PENELITIAN**

1. Judul Penelitian: Rekayasa Bioproses Produksi Bioetanol dari Hidrolisat Pati Ubi Jalar (*Ipomoea batatas* L) Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*.
2. Penanggung Jawab Penelitian:
- a. Nama: Dr. Ir. Khaswar Syamsu, MSc.
  - b. Pangkat/Golongan: Pembina Tk I/ IV B
  - c. Jabatan  
Struktural: Kepala Laboratorium Rekayasa Bioproses  
Pusat Penelitian Sumberdaya Hayati dan Bioteknologi  
IPB  
Fungsional: Lektor Kepala
3. Lokasi Penelitian: Laboratorium Rekayasa Bioproses, Pusat Penelitian Sumberdaya Hayati dan Bioteknologi, IPB
4. Biaya Penelitian: Rp. 84.990.000,-
5. Sumber dana: Sekretariat Badan Litbang Pertanian, Tahun Anggaran 2007

Mengetahui  
Ketua Lembaga Penelitian  
Dan Pemberdayaan Masyarakat IPB



Prof. Dr. Ir. H. Rizal Syarif S, DESS  
NIP 130367108

Penanggung jawab  
Kegiatan



Dr. Ir. Khaswar Syamsu, MSc  
NIP 131788593

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, segala puji dan syukur kami ucapkan kehadirat Allah SWT yang dengan izin-Nya penelitian yang berjudul "Rekayasa Bioproses Produksi Bioetanol dari Hidrolisat Pati Ubi Jalar (*Ipomoea batatas L*) menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*" dapat dilaksanakan dengan baik.

Pada kesempatan yang baik ini, kami menyampaikan terima kasih kepada:

1. Badan Penelitian dan Pengembangan, Departemen Pertanian, Republik Indonesia melalui Program Kerjasama Kemitraan Penelitian Pertanian dengan Perguruan Tinggi (KKP3T) TA 2007 yang telah menyediakan dana penelitian sehingga penelitian ini dapat dilaksanakan;
2. Departemen Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian dan Pusat Penelitian Sumberdaya Hayati dan Bioteknologi, Lembaga Penelitian dan Pemberdayaan Masyarakat IPB yang telah meminjamkan sumberdaya manusia dan fasilitas laboratoria untuk pelaksanaan penelitian ini;
3. Lembaga Penelitian dan Pemberdayaan Masyarakat IPB yang telah membantu mengkoordinasikan dan mengelola administrasi penelitian ini;
4. Teman-teman anggota peneliti Dr. Ir. Nur Richana, MS dan Agus Budianto, STP, serta para mahasiswa dan teknisi Achnur Wahyuni, STP, Sri Haryani, Diah Rochana yang ikut membantu menyukseskan penelitian ini.

Kami menyadari bahwa laporan penelitian ini masih jauh dari kesempurnaan. Untuk itu, segala bentuk saran yang konstruktif untuk penyempurnaan laporan penelitian ini penulis terima dengan hati dan tangan terbuka. Semoga karya kecil ini dapat memperkaya khasanah ilmu pengetahuan dan teknologi dalam berkontribusi memecahkan permasalahan krisis energi, sekaligus meningkatkan nilai tambah hasil pertanian dan meningkatkan pendapatan petani.

Bogor, Januari 2008

Tim Peneliti

Dr. Ir. Khaswar Syamsu, MSc.  
Dr. Ir. Nur Richana, MS  
Agus Budianto, STP

## DAFTAR ISI

### Halaman

KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR/ILUSTRASI	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vii
RINGKASAN EKSEKUTIF	viii
EXCECUTIVE SUMMARY	x
I. PENDAHULUAN	1
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Ubi Jalar	5
B. Produksi Sirup Glukosa secara Enzimatis	12
C. Enzim Penghidrolisis Pati	16
D. Fermentasi	18
E. Kinetika Fermentasi	24
F. Bioetanol	25
III. PROSEDUR KERJA	27
A. Bahan dan Alat	27
B. Metode Penelitian	28
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	31
A. Karakteristik Substrat	31
B. Pencarian Total Gula Awal Optimum	36
C. Rekayasa Bioproses Produksi Bioetanol	38
V. KESIMPULAN	42
VI. PERKIRAAN DAMPAK HASIL KEGIATAN	43
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	50

**DAFTAR TABEL**

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
Tabel 1. Perbandingan Karakteristik Tanaman umbi	6
Tabel 2. Luas Panen, Produktivitas dan Produksi Ubi Jalar di Indonesia Tahun 1995 – 2002	6
Tabel 3. Kandungan Unsur Gizi Ubi Jalar	7
Tabel 4. Rasio Amilosa dan Amilopektin pada Umbi-umbian.	8
Tabel 5. Mutu Pati Ubi Jalar Berbagai Penelitian Terdahulu	12
Tabel 6. Aplikasi Produk Hidrolisat pati	13
Tabel 7. Syarat mutu Glukosa Cair	16
Tabel 8. Karakteristik Kondisi Proses dari Enzim Termamyil 120 L	17
Tabel 9. Hasil analisis proksimat ubi jalar	32
Tabel 10. Perbandingan Rendemen Ubi Jalar Leuwiliang dan Malang	33
Tabel 11. Komposisi kimia pati ubi jalar var. Sukeh	34
Tabel 12. Total gula hidrolisat ubi jalar	36
Tabel 13. Perbandingan kadar etanol yang dihasilkan	37
Tabel 14. Perbandingan bioetanol pada agitasi 50,100 dan 150 rpm dengan perlakuan agitasi secara penuh dan agitasi yang dihentikan pada jamke-18	39
Tabel 15. Perbandingan yield	40

**DAFTAR GAMBAR/ILUSTRASI**

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
Gambar 1. Struktur Molekul Amilosa	9
Gambar 2. Struktur Molekul Amilopektin	9
Gambar 3. Mekanisme Aktifitas Enzim $\alpha$ -Amilase pada Amilosa dan Amilopektin	10
Gambar 4. Bagan Proses Poduksi Pati Ubi Jalar	11
Gambar 5. Embden-Meyerhof- <i>Pathway</i> (EMP)	20
Gambar 6. Ubi jalar Sukung (Malang)	31
Gambar 7. Pati ubi jalar	33
Gambar 8. Hidrolisat pati ubi jalar	35
Gambar 9. Pertumbuhan sel dan konsumsi gula pada hidrolisat ubi jalar dengan total gula 24 % (240 g/L)	38

**DAFTAR LAMPIRAN**

<b>Lampiran</b>	<b>Halaman</b>
Lampiran 1. Analisa Proksimat ubi dan ubi jalar pati	50
Lampiran 2. Analisa Produk	52
Lampiran 3 . Hasil analisa proksimat ubi jalar	53
Lampiran 4. Data Penelitian	55
Lampiran 5. Standar Total Gula	62
Lampiran 6. Perhitungan Statistik	63

## RINGKASAN EKSEKUTIF

Kebutuhan bahan bakar minyak bumi (BBM) yang melebihi kemampuan produksinya serta cadangannya yang semakin menipis telah menyebabkan krisis energi, baik di Indonesia maupun di dunia. Pencarian energi alternatif dari sumber daya alam yang dapat diperbarui (*renewable resources*) merupakan solusi untuk menjaga alam dan lingkungan tetap lestari. Salah satu sumber energi alternatif yang potensial adalah bahan bakar nabati (BBN).

Beberapa bahan bakar nabati sudah mulai dikembangkan di Indonesia, diantaranya biodiesel dari minyak sawit dan minyak jarak serta bioetanol dari molasses dan tapioka. Permasalahan yang dihadapi dalam pengembangan energi alternative adalah biaya produksinya yang relatif lebih mahal yang berakibat kepada harga jual yang tidak kompetitif. Beberapa usaha yang dapat dilakukan untuk menurunkan biaya produksi adalah pencarian media produksi yang murah, mudah didapat dan tersedia dalam jumlah berlimpah, penggunaan strain mikroorganisme yang unggul, dan teknologi produksi yang lebih produktif dan efisien.

Hasil pertanian yang potensial dan prospektif untuk dikembangkan sebagai media produksi ethanol adalah hidrolisat pati ubi jalar. Selain memiliki produktifitas yang lebih tinggi (produksi per satuan luas yang lebih tinggi dan umur tanam yang lebih pendek), ubi jalar juga merupakan tanaman penutup (*cover crops*) yang dapat tumbuh pada lahan marginal seperti padang rumput alang-alang tanpa memerlukan input (pupuk dan pestisida) yang tinggi. Pengembangan ubi jalar sebagai media produksi ethanol, selain memberikan nilai tambah kepada petani juga dapat digunakan untuk pemanfaatan lahan tidur dan pengembangan desa-desa sebagai sentra produksi ubi jalar, khususnya di desa-desa tertinggal di kawasan Indonesia Timur.

*Saccharomyces cerevisiae* merupakan mikroorganisme unggul penghasil bioethanol karena produktifitasnya yang tinggi, tahan terhadap kadar ethanol (produk) yang tinggi maupun gula (substrat) yang tinggi. Selain itu, *Saccharomyces cerevisiae* juga dapat memfermentasi sukrosa selain glukosa.

Untuk meningkatkan produktifitas maka fisiologi dan biokimia sel *Saccharomyces cerevisiae* dapat direkayasa dengan memanipulasi kondisi fermentasi dengan cara mengatur agitasi pada waktu yang optimum sehingga terjadi pengalihan metabolisme sel dari aerobic untuk menghasilkan sel sebanyak-banyak ke kondisi anaerobic untuk menghasilkan ethanol sebanyak-banyaknya.

Penelitian ini bertujuan untuk menginvestigasi kemungkinan pemanfaatan hidrolisat pati ubi jalar sebagai media pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* untuk menghasilkan bioetanol, dan merekayasa proses fermentasi (bioproses) pembentukan bioethanol oleh *Saccharomyces cerevisiae* pada substrat hidrolisat pati ubi jalar sehingga dihasilkan bioethanol pada tingkat efisiensi dan produktifitas yang lebih tinggi.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstraksi pati ubi jalar dari ubi jalar Malang varietas Suku menghasilkan 22.54 gram pati kering dari setiap 100 g ubi jalar segar, dengan persentase pati 57.24%. Hidrolisis pati ubi jalar Malang varietas Suku selanjutnya menghasilkan hidrolisat pati ubi jalar dengan kandungan total gula yang relatif tinggi yaitu sebesar  $451.94 \pm 42.5$  g/l hidrolisat pati ubi jalar. Fermentasi hidrolisat pati ubi jalar selanjutnya menghasilkan bioetanol tertinggi pada kadar 12.3% (v/v) yang diperoleh dari substrat hidrolisat pati ubi jalar dengan kandungan total gula awal 24%. Rekayasa bioproses terhadap proses fermentasi dengan cara menghentikan agitasi pada saat biomassa mencapai maksimum (jam ke-18) dapat meningkatkan rendemen produk (bioetanol) per sel ( $Y_p/x$ ) dari 4.77 g bioetanol/g sel menjadi 8.15 g bioetanol/g sel, yang berarti peningkatan rendemen bioetanol sebesar 70.86%.



## EXCECUTIVE SUMMARY

The demand for petroleum which excess its supply and the stocks are rapidly declining, has caused the energy crises in the world in general and in Indonesia in particular. Reserach on alternative energy from renewable natural resources is one of the solutions to keep the sustainability of our nature and environment. One of potential alternative energy is the energy sources from plant (biofuel/bioenergy).

Few biofuel has been developed in Indonesia, namely bio diesel (from palm oil, coconut oil and jatropha oil) and bio ethanol from molasses and tapioca starch. The main problems which have been faced in developing alternative energy are the relatively higher production cost leading to uncompetitive selling price. Some efforts which can be done to decrease the production cost are to find the cheap, easy to find and abundantly available production media, the use of excellent microorganisms, and more efficient and production technology.

One of the potential and prospective agricultural products for production media is hydrolyzed sweet potato starch. In addition to higher productivity, sweet potato also a kind of cover crops which can grow easily on marginal land without high inputs (fertilizer and pesticide). The development of sweet potato as production media for bio ethanol production, not only give an added value of sweet potato to the farmers, but also for utilization of marginal land and development of rural areas, especially in the eastern part of Indonesia.

*Saccharomyces cerevisiae* is an excellent microorganisms to produce bio ethanol since it has a higher productivity, resistant to high ethanol (product) concentration, resistant to high sugar (substrate) concentration. In addition, *Saccharomyces cerevisiae* also can ferment other sugar like sucrose other than glucose.

To increase productivity, therefore the physiology and biochemistry of *Saccharomyces cerevisiae* can be engineered by manipulating fermentation conditions such as agitation rate so that the metabolisms of cells can be switched from aerobic (respiration) which produce biomass into anaerobic (fermentation ) which produce product (bio ethanol). By this way, bio ethanol can be produced maximally.

The purpose of this research is to investigate the possibility of using hydrolyzed sweet potato starch as production media for *Saccharomyces cerevisiae* to produce bio ethanol, and to engineer fermentation process (bioprocess) in order to produce bio ethanol at high efficiency and productivity.

The results show that extraction of sweet potato Sukuh variety of Malang produce 22.54 g dry starch for every 100 fresh sweet potato (22%), with the starch content (dry basis) of 57.24%. Hydrolysis of sweet potato starch then produce hydrolyzed sweet potato starch with the total sugar content of  $451.94 \pm 42.5$  g/l . Fermentation of hydrolysed sweet potato starch using *Saccharomyces cerevisiae* can produce a relatively high bio ethanol content of 12.3% (v/v) which is obtained from substrate with the total sugar content of 24%. Bioprocess engineering further by stopping the aeration at maximum biomass content (18th hour of fermentation) increase the yield of bio ethanol ( $Y_p/x$ ) from 4.77 g bio ethanol/g cell into 8.15 g bio ethanol/g cell, which means the increase of yield about 70.86%.

## I. PENDAHULUAN

Saat ini persediaan bahan bakar minyak bumi (BBM) sebagai sumber energi yang tak terbarukan mulai menipis dengan konsekuensi harga yang semakin mahal. Kebutuhan BBM di Indonesia kini mencapai 215 juta liter per hari, dan cenderung semakin meningkat dari tahun ke tahun. Di lain pihak, produksi dalam negeri hanya 178 juta liter per hari dan semakin menurun dengan makin menipisnya cadangan minyak. Jika keadaan ini dibiarkan terus maka impor BBM Indonesia akan semakin meningkat dari impor saat ini yang sudah mencapai 40 juta liter per hari ([www.ristek.go.id](http://www.ristek.go.id)). Solusi dari masalah tersebut adalah perlunya pengembangan energi alternatif dari sumber daya alam yang dapat diperbaharui.

Bahan bakar nabati (BBN) merupakan sumber energi yang menjanjikan karena selain berasal dari sumber daya alam yang dapat diperbaharui, BBN juga dinilai lebih ramah lingkungan karena menimbulkan polusi yang lebih rendah. Beberapa BBN yang saat ini sedang giat-giatnya dikembangkan di Indonesia adalah adalah biodiesel dari minyak sawit dan minyak jarak. Biodiesel berfungsi sebagai sumber energi untuk mensubstitusi solar, sedangkan sumber energi untuk mensubstitusi premium (bensin) belum banyak dikembangkan. Di luar negeri, terutama Amerika Serikat dan Brazil, bioetanol telah dikembangkan sebagai sumber bahan bakar nabati yang potensial untuk mensubstitusi premium. Amerika Serikat menggunakan sirup glukosa dari jagung sebagai media produksi bioetanol sedangkan Brazil menggunakan molasses.

Permasalahan dalam pengembangan bahan bakar nabati bioetanol adalah biaya produksinya yang relatif lebih mahal dibanding bahan bakar minyak bumi sehingga menyebabkan harga jual yang juga relatif lebih mahal. Beberapa usaha yang dapat dilakukan untuk mengurangi biaya produksi adalah pemilihan media produksi yang lebih murah, penggunaan strain mikroorganisme yang lebih produktif dan teknologi produksi yang lebih produktif dan efisien.

Di Indonesia, etanol telah diproduksi menggunakan bahan baku molasses dan pati singkong. Produktifitas pertanian tebu dan industri gula yang semakin menurun mengakibatkan Indonesia mengimpor gula pasir. Untuk menutupi kebutuhan molasses dalam negeri, terutama untuk industri mono sodium glutamat (MSG) dan asam amino lysin, Indonesia juga mengimpor

molasses. Ketergantungan molasses dari impor serta kompetisi pemakaian dengan industri lain khususnya MSG dan asam amino, menjadikan industri bioetanol berbahan baku molasses tidak kompetitif. Penggunaan pati singkong juga menghadapi kendala yang sama yaitu produktifitas singkong yang relatif rendah serta kompetisi pemakaian dengan produk lain yang lebih prospektif seperti pati termodifikasi dan sirup glukosa.

Prospek penggunaan pati ubi jalar sebagai media produksi bioetanol perlu digali. Ubi jalar mempunyai umur panen yang singkat (3-8 bulan) dan kandungan karbohidratnya yang tinggi (75-90%), bahkan menurut Setyawati (1981) kandungan pati ubi jalar dapat mencapai 98.13 % bk. Produktivitas ubi jalar Indonesia rata-rata 11 ton/ha, tetapi nilai ini masih dapat ditingkatkan karena peneliti memperkirakan produktivitasnya dapat mencapai 40 ton/ha (Widodo, *et. al*, 1993). Menurut Winarno (1981), beberapa varietas unggul ubi jalar yang terdapat di Indonesia adalah varietas Daya, Gedang, NO. 3-6 dan No. 6-2 dengan masa tanam rata-rata empat bulan, dan masing-masing mampu berproduksi sebanyak 23,7 ; 22.3 ; 23.0 ; dan 27.0 ton per hektar.

Ubi jalar memiliki banyak kelebihan dibandingkan dengan umbi-umbian yang lain. Ubi jalar dan singkong memiliki kandungan karbohidrat yang hampir sama (75-90%), kebutuhan pupuk dan bahan organik yang sama rendah sehingga dapat ditanam di lahan kurang subur, namun umur panen ubi jalar (3-8 bulan) jauh lebih singkat dari singkong (9-24 bulan) sehingga ubi jalar memiliki produktifitas yang jauh lebih tinggi. Kentang dan ubi jalar memiliki umur panen yang sama sama singkat (3-8 bulan), namun kandungan karbohidrat kentang (18%) jauh lebih rendah, kebutuhan pupuk dan bahan organik kentang jauh lebih tinggi sehingga tidak cocok di tanam di lahan marginal atau daerah kurang subur. Selain itu, kentang juga merupakan tanaman tahunan yang memerlukan input pupuk tinggi dan rentan terhadap hama penyakit. Ubi jalar dan talas sebagaimana singkong merupakan tanaman sepanjang tahun, namun umur panen talas lebih lama (6-18 bulan), kebutuhan pupuk dan bahan organik tinggi, dan kandungan karbohidratnya relatif rendah (20-25%). Selain itu, ubi jalar merupakan tanaman penutup (*cover crops*) yang dapat ditanam di lahan tidur guna mengatasi rumput alang-alang. Keunggulan ubi jalar dibanding tanaman umbi-umbian lainnya menjadikan ubi jalar menjadi alternatif bahan baku

pembuatan bioetanol yang lebih prospektif untuk dikembangkan. ( Kay, 1973 dalam Horton, 1988; Rubatzky dan Yamaguchi, 1998).

Khamir yang umum digunakan dalam fermentasi menurut (Harisson dan Graham, 1970) adalah *Saccharomyces cerevisiae* karena jenis ini dapat berproduksi tinggi, toleran terhadap alkohol yang cukup tinggi (12-18 % v/v), tahan terhadap kadar gula yang tinggi dan tetap aktif melakukan fermentasi pada suhu 4-32 °C. Menurut Kunkee dan Mardon (1970) *Saccharomyces cerevisiae* dapat memfermentasi glukosa, sukrosa, galaktosa serta rafinosa. Frazier dan Westhoff (1978) menyatakan bahwa *Saccharomyces cerevisiae* yang termasuk "top yeast" tumbuh cepat dan sangat aktif memfermentasi pada suhu 20°C. *Saccharomyces cerevisiae* var. *Ellipsoides* mampu menghasilkan etanol dalam jumlah yang tinggi pada media yang sesuai dengan pertumbuhannya yaitu 16 persen dari bahan baku bukan sirup dan 18 persen dari bahan baku sirup.

Untuk mendapatkan hasil yang tinggi dari *Saccharomyces cerevisiae* pada media hidrolisat pati ubi jalar maka bioproses pembentukan bioetanol perlu direkayasa dengan memanfaatkan fisiologi *Saccharomyces cerevisiae* dalam mensintesa sel dan produk (etanol). Rekayasa bioproses dapat dilakukan salah satunya dengan memanipulasi agitasi sehingga terjadi pengalihan kondisi dari aerobik (respirasi) yang berorientasi menghasilkan biomassa sel ke kondisi anaerobik (anaerobik) yang berorientasi kepada pembentukan produk (bioetanol).

### **Tujuan Kegiatan**

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan teknologi produksi bioetanol yang memiliki efisiensi dan produktivitas yang tinggi sehingga dapat menurunkan biaya produksinya dan pada akhirnya bahan bakar nabati bioetanol ini kompetitif dengan bahan bakar minyak bumi. Strategi yang akan diterapkan pada penelitian ini adalah (1) penggunaan substrat/bahan baku yang murah, memiliki produktivitas tinggi, dan terbaharukan yaitu hidrolisat pati ubi jalar (*Ipomoea batatas* L), (2) penggunaan *Sacharomyces cerevisiae* sebagai mikroorganisme unggul penghasil bioetanol, (3) rekayasa bioproses dengan memanipulasi agitasi sehingga mempengaruhi fisiologi dan biokimia sel untuk menghasilkan bioetanol pada tingkat efisiensi dan produktivitas yang tinggi.

Hipotesis yang dikembangkan adalah bahwa (1) hidrolisat pati ubi jalar dapat dikonsumsi oleh *Saccharomyces cerevisiae* untuk pertumbuhan sel dan akumulasi bioetanol, (2) Pengaturan agitasi akan menginduksi akumulasi produk (bioetanol) sehingga dapat meningkatkan produktifitas dan rendemen.

### **Ruang Lingkup Kegiatan**

Ruang lingkup Kegiatan Penelitian ini adalah sebagai berikut:

- (1) Ekstraksi pati ubi jalar dari ubi jalar.
- (2) Pembuatan hidrolisat pati ubi jalar dari pati ubi jalar;
- (3) Penggunaan hidrolisat pati ubi jalar sebagai substrat utama untuk memproduksi sel khamir (yeast) dan produk bioetanol
- (4) Pengaturan agitasi untuk meningkatkan produksi bioetanol;

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. Ubi Jalar

Ubi jalar (*Ipomoea batatas* L.) termasuk famili *Convolvulaceae* sebagai tanaman dikotil. Famili tersebut terdiri dari 50 genera dan 1200 lebih spesies (Edmond, 1971). Indonesia mempunyai lebih dari 1000 spesies ubi jalar yang ditemukan hampir di semua daerah, antara lain Irian Jaya, Maluku dan Flores. Jenis ubi jalar tersebut dibedakan berdasarkan sifat genetisnya, diantaranya penampilan atau morfologi tanaman, bentuk, penampilan, dan warna kulit; ketebalan kulit; kandungan getah; reaksi oksidasi daging umbi; warna utama dan sebaran warna sekunder daging umbi; serta kadar air dan tekstur daging (Trubus, 1997).

Klasifikasi lengkap Ubi jalar (*Ipomoea batatas*)

Divisi : *Spermatophyta*

Subdivisi : *Angiospermae*

Kelas : *Dicotyledone*

Ordo : *Solanaceae*

Genus : *Ipomoeae*

Spesies : *Ipomoeae*

Deskripsi :

Ciri-ciri umum famili *Convolvulaceae* adalah mengandung getah, batangnya ada yang tegak, menjalar atau yang merayap sesuai spesiesnya, mengandung ikatan pembuluh bikolateral, daun sederhana dan tersusun selang-seling mengelilingi batang. Bunganya khas dengan putik, benang sari berjumlah lima, buah berbentuk bulat lonjong dan mengandung embrio dengan kotiledon yang berlipat ganda (Nonnecke, 1989).

Menurut Suprapti (2003), ubi jalar dapat tumbuh hampir semua jenis tanah termasuk lahan kritis. Kondisi tanah yang paling ideal untuk budidaya ubi jalar berada di dataran rendah 500 m di atas permukaan laut. Tanaman ubi jalar mudah beradaptasi pada lingkungan termasuk tanah dengan aerasi dan drainase yang kurang baik. Tabel 1 menyajikan perbandingan karakteristik tanaman umbi potensial

Tabel 1. Perbandingan Karakteristik Tanaman umbi

Karakteristik	Ubi Jalar	Singkong	Tebu	Talas
Jenis Tanah	Cocok untuk semua tanah	Cocok untuk semua jenis tanah	Tanah lembab	Tanah lembab
pH	5.5 – 7.5	4.5 - 8	5 - 6	5 - 6
Kebutuhan pupuk	rendah	rendah	tinggi	tinggi
Masa panen (bulan)	3 – 3.5	6 – 12	8 -14	6 - 10
Kandungan karbohidrat (%) bk	98.13	51.36	Kadar sukrosa = 10 %	21-27
Produktivitas (ton/ha)	11 - 30	10 -13	90	30

Sumber : Deptan (2005)

Tabel 2. menunjukkan jumlah produksi ubi jalar relatif menurun dari tahun ke tahun. Penyebabnya karena kurangnya pemanfaatan ubi jalar sebagai bahan baku industri. Usaha peningkatan produksi ubi jalar akan meningkatkan potensinya di berbagai industri seiring ditemukan berbagai varietas ubi jalar unggul dengan produktivitas yang tinggi.

Tabel 2. Luas Panen, Produktivitas dan Produksi Ubi Jalar di Indonesia Tahun 1995 - 2002

Tahun	Luas Panen (ha)	Produktivitas (ton/ha)	Produksi (ton)
1995	228,700	95.00	2,171,027
1996	211,681	95.00	2,017,516
1997	195,436	95.00	1,874,492
1998	199,041	97.00	1,923,055
1999	172,243	97.00	1,655,547
2000	194,262	94.00	1,827,687
2001	181,026	97.00	1,749,070
2002	177,275	100.00	1,771,692

Sumber : BPPT (2006)



Produk-produk olahan ubi jalar memiliki prospek sangat baik karena adanya peluang pasar dan kelimpahan bahan bakunya. Selain pasar domestik, permintaan ekspor ubi jalar cukup tinggi yaitu ke Jepang, Korea Selatan, dan Amerika Serikat (Kompas, 1999). Produksi ubi jalar Indonesia menempati urutan ketiga setelah Cina dan Vietnam (Trubus, 1997<sup>a</sup>).

### 1. Pati Ubi Jalar

Pati merupakan salah satu jenis polisakarida yang tersebar luas di alam. Pati disimpan sebagai cadangan makanan bagi tumbuh-tumbuhan, antara lain di dalam biji buah (padi, jagung, gandum), di dalam umbi (ubi kayu, ubi jalar, talas, ganyong, kentang) dan pada batang (aren dan sagu). Bentuk pati digunakan untuk menyimpan glukosa dalam proses metabolisme (Tjokrodikoesoemo, 1986). Berat molekul pati bervariasi tergantung pada kelarutan dan sumber patinya (Hartz dan Schmetz, 1972). Untuk kandungan unsur gizi ubi jalar dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Kandungan Unsur Gizi Ubi Jalar

No	Unsur Gizi	Kadar/ 100 ubi segar		
		Ubi Putih	Ubi Merah	Ubi Kuning
1	Kalori (g)	123.00	123.00	136.00
2	Protein (g)	1.80	1.80	1.10
3	Lemak (g)	0.70	0.70	0.40
4	Karbohidrat (g)	27.90	27.90	32.30
5	Fosfor (mg)	49.00	49.00	57.00
6	Zat besi (mg)	0.70	0.70	0.70
7	Vitamin A (SI)	60.00	7.700,00	900,00
8	Vitamin C (mg)	22.00	-	0.04
9	Air (g)	68.50	68.5	-
10	Bagian daging (%)	86.00	86.00	-

Sumber : Girektorat gizi, Depkes R.I., 1981

Pati (*starch*) merupakan zat tepung dari karbohidrat dengan suatu polimer senyawa glukosa yang terdiri dari dua komponen utama, yaitu amilosa dan amilopektin. Polimer linier dari *D-glukosa* membentuk amilosa dengan ikatan (*alfa*)-1,4-*glukosa*. Amilosa bersifat sangat hidrofilik, karena banyak mengandung gugus *hidroksil* maka molekul amilosa cenderung membentuk susunan paralel melalui ikatan hidrogen. Kumpulan amilosa dalam air sulit membentuk gel, meskipun konsentrasinya tinggi, sehingga molekul pati tidak mudah larut dalam air. Berbeda dengan amilopektin yang strukturnya bercabang, amilosa akan mudah mengembang dan membentuk koloid dalam air. Polimer amilopektin terbentuk dari ikatan (*alfa*)-1,4-*glukosida* dan membentuk cabang pada ikatan (*alfa*)-1,6-*glukosida* (Winarno, 1997).

Amilosa dan amilopektin mempunyai sifat fisik yang berbeda. Amilosa lebih mudah larut dalam air dan kurang kental dibanding amilopektin. Amilosa menghasilkan warna biru bila direaksikan dengan larutan iodida, sedangkan amilopektin menghasilkan warna ungu (Wall dan Blessin, 1970).

Tabel 4. Rasio Amilosa dan Amilopektin pada Umbi-umbian.

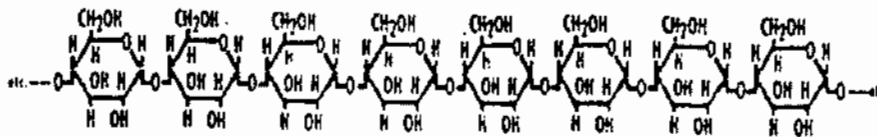
Umbi	Amilosa (%)	Amilopektin (%)
Ubi Jalar	17	83
Ubi Kayu	18	82
Talas	18	82
Kimpul	21.2	78.8
Ganyong	18.9	81.1
Suweg	18.3	81.7
Uwi	23.6	76.4
Gembili	24.3	75.7

Sumber : Sunarti *et al.*, (2002)

Tabel 4 menunjukkan perbandingan amilosa dan amilopektin umbi-umbian. Uubi jalar memiliki kadar amilosa 17 %, berbeda sekitar 1 % dengan ubi kayu, talas, ganyong, dan suweg. Untuk kadar amilopektin ubi jalar sebesar 83 % berbeda 1 % dengan ubi kayu, dan talas. Hal

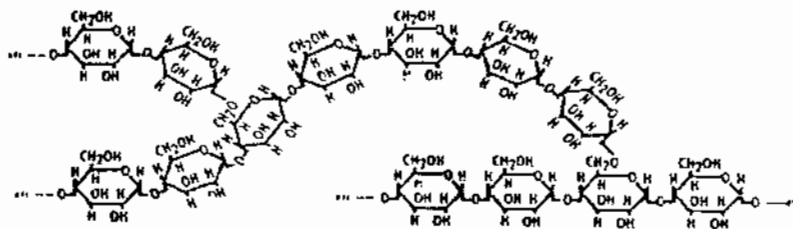
tersebut menunjukkan ubi jalar memiliki potensi baik, untuk memproduksi etanol. Saat ini telah dikembangkan produksi etanol dari ubi kayu dengan kadar amilosa dan amilopektin yang hanya berbeda 1 % dari ubi jalar.

Menurut Anderson (1958), amilosa merupakan hasil kondensasi molekul-molekul glukosa yang terdiri dari 300 atau lebih molekul  $\alpha$ -D glukosa, tersusun dalam bentuk rantai panjang dan lurus. Molekul-molekul tersebut dihubungkan oleh  $\alpha$ -1,4D glukosidik. Struktur molekul amilosa pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur Molekul Amilosa (Fennema, 1976).

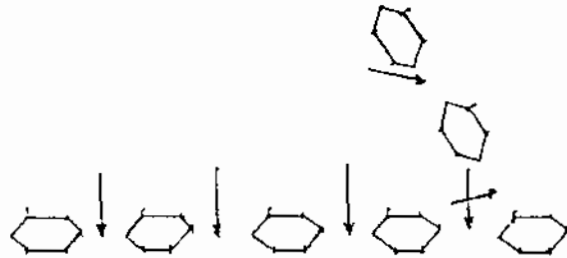
Amilopektin merupakan polimer dari glukosa dan banyak mengandung rantai cabang. Pada rantai lurusanya terdapat kurang lebih 2000 - 3000 molekul glukosa, sedang pada rantai cabangnya mengandung 24 - 30 molekul glukosa. Antar molekul glukosa dihubungkan dengan ikatan  $\alpha$ -1,4D dan  $\alpha$ -1,6D glukosidik (Anderson, 1958).



Gambar 2. Struktur Molekul Amilopektin (Fennema, 1976)

Enzim  $\alpha$ -amilase bekerja menghidrolisis ikatan  $\alpha$ -1,4 glukosidik pada rantai bagian dalam molekul amilosa, amilopektin dan glikogen. Pemutusan rantai polimer amilosa oleh enzim  $\alpha$ -amilase berlangsung dalam dua tahap, yaitu : (1) terjadi sangat cepat, dan (2) pembentukan glukosa dari maltosa secara lambat (Forgaty, 1983).

Pada molekul amilopektin, enzim  $\alpha$ -amilase bekerja memotong ikatan  $\alpha$ -1,4D glukosidik dan menghasilkan glukosa, maltosa, dan  $\alpha$ -limit dextrin. Enzim  $\alpha$ -amilase tidak dapat memotong  $\alpha$ -1,6 pada rantai polimer amilopektin (Forgaty, 1983).

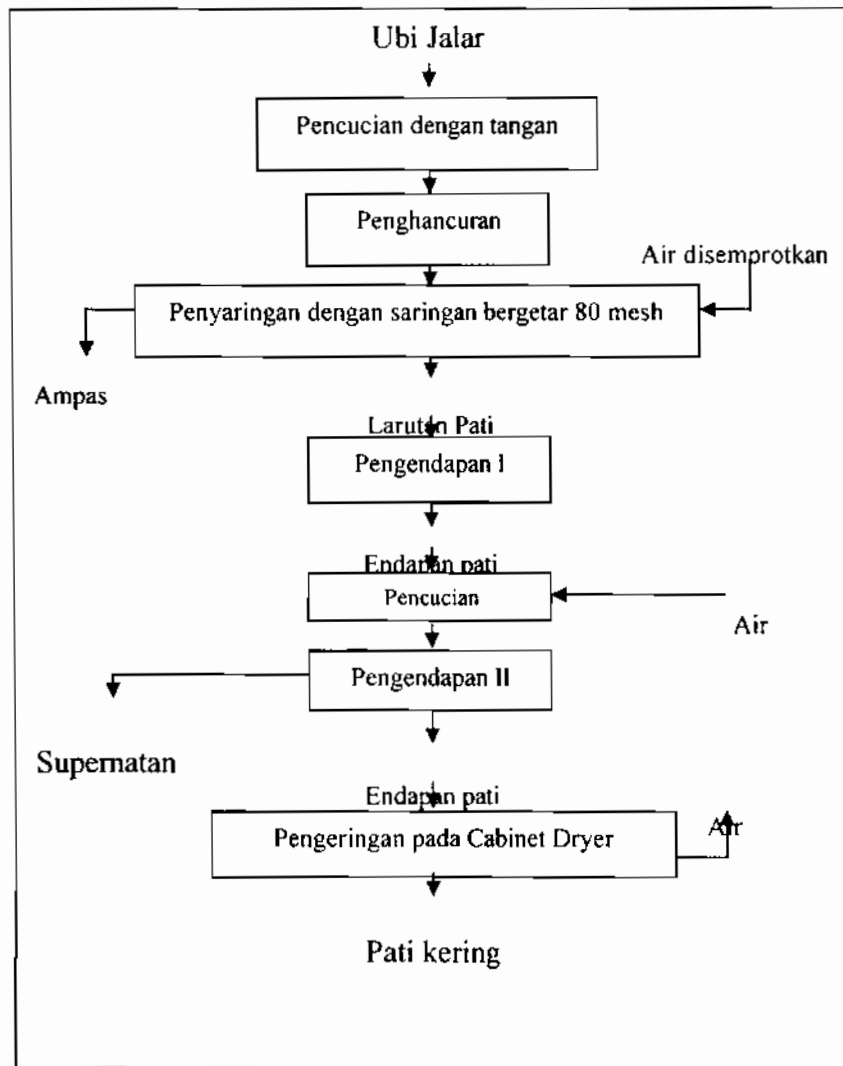


Gambar 3. Mekanisme Aktifitas Enzim  $\alpha$ -Amilase pada Amilosa dan Amilopektin (Meyer, 1978).

Bila pati dilarutkan dalam air dingin tidak akan terjadi perubahan, tapi jika suhu dinaikkan kekentalan akan meningkat dan pati akan menyerap air sehingga terjadi penggelembungan. Jika konsentrasi suspensi pati cukup tinggi maka akan terbentuk gel, proses ini disebut gelatinisasi (Meyer, 1978).

### Teknologi Proses Produksi Pati Ubi Jalar

Teknologi produksi ubi jalar secara sederhana diperkenalkan pertama kali oleh McDonell (1908). Bagan proses produksi pada Gambar 4.



Gambar 4. Bagan Proses Poduksi Pati Ubi Jalar (McDonell, 1908).

Gambar 4. menunjukkan teknologi produksi pati ubi jalar yang dilakukan oleh McDonell, menghasilkan 51.0 kg pati kering dari 380 kg ubi jalar, dengan presentase pati 55.57 % (McDonell, 1908).

Pada produksi pati ubi jalar yang dikembangkan oleh Setyawati (1981) dalam skala laboratorium, menghasilkan persentase ekstraksi pati kering sebesar 65 %. Penelitian tersebut menyarankan lama

pengendapan dilakukan selama enam jam serta penggunaan kalsium hidroksida 1.25 mM.

Hasil penelitian mengenai pati ubi jalar oleh Kadarisman (1985), menunjukkan bahwa pemberian kapur, jumlah air ekstraksi, lama pengendapan, *berpengaruh sangat nyata* terhadap : rendemen pati, kemampuan ekstraksi pati, derajat putih pati, dan rendemen ampas, namun *tidak berpengaruh nyata* terhadap kadar pati, kadar abu, kadar serat, dan kekentalan ubi jalar.

Tabel 5. menunjukkan perbandingan mutu pati ubi jalar, meliputi kadar (%) bk dari pati, serat dan abu, kadar derajat putih dan kekentalan. Kadar pati dan derajat putih pada ubi jalar sangat tinggi, namun kadar serat dan abu sedikit. Kondisi tersebut sangat baik untuk hidrolis sirup glukosa dengan hasil yang lebih banyak.

Tabel 5. Mutu Pati Ubi Jalar Berbagai Penelitian Terdahulu

Metode	Kadar (%) bk			Derajat Putih (%)	Kekentalan (cps)
	Tepung 100 g umbi	Serat	Abu		
Setyawati (1981)	98.13	0.37	0.41	89.60	-
Kadarisman (1985)	97.79	0.22	0.53	86.17	305
USDA	-	-	-	-	335
Mc. Donell	97.50	-	-	-	-
La Dourche	98.95	-	-	-	-
Jepang	96.61	-	-	-	-

Sumber : Setyawati (1981); kadarisman (1985); Brautlecht (1953); Radley (1976)

## B. Produksi Sirup Glukosa Secara Enzimatis

Sirup glukosa bukan produk murni tetapi merupakan campuran dari glukosa, maltosa, dan dextrin seperti eritrodekstrin, dan akrodekstrin. Untuk kandungan glukosa dalam sirup digunakan Dextrosa Equivalent, disingkat DE. Secara komersial DE adalah kandungan gula pereduksi yang dinyatakan sebagai persen dextrosa terhadap padatan kering (Maiden, 1970).

Glukosa cair merupakan larutan dengan kekentalan antara 32 – 35 Be yang dihasilkan melalui hidrolisis pati dengan katalis asam, enzim dan gabungan keduanya. Zat pati yang dapat dihidrolisis berasal dari bahan yang mengandung pati seperti jagung, gandum, ubi kayu, ubi jalar.

Tabel 6 menunjukkan aplikasi produk hidrolisat pati, diantaranya glukosa cair dapat digunakan dalam industri makanan dan minuman, terutama industri permen (*sweet candy*), selai jam dan buah kaleng dengan derajat DE paling tinggi bila dibandingkan produk hidrolisat pati yang lain.

Tabel 6. Aplikasi Produk Hidrolisat pati

Produk Hidrolisat pati	DE	Aplikasi
Sirup Glukosa	96 - 98	Industri makanan dan minuman, bahan baku fermentasi
Sirup Maltosa	48 - 65	Permen keras, bahan baku fermentasi
Sirup campuran	42 - 63	Industri pangan, <i>softdrink</i>
Maltodextrin	3 - 26	Stabilizer, thickener, filler, lem dan pasta
Sirup fruktosa		Produk susu, <i>softdrink</i>

Sumber : Kennedy (1995).

Proses hidrolisis pati pada dasarnya adalah pemutusan rantai polimer pati ( $C_6H_{10}O_5$ )<sub>n</sub> menjadi unit-unit dekstrosa ( $C_6H_{12}O_6$ ). Produk-produk hasil hidrolisis pati umumnya dikarakterisasi berdasarkan tingkat derajat hidrolisisnya dan dinyatakan dengan nilai DE (*dextrose equivalent*) yang menunjukkan persentase dari dekstrosa murni dalam basis berat kering pada produk hidrolisis. Dekstrosa murni adalah dekstrosa dengan derajat polimerisasi 1 (unit dekstrosa tunggal). Suatu produk hidrolisis pati dengan nilai DE 15, menunjukkan bahwa persentase dekstrosa murni pada produk kurang lebih sebesar 15 % (bk) (Meyer,1978).

Hidrolisis enzimatis memiliki beberapa keuntungan, yaitu lebih spesifik prosesnya dan produk yang dihasilkan sesuai dengan yang diinginkan.

Kondisi proses yang dapat dikontrol, biaya pemurnian yang lebih murah serta dihasilkan lebih sedikit produk samping dan abu serta kerusakan warna yang dapat diminimalkan (Norman, 1981). Pemutusan rantai polimer secara acak, maka proses hidrolisis secara kimiawi dan fisik akan menyebabkan terjadinya peningkatan kandungan produk reversi, sehingga kualitas produk hasil hidrolisis akan lebih rendah dan berubah sifat-sifat fungsionalnya.

Hidrolisis pati secara enzimatis terdiri dari dua tahap yaitu tahap likuifikasi dan sakarifikasi. Likuifikasi adalah proses pencairan gel pati dengan menggunakan enzim  $\alpha$ -amilase. Tahap likuifikasi dilakukan sampai mencapai derajat konversi sekitar 10-20 % DE, atau sampai cairan berwarna coklat kemerahan bila direaksikan dengan larutan Iodium. Tujuan dari proses likuifikasi adalah untuk melarutkan pati secara sempurna, mencegah isomerisasi gugusan pereduksi dari glukosa dan mempermudah kerja enzim  $\alpha$ -amilase untuk menghidrolisa pati. Dextrin merupakan hasil dari tahap likuifikasi yang dihidrolisa lebih lanjut menjadi glukosa oleh enzim. Produk hidrolisa memakai enzim glukamilase pada umumnya disiapkan untuk pembuatan dekstrosa kristal atau diisomerisasikan menjadi HFS (Muljono, *et al.*, 1989).

Dextrin adalah suatu homopolimer glukosa yang mempunyai derajat polimerisasi 6-10. Dextrin merupakan produk antara sebelum dihasilkan gula yang lebih sederhana dan memiliki sifat mudah terdispersi di dalam air. Dextrin yang dihasilkan dari pemecahan pati dibedakan menjadi tiga jenis, yaitu: amilodekstrin, eritrodekstrin, dan akrodekstrin. Amilodekstrin mempunyai berat molekul tertinggi, kompleks dan menghasilkan warna biru pada uji warna larutan iod karena sifatnya hampir sama dengan amilosa pati. Eritrodekstrin akan berwarna merah, sedangkan akrodekstrin tidak memberikan warna, selain itu dikenal maltodekstrin yang sifatnya hampir sama dengan maltosa (Meyer, 1978).

Pada proses likuifikasi terjadi degradasi pati menjadi dextrin dengan enzim  $\alpha$ -amilase, namun oligosakarida masih banyak. Likuifikasi adalah proses pencairan gel pati menggunakan  $\alpha$ -amilase, untuk menghidrolisa pati menjadi molekul yang lebih kecil. Pada tahap ini suhu dinaikkan 60 °C agar enzim yang ditambahkan pada pati menjadi lebih aktif. Sakarifikasi adalah proses hidrolisa lebih lanjut atau peragian bubur pati dengan penambahan



enzim  $\beta$ -amilase atau glukamilase. Penambahan glukamilase akan mengkonversi pati lebih lanjut menjadi sirup glukosa yang mempunyai nilai DE tinggi (Forgaty, 1983).

Menurut Berghmans (1980),  $\alpha$ -amilase dari *B. licheniformis* mempunyai aktivitas optimum pH 6.5 dan suhu 90 °C. Aktivitasnya akan sangat stabil dengan adanya  $\text{Ca}^{++}$  pada konsentrasi 3.4 ppm.

Termamyl adalah enzim  $\alpha$ -amilase cair dan tahan panas dari *B. Licheniformis*. Termamyl 120 L, mempunyai aktivitas 120 KNU per gr enzim yang dibutuhkan untuk memecahkan 5.26 gram pati per jam pada kondisi standar Novo, yaitu 37 °C dan pH 5.6 (Anonim, 1981).

Amiloglukosidase (AMG), diperoleh dari spesies fungi *Aspergillus sp.* dan *Rhizopus sp.* yang mengkonversi malto-oligosakarida menjadi D-glukosa. Pada umumnya aktivitas  $\beta$ -amilase atau glukamilase optimum pada pH 4.0 – 5.0 dan suhu 50 – 60 °C (Fogarty, 1983).

Tahap kedua pembuatan gula cair (sakarifikasi) dilaksanakan dengan enzim glukamilase. Aktifitas enzim ini dipengaruhi oleh suhu dan pH. NOVO A/S menyarankan enzim glukamilase pada kondisi suhu 60 °C dan pH 4, dengan waktu sakarifikasi 48 jam. Enzim masih dapat bekerja sampai 96 jam pada proses sakarifikasi.

Setelah sakarifikasi, dilakukan pemurnian sirup glukosa dengan penyaringan, pemberian arang aktif, dan resin penukar ion. Penambahan karbon aktif dalam proses purifikasi adalah untuk menjernihkan larutan gula, menghilangkan bau dan membunuh bakteri. Karbon aktif yang digunakan berbentuk serbuk halus dengan bahan dasar berasal dari *soft wood*.

Dilakukan juga uji pH, amilum dan nilai DE, pada unit proses purifikasi tes amilum harus negatif, pH proses dipertahankan pada kisaran 4.00 – 4.20, lama pengkarbonan aktif dan perhitungan dosis karbon aktif, uji DE, serta pengontrolan suhu.

Pada tabel 7 menunjukkan syarat mutu glukosa cair sesuai dengan standar mutu SII. 0418 – 81. Komponennya meliputi kadar air, abu, gula reduksi, pati, logam berbahaya, sulfur dioksida dan pemanis buatan dengan spesifikasi tertentu.

Tabel 7. Syarat mutu Glukosa Cair

Komponen	Spesifikasi
Air	Maks. 20 persen
Abu (dasar kering)	Maks. 1 persen
Gula reduksi	Min. 30 persen
Pati	Tidak ada
Logam Berbahaya	Negatif
Sulfur dioksida	Kembang gula maks. 400 ppm Produk lain maks. 40 ppm
Pemanis buatan	Negatif

Sumber : SII. 0418 – 81

### C. Enzim Penghidrolisis Pati

Enzim yang dapat menghidrolisis pati terdiri dari dua jenis, yaitu enzim yang dapat memecah ikatan  $\alpha$ -1,4 glikosidik dan enzim yang dapat mengkatalis hidrolisa spesifik dari ikatan  $\alpha$ -1,6 glikosidik pada amilopektin. Grup yang pertama dibedakan lagi atas endo-enzim yang memecah ikatan  $\alpha$ -1,4 glikosidik secara random atau pada ikatan yang berada di tengah rantai polimer, dan secara ekso-enzim yang memecah ikatan  $\alpha$ -1,4 glikosidik dari bagian ujung polimer (Muljono *et al.*, 1989).

#### 1. $\alpha$ - Amilase

Alfa amilase adalah suatu endo-enzim yang hanya menyerang ikatan  $\alpha$ -1,4 glikosidik secara acak di bagian dalam molekul baik pada amilosa maupun pada amilopektin (Tjokroadikoesoemo, 1986; Wang, 2002). Pengaruh aktifitasnya menyebabkan pati terputus-putus menjadi dekstrin dengan rantai sepanjang 6-10 unit glukosa. Jika waktu reaksinya diperpanjang, dekstrin tersebut dipotong-potong lagi menjadi campuran antara glukosa, maltosa, maltotriosa dan ikatan lain.

Mekasnisme kerja  $\alpha$ -amilase terdiri dari dua tahap, yaitu : tahap pertama degradasi amilosa menjadi maltosa dan maltotriosa yang terjadi secara acak. Hal itu diikuti dengan menurunnya viskositas dengan cepat. Tahapan kedua terjadi pembentukan glukosa dan maltosa sebagai hasil akhir dan tidak acak. Pada tahap ini pembentukan relatif sangat lambat, sedangkan pada molekul amilopektin kerja  $\alpha$ -amilase akan menghasilkan glukosa, maltosa dan satu seri  $\alpha$ -limit dextrin, serta oligosakarida yang terdiri dari empat atau lebih glukosa yang mengandung ikatan  $\alpha$ -1,6 glikosidik.

Alfa amilase menghidrolisis amilopektin dimulai dari rantai-rantai luar dan juga memecah ikatan  $\alpha$ -1,4 glikosidik. Ikatan  $\alpha$ -1,4 glikosidik diserang secara acak dan hanya ikatan simpul yang tidak terhidrolisis. Selama proses hidrolisis, terjadi penurunan berat molekul pati yang ditunjukkan dengan adanya penurunan viskositas dan meningkatnya gula pereduksi (Fogarty, 1983). Selain mendegradasi menjadi molekul yang lebih kecil, kerja  $\alpha$ -amilase juga menurunkan viskositas larutan pati dan hidrolisat pati menjadi lebih larut di dalam air.

Termamyl merupakan enzim  $\alpha$ -amilase yang bersifat tahan panas (thermostabil) yang dihasilkan oleh bakteri *Bacillus licheniformis*. Enzim ini aktif dan stabil pada proses likuifikasi larutan pati pada suhu sampai 110°C. Novo memproduksi dua produk berbentuk cairan yang mempunyai aktivitas masing-masing 60 dan 120 KNU /g (Kilo Novo Units per Gram). Beberapa karakteristik kondisi proses dari enzim Termamyl 120 L disajikan pada Tabel 8.

Tabel 8. Karakteristik Kondisi Proses dari Enzim Termamyl 120 L

Parameter	Kondisi
Konsentrasi pati	30 -40 % D.S
pH	6.0 – 6.5
Suhu	105° C & 95 - 100°C
Lama reaksi	5 menit 60 – 120 menit
Dosis enzim	0.6 kg / ton pati D.S

## 2. Glukoamilase

Glukoamilase dikenal dengan nama lain  $\alpha$ -1,4 Glukan glukohidrolase atau EC 3.2.1.3. Enzim ini merupakan enzim untuk memecah ikatan polimer monosakarida pada bagian luar dan menghasilkan unit-unit glukosa dari ujung non-pereduksi rantai polimer pati. Aktifitas enzim ini akan menurun secara drastis bila sampai pada ikatan glukosida  $\alpha$ -1,6.

Glukoamilase bekerja dengan cara menghidrolisa ikatan glukosida  $\alpha$ -1,4, tetapi hasilnya adalah  $\beta$ -glukosa yang mempunyai konfigurasi berlawanan dengan hasil hidrolisa oleh  $\alpha$ -amilase. Selain itu enzim ini dapat pula menghidrolisa ikatan glukosida  $\alpha$ -1,6 dan  $\alpha$ -1,3 tetapi dengan laju yang lebih lambat dibandingkan hidrolisa ikatan glukosida  $\alpha$ -1,4 (Muljono *et al.*, 1989).

Enzim-enzim yang tergolong di dalam kelompok glukoamilase ini dapat diperoleh dari berbagai strain *Aspergillus* dan *Rhizopus*. Enzim glukoamilase bersifat eksoamilase, yaitu dapat memutus rantai pati menjadi molekul-molekul glukosa pada bagian non pereduksi dari molekul tersebut. Baik ikatan  $\alpha$ -1,4 maupun  $\alpha$ -1,6 dapat diputuskannya (Tjokroadikoesoemo, 1986). Sebagian enzim glukoamilase mengandung juga enzim transglukosidase yang bekerjanya sebagai katalisator di dalam sintesa molekul glukosa ke molekul-molekul glukosa yang lain pada rantai  $\alpha$ -1,6. Ikatan semacam ini amat sukar diputuskan kembali, sehingga mengurangi produksi glukosa.

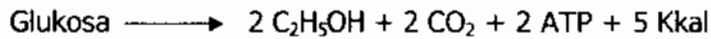
Menurut Muljono, *et al.*, (1989), enzim glukoamilase untuk menghidrolisa pati telah dipasarkan pertama kali pada tahun 1950-an. Glukoamilase dapat menghidrolisa pati sampai mencapai ekivalen dekstroza (DE) 95 – 98 dengan kandungan dekstroza sekitar 93 – 95 persen. Pemakaian enzim glukoamilase adalah sebanyak 1.5 liter untuk tiap kg pati kering.

## D. Fermentasi

Fermentasi adalah suatu proses perubahan kimia pada substrat organik, baik karbohidrat, protein, lemak atau lainnya, melalui kegiatan katalis

biokimia yang dikenal sebagai enzim dan dihasilkan oleh jenis mikroba spesifik (Prescott dan Dunn, 1981).

Etil alkohol ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ ) atau etanol sering disebut sebagai alkohol untuk menunjukkan sumber bahan baku yang digunakan atau tujuan umum penggunaannya. "Grain alcohol" adalah etanol yang dibuat dari biji-bijian seperti jagung, gandum atau beras. "Industrial alcohols" adalah etanol yang dipakai untuk tujuan-tujuan industri (Prescott dan Dunn, 1981). Menurut Oura *di dalam* Dellweg (1983), secara sederhana proses fermentasi alkohol dari bahan baku yang mengandung gula (glukosa) terlihat pada reaksi berikut :

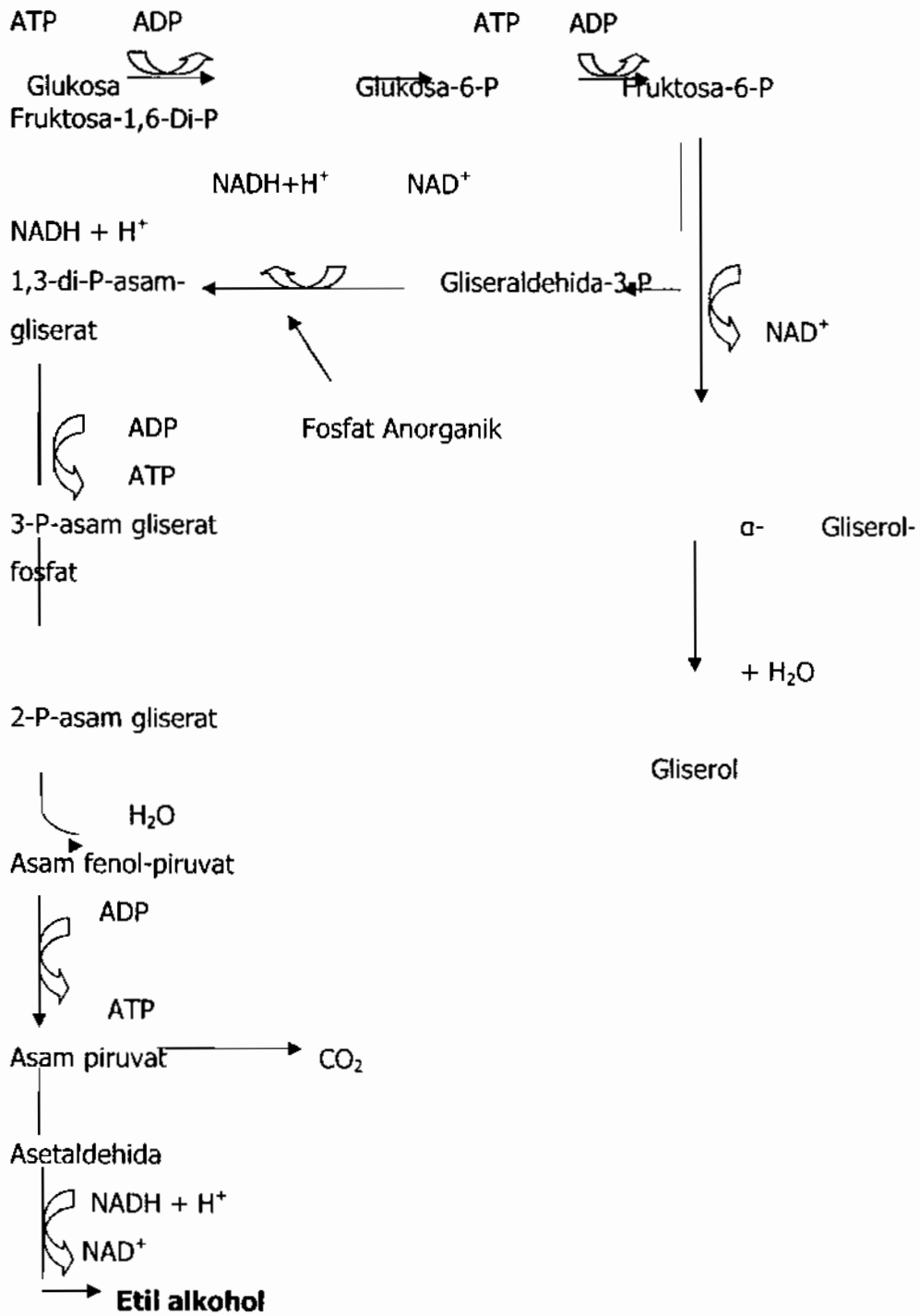


Dari reaksi diatas, 70 % energi bebas yang dihasilkan dibebaskan sebagai panas dan secara teoritis 51,5 % karbohidrat diubah menjadi etanol dan 48,9 % menjadi  $\text{CO}_2$ .

Proses fermentasi gula menjadi etanol, karbondioksida dan hasil sampingnya dibagi menjadi 3 bagian yaitu :

1. Urutan reaksi dari glukosa hingga gliseraldehid-3-fosfat yang merupakan senyawa intermediate. Reaksi ini menggunakan 2 mol ATP dan bukan merupakan reaksi oksidasi reduksi.
2. Reaksi fosforilasi tingkat substrat (oksidasi) yang menghasilkan 4 mol ATP dan piruvat.
3. Reaksi reduksi piruvat menjadi hasil utama fermentasi yaitu 2 mol etanol dan 2 mol karbondioksida.

Fermentasi etanol terjadi secara anaerob dengan menggunakan khamir tertentu yang dapat mengubah glukosa menjadi etanol melalui *Embden Meyerhof-Parnas Pathway*. Dari 1 molekul glukosa akan terbentuk 2 molekul etanol dan karbondioksida. Berdasarkan bobotnya secara teoritis 1 gram glukosa akan menghasilkan 0,5 gram etanol (Kunkee dan Mardon, 1970). Skema *Embden Meyerhof-Parnas Pathway* dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Embden-Meyerhof-Pathway (EMP), (Tjokroadikoesoemo, 1986).

Fermentasi dapat dilakukan dengan menggunakan media padat atau media cair. Menurut Rahman (1992), fermentasi menggunakan media padat atau media cair mempunyai kelebihan dan kekurangan masing-masing. Media padat mempunyai kelebihan karena cara pengoperasiannya yang sederhana, kontaminasi bukan merupakan masalah penting, bahan untuk media atau substrat mudah diperoleh dan relatif murah harganya. Kekurangannya adalah memerlukan ruangan yang luas, membutuhkan banyak tenaga kerja, sulit mengatur komposisi komponen-komponen media dan meniadakan komponen yang berpengaruh negatif terhadap proses fermentasi dan sulit mengatur kondisi lingkungan fermentasi.

Media cair mempunyai kelebihan karena jenis dan konsentrasi media dapat diatur sesuai dengan yang diinginkan, dapat memberi kondisi yang optimum bagi pertumbuhan dan pemakaian medium lebih efisien. Untuk media fermentasi dapat digunakan bioreaktor yaitu setiap jenis wadah seperti tabung labu, labu erlenmeyer dan fermentor yang digunakan untuk melangsungkan proses fermentasi yang diinginkan.

### **1. Mikroba Penghasil Etanol**

Khamir memerlukan media dan lingkungan yang sesuai untuk pertumbuhan dan perkembangannya. Unsur-unsur dasar yang dibutuhkan adalah karbon, hidrogen, oksigen, fosfor, potasium zat besi dan magnesium. "Trace element" juga memegang peranan penting untuk pertumbuhan khamir. Unsur karbon banyak diperoleh dari gula, sedangkan sebagai sumber nitrogen dapat digunakan amonia, garam amonium, asam amino, peptida, pepton, nitrat atau urea tergantung pada jenis khamir. (Prescott dan Dunn, 1981).

Khamir tumbuh optimum pada suhu 25 – 30 °C dan maksimum pada 35 – 47 °C, pH yang disukai antara 4 – 5. Batas minimal  $a_w$  untuk khamir biasa adalah 0.88 – 0.94 sedangkan khamir osmofilik dapat tumbuh pada  $a_w$  yang lebih rendah yaitu sekitar 0.62 – 0.65, namun banyak juga khamir osmofilik pertumbuhannya terhenti pada  $a_w$  0.78 seperti pada larutan garam ataupun sirup gula (Frazier dan Westhoff, 1978).

Paturau (1981) menyatakan bahwa fermentasi etanol membutuhkan waktu 30-72 jam. Prescott dan Dunn (1981) menyatakan bahwa waktu fermentasi etanol, yang diperlukan adalah 3 sampai 7 hari.

Menurut Kunkee dan Mardon (1970) *Saccharomyces cerevisiae* dapat memfermentasi glukosa, sukrosa, galaktosa serta rafinosa. Frazier dan Westhoff (1978) menyatakan bahwa *Saccharomyces cerevisiae* yang termasuk "Top yeast" tumbuh cepat dan sangat aktif memfermentasi pada suhu 20°C.

Menurut Harisson dan Graham (1970), *Saccharomyces cerevisiae* dapat toleran terhadap alkohol yang cukup tinggi (12-18 % v/v), tahan terhadap kadar gula yang tinggi dan tetap aktif melakukan fermentasi pada suhu 4-32 °C.

Hampir semua galur khamir dapat memfermentasi glukosa, fruktosa, maltosa, sukrosa dan galaktosa. Sampai kadar gula yang optimum, massa sel akan bertambah sesuai dengan kadar oksigen yang tersedia. Di atas optimum, kecepatan fermentasi dan jumlah alkohol yang dihasilkan akan menurun. (Kunkee dan mardon, 1970).

## 2. Pengendalian Kondisi Fermentasi

Faktor-faktor yang mempengaruhi proses fermentasi adalah :

### a. Suhu

Menurut Kunkee dan Mardon (1970), suhu berpengaruh terhadap proses fermentasi melalui 2 hal, *secara langsung* akan mempengaruhi aktifitas enzim khamir dan *secara tidak langsung* akan mengurangi hasil etanol karena terjadinya penguapan. Seperti pada proses biologis (enzimatis) yang lain, kecepatan fermentasi akan bertambah sesuai dengan kenaikan suhu sampai suhu optimum (27-32 °C). Namun pada suhu ini, etanol yang hilang karena penguapan sebesar 1,66 % lebih tinggi dibandingkan etanol yang dihasilkan pada fermentasi suhu 27 °C dengan penguapan sebesar 0,83 % saja. Umumnya, khamir dapat tumbuh dalam suhu yang cukup bervariasi dari 0° sampai 47 °C. Beberapa diantaranya tidak dapat tumbuh diatas 15 °C. Suhu optimum *Saccharomyces cerevisiae* berkisar



antara 20° sampai 30 °C. Varitas patogenik tumbuh dengan baik antara 30° sampai 37 °C.

#### **b. pH**

pH media berguna untuk mengatur aktifitas fermentasi dan pertumbuhan mikroba di dalamnya. Selain itu pH juga berfungsi untuk menghentikan kegiatan fermentasi bila dianggap telah cukup. Pada pH di bawah 3.0 proses fermentasi akan berkurang kecepatannya dan pH optimum untuk fermentasi dalah 4.5 - 5.0. Pengaturan keasaman dapat dibantu dengan penambahan larutan bufer sehingga fluktuasi keasaman tidak terlalu besar (Harrison dan Graham, 1970). Menurut hasil penelitian Rinaldy, (1987), biakan *Saccharomyces cerevisiae* mempunyai kecepatan fermentasi optimum pada pH 4.48.

#### **c. Oksigen**

Ketersediaan oksigen berpengaruh besar dalam fermentasi karena oksigen tersebut dapat menjadi penentu tipe aktivitas mikroba. Mikroba yang digunakan dalam fermentasi adalah jenis mikroba fermentasi kuat dan mempunyai aktifitas respirasi yang rendah. Ketersediaan oksigen dapat dikurangi dengan sistem isolasi udara. Selain dengan mengisolasi udara, dapat pula diberikan sejumlah kapang yang dapat digunakan untuk menutup permukaan sehingga mengambil sebagian besar oksigen yang tersedia (Priyanto, 1988). Untuk menjaga kondisi aerasi selama fermentasi maka medium fermentasi dapat ditutup dengan kapas, busa, atau bahan lain yang tidak menghambat aliran udara (Rahman, 1992).

#### **d. Unsur Hara**

Umumnya khamir membutuhkan unsur C,H,O,N,P,K,Mg dan Ca dalam jumlah yang cukup besar sedangkan unsur Fe dan Cu dibutuhkan dalam jumlah yang kecil. Kebutuhan akan unsur nitrogen akan dapat diperoleh dari garam-garam ammonium, asam amino, pepton dan peptida. Bentuk ammonium merupakan bentuk yang paling mudah dipergunakan oleh khamir (Harrison dan Graham, 1970).

### e. Media Fermentasi

Proses fermentasi adalah pembentukan etanol dan karbon dioksida dari glukosa dengan bantuan khamir. Jika konsentrasi gula dalam substrat terlalu tinggi maka etanol yang terbentuk akan menghambat aktivitas khamir, sehingga waktu fermentasi menjadi lebih lama dan efisiensi menjadi lebih rendah, karena tidak semua gula dikonversi menjadi etanol. Konsentrasi gula yang terlalu rendah menjadikan proses tidak ekonomis, karena penggunaan fermentor tidak efisien.

Paturau (1981) menyebutkan bahwa konsentrasi gula yang digunakan berkisar antara 14 -18 %. Higgins *et al.* (1984) menyatakan bahwa gula yang paling baik untuk proses fermentasi adalah 16-25 % dimana akan dihasilkan etanol sebesar 6-12 %. Konsentrasi gula di atas 25 % akan memperlambat fermentasi, sedangkan di atas 70 % proses fermentasi terhenti. Hal ini disebabkan adanya tekanan osmotik.

### E. Kinetika Fermentasi

Mikroba tumbuh dalam spektrum yang luas dalam lingkungan fisik maupun kimia. Pertumbuhan dan aktivitas fisiologis lainnya ternyata merupakan respon lingkungan fisiologis sekitarnya. Kinetika fermentasi akan menggambarkan pertumbuhan dan perkembangan produk oleh mikroba.

Menurut Muljono, *et al.*, (1992) pertumbuhan mikrobial biasanya ditentukan oleh waktu yang diperlukan untuk menggandakan massa sel. Waktu penggandaan massa sel dapat berbeda dengan waktu penggandaan jumlah, karena massa sel dapat meningkat tanpa penambahan jumlah sel. Tetapi bila dalam suatu lingkungan tertentu interval antara penggandaan massa sel dan jumlah dengan waktu berlangsung konstan, maka mikroba tumbuh pada laju eksponensial.

Pada kondisi demikian pertumbuhan dapat digambarkan sebagai berikut.

$$\frac{dX}{dt} = \mu X \quad (1) \quad \text{atau} \quad \frac{dN}{dt} = \mu_n N \quad (2)$$

dimana  $X$  = konsentrasi sel g/l

$N$  = konsentrasi sel jumlah / l

$\mu$  = laju tumbuh spesifik hr<sup>-1</sup> (massa)

$t$  = waktu (unit) dan  $\mu_n$  = laju tumbuh spesifik (jumlah)

Persamaan (1) menggambarkan peningkatan massa sel dengan waktu dan persamaan (2) menggambarkan penambahan jumlah sel dengan waktu. sebagian besar keadaan pertumbuhan diukur dengan peningkatan massa, jadi yang akan digunakan adalah  $\mu$ . Nilai  $\mu X$  adalah laju pertumbuhan volumetrik (produktivitas volumetrik) g/l-jam.

Integral persamaan (1) menghasilkan

$$\int_{X_1}^{X_2} dx/x = \int_{t_1}^{t_2} \mu dt \quad (3)$$

Bila laju pertumbuhan spesifik konstan, persamaan (3) menghasilkan

$$\ln \frac{X_2}{X_1} = \mu \Delta t \quad (4)$$

Persamaan (4) dapat diselesaikan pada kasus  $t = t_d$  yaitu waktu yang diperlukan untuk  $x_2 = 2 x_1$ , lalu :

$$t_d \frac{\ln 2}{\mu} = \frac{0.693}{\mu} \quad (5)$$

Dari persamaan (5) dapat dilihat bahwa laju pertumbuhan spesifik dapat diperoleh dari slop dari plot  $\ln X$  versus waktu.

## F. Biotanol

Bioetanol merupakan produk fermentasi yang dapat diproduksi dari substrat yang mengandung karbohidrat (gula, pati atau selulosa). Etanol merupakan kependekan dari etil alkohol (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH), sering pula disebut sebagai "Grain alcohol" atau alkohol saja. Bentuknya berupa cairan yang tidak berwarna dan mempunyai bau yang khas. Berat jenisnya pada 15 °C adalah sebesar 0.7937 dan titik didihnya 78.32 °C pada tekanan 766 mmHg. Sifatnya yang lain adalah larut dalam air dan

eter dan mempunyai panas pembakaran 328 Kkal. Penggunaan etanol yang terbanyak adalah sebagai pelarut sebesar 40 persen, untuk membuat asetildehid 36 persen, untuk penggunaan secara kimiawi yang lain 15 persen, serta eter, glikol eter, etil asetat dan khoral 9 persen (Paturau, 1981).

Fermentasi etanol terjadi pada kondisi anaerob. Dengan menggunakan khamir tertentu, khamir ini akan mengubah glukosa menjadi etanol melalui *Embden Meyerhof-Parnas Pathway*. Dari 1 molekul glukosa akan terbentuk 2 molekul etanol dan CO<sub>2</sub> sehingga berdasarkan bobotnya secara teoritis 1 gram glukosa akan menghasilkan 0.5 gram etanol. Selain etanol dan CO<sub>2</sub> yang merupakan hasil fermentasi utama, dihasilkan pula senyawa-senyawa lainnya yang mempunyai nilai ekonomi seperti fusel oil, methanol dan gliserol. Hasil sampingan lainnya seperti asam suksinat dan ester digunakan dalam industri fermentasi untuk produk minuman yang memberi aroma yang khas pada hasil fermentasi (Winarno, 1989).

Menurut Paturau (1981), fermentasi etanol membutuhkan waktu 30 – 72 jam. Frazier dan Westhoff (1978) menambahkan suhu optimum fermentasi 25 – 30 °C dan kadar gula 10 – 18 persen. Jika konsentrasi gula terlalu tinggi, aktivitas khamir terhambat dan waktu fermentasi lebih lama serta tidak semua gula dapat terfermentasi.

### III. PROSEDUR KERJA

#### A. BAHAN DAN ALAT

##### 1. Bahan

###### a. Bahan Baku

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah ubi jalar varietas Sukeh yang daging dan kulit luar berwarna putih, dan diperoleh dari daerah Malang. Mikroorganisme yang digunakan adalah *Saccharomyces cerevisiae* diperoleh dari laboratorium Mikrobiologi Pangan FATETA - IPB Bogor.

###### b. Bahan kimia

Bahan kimia untuk pembuatan hidrolisat ubi jalar meliputi,  $\alpha$ -amilase (*Bacillus licheniformis*) merek *Thermamyl Supra 120 L* dari NOVOZYME konsentrasi 200 KNU, glucoamilase (AMG) merek *Dextrozyme 200 L* dari NOVOZYME, dan konsentrasi enzim 220 AGU, HCL 3 %, NaOH 0.2 N, dan Arang aktif 2 %.

Bahan kimia untuk fermentasi hidrolisat ubi jalar meliputi, PDA, YMGP (ekstrak khamir 50 g, ekstrak malt 50 g, glukosa 50 g dan pepton 200 g per liter aquades), NPK, ZA dan Ca (OH)<sub>2</sub>.

Bahan kimia untuk analisa meliputi : HCL 3 %, NaOH 40 % dan NaOH 1.0 N, larutan Schroll, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 25 %, Na<sub>2</sub> S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 0.1 N, fenol 5 %, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

###### c. Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi saringan, bak pengendapan mikropipet, peralatan gelas, neraca, penangas air, oven, vortex, pH-meter, *water bath incubator*, spektrofotometer.

## **B. METODE PENELITIAN**

### **1. Tahapan Penyiapan Bahan**

#### **a. Karakterisasi Substrat**

##### **i) Karakterisasi Ubi Jalar**

Pada tahap ini terhadap ubi jalar dilakukan analisis proksimat yang meliputi kadar air, kadar abu, kadar serat kasar, kadar protein, dan kadar pati. Prosedur diatas dilakukan satu kali ulangan. Prosedur analisis proksimat dilihat pada Lampiran 1.

##### **ii Karakterisasi Pati Ubi Jalar**

Ubi jalar sebanyak 1 kg tanpa dikupas dan dicuci, selanjutnya dihancurkan, kemudian dilakukan ekstraksi dengan perbandingan pati : air adalah 1 : 5. Hasil ekstraksi diendapkan selama 8 - 12 jam, kemudian endapan pati dikeringkan menggunakan oven. Prosedur diatas dilakukan satu kali ulangan. Selain itu, dilakukan analisis proksimat pati ubi jalar yang meliputi kadar air, kadar abu, kadar serat kasar, kadar protein, dan kadar pati. Prosedur analisis proksimat dapat dilihat pada Lampiran 1.

##### **iii) Karakterisasi Hidrolisat Pati Ubi Jalar (Budiyanto et al, 2006)**

Pada tahap ini dilakukan pembuatan hidrolisat pati ubi jalar dengan menggunakan enzim  $\alpha$ -amilase dengan dosis enzim  $\alpha$ -amilase 0,8 ml/kg tepung ubi jalar dan sakarifikasi dengan dosis enzim glukamilase 0,8 ml/ kg tepung ubi jalar. Setelah itu dihitung total gula standar dan total gula dari hidrolisat yang telah dibuat menggunakan metode fenol. Prosedur analisis proksimat dilihat pada Lampiran 2.

### **2. Tahapan Penelitian Utama**

#### **a. Persiapan Kultur ( Mc. Ghee, 1982)**

Media yang baik untuk menumbuhkan kultur khamir *Saccharomyces cerevisiae* adalah media YMGP yang terdiri dari 5 g ekstrak khamir, 5 g ekstrak malt, 5 g pepton, dan 20 g glukosa serta 1 liter akuades. Mula-mula bahan ditimbang sesuai dengan jumlah

yang ditentukan, kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml dan dilarutkan dengan akuades. Untuk membuat media padat, ke dalam bahan ditambahkan agar sebanyak 1.8- 2.0 persen. Media cair diatur pH-nya dengan menambahkan larutan  $H_2SO_4$  0.1 N hingga mencapai pH 4.5. Labu erlenmeyer ditutup dengan menggunakan kapas dan alumunium foil untuk selanjutnya dimasukkan ke dalam otoklaf dan disterilisasi pada suhu  $121^\circ C$  selama 15 menit. Setelah sterilisasi selesai, Erlenmeyer dikeluarkan dari otoklaf untuk didinginkan pada suhu kamar.

Pembuatan kultur dilakukan dengan cara menginokulasikan kultur murni khamir *Saccharomyces cerevisiae* dengan jarum ose secara aseptis ke dalam media cair yang telah disterilisasi tadi, lalu erlenmeyer ditutup kembali.

#### **b. Fermentasi utama**

Substrat fermentasi berupa hidrolisat pati ubi jalar sebanyak 200 ml dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dengan konsentrasi total gula sesuai perlakuan dan konsentrasi urea 0.06 g. pH cairan substrat diatur pada 4,8 menggunakan  $Ca(OH)_2$ , kemudian dipasteurisasi pada temperatur  $80^\circ C$  selama 5 menit setelah itu didinginkan hingga  $30^\circ C$ . Inokulum sebanyak 10 % volume substrat ditambahkan. Fermentasi berlangsung pada kondisi anaerobik dan pada temperatur kamar ( $28^\circ C$ ) dengan lama fermentasi 3 hari.

Perlakuan pertama adalah kadar total gula awal. Pada awal fermentasi, jumlah hidrolisat pati ubi jalar yang digunakan disesuaikan dengan perlakuan yaitu pada persentase total gula yang berbeda-beda yakni 18, 24, 30, 36 % (v/v) pada agitasi 125 rpm selama 72 jam tanpa penghentian agitasi (*full agitation*). Pengaturan kondisi tersebut untuk mengetahui persentase total gula optimum yang menghasilkan etanol maksimum dan laju pertumbuhan spesifik yang maksimum ( $\mu_{maks.}$ )

Perlakuan berikutnya adalah perbedaan kecepatan agitasi yang dilakukan di dalam inkubator goyang dengan kecepatan agitasi

masing-masing 50, 100 dan 150 rpm. Sampel (triplo) diambil setiap 6 jam sekali.

Perlakuan berikutnya adalah rekayasa bioproses dengan merubah kondisi aerobik (fermentasi dengan agitasi penuh) ke kondisi anaerobik (stop agitasi) ketika biomassa sudah maksimum. Perlakuan rekayasa bioproses ini diduga akan merubah fisiologi sel dari pembentukan sel ke pembentukan bioetanol sehingga dihasilkan bioetanol yang lebih tinggi.

### **3. Parameter Ukur (Indikator Keberhasilan)**

#### **a. Pengukuran Biomassa Sel, Kadar Etanol dan pH**

Pada tahap ini dilakukan pengukuran biomassa, kadar etanol dan pH.

##### **i. Pengukuran Biomassa Sel**

Pengukuran biomassa sel dilakukan dengan menentukan bobot berdasarkan bobot kering pada awal dan akhir fermentasi. Prosedur pengukuran biomassa dapat dilihat pada lampiran 3.

##### **ii. Kadar bioetanol yang dihasilkan**

Pengukuran kadar bioetanol yang dihasilkan dilakukan dengan menggunakan *Gas Chromatografi* (GC). Prosedur pengukuran biomassa dapat dilihat pada lampiran 3.

##### **3. pH**

Pengukuran pH, dilakukan dengan mengamati perubahan pH setiap 6 jam selama fermentasi menggunakan pH meter.

#### **b. Penghitungan Parameter Kinetika Pertumbuhan dan Pembentukan Produk**

Pada tahap ini dilakukan penghitungan parameter kinetika pertumbuhan dan pembentukan produk yaitu yield biomassa ( $Y_x/s$ ), yield produk ( $Y_p/s$ ). Pengukuran lainnya adalah yield produk per biomassa ( $Y_p/x$ ), efisiensi pemanfaatan substrat ( $ds/s$ ), perbandingan  $(S - S_0)/ S_0$  dan kecepatan pertumbuhan ( $\mu$ ).



#### IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

##### A. KARAKTERISTIK SUBSTRAT

###### 1. Karakterisasi Ubi Jalar

Ubi jalar yang diekstraksi untuk menghasilkan pati ubi jalar berasal dari Leuwiliang dan Malang. Ubi jalar yang berasal dari Leuwiliang terdiri dari dua varietas yaitu ubi jalar putih yang berkulit merah dan ubi jalar putih yang berkulit putih, sedangkan ubi jalar dari Malang adalah varietas Suku.

Terhadap jalar yang akan dibuat pati untuk fermentasi hidrolisat pati ubi jalar, terlebih dahulu dilakukan analisa proksimat guna mengetahui komposisi kadar air, kadar abu, kadar serat kasar, kadar protein dan kadar pati.

Hasil analisa proksimat memperlihatkan komposisi kimia seperti pada Tabel 9. Dari Tabel 9 terlihat kadar pati yang cukup tinggi yaitu 22.54 % per 100 g berat ubi jalar segar (Gambar 6), sehingga berpotensi untuk dibuat hidrolisat dengan hasil bioetanol yang tinggi. Perhitungannya dapat dilihat pada Lampiran 1.



Gambar 6. Ubi jalar Suku (Malang)

Ubi jalar dibedakan berdasarkan sifat genetisnya, diantaranya penampilan atau morfologi tanaman, bentuk, penampilan, dan warna kulit; ketebalan kulit; kandungan getah; reaksi oksidasi daging umbi; warna utama dan sebaran warna sekunder daging umbi; serta kadar air dan tekstur daging (Trubus, 1997).

Komposisi kimia ubi jalar berbeda-beda tergantung kultivar, keadaan iklim, derajat kematangan dan lama penyimpanan setelah dipanen (Kay,1973). Selama penyimpanan terjadi penurunan kadar pati, karena

dirubah menjadi enzim amilase yang terdapat dalam ubi jalar itu sendiri (Burkill, 1976).

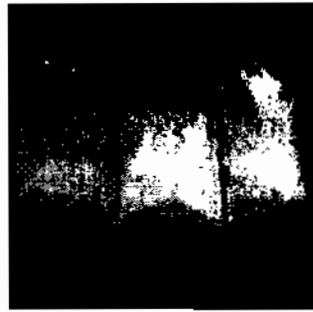
Tabel 9. Hasil analisis proksimat ubi jalar

Komposisi	(% b.b) (Per 100 g berat ubi jalar segar)
Kadar air	37.41
Kadar abu	0.12
Kadar serat kasar	3.62
Kadar protein	0.93
Kadar Pati	22.54

## 2. Karakterisasi Pati Ubi Jalar

Pati (*starch*) merupakan zat tepung dari karbohidrat dengan suatu polimer senyawa glukosa yang terdiri dari dua komponen utama, yaitu amilosa dan amilopektin. Polimer linier dari *D-glukosa* membentuk amilosa dengan ikatan (*alfa*)-1,4-*glukosa*. Amilosa bersifat sangat hidrofilik, karena banyak mengandung gugus *hidroksil* maka molekul amilosa cenderung membentuk susunan paralel melalui ikatan hidrogen. Kumpulan amilosa dalam air sulit membentuk gel, meski konsentrasinya tinggi, sehingga molekul pati tidak mudah larut dalam air. Berbeda dengan amilopektin yang strukturnya bercabang, amilosa mudah mengembang dan membentuk koloid dalam air. Polimer amilopektin terbentuk dari ikatan (*alfa*)-1,4-*glukosida* dan membentuk cabang pada ikatan (*alfa*)-1,6-*glukosida* (Winarno, 1997).

Pati ubi jalar sebagai hasil ekstraksi ubi jalar dapat dilihat pada Gambar 7, sedangkan perbandingan rendemen pati ubi jalar dari berbagai varietas ubi jalar yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 10.



Gambar 7. Pati ubi jalar

Tabel 10. Perbandingan Rendemen Ubi Jalar Leuwiliang dan Malang  
(var. Sுகuh)

Jenis Ubi Jalar	Perlakuan	Berat awal (g)	Pati (g)	Rendemen Pati (%)
1.Ubi jalar Leuwiliang, berkulit merah	a.Tanpa Pengupasan kulit	1106.18	178.54	16.14
	b. Pengupasan kulit Ubi	1163.64	176.16	17.32
	Rata-Rata			16.73
2.Ubi jalar Leuwiliang berkulit putih	a.Tanpa Pengupasan kulit	1191.19	135.20	11.34
	b. Pengupasan kulit Ubi	1065.37	159.61	14.98
	Rata-Rata			13.16
3.Ubi Jalar Malang Var. Sுகuh	a.Tanpa Pengupasan kulit	10100	2160	21.39
	b.Tanpa Pengupasan kulit	10000	2420	24.20
	c.Tanpa Pengupasan kulit	10080	2220	22.02
	Rata-Rata			22.54 ± 1.47

Tabel 10. memperlihatkan bahwa pati ubi jalar Malang varietas Sுகuh mempunyai kadar pati yang relatif lebih tinggi dibanding ubi jalar Leuwiliang, baik yang berkulit merah maupun yang berkulit putih. Rendemen rata-rata tertinggi diperoleh dari ubi jalar Malang varietas

Sukuh, yaitu sebesar  $22.54 \pm 1.47$  %. Hasil ini menunjukkan bahwa pati ubi jalar memiliki potensi untuk menghasilkan hidrolisat pati yang tinggi.

Terhadap pati ubi jalar Malang varietas Sukuh tersebut kemudian dilakukan analisa proksimat. Hasil analisa proksimat dapat dilihat pada Tabel 11 berikut.

Tabel 11. Komposisi kimia pati ubi jalar var. Sukuh

Komponen	Varietas Sukuh		
	I * (%) (Per 100 g berat kering pati)	II* (%) (Per 100 g berat kering pati)	Rata $\pm$ SD (%)
Kadar air	11,22	11,51	11.37 $\pm$ 0.21
Kadar abu	0,42	0,41	0.415 $\pm$ 0.01
Kadar serat kasar	0,17	0,20	0.19 $\pm$ 0.02
Kadar protein	1,22	0,58	0.90 $\pm$ 0.45
Kadar pati	53,77	60,7	57.24 $\pm$ 4.90

Dari hasil penelitian ini terlihat bahwa ekstraksi pati menghasilkan rendemen sekitar 22 gram pati dari setiap 100 gram ubi jalar segar (22%) dengan persentase pati 57.24%. Hasil penelitian ini menunjukkan angka yang lebih tinggi dari hasil ekstraksi pati oleh McDonell (1908) yang mendapatkan 51.0 kg pati kering dari 380 kg ubi jalar (13.42%) dengan persentase pati 55.57%.

Faktor mutu pati yang juga cukup penting adalah kandungan serat kasar karena akan mempengaruhi proses likuifikasi dan sakarifikasi. Jika kandungan serat terlalu tinggi maka akan menurunkan efisiensi proses hidrolisa sehingga meningkatkan dosis enzim yang diperlukan (Saraswati,1982).

Pada tabel 11 terlihat bahwa hasil analisis proksimat pati ubi jalar memiliki kandungan serat kasar yang relatif rendah yaitu 0.17 % (lebih rendah dari pada yang kadar serat disyaratkan untuk tapioka yang digunakan untuk sirup glukosa komersil yaitu sebesar 0.6 %). Untuk

kadar air, kadar abu dan kadar protein lebih rendah sedangkan kadar pati yang cukup tinggi, sehingga baik untuk dibuat hidrolisat.

### 3. Karakterisasi Hidrolisat Pati Ubi Jalar

Hidrolisis enzimatis memiliki beberapa keuntungan, yaitu lebih spesifik prosesnya dan produk yang dihasilkan sesuai dengan yang diinginkan. Selain itu, kondisi proses yang dapat dikontrol, biaya pemurnian yang lebih murah dan menghasilkan lebih sedikit produk samping serta kerusakan warna yang dapat diminimalkan (Norman, 1981). Gambar 8 menunjukkan hasil hidrolisat ubi jalar yang dibuat secara enzimatis.



Gambar 8. Hidrolisat pati ubi jalar

Hidrolisis pati secara enzimatis terdiri dari dua tahap yaitu tahap likuifikasi dan sakarifikasi. Pada proses likuifikasi terjadi degradasi pati menjadi dextrin dengan enzim  $\alpha$ -amilase, namun oligosakarida masih banyak. Likuifikasi adalah proses pencairan gel pati menggunakan  $\alpha$ -amilase, untuk menghidrolisa pati menjadi molekul yang lebih kecil. Pada tahap ini suhu dinaikkan  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$  agar enzim yang ditambahkan pada pati menjadi lebih aktif. Sakarifikasi adalah proses hidrolisa lebih lanjut atau peragian bubur pati dengan penambahan enzim  $\beta$ -amilase atau glukoamilase. Penambahan glukoamilase akan mengkonversi pati lebih lanjut menjadi sirup glukosa yang mempunyai nilai DE tinggi (Forgaty, 1983). Tabel 12. menunjukkan hasil konsentrasi total gula dari hidrolisat pati, sedangkan tata cara perhitungannya dapat dilihat pada Lampiran 5.

Tabel 12. Total gula hidrolisat ubi jalar

Varietas Ubi Jalar (sampel)	Total Gula (g/l) <sup>x</sup> dari hidrolisat ubi jalar
Var. Sுகು (pengulangan ke-1)	421,89
Var. sுகು (pengulangan ke-2)	481,99
Var. Ubi leuwiliang	275,17

<sup>x</sup> : rata-rata pengenceran 10<sup>4</sup>

Pada tabel 12. terlihat bahwa konsentrasi total gula pada hidrolisat pati ubi jalar Malang varietas Sுகು memiliki kadar relatif lebih tinggi yaitu rata-rata sebesar 451.94±42.5 g/l hidrolisat ubi jalar. Dengan pengaturan konsentrasi gula optimum untuk pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* diharapkan dapat menghasilkan bioetanol yang lebih tinggi. Penelitian berikutnya adalah mencari total gula awal yang optimum untuk menghasilkan bioetanol tertinggi.

## B. PENCARIAN TOTAL GULA AWAL OPTIMUM

Fermentasi etanol terjadi secara anaerob dengan menggunakan khamir tertentu yang dapat mengubah glukosa menjadi etanol melalui *Embden Meyerhof-Parnas Pathway*. Dari 1 molekul glukosa akan terbentuk 2 molekul etanol dan karbondioksida. Berdasarkan bobotnya secara teoritis 1 gram glukosa akan menghasilkan 0,5 gram etanol (Kunkee dan Mardon, 1970).

Paturau (1981) menyebutkan bahwa konsentrasi gula yang digunakan berkisar antara 14 -18 %. Higgins *et al.* (1984) menambahkan bahwa gula yang paling baik untuk proses fermentasi adalah 16-25 % dimana akan dihasilkan etanol sebesar 6-12 %. Konsentrasi gula di atas 25 % akan memperlambat fermentasi, sedangkan di atas 70 % proses fermentasi terhenti. Hal ini disebabkan adanya tekanan osmotik.

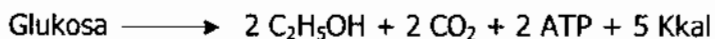
Berdasarkan hal tersebut maka perlu dilakukan penelitian tentang total gula awal yang optimum untuk menghasilkan bioetanol. Hasil penelitian tentang bioetanol yang dihasilkan pada total gula awal 18, 24, 30, dan 36% dapat dilihat pada Tabel 13 berikut.

Tabel 13. Perbandingan kadar etanol yang dihasilkan

No	Total Gula Awal (%)	Hasil etanol % (v/v)
1	18 (18,42)	5,20
2	24 (24,56)	12,3
3	30 (30,70)	11,8
4	36 (36,84)	2,5

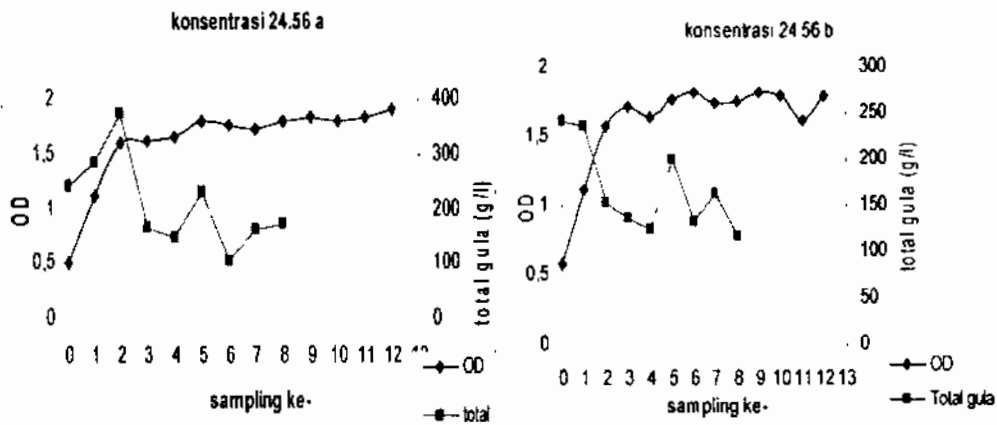
Tabel 13 dengan jelas memperlihatkan bahwa total gula awal yang optimum dari perlakuan yang diberikan adalah 24%. Kadar total gula awal 18% menghasilkan kadar bioetanol cuma 5.20%, sedangkan kadar total gula awal diatas 24% mengakibatkan penurunan kadar bioetanol yang dihasilkan. Kadar total gula awal yang terlalu tinggi (di atas 24%) kelihatannya menimbulkan hambatan susbtrat (*substrate inhibition*) yang berakibat kepada perlambatan pertumbuhan dan pengurangan pembentukan bioetanol karena sel yang dihasilkan lebih sedikit.

Menurut Oura *di dalam* Dellweg (1983), secara sederhana proses fermentasi alkohol dari bahan baku yang mengandung gula (glukosa) terlihat pada reaksi berikut :



Dari reaksi diatas, 70 % energi bebas yang dihasilkan dibebaskan sebagai panas dan secara teoritis 51,5 % karbohidrat diubah menjadi etanol dan 48,9 % menjadi CO<sub>2</sub>.

Gambaran pertumbuhan sel dan konsumsi gula diperlihatkan pada Gambar 9 berikut.



Gambar 9. Pertumbuhan sel dan konsumsi gula pada hidrolisat ubi jalar dengan total gula 24 % (240 g/L)

Gambar 9 juga memperlihatkan bahwa biomassa maksimum tercapai pada awal fase stasioner yang terjadi pada sampling ke- (jam ke-18). Pada jam ke-18 tersebut konsentrasi total gula pada substrat masih relatif tinggi yaitu masih di atas 100 g/L.

### C. REKAYASA BIOPROSES PRODUKSI BIOETANOL

Penelitian berikutnya adalah mencoba melihat pengaruh kecepatan agitasi terhadap produksi bioetanol, dan melakukan rekayasa bioproses untuk mengkonversi total gula yang tertinggal menjadi bioetanol dengan cara merubah kondisi dari aerobik menjadi anaerobik. Perubahan kondisi ini dapat dilakukan salah satunya dengan menghentikan agitasi. Hasil rekayasa bioproses ini dapat dilihat pada Tabel 14 berikut.



Tabel 14. Perbandingan bioetanol pada agitasi 50,100 dan 150 rpm dengan perlakuan agitasi secara penuh dan agitasi yang dihentikan pada jam ke-18

Ulangan 1		Ulangan 2		% etanol $\pm$ SD (v/v)
Agitasi Penuh	% etanol (v/v)	Agitasi Penuh	% etanol (v/v)	
1. 50 rpm	11,21	1. 50 rpm	5,93	8,570 $\pm$ 3,73
2. 100 rpm	11,61	2. 100 rpm	6,31	8,960 $\pm$ 3,75
3.150 rpm	11,72	3.150 rpm	8,80	10,260 $\pm$ 2,06
Agitasi dihentikan pada jam ke-18	% etanol (v/v)	Agitasi dihentikan pada jam ke-18	% etanol (v/v)	% etanol $\pm$ SD (v/v)
1. 50 rpm	11,42	1. 50 rpm	6,46	8,940 $\pm$ 3,51
2. 100 rpm	11,93	2. 100 rpm	9,59	10,760 $\pm$ 1,65
3.150 rpm	12,54	3.150 rpm	11,29	11,915 $\pm$ 0,88

### 1. Pengaruh Kecepatan Agitasi

Tabel 14 memperlihatkan bahwa makin tinggi kecepatan agitasi dari perlakuan yang dicobakan, makin tinggi kadar bioetanol yang dihasilkan dimana kadar bioetanol tertinggi diperoleh sebanyak 10.26% yang tercapai pada kecepatan agitasi 150 rpm. Namun, berdasarkan uji statistik sesungguhnya tidak ada perbedaan nyata rata-rata hasil etanol, antara agitasi 50,100,150 rpm..

### 2. Pengaruh Perubahan Kondisi Aerobik Menjadi Anaerobik

Tabel 14 memperlihatkan bahwa perubahan kondisi dari aerobik menjadi anaerobik mengakibatkan peningkatan kadar bioetanol pada semua tingkat kecepatan agitasi. Peningkatan tertinggi diperoleh pada kecepatan agitasi 100 rpm dimana agitasi penuh sampai akhir fermentasi menghasilkan bioetanol sebesar 8.96 %, sedangkan fermentasi dengan menghentikan agitasi pada jam ke-18 menyebabkan peningkatan kadar bioetanol pada akhir fermentasi menjadi 10.76%.

Berdasarkan perhitungan statistik menggunakan metode analisis ragam klasifikasi dua arah dengan interaksi ( $\alpha = 0,005$ ), terlihat bahwa ada perbedaan nyata rata-rata hasil etanol, antara agitasi secara penuh selama 48 jam dengan agitasi yang dihentikan pada jam ke-18.

### 3. Parameter Kinetika Pertumbuhan Sel dan Pembentukan Produk (Bioetanol)

Perlakuan perubahan kondisi dari aerobik menjadi anaerobik dengan menghentikan agitasi pada saat biomassa mencapai maksimum (jam ke-18) mengakibatkan perubahan fisiologi dan biokimia sel yang berakibat kepada perubahan metabolisme dari respirasi ke fermentasi. Perubahan metabolisme ini akan berakibat kepada perubahan orientasi penggunaan sumberdaya (sumber karbon dan sumber energi) dari berorientasi kepada pembentukan sel ke pembentukan produk (bioetanol). Strategi ini dapat digunakan untuk peningkatan produksi bioetanol sebagai produk yang menjadi perhatian utama.

Tabel 15. Perbandingan yield

	$Y_{x/s}$	$Y_{p/s}$	$Y_{p/x}$
Agitasi Penuh (rpm)			
50	0,00801±0,0005	0,0369±0,0060	4,60±0,099
100	0,00803±0,0001	0,0383±0,0090	4,77±0,017
150	0,00917±0,00067	0,0446±0,0028	4,86±0,031
Stop Agitasi ke-18 (rpm)			
50	0,00534±0,00038	0,0379±0,0013	7,09±0,008
100	0,00564±0,00023	0,0459±0,0001	8,15±0,012
150	0,00571±0,00011	0,0469±0,0002	8,23±0,013

Tabel 15 memperlihatkan bahwa efisiensi pembentukan biomassa sel tidak dipengaruhi secara signifikan oleh perbedaan kecepatan agitasi pada perlakuan yang diberikan, yaitu pada angka sekitar 0.008-0.009 g sel kering/g substrat yang digunakan. Namun perubahan kondisi dari kondisi aerobik (agitasi penuh) ke kondisi anaerobik (tanpa agitasi) menyebabkan penurunan efisiensi pembentukan sel dari sekitar 0.008 g sel kering/g substrat menjadi 0.005 g sel kering/g substrat.

Berbeda halnya dengan efisiensi pembentukan biomassa sel, efisiensi pembentukan produk mengalami peningkatan dengan perubahan kondisi dari aerobik menjadi anaerobik.

Sebagai resultante dari perubahan efisiensi pembentukan biomassa (sel) dan efisiensi pembentukan produk (bioetanol) maka rendemen pembentukan

produk terhadap sel ( $Y_{p/x}$ ) mengalami peningkatan yang signifikan dengan perlakuan perubahan kondisi dari aerobik menjadi anaerobik. Pada kondisi aerobik (agitasi penuh) nilai  $Y_{p/x}$  berkisar dari 4.60-4.86, sedangkan pada kondisi anaerobik (agitasi dihentikan pada jam ke-18), nilai  $Y_{p/x}$  meningkat pada kisaran nilai 7.09-8.23. Hal ini membuktikan hipotesis bahwa perubahan kondisi dari aerobik (respirasi) menjadi anaerobik (fermentasi) menyebabkan pengalihan biokimia sel dari kondisi respirasi yang berorientasi membentuk biomassa (sel) ke kondisi fermentasi yang berorientasi kepada pembentukan produk (bioetanol).

Pada perhitungan yield etanol, perhitungan statistik menggunakan metode analisis ragam klasifikasi dua arah ( $\alpha = 0,005$ ), menunjukkan bahwa ada perbedaan nyata rata-rata hasil Yield ( $Y_{x/s}$ ,  $Y_{p/s}$ ,  $Y_{p/x}$ ), antara agitasi secara penuh 48 jam maupun agitasi yang dihentikan pada jam ke-18. Begitu pula, ada perbedaan nyata rata-rata hasil Yield ( $Y_{x/s}$ ,  $Y_{p/s}$ ,  $Y_{p/x}$ ), dengan agitasi 50, 100, 150 rpm.

Berdasarkan perhitungan statistik pada lampiran 6, pada perhitungan biomassa maupun substrat menggunakan metode analisis ragam klasifikasi dua arah ( $\alpha = 0,005$ ), menunjukkan bahwa ada beda nyata antara rata-rata hasil biomassa terhadap agitasi 50, 100 dan 150 rpm secara penuh maupun agitasi stop pada jam ke-18, pada total waktu fermentasi hingga 48 jam. Selain itu juga ada beda nyata antara rata-rata hasil total gula terhadap agitasi 50, 100 dan 150 rpm secara penuh maupun agitasi stop pada jam ke -8, pada total waktu fermentasi hingga 48 jam.

## V. KESIMPULAN

1. Ekstraksi pati ubi jalar dari ubi jalar Malang varietas Sுகuh menghasilkan 22.54 gram pati kering dari setiap 100 g ubi jalar segar, dengan persentase pati 57.24%.
2. Hidrolisis pati ubi jalar Malang varietas Sுகuh selanjutnya menghasilkan hidrolisat pati ubi jalar dengan kandungan total gula yang relatif tinggi yaitu sebesar  $451.94 \pm 42.5$  g/l hidrolisat pati ubi jalar.
3. Hidrolisat pati ubi jalar dapat digunakan sebagai media fermentasi untuk menghasilkan bioetanol. Fermentasi hidrolisat pati ubi jalar selanjutnya menghasilkan bioetanol tertinggi pada kadar 12.3% (v/v) yang diperoleh dari substrat hidrolisat pati ubi jalar dengan kandungan total gula awal 24%.
4. Rekayasa bioproses terhadap proses fermentasi dengan cara menghentikan agitasi pada saat biomassa mencapai maksimum (jam ke-18) dapat meningkatkan rendemen produk (bioetanol) per sel ( $Y_p/x$ ) dari 4.77 g bioetanol/g sel menjadi 8.15 g bioetanol/g sel, yang berarti peningkatan rendemen bioetanol sebesar 70.86%.

## VI. PERKIRAAN DAMPAK HASIL KEGIATAN

Untuk meningkatkan rendemen bioetanol yang dihasilkan maka rekayasa bioproses lainnya seperti rekayasa aerasi pada bioreactor batch, rekayasa pengumpanan substrat pada bioreactor fed-batch, dan kombinasi rekayasa aerasi dan pengumpanan pada bioreactor fed batch masih perlu untuk dilakukan.

Hasil rekayasa bioproses terbaik yang menghasilkan produktifitas dan efisiensi tertinggi (kadar bioetanol tertinggi dengan pemakaian substrat yang efisien) perlu di-gandaskala-kan (*upscaling*) ke skala pilot plant. Setelah itu, suatu studi kelayakan perlu dilakukan untuk melihat kelayakan aspek teknis teknologis, ekonomi dan finansial, manajemen, serta aspek sosial dan lingkungan.

Hasil-hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan sumbangan pemikiran dalam pengembangan teknologi produksi bioethanol sebagai sumber energi alternative sehingga dapat kompetitif dengan bahan bakar minyak bumi. Lebih jauh lagi, penggunaan hidrolisat pati ubi jalar diharapkan dapat memacu dan memicu perkembangan pertanian ubi jalar yang bernilai tambah, pemanfaatan lahan tidur berupa lahan marginal dan padang alang-alang, sehingga dapat meningkatkan kemakmuran rakyat umumnya dan petani khususnya, terutama di desa-desa tertinggal di kawasan timur Indonesia.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 1981. *Use of Termamyl for Starch Liquefaction*. Novo Industri A/S, Denmark.
- AOC .1980. Official Methods of Analysis of The Association of Official of Analytical Chemist, Washington.
- AOC .1982. Official Methods of Analysis of The Association of Official of Analytical Chemist, Washington.
- Berghmans. 1980. *Starch Hydrolysate : Improved Sweeteners Obtained by The Used of Enzymes*. Novo Industry, Denmark.
- Baverman, J.B.S 1963. *Introduction to Biochemistry of Foods*. Elsevier Publ Co. Inc., New York, USA.
- Bouwkamp, J.C.1987. (eds). *Sweet Potato Products : A Natural Resource for The Tropics*. CRC. Press Inc., Boca Raton.
- Budyanto, A, P. Martosuyono, N. Richana. 2006. *Optimasi Proses Produksi Tepung Gula Kasava dari Pati Ubi Kayu Skala Laboratorium*. Buletin Balai Besar Pasca Panen. Bogor.
- BPS. 1996. Statistik Indonesia. Biro Pusat Statistik, Jakarta.
- BPS. 2005. Statistik Indonesia. Biro Pusat Statistik, Jakarta.
- BPPT. 2006. *Ubi Jalar Nasional*. Balai Besar Teknologi Pati. Jakarta.
- Brautlecht, C. A .1953. *Starch its Sources, Production, and Uses*. Book Div. Reinhold Publ. Corp., New York, USA.
- Chon, H. A. 1978. Penuntun Praktikum khusus Departemen Perindustrian Pusat Pendidikan dan Latihan SAKMA, Bogor.
- Collins, W.W. dan W.M. Walter. 1985. Fresh Roots for Human Consumption. Di dalam Bouwkamp, J.C. (eds). *Sweet Potato Products : A Natural Resource for The Tropics*. CRC. Press Inc., Boca Raton.
- Deptan. 2005. *Perbandingan Karakteristik Tanaman Umbi-umbian*. Departemen Pertanian. Jakarta
- Depkes. 1981. *Kandungan Unsur Gizi Ubi Jalar*. Departemen Kesehatan. Jakarta.
- Dubois M,K. A, Gilles, J.K Hamilton, D.A Rebers, F. Smith. 1956. *Colorimetric Methode for Determination of Sugar and Related Substances*. Analitical Chemist 28 : 350 – 356.

- Edmond, J.B. 1971. Production for Industrial Use and Feed. In J. B. Edmond and G. R. Ammerman, *Sweet Potatoes ; Production, Processing, and Marketing*. The Avi Publ. Co. Inc., Westport, Conn., USA.
- Fennema, O.R. 1976. *Principles Of Food Science*. Food Chemistry part I. Departemen of Food Science, University of Winconsin-Madison. Marcell Dekker Inc., New York.
- Forgaty. 1983. *Microbial Enzymes and Biotechnology*. Appl. Sci. Publ., London
- Frazier dan Westhoff. 1978. *Food Microbiology (ed)* 4th. McGraw- Hill Book Publ. Co. Ltd., New York.
- Hamed, M.G.E., M.F. Hussein, F.Y.Refai & S. K. El Samahy. 1976. *Preparation and Chemical of Sweet Potato Flour*. Cereal Chem. Vol. 50 (2).
- Hartz, H dan R. D. Schmertz. 1972. *Organic Chemistry : A Short Course*. Michigan University, Michigan.
- Haris, H. 1999. Tesis: Kajian teknik Formulasi terhadap Karakteristik Edible Film dari Pati Ubi Kayu, Aren, dan Sagu untuk Pengemas Produk Pangan Semi Basah. Program Studi Ilmu Pangan, Program Pasca Sarjana, IPB, Bogor.
- Hikmat. 1997. Pendugaan Umur Simpan Bumbu Mie Instant dalam Kemasan Edible Film dari Pati Sagu dengan Metode Akselerasi. Skripsi. Bogor: IPB, Bogor.
- Harrison, J. S. dan J. C. J. Graham. 1970. *Yeast in Distillery Practice*. Academic Press, London
- Irma, A.D. 1997. Aplikasi Edible Film sebagai Bahan Pengemas dengan Menentukan Umur Simpan Bumbu Mie instant Menggunakan Metode Akselerasi. Skripsi. Bogor: Institut Pertanian Bogor, FATETA.
- Johnson, L.A. 1991. Corn : Production, processing, amd Utilisation. Di dalam K.J Lorentz and K.Kulp (ed). Handbook of Cereal Science and Technology. Marcell Dekker, Inc., NewYork.
- Joslyn, M.A & J.B.S. Braverman. 1954. *The Chemistry and Technology of Pretreatment of Fruit and Vegetable Products with Sulfur Dioxide and Sulfites*, eds. Advance in Food Research, vol. V. Academic Press, Inc./ New York, USA.
- Kadarisman, D. 1985. Pengaruh Penambahan Kapur, Jumlah Air Ekstraksi dan Lama Pengendapan terhadap Rendemen dan Mutu Tepung Pati Ubi Jalar. Tesis Pascasarjana IPB.

- Kay, 1983. *TPI Crop and Product Digest No.2 Roots Crops*. The Tropical Products Institute.
- Kennedy. 1995. *The Enzymatic of Starch*. Butter Worth, London.
- Kompas.1999. Ubi Jalar Tembus Pasar Jepang. Kompas, Edisi 26 Februari 1999, Jakarta.
- Kunkee, K.D. dan C. J. Mardon. 1970. *Yeast in Wine Making*. Academic Press, London.
- Kumalasari. 2005. Pembuatan dan Karakterisasi Edible Film dari Pati Bonggol Pisang dengan Penambahan Plasticizer Gliserol dan Propilen Glikol. Skripsi Fateta IPB. Bogor.
- Lachke, A. 2002. *Biofeul From D-Xylose- the Second Most Abundant Sugar*. Biochemical Sciences of National Chemical Laboratory, India.
- Lembaga Pusat Penelitian Pertanian. 1980. Informasi khusus Ubi Kayu. Departemen Pertanian RI, Bogor.
- Maiden, A.M. 1970. Food and Fermentation Application of Starch Hydrolysates. Di dalam Birch., L.F. Green dan G.B. Voulson (eds.). *Glucose Syrups and Related Carbohydrates*. Elsevier Publ. Co. Ltd., London.
- Meyer. 1978. *Food Chemistry*. Reinhold Publ.Corp., New York.
- McDonell, C. 1908. Di dalam : J. A. Radley. 1976. *Starch Production Technology*. Applied Science Publishers Ltd, London.
- McGhee. 1982. *Fermentation Process*. Volume 2. Academic Press, New York.
- Mukhis. 2003. *Karakteristik Pati dan Biokonversi beberapa Varietas Ubi Jalar dalam Pembuatan Sirup Fruktosa*. Jurusan Ilmu Pangan, Fakultas Pasca Sarjana IPB, Bogor.
- Munadjim. 1983. *Teknologi Pengolahan Pisang*. Pt Gramedia. Jakarta.
- Muljono, J. E. G. Sa'id., A. A Darwis. 1992. *Teknologi Fermentasi*. Penerbit Rajawali Press, Jakarta.
- Muljono. J., E. G. Sa'id., L. Hartoto. 1989. *Biokonversi*. Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB, Bogor.
- National Institute of Resources. 1980. *Science and Technology Agency*. Tokyo. Japan.
- Nonnecke, I. L. 1989. *Vegetable Production*. AVI book. New York.



- Norman, B.E. 1981. New Developments in Starch Syrup Technology. Di dalam G.G Birch., N. Blakebrough dan K.J Parker (eds.). *Enzymes and Food Processing*. Applied Science Publ. Ltd., London.
- Oura, E. 1983. Reaction Products of Yeast fermentations. Di dalam H. Dellweg (ed). *Biotechnology Vol III*. Academic Presss, New York.
- Paturau, J.M. 1981. *By Product of the Cane Sugar Industry : An Introduction to their Industrial Utilization*. Elsevier Scientific Publ.Co., Amsterdam.
- Prescott, S.C dan Dunn. 1981. *Industrial Micrology*. Mc. Graw Hill Book Co. Ltd., New York.
- Priyanto, Gatot. 1988. *Teknik Pengawetan Pangan*. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Proyek Peningkatan dan Pengembangan Perguruan tinggi UGM, Jogjakarta.
- Pomeranz. 1991. *The General Science of Food Products*. Interscience Publ., New York.
- Potter, N.N . 1968. *Food Science*. A V I Publ. Co., Inc. Conn, USA.
- Radley, J. A. 1976. *Starch Production Technology*. Applied Science Publishers Ltd, London.
- Ridal. 2003. *Prospek Kegunaan Umbi Minor sebagai Sumber Pangan dan Pakan*. Balai Penelitian Pangan. Sukamandi.
- Potter, N.N . 1968. *Food Science*. A V I Publ. Co., Inc. Conn, USA.
- Rahman, A. 1992. *Teknologi fermentasi*. Penerbit Arcan, Jakarta.
- Rector. 1955. *Scientific Preservation of Food*. Champman and Hall, Ltd., London.
- Rinaldy, W. 1987. Pemanfaatan Onggok Singkong (*Manihot esculanta Crantz*) sebagai Bahan Pembuatan Etanol. Skripsi . Fateta IPB. Bogor.
- Septianti. 2003. *HFS dan Industri Umbi*. Gramedia, jakarta.
- Setyawati.1981. Pengaruh Jenis Umbi, Konsentrasi  $\text{Ca(OH)}_2$  dalam Air Pengekstrak dan Cara Pengeringan terhadap Mutu Tepung Pati Ubi Jalar (*Ipomoea Batatas L.*). Skripsi Fateta IPB.
- Suprpti. 2003. *Tepung Ubi Jalar – Pembuatan dan Pemanfaatannya*. Kanisius. Jakarta.
- Sjamsuriputra, Achmad Ali., Sutanto., Pudji Harini. 1986. Laporan Penelitian. ITB, Bandung.
- SII-0418-81.1981. Syarat Mutu Sirup Glukosa.

- Subarna. 1984. Mempelajari pengaruh dosis enzim alpha-amilase dan glukamilase serta waktu sakarifikasi terhadap mutu dan rendemen sirup glukosa dari pati sagu. Skripsi. Fateta-IPB. Bogor.
- Suismono. 1995. Kajian Teknologi Pembuatan Tepung Ubi Jalar (*Ipomoea Batatas L.*) dan Manfaatnya untuk Produk Ekstruksi Mie Basah. Tesis Pascasarjana IPB, Bogor.
- Sunarti et. al., 2002. *Pengetahuan Bahan Baku Industri Pertanian*. Mediyatama Sarana Perkasa, Jakarta.
- Sunarti, T. C., T. Nunome, N. Yoshio dan M. Hisamatsu. 2001. *Study in Outer Chains from Amylopectin between Immobilized and Free Debranching Enzymes*. J. Appl. Glycosci. 48 (1) : 1-10.
- Susanto.1998. *Peran Ganda Ubi Jalar*. Kompas, Edisi 15 Maret 1998, Jakarta.
- Stoddard, F. I., 1999. Survey of Starch Particle Size Distribution in Wheat and Related Species. J. Cereal Chem., 76 (1) : 145-149.
- Tjokroadikoesoemo, P. S. 1986. *HFS dan Industri Kayu lainnya*. Gramedia. Jakarta.
- The Institute Of Energy Economics. 1980. *The Alcohols Feuls from Energy Farming. chap 2. Tokyo*. Japan.
- Trubus. 1997<sup>a</sup>. International Potato Centre : *Memikirkan Masa Depan Kentang dan Ubi Jalar*. Trubus 332 Th. XXVII, Edisi Juli 1997.
- Trubus. 1997. *Klon Ubi Jalar Terbaik untuk Industri*. Trubus 332 Th. XXVIII, Edisi Juli 1997.
- Von Loesecke, C. W. 1955. *Drying and Dehydration of Foods*. Edisi ke-2 Reinhold Publ., Publ Co., New York, USA.
- Wall, J.S dan C. W. Blessin.1970. *Composition of Sorgum Plant dan Grain*. Di dalam Wall, J.S. dan J.S dan W.M Ross (eds.) *Sorgum Production and utilisation*. The AVI Publishing Company Inc., London.
- Wang, N. S. 2002. Starch Hydrolisis by Amylase. [www.glue.umd.edu](http://www.glue.umd.edu). Tertanggal 9 November 2002.
- Whitaker, J.R. 1972. *Principles of Enzymology for The Food Science*. Marcel Dekker Inc., New York.
- Winarno, F.G. 1981. *Penanganan Singkong dan Ubi Jalar*. Trubus 351 Th. XXX, Edisi Februari 1999.

Winarno, F.G. 1997. *Kimia Pangan dan Gizi*. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.

[www.ristek.go.id](http://www.ristek.go.id).

[www.http://cdc.eng.ui.ac.id/article/articleview/3431/1/2/](http://cdc.eng.ui.ac.id/article/articleview/3431/1/2/)).

# LAMPIRAN

## Lampiran 1. Analisa Proksimat ubi dan ubi jalar pati

Analisa Proksimat ubi dan ubi jalar pati yang dilakukan pada penelitian ini diantaranya :

### 1. Kadar air (AOAC 1980)

Cawan aluminium dipanaskan pada suhu 105 °C, kemudian didihkan pada desikator dan ditimbang beratnya. Sekitar 2 gram contoh ditimbang dan dimasukkan dalam cawan aluminium dan dipanaskan dalam desikator 105 °C selama 1 jam. Secepatnya dimasukkan ke dalam desikator dan ditimbang setelah suhu kamar. Pemanasan diulang hingga berat yang diperoleh tetap. Sisa contoh dihitung sebagai total padatan dan berat yang hilang sebagai air.

$$\text{Kadar Air} = \frac{\text{Bobot contoh awal} - \text{Bobot setelah dioven}}{\text{Bobot contoh}} \times 100 \%$$

### 2. Rendemen Proses

Perhitungan rendemen proses untuk masing-masing tipe produk bertujuan untuk mengetahui tingkat efisiensi dari produk tersebut. Rumusnya sebagai berikut :

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Bobot produk}}{\text{Bobot bahan baku}} \times 100 \%$$

### 3. Kadar Pati ( Metode Luff Scroll) ( AOAC, 1995).

Kadar pati dihitung dengan rumus :

$$\text{Kadar pati (\%)} = \frac{a \times 0.9 \times p}{\text{mg contoh}} \times 100 \%$$

Keterangan:

a : jumlah mg glukosa, fruktosa dan gula invert (  $C_6H_{12}O_6$  )

p : faktor pengenceran

Jumlah gula invert ( $C_6H_{12}O_6$ ) ditentukan berdasarkan selisih titrasi larutan tiosulfat antara blanko dan contoh menurut tabel Luff Scroll.

### 4. Penetapan Total Gula ( Metode Dubois et. al.,1956)

Sebelum melakukan pengujian sampel maka diketahui kurva standar fenol yang digunakan. Pembuatan kurva standar fenol adalah sebagai berikut :

2 ml larutan glukosa standar yang mengandung 0,10, 20,30,40, dan 60 mg glukosa masing-masing dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan 1 ml larutan fenol 5 % dan dikocok. Kemudian 5 ml asam sulfat pekat ditambahkan dengan cepat dan biarkan 10 menit, kocok lalu tempatkan dalam penangas air selama 15 menit, absorbansi diukur pada 490 nm.

Pengujian sampel sama dengan pembuatan kurva standar fenol hanya 2 ml larutan glukosa diganti dengan 2 ml sampel.

## Lampiran 2. Analisa Produk

Analisa yang dilakukan pada penelitian ini adalah :

### 1. Total Biomassa

Pengukuran biomassa dilakukan dengan penyaringan menggunakan kertas saring berpori kecil (Whatman No.42) Biomasa kemudian dikeringkan menggunakan oven dan ditimbang bobot konstananya.

Total Biomassa = (bobot kertas dan bahan – bobot kontrol) g/l

### 2. Kadar Etanol

Menggunakan *Gas Chromatography* (GC).

### 4. Rendemen Etanol

Rendemen etanol (%b/b) didapat dengan rumus :

$$\text{Rendemen etanol} = \frac{\text{kadar etanol} \times \text{vol. Filtrat (ml)} \times 0.789 \times 100\%}{\text{Berat bahan baku kering}}$$

Pada tahap ini dilakukan penentuan keterkaitan konsumsi substrat baik terhadap pembentukan produk maupun biomassa pada masing-masing substrat yield terhadap produk ( $Y_p/s$ ), dan yield biomassa ( $Y_x/s$ ) juga dilakukan efisiensi pemanfaatan substrat ( $ds/s$ ), perbandingan  $(S - S_0)/ S_0$  dan kecepatan reaksi ( $\mu$ ).

### 5. Ph

Menggunakan pH meter, dimana sample diukur satu per satu kadar pH-nya.

### Lampiran 3 . Hasil analisa proksimat ubi jalar

#### A. Kadar Air

Kode	Berat cawan kosong (g)	Berat sample (g)	Berat setelah dioven (g)	Kadar air (%)
1.a	2.6281	3.8847	4.0265	35.99
2.a	2.5715	3.6338	3.9687	38.45
3.a	3.3589	4.5675	5.0933	37.97
1.b	3.3596	3.0152	4.5103	38.16
2.b	2.5716	3.1614	3.7626	37.67
3.b	2.6272	3.0162	3.7193	36.21
Rata-rata				37.41

$$\text{Kadar Air} = \frac{\text{Bobot contoh awal} - \text{Bobot setelah dioven}}{\text{Bobot contoh}} \times 100 \%$$

#### B. Kadar Abu

Kode	Berat cawan (g)	Sampel (g)	Setelah ditanur (g)	Kadar abu (%)
1.	23.7375	3.5013	23.7788	0.15
2.	19.5809	3.5428	19.6099	0.13
3.	23.6723	3.1770	23.6927	0.08
Rata-rata				0.12

$$\text{Kadar Abu (\%)} = \frac{\text{Bobot abu (g)}}{\text{Bobot contoh (g)}} \times 100$$

#### C. Kadar Protein

Kode	Berat sampel (g)	Blanko (ml)	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0.02 N (ml)	Kadar protein (%)
1.	0.5125	0.30	3.05	0.94
2.	0.5380		3.30	0.98
3.	0.5343		3.00	0.88
Rata-rata				0.93

$$\text{Kadar protein (\%)} = \frac{(a-b) \times N \times 0.014 \times 6.25 \times 100}{W} \%$$

Keterangan :

a = ml NaOH untuk titrasi blanko ; b = ml NaOH untuk titrasi contoh

N = normalitas NaOH ; W = bobot contoh (g)



## D. Serat Kasar Kasar

Kode	Berat kertas kosong (g)	Berat sampel (g)	Setelah dioven (g)	Kadar Serat (%)
1.	0.7801	1.3903	0.8361	4.03
2.	0.8319	1.2507	0.8847	4.22
3.	0.9246	1.5832	0.9661	2.62
Rata-rata				3.62

$$\text{Kadar serat kasar (\%)} = \frac{a - b}{c} \times 100 \%$$

Keterangan :

a = bobot residu serat dalam kertas saring (g)

b = bobot kertas saring kering (g)

c = bobot bahan awal (g)

## E. Kadar Pati

Kode	Berat sampel (g)	tiosulfat (ml)	Blanko (ml)	Sampel (ml)	Pengenceran	Kadar pati (%)
1	2.0924	17.4	24.50	10	25 x	19.82
2	2.0712	16.3		10	25 x	23.30
3	2.1204	15.7		10	25 x	24.51
Rata-rata						22.54

$$\text{Kadar pati (\%)} = \frac{a \times 0.9 \times p}{\text{mg contoh}} \times 100 \%$$

Keterangan:

a : jumlah mg glukosa, fruktosa dan gula invert ( $C_6H_{12}O_6$ )

p : faktor pengenceran

Jumlah gula invert ( $C_6H_{12}O_6$ ) ditentukan berdasarkan selisih titrasi larutan tiosulfat antara blanko dan contoh menurut tabel Luff Scroll.

## Lampiran 4. Data Penelitian

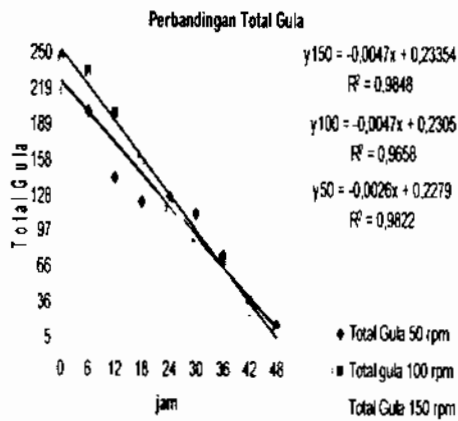
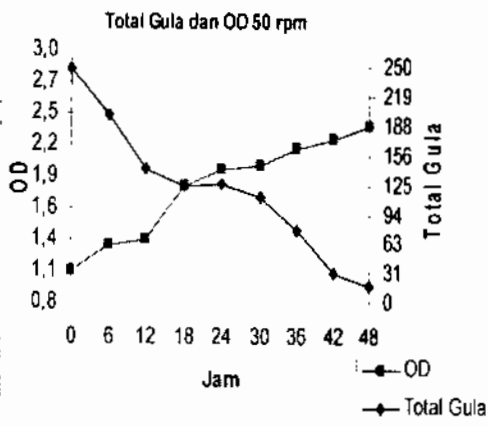
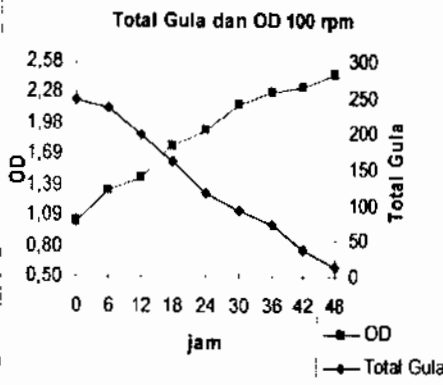
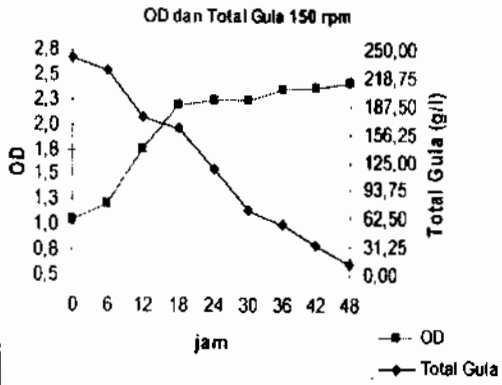
## Rata-Rata Agitasi Penuh

<b>Agitasi 50 rpm</b>				
Waktu (jam)	OD	Biomassa (g/l)	pH	Total gula (g/l)
0	1,076±0,114	0,78±0,20	4,6±0,1	249±9
6	1,308±0,194	1,18±0,23	4,5±0,0	200±15
12	1,342±0,134	1,36±0,41	4,3±0,1	143±14
18	1,613±0,226	1,56±0,48	4,2±0,1	124±15
24	1,861±0,243	1,67±0,51	4,1±0,1	127±24
30	2,001±0,196	1,79±0,38	3,0±0,1	113±14
36	2,146±0,205	1,97±0,40	3,8±0,1	77±17
42	2,222±0,556	1,91±0,32	3,7±0,1	50±11
48	2,341±0,236	2,64±0,26	3,6±0,1	17±4

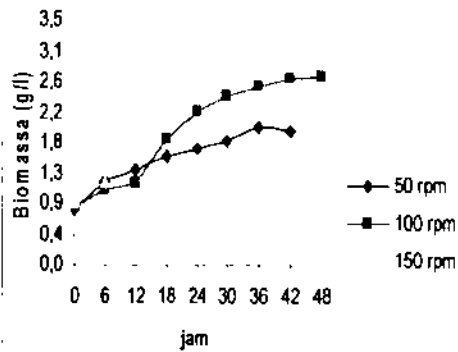
<b>Agitasi 100 rpm</b>				
Waktu (jam)	OD	Biomassa (g/l)	pH	Total Gula (g/l)
0	1,042±0,032	0,83±0,13	4,7±0,1	247±13
6	1,333±0,030	1,06±0,17	4,6±0,1	235±19
12	1,458±0,135	1,15±0,15	4,4±0,1	199±25
18	1,775±0,105	1,81±0,45	4,3±0,1	160±32
24	1,914±0,037	2,20±0,46	4,2±0,1	118±47
30	2,170±0,139	2,42±0,58	4,0±0,1	93±17
36	2,285±0,528	2,56±0,47	3,8±0,1	73±18
42	2,334±0,067	2,68±0,67	3,6±0,1	37±7
48	2,328±0,113	2,71±0,61	3,5±0,1	13±2

<b>Agitasi 150 rpm</b>				
Waktu (jam)	OD	Biomassa (g/l)	pH	Total Gula (g/l)
0	1,048±0,039	0,89±0,13	4,6±0,0	242±28
6	1,212±0,079	1,19±0,16	4,5±0,1	228±11
12	2,056±0,045	1,65±0,28	4,3±0,1	175±18
18	2,197±0,113	2,47±0,47	4,1±0,1	162±35
24	2,239±0,117	2,71±0,48	4,0±0,1	117±41
30	2,240±0,041	2,87±0,30	3,8±0,1	72±23
36	2,356±0,034	2,93±0,11	3,6±0,1	56±17
42	2,365±0,014	3,12±0,13	3,4±0,1	33±16
48	2,412±0,049	3,00±0,26	3,2±0,1	12±2

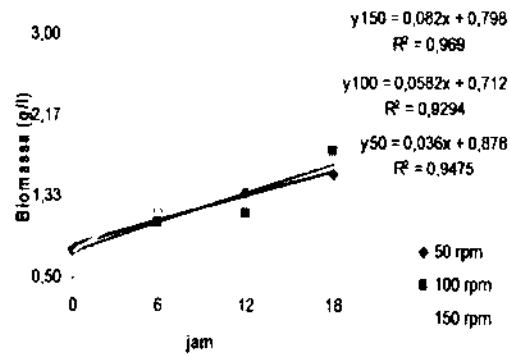
**Grafik Perbandingan Total Gula, OD, dan Biomassa Agitasi Penuh**



Biomassa pada Agitasi Penuh



Laju Pertumbuhan Spesifik pada Agitasi Penuh



## Yield X/S pada AGITASI PENUH

## Agitasi 50 rpm

Waktu (jam)	X (Biomassa) (g/l)	X - X <sub>0</sub>	S (Total Gula Sisa) (g/l)	S <sub>0</sub> - S
0	0,78±0,20	0,00	249±9	0
6	1,18±0,23	0,40	200±15	49
12	1,36±0,41	0,58	143±14	106
18	1,56±0,48	0,78	124±15	125
24	1,67±0,51	0,89	127±24	122
30	1,79±0,38	1,01	113±14	136
36	1,97±0,40	1,19	77±17	172
42	1,91±0,32	1,13	50±11	199
48	2,64±0,26	1,86	17±4	232

## Agitasi 100 rpm

Waktu (jam)	X (Biomassa) (g/l)	X - X <sub>0</sub>	S (Total Gula Sisa) (g/l)	S <sub>0</sub> - S
0	0,83±0,13	0,00	247±13	0
6	1,06±0,17	0,23	235±19	12
12	1,15±0,15	0,32	199±25	48
18	1,81±0,45	0,98	160±32	87
24	2,20±0,46	1,37	118±47	129
30	2,42±0,58	1,59	93±17	154
36	2,56±0,47	1,73	73±18	174
42	2,68±0,67	1,85	37±7	210
48	2,71±0,61	1,88	13±2	234

**Agitasi 150 rpm**

Waktu (jam)	X (Biomassa) (g/l)	X - X <sub>0</sub>	S (Total Gula Sisa) (g/l)	S <sub>0</sub> - S
0	0,89±0,13	0,00	242±28	0
6	1,19±0,16	0,30	228±11	14
12	1,65±0,28	0,76	175±18	67
18	2,47±0,47	1,58	162±35	80
24	2,71±0,48	1,82	117±41	125
30	2,87±0,30	1,98	72±23	170
36	2,93±0,11	2,04	56±17	186
42	3,12±0,13	2,23	33±16	209
48	3,00±0,26	2,11	12±2	230

**Rata-Rata Agitasi Stop jam ke 18****Agitasi 50 rpm**

Waktu (jam)	OD	Biomassa (g/l)	pH	Total gula (g/l)
0	1,022±0,105	1,91±0,10	4,8±0,1	251±9
6	1,482±0,121	2,17±0,22	4,6±0,0	220±11
12	1,542±0,124	2,33±0,21	4,3±0,1	163±14
18	1,640±0,221	2,78±0,48	4,2±0,1	138±12
24	1,691±0,242	2,77±0,34	4,1±0,1	120±22
30	1,754±0,195	2,82±0,19	4,1±0,1	101±15
36	1,743±0,212	2,88±0,29	4,0±0,1	58±20
42	1,759±0,328	3,01±0,23	3,9±0,1	37±12
48	1,773±0,254	3,17±0,21	3,8±0,1	15±3

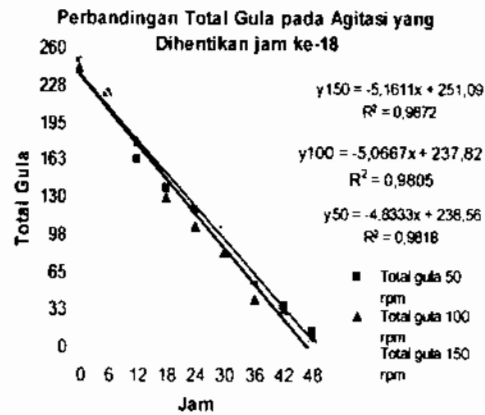
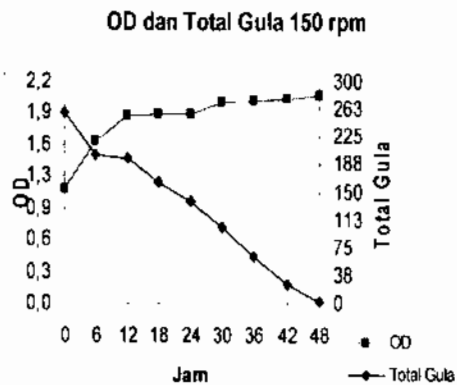
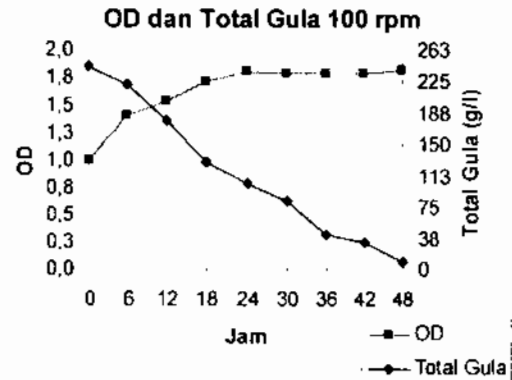
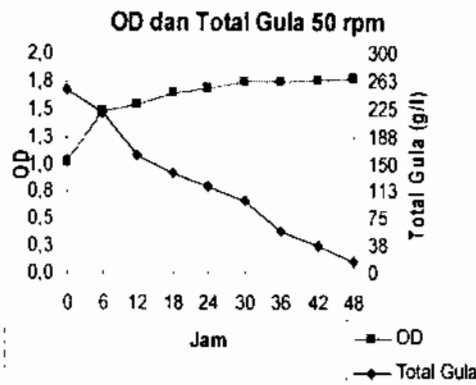
**Agitasi 100 rpm**

Waktu (jam)	OD	Biomassa (g/l)	pH	Total gula (g/l)
0	0,994±0,022	1,90±0,13	4,8±0,1	243±12
6	1,412±0,028	2,21±0,13	4,6±0,1	222±15
12	1,537±0,131	2,45±0,11	4,4±0,1	179±23
18	1,715±0,094	2,81±0,35	4,2±0,1	130±30
24	1,813±0,029	2,89±0,26	4,0±0,1	105±32
30	1,793±0,108	2,92±0,33	3,9±0,1	83±16
36	1,790±0,312	3,07±0,42	3,8±0,1	42±12
42	1,801±0,057	3,18±0,89	3,6±0,1	33±5
48	1,826±0,088	3,22±0,41	3,6±0,1	9±3

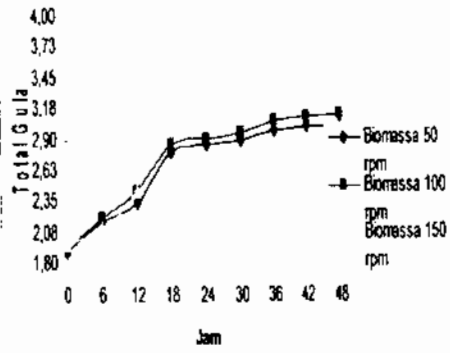
### Agitasi 150 rpm

Waktu (jam)	OD	Biomassa (g/l)	pH	Total Gula (g/l)
0	1,126±0,023	1,97±0,26	4,8±0,0	257±15
6	1,592±0,018	2,13±0,11	4,7±0,1	208±27
12	1,845±0,035	2,45±0,31	4,3±0,1	195±39
18	1,861±0,122	2,89±0,32	4,0±0,1	162±30
24	1,872±0,111	3,09±0,25	3,9±0,1	137±36
30	1,976±0,053	3,11±0,27	3,6±0,1	103±27
36	2,008±0,056	3,22±0,17	3,5±0,1	63±11
42	2,011±0,024	3,39±0,29	3,4±0,1	26±5
48	2,050±0,053	3,48±0,35	3,4±0,1	3±1

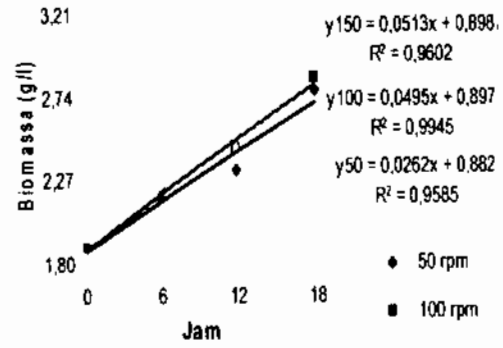
**Grafik Perbandingan Total Gula, OD, dan Biomassa Agitasi Stop jam ke-18**



Biomassa pada Agitasi yang dihentikan jam ke-18



Laju Pertumbuhan Spesifik pada Agitasi yang dihentikan jam ke-18



### YIELD AGITASI STOP PADA JAM KE-18

#### Agitasi 50 rpm

Waktu (jam)	X (Biomassa) (g/l)	X - X0	S (Total Gula Sisa) (g/l)	S0 - S
0	1,91±0,10	0,00	251±9	0
6	2,17±0,22	0,26	220±11	31
12	2,33±0,21	0,42	163±14	88
18	2,78±0,48	0,87	138±12	113
24	2,77±0,34	0,86	120±22	121
30	2,82±0,19	0,91	101±15	150
36	2,88±0,29	0,97	58±20	193
42	3,01±0,23	1,10	37±12	214
48	3,17±0,21	1,26	15±3	236

#### Agitasi 100 rpm

Waktu (jam)	X (Biomassa) (g/l)	X - X0	S (Total Gula Sisa) (g/l)	S0 - S
0	1,90±0,13	0,00	243±12	0
6	2,21±0,13	0,31	222±15	21
12	2,45±0,11	0,55	179±23	64
18	2,81±0,35	0,91	130±30	113
24	2,89±0,26	0,99	105±32	138
30	2,92±0,33	1,02	83±16	160
36	3,07±0,42	1,17	42±12	201
42	3,18±0,89	1,28	33±5	210
48	3,22±0,41	1,32	9±3	234

#### Agitasi 150 rpm

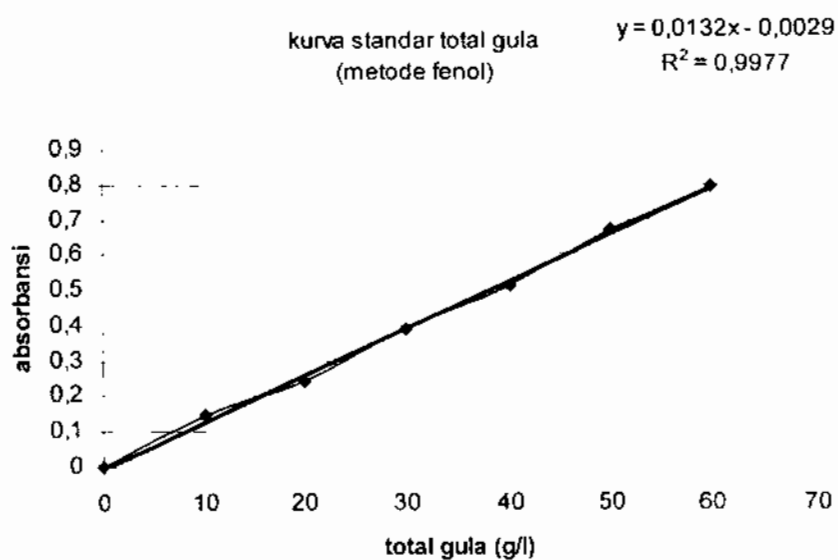
Waktu (jam)	X (Biomassa) (g/l)	X - X0	S (Total Gula Sisa) (g/l)	S0 - S
0	1,97±0,26	0,00	257±15	0
6	2,13±0,11	0,16	208±27	49
12	2,45±0,31	0,48	195±39	62
18	2,89±0,32	0,92	162±30	95
24	3,09±0,25	1,12	137±36	120
30	3,11±0,27	1,14	103±27	154
36	3,22±0,17	1,25	63±11	194
42	3,39±0,29	1,42	26±5	231
48	3,42±0,35	1,45	3±1	254



## Lampiran 5. Standar Total Gula

kurva standar total gula

kandungan glukosa	nilai absorbansi	nilai kurva
0	0,088	0,088
10	0,235	0,235
20	0,328	0,328
30	0,478	0,478
40	0,599	0,599
50	0,757	0,757
60	0,881	0,881



## Lampiran 6. Perhitungan Statistik

Menggunakan Metode Analisis Ragam Klasifikasi Dua Arah ( $\alpha = 0,005$ )

### 1. Agitasi Penuh

#### a. Biomassa

Sumber Keragaman	Jumlah Kuadrat (JK)	Derajat Bebas (db)	Kuadrat Tengah (KT)	f Hitung	f Tabel
Nilai tengah baris	11,42	8	1,4275	20,99	2,59
Nilai tengah kolom	1,92	2	0,96	14,12	3,59
Galat	1,0851	16	0,068		
Total	14,4251	26			

#### b. Substrat

Sumber Keragaman	Jumlah Kuadrat (JK)	Derajat Bebas (db)	Kuadrat Tengah (KT)	f Hitung	f Tabel
Nilai tengah baris	151323,34	8	18915,42	201,94	2,59
Nilai tengah kolom	4340	2	2170	23,17	3,59
Galat	187,33	16	93,67		
Total	155850,67	26			

**Lampiran 6. Perhitungan Statistik**Menggunakan Metode Analisis Ragam Klasifikasi Dua Arah ( $\alpha = 0,005$ )

## 1. Agitasi Penuh

## a. Biomassa

Sumber Keragaman	Jumlah Kuadrat (JK)	Derajat Bebas (db)	Kuadrat Tengah (KT)	f Hitung	f Tabel
Nilai tengah baris	11,42	8	1,4275	20,99	2,59
Nilai tengah kolom	1,92	2	0,96	14,12	3,59
Galat	1,0851	16	0,068		
Total	14,4251	26			

## b. Substrat

Sumber Keragaman	Jumlah Kuadrat (JK)	Derajat Bebas (db)	Kuadrat Tengah (KT)	f Hitung	f Tabel
Nilai tengah baris	151323,34	8	18915,42	201,94	2,59
Nilai tengah kolom	4340	2	2170	23,17	3,59
Galat	187,33	16	93,67		
Total	155850,67	26			

## 2. Agitasi yang dihentikan pada jam ke-18

## a. Biomassa

Sumber Keragaman	Jumlah Kuadrat (JK)	Derajat Bebas (db)	Kuadrat Tengah (KT)	f Hitung	f Tabel
Nilai tengah baris	5,38	8	0,6725	134,5	2,59
Nilai tengah kolom	0,22	2	0,11	22	3,63
Galat	0,08	16	0,005		
Total	5,68	26			

## b. Substrat

Sumber Keragaman	Jumlah Kuadrat (JK)	Derajat Bebas (db)	Kuadrat Tengah (KT)	f Hitung	f Tabel
Nilai tengah baris	165832	8	20729	185,15	2,59
Nilai tengah kolom	871,04	2	435,52	3,89	3,63
Galat	1791,33	16	111,96		
Total	168494,37	26			

## Keterangan :

1. Ada beda nyata antara rata-rata hasil biomassa terhadap agitasi 50, 100 dan 150 rpm secara penuh maupun agitasi stop pada jam ke-18, pada total waktu fermentasi hingga 48 jam.
2. Ada beda nyata antara rata-rata hasil total gula terhadap agitasi 50, 100 dan 150 rpm secara penuh maupun agitasi stop pada jam ke -8, pada total waktu fermentasi hingga 48 jam.

3. Etanol (Metode Analisis Ragam Klasifikasi Dua Arah dengan Interaksi  
( $\alpha = 0,005$ )

Sumber Keragaman	Jumlah Kuadrat (JK)	Derajat Bebas (db)	Kuadrat Tengah (KT)	f Hitung	f Tabel
Nilai tengah baris	19,67	1	19,67	9,29	5,99
Nilai tengah kolom	10,82	2	5,41	2,55	5,14
Interaksi	21,93	2	10,97	5,17	4,76
Galat	12,73	6	2,12		
Total	65,15	11			

Kesimpulan :

- Ada perbedaan nyata rata-rata hasil etanol, antara agitasi secara penuh 48 jam dengan agitasi yang dihentikan pada jam ke-18 (nilai tengah baris)
- Tidak ada perbedaan nyata rata-rata hasil etanol, antara agitasi 50,100,150 rpm (nilai tengah kolom).
- Ada interaksi antara agitasi 50,100 dan 150 rpm dengan lamanya waktu fermentasi baik dengan agitasi penuh maupun saat agitasi dihentikan pada jam ke- 18.

4.Y x/s (Metode Analisis Ragam Klasifikasi Dua Arah ( $\alpha = 0,005$ ))

Sumber Keragaman	Jumlah Kuadrat (JK)	Derajat Bebas (db)	Kuadrat Tengah (KT)	f Hitung	f Tabel
Nilai tengah baris	$1,1 \times 10^{-5}$	1	$1,1 \times 10^{-5}$	11	5,99
Nilai tengah kolom	$1,3 \times 10^{-5}$	2	$6,5 \times 10^{-6}$	6,5	5,14
Galat	$2 \times 10^{-6}$	2	$1 \times 10^{-6}$		
Total	$2,6 \times 10^{-5}$	5			

## 5.Y p/s

Sumber Keragaman	Jumlah Kuadrat (JK)	Derajat Bebas (db)	Kuadrat Tengah (KT)	f Hitung	f Tabel
Nilai tengah baris	$1,6 \times 10^{-5}$	1	$1,6 \times 10^{-5}$	6,4	5,99
Nilai tengah kolom	$3,59 \times 10^{-4}$	2	$1,795 \times 10^{-4}$	71,8	5,14
Galat	$5 \times 10^{-6}$	2	$2,5 \times 10^{-6}$		
Total	$3,8 \times 10^{-4}$	5			

## 6.Y p/x

Sumber Keragaman	Jumlah Kuadrat (JK)	Derajat Bebas (db)	Kuadrat Tengah (KT)	f Hitung	f Tabel
Nilai tengah baris	2,789	1	2,789	8,98	5,99
Nilai tengah kolom	3,61	2	1,805	5,81	5,14
Galat	0,621	2	0,3105		
Total	7,02	5			

- a. Ada perbedaan nyata rata-rata hasil Yield (Y x/s, Y p/s, Y p/x), antara agitasi secara penuh 48 jam maupun agitasi yang dihentikan pada jam ke-18 (nilai tengah baris)
- b. Ada perbedaan nyata rata-rata hasil Yield (Y x/s, Y p/s, Y p/x), dengan agitasi 50,100,150 rpm (nilai tengah kolom).