

FERMENTASI TETES TEBU DARI PABRIK GULA PAGOTAN MADIUN MENGGUNAKAN *Saccharomyces cerevisiae* UNTUK MENGHASILKAN BIOETANOL DENGAN VARIASI pH DAN LAMA FERMENTASI

Fitri Hartina, Akyunul Jannah, Anik Maunatin

Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

Abstract

Cane molasses is a sugar processing waste that contains high sugar concentration so it is very potential used as fermentation media. Fermentation of cane molasses to produce bioethanol becomes an alternative to decrease of waste and sufficient fuel that increase every years. The purpose of this study is to know the influence of pH and fermentation period towards bioethanol production from cane molasses by fermentation process used *Saccharomyces cerevisiae*. The sequence of this research were fermentation process and separation of bioethanol from the media. Fermentation process was achieved with two variations i.e pH (pH 4, 4,5, and 5) and fermentation period variations (3, 4, 5, and 6 days). Bioethanol separated from fermentation media used fractional distillation and pure bioethanol concentration can be measured by gas chromatography. The data obtained was analyzed using ANOVA and will be tested by LSD (Least Significant Difference) 5 %. The highest concentration of bioethanol was 7,76 %, yield value was 89,89 %, and efficiency value was 78,62 %. The result of ANOVA ($\alpha=5$ %) test showed the treatment of pH and fermentation period effect bioethanol concentration was produced. The LSD test showed the treatments pH 5 and 6 days fermentation period given concentration of bioethanol 7,76 %, efficiency value 78,62 % and residual sugar 5,52 % was the significant different of treatments.

Keywords: Cane Molasses, *Saccharomyces cerevisiae*, pH, Fermentation Period, and Bioethanol

Abstrak

Tetes tebu merupakan limbah pengolahan gula yang mengandung gula cukup tinggi sehingga sangat potensial dimanfaatkan sebagai media fermentasi. Fermentasi tetes tebu untuk menghasilkan bioetanol menjadi salah satu upaya mengurangi jumlah limbah dan memenuhi kebutuhan Bahan Bakar Minyak (BBM) yang semakin meningkat. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pH dan lama fermentasi terhadap produksi bioetanol dari tetes tebu (molase) dengan cara fermentasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*. Penelitian ini meliputi proses fermentasi dan pemisahan bioetanol dari media fermentasi. Proses fermentasi dilakukan dengan variasi pH 4, 4,5, dan 5, sedangkan variasi lama fermentasi dilakukan selama 3, 4, 5, dan 6 hari. Bioetanol hasil fermentasi dipisahkan dari media fermentasi dengan metode destilasi fraksinasi dan untuk mengukur kadar bioetanol digunakan metode kromatografi gas. Data yang diperoleh pada setiap perlakuan dianalisis menggunakan analisis varians (ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 5 %. Kadar bioetanol tertinggi diperoleh sebesar 7,76 %, nilai *yield* tertinggi 89,89 %, dan nilai efisiensi 78,62 %. Hasil analisis menggunakan uji ANOVA ($\alpha=5$ %) menunjukkan bahwa pH dan lama fermentasi berpengaruh nyata terhadap kadar bioetanol hasil fermentasi. Uji BNT menyatakan bahwa perlakuan A₃T₄ (pH 5 dan lama fermentasi 6 hari) dengan kadar bioetanol 7,76 %, nilai efisiensi 78,62 %, dan kadar gula sisa 5,52 % merupakan perlakuan yang berbeda nyata.

Kata Kunci: Tetes tebu, *Saccharomyces cerevisiae*, pH, lama fermentasi, Bioetanol

I. PENDAHULUAN

Kebutuhan masyarakat akan Bahan Bakar Minyak (BBM) yang semakin meningkat dari tahun ke tahun berbanding terbalik dengan ketersediaannya. Menurunnya total cadangan bahan bakar minyak tersebut, salah satunya dikarenakan sumber penghasil BBM yaitu

fosil semakin lama semakin berkurang (Azizah, 2012). Pembakaran BBM juga menghasilkan gas berbahaya seperti CO, NO_x, dan UHC (*Unburn Hydro Carbon*). Gas buang ini menyebabkan gangguan kesehatan serta mempercepat pemanasan global (Toharisman, 2008). Keadaan ini mendorong negara-negara industri mencari

sumber energi alternatif terbarukan yang lebih aman dan efisien (Koesoemadinata, 2001).

Energi alternatif yang ramai dikembangkan saat ini adalah etanol. Etanol menjadi pilihan utama dunia karena senyawa ini dapat terus diproduksi baik secara sintesis kimiawi maupun secara fermentasi (Koesoemadinata, 2001). Bioetanol hasil fermentasi merupakan bahan campuran (aditif) dari BBM yang ramah lingkungan karena hasil pembakarannya hanya menghasilkan H₂O dan CO₂ (Azizah, 2012). Selain itu bahan baku yang dibutuhkan pada proses fermentasi tersedia secara melimpah salah satunya yaitu limbah pabrik gula berupa tetes tebu. Tetes tebu menjadi pilihan utama karena mengandung gula cukup tinggi mencapai 34-54 %, selain itu harga tetes juga relatif murah.

Efisiensi fermentasi dipengaruhi oleh kadar gula tetes, aerasi, suhu, mikroba, pH, dan lama fermentasi. Mikroba yang digunakan pada penelitian ini adalah *Saccharomyces cerevisiae* karena mikroba tersebut bersifat fermentatif kuat dan mempunyai resistensi tinggi terhadap bioetanol. Parameter yang diamati pada penelitian ini adalah pengaruh pH dan lama fermentasi terhadap produksi bioetanol hasil fermentasi.

II. METODOLOGI

1. Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini adalah neraca analitik, gelas arloji, pengaduk gelas, *beaker glass*, jirigen, erlenmeyer, *autoclave*, *hot plate*, jarum ose, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *shaker*, pipet volume, pipet ukur, mikropipet, *blue tip*, *vortex*, pH meter, penangas air, termometer, seperangkat alat destilasi, gelas ukur 50 mL, botol kecil, *laminar air flow*, lemari asam, *hand brix refraktrometer*, *spektrofotometer Uv-vis*, seperangkat alat kromatografi gas, plastik wrap, bunsen, dan korek api.

Bahan-bahan yang digunakan adalah sebagai berikut; Tetes tebu, *Saccharomyces*

cerevisiae yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Institut Teknologi Bandung, *yeast extract*, *pepton*, glukosa, agar, H₂SO₄, urea, akuades, kapas, alkohol 70 %, fenol, aluminium foil, dan tissue secukupnya.

2. Pembuatan Media YPGA (*Yeast Extract Pepton Glucose Agar*) (Thontowi dkk., 2007)

Media YPGA dibuat dengan menimbang 1 g *pepton*, 0,5 g *yeast extract*, 2 g glukosa, dan 3 g agar, bahan-bahan tersebut kemudian dilarutkan dengan akuades 100 mL dan dipanaskan hingga mendidih. Selanjutnya media YPGA disterilisasi dengan *autoclave* pada suhu 121 °C dan tekanan 15 psi selama 15 menit. Larutan tersebut kemudian didinginkan dalam tabung reaksi pada keadaan miring hingga memadat. Media YPGA ini digunakan untuk regenerasi *S.cerevisiae*.

3. Pembuatan Media YPGB (*Yeast Extract Pepton Glucose Broth*) (Thontowi dkk., 2007)

Media YPGB dibuat dengan menimbang 2 g *pepton*, 1 g *yeast extract*, dan 4 g glukosa, kemudian bahan-bahan tersebut dilarutkan dengan akuades 200 mL dan dipanaskan hingga mendidih. Selanjutnya media YPGB disterilisasi dengan *autoclave* pada suhu 121 °C dan tekanan 15 psi selama 15 menit. Media YPGB ini digunakan untuk pembuatan stok inokulum.

4. Regenerasi *S.cerevisiae*

Biakan *S.cerevisiae* diambil sebanyak dua ose dan dimasukkan ke dalam media YPGA, kemudian diinkubasi selama 2 hari pada suhu ruang. *S.cerevisiae* yang telah diregenerasi digunakan untuk pembuatan stok inokulum.

5. Pembuatan Stok Inokulum (Kultsum, 2009)

Pembuatan inokulum ini dilakukan dengan cara memindahkan 2 ose *S.cerevisiae* ke dalam 100 mL media YPGB, kemudian di *shaker* pada kecepatan 150 rpm selama 32 jam pada suhu 30 °C. Stok inokulum digunakan untuk

pembuatan kurva pertumbuhan dan produksi bioetanol.

5. Pembuatan Kurva Pertumbuhan (Sari dkk., 2013)

Sebanyak 25 mL stok inokulum dipindahkan dalam 225 mL media YPGB kemudian 4 mL inokulum diambil setiap 8 jam sekali sampai jam ke-72, diukur absorbansinya pada panjang gelombang 600 nm dengan menggunakan *spektrofotometer Uv-vis* sehingga didapatkan nilai *Optical Density* (OD). Kurva pertumbuhan ditentukan dengan membuat plot antara waktu inkubasi dan absorbansi yang dihasilkan.

6. Preparasi Sampel (Wahyudi, 1997)

Tetes yang telah diencerkan hingga 20 % Brix diambil sebanyak 300 mL kemudian dipanaskan dengan suhu 70 °C selama 30 menit dan disaring dengan kertas saring. Filtrat yang diperoleh ditambahkan urea sebanyak 0,3 %, kemudian filtrat dibagi menjadi 3 masing-masing 100 mL. Ditambahkan larutan H₂SO₄ 0,1 N untuk mengatur pH yang dikehendaki yaitu pH 4, 4,5, dan 5. Selanjutnya sampel disterilisasi ke dalam *autoclave* pada suhu 121 °C dan tekanan 15 psi selama 2 jam. Sampel yang telah dipreparasi dianalisis kadar total gulanya dengan metode fenol H₂SO₄ dan selanjutnya digunakan untuk fermentasi produksi bioetanol.

7. Produksi Bioetanol dari Tetes Tebu Menggunakan *S.cereviciae* dengan Variasi pH dan Lama Fermentasi

Tetes yang telah dipreparasi dengan variasi pH 4, 4,5, dan 5 dengan volume 100 mL ditambahkan inokulum *S.cereviciae* yang telah mencapai fase log sebanyak 10 mL, kemudian erlenmeyer ditutup dengan kapas dan *dishaker* dengan kecepatan 150 rpm selama waktu fermentasi yang dikehendaki yaitu 3, 4, 5, dan 6 hari. Setelah proses fermentasi selesai, dilakukan penyaringan untuk memisahkan kotoran yang ada, selanjutnya kadar total gula yang terpakai pada proses fermentasi dianalisis dengan metode fenol H₂SO₄, dan untuk memisahkan bioetanol dari media

fermentasi selanjutnya dilakukan proses destilasi.

8. Destilasi Bioetanol Hasil Fermentasi (Kultsum, 2009)

Sampel yang telah difermentasi diambil sebanyak 100 mL dan ditampung dalam labu destilasi. Labu destilasi dipasang pada alat destilasi dan dilakukan proses destilasi dengan suhu berkisar 0-85 °C dan destilat ditampung dalam gelas ukur 50 mL. Destilat yang didapat dimasukkan dalam botol kecil dan ditutup rapat. Selanjutnya destilat diukur kadar bioetanolnya dengan metode kromatografi gas.

9. Analisis Kadar Bioetanol dengan Kromatografi Gas (KG)

Proses analisis kadar etanol dengan KG yaitu sebagai berikut; masing-masing destilat hasil destilasi diambil 1µL dan diinjeksikan ke dalam alat melalui tempat injeksi. Luas puncak etanol dari kromatogram dihitung. Kadar bioetanol dalam destilat ditentukan dengan membaca hasil kromatogram.

10. Pengukuran Brix (Kultsum, 2009)

Tetes dipipet sebanyak 3 mL dan dimasukkan ke dalam alat pengukur *hand brix refraktrometer*, yaitu pada celah antara prisma penutupnya yang kering dan basah. Diamati dengan cermat batas tajam antara garis terang dan gelap tepat pada titik potong sumbunya. Dengan mengatur ketepatan batas tersebut hingga jelas, maka dapat diketahui skala (berupa angka) dan tidak boleh terlihat garis pelangi di antaranya. Tetes yang telah diketahui nilai % Brixnya diencerkan dengan akuades hingga mencapai 20 % Brix.

11. Pembuatan Kurva Standar Glukosa dengan Metode Fenol H₂SO₄ (Dubois dkk., 1956)

Sebelum melakukan pengujian sampel maka perlu diketahui kurva standar fenol yang digunakan. Pembuatan kurva standar fenol adalah sebagai berikut: 1 mL larutan glukosa standar yang mengandung 0, 1, 2, 3, 4, dan 5 ppm glukosa masing-masing dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 0,5 mL larutan fenol 5 % dan

dikocok. Kemudian 2,5 mL asam sulfat pekat ditambahkan dengan cepat. Biarkan selama 10 menit, kocok lalu tempatkan dalam penangas air selama 15 menit dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 490 nm.

12. Menghitung Kadar Total Gula Sampel dengan Metode Fenol H₂SO₄ (Dubois dkk., 1956)

Total gula sampel dapat dihitung sebagai berikut: 1 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 0,5 mL larutan fenol 5 % dan dikocok. Kemudian 2,5 mL asam sulfat pekat ditambahkan dengan cepat. Biarkan selama 10 menit, kocok lalu tempatkan dalam penangas air selama 15 menit. Absorbansinya diukur pada panjang gelombang 490 nm.

13. Analisis Data

Data yang diperoleh dalam penelitian ini adalah kadar bioetanol hasil fermentasi. Data dianalisis dengan analisis ragam varian (One Way ANOVA). Apabila terdapat adanya pengaruh, maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan tingkat signifikansi 5 % untuk mengetahui perlakuan yang berpengaruh atau berbeda nyata di antara perlakuan yang lain.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Preparasi Sampel

Preparasi sampel yang dilakukan meliputi pengukuran kadar total gula, dan pengukuran nilai % Brix. Kandungan gula dan % Brix tetes tebu dipengaruhi oleh varietas tebu, kematangan tebu, kondisi iklim, dan kondisi tanah. Selain itu, proses di dalam pabrik gula juga sangat mempengaruhi. Hasil analisa bahan baku tetes tebu dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 menunjukkan bahwa tetes tebu mempunyai nilai % Brix dan kandungan gula cukup tinggi. Dengan konsentrasi gula yang masih cukup tinggi, tetes tersebut kurang baik apabila langsung digunakan sebagai media fermentasi, karena *S.cerevisiae* akan mengalami tekanan osmotik yang tinggi dan akan

menyebabkan *S.cerevisiae* tersebut mengalami stress dan pada akhirnya akan mempengaruhi kinerja fermentasi (Bafncová dkk., 1999 dalam Ishmayana dkk., 2011). Wanto dan Soebagy (1980) mengatakan bahwa tetes tebu harus diencerkan terlebih dahulu sehingga kadar gulanya 12-17 % atau dengan menambahkan air sebanyak empat kali volume tetes tebu.

Tabel 1 Hasil Analisa Bahan Baku

Komponen	Hasil
Nilai % Brix	90 % Brix
Kadar total gula	42,62 %
pH	5,5

Tetes harus diencerkan terlebih dahulu sebelum digunakan pada proses fermentasi sehingga nilai % Brix menjadi lebih kecil dan tidak terlalu kental. Hasil analisa bahan baku tetes tebu setelah diencerkan dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 Hasil Analisa Bahan Baku Setelah Pengenceran

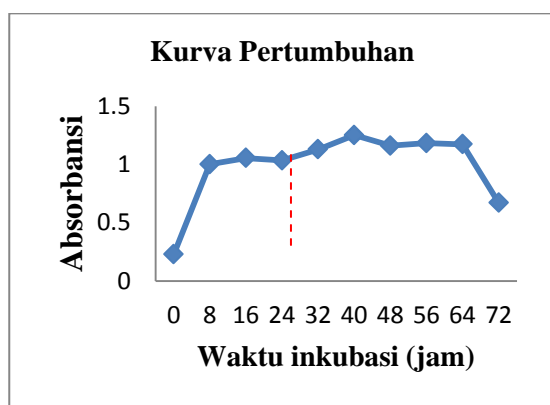
Komponen	Hasil
Nilai % Brix	20 % Brix
Kadar total gula	14,15 %
pH	5,2

Tetes tebu yang telah diencerkan menjadi 20 % Brix diatur pHnya sesuai dengan pH yang dikehendaki, yaitu pH 4, 4,5, dan 5. Setelah pengaturan pH, media siap digunakan untuk media fermentasi dengan menambahkan inokulum *S.cerevisiae* yang berada pada fase eksponensial sesuai dengan kurva pertumbuhan.

2. Kurva Pertumbuhan *S.cerevisiae*

Kurva pertumbuhan merupakan kurva yang menggambarkan fase pertumbuhan dari mikroorganisme. Kurva pertumbuhan ini digunakan untuk mengetahui fase eksponensial *S.cerevisiae* yang akan digunakan pada proses pembuatan inokulum. Fase-fase pertumbuhan

S.cerevisiae pada penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1 Kurva Pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae*

Kurva pertumbuhan di atas tidak mengalami fase adaptasi. Hal ini disebabkan karena inokulum yang diinokulasikan ke dalam media pertumbuhan merupakan kultur yang berada dalam fase eksponensial dan media baru yang digunakan komposisinya sama dengan media yang lama sehingga fase adaptasi dapat dihindari.

Fase eksponensial terjadi pada jam ke-0 hingga awal jam ke-40. Pada fase eksponensial sel mulai membelah dan masuk ke dalam periode pertumbuhan, reproduksi sel paling aktif dan waktu regenerasinya konstan, ini dibuktikan dengan nilai absorbansi yang meningkat. Fase stasioner *S.cerevisiae* terjadi pada awal jam ke-40 hingga jam ke-64. Menurut Tortora dkk., (2001) pada fase stasioner laju pertumbuhan lambat sehingga jumlah *S.cerevisiae* yang hidup dan mati seimbang dan populasinya stabil. Sedangkan fase kematian terjadi pada awal jam ke-64 hingga jam ke-72. Penyebab terhentinya pertumbuhan *S.cerevisiae* pada fase ini adalah ketika konsentrasi sel sangat besar kekurangan nutrisi, akumulasi produk limbah dan lain-lain.

Waktu inkubasi optimum *S.cerevisiae* pada penelitian ini didapatkan pada jam ke-32, diasumsikan bahwa pada jam ke-32 pertumbuhan sel *S.cerevisiae* mengalami peningkatan dan pembelahan

secara produktif ditandai dengan nilai absorbansi yang tinggi. Oleh sebab itu, pada penelitian ini pembuatan inokulum dilakukan selama 32 jam, dan inokulum siap diinokulasikan pada media fermentasi.

3. Fermentasi Bioetanol

Proses fermentasi dilakukan dengan menambahkan *S.cerevisiae* sebanyak 10 mL ke media fermentasi (sampel) yang telah dipreparasi dan diinkubasi selama waktu 3, 4, 5, dan 6 hari. Pada proses fermentasi terjadi konversi sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa oleh enzim invertase yang dihasilkan oleh *S.cerevisiae*. Glukosa dan fruktosa yang telah terbentuk selanjutnya digunakan untuk proses metabolisme *S.cerevisiae* dengan hasil samping berupa bioetanol.

4. Destilasi Bioetanol dengan Destilasi Fraksinasi

Destilasi yang dilakukan pada penelitian ini adalah destilasi fraksinasi. Destilasi fraksinasi merupakan salah satu dari proses penyulingan yang dilakukan dengan refluks parsial karena luas permukaan dalam kolom fraksinasi yang digunakan memungkinkan terjadinya keseimbangan uap-cair. Uap hasil destilasi pertama akan mengembun kembali dan melewati sel berikutnya, kemudian menguap kembali. Proses ini berlangsung berulang-ulang. Semakin banyak kolom fraksinasi, maka pemisahan semakin sempurna. Senyawa yang berada pada puncak kolom adalah senyawa paling volatil/titik didih paling rendah. Destilat hasil destilasi fraksinasi selanjutnya dianalisis dengan metode Kromatografi Gas (KG) dengan tujuan untuk mengetahui kemurnian dan kadar bioetanol hasil fermentasi.

5. Pengukuran Kadar Bioetanol dengan Metode Kromatografi Gas

Pengukuran kadar bioetanol dengan metode KG menggunakan baku internal *acrylonitril*. Pemilihan *acrylonitril* sebagai baku internal karena *acrylonitril* mempunyai titik didih yang hampir sama dengan etanol yaitu 77,3 °C, mempunyai waktu retensi yang hampir sama,

mempunyai respon detektor yang hampir sama, bersifat stabil, tidak terdapat dalam sampel, dan tidak mempunyai kemiripan sifat secara kimiawi. Kadar bioetanol murni hasil fermentasi dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3 menunjukkan bahwa perlakuan yang mempunyai notasi yang sama tidak berbeda nyata dengan perlakuan lain, akan tetapi perlakuan yang mempunyai notasi yang berbeda menunjukkan bahwa perlakuan tersebut berbeda nyata diantara perlakuan-perlakuan yang lain. Perlakuan yang berbeda nyata diantara perlakuan yang lain adalah perlakuan A₃T₄ (pH 5 dan lama fermentasi 6 hari) dengan notasi d.

Tidak semua gula dimanfaatkan oleh *S.cerevisiae* untuk pembuatan boetanol akan tetapi ada sebagian gula yang digunakan untuk metabolisme intraseluler seperti sintesis enzim, DNA, dan sebagainya. Penggunaan gula pada tiap perlakuan berbeda-beda, ini dipengaruhi oleh faktor pH dan lama fermentasi yang digunakan.

Tabel 3 Kadar Bioetanol Hasil Fermentasi

No	Perlakuan	Kadar Bioetanol (%)
1	A ₁ T ₁	5,47 ^a
2	A ₂ T ₁	6,40 ^{bc}
3	A ₃ T ₁	5,87 ^{ab}
4	A ₁ T ₂	5,98 ^{ab}
5	A ₂ T ₂	6,47 ^{bc}
6	A ₃ T ₂	6,54 ^{bc}
7	A ₁ T ₃	5,44 ^a
8	A ₂ T ₃	6,38 ^{bc}
9	A ₃ T ₃	7,11 ^{cd}
10	A ₁ T ₄	5,32 ^a
11	A ₂ T ₄	6,45 ^{bc}
12	A ₃ T ₄	7,76 ^d

Ket: Notasi a, b, c, dan d menunjukkan bahwa pada perlakuan yang mempunyai notasi huruf yang sama tidak berbeda nyata dengan perlakuan yang lain

6. Analisis Kadar Gula Sisa Fermentasi

Faktor-faktor yang mempengaruhi proses fermentasi salah satunya adalah kadar gula. Kadar gula sisa setelah

fermentasi merupakan kadar gula yang belum digunakan oleh *S.cerevisiae* dalam proses fermentasi. Kadar gula sisa setelah fermentasi dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4 Kadar Gula Sisa Setelah Fermentasi

No	Perlakuan	Kadar Gula (%)
1	A ₁ T ₁	5,80
2	A ₂ T ₁	6,30
3	A ₃ T ₁	7,19
4	A ₁ T ₂	5,84
5	A ₂ T ₂	5,41
6	A ₃ T ₂	6,37
7	A ₁ T ₃	5,80
8	A ₂ T ₃	5,31
9	A ₃ T ₃	5,50
10	A ₁ T ₄	5,60
11	A ₂ T ₄	6,09
12	A ₃ T ₄	5,52

7. Efisiensi Fermentasi

Efisiensi fermentasi dapat digunakan sebagai parameter keberhasilan suatu proses fermentasi. Semakin tinggi nilai efisiensi fermentasi maka akan semakin tinggi produk yang dihasilkan (Kultsum, 2009). Efisiensi fermentasi diperoleh dari perbandingan bioetanol hasil fermentasi dengan kadar etanol teoritis (Kumalaningsih dan Hidayat (1995) dalam Juariah., dkk (2004)). Nilai efisiensi fermentasi bioetanol dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5 Efisiensi Fermentasi Bioetanol

Perlakuan	GS (%)	GT (%)	Bioetanol (%)	Yield (%)	EF (%)
A ₁ T ₁	5,80	8,35	5,47	65,51	55,42
A ₂ T ₁	6,30	7,85	6,40	81,53	64,84
A ₃ T ₁	7,19	6,96	5,87	84,34	59,47
A ₁ T ₂	5,84	8,31	5,98	71,96	60,59
A ₂ T ₂	5,41	8,74	6,47	74,03	65,55
A ₃ T ₂	6,37	7,78	6,54	84,06	66,26
A ₁ T ₃	5,80	8,35	5,44	65,15	55,12
A ₂ T ₃	5,31	8,84	6,38	72,17	64,64
A ₃ T ₃	5,50	8,65	7,11	82,20	72,04
A ₁ T ₄	5,60	8,55	5,32	62,22	53,09
A ₂ T ₄	6,09	8,06	6,45	80,03	65,35
A ₃ T ₄	5,52	8,63	7,76	89,92	78,62

Keterangan:

GS: Gula sisa

GT: Gula terpakai

EF: Efisiensi fermentasi

Tabel 5 menunjukkan bahwa perlakuan A₃T₄ (pH 5 dan lama fermentasi 6 hari) mempunyai nilai *yield* dan nilai efisiensi tertinggi daripada perlakuan yang lainnya yaitu sebesar 89,92 % dan 78,62 %, sehingga perlakuan tersebut dapat dikatakan perlakuan yang terbaik.

IV. KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa variasi pH (4, 4,5, dan 5) dan lama fermentasi (3, 4, 5, dan 6 hari) berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap kadar bioetanol hasil fermentasi. Kadar bioetanol hasil fermentasi tertinggi diperoleh pada perlakuan pH 5 dan lama fermentasi 6 hari dengan kadar bioetanol sebesar 7,76 % dengan nilai efisiensi fermentasi tertinggi 78,62 %.

Saran

Penelitian lanjutan yang disarankan untuk melengkapi dan menyempurnakan penelitian ini adalah menambahkan variasi suhu dan variasi % Brix yang digunakan, penambahan nutrient pada media fermentasi, data kurva pertumbuhan *S.cerevisiae* diuji dengan uji statistik.

V. DAFTAR PUSTAKA

- Azizah, N., Al-Baarii, A, N., dan Mulyani, S. 2012. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kadar Alkohol, pH, dan Produksi gas pada Proses Fermentasi Bioetanol dari Whey dengan Substitusi Kulit Nanas. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan vol 1 no.2*.
- G, E, Fogg and B, Thake. 1987. *Alga Cultur and Phytoplankton Ecology, 3rd ed.* Wisconsin: The University of Wisconsin Press.
- Juariah, S., Susilowati, A., dan Setyaningsih, R. 2004. Fermentasi Etanol Limbah Padat Tapioka (Onggok) oleh *Aspergillus niger* dan *Zymomonas mobilis*. *Jurnal jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret (UNS) Surakarta*.
- Koesoemadinata, V, C. 2001. *Pemanfaatan Gula Hasil Hidrolisis Hemiselulosa Tandan Kosong Sawit untuk Produksi Etanol Secara Fermentasi*. Laporan Hasil Penelitian, Jurusan Teknik Kimia FTI, IPB.
- Kultsum, U. 2009. Pengaruh Variasi Nira Tebu (*Saccharum Officinarum*) dari Beberapa Varietas Tebu dengan Penambahan Sumber Nitrogen (N) dari Tepung Kedelai Hitam (*Glycine Soja*) sebagai Substrat Terhadap Efisiensi Fermentasi Etanol. *Skripsi Diterbitkan*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri.
- Purwoko, T. 2007. *Fisiologi Mikrobia*. Jakarta: Bumi Aksara
- Toharisman, A. 2010. Sekali Lagi: Etanol dari Tebu. <http://sugarresearch.org>. Diakses pada tanggal 6 November 2012.
- Sari, P, D., Wuryanti., dan Anam, K. 2013. *Purifikasi dan Karakterisasi α -amilase dari Saccharomyces cerevisiae FNCC 3012*. Semarang: Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro.
- Thontowi, A., Kusmiati., dan Nuswantara, S. 2007. Produksi β -Glukan *Saccharomyces cerevisiae* dalam Media dengan Sumber Nitrogen Berbeda pada Air-Lift Fermentor. *Jurnal Biodiversitas Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI)*. volume 8, no 4, Halm 253-256.
- Wahyudi. 1997. Produksi Alkohol oleh *Saccharomyces cerevisiae* dengan Tetes Tebu (Molase) sebagai Bahan Baku Utama. *Skripsi Diterbitkan*. Bogor: Fakultas

Teknik Pertanian, Institut
Pertanian Bogor.