



TESIS- RE142541

**PROSES FERMENTASI ECENG GONDOK  
(*Eichhornia crassipes*) OLEH *Pichia stipitis*  
Dan *Mucor indicus* DENGAN METODE  
SIMULTANEOUS SACCHARIFICATION AND  
FERMENTATION (SSF)**

NILA JUWITA  
3313 201 008

DOSEN PEMBIMBING  
Dr. Ir. ELLINA SITEPU PANDEBESIE , MT

CO PEMBIMBING  
IDAA WARMADEWANTHI, ST, MT, Ph.D

PROGRAM MAGISTER  
JURUSAN TEKNIK LINGKUNGAN  
FAKULTAS TEKNIK SIPIL DAN PERENCANAAN  
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER  
SURABAYA  
2015



THESIS - RE142541

**FERMENTATION PROCESS OF WATER HYACINTH  
(*Eichhornia crassipes*) BY *Pichia stipitis* and  
*Mucor indicus* WITH SIMULTANEOUS  
SACCHARIFICATION AND FERMENTATION (SSF)  
PROCESS**

NILA JUWITA  
3313 201 008

SUPERVISOR  
Dr. Ir. ELLINA SITEPU PANDEBESIE , MT

CO SUPERVISOR  
IDAA WARMADEWANTHI, ST, MT, Ph.D

MASTER PROGRAM  
ENVIRONMENTAL ENGINEERING DEPARTMENT  
FACULTY OF CIVIL ENGINEERING AND PLANNING  
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER  
SURABAYA  
2015

Tesis disusun untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar  
Magister Teknik (MT)

di

Institut Teknologi Sepuluh Nopember

oleh :

Nila Juwita

Nrp. 3313 201 008

Tanggal Ujian : 17 Januari 2015

Periode Wisuda : Maret 2015

Disetujui Oleh :

1. Dr. Ir. Ellina Sitepu Pandebesie, MT  
NIP : 195602041992032001

(Pembimbing I)

2. IDAA Warmadewanthi, ST., MT., Ph.D  
NIP : 1975021219999032001

(Pembimbing II)

3. Prof. Dr. Yulinah Trihadiningrum, M.AppSc  
NIP : 195307061984032004

(Penguji)

4. Arseto Yekti Bagastyo, ST., MT., Mphil., PhD  
NIP : 198208042005011001

(Penguji)

5. Ipung Fitri Purwanti, ST., MT., PhD  
NIP : 197111142003122001

(Penguji)

Direktur Program Pascasarjana,



Prof. Dr. Ir. Adi Soeprijanto, MT

NIP. 196404051990021001

**PROSES FERMENTASI ECENG GONDOK dengan *Pichia stipitis* dan *Mucor indicus***

**MENGGUNAKAN METODE *SIMULTANEOUS SACCHARIFICATION  
FERMENTATION***

Nama Mahasiswa : Nila Juwita  
NRP : 3312 01008  
Pembimbing : Dr. Ir. Ellina S. Pandebesie, ST.  
MT  
Co. Pembimbing : IDAA Warmadewanthi,  
ST.MT.Ph.D

**Abstrak**

Pertumbuhan eceng gondok yang pesat menyebabkan keberadaan limbah eceng gondok yang melimpah, sehingga perlu ditangani agar tidak menyebabkan pencemaran lingkungan. Salah satu cara penanganan limbah eceng gondok adalah mengubah eceng gondok menjadi bioetanol. Kandungan hemiselulosa dan selulosa yang terdapat pada eceng gondok berpotensi untuk diuraikan menjadi glukosa yang selanjutnya difermentasi sehingga menghasilkan bioetanol.

Proses pembentukan bioetanol terdiri dari *pretreatment*, hidrolisis dan fermentasi. Pada penelitian ini proses hidrolisis dilakukan secara simultan, atau *Simultaneous Saccharification and Fermentation*. *Pretreatment* eceng gondok menggunakan *P. chrysosporium* yang ditambahkan kedalam reaktor berisi substrat eceng gondok dengan waktu inkubasi selama sepuluh hari. Setelah sepuluh hari substrat yang telah diinkubasi dipanaskan pada suhu 100 selama satu jam. Proses dilanjutkan dengan menambahkan mikroorganisme untuk hidrolisis yaitu *T. viride* sebanyak 13,3 mL dan *A. niger* sebanyak 6,6 mL. Tanpa jeda waktu yang lama ditambahkan *P. stipitis* atau *M. indicus* sebanyak 10 mL serta aquadest sebanyak 90 mL, kemudian difermentasi selama empat hari. Selama empat hari masa fermentasi dilakukan pengambilan sampel pada jam ke 72 dan jam ke 96. Parameter uji adalah kadar hemiselulosa, selulosa, lignin, gula reduksi dan kadar bioetanol. Pengukuran kadar etanol menggunakan metode *Gas Chromatography*.

Pada penelitian ini dihasilkan kadar etanol tertinggi pada *P. stipitis* sebesar 0,20 (mg/g) substrat pada reaktor dengan penambahan *P. stipitis* dengan konsentrasi 10% (v/v) dengan substrat eceng gondok 10 gram. Kadar etanol terendah sebesar 0,124 (mg/g) substrat pada reaktor berisi substrat 20 g dan konsentrasi *P. stipitis* 5% (v/v). Pada reaktor dengan penambahan *M. indicus* kadar tertinggi sebesar 0,18 (mg/g) kondisi reaktor 10 g substrat, 10% (v/v) inokulum 72 jam fermentasi. Pada reaktor berisi 20 g substrat, konsentrasi inokulum 5% (v/v), waktu fermentasi 96 jam diperoleh kadar terendah sebesar 0,01 (mg/g)

**Kata kunci:** bioetanol, eceng gondok, fermentasi, *Pichia stipitis*

**FERMENTATION PROCESS HYACINTH WITH *Pichia stipitis* and *Mucor indicus***  
**USING SIMULTANEOUS FERMENTATION SACCHARIFICATION**

**Abstract**

The rapid growth of water hyacinth causes the presence of abundant waste water hyacinth, so that needs to be addressed so as not to cause environmental pollution. One way of handling waste water hyacinth is to convert the water hyacinth into bioethanol. The content of hemicellulose and cellulose contained in the water hyacinth has the potential to be broken down into glucose which then fermented to produce bioethanol.

Bioethanol formation process consists of *pretreatment*, hydrolysis and fermentation. In this study, the hydrolysis process is done simultaneously, or *Simultaneous Saccharification and Fermentation*. *Pretreatment* hyacinth using *P. chrysosporium* were added into the reactor containing the substrate hyacinth with incubation time for ten days. After ten days that had been incubated substrate was heated at a temperature of 100°C for one hour. The process continued by adding microorganisms to hydrolysis, namely *T. viride* much as 13.3 mL and *A. niger* as much as 6.6 mL. Without pause long time added *P. stipitis* or *M. indicus* as much as 10 mL and 90 mL of distilled water as much, then fermented for four days. During the four days of fermentation samples were taken at 72 hours and hours to 96. The test parameters the levels of hemicellulose, cellulose, lignin, reducing sugar and ethanol levels. Measurements of ethanol using *Gas Chromatography*.

In this study the highest ethanol content was produced in *P. stipitis* of 0.20 (mg /g) substrate in the reactor with the addition of *P. stipitis* with a concentration of 10% (v/v) with 10 grams of water hyacinth substrate. Low ethanol content of 0.124 (mg / g) substrate in the reactor containing 20 g and the concentration of the substrate *P. stipitis* 5% (v/v). In the reactor with the addition of *M. indicus* highest levels of 0.18 (mg / g) 10 g substrate reactor conditions, 10% (v/v) inoculum 72 hours of fermentation. In the reactor containing 20 g of substrate, inoculum concentration of 5% (v/v), fermentation time of 96 hours obtained the lowest levels of 0.01 (mg / g)

Keywords: ethanol, fermentation, *Pichia stipitis*, water hyacinth

*“Halaman ini sengaja dikosongkan “*

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat hidayah serta inayahNya sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal tesis dengan judul “Proses Fermentasi Eceng Gondok Dengan *Pichia stipitis* dan *Mucor indicus* Menggunakan Metode *Simultaneous Sacharification dan Fermentation (SSF)*”. Proposal tesis ini disusun dalam rangka memenuhi persyaratan sebelum mengerjakan tesis dan sebagai prasyarat dalam menempuh kelulusan Program Magister Teknik Lingkungan ITS.

Dalam penyusunan proposal tesis ini, penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu Dr.Ir. Ellina S. Pandebesie, ST. MT selaku dosen pembimbing yang telah dengan sabar memberikan bimbingan serta ilmu dalam penyusunan proposal tesis ini.
2. Ibu IDAA Warmadewanthi, ST.MT.Ph.D selaku co.pembimbing yang telah banyak memberikan saran masukan kepada penulis.
3. Ibu Prof. Yulinah Trihadiningrum, M.Appl.Sc, Arseto Yekti Bagastyo, ST., MT., Mphil., PhD, serta Ipung Fitri Purwanti, ST., MT., PhD selaku dosen penguji yang telah banyak memberikan saran masukan kepada penulis.
4. Bapak Ir. Mas Agus Mardyanto M.E.Ph.D selaku dosen wali yang telah banyak memberikan arahan dan membantu penulis selama menempuh pendidikan pada Program Magister Teknik Lingkungan ITS.
5. Teman-teman Magister Teknik Lingkungan ITS yang telah memberikan bantuan dan dukungan.

Ucapan khusus penulis sampaikan pada keluarga dirumah: ibu, bapak, adik-adik tercinta yang telah memberikan dukungan serta doa kepada penulis.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penyusunan proposal tesis ini, sehingga penulis mengharapkan saran masukan agar dapat menghasilkan karya tulisan yang lebih baik. Akhir kata semoga proposal ini dapat memberikan manfaat kepada banyak pihak yang memelukan.

Surabaya, Januari 2015

Penulis



*“Halaman ini sengaja dikosongkan “*

# DAFTAR ISI

ABSTRAK .....	i
<i>ABSTRACT</i> .....	<i>ii</i>
<i>Halaman ini sengaja dikosongkan</i> .....	<i>iii</i>
DAFTAR ISI.....	iv
DAFTAR TABEL.....	vi
DAFTAR GAMBAR.....	viii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	2
1.3 Tujuan .....	2
1.4 Ruang Lingkup .....	3
1.5 Manfaat .....	3
BAB II KAJIAN PUSTAKA.....	5
2.1 Bioetanol.....	5
2.1.2 Penggunaan Bioetanol.....	6
2.2 Karakteristik Eceng Gondok.....	7
2.3 Komponen Lignoselulosa .....	9
2.3.1 Selulosa .....	9
2.3.2 Lignin.....	10
2.3.3 Hemiselulosa.....	11
2.4 Tahapan Proses Pembuatan Biotanol.....	12
2.4.1 Tahapan Pembentukan Biotanol .....	12
2.4.2 Tahapan <i>Pretreatment</i> .....	13
2.4.2.1 Karakteristik Jamur Pelapuk Putih.....	15
2.4.3 Tahap Hidrolisis.....	15
2.4.3.1 Proses Hidrolisis .....	15
2.4.3.2 Karakteristik Mikroorganisme Selulolitik.....	17
2.4.4 Tahap Fermentasi.....	19
2.4.4.1 Mikroorganisme fermentasi .....	22
2.4.4.1.1 <i>Pichia stipitis</i> .....	22
2.4.4.1.2 <i>Mucor indicus</i> .....	24

2.5 Model Rancangan .....	25
2.5.1 Kelebihan dan Kekurangan Analisis Variansi .....	26
2.5.2 Metode <i>Response Surface</i> .....	26
BAB III METODE PENELITIAN .....	27
3.1 Ide Penelitian .....	27
3.2 Kerangka Penelitian .....	27
3.3 Rumusan Masalah .....	29
3.4 Studi Pustaka .....	29
3.5 Tahapan Persiapan .....	29
3.6 Tahap <i>Pretreatment</i> .....	31
3.7 Tahap Hidrolisi dan Fermentasi Serentak .....	32
3.7.1 Penamaan Reaktor .....	33
3.7.2 Reaktor .....	36
3.7.3 Waktu Pengambilan Sampel .....	37
3.8 Pengukuran Kadar Karbon, Nitrogen, Phosphor pH, Lignoselulosadan Bioetanol .....	36
3.9 Analisis Statistik .....	37
3.9.1 Model Rancangan .....	39
3.9.2 Analisis Optimasi <i>Response Surface</i> .....	40
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....	41
4.1 Umum .....	41
4.2 Analisa Bahan Baku Eceng Gondok ( <i>Eichhornia crassipes</i> ) .....	41
4.2.1 Ratio Perbandingan C:N:P .....	42
4.2.2 Analisa Komponen Lignoselulosa Eceng Gondok ( <i>Eichhornia crassipes</i> ) .....	42
4.3 Kemampuan Jamur Pelapuk Putih Terhadap Penguraian Lignoselulosa .....	43
4.3.1 Perubahan Kadar Lignin .....	45
4.3.2 Perubahan Kadar Hemiselulosa .....	47
4.3.4 Perubahan Kadar Selulosa .....	48
4.4 Kemampuan <i>T. viride</i> dan <i>A. niger</i> Terhadap Produksi Gula Reduksi .....	50
4.5 Produksi Gula Reduksi Oleh <i>T. viride</i> dan <i>A. niger</i> .....	51
4.5.1 Produksi Gula Reduksi Pada Saat Proses SSF .....	51
4.5.2 Produksi Gula Reduksi Pada Saat Selesai Proses SSF .....	52
4.6 Kemampuan <i>T. viride</i> dan <i>A. niger</i> serta <i>P. stipitis</i> Pada Proses SSF .....	53
4.7 Kemampuan <i>T. viride</i> dan <i>A. niger</i> serta <i>P. stipitis</i> Pada Proses SSF .....	57

4.8	Produksi Bioetanol Menggunakan <i>P. stipitis</i> dan <i>M.indicus</i> .....	59
4.8.1	Produksi Bioetanol Menggunakan <i>P. stipitis</i> .....	59
4.8.2	Produksi Bioetanol Menggunakan <i>M.indicus</i> .....	63
4.9	Perbandingan Kadar Bioetanol Pada Penggunaan <i>P. stipitis</i> dan <i>M.indicus</i> .....	66
4.10	Analisis Sataistik .....	69
BAB IV HASIL DAN KESIMPULAN .....		75
DAFTAR PUSTAKA .....		78

*“Halaman ini sengaja dikosongkan “*

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Sifat Fisika Etanol.....	6
Tabel 2.2 Komposisi Eceng Gondok dari beberapa parameter.....	7
Tabel 2.3 Komposisi Rata - Rata Eceng Gondok .....	7
Tabel 2.4 Kandungan Gula Karbohidrat Pada Eceng Gondok, Limbah Pertanian.....	12
Tabel 3.1 Penamaan Reaktor.....	35
Tabel 4.1 Kandungan Unsur Hara Dalam Eceng Gondok.....	41
Tabel 4.2 Perbandingan Komponen Penyusun <i>E. crassipes</i> hasil pengujian dan literatur .....	42
Tabel 4.3 Hasil Pengujian Kandungan Lignoselulosa Dalam <i>E. crassipes</i> .....	44
Tabel 4.4 Penurunan Kadar Lignin.....	45
Tabel 4.5 Penurunan Kadar Hemiselulosa.....	47
Tabel 4.6 Penurunan Kadar Selulosa .....	49
Tabel 4.7 Perolehan Glukosa Dengan Penambahan <i>P. stipitis</i> .....	53
Tabel 4.8 Perolehan Glukosa Dengan Penambahan <i>M. indicus</i> .....	57
Tabel 4.10 Perbandingan Kadar Bioetanol Menggunakan <i>P. stipitis</i> dan <i>M. indicus</i> .....	67

*“Halaman ini sengaja dikosongkan “*

# DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Deskripsi Proses .....	5
Gambar 2.2 Struktur Selulosa .....	9
Gambar 2.3 Struktur Lignin .....	10
Gambar 2.4 Struktur Hemiselulosa .....	11
Gambar 2.5 Hasil Degradasi Monosakarida .....	16
Gambar 2.6 Kurva Pertumbuhan <i>P. stipitis</i> .....	23
Gambar 2.7 Kurva Pertumbuhan <i>M. indicus</i> .....	25
Gambar 3.1 Sistematika Penelitian .....	28
Gambar 3.2 Reaktor Penelitian .....	36
Gambar 4.1 Perolehan Gula Reduksi Sebelum Proses SSF .....	50
Gambar 4.2 Perolehan Gula Reduksi setelah 72 jam .....	51
Gambar 4.3 Perolehan Gula Reduksi setelah 96 jam .....	52
Gambar 4.4 Hasil Gula reduksi dan Kadar Bioetanol penambahan <i>P. stipitis</i> pada 72 .....	59
Gambar 4.5 Hasil Gula reduksi dan Kadar Bioetanol penambahan <i>P. stipitis</i> pada 96 jam .....	60
Gambar 4.6 Hasil Gula reduksi Kadar Bioetanol penambahan <i>M. indicus</i> pada 72 jam .....	63
Gambar 4.7 Hasil Gula reduksi Kadar Bioetanol penambahan <i>M. indicus</i> pada 96 jam .....	64
Gambar 4.8 <i>Main Effect Plot</i> .....	70
Gambar 4.9 Interaksi antara mikroorganisme dan konsentrasi .....	72
Gambar 4.10 Interaksi antara waktu dan mikroorganisme .....	72
Gambar 4.11 Interaksi antara mikroorganisme dan substrat .....	73
Gambar 4.12 Interaksi antara konsentrasi dan waktu .....	73
Gambar 4.13 Interaksi antara substrat dan konsentrasi .....	74



*“Halaman ini sengaja dikosongkan “*

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Eceng gondok (*Eichhornia crassipes*) merupakan jenis gulma yang pertumbuhannya sangat cepat. Perkembangan tumbuhan air eceng gondok yang pesat dalam ekosistem perairan menimbulkan masalah bagi lingkungan. Waktu berkembangnya dalam kurun waktu 3-4 bulan sudah mampu menutupi lebih 70% permukaan danau, sungai maupun air payau. Proses penutupan permukaan air oleh tumbuhan eceng gondok menyebabkan berkurangnya pasokan oksigen dan paparan sinar matahari (Fahmi, 2009).

Selain dampak negatif eceng gondok juga memiliki manfaat seperti bahan baku kerajinan, absorben logam berat, pakan ternak dan bahan baku pembuat kertas. Selulosa yang terkandung dalam eceng gondok bisa juga digunakan sebagai bahan pembuatan bioetanol yang sekarang ini amat diperlukan untuk mengatasi kurangnya produksi minyak dunia. Komposisi utama dari eceng gondok adalah lignoselulosa yang dapat dipecah menjadi he miselulosa, lignin dan selulosa maka dapat diolah menjadi bahan baku bioetanol. Eceng gondok dengan hasil akhir bioetanol dimanfaatkan sebagai bahan bakar alternatif, sehingga memiliki dampak yang sangat baik pula bagi lingkungan (Brades, 2008). Bioetanol adalah etanol yang dihasilkan melalui proses fermentasi dengan bantuan mikroba dan bahan baku dari tumbuhan yang mengandung lignoselulosa.

Kandungan dari eceng gondok sangat menentukan pemilihan mikroba yang digunakan pada proses fermentasi. Produksi bioetanol dapat dibuat dengan menggunakan eceng gondok sebagai bahan baku dan dilakukan melalui proses *Simultaneous Saccharification dan Fermentation* (SSF). Proses fermentasi didahului dengan melakukan proses penguraian untuk memecah komponen lignoselulosa menjadi hemiselulosa, lignin dan selulosa oleh jamur pelapuk putih. *Pretreatment* dengan menggunakan jamur pelapuk putih akan meningkatkan bioetanol yang dihasilkan (Samsuri *et al.*, 2007). Jenis jamur dan bakteri yang memiliki kemampuan untuk menguraikan komponen eceng gondok menjadi

glukosa adalah *T. viride*, *A. niger* (Novembrianto dan Pandebesie, 2014; Sanito dan Pandebesie, 2014). Menurut Mey (2012) kedua jamur *T. viride* dan *A. niger* mampu menghasilkan kadar glukosa sebesar 5,5 mg/L dari ampas tebu (*baggase*). Menurut Yoshari (2010) *T. viride* dan *A. niger* mampu menghasilkan kadar terbaik sebesar 54,82% pada pembuatan bioetanol dengan bahan tandan kosong kelapa sawit.

Pemilihan mikroorganisme yang akan digunakan pada proses fermentasi, didasarkan pada kemampuan mikroorganisme dalam mengubah glukosa menjadi bioetanol. Jenis mikroorganisme yang dapat menguraikan glukosa menjadi bioetanol adalah ragi *Pichia stipitis* serta jamur *Mucor indicus*. Kemampuan kedua mikroba tersebut dalam mengubah glukosa hasil hidrolisis sehingga terbentuk bioetanol menjadi pertimbangan dalam penentuan jenis mikroba yang digunakan pada proses fermentasi.

Pada pembuatan bioetanol *P. stipitis* dapat mengubah xylosa menjadi bioetanol (Yusra *et al.*, 2012). Selain *P. stipitis* dapat juga menggunakan *M. indicus* dalam proses fermentasi bioetanol. *M. indicus* mampu mengkonversi glukosa serta menghasilkan bioetanol (Abedenifar *et al.*, 2009). Laju fermentasi yang dihasilkan pada proses biologis akan memberikan hasil lebih tinggi bila dibandingkan pada proses secara fisika (Wiratmaja, 2011).

Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan jenis mikroorganisme yang tepat dalam proses fermentasi eceng gondok dengan metode SSF. Tujuan lain dalam penelitian ini adalah untuk menentukan dosis penambahan mikroorganisme yang terbaik pada proses fermentasi eceng gondok. Penentuan jenis mikroba yang dipergunakan serta dosis yang ditambahkan pada tahap fermentasi sangat mempengaruhi pembentukan bioetanol. Hasil dari penelitian ini kelak dapat dijadikan acuan dalam pencapaian produksi bioetanol berbahan baku eceng gondok. Penelitian ini dilakukan untuk memanfaatkan limbah eceng gondok yang mengandung lignoselulosa sebagai bahan baku pembuatan bioetanol. Selain sebagai upaya pengendalian pertumbuhan eceng gondok, juga sebagai upaya mencari alternatif bahan baku pembuatan bioetanol.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang penelitian, maka dapat disusun rumusan masalah antara lain:

1. Jenis mikroba apakah yang terbaik dapat digunakan dalam proses fermentasi eceng gondok dengan metode SSF?
2. Berapakah dosis yang tepat pada penambahan mikroorganisme dalam proses fermentasi eceng gondok?

## 1.3 Tujuan

Tujuan yang ingin dicapai pada penelitian ini adalah:

1. Menentukan jenis mikroorganisme yang memberikan hasil bioetanol maksimum dalam proses fermentasi eceng gondok dengan metode SSF.
2. Menentukan dosis penambahan mikroorganisme yang terbaik pada proses fermentasi eceng gondok.

## 1.4 Ruang Lingkup

Ruang lingkup pada penelitian ini adalah:

1. Eceng gondok yang dipakai pada penelitian ini adalah eceng gondok yang diperoleh dari kawasan Kampus Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.
2. Penelitian dilakukan di Laboratorium Limbah Padat dan Bahan Berbahaya dan Beracun Jurusan Teknik Lingkungan ITS.
3. Penelitian adalah skala laboratorium.
4. Varian yang dipakai adalah menggunakan jenis mikroorganisme *P. stipitis*, *M. indicus* serta dosis penambahan mikroba pada tahap fermentasi, jumlah substrat dari eceng gondok dan waktu fermentasi.
5. Pengukuran dan pengecekan kadar hemiselulosa, selulosa dan lignin menggunakan metode Datta, penentuan kadar gula reduksi menggunakan metode Nelson-Somogyi serta kadar bioetanol menggunakan metode *Gas Chromatography*.

## **1.5 Manfaat Penelitian**

Manfaat dilakukannya penelitian ini adalah:

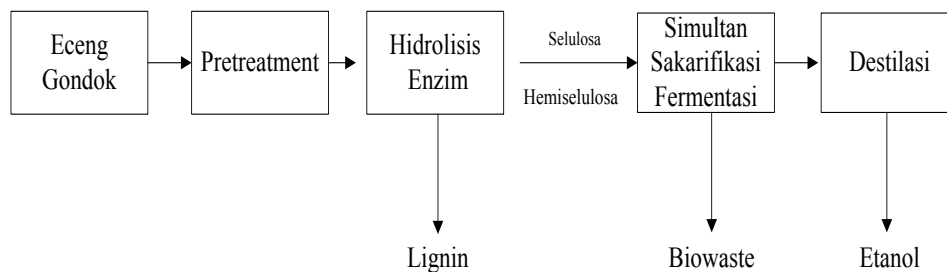
1. Manfaat bagi dunia pendidikan
  - Sebagai referensi untuk penelitian selanjutnya yang berhubungan dengan pembuatan bioetanol berbahan dasar eceng gondok dengan metode SSF.
  - Sebagai alternatif lain dalam meningkatkan efisiensi proses pembuatan bioetanol berbahan dasar eceng gondok.
2. Manfaat bagi pemerintah
  - Sebagai referensi dalam mengembangkan sumber energi alternatif berupa bioetanol dari eceng gondok.
  - Sebagai referensi untuk mengurangi permasalahan lingkungan akibat pesatnya pertumbuhan eceng gondok yang bila tidak dilakukan pengelolaan atau dimanfaatkan maka akan menambah jumlah sampah terutama sampah yang berasal dari biomassa.
3. Manfaat bagi masyarakat

Sebagai dasar referensi tambahan untuk mengetahui tahap pembuatan eceng gondok yang terbaik dalam proses pembuatan bioetanol.

## BAB II KAJIAN PUSTAKA

### 2.1 Proses Pembuatan Bioetanol

Bioetanol merupakan cairan biokimia hasil proses fermentasi gula dari sumber lignoselulosa yang terurai menjadi hemiselulosa dan gula reduksi menggunakan bantuan mikroorganisme. Produksi bioetanol dari tanaman yang mengandung pati atau karbohidrat, dilakukan melalui proses konversi karbohidrat menjadi gula (glukosa), kemudian glukosa diubah menjadi bioetanol dengan bantuan bakteri. Hasil dari bioetanol yang memenuhi standar, hampir tidak menimbulkan efek samping. Metode pembuatan bioetanol ada dua macam yaitu *Separate Hydrolysis Fermentation* (SHF) dan *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF). Metode SSF menjadi sangat penting untuk dikembangkan karena dapat mempersingkat proses pembuatan bioetanol. Menurut Ganguly (2012), deskripsi pembuatan bioetanol dengan bahan baku eceng gondok ditunjukkan pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Deskripsi Proses Pembuatan Bioetanol Metode SSF

(Sumber: Ganguly *et al.*, 2012)

Bioetanol disebut juga etil-alkohol atau alkohol. Pada kehidupan sehari-hari alkohol yang paling sering digunakan adalah alkohol yang dibuat melalui proses kimiawi pada skala industri. Kegunaan bioetanol sangat luas di antaranya sebagai bahan dasar pada minuman. Sedangkan bioetanol adalah etanol (alkohol yang paling dikenal masyarakat) yang dibuat dengan fermentasi yang membutuhkan faktor biologis untuk prosesnya.

### 2.1.2 Penggunaan Bioetanol

Alkohol atau bioetanol banyak digunakan sebagai pelarut berbagai bahan-bahan kimia yang ditujukan untuk konsumsi dan kegunaan manusia. Contohnya adalah pada parfum, perasa, pewarna makanan, dan obat-obatan. Dalam kimia, bioetanol adalah pelarut yang penting sekaligus sebagai stok umpan untuk sintesis senyawa kimia lainnya. Dalam sejarahnya bioetanol telah lama digunakan sebagai bahan bakar. Bioetanol memiliki karakteristik secara fisik yang akan diuraikan pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1. Sifat Fisika Bioetanol

Sifat	Satuan	Jumlah
Massa molekul relatif	g/mol	46,07
Titik beku	°C	-114,1
Titik didih normal	°C	78,32
Densitas pada 20°C	g/mL	0,7893
Kelarutan dalam air (20°C)	20°C	Sangat larut
Viskositas pada 20°C	cP	1,17
Kalor spesifik, 20°C	kal/g°C	0,579
Kalor pembakaran, 25°C	kal/g	092,1
Kalor penguapan, 78,32°C	kal/g	200,6

Sumber: Wiratmaja (2011)

Karakteristik bioetanol sebagai biofuel menurut Fifi *et al.* (2009) adalah sebagai berikut:

- Memiliki angka oktan yang tinggi.
- Mampu menurunkan tingkat opasiti asap, emisi partikulat yang membahayakan kesehatan, dan emisi CO serta CO<sub>2</sub>.
- Mirip dengan bensin, sehingga penggunaanya tidak memerlukan modifikasi mesin.
- Tidak mengandung senyawa timbal.

### 2.2 Karakteristik Eceng Gondok

Eceng gondok (*Eichhornia crassipes*) merupakan jenis gulma yang pertumbuhannya sangat cepat. Pertumbuhan eceng gondok dapat mencapai 1,9% per hari dengan tinggi antara 0,3-0,5 m (Pramudono *et al.*, 2012). Pertumbuhan

eceng gondok yang sangat cepat ini merugikan kualitas perairan karena dapat menutupi permukaan perairan dan akan menyebabkan kandungan oksigen dan paparan sinar matahari dalam perairan berkurang. Menurut Hasim (2003) klasifikasi tanaman eceng gondok adalah:

Divisi : Embryophytasi phonogama

Kelas : Monocotyledoneae

Ordo : Farinosae

Familia : Pontederiaceae

Genus : *Eichhornia*

Spesies : *Eichhornia crassipes*

Pada Tabel 2.2 ditunjukkan komposisi eceng gondok dengan beberapa parameter. Berdasarkan penelitian yang dilakukan (Farrel *et al.*, 2009) diketahui parameter yang terdapat pada komponen eceng gondok.

**Tabel 2.2** Komposisi Eceng Gondok dari Beberapa Parameter

Parameter	Satuan	Nilai rata-rata $\pm$ s
Total Solid (TS)	g/kg	35,81 $\pm$ 1,37
Volatil Solid (VS)	%TS	83,13 $\pm$ 1,98
Total Suspended Solid (TSS)	g/kg	29,29 $\pm$ 0,31
TSS/TS	%	81,2 $\pm$ 11,2
Kjeldahl Nitrogen	mg/kg	1,56
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	g/kg	81,2 $\pm$ 11,2
Total COD	%	52,1 $\pm$ 1,5
Soluble COD (sCOD)		2,08 $\pm$ 0,52
sCOD/COD		3,99 $\pm$ 1,58
pH		6,00 $\pm$ 0,01
Total alkalinity	g CaCO <sub>3</sub> /L	1,13
Partial alkalinity	g CaCO <sub>3</sub> /L	0,22

Sumber: Farrel *et al.*, (2009)

Pada eceng gondok terdapat komponen penting lignoselulosa. Nigam (2002) menyatakan bahwa besarnya kandungan hemiselulosa, selulosa, lignin dan



komponen lain yang terdapat pada eceng gondok adalah seperti yang dijelaskan pada Tabel 2.3

Tabel 2.3 Komposisi Rata-rata dari Eceng Gondok

<b>Komponen</b>	<b>Berat Basah (%)</b>
TS	5,0-7,6
Kadar air	92,8-95,0
Volatil Solid (sebagai % TS)	4,2-6,1 (80,0-82,0)
Komponen organik	(% TS)
Hemiselulosa	48,70±0,027
Selulosa	18,20±0,012
Lignin	3,50±0,004
Protein	13,3±0,020

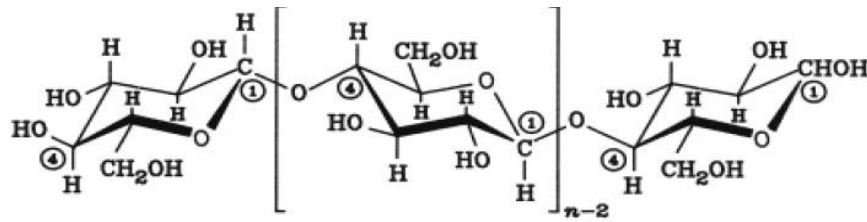
Sumber: Nigam (2002)

## **2.3 Komponen Lignoselulosa**

### **2.3.1 Selulosa**

Selulosa adalah komponen utama dari lignoselulosa yang terdiri dari unit struktur D-glukosa yang terikat pada ikatan 1,4-glikosidik. Selulosa cenderung membentuk mikrofibril melalui ikatan inter dan intra molekuler sehingga memberikan struktur yang larut. Mikrofibril selulosa terdiri dari 2 tipe, yaitu kristalin dan amorf.

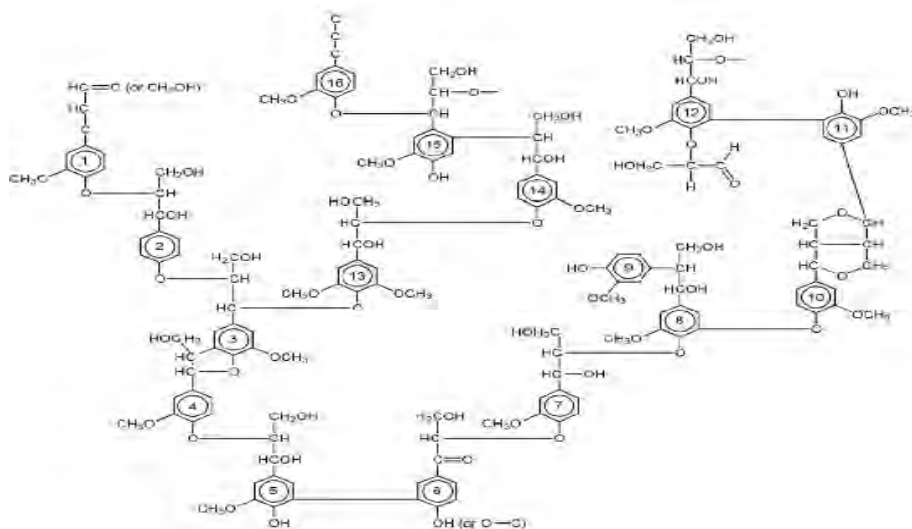
Selulosa adalah karbohidrat yang paling melimpah dan mudah diperbarui. Akhir-akhir ini, banyak peneliti mengungkapkan bahwa limbah yang mengandung selulosa dapat digunakan sebagai sumber gula yang murah dan mudah didapat untuk menggantikan bahan pati dalam proses fermentasi (Graf dan Koehler, 2000). Sumber selulosa yang dapat digunakan diantaranya adalah sisa-sisa produk pertanian dan hasil hutan, kertas bekas, dan limbah industri (White, 2000). Selulosa merupakan penyusun utama dinding sel tanaman. Selulosa termasuk polimer glukosa dengan ikatan  $\beta$ -1,4 glukosida dalam rantai panjang lurus. Rantai selulosa terhubung dengan ikatan oksigen dan gaya van der Waals (Perez *et al.*, 2002). Kadar selulosa pada dinding sel tumbuhan bisa mencapai 35-50% dari berat kering bahan lignoselulosa (Lynd *et al.*, 2002). Menurut Hamsen (2010) struktur hemiselulosa bila dilihat melalui mikroskop akan menunjukkan rantai ikatan kimia menurut seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Struktur Selulosa (Harmsen *et al.*, 2010)

### 2.3.2 Lignin

Lignin adalah bagian utama dari dinding sel tanaman yang merupakan polimer terbanyak setelah selulosa. Lignin yang merupakan polimer aromatik berasosiasi dengan polisakarida pada dinding sel sekunder tanaman dan terdapat sekitar 20-40%. Komponen lignin pada sel tanaman (struktur gualis dan siringil) berpengaruh terhadap pelepasan dan hidrolisis polisakarida (Anindyawati, 2009). Lignin merupakan polimer yang memiliki struktur aromatik yang terbentuk dari unit-unit penilpropan (Sjorberg, 2003) yang berikatan dengan ikatan yang berbeda (Perez *et al.*, 2002). Lignin berikatan dengan selulosa dan hemiselulosa dalam jaringan dan dinding sel tumbuhan. Fungsi utama lignin pada tumbuhan adalah memperkuat struktur tumbuhan dan sebagai perlindungan tanaman terhadap serangan mikroba dan tekanan oksidasi (Hendriks dan Zeeman, 2009). Struktur ikatan kimia lignin dapat dilihat pada Gambar 2.3.

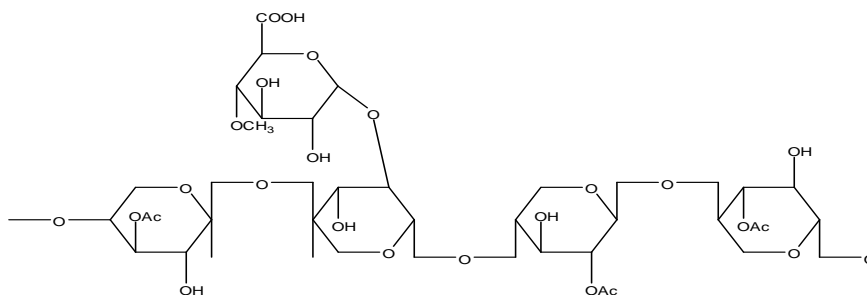


Gambar 2.3 Struktur Lignin (Harmsen *et al.*, 2010)

### 2.3.3 Hemiselulosa

Hemiselulosa merupakan satu penyusun dinding sel tumbuhan selain selulosa dan lignin, yang terdiri dari kumpulan beberapa unit gula atau disebut heteropolisakarida, dan di kelompokkan berdasarkan residu gula utama sebagai penyusunnya seperti xylan, mannan, galactan dan glucan. Hemiselulosa terikat dengan polisakarida, protein dan lignin dan lebih mudah larut dibandingkan dengan selulosa. Hemiselulosa termasuk polisakarida heterogen dari pentosa (xilosa, arabinosa), heksosa (mannosa, glukosa, galaktosa) dan *sugar acid* yang mempunyai berat molekul rendah (Saha, 2003). Hemiselulosa memiliki struktur yang heterogen dan derajat polimerisasi yang relatif rendah. Struktur tersebut menyebabkan hemiselulosa dapat dihidrolisis lebih mudah dibandingkan dengan komponen kristal selulosa (Widianti, 2010).

Hemiselulosa dapat mengikat lembaran serat selulosa membentuk mikrofibril sehingga dapat meningkatkan stabilitas dinding sel pada tumbuhan. Perbedaan selulosa dan hemiselulosa adalah hemiselulosa mempunyai derajat polimerisasi yang lebih rendah dari selulosa, yaitu sekitar 50-100 unit. Hemiselulosa juga lebih mudah larut dalam alkali dibandingkan dengan selulosa. Hemiselulosa dapat larut dalam alkali dengan konsentrasi rendah. Banyaknya percabangan hemiselulosa berbanding lurus dengan tingkat kelarutannya dengan alkali (Kusnandar, 2010). Struktur ikatan kimia hemiselulosa menurut (Zabel dan Morrell, 1992) dapat dilihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Struktur Hemiselulosa (Zabel dan Morrell, 1992)

Menurut Mishima (2008), besarnya kandungan gula, glukosa, arabinosa, hemiselulosa, selulosa yang terkandung dalam eceng gondok, daun selada air, jerami gandum, serta limbah kapas dapat dilihat pada Tabel 2.4.

Tabel 2.4 Kandungan Gula dan Karbohidrat pada Eceng Gondok, Limbah Pertanian dan Beberapa Tanaman Air

Komponen	Tanaman air				Limbah pertanian			
	Daun Eceng Gondok		Daun selada air		Eceng Gondok	Jeram gandum	Limbah kapas	
	Tanpa ditreatment	Ditreatment	Tanpa ditreatment	Ditreatment				
Gula								
Glukosa	17,2	25,7	19,5	27		36,6	20	
Man/Gal/Xyl Polimer karbohidrat	5,1	5,6	5,0	5,1		22,4	6,8	
Selulosa	19,7	34,2	16,5	28,4	35	18,2	30	
Hemiselulosa	27,1	27	17,3	18,7	18,3	48,7	50	
Pati	4,1	4,1	6,4	7,4	1,9			
Referensi	Mishima dkk. (2008)				Abraham dan Kurup (1996)	Nigam (2002)	Lee (1997); Sun dan Cheng (2002)	Lee (1997)

Keterangan N.D: tidak terdeteksi

Sumber: Mishima *et al.*,(2008)

## 2.4 Tahapan Proses Pembuatan Bioetanol

### 2.4.1 Tahapan pembentukan bioetanol

Proses pembuatan bioetanol melalui beberapa tahapan pembentukan dan reaksi. Pada setiap tahapan pembentukan bioetanol, terjadi baik dengan bantuan secara fisik, kimia maupun biologi. Proses secara fisik meliputi pemanasan, penggilingan, secara kimia yaitu dengan bantuan asam dan basa sedangkan secara biologis yaitu dengan bantuan mikroorganisme seperti bakteri, jamur ataupun

ragi. Tahapan dalam pembuatan bioetanol meliputi, *pretreatment*, sakarifikasi, fermentasi dan destilasi.

#### **2.4.2 Tahap *pretreatment***

Pada tahap ini dimaksudkan agar bahan baku yang akan digunakan berupa eceng gondok akan lebih mudah terurai menjadi komponen-komponen lignoselulosa yaitu hemiselulosa, selulosa dan lignin.

Degradasi lignoselulosa akan menjadi lebih mudah bila dilakukan proses *pretreatment* terlebih dahulu (Wardani *et al.*, 2012). Menurut Mosier dan Nathan (2005); Sun dan Cheng (2002), proses *pretreatment* lignoselulosa terbagi menjadi 4 metode yang masing-masing memiliki kelebihan dan kekurangan, antara lain:

1. Perlakuan pendahuluan secara fisika

Proses ini dimulai dengan proses pencacahan secara mekanik, kemudian dilanjutkan dengan proses penggilingan bahan baku sehingga diperoleh tepung atau serbuk kasar. Proses mengubah ukuran bahan baku bertujuan untuk mengurangi kristalisasi selulosa. *Pretreatment* ini cukup memberikan pengaruh yang baik terhadap efektifitas enzim dalam memecah lignoselulosa. *Pretreatment* secara fisika pada praktek di lapangan membutuhkan energi yang cukup besar sehingga dapat menambah biaya produksi.

2. Perlakuan pendahuluan secara kimia

Contoh perlakuan pendahuluan secara kimia antara lain ozonolisis, hidrolisis asam, hidrolisis alkali, delignifikasi oksidatif dan proses organosol. Perlakuan pendahuluan secara kimia merupakan jenis yang paling banyak digunakan karena kelebihanannya yang mudah digunakan, efektif, cepat dan tidak membutuhkan energi yang terlalu besar. Penggunaan senyawa kimia secara berlebihan tentunya akan berdampak buruk bagi lingkungan. Hal tersebut dapat memicu pembentukan senyawa toksik. Senyawa toksik sendiri juga dapat menghambat proses hidrolisis polisakarida pada tahap selanjutnya dalam lignin. Oleh karena itu, akibat dampak yang ditimbulkan dari penggunaan bahan kimia, para peneliti mulai mencari alternatif lain dalam mengembangkan metode yang lebih

ramah lingkungan.

3. Perlakuan pendahuluan secara fisikokimia

Contoh perlakuan pendahuluan secara fisikokimia antara lain *steam explosion*, *ammonia fiber explosion* (AFEX) dan *CO<sub>2</sub> explosion*. Pada perlakuan pendahuluan ini adalah gabungan antara fisika dan kimia, di mana memiliki kelebihan yang mirip dengan jenis fisika dan kimia yakni, efektif dan cepat dalam memecah lignoselulosa. Kelemahannya memerlukan energi yang cukup besar namun masih di bawah fisika. Selain itu, penggunaan senyawa kimia juga berdampak buruk bagi lingkungan. Pada fisikokimia metode yang sering digunakan adalah *steam explosion*.

4. Perlakuan pendahuluan secara biologi

Perlakuan pendahuluan secara biologi adalah dengan menggunakan mikroorganisme seperti jamur pelapuk coklat, jamur pelapuk putih. Jenis jamur pelunak putih digunakan untuk mendegradasi selulosa, lignin dan hemiselulosa yang ada dalam bahan lignoselulosa. Metode biologi mulai banyak diteliti saat ini. Sebelumnya, ini kurang diminati karena penggunaannya yang membutuhkan waktu lama dalam proses mendegradasi lignoselulosa dan dapat menyebabkan degradasi selulosa dan hemiselulosa, sehingga jumlah selulosa dan hemiselulosa yang dapat dimanfaatkan menjadi berkurang. Walaupun demikian, jenis ini paling banyak digunakan, karena sifatnya yang ramah terhadap lingkungan. Karena beragamnya bahan lignoselulosa, penelitian proses perlakuan pendahuluan yang optimal terhadap bahan ini masih perlu dilakukan. Bahan baku yang berbeda akan memerlukan perlakuan pendahuluan yang berbeda pula. Oleh karena itu, tidak ada satu metode umum yang berlaku untuk *pretreatment* semua bahan lignoselulosa.

#### 2.4.2 Karakteristik Jamur Pelapuk Putih

Pada tahap *pretreatment* digunakan mikroba berupa jamur Jamur Pelapuk Putih atau biasa dikenal dengan nama *Phanerochaete chrysosporium* (*P. chrysosporium*) mempunyai suhu pertumbuhan optimum 40°C, pH 4-7, dan

kondisi aerob. Berbeda dengan jenis jamur lainnya, jamur pelapuk putih merupakan jenis yang paling aktif di dalam mendegradasi lignin. Jamur pelapuk putih memerlukan sumber karbon sebagai energi tambahan untuk nutrisinya. Jamur yang diketahui memiliki kemampuan lignoselulolitik adalah jamur *P. chrysosporium* dan merupakan jenis jamur yang paling banyak dipelajari (Howard *et al.*, 2003). Lignoselulolitik adalah keadaan dimana jamur mengeluarkan enzim yang dapat mendegradasi lignoselulosa. Klasifikasi jamur *P. chrysosporium* (Fadilah *et al.*, 2006):

Divisi : Eumycota  
Sub Divisi : Basidiomycotania  
Kelas : Hymenozygomycetes  
Sub Kelas : Holobasidiomycetidae  
Genus : *Phanerochaete*  
Spesies : *Phanerochaete chrysosporium*

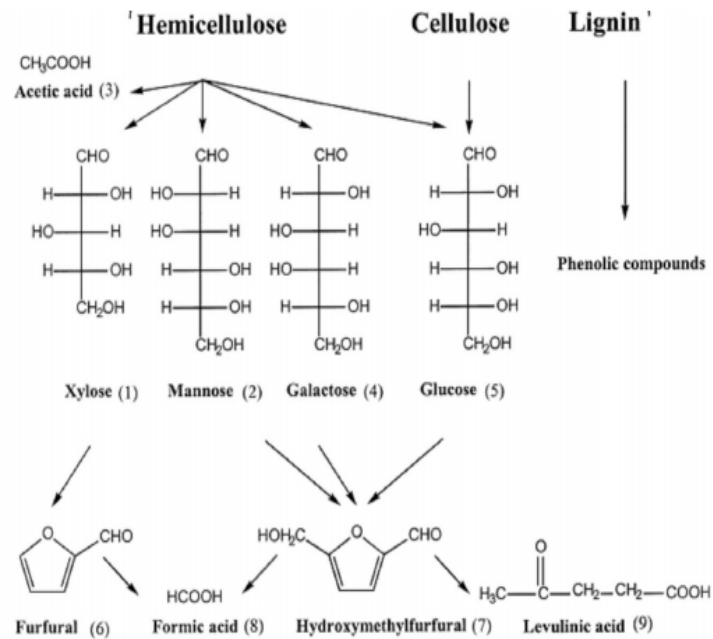
### **2.4.3 Tahap hidrolisis**

#### **2.4.3.1 Proses Hidrolisis**

Proses hidrolisis bertujuan untuk memecah ikatan lignin, menghilangkan kandungan lignin dan hemiselulosa, merusak struktur kristal dari selulosa serta meningkatkan porositas bahan (Sun dan Cheng, 2002). Rusaknya struktur kristal selulosa akan mempermudah terurainya selulosa menjadi glukosa. Selain itu, hemiselulosa turut terurai menjadi senyawa gula sederhana: glukosa, galaktosa, manosa, heksosa, pentosa, xilosa dan arabinosa. Reaksi penguraian hemiselulosa, selulosa dan lignin dijelaskan pada Gambar 2.5.

Hidrolisis meliputi proses pemecahan polisakarida di dalam lignoselulosa yaitu: selulosa dan hemiselulosa menjadi struktur gula penyusunnya. Hidrolisis sempurna selulosa menghasilkan glukosa, sedangkan hemiselulosa menghasilkan beberapa struktur gula pentose (C<sub>5</sub>) dan heksosa (C<sub>6</sub>). Hidrolisis dapat dilakukan secara kimia (asam) atau enzimatik. Dalam proses hidrolisis ini, selulosa yang telah terpisah dari lignin pada proses sebelumnya, akan diubah menjadi gula reduksi untuk selanjutnya masuk ke proses fermentasi agar menghasilkan bioetanol. Penggunaan mikroba pada proses ini biasanya adalah jamur penghasil

enzim selulase, seperti *T.reesei*, *T. viride*, dan khamir, dengan suhu optimal 38<sup>0</sup> C, dengan konsentrasi substrat biasanya sekitar 10%, dosis enzim 10– 20 FPU/g selulosa, dan konsentrasi khamir 1,5– 3 g/l, juga membutuhkan waktu selama 72 jam.



Gambar 2.5 Hasil Degradasi Monosakarida  
(Sumber: Palmqvist dan Hahn-Hagerdal, 2000)

Enzim selulase dalam hidrolisis enzimatik, diproduksi oleh mikroba selulolitik yaitu bakteri dan jamur antara lain jamur *T. viride*, *A. niger*. Pada penelitian yang pernah dilakukan, enzim selulase yang diisolasi dari *T. viride* mampu menghidrolisis selulosa menjadi glukosa dengan kadar lebih tinggi dua hingga empat kali lipat dibandingkan *A. niger* (Sreenath, 2002), sehingga potensi pembentukan bioetanol akan menjadi lebih besar. Enzim yang digunakan untuk menghidrolisis selulosa yaitu enzim selulase. Enzim selulase terdapat 3 jenis yaitu endoglukonase, eksoglukonase (selobiohidrolase) dan  $\beta$ -glukonase (Ul-haq *et al.*, 2005).

Beberapa bakteri dapat menguraikan selulosa dalam proses hidrolisis. Hasil dari penguraian selulosa dapat dilanjutkan pada tahap fermentasi bioetanol



dengan bahan baku tumbuhan yang memiliki komponen lignoselulosa. Bakteri tersebut antara lain *T. viride* dan *A. niger*.

#### **2.4.3.2 Karakteristik Mikroorganisme Selulolitik.**

##### **a. Karakteristik *Trichoderma viride***

*Trichoderma viride* (*T. viride*) adalah satu jamur tanah yang dengan suhu tumbuh 25°C-37° C, pH tumbuh 4-7 dalam kondisi anaerob, yang hampir dapat ditemui pada lahan pertanian dan perkebunan. *Trichoderma* bersifat saprofit pada tanah, kayu, dan beberapa jenis bersifat parasit pada jamur lain. *T. viride* merupakan jenis yang paling banyak dijumpai di antara genusnya dan mempunyai kelimpahan yang tinggi pada tanah dan bahan yang mengalami dekomposisi. *T. viride* adalah satu jenis jamur yang bersifat selulolitik karena dapat menghasilkan selulase. Banyak kapang yang bersifat selulolitik tetapi tidak banyak yang menghasilkan enzim selulase yang cukup banyak untuk dapat dipakai secara langsung dalam skala besar. Kapang selulolitik yang cukup baik memproduksi enzim selulolitik adalah *T. viride* bisa dikatakan sebagai mikroorganisme yang mampu menghancurkan selulosa tingkat tinggi dan memiliki kemampuan mensintesis beberapa faktor esensial untuk melarutkan bagian selulosa yang terikat kuat dengan ikatan hidrogen. *T. viride* merupakan kelompok jamur selulolitik yang dapat menguraikan selulosa dengan bantuan enzim kompleks selulase. Enzim ini berfungsi sebagai agen pengurai yang spesifik untuk menghidrolisis ikatan kimia dari selulosa dan turunannya. *T. viride* dan *Trichoderma reesei* merupakan kelompok jamur tanah sebagai penghasil selulase yang paling efisien. Klasifikasi kapang *Mikro aerobik* (Handayani, 2013):

Kingdom : Fungi  
Divisio : Amastigomycota  
Subdivisio : Deuteromycotina  
Classis : Deuteromycetes  
Ordo : Moniliales  
Family : Moniliaceae  
Genus : *Trichoderma*  
Species : *T. viride*

### **b. Karakteristik *Aspergillus niger***

*Aspergillus niger* (*A. niger*) termasuk genus *Aspergillus*, famili Eurotiaciae dan ordo Eurotiaciae. Suhu optimum aktivitas enzim selulase dari ekstrak *A. niger* adalah 45<sup>o</sup> C dan pH optimum pada 4,2 dengan aktivitas spesifik 2,082 U/mg protein (Yusak, 2004). *A. niger* menghasilkan  $\beta$ -glukosidase tinggi akan tetapi endo- $\beta$ -1, 4-glukanase dan ekso- $\beta$ -1, 4-glukonasenya rendah sehingga dapat memecah selulosa menjadi glukosa (Taherzadeh dan Karimi, 2007; Safaria *et al.*, 2013).

*A. niger* merupakan satu spesies yang paling umum dan mudah diidentifikasi dari genus *Aspergillus*, famili Moniliaceae, ordo Moniliales dan kelas Fungi imperfecti. *A. niger* dapat tumbuh dengan cepat, digunakan secara komersial dalam produksi asam sitrat, asam glukonat dan pembuatan berapa enzim seperti amilase, pektinase, amiloglukosidase dan selulase. *A. niger* dapat tumbuh pada suhu 35<sup>o</sup> C-37<sup>o</sup> C (optimum), 6<sup>o</sup> C-8<sup>o</sup> C (minimum), 45<sup>o</sup> C-47<sup>o</sup> C (maksimum) dan memerlukan oksigen yang cukup (aerobik). *A. niger* memiliki bulu dasar berwarna putih atau kuning dengan lapisan konidiospora tebal berwarna coklat gelap sampai hitam. Proses hidrolisis dapat dengan menggunakan enzim yang sering disebut dengan *enzymatic hydrolysis* yaitu hidrolisis dengan menggunakan enzim jenis selulase atau jenis yang lain. Keuntungan dari hidrolisis dengan enzim dapat mengurangi penggunaan asam sehingga dapat mengurangi efek negatif terhadap lingkungan. Klasifikasi *A. niger* (Ingrid dan Suharto, 2012):

Kingdom	: Fungi
Divisi	: Ascomycota
Kelas	: Eurotiomycetes
Ordo	: Eurotiales
Famili	: Trichocomaceae
Genus	: <i>Aspergillus</i>
Spesies	: <i>Aspergillus niger</i>

#### 2.4.4 Tahap Fermentasi

Material berbasis lignoselulosa (*lignocellulosic material*) memiliki substrat yang cukup kompleks karena di dalamnya mengandung lignin, hemiselulosa, selulosa, polisakarida, zat ekstraktif, dan senyawa organik lainnya. Bagian terpenting dan mempunyai persentase terbanyak dalam *lignocellulosic material* adalah polisakarida khususnya selulosa yang terbungkus oleh lignin dengan ikatan yang cukup kuat. Dalam kaitan konversi biomasa seperti eceng gondok yang akan diubah menjadi bioetanol, bagian yang terpenting adalah polisakarida. Karena polisakarida tersebut yang akan dihidrolisis menjadi monosakarida seperti glukosa, sukrosa, xilosa, arabinosa dan lain-lain sebelum dikonversi menjadi bioetanol.

Menurut Takagi (1977) *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF), yaitu kombinasi antara hidrolisis dengan fermentasi menggunakan enzim selulase dan *yeast* untuk fermentasi gula menjadi bioetanol secara simultan. Proses hidrolisis dan fermentasi ini akan sangat efisien dan efektif jika dilaksanakan secara bersamaan.

Proses sakarifikasi dan proses fermentasi secara bersamaan, sebenarnya hampir sama dengan dengan proses yang terpisah antara hidrolisis dengan enzim dan proses fermentasi, hanya dalam proses SSF, tahap hidrolisis dan fermentasi dilakukan dalam satu reaktor. Keuntungan dari proses fermentasi secara serentak adalah polisakarida telah diubah menjadi monosakarida langsung di fermentasi menjadi bioetanol. Selain itu dengan menggunakan satu reaktor dalam prosesnya akan mengurangi biaya peralatan yang digunakan (Sun dan Cheng, 2002). Proses sakarifikasi dan fermentasi serentak memiliki keunggulan yaitu:

- Meningkatkan kecepatan hidrolisis dengan mengkonversi gula yang terbentuk dari hasil hidrolisis selulosa yang menghambat aktivitas enzim selulase.
- Mengurangi kebutuhan enzim.
- Meningkatkan rendemen produk.
- Mengurangi kebutuhan kondisi steril karena glukosa langsung dikonversi menjadi bioetanol.
- Waktu proses lebih pendek.

- Volume reaktor lebih kecil karena hanya digunakan satu reaktor.

Menurut Zakpaa (2009), selain kelebihan proses SSF memiliki beberapa kelemahan antara lain:

- Suhu hidrolisis dan fermentasi tidak sama.
- Toleransi mikroba terhadap bioetanol.
- Penghambatan kerja enzim terhadap bioetanol.
- Kesulitan memisahkan sel khamir dari sisa lignin dan serat yang dapat mengakibatkan kebutuhan khamir meningkat, sehingga menurunkan produksi bioetanol.

Fermentasi adalah proses produksi energi dalam sel dalam keadaan anaerobik (tanpa oksigen). Secara umum, fermentasi adalah bentuk respirasi anaerobik. Definisi yang lebih jelas yang mendefinisikan fermentasi sebagai respirasi dalam lingkungan anaerobik dengan tanpa akseptor elektron eksternal. Menurut Waites (2001), untuk mendapatkan sistem fermentasi yang optimum, maka fermenter harus memenuhi syarat antara lain:

- Terbebas dari kontaminan
- Volume kultur relatif konstan (tidak bocor atau menguap)
- Kadar oksigen terlarut harus memenuhi standar.
- Kondisi lingkungan seperti: suhu, pH harus terkontrol.

Gula adalah bahan yang umum dalam fermentasi. Beberapa contoh hasil fermentasi adalah bioetanol, asam laktat, dan hidrogen (Juwita, 2012). Akan tetapi beberapa komponen lain dapat juga dihasilkan dari fermentasi seperti asam butirat dan aseton. Ragi dikenal sebagai bahan yang umum digunakan dalam fermentasi untuk menghasilkan bioetanol dalam bir, anggur dan minuman beralkohol lainnya. Konsentrasi bioetanol yang tinggi akan beracun bagi ragi. Pada jenis ragi yang paling toleran terhadap bioetanol, ragi tersebut hanya dapat bertahan pada konsentrasi 15% bioetanol berdasarkan volume.

Reaksi dalam fermentasi berbeda-beda tergantung pada jenis gula yang digunakan dan produk yang dihasilkan. Secara singkat, glukosa ( $C_6H_{12}O_6$ ) yang merupakan gula paling sederhana, melalui fermentasi akan menghasilkan bioetanol ( $2C_2H_5OH$ ). Reaksi fermentasi ini dilakukan oleh ragi, dan digunakan

pada produksi makanan. Menurut Partono (1993) mikroba yang digunakan pada proses fermentasi harus memenuhi syarat antara lain:

1. Murni

Mikroba yang akan di pembiakkan harus dalam keadaan murni atau steril hal ini bertujuan untuk membantu menghasilkan produk yang berkualitas tinggi.

2. Unggul

Mikroba yang digunakan harus memiliki sifat unggul yang berarti bahwa mikroba yang diharapkan adalah mikroba yang menguntungkan.

3. Stabil

Kestabilan mikroba sangatlah dibutuhkan karena jika mikroba hidup tidak stabil maka proses penanganan dan produksi akan terganggu, bisa saja dalam proses pemanfaatannya mikroba sewaktu-waktu akan mati.

4. Bukan Pathogen

Tentunya mikroba yang akan digunakan bukanlah mikroba yang bersifat pathogenic baik bagi manusia maupun hewan.

5. Mampu tumbuh cepat dalam substrat dan lingkungan yang cocok untuk memperbanyak diri.

6. Mudah dibudidayakan dalam jumlah yang besar.

7. Mikroorganisme harus memiliki kemampuan untuk mengatur ketahann fisiologi dan memiliki enzim essential seperti: selulosa, linin peroksida, xylonase.

8. Kondisi lingkungan yang diperlukan bagi pertumbuhan harus sesuai supaya produksi maksimum.

#### **2.4.4.1 Mikroorganisme Fermentasi**

Proses fermentasi sangat dipengaruhi oleh pemilihan jenis mikroorganisme. Pemilihan jenis mikroorganisme yang akan digunakan pada proses fermentasi berdasarkan kemampuan mikroorganisme dalam mengubah glukosa menjadi bioetanol. Mikroba yang memiliki kemampuan dalam mengkonversi glukosa menjadi bioetanol antara lain: *Pichia stipitis* dan *Mucor indicus*.

#### 2.4.4.1.1 *Pichia stipitis*

##### a. Karakteristik *Pichia stipitis*

Mikroba seperti yeast *Pichia stipitis* (*P. stipitis*) secara umum mampu memfermentasi xilosa. Karena memiliki ukuran yang lebih besar, dinding sel yang tebal, tumbuh lebih baik pada pH rendah, hanya membutuhkan sedikit nutrient tertentu, dan sangat resisten terhadap kontaminan. *P. stipitis* dapat tumbuh pada pH 3-5,5, suhu tumbuh 27°C - 30°C, dapat menghasilkan yield bioetanol yang optimal apabila proses fermentasi berada hidup optimal pada kondisi mikro aerobik. Klasifikasi yeast *P. stipitis* (Jeffries *et al.*, 1992):

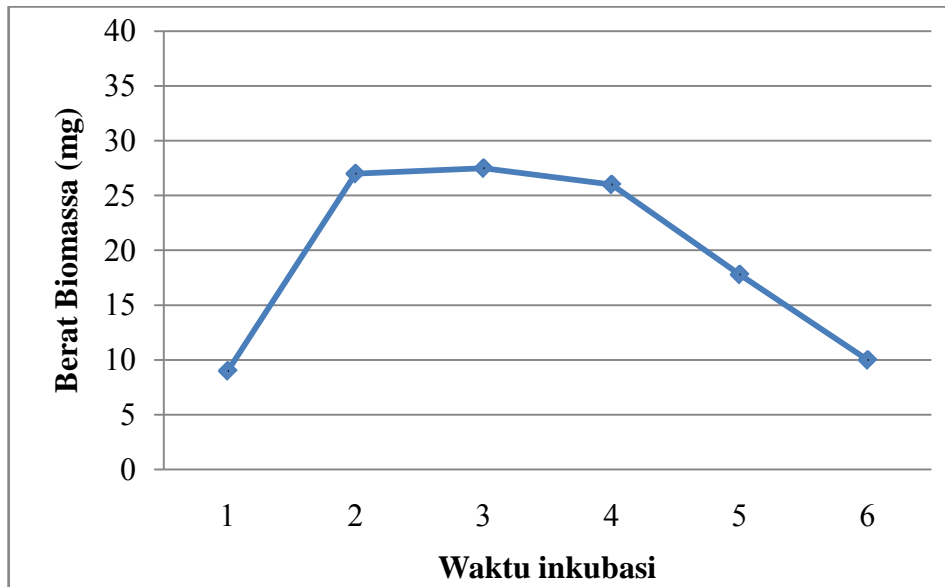
Kingdom	: Fungi
Divisi	: Ascomycotina
Kelas	: Saccharomycotina
Ordo	: Saccharomycotales
Familia	: Saccharomycotaceae
Genus	: <i>Pichia</i>
Spesies	: <i>Pichia stipitis</i>

##### b. Pertumbuhan *Pichia stipitis*

*P. stipitis* merupakan yeast pada penelitian ini dikembangkan dalam media *Potato Dextrose Broth* pada suhu ruang dan di inkubasi selama 48 jam, yang dilakukan pengocokan di atas *shaker* selama dua jam. Pertumbuhan *P. stipitis* dilakukan pengamatan selama enam hari. Pada hari kedua *P. stipitis* mulai memasuki fase eksponensial dan pada hari ketiga dan keempat yeast mulai mengalami fase logaritmik dan fase stationer dimana jumlah sel baru dengan sel yang mati jumlahnya hampir sama atau tetap. Pada hari kelima mengalami penurunan hingga hari keenam.

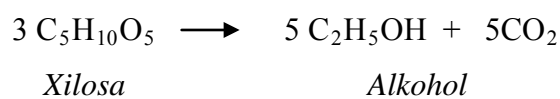
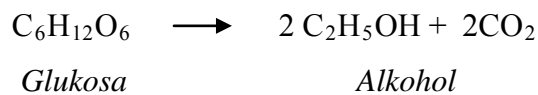
Peningkatan mikroba merupakan peningkatan semua komponen sel, sehingga menghasilkan peningkatan ukuran sel dan jumlah sel. Bakteri pada khususnya dalam penelitian ini adalah *P. stipitis* memiliki kemampuan dalam menggandakan diri secara eksponensial. Fasa logaritmik atau pertumbuhan cepat bakteri yang digunakan pada penelitian ini berakhir pada waktu dimana ditandai dengan dimulainya fasa tetap atau stationer. Dari penurunan kecepatan

pertumbuhan dan berhentinya pertumbuhan yang disebabkan karena kekurangan substrat. Pada Gambar 2.6 menjelaskan tentang kurva pertumbuhan *P. stipitis*.



Gambar 2.6 Kurva Pertumbuhan *P.stipitis*  
(Sumber: Laboratorium Universitas Airlangga )

Pada proses fermentasi xilosa dan pentosa dapat diubah menjadi bioetanol oleh ragi seperti *P. stipitis*. Yeast jenis *P. stipitis* merupakan ragi yang dapat merombak xilosa secara alami dan perekayasaan yeast ini akan semakin memperbaiki aktivitas fermentasi. *P. stipitis* dapat menghasilkan yield bioetanol yang optimal apabila kondisi proses fermentasi dalam suasana mikro aerobik (Grootjen *et al.*, 1990). Kemampuan *P.stipitis* mengubah xilosa menjadi bioetanol ditunjukkan pada mekanisme reaksi:



#### 2.4.4.1.2 *Mucor indicus*

##### a. Karakteristik *Mucor indicus*

Jenis jamur yang dapat menguraikan glukosa menjadi bioetanol salah satunya adalah jamur *M. indicus*. Jamur jenis ini dapat memfermentasi glukosa yang berasal dari pemecahan hemiselulosa dan selulosa sehingga dapat digunakan pada proses fermentasi bioetanol. Berdasarkan klasifikasi jamur *Mucor indicus* adalah:

Divisi : Amastigomycota

Subdivisi : Zygomucotina

Kelas : Zygomycetes

Ordo : Mucorales

Familia : Mucoraceae

Genus : *Mucor*

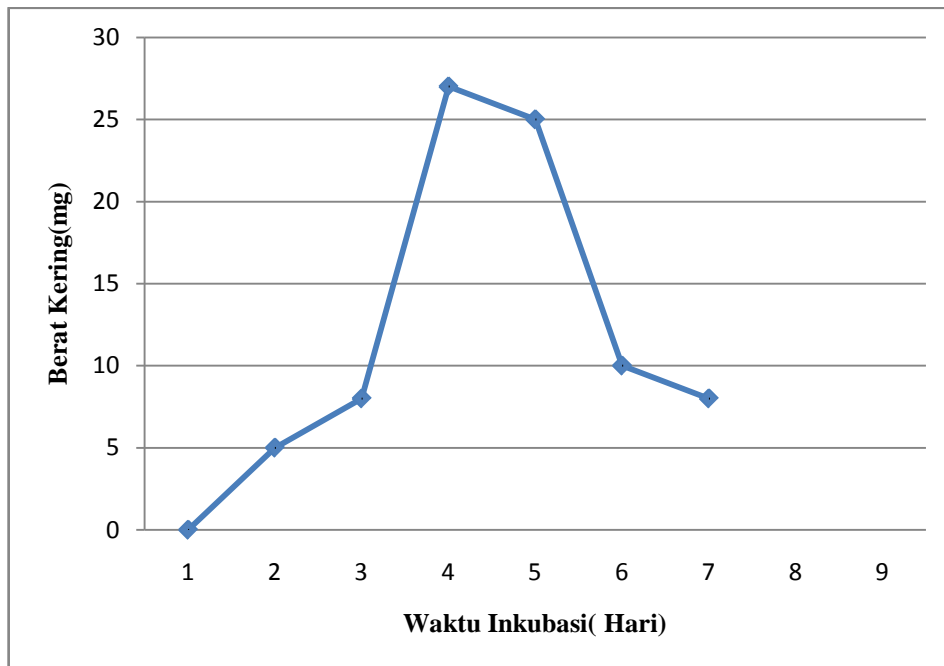
Species : *Mucor indicus*

Ciri morfologi koloni: hifa seperti benang putih, bagian tertentu tampak sporangium dan sporangiofor berupa titik-titik hitam seperti jarum pentul. Ciri mikroskopis: hifa tanpa sekat, terdapat sporangium dan sporangio-spora.

##### b. Pertumbuhan Kultur *M. indicus*

*M. indicus* merupakan jamur yang dapat mengkonversi xylosa menjadi bioetanol dibiakan dengan cara ditumbuhkan dalam media *Potato Dextrose Broth* cair. *M. indicus* ditumbuhkan pada suhu ruang dan di inkubasi selama 48 jam. Sebelum pemakaian dilakukan pengocokan manual agar spora dari *M. indicus* dapat tercampur secara merata dalam media *Potato Dextrose Broth* cair. Pengamatan pertumbuhan jamur *M. indicus* dilakukan selama tujuh hari. Hari pertama hingga hari ketiga jamur belum mencapai fase eksponensial. Pada hari keempat mulai terjadi fase eksponensial hingga hari kelima sudah mengalami penurunan. Kurva pertumbuhan dapat dilihat pada Gambar 2.7.





Gambar 2.7 Kurva Pertumbuhan *M. Indicus*  
(Sumber: Laboratorium Universitas Airlangga)

## 2.5 Model Rancangan

Rancangan faktorial dicirikan oleh perlakuan yang merupakan komposisi dari semua kemungkinan kombinasi dari taraf-taraf dua faktor atau lebih. Model rancangan faktorial lebih mengacu pada bagaimana perlakuan-perlakuan yang akan diteliti disusun, tetapi tidak menyatakan bagaimana perlakuan-perlakuan tersebut ditempatkan pada unit-unit percobaan. Keuntungan dari percobaan rancangan factorial yaitu mampu mendeteksi respon dari taraf masing-masing faktor serta interaksi antara dua faktor. Ada atau tidaknya pengaruh interaksi dapat dideteksi dari perilaku respon suatu faktor pada berbagai kondisi faktor yang lain.

### 2.5.1 Kelebihan dan kekurangan analisis variansi

Analisis variansi sering digunakan untuk menguji hipotesis tentang perbedaan rata-rata yang signifikan antara dua kelompok atau lebih. Kelebihan analisis varian jika dibandingkan dengan pengujian  $t$  yang berdasarkan perbedaan antara dua rata-rata adalah pengujian  $t$  hanya dapat menguji perbedaan antara

kedua rata-rata tersebut saja. Sehingga untuk lebih dari dua rata-rata (mean) kita harus melakukan pengujian terhadap masing-masing rata-rata dengan rata-rata lainnya.

Walaupun demikian analisis variansi memiliki kelemahan, yaitu apabila terdapat perbedaan antar kelompok yang dianalisis, letak perbedaannya tidak diketahui, apakah antara A, dan B, B dan C, A dan C dan seterusnya. Selain itu analisis variansi memerlukan paling sedikit dua kali pengulangan, bahkan empat kali lebih baik.

### **2.5.2 Metode Response Surface**

Metode permukaan respons (*response surface methodology*) merupakan sekumpulan teknik matematika dan statistika yang berguna untuk menganalisis permasalahan dimana beberapa variabel mempengaruhi variabel respons dan tujuan akhirnya adalah untuk mengoptimalkan respons. Dasar metode ini adalah memanfaatkan desain eksperimen berbantuan statistika untuk mencari nilai optimal dari suatu respons.

*“Halaman ini sengaja dikosongkan”*

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

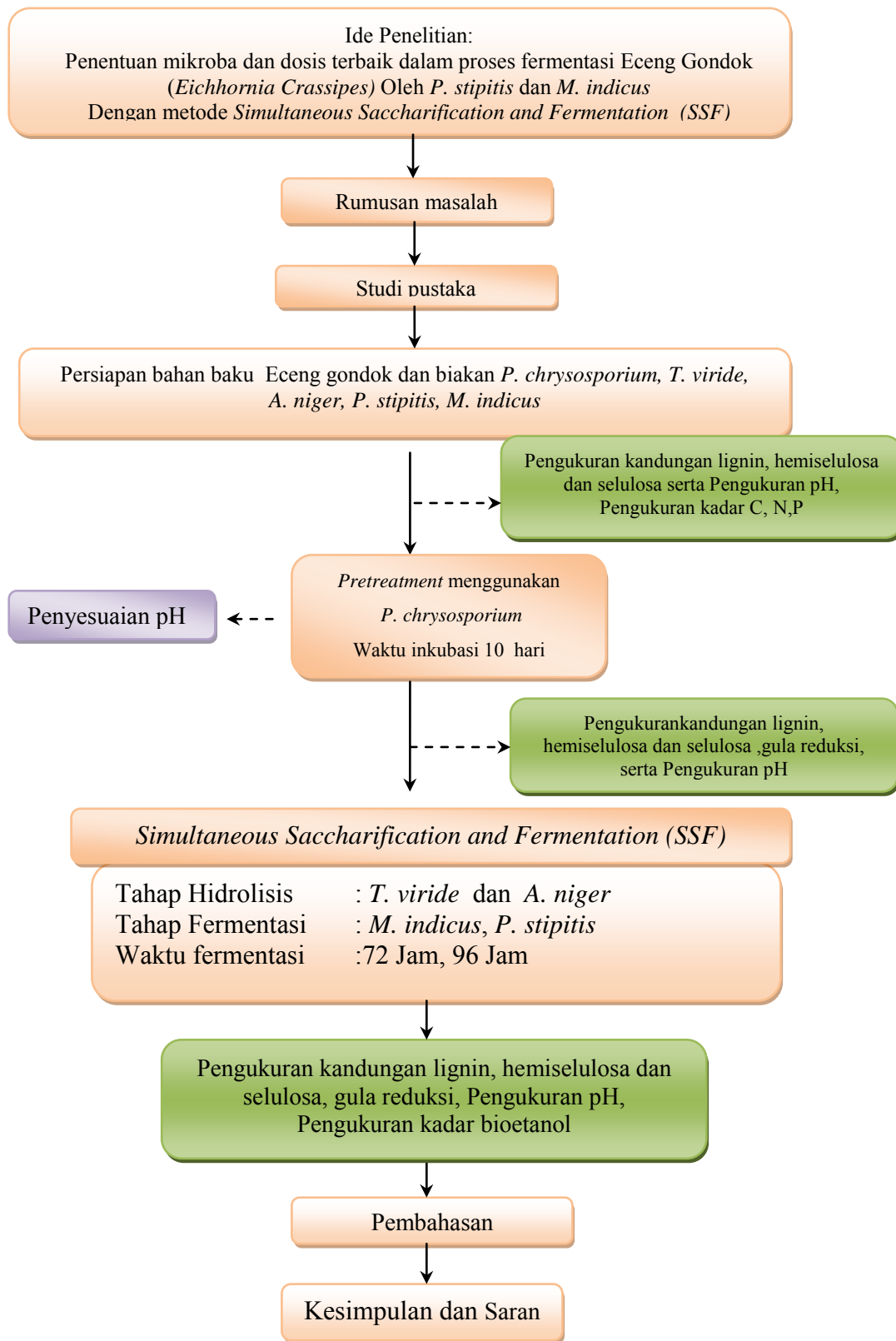
#### **3.1 Ide Penelitian**

Dasar pemikiran awal penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar bioetanol yang dihasilkan melalui proses fermentasi dengan metode *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF). Dengan penelitian ini diharapkan dapat mengetahui faktor-faktor yang mempengaruhi besarnya kadar bioetanol yang diperoleh secara fermentasi. Menggunakan variabel penelitian antara lain jenis mikroba yang digunakan, banyaknya substrat yang ditambahkan pada waktu fermentasi, konsentrasi inokulum dari mikroba yang digunakan, serta lamanya waktu fermentasi. Kadar lignin, hemiselulosa, serta selulosa yang terbentuk dianalisa dengan menggunakan metode Datta (Chesson, 1981).

Bahan baku eceng gondok yang diperoleh dari sekitar lingkungan kampus Institut Teknologi Sepuluh Nopember. Eceng gondok yang telah diperoleh dipisahkan antara daun dan batang. Setelah dilakukan pemisahan bagian tumbuhan eceng gondok antara bagian batang dan daun dilakukan proses pencucian hingga bersih. Bagian eceng gondok yang telah dicuci bersih dibuat dalam ukuran kecil 2-3 cm sehingga memudahkan proses pengeringan. Hasil pengeringan eceng gondok digiling menggunakan mesin sehingga diperoleh serat kasar. Eceng gondok yang telah digiling disimpan dalam plastik tertutup rapat menjaga agar berat eceng gondok kering tetap konstan.

#### **3.2 Kerangka Penelitian**

Kerangka penelitian berisi prinsip-prinsip penelitian yang memengaruhi dalam penelitian. Prinsip-prinsip penelitian berguna untuk membantu gambaran langkah dan arah kerja. Gambaran dari penelitian membantu dalam membahas menjelaskan yang sedang diteliti. Kerangka penelitian ini disusun untuk mengetahui tahapan-tahapan yang dilakukan pada saat penelitian ini berlangsung. Langkah-langkah yang dilaksanakan pada penelitian tesis ini dapat dilihat pada Gambar 3.1



Gambar 3.1 Kerangka Penelitian

### **3.3 Rumusan Masalah**

Jumlah eceng gondok yang semakin pesat berada di permukaan perairan yang dapat disebut juga sebagai gulma. Eceng gondok yang tidak dimanfaatkan dapat mengakibatkan masalah lingkungan sehingga perlu dimanfaatkan sebagai alternatif energi dengan mengubah menjadi bioetanol. Dalam penelitian ini dilakukan untuk mengetahui jenis mikroba yang tepat untuk digunakan pada tahap fermentasi, serta dosis penambahan mikroba yang dapat digunakan pada tahap fermentasi eceng gondok dengan metode SSF.

### **3.4 Studi Pustaka**

Pada studi pustaka dilakukan untuk memperoleh teori dasar yang dapat menunjang hasil penelitian serta berkaitan dengan penelitian yang akan dilaksanakan. Adapun sumber pustaka yang digunakan adalah hasil penelitian disertasi, tesis, skripsi, buku teks, jurnal ilmiah, prosiding dan informasi dari berbagai sumber yang dapat digunakan dalam penelitian.

### **3.5 Tahap Persiapan**

Pengambilan bahan baku eceng gondok dilakukan disekitar perairan permukiman kampus ITS Surabaya. Tahap persiapan bahan baku yang telah diperoleh, kemudian dilakukan pemilahan antara bagian batang, daun, serta akar eceng gondok. Setelah dipisahkan dilanjutkan dengan mencuci hingga bersih. Eceng gondok sudah dalam kondisi bersih kemudian dicacah. Ukuran pencacahan yang paling kecil kurang lebih 2-3 cm. Tahap selanjutnya adalah proses pengeringan dilakukan dengan menjemur eceng gondok dibawah sinar matahari langsung selama 5-7 hari sampai kering. Eceng gondok yang sudah dikeringkan digiling hingga eceng gondok dalam bentuk sebuk kasar selanjutnya disimpan dalam plastik tertutup rapat agar berat kering dari eceng gondok tetap konstan.

Persiapan lainnya dengan menumbuhkan *P. chrysosporium*, *T. viride*, *A. niger* yang berada di laboratorium sampah dan bahan berbahaya dan beracun Teknik Lingkungan ITS Surabaya serta *P. stipitis*, *M. indicus*, yang telah di kembang biakkan di laboratorium mikrobiologi Fakultas Sains dan Teknologi

Universitas Airlangga Surabaya. Persiapan biakan *P. chrysosporium*, *T. viride*, *A. niger*. Beberapa tahap yang harus dilakukan pada tahap persiapan antara lain:

### **1 Pembuatan media pertumbuhan mikroba**

#### **- Penyiapan Media *Potato Dextrose Agar* (PDA)**

Pembuatan media *Potato Dextrose Agar* dibuat dengan cara menimbang sebanyak 39 g media *Potato Dextrose Agar* kemudian dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1 l iter. Selanjutnya kultur diinkubasi tiga hari pada suhu ruang 28°C-30 °C.

#### **- Penyiapan Media *Potato Dextrose Broth* ( PDB )**

Penyiapan media *Potato Dextrose Broth* dilakukan dengan cara melarutkan 24 g *Potato Dextrose Broth* ke dalam *aquadest* yang ditempatkan pada labu erlenmeyer dengan volume satu liter. Media yang telah ditambahkan air diaduk menggunakan spatula hingga tercampur secara merata dan dilakukan diatas penangas air. Selanjutnya media disterilisasi dalam *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit.

### **2 Pembiakan Mikroba**

#### **- Pembiakan *P. stipitis***

Tahap persiapan memperbanyak *P. stipitis* dilakukan dengan menyiapkan *strain yeast P. stipitis* ditumbuhkan pada *agar plate* yang mengandung 10 g/L *yeast ekstrak*, 20 g/L pepton, 20 g/L xilosa dan 20 g/L agar dan telah disterilisasi. Mikroorganisme ditumbuhkan pada suhu 30°C selama 3 ha ri. Koloni pada *agar plate* dipindahkan ke dalam media *filter-sterilized* yang mengandung 1.7g/L *yeast nitrogen base* (tidak mengandung asam amino dan ammonium sulfat), 2.27 g/L urea, 6.56 g/L peptone dan 20 g/L xylosa. Koloni ditumbuhkan selama 1 hari. Sel disentrifugasi pada 5000 rpm selama 15 m enit dan supernatan dipisahkan dari sel. Sel disuspensi dengan 50 mL *aquadest* steril. Menghitung berat sel berdasarkan harga absorbansi pada kurva standart sel. (Yusra,2010)

- **Pembiakan *M. indicus***

*M. indicus* diperoleh dari Universitas Airlangga Fakultas Sains dan Teknologi. Jamur ditumbuhkan pada agar miring *Potato Dextrose Agar* yang mengandung 10 g/L jamur kedelai, 40 g/L glukosa, 10 g/L pepton, 20 g/L agar, 20 disterilkan 30°C. Suspensi spora adalah disiapkan dengan penambahan 10 mL 0,05 M buffer Natrium Sitrat pada agar miring disentrifugasi pada 5000 rpm selama 15 menit dan supernatan dipisahkan dari sel. Proses inkubasi pada suhu 30°C selama 5 hari dan kemudian disimpan pada dipertahankan pada suhu 4°C (Abedenifar *et al.*, 2009).

- **Pembiakan *P. chrysosporium***

Proses penyiapan biakan *P. chrysosporium* dilakukan dengan cara membuat media *Potato Dextrose Agar* dalam tabung reaksi. Kemudian dilakukan penanaman biakan *P. chrysosporium* pada media *Potato Dextrose Broth* yang telah dibuat menggunakan jarum inokulasi, setelah itu dilakukan inkubasi biakan menggunakan inkubator dengan suhu 28°C selama tiga hari (Armata, 2011).

- **Pembiakan *T. viride* dan *A. niger***

Untuk jamur *T. viride* dan *A. niger* setelah kedua jamur berumur lima hari masing-masing jamur diambil menggunakan jarum inokulasi kemudian ditambahkan aquadest 10 mL kedalam tabung reaksi kemudian dilakukan pengocokan. Dari larutan 10 mL masing-masing jamur diambil sebanyak 1 mL menggunakan pipet volumetrik, selanjutnya dilanjutkan dengan proses inokulasi pada media *Potato Dextrose Broth* kemudian dilakukan proses inkubasi selama lima hari dengan kecepatan shaker sebesar 150 rpm dan dilakukan pada suhu ruang 28°C – 30°C (Khisti *et al.*, 2011).

### **3.6 Tahap *Pretreatment***

Pada proses *pretreatment* sebanyak sepuluh reaktor berisi substrat eceng gondok sebanyak 10 g dan aquadest sebanyak 12 mL. Semua reaktor dimasukan dalam *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit. Setelah 15 menit semua reaktor dilakukan proses pendinginan. Setelah kondisi reaktor dalam keadaan



dingin ditambahkan ditambahkan 10 mL inokulan *P. chrysosporium*. Kondisi pH dijaga agar tetap konstan dengan menambahkan larutan buffer asetat.

Perlakuan yang lain adalah dengan menyiapkan sebanyak sepuluh buah reaktor dengan komposisi: 20 g substrat eceng gondok ditambahkan aquadest sebanyak 12 mL. Setelah seluruh reaktor telah terisi substrat eceng gondok dan aquadest dimasukkan kedalam *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit. Setelah semua reaktor dalam keadaan dingin masing-masing reaktor ditambahkan inokulum *P. chrysosporium* sebanyak 10 mL dan kondisi pH diatur sehingga tetap stabil.

Proses inkubasi dilakukan selama sepuluh hari pada suhu ruang. Waktu inkubasi berlaku untuk enam belas reaktor dan empat buah reaktor kontrol yang berisi eceng gondok, Jamur Pelauk Putih serta aquadest. Pada hari kesepuluh masa inkubasi, setelah sepuluh hari dilakukan pemanasan diatas waterbath selama satu jam pada suhu 100°C. Pada semua reaktor dilakukan pengujian kadar lignin, selulosa dan hemiselulosa menggunakan metode Datta. Untuk prosedur pengujian kadar lignin, selulosa dan hemiselulosa dilihat pada lampiran 1. Pengukuran kadar gula reduksi menggunakan metode Nelson-Sogyi. Prosedur pengujian terdapat pada lampiran 2.

### **3.7 Tahap Hidrolisis dan Fermentasi Secara Serentak**

Proses hidrolisis dan fermentasi dilakukan secara bersamaan dalam satu reaktor. Pada tahap hidrolisis mikroorganisme yang digunakan adalah *T. viride* dan *A. niger*. Untuk dosis penambahan jamur *T. viride* dan *A. niger* perbandingannya adalah 2 : 1 (Safaria *et al.*, 2013 ; Sutarno *et al.*, 2013) juga telah melakukan penelitian untuk tahap hidrolisis. Pada proses fermentasi penelitian ini dilakukan variasi jenis mikroba yang ditambahkan pada proses fermentasi adalah menggunakan *P. stipitis* dan *M. indicus*. Dosis penambahan *P. stipitis* pada proses fermentasi (5%  $v/v$ , 10%  $v/v$ ) (Bellido *et al.*, 2011), sedangkan dosis penambahan *M. indicus* (5%  $v/v$ , 10%  $v/v$ ) jumlah substrat yang ditambahkan 10 g dan 20 g. Waktu fermentasi yang digunakan adalah 72 jam dan 96 jam. Berdasarkan hasil penelitian (Nigam, 2000), waktu terbaik yang digunakan untuk proses fermentasi dengan *P. stipitis* adalah 72 dan 96 jam. Tahapan pada proses

hidrolisis dan fermentasi yang dilakukan secara bersamaan dilakukan dua perlakuan yaitu:

1. Untuk perlakuan menggunakan mikroba *P. stipitis* komponen bahan-bahan yang dimasukkan kedalam reaktor adalah :
  - a. 2 buah reaktor berisi substrat eceng gondok sebanyak 10 g ditambahkan aquadest 12 mL, kemudian ditambahkan 10 mL JPP, dan di inkubasi selama 10 hari. Setelah 10 hari ditambahkan inokulan *T. viride* sebanyak 6,7 mL, *A. niger* sebanyak 3,3 mL dan *P. stipitis* 5% ( $v/v$ ), serta aquadest 95 mL. Pengambilan sampel dilakukan pada jam ke- 72 dan jam ke-96 fermentasi.
  - b. 2 buah reaktor berisi substrat eceng gondok sebanyak 20 g ditambahkan aquadest 12 mL, kemudian ditambahkan 10 mL JPP, dan di inkubasi selama 10 hari. Setelah 10 hari ditambahkan inokulan *T. viride* sebanyak 13,3 mL, *A. niger* sebanyak 6,6 mL dan *P. stipitis* 5% ( $v/v$ ), serta aquadest 95 mL. Pengambilan sampel dilakukan pada jam ke- 72 dan jam ke-96 fermentasi.
  - c. 2 buah reaktor berisi substrat eceng gondok sebanyak 10 g ditambahkan aquadest 12 mL, kemudian ditambahkan 10 mL JPP di inkubasi selama 10 ha ri. Setelah 10 hari ditambahkan inokulan *T. viride* sebanyak 6,7 mL, *A. niger* sebanyak 3,3 mL dan *P. stipitis* 10% ( $v/v$ ) serta aquadest 90 mL. Pengambilan sampel dilakukan pada jam ke- 72 dan jam ke-96 fermentasi.
  - d. 2 buah reaktor berisi substrat eceng gondok sebanyak 20 g, ditambahkan aquadest 12 mL, kemudian ditambahkan 10 mL JPP di inkubasi selama 10 ha ri. Setelah 10 hari ditambahkan inokulan *T. viride* sebanyak 13,3 mL, *A. niger* sebanyak 6,7 mL dan *P. stipitis* 10% ( $v/v$ ), serta aquadest 90 mL. Pengambilan sampel dilakukan pada jam ke- 72 dan jam ke-96 fermentasi.
2. Selanjutnya untuk variasi perlakuan dengan menggunakan *M. indicus* komponen yang ada dalam reaktor adalah:
  - a. 2 reaktor berisi substrat eceng gondok sebanyak 10 g, ditambahkan 12 mL aquadest, kemudian ditambahkan 10 mL JPP, dan inkubasi selama

10 hari. Setelah 10 hari ditambahkan inokulan *T. viride* sebanyak 6,7 mL, *A. niger* sebanyak 3,3 mL, dan *M. indicus* 5% (v/v), serta aquadest 95 mL. Pengambilan sampel dilakukan pada jam ke-72 dan jam ke-96 fermentasi.

- b. 2 reaktor berisi substrat eceng gondok sebanyak 20 g, ditambahkan 12 mL aquadest, kemudian ditambahkan 10 mL JPP, dan inkubasi selama 10 hari. Setelah 10 hari ditambahkan inokulan *T. viride* sebanyak 13,3 mL, *A. niger* sebanyak 6,7 mL, dan *M. indicus* 5% (v/v), serta aquadest 95 mL. Pengambilan sampel dilakukan pada jam ke-72 dan jam ke-96 fermentasi.
- c. 2 reaktor berisi substrat eceng gondok sebanyak 10 g, ditambahkan 12 mL aquadest, kemudian ditambahkan 10 mL JPP, dan inkubasi selama 10 hari. Setelah 10 hari ditambahkan inokulan *T. viride* sebanyak 6,7 mL, *A. niger* sebanyak 3,3 mL, dan *M. indicus* 10% (v/v), serta aquadest 95 mL. Pengambilan sampel dilakukan pada jam ke-72 dan jam ke-96 fermentasi.
- d. 2 reaktor berisi substrat eceng gondok sebanyak 20 g, ditambahkan 12 mL aquadest, kemudian ditambahkan 10 mL JPP, dan inkubasi selama 10 hari. Setelah 10 hari ditambahkan inokulan *T. viride* sebanyak 13,3 mL, *A. niger* sebanyak 6,7 mL, dan *M. indicus* 10% (v/v), serta aquadest 95 mL. Pengambilan sampel dilakukan pada jam ke-72 dan jam ke-96 fermentasi.

Untuk reaktor kontrol dimana di dalamnya hanya terdapat substrat eceng gondok dan Jamur Pelapuk Putih. Pada reaktor kontrol tanpa dilakukan penambahan mikroorganisme baik untuk tahap hidrolisis maupun tahap fermentasi terdiri dari:

- 2 buah reaktor yang berisi 10 g substrat eceng gondok dan Jamur Pelapuk Putih.
- 2 buah reaktor yang terdiri dari 20 g substrat eceng gondok dan Jamur Pelapuk Putih.

### 3.7.1 Penamaan Reaktor

Pada penelitian ini menggunakan empat variabel dengan dua kali pengulangan tiap variabel. Jumlah data yang diperoleh sebanyak tiga puluh data. Reaktor dengan berbagai variasi sebanyak dua puluh reaktor dan empat buah reaktor digunakan sebagai reaktor kontrol. Penamaan reaktor yang akan dijadikan sebagai bahan acuan penelitian serta memudahkan dalam melakukan analisis data dengan menggunakan metode statistika. Penamaan reaktor dapat dilihat pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Perlakuan Reaktor dengan Berbagai Variasi Mikroorganisme dan Substrat

Mikroba		Inokulum 5%		Inokulum 10%		Kontrol
Subtrat %(v/v)		<i>M. indicus</i>	<i>P. stipitis</i>	<i>M. indicus</i>	<i>P. stipitis</i>	
72 Jam	10 g	Y <sub>ABCD1</sub>	Y <sub>aBCD1</sub>	Y <sub>AbCD1</sub>	Y <sub>abCD1</sub>	Kontrol
	10 g	Y <sub>ABCD2</sub>	Y <sub>aBCD2</sub>	Y <sub>AbCD2</sub>	Y <sub>abCD2</sub>	
	20 g	Y <sub>ABCd1</sub>	Y <sub>aBCd1</sub>	Y <sub>AbCd1</sub>	Y <sub>abCd1</sub>	Kontrol
	20 g	Y <sub>ABCd2</sub>	Y <sub>aBCd2</sub>	Y <sub>AbCd2</sub>	Y <sub>abCd2</sub>	
96 Jam	10 g	Y <sub>ABcD1</sub>	Y <sub>aBcD1</sub>	Y <sub>AbcD1</sub>	Y <sub>abcD1</sub>	Kontrol
	10 g	Y <sub>ABcD2</sub>	Y <sub>aBcD2</sub>	Y <sub>AbcD2</sub>	Y <sub>abcD2</sub>	
	20 g	Y <sub>ABcd1</sub>	Y <sub>aBcd1</sub>	Y <sub>Abcd1</sub>	Y <sub>abcd1</sub>	Kontrol
	20 g	Y <sub>ABcd2</sub>	Y <sub>aBcd2</sub>	Y <sub>Abcd1</sub>	Y <sub>abcd2</sub>	

Keterangan Simbol:

Y = Kadar Bioetanol

A = Jenis Mikroba

C = Waktu

B = Konsentrasi ( %) Inokulum

D = Berat Sustrat

A = *M. Indicus*

a = *P. stipitis*

C = 72 Jam

c = 96 Jam

B = 5 %

b = 10 %

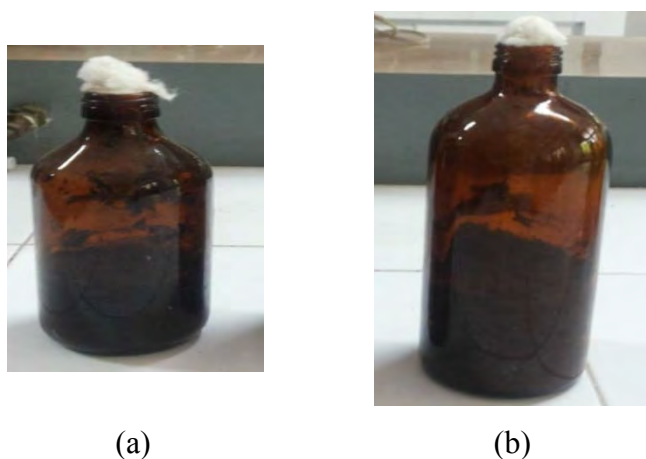
D = 10 g

d = 20 g

### 3.7.2 Reaktor

Wadah yang digunakan sebagai reaktor adalah botol kaca berwarna coklat dengan volume 250 mL dan 500 mL. Untuk substrat 10 g menggunakan wadah

dengan volume 250 mL, sedangkan untuk substrat 20 g ditempatkan pada wadah 500 mL. Perbedaan konsentrasi dari substrat diabaikan karena yang digunakan pada variasi perlakuan adalah berat substrat. Pemilihan wadah reaktor ini didasarkan pada sifat bahan wadah botol yang bersifat inert tidak bereaksi dengan bahan yang digunakan untuk pembentukan bioetanol maupun produk yang terbentuk pada proses fermentasi. Keunggulan wadah botol kaca adalah tahan terhadap bahan kimia, proses pemanasan maupun pada tekanan tinggi. Reaktor dari kaca lebih bersifat netral bila dibandingkan dengan bahan plastik.



Gambar 3.2 (a) Reaktor Penelitian Ukuran 250 mL

(b) Reaktor Penelitian Ukuran 500 mL

### 1.7.3 Waktu Pengambilan Sampel

Proses fermentasi dilakukan selama 96 jam. Pengambilan sampel diambil pada waktu 72 jam dan 96 jam fermentasi. Untuk sampel pengujian kadar gula reduksi diambil sebanyak dua mL dari dalam reaktor. Kadar hemiselulosa, selulosa, lignin yang akan diukur diambil sampel sebanyak 2 g. Pengukuran kadar etanol jumlah sampel yang diambil dari masing-masing reaktor adalah sebanyak satu sampai dua mL. Pengujian kadar lignoselulosa dilakukan pada tahap awal, setelah *pretreatment* dan pada tahap selesai proses SSF.

### **3.8 Pengukuran kadar Karbon, Nitrogen, Phospor, pH, Lignin, Hemiselulosa, Selulosa, Gula Reduksi Serta Bioetanol**

Pengujian kadar nitrogen menggunakan metode Kjeldahl, penentuan kandungan karbon menggunakan metode Gravimetri serta pengukuran kadar phospat menggunakan metode Spektrofotometri. Pengukuran kadar nitrogen, karbon dan phospor dilakukan pada tahap awal. Pengujian kandungan C,N,P dilakukan di laboratorium pemulihan kua litas air Teknik Lingkungan, Institut Teknologi Sepuluh Nopember.

Penyesuaian kadar pH dilakukan pada saat awal *Pretreatment*, proses *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF) akan dimulai. Pengkodisian pH dilakukan dengan menambahkan larutan buffer disesuaikan dengan kondisi optimum tiap mikroba. Untuk kondisi optimum pada mikroba yang menggunakan pada pH 5. Penyesuaian kondisi pH untuk *P. chrysosporium* *T. viride* dan *A. niger* *P. stipitis* menggunakan buffer asetat. Pada *M. indicus* untuk menyesuaikan kondisi pH menggunakan larutan buffer natrium sitrat diukur pada saat akan menambahkan mikroorganisme pada setiap tahap proses pembentukan bioetanol.

Penentuan kadar yang dilakukan adalah menghitung kadar lignin, selulosa dan hemiselulosa dengan Metode Chesson (Datta, 1981). Metode prosedur pengujian komponen hemiselulosa, lignin, selulosa dapat dilihat pada lampiran 1. Kadar lignin, selulosa, dan hemiselulosa diuji pada sebelum dan sesudah tahap *pretreatment* serta setelah melakukan proses *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF). Untuk pengujian gula reduksi dilakukan sebelum dan setelah proses *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF) dengan menggunakan metode Nelson-Somogyi prosedur pengujian terlampir pada Lampiran.2. Kadar gula reduksi yang dihitung pada penelitian ini hanya mengukur kadar glukosa yang terbentuk.

Untuk pengujian kadar bioetanol dilakukan pada akhir proses yaitu pada saat selesai fermentasi 72 jam dan 96 jam menggunakan *Gas Chromatography*. Pengukuran kadar bioetanol dilakukan di Universitas Surabaya. Sampel yang diambil pada masing-masing reaktor sebanyak dua mL. Jumlah sampel yang diuji sebanyak empat puluh sampel.

### 3.9 Analisis Statistik

Penyajian data hasil penelitian dilakukan dengan mengolah data hasil laboratorium yang kemudian dianalisis menggunakan metode statistik. Pengolahan data-data yang akan dianalisis menggunakan analisis varian dua faktor, dimana analisis ini akan menghasilkan persamaan matematis yang dapat menjelaskan hubungan dari variabel terhadap kadar etanol yang dihasilkan. Selain analisis data berupa data statistik juga digambarkan dengan grafik dan tabel agar dapat memberikan gambaran yang jelas dalam memberi kesimpulan dan saran. Pada pembahasan akan menganalisa jenis dari mikroorganisme baik jamur maupun bakteri yang memiliki potensi dalam fermentasi gula reduksi dalam eceng gondok menjadi etanol, sehingga dapat dijadikan bahan baku yang potensial. Lampiran gambar dan grafik terlampir.

Dari data hasil penelitian didapat faktor penentu penelitian ini sebanyak dua faktor dengan enam belas perlakuan maka penelitian ini dapat dianalisis dengan menggunakan analisis variansi eksperimen faktorial  $2^4$  yakni eksperimen yang melibatkan  $k$  buah faktor dimana masing-masing faktor terdiri atas dua taraf dengan 16 perlakuan.

#### 3.9.1 Model Rancangan

Rancangan *factorial* dicirikan oleh perlakuan yang merupakan komposisi dari semua kemungkinan kombinasi dari taraf-taraf dua factor atau lebih. Model rancangan factorial lebih mengacu pada bagaimana perlakuan-perlakuan yang akan diteliti disusun, tetapi tidak menyatakan bagaimana perlakuan-perlakuan tersebut ditempatkan pada unit-unit percobaan. Keuntungan dari percobaan *factorial* yaitu mampu mendeteksi respon dari taraf masing-masing faktor serta interaksi antara dua faktor. Ada atau tidaknya pengaruh interaksi dapat dideteksi dari perilaku respon suatu factor pada berbagai kondisi faktor yang lain.

Model linier aditif dari rancangan factorial pada kasus ini yaitu perlakuan disusun oleh taraf-taraf factor A (mikroorganisme dan inokulum) dan faktor B (substrat dan waktu fermentasi), sehingga model rancangannya adalah sebagai berikut:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_j + (\tau\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk} \dots\dots\dots(1)$$

Dimana:

$Y_{ijk}$  = Nilai pengamatan pada faktor A (mikroorganisme dan inokulum) taraf ke-i dan faktor B (substrat dan waktu fermentasi) taraf ke-j replikasi ke-k

$\mu$  = Rataan umum

$\tau_i$  = Efek faktor A (mikroorganisme dan inokulum)

$\beta_j$  = Efek faktor B (substrat dan waktu fermentasi)

$(\tau\beta)_{ij}$  = Efek interaksi faktor A (mikroorganisme dan inokulum dan B (substrat dan waktu fermentasi)

$\varepsilon_{ijk}$  = Random error

### 3.9.2 Analisis Optimasi *Response Surface*

Metode ini digunakan untuk mengetahui optimasi dari hasil penelitian yang telah dilakukan. Dari data yang diperoleh dari hasil pengujian dilaboratorium diolah menggunakan metode response surface. Pengolahan data menggunakan metode ini dilakukan dengan melakukan interaksi antar variabel. Dimana variabel penelitian yaitu: jenis mikroorganisme, berat substrat, konsentrasi inokulum pada mikroorganisme yang digunakan proses fermentasi serta waktu yang dibutuhkan untuk pembentukan bioetanol.



*“Halaman ini sengaja dikosongkan”*

## BAB IV

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### 4.1.1 Umum

Pada hasil pembahasan hasil penelitian ini lebih banyak dipaparkan dalam bentuk grafik dan tabel. Penjelasan dalam bentuk grafik dan tabel dimaksudkan untuk mempermudah pengambilan kesimpulan dan menggambarkan hal-hal yang terjadi dalam penelitian ini. Hasil analisa laboratorium selengkapnya dilampirkan pada lampiran A.

#### 4.1.2 Analisa Bahan Baku Eceng Gondok (*Eicchornia crassipes*)

##### 4.2.1 Ratio Perbandingan C: N: P

Pengukuran kadar C,N,P pada bahan baku dimaksudkan untuk mengetahui ketersediaan nutrisi yang dibutuhkan oleh mikroorganisme dalam proses fermentasi. Perolehan kadar C,N,P pada setiap bahan baku dan penelitian tidaklah selalu sama. Kadar C,N,P yang berbeda dikarenakan perbedaan tempat pengambilan eceng gondok, umur tanaman. Pada Tabel 4.1 di sajikan data perolehan kadar C,N,P dengan penelitian dibandingkan pada literatur.

Tabel 4.1 Kandungan Unsur Hara dalam Eceng Gondok

Unsur	Berdasarkan Literatur (Matsunaka, 1988)	Hasil Analisa Penelitian
	Kadar (%)	Kadar (%)
C	37,65	44,44
N	1,68	6,15
P	1,29	1,92

Berdasarkan data Tabel 4.1 kadar C organik dalam bahan baku adalah 44,44%, sedangkan untuk perolehan kadar nitrogen adalah sebesar 6,15%. Sehingga diperoleh rasio C/N adalah sebesar 7,2% menandakan bahwa kadar C/N yang rendah dalam bahan baku. Bila rasio C/N kecil menyebabkan proses pembentukan fermentasi bioetanol terhambat. Bila ratio C/N menyebabkan kinerja dari mikroorganisme tidak maksimal. Sehingga proses penguraian komponen lignoselulosa tidak dapat berlangsung dengan baik. Kadar nitrogen

yang tinggi dalam bahan baku dikarenakan lokasi pengambilan yaitu perairan sekitar Institut Teknologi Sepuluh Nopember dimana merupakan perairan yang menampung limbah domestik. Kadar nitrogen yang ada pada bahan baku sangat dipengaruhi oleh limbah domestik yang terdapat pada perairan sekitar kampus.

#### 4.2.2 Analisa Komponen Lignoselulosa Dalam Eceng gondok

Pengukuran kandungan komponen lignoselulosa menggunakan metode Datta (Chesson). Pengujian kadar lignoselulosa dilakukan pada tahap awal proses, setelah *pretreatment* dan setelah fermentasi selesai. Berdasarkan data penelitian sebelumnya didapat data tentang komponen lignoselulosa dalam eceng gondok. Analisis kandungan lignoselulosa dalam eceng gondok disajikan pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Perbandingan Komponen Penyusun *E. crassipes* Hasil Pengujian dan Literatur

Kandungan Lignoselulosa			Sumber
Hemiselulosa (%)	Selulosa (%)	Lignin (%)	
48,70	18,20	3,50	Nigam, (2002)
33,40	19,50	9,27	Gumarson, (2007)
29,30	18,20	2,80	Ma <i>et al.</i> , (2010)
33,95	12,38	8,76	Novembrianto dan Pandebesie, (2014)
37,46	26,34	19,42	Penelitian

Eceng gondok sebagai bahan baku yang digunakan pada penelitian ini tersusun atas hemiselulosa (37,46%), selulosa (26,34%), serta lignin (19,42%). Kandungan lignoselulosa dalam penelitian ini lebih besar bila dibandingkan dengan hasil penelitian Novembrianto dan Pandebesie (2013) untuk hemiselulosa (33,95%), selulosa (12,38%), dan lignin (8,76%). Perbedaan kandungan lignoselulosa dalam beberapa penelitian sebelumnya disebabkan oleh *pretreatment* dari eceng gondok, bagian tanaman yang digunakan serta ukuran dari bahan baku serta tempat pengambilan bahan eceng gondok. Perbedaan bentuk ukuran dari eceng gondok serta perbedaan tempat pengambilan bahan baku dapat mempengaruhi kandungan lignoselulosa dalam eceng gondok.

Bentuk serat kasar hasil penggilingan yang digunakan pada penelitian ini menghasilkan kadar hemiselulosa sebesar (37,46%), selulosa sebanyak (26,34%) dan nilai kandungan lignin adalah (19,42%). Kadar lignoselulosa yang dihasilkan lebih tinggi bila dibandingkan pada hasil penelitian Novembrianto dan Pandebesie, (2014) kadar hemiselulosa adalah (33,95%), selulosa sebanyak (12,38%) serta lignin sebesar (8,76%). Dari perbedaan kadar komponen lignoselulosa dalam penelitian ini dimana menggunakan bentuk serat kasar jumlah komponen lignoselulosa lebih tinggi bila dibandingkan dalam bentuk serbuk. Hal ini sejalan dengan yang dikemukakan oleh (Joedodibroto, 1983) bahwa kandungan lignoselulosa lebih tinggi bila dalam bentuk serat hasil proses penggilingan. Menurut Sun dan Cheng (2002), ukuran bahan baku akan mempengaruhi porositas, sehingga dapat memaksimalkan kontak antara bahan baku dengan enzim. Diharapkan dengan terjadinya kontak antara enzim dengan bahan baku dapat memudahkan penguraian komponen lignoselulosa

Penggunaan bagian tanaman sangat mempengaruhi jumlah lignoselulosa yang terdapat pada bahan baku. Bagian batang memiliki jumlah kandungan lignoselulosa yang lebih besar dibandingkan dengan bagian lain seperti akar dan daun. Pada penelitian ini digunakan bagian batang dan daun. Bagian akar tidak dipergunakan karena pada bagian akar terdapat banyak zat pengotor seperti lumpur, logam berat yang diserap oleh eceng gondok.

#### **4.3 Kemampuan Perlakuan Jamur Pelapuk Putih Terhadap Penguraian Komposisi Lignoselulosa**

Penggunaan *P. chrysosporium* pada tahap *pretreatment* dimana jamur ini memiliki enzim lignin peroksida. Enzim yang dimiliki oleh *P. chrysosporium* mampu memecah komponen lignoselulosa. Dari hasil pemecahan komponen lignoselulosa yang terurai menjadi hemiselulosa, selulosa, dan lignin. Dimana kadar hemiselulosa, selulosa dan lignin diukur pada tahap awal, setelah *pretreatment*, serta pada saat selesai proses SSF. Data tentang penguraian komponen lignoselulosa pada tiap reaktor dapat dilihat pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Hasil pengujian kandungan lignoselulosa dalam *E. crassipes*

Reaktor	Tahap Awal			Setelah Pretreatment			Setelah SSF		
	Komponen Lignoselulosa			Komponen Lignoselulosa			Komponen Lignoselulosa		
	Hemiselulosa	Selulosa	Lignin	Hemiselulosa	Selulosa	Lignin	Hemiselulosa	Selulosa	Lignin
<i>P. stipitis</i> , 5%, 10 g	37,46	26,24	19,42	34,04	18,40	9,35	27,74	16,43	8,90
<i>P. stipitis</i> , 10%, 10 g	33,23	30,54	15,65	30,23	29,62	14,83	28,37	18,63	10,68
<i>P. stipitis</i> , 5%, 20 g	40,24	27,43	18,76	39,12	26,55	17,34	34,53	29,94	10,52
<i>P. stipitis</i> , 10%, 20 g	37,23	20,45	17,23	36,04	19,79	16,75	33,60	17,36	9,52
<i>M. indicus</i> 5%, 20 g	39,65	21,87	11,34	38,32	19,84	10,34	31,79	19,36	13,28
<i>M. indicus</i> 5%,10 g	40,69	17,59	12,64	39,74	16,43	11,32	37,68	12,42	11,33
<i>M. indicus</i> 10%,10 g	35,67	20,11	15,14	34,58	19,77	14,37	31,65	18,57	13,24
<i>M. indicus</i> 10%, 20 g	38,28	25,35	14,43	35,48	23,03	13,24	34,43	16,08	9,94
Kontrol 20 g	39,65	24,86	14,56	38,60	23,82	13,40	30,48	23,03	10,24
Kontrol 10 g	39,65	20,65	10,43	38,32	19,84	8,10	35,06	17,09	7,27

Berdasarkan hasil pengukuran kadar lignoselulosa meliputi hemiselulosa, selulosa dan lignin. Perolehan hemiselulosa selulosa dan lignin berturut-turut pada tahap awal sebesar 37,4%, 26,24%, 19,42%. Pada kondisi setelah *pretreatment* 34,04%, 18,4%, 9,35% dan setelah fermentasi sebesar 27,74%, 16,43, 8,9%. Dari data yang diperoleh terlihat terjadi penguraian namun dalam jumlah yang kecil. Hal ini dipengaruhi oleh perlakuan pendahuluan yang hanya menggunakan proses biologis. Hasil penguraian atau degradasi komponen lignoselulosa akan lebih baik bila dilakukan perlakuan pendahuluan secara biologis dan kimiawi. Proses kimiawi lebih cepat dalam memutus ikatan kompleks yang terdapat pada struktur lignin, hemiselulosa dan selulosa.

Penurunan kadar lignoselulosa dalam bahan baku terjadi karena lignoselulosa terurai menjadi komponennya yaitu: hemiselulosa, selulosa, dan lignin. Lignin dikonversi menjadi hemiselulosa dan selulosa dengan bantuan *P. chrysosporium*. Selulosa diubah menjadi glukosa, sedangkan hemiselulosa dikonversi menjadi gula pentosa, dan sedikit gula heksosa. Kemampuan jamur pelapuk putih dalam mengkonversi lignoselulosa ditandai dengan adanya penurunan komponen lignoselulosa yang terkandung pada eceng gondok pada setiap tahap proses pembentukan bioetanol. Data tentang penurunan kadar komponen lignoselulosa yang dilakukan pengukuran pada awal sebelum *pretreatment*, sesudah *pretreatment* dan setelah fermentasi. Pengukuran

dimaksudkan untuk mengetahui berapa besar komponen lignoselulosa yang dapat diuraikan oleh jamur pelapuk putih pada setiap tahap pembentukan bioetanol. Pengukuran kadar komponen lignoselulosa disajikan pada tabel 4.3.

#### 4.3.1 Perubahan Kandungan Lignin

*P. chrysosporium* yang ditambahkan pada proses *pretreatment* bahan baku eceng gondok menyebabkan terjadi perubahan kadar lignin. Pengecekan kadar lignin dilakukan pada tiga yaitu: tahap awal, setelah *pretreatment*, dan setelah proses SSF. Data tentang penurunan kadar lignin pada setiap tahap pembuatan bioetanol disajikan pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Penurunan Kadar Lignin

Reaktor	Awal Lignin (%)	Setelah <i>Pretreatment</i> Lignin (%)	Setelah SSF Lignin (%)
<i>P. stipitis</i> , 5%, 10 g	19,42	9,35	8,9
<i>P. stipitis</i> , 10%, 10 g	15,65	14,83	10,68
<i>P. stipitis</i> , 5%, 20 g	18,76	17,34	10,52
<i>P. stipitis</i> , 10%, 20 g	17,23	16,75	9,52
<i>M. indicus</i> 5%, 20 g	11,34	10,34	13,28
<i>M. indicus</i> 5%,10 g	12,64	11,32	11,33
<i>M. indicus</i> 10%,10 g	15,14	14,37	13,24
<i>M. indicus</i> 10%, 20 g	14,43	13,24	9,94
Kontrol 20 g	14,56	13,4	10,24
Kontrol 10 g	10,43	8,1	7,27

Dari hasil *pretreatment* dengan menggunakan jamur pelapuk putih maka diperoleh hasil analisa penurunan kadar lignin yang disajikan pada Tabel 4.4. Penurunan kandungan lignin 19,42% pada tahap awal menjadi 9,35% pengukuran lignin pada tahap selesai proses *pretreatment* serta pada tahap setelah fermentasi diperoleh kadar lignin sebesar 8,9%. Hasil pengukuran nilai lignin yang terkandung pada bahan baku pada tahap awal sebesar 19,43% jauh lebih besar dibandingkan pada perolehan lignin hasil penelitian Novembrianto dan Pandebesie (2013) hanya sebesar 8,76%. Hal ini disebabkan karena pada penelitian ini menggunakan ukuran bahan baku dengan proses penggilingan sehingga kadarnya lebih besar, perolehan kadar lignin yang lebih tinggi

disebabkan bentuk dari bahan baku berupa serat kasar hasil penggilingan. Joedodibroto, (1983) menyatakan bahwa lignin dalam eceng gondok memiliki kandungan yang lebih tinggi setelah dilakukan proses penggilingan.

Penurunan diakibatkan oleh proses biokonversi oleh kultur *P. chrysosporium* dengan disekresikannya enzim-enzim lignolitik ekstraseluler maupun intraseluler. Penurunan kandungan lignin dikarenakan lignin yang terurai menjadi selulosa dan hemiselulosa digunakan oleh jamur sebagai makanannya dalam melakukan aktifitas enzimatik dalam penguraian lignoselulosa. Pemanasan pada suhu 100<sup>o</sup>C mengakibatkan penurunan kadar lignin. Berkurangnya kandungan lignin karena lignin telah terurai menjadi hemiselulosa dan selulosa. Kondisi ini sejalan dengan apa yang dikemukakan oleh (Perez *et al.*, 2008). Kandungan lignin yang rendah menunjukkan bahwa ikatan ligniselulosa sudah banyak yang terurai dan terbentuk selulosa dan hemiselulosa (Perez *et al.*, 2008).

Menurut Goenadi *et al.*, (1994) umur tumbuhan dan lokasi pengambilan sampel sangat berpengaruh terhadap kandungan lignin. Lignin dalam perlakuan secara biologis akan mengalami biokonversi oleh kultur *P. chrysosporium* dengan disekresikannya enzim-enzim lignolitik ekstraseluler maupun intraseluler yang menyebabkan penurunan kandungan lignin dalam substrat eceng gondok. Lignin mengalami proses konversi menjadi senyawa fenol.

Pada tahap sebelum dilakukan *pretreatment* kadar lignin masih tinggi sebesar 19,43% kemudian pada tahap selesai fermentasi turun menjadi 13,24%. Hal ini menandakan bahwa terjadi proses dekomposisi lignin. Sebelum terjadi proses dekomposisi lignin maka jamur *P. chrysosporium* menggunakan bahan yang lebih mudah didekomposisi untuk pertumbuhannya. Menurut Kasim *et al.*, (2002) pada awal inkubasi jamur *P. chrysosporium* mendapat energi dari bahan yang tersedia, dengan bertambahnya waktu maka jumlah dari bahan organik semakin menipis dan habis sehingga jamur harus aktif melakukan dekomposisi untuk mendapatkan energi. Degradasi lignin terjadi jika ketersediaan substrat yang mudah terjadi metabolisme dalam kultur yang terbatas sehingga tidak mencukupi untuk mendukung pertumbuhan.

### 4.3.2 Perubahan Kadar Hemiselulosa

Penguraian hemiselulosa terjadi pada setiap tahap pembentukan bioetanol. Penguraian ditandai dengan adanya penurunan kadar hemiselulosa pada setiap tahap pembentukan bioetanol. Pengukuran nilai hemiselulosa dilakukan pada tahap awal, setelah *pretreatment*, dan setelah fermentasi dapat dilihat pada Tabel 4.5.

Tabel 4.5 Penurunan Kadar Hemiselulosa

Reaktor	Tahap Awal Hemiselulosa (%)	Setelah <i>Pretreatment</i> Hemiselulosa (%)	Setelah SSF Hemiselulosa (%)
<i>P. stipitis</i> , 5%, 10 g	37,46	34,04	27,74
<i>P. stipitis</i> , 10%, 10 g	33,23	30,23	28,37
<i>P. stipitis</i> , 5%, 20 g	40,24	39,12	34,53
<i>P. stipitis</i> , 10%, 20 g	37,23	36,04	33,6
<i>M. indicus</i> , 5%, 20 g	39,65	38,32	31,79
<i>M. indicus</i> , 5%, 10 g	40,69	39,74	37,68
<i>M. indicus</i> , 10%, 10 g	35,67	34,58	31,65
<i>M. indicus</i> , 10%, 20 g	38,28	35,48	34,43
Kontrol 20 g	39,65	38,6	30,48
Kontrol 10 g	39,65	38,32	35,06

Pada penelitian ini diperoleh kadar hemiselulosa lebih tinggi sebesar 37,4% dibandingkan selulosa 26,34% dan lignin 19,42%. Kecenderungan hemiselulosa lebih tinggi 37,4% bila dibandingkan dengan 29,30% pada tahap awal dibanding selulosa dan lignin hasil penelitian Ma *et al.*, (2010). Dinding sel tersusun atas rangka molekul selulosa dan lignin. Kedua bagian ini menjadi satu kesatuan ikatan yang erat yang menyebabkan dinding sel menjadi kuat. Perbedaan kandungan lignoselulosa yang terkandung dalam bahan baku eceng gondok, diakibatkan oleh perbedaan tempat pengambilan, umur tanaman serta perlakuan pendahuluan yang dilakukan.

Hemiselulosa yang terdapat dalam eceng gondok pada tahap awal adalah sebesar 37,46%, kemudian pada tahap setelah *pretreatment* kandungan hemiselulosa turun menjadi 34,58%, selanjutnya pada tahap selesai fermentasi kandungan hemiselulosa yang tersisa adalah 31,60%. Hal ini dipengaruhi oleh



jumlah inokulum pada tahap inkubasi semakin lama waktu inkubasi menyebabkan ketersediaan inokulum makin sedikit, sehingga kadar hemiselulosa berkurang. Pada proses degradasi hemiselulosa lebih mudah dibandingkan pada degradasi selulosa dan lignin. Hal ini disebabkan oleh sifat fisik dari hemiselulosa yaitu memiliki rantai yang lebih pendek dibandingkan dengan selulosa dan lignin sehingga lebih mudah untuk diuraikan.

Komponen lignoselulosa pada bahan baku eceng gondok didominasi oleh hemiselulosa dan selulosa. Kandungan selulosa dan hemiselulosa yang tinggi pada bahan baku dapat menghasilkan produk monosakarida yang tinggi pula, karena struktur kedua polimer tersebut tersusun atas struktur gula sederhana yang mudah diuraikan (Rachmaniah *et al.*, 2012). Struktur polimer yang sederhana akan memudahkan proses pembentukan gula reduksi. Dari gula reduksi yang terbentuk tinggi maka akan diperoleh kadar bioetanol yang tinggi. Pada penelitian ini kadar hemiselulosa tinggi namun perolehan hasil bioetanol rendah. Hal ini disebabkan sulitnya penguraian oleh mikroorganisme yang ditandai dengan rendahnya ratio C/N.

#### **4.3.2 Perubahan Kadar Selulosa**

Pemecahan komponen selulosa pada proses pembentukan glukosa dipengaruhi oleh kemampuan jamur *P. chrysosporium* dalam memecah lignoselulosa menjadi hemiselulosa, selulosa dan lignin. Dari ketiga kandungan bahan baku yang paling mudah diuraikan adalah selulosa. Hasil pemecahan selulosa dapat terlihat dari semakin menurunnya kadar selulosa yang ada dalam bahan baku. Penurunan selulosa dapat dilihat pada Tabel 4.6.

Kadar selulosa pada tahap awal sebesar 26,24% menurun menjadi 19,77% setelah proses *pretreatment*, kemudian pada akhir proses kandungan selulosa menjadi 18,56%. Penurunan kadar selulosa dalam eceng gondok disebabkan karena jamur *P. chrysosporium* menggunakan sumber karbon untuk pertumbuhannya. Penggunaan glukosa tersebut menyebabkan terjadinya penurunan kadar glukosa. Berkurangnya kadar glukosa dapat juga disebabkan oleh pemanasan yang dilakukan pada proses *pretreatment*. Menurut Widjaja *et al.*, (2000) penurunan jumlah selulosa yang lebih rendah dibandingkan sebelum

terjadi proses *pretreatment* dipengaruhi oleh pemanasan pada suhu 100°C sehingga dapat menurunkan kadar selulosa. Menurut Moiser *et al.*, (2005) dengan adanya pemanasan dapat menurunkan kadar selulosa sebesar 4-22%.

Tabel 4.6 Penurunan Kadar Selulosa

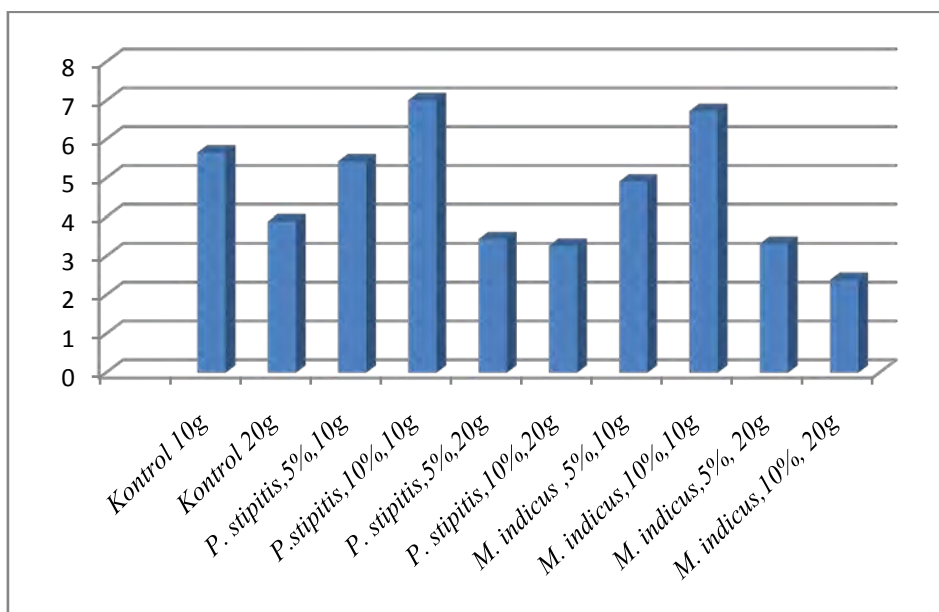
Reaktor	Tahap Awal Selulosa (%)	Setelah <i>Pretreatment</i> Selulosa (%)	Setelah SSF Selulosa (%)
<i>P. stipitis</i> , 5%, 10 g	26,24	18,4	16,43
<i>P. stipitis</i> , 10%, 10 g	30,54	29,62	18,63
<i>P. stipitis</i> , 5%, 20 g	27,43	26,55	29,94
<i>P. stipitis</i> , 10%, 20 g	20,45	19,79	17,36
<i>M. indicus</i> 5%, 20 g	21,87	19,84	19,36
<i>M. indicus</i> 5%, 10 g	17,59	16,43	12,42
<i>M. indicus</i> 10%, 10 g	20,11	19,77	18,57
<i>M. indicus</i> 10%, 20 g	25,35	23,03	16,08
Kontrol 20 g	24,86	23,82	23,03
Kontrol 10 g	20,65	19,84	17,09

Penurunan kadar selulosa pada setiap tahap pembuatan bioetanol disebabkan oleh kerja dari enzim yang terdapat dalam *P. chrysosporium* yang dapat menguraikan selulosa menjadi glukosa. Degradasi enzim selulase relatif kecil jumlahnya terlihat pada kadar awal 26, 24% turun menjadi 19,77% dan pada tahap selesai fermentasi kadar selulosa sebesar 18,56%.

Menurut Fadillah (2008) menyatakan bahwa degradasi selulosa oleh enzim selulase relatif lebih kecil bila dibandingkan degradasi lignin. Selulosa dikonversi secara biologis oleh *P. chrysosporium* menghasilkan selobiosa kemudian terjadi dekomposisi lebih lanjut menjadi gula pereduksi berupa glukosa.

#### 4.4 Kemampuan Jamur *T. viride* dan *A. niger* Terhadap Produksi Gula Reduksi

Kemampuan pembentukan gula reduksi oleh *A. niger* dan *T. viride* disebabkan enzim selulase yang terdapat pada kedua jamur ini. Gula reduksi yang terbentuk bervariasi besarnya, hal ini disebabkan oleh perbedaan kecepatan dari penguraian komponen lignoselulosa menjadi gula reduksi. Gula reduksi yang terbentuk sebelum proses SSF dapat dilihat pada Gambar 4.1



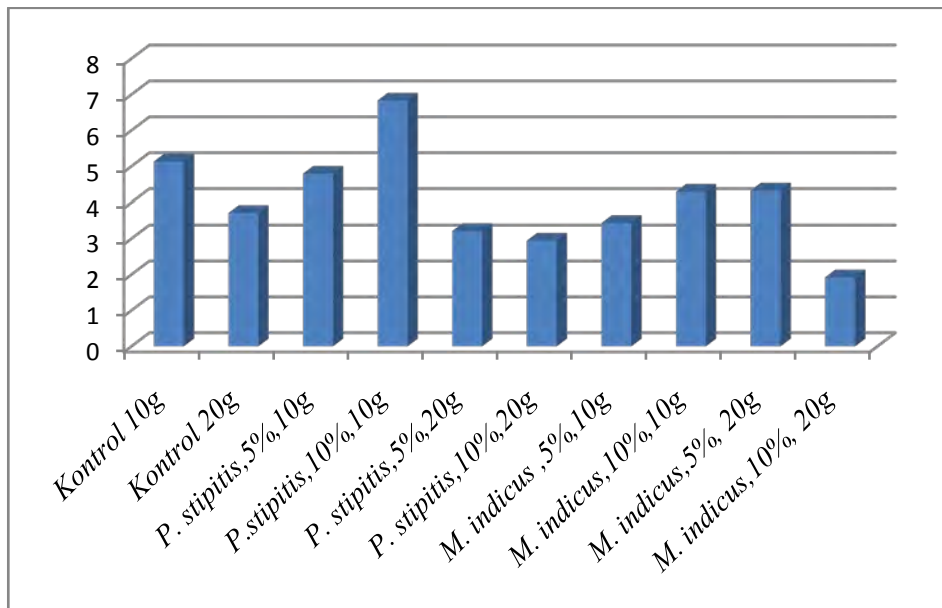
Gambar 4.1 Perolehan Gula Reduksi Sebelum Proses *Simultaneous Saccharification Fermentasi (SSF)*

Pada kondisi awal kandungan terbesar adalah pada reaktor dengan reaktor berisi substrat 10 g, konsentrasi 10% perlakuan pertama sebesar 7,01 (mg/g) jumlah ini lebih besar bila dibandingkan pada reaktor yang berisi substrat 20 g, konsentrasi 10% sebesar 3,27 (mg/g). Jumlah gula reduksi yang besar dipengaruhi oleh jumlah hemiselulosa dan selulosa yang didegradasi oleh *A. niger* dan *T. viride* menjadi glukosa. Rendahnya degradasi selulosa dan hemiselulosa menjadi glukosa disebabkan suhu optimum dari *A. niger* dan *T. viride* adalah pada suhu 60° C, sedangkan proses ini berlangsung pada suhu 30° C. Sehingga hasil pembentukan gula reduksi tidak maksimal.

#### 4.5 Produksi Gula Reduksi oleh *A. niger* dan *T. viride*

##### 4.5.1 Produksi Gula Reduksi pada Saat Proses *Simultaneous Saccharification Fermentation (SSF)* Berlangsung.

Gula reduksi yang terbentuk mengalami penurunan bila dibandingkan pada perolehan gula reduksi sebelum proses SSF. Penurunan kadar gula reduksi yang terbentuk dikarenakan sebagian gula yang terbentuk sudah mulai dikonversi menjadi bioetanol. Data tentang penurunan kadar gula reduksi pada waktu 72 jam fermentasi disajikan pada Gambar 4.2.

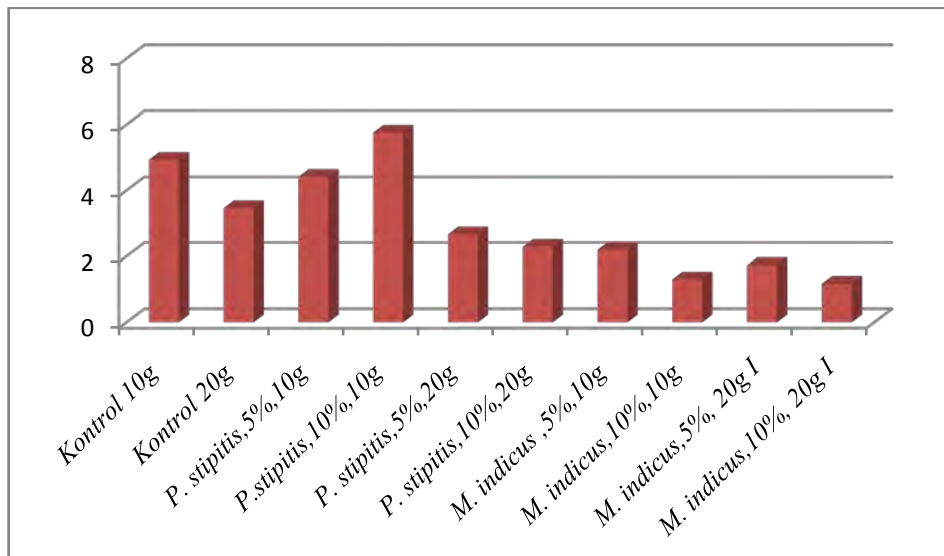


Gambar 4.2 Perolehan Gula Reduksi Setelah 72 Jam Fermentasi

Pada tahap 72 jam fermentasi untuk kadar gula reduksi yang terbesar adalah pada reaktor substrat 10 g, konsentrasi 10% sebesar 6,83 (mg/g). Untuk reaktor yang menghasilkan jumlah gula reduksi paling rendah terdapat pada reaktor substrat 20g, konsentrasi 10% dengan perolehan kadar gula reduksi sebesar 2,94 (mg/g). Gula reduksi yang terbentuk terus mengalami penurunan walau tidak terlalu signifikan. Hal ini disebabkan oleh gula yang terbentuk mulai dikonversi menjadi bioetanol mikroorganisme fermentasi yaitu *P. stipitis* dan *M. indicus*.

#### 4.5.2 Produksi Gula Reduksi Pada Selesai Proses *Simultaneous Saccharification Fermentation (SSF)* Berlangsung.

Pada kondisi fermentasi selama 96 jam pembentukan gula reduksi terus mengalami penurunan bila dibandingkan pada tahap setelah proses SSF. Kemampuan jamur *A. niger* dan *T. viride* sangat berpengaruh dalam pembentukan gula reduksi. Gula reduksi yang terbentuk pada 96 jam fermentasi dapat dilihat pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3 Perolehan Gula Reduksi Setelah 96 Jam Fermentasi

Penurunan gula reduksi terus berlangsung pada fermentasi 96 jam. Gula reduksi tertinggi pada tahap awal tetap memiliki kandungan gula reduksi yang terbesar pada tahap 96 jam fermentasi yaitu terdapat pada reaktor berisi substrat 10g, konsentrasi 10% (YabcD1) sebesar 5,76 (mg/g). Untuk kadar gula reduksi terendah terdapat pada reaktor berisi substrat 20g, konsentrasi 10% (YAbcd2) sebesar 1,17 (mg/g). Perubahan kadar gula reduksi yang terjadi karena konversi gula reduksi oleh *P. stipitis* atau *M. indicus* menjadi bioetanol. Lambatnya kerja *T. viride* dan *A.niger* disebabkan oleh suhu optimum pada kedua jamur ini adalah pada suhu 60°C, sedangkan proses SSF hanya berlangsung pada suhu 30°C.

Kadar gula reduksi yang tinggi dipengaruhi oleh kecepatan laju penguraian oleh jamur yang menghidrolisis selulosa dan hemiselulosa tinggi. Sedangkan pada reaktor yang menghasilkan gula reduksi rendah dipengaruhi oleh lambatnya laju kerja *T. viride* dan *A.niger* dalam mengkonversi hemiselulosa dan selulosa menjadi glukosa. Kecepatan laju penguraian lignoselulosa menjadi gula reduksi dipengaruhi oleh enzim selulase yang dihasilkan oleh *T. viride* dan *A.niger* serta ketersediaan nutrisi dalam substrat.

#### 4.6. Kemampuan *T. viride* dan *A. niger* serta *P. stipitis* Pada Proses *Simultaneous Saccharification Fermentation* (SSF)

Pembentukan gula reduksi yang terbentuk pada proses SSF terus mengalami penurunan berkisar antara 0,25 (mg/g) sampai 0,4 (mg/g) hingga pada tahap selesai fermentasi. Proses penguraian substrat dilanjutkan oleh *T. viride* dan *A.niger* sehingga gula reduksi terus mengalami penurunan yang dapat dilihat pada Tabel 4.7.

Tabel 4.7 Perolehan Glukosa dengan Penambahan *P. Stipitis*

Reaktor	Setelah	Fermentasi	Fermentasi
	<i>Pretreatment</i> (mg/g)	72 Jam (mg/g)	96 Jam (mg/g)
Kontrol 10g	5,66	5,13	4,93
Kontrol 20g	3,89	3,71	3,46
<i>P. stipitis</i> , 5%, 10g	5,43	4,79	4,41
<i>P.stipitis</i> , 10%, 10g	7,01	6,83	5,76
<i>P. stipitis</i> , 5%, 20g	3,44	3,21	2,66
<i>P. stipitis</i> , 10%, 20g	3,27	2,94	2,28

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kadar gula reduksi yang terbentuk pada proses SSF adalah sebesar 7,01 (mg/g). Pada tahap 72 jam fermentasi kadar gula reduksi mengalami penurunan menjadi 6,83 (mg/g) dan pada waktu 96 jam fermentasi kadar gula reduksi sebesar 5,76 (mg/g). Hasil gula reduksi pada penelitian ini lebih tinggi bila dibandingkan pada penelitian Rosdiana (2013) gula reduksi yang dihasilkan sebesar 0,25 (mg/g).

Perbandingan perolehan gula reduksi pada tahap sebelum proses SSF, fermentasi 72 jam dan waktu 96 jam fermentasi. Penurunan kadar gula reduksi pada waktu 72 jam dan 96 jam fermentasi terjadi karena gula reduksi digunakan oleh *P. chrysosporium* untuk mendukung pertumbuhan awal.

Gula reduksi merupakan jenis polisakarida. Komponen polisakarida berupa gula reduksi dapat diuraikan melalui proses degradasi. Penguraian gula reduksi dilakukan oleh kapang *T. viride* untuk menghasilkan gula yang diteruskan khamir *P. stipitis* sehingga terbentuk bioetanol. Kemampuan kapang *T. viride* dalam mendegradasi komponen polisakarida menjadi gula dibantu dengan enzim-enzim yang dimilikinya seperti enzim selulase. *P. stipitis* sangat

berperan dalam proses fermentasi karena mempunyai enzim xilanase yang dapat mengkonversi xyloosa maupun glukosa menjadi bioetanol. Narita (1999) menyatakan bahwa kemampuannya *P. stipitis* dalam menghasilkan etanol yang paling banyak digunakan saat ini.

Proses pemecahan selulosa yang terakumulasi dalam tahap pemecahan lignoselulosa juga menghasilkan produk samping seperti furfural dan fenol. Produk ini akan menghambat proses dekomposisi selulosa karena produk-produk tersebut bersifat toksik terhadap kultur *P. chrysosporium* sehingga proses biokonversi selulosa menjadi glukosa berlangsung lambat. Produk yang bersifat toksik dapat mengganggu proses terbentuknya gula reduksi. Glukosa yang dihasilkan dari proses biokonversi selulosa digunakan oleh *P. chrysosporium* untuk pertumbuhan sehingga kandungan glukosa mengalami penurunan.

Penguraian hemiselulosa menjadi glukosa oleh enzim selulase yang terkandung dalam *T. viride* dan *A. niger* menyebabkan jumlah glukosa terus mengalami penurunan dari tahap sebelum proses SSF, 72 jam fermentasi hingga 96 jam fermentasi. Kadar glukosa yang dihasilkan oleh jamur *T. viride* dan *A. niger* sebesar 7,01 (mg/g) pada kondisi sebelum proses SSF. Pada kondisi 72 jam fermentasi sebesar 6,83 (mg/g) dan terus menurun pada kondisi 96 jam fermentasi sebesar 5,76 (mg/g). Penurunan kadar gula reduksi ini menandakan terjadi proses konversi glukosa menjadi bioetanol. Jumlah gula reduksi yang diperoleh lebih rendah dibandingkan pada penelitian Surhtikanthi *et al.*, (2004) dimana diperoleh gula reduksi sebesar 4,38 (mg/g). Perbedaan hasil perolehan gula reduksi karena perbedaan lama inkubasi yang digunakan. Peningkatan gula reduksi yang diperoleh pada waktu 72 jam menunjukkan waktu optimum dari *T. viride* dan *A. niger* dalam menghidrolisis selulosa menjadi gula reduksi. Waktu optimum pada 72 jam sejalan dengan yang dikemukakan oleh (Gull *et al.*, 2013) menyatakan bahwa waktu terbaik dari *T. viride* dan *A. niger* dalam proses hidrolisis adalah pada waktu 72 jam.

Perolehan kadar glukosa sebesar 7,01 (mg/g) hasil ini rendah bila dibandingkan pada penelitian (Sutartono, 2011) sebesar 30,88 (mg/g). Penyebab kecilnya hasil gula reduksi pada proses hidrolisis adalah disebabkan waktu hidrolisis dari *T. viride* dan *A. niger* yang berbeda sehingga kedua jamur tersebut

tidak bekerja secara optimum. Faktor lain adalah suhu optimum proses hidrolisis menggunakan *T. viride* pada suhu 40°C, sedangkan *A. niger* suhu optimum proses hidrolisis berlangsung pada suhu 60°C. Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh (Gull *et al.*, 2013) menyatakan bahwa suhu optimum tahap hidrolisis untuk *T. viride* pada suhu 40°C sedangkan *A. niger* hidrolisis optimum berlangsung pada suhu 60°C. Berkurangnya jumlah glukosa sebesar 4,51 (mg/g) karena telah terjadi penguraian komponen hemiselulosa.

Hasil analisa gula reduksi pada penggunaan yeast *P. stipitis* menunjukkan penurunan pada setiap tahap yaitu pada tahap setelah fermentasi, 72 jam fermentasi, 96 jam fermentasi. Penurunan kadar gula reduksi diakibatkan oleh kemampuan dari *P. stipitis* yang terus mengubah glukosa, xylosa, heksosa dan pentosa menjadi bioetanol. Pada tahap setelah *pretreatment* kadar gula reduksi masih tinggi dibandingkan pada tahap 72 jam fermentasi, dan 96 jam fermentasi. Pada tahap setelah *pretreatment* gula reduksi yang terbentuk karena berasal dari pemecahan selulosa dan hemiselulosa. Penyebab kadar gula reduksi yang tinggi pada tahap setelah *pretreatment* adalah *P. stipitis* belum mengolah glukosa menjadi bioetanol, sehingga kadar yang pada tahap setelah *pretreatment* lebih tinggi dibandingkan pada waktu 72 jam dan 96 jam fermentasi.

Kadar glukosa tertinggi pada reaktor yang berisi ragi dengan konsentrasi *P. stipitis* 10% dengan berat substrat 10 gram dengan kadar glukosa 7,01 (mg/g), tingginya kadar glukosa pada reaktor berisi substrat 10g, konsentrasi *P. stipitis* konsentrasi 10% (YabCD<sub>1</sub>). Perbandingan antara substrat dan bakteri hidrolisis yang sesuai. Hasil yang baik akan diperoleh apabila semua substrat eceng gondok dapat terhidrolisis oleh enzim selulase yang dapat menguraikan selulosa menjadi glukosa. Kadar glukosa yang terendah pada reaktor dengan komposisi bakteri *P. stipitis* 10% dengan substrat 20 gram diperoleh kadar glukosa sebesar 3,27 (mg/g). Faktor lain menyebabkan gula reduksi rendah adanya interaksi antara mikroorganisme pembentuk bioetanol karena berada dalam satu reaktor. Pada saat *T. viride* dan *A. niger* memproduksi gula, pada saat yang bersamaan *P. stipitis* menggunakan gula tersebut untuk metabolismenya.

Pada penelitian ini kadar gula reduksi yang diperoleh masih rendah karena proses *pretreatment* yang dilakukan menggunakan proses biologis. Dimana proses



biologis lebih sulit dalam memecah komponen lignoselulosa yang ada terdapat dalam bahan baku. Penyebab kadar gula reduksi tidak terkonversi secara keseluruhan adalah faktor dari mikroorganisme *T. viride* dan *A. niger* selama proses berlangsung kemungkinan terjadi kontaminasi. Sterilisasi alat dan bahan yang akan digunakan belum maksimal sehingga masih ada faktor pengganggu yang dapat menyebabkan kerja dari *T. viride* dan *A. niger* terhambat.

#### 4.7 Kemampuan *T. viride* dan *A. niger* serta *M. indicus* Pada Proses *Simultaneous Saccharification Fermentation (SSF)*

Pada penggunaan *M. indicus* untuk mengubah glukosa menjadi bioetanol sangat mempengaruhi hasil dari perolehan gula reduksi. Penggunaan gula reduksi yang terbentuk pada proses sakarifikasi kemudian diolah oleh *M. indicus* menjadi bioetanol menyebabkan terjadinya penurunan gula reduksi. Penurunan gula reduksi dapat dilihat pada Tabel 4.8.

Tabel 4.8 Perolehan Glukosa dengan Penambahan *M. Indicus*

Reaktor	Setelah	Fermentasi	Fermentasi
	<i>Pretreatment</i> (mg/g)	72 Jam (mg/g)	96 Jam (mg/g)
Kontrol 10g	5,66	5,13	4,93
Kontrol 20g	3,89	3,71	3,46
<i>M. indicus</i> , 5%, 10g	4,91	3,43	2,19
<i>M. indicus</i> , 10%, 10g	6,73	4,29	1,3
<i>M. indicus</i> , 5%, 20g	3,32	4,32	1,73
<i>M. indicus</i> , 10%, 20g	2,39	1,92	1,17

Pada Tabel 4.8 terlihat keadaan setelah *pretreatment* kadar gula reduksi sebesar 6,73 (mg/g), pada tahap 72 jam fermentasi sebesar 4,32 (mg/g) dan pada 96 jam fermentasi kadar gula reduksi sebesar 2,19 (mg/g). Hasil ini lebih kecil bila dibandingkan pada penelitian (Millati, 2008) sebesar 40 (mg/g) dengan menggunakan waktu yang sama yaitu 72 jam. Terlihat penurunan kadar gula reduksi sekitar 4,93 (mg/g) pada setiap tahap pembentukan bioetanol. Pada tahap setelah fermentasi belum ditambahkan *M. indicus* kadar gula reduksi masih tinggi. Penurunan kadar glukosa dikarenakan semakin lamanya waktu hidrolisis jumlah

substrat eceng gondok akan semakin berkurang karena telah banyak yang terhidrolisis sehingga glukosa yang dihasilkan cenderung menurun.

Gula reduksi yang dihasilkan pada proses SSF oleh jamur *M. indicus* sebesar 4,29 (mg/g) hasil ini lebih kecil bila dibandingkan pada penelitian Millati *et al.*, (2005) sebesar 8 (mg/g). Rendahnya kadar glukosa yang dihasilkan pada proses SSF ini dipengaruhi pemilihan proses *pretreatment* bahan baku dengan metode biologis sangat mempengaruhi hasil pembentukan gula reduksi. Menurut Novembrianto dan Pandebesie (2013) bahwa proses *pretreatment* dengan menggunakan penambahan asam akan mempengaruhi kadar gula reduksi yang dihasilkan, *pretreatment* dengan menambahkan asam lebih tinggi dibandingkan hanya menggunakan proses biologis.

Proses pembentukan gula reduksi hasil penguraian oleh jamur *T. viride* dan *A. niger* menunjukkan jumlah yang optimum pada tahap fermentasi 72 j am. Faktor lain yang menyebabkan kadar glukosa cukup tinggi adalah perbandingan substrat yang sesuai. Jumlah substrat eceng gondok masih cukup banyak sehingga perolehan gula reduksi tinggi. Waktu dari hidrolisis sangat mempengaruhi perolehan glukosa. Semakin lama waktu hidrolisis maka glukosa yang dihasilkan juga meningkat. Faktor lain adalah ketersediaan nutrisi sebagai sumber nutrisi masih banyak tersedia sehingga memungkinkan peningkatan kerja enzim sehingga terjadi peningkatan kadar glukosa. Semakin banyak substrat selulosa yang dihidrolisis menjadi molekul sederhana semakin meningkat kadar glukosanya. Hal ini sesuai dengan apa yang dikemukakan Saparianti *et al.*, (2012). Semakin banyak substrat selulosa yang dihidrolisis menjadi molekul sederhana maka semakin meningkat perolehan gula reduksinya. Penurunan kadar gula reduksi pada tahap setelah 96 j am fermentasi. Pada waktu 96 j am gula reduksi hampir sebagian besar sudah terkonversi menjadi bioetanol.

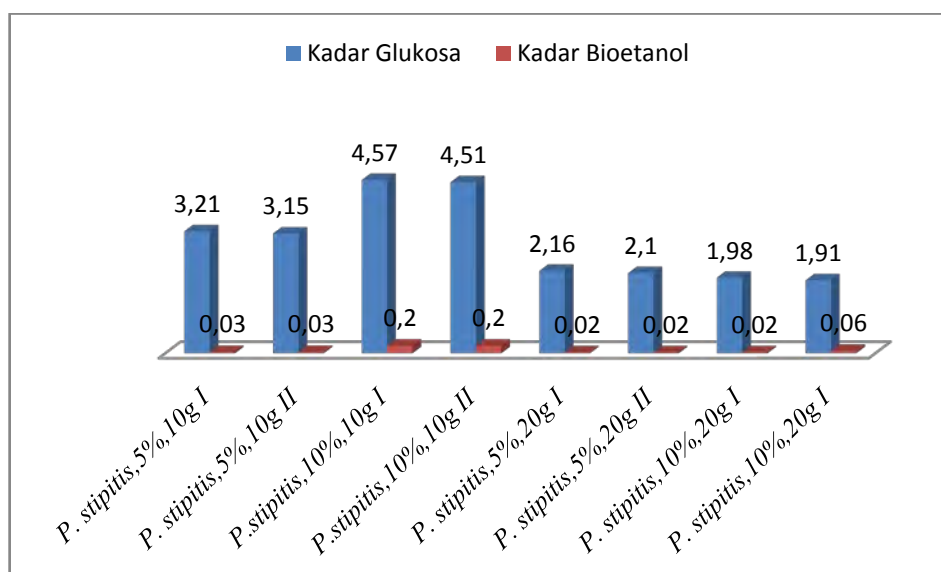
Pada waktu selesai proses SSF kemungkinan mikroorganisme telah menurun kinerjanya yang disebabkan perubahan pH. Pada tahap awal pH diatur menjadi 5, namun setelah proses berlangsung pH proses tidak lagi 5. Perubahan pH ini mengakibatkan kerja dari mikroorganisme terganggu sehingga kadar gula reduksi yang dihasilkan menjadi turun.

## 4.8 Produksi Bioetanol Menggunakan *P. stipitis* dan *M. indicus*

### 4.8.1 Produksi Bioetanol Menggunakan *P. stipitis*

#### a. Pada kondisi 72 jam fermentasi

Kemampuan *P. stipitis* dalam mengkonversi glukosa, xylosa menjadi bioetanol dipengaruhi oleh jumlah gula reduksi yang akan diolah. Penguraian glukosa oleh *P. stipitis* dalam memproduksi bioetanol tidak terlalu signifikan. Perolehan bioetanol pada tiap reaktor dapat dilihat pada Gambar 4.4.



Gambar 4.4 Hasil Perolehan Kadar Gula Reduksi dan Kadar Bioetanol pada penambahan *P. stipitis* pada 72 jam

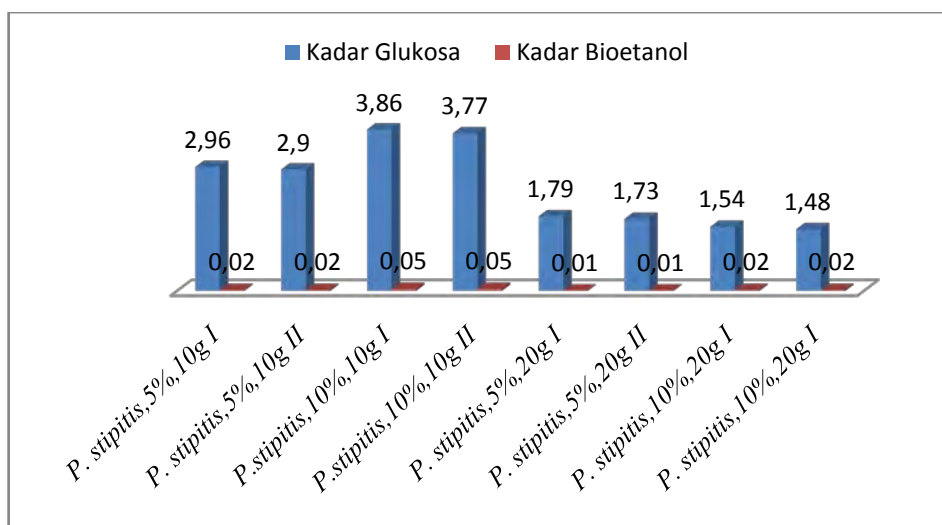
Perolehan hasil bioetanol pada penggunaan yeast *P. stipitis* kadar tertinggi adalah sebesar 0,20 (mg/g) pada konsentrasi *P. stipitis* 10% dengan berat substrat 10 g. Kadar yang tinggi disebabkan kemampuan *P. stipitis* pada waktu 72 jam, merupakan waktu produksi ragi dalam mengkonversi hemiselulosa menjadi xylosa yang selanjutnya akan diubah menjadi bioetanol. Faktor lain yang menyebabkan perolehan tinggi adalah pada waktu 72 jam jumlah dari gula reduksi masih banyak sehingga dapat dihasilkan bioetanol yang tinggi pula. Hal ini sejalan dengan yang dikemukakan oleh (Bellido *et al.*, 2011) bahwa semakin banyak gula reduksi hasil hidrolisis berupa xylosa maka kadar bioetanol yang terbentuk akan besar. Waktu optimum dari *P. stipitis* adalah 72 jam yang ditandai pada tahap ini

menghasilkan kadar bioetanol yang lebih tinggi dibandingkan pada tahap 96 jam fermentasi. Pada waktu 72 jam pembentukan etanol berada pada tahap maksimum. Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh (Agbogbo, 2006) bahwa perbandingan antara glukosa dengan xylosa pada pertumbuhan dari *P. stipitis* kondisi terbaik adalah pada kondisi media glukosa dengan waktu fermentasi 72 jam.

Secara keseluruhan gula reduksi dikonsumsi oleh *P. stipitis*. Hal ini dikarenakan glukosa merupakan gula sederhana yang mampu dikonsumsi tanpa harus melakukan proses pemecahan terlebih dahulu. Pemakaian glukosa oleh *P. stipitis* untuk metabolisme menyebabkan perolehan kadar bioetanol rendah.

**a. Pada kondisi 96 jam fermentasi**

Pada waktu fermentasi 96 jam proses konversi glukosa dan xylosa oleh *P. stipitis* menunjukkan penurunan bila dibandingkan pada waktu 72 jam fermentasi. Perolehan bioetanol pada penggunaan *P. stipitis* dapat dilihat pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5 Hasil Perolehan Kadar Gula Reduksi dan Kadar Bioetanol pada penambahan *P. stipitis* pada 96 jam

Pada penelitian ini diperoleh kadar bioetanol tertinggi pada reaktor berisi substrat 10g, *P. stipitis* konsentrasi 10% (Yabcd2) sebesar 0,05 (mg/g) lebih kecil bila dibandingkan dengan hasil penelitian Patradhiani (2010) dengan kadar bioetanol yang diperoleh adalah sebesar 7,4 (mg/g). Perolehan kadar bioetanol

yang lebih rendah dibandingkan pada waktu 72 jam karena pada waktu 96 jam karena terjadi fermentasi lanjutan dimana bietanol yang terbentuk terus difermentasi menjadi asam asetat, asam laktat. Menurut Ropiah (2010) *P. stipitis* mampu mengkonversi xylosa menjadi asam asetat.

Pada delapan reaktor terlihat bahwa perolehan bietanol tinggi terdapat pada reaktor berisi 10 g substrat. Hal ini menandakan bahwa jumlah substrat yang ditambahkan mempengaruhi kadar bioetanol yang terbentuk. Bila dibandingkan dalam reaktor berisi 10 gram dengan konsentrasi berbeda 5% dan 10% akan memberikan hasil yang lebih tinggi pada konsentrasi 10%. Pada substrat 10 g dengan konsentrasi 10% menghasilkan kadar tinggi karena perbandingan jumlah mikroorganisme dan ketersediaan substrat sesuai. Menurut Prescott dan Dunn (1981) faktor yang mempengaruhi peningkatan kadar etanol selama proses fermentasi, adalah ketersediaan substrat yaitu gula reduksi dan jumlah mikroba

Dari kedelapan reaktor terdapat pula kadar bioetanol yang rendah. Kadar bioetanol yang diperoleh hanya sebesar 0,01 (mg/g) dan 0,02 (mg/g). Bioetanol rendah terdapat pada reaktor yang berisi substrat 20 g. Pada kondisi reaktor 20 g dengan konsentrasi inokulum hanya 5% atau 10%. Bila dibandingkan lagi kadar yang rendah terdapat pada reaktor 20 g substrat dengan konsentrasi 10%, menandakan bahwa substrat kekurangan mikroorganisme untuk mengolah gula reduksi atau xylosa menjadi bioetanol.

Terlihat pada reaktor berisi *P. stipitis*, konsentrasi 10%, substrat 5 g (YabCD2), pada reaktor dengan komposisi *P. stipitis*, konsentrasi 10%, substrat 10g. Dengan kadar gula reduksi secara berturut-turut 3,86 (mg/g), 3,77 (mg/g), 2,96 (mg/g), 2,9 (mg/g).

Konsentrasi bioetanol tertinggi ada pada reaktor berisi 10% *P. stipitis* jumlah substrat 10 gram. Konsentrasi bioetanol yang terbentuk adalah sebesar 0,06 (mg/g) substrat. Jumlah konsentrasi yang lebih besar dibandingkan tujuh sampel yang lain dipengaruhi oleh jumlah *P. stipitis* yang ditambahkan mempengaruhi kinerja enzim untuk memproduksi bioetanol. Pada konsentrasi 10% dan jumlah substrat eceng gondok 10 gram menghasilkan kadar bioetanol yang besar karena pada kondisi ini *P. stipitis* dapat bekerja maksimal dalam mengolah xylosa hasil hidrolisis yang dihasilkan besar sehingga jumlah bioetanol

yang terbentuk lebih besar. Waktu fermentasi selama 72 jam merupakan waktu optimum di bandingkan pada waktu fermentasi 96 jam dalam pembentukan bioetanol bahan baku eceng gondok dengan menggunakan yeast *P. stipitis*. Perolehan bioetanol tertinggi juga dipengaruhi jumlah kadar gula reduksi yang mampu diuraikan oleh *T. viride* dan *A. niger*.

Peningkatan jumlah sel khamir diikuti peningkatan enzim yang dihasilkan untuk merombak gula menjadi etanol (Mulyono, 1991). Katabolisme glukosa menjadi etanol oleh khamir merupakan suatu upaya untuk mendapatkan energi yang diperlukan dalam pertumbuhan. Adams (1985) menyatakan bahwa jumlah etanol yang dihasilkan tergantung pada banyaknya gula yang tersedia di dalam substrat.

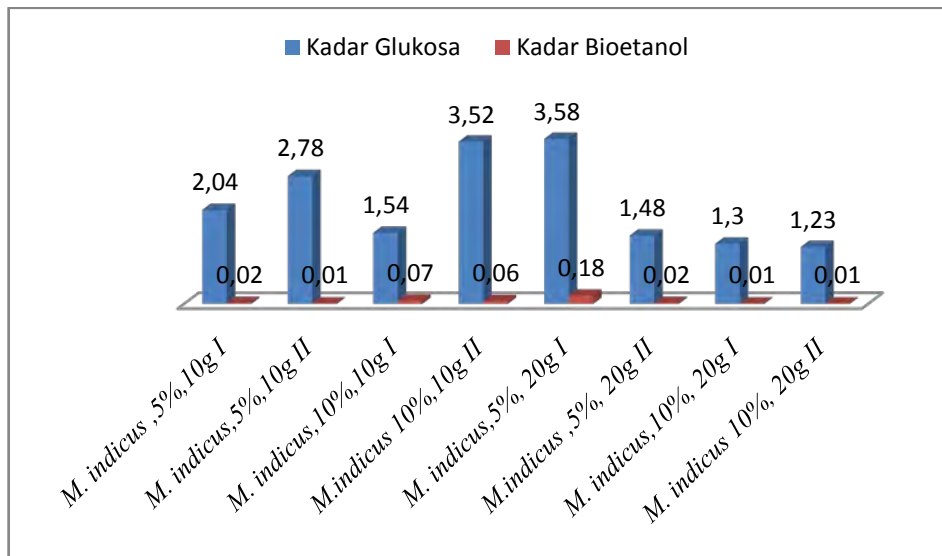
Kadar etanol yang diperoleh cenderung bernilai rendah hanya sebesar 0,02 (mg/g). Hal ini terjadi karena khamir tidak sempurna dalam mengkonversi glukosa, xylosa dan arabinosa menjadi etanol (Saha, 2003). Sehingga tidak semua gula yang terbentuk pada proses hidrolisis dikonversi oleh khamir menjadi etanol. Musapahaji (2007) menyatakan bahwa degradasi gula dapat dilakukan oleh khamir. Selain itu, sebagian gula juga digunakan sebagai nutrisi untuk pertumbuhan khamir.

Reaktor yang memiliki jumlah gula reduksi menghasilkan kadar bioetanol yang tinggi sebesar 0,06 (mg/g) substrat. Semakin banyak gula reduksi yang dimanfaatkan makin banyak kadar bioetanol yang dihasilkan (Judoamijoyo, 1989). Hasil penelitian menunjukkan bahwa, glukosa dengan cepat dikonsumsi oleh *P. stipitis* dan terutama dikonversi menjadi bioetanol Taherzadeh *et al.*, (2007).

#### **4.8.2 Produksi Bioetanol Menggunakan *M. indicus***

##### **a. Pada kondisi 72 jam fermentasi**

Pada waktu fermentasi 72 jam jamur *M. indicus* melakukan konversi gula reduksi sehingga terbentuk bioetanol. Pembentukan bioetanol dipengaruhi kadar gula reduksi yang terbentuk pada proses hidrolisis. Pada Gambar 4.6 menunjukkan perbandingan antara gula reduksi yang terbentuk dengan bioetanol yang dihasilkan.

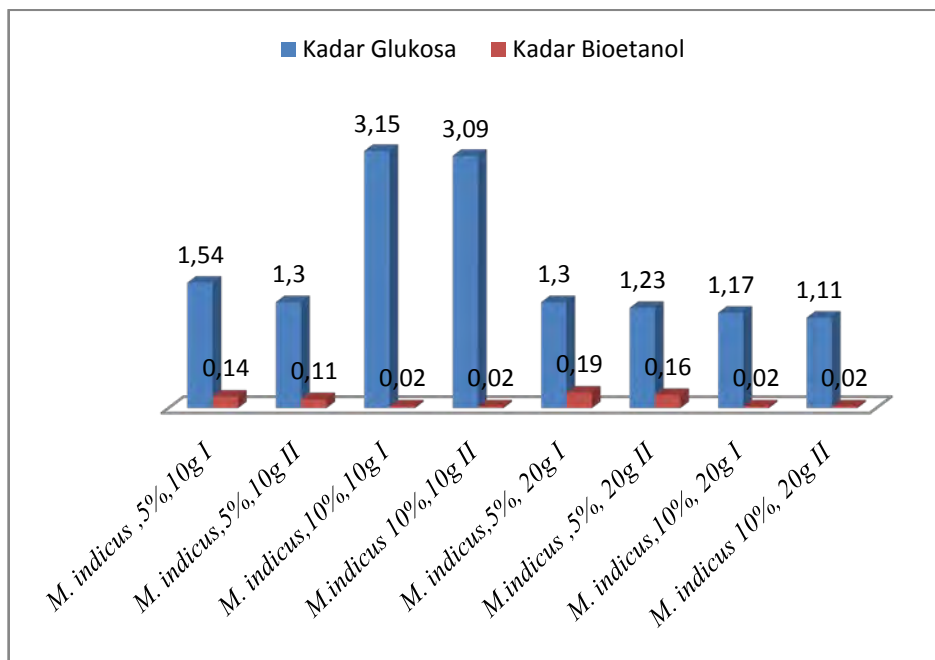


Gambar 4.6 Perolehan gula reduksi dan bioetanol menggunakan *M. indicus* 72 jam

Perolehan kadar bioetanol pada penggunaan *M. indicus* diperoleh kadar bioetanol tertinggi adalah 0,18 (mg/g) pada reaktor berisi *M. indicus* 5% substrat eceng gondok 20g. Hal ini disebabkan waktu fermentasi yang diperpanjang sehingga dengan konsentrasi inokulum yang rendah mampu menghasilkan kadar yang besar namun dengan waktu yang lebih panjang. Bioetanol yang diperoleh sebesar 0,18 (mg/g) lebih rendah bila dibandingkan pada penelitian penelitian (Asachi *et al.*, 2005) sebesar 0,43 (mg/g). Penyebab perolehan yang rendah adalah perbandingan substrat yang tidak sesuai antara jumlah substrat dengan jumlah mikroorganisme. Hal lain adalah jamur *M. indicus* menggunakan unsur hara dalam substrat yang lebih banyak dibandingkan substrat yang didegradasi untuk menghasilkan bioetanol. Hampir sebagian besar reaktor yang terisi substrat 10 g menghasilkan kadar bioetanol tinggi. Hal ini sejalan dengan yang dikemukakan oleh Menurut Prescott dan Dunn (1981) faktor yang mempengaruhi peningkatan kadar etanol selama proses fermentasi, adalah ketersediaan substrat yaitu gula reduksi dan jumlah mikroba.

**b. Pada kondisi 96 jam fermentasi**

Pada penguraian gula reduksi pada waktu fermentasi 96 jam menggunakan *M.indicus* sehingga terbentuk bioetanol. Kemampuan pembentukan bioetanol pada waktu fermentasi 96 jam mulai berkurang karena jumlah gula reduksi yang kan dikonversi jumlahnya tidak lagi banyak. Pengurangan jumlah gula reduksi terjadi karena sudah digunakan pada waktu pembentukan bioetanol pada waktu 72 jam. Perbandingan gula reduksi dan kadar bioetanol yang terbentuk dapat dilihat pada Gambar 4.7.



Gambar 4.7 Perolehan gula reduksi dan bioetanol menggunakan *M. indicus* 96 jam fermentasi.

Hasil kadar maksimum bioetanol pada penelitian ini adalah sebesar 0,19 (mg/g) hasil ini lebih rendah dibandingkan pada penelitian (Asachi *et al.*, 2005) sebesar 0,43 (mg/g). Perolehan kadar bioetanol yang rendah dingaruhi oleh kerja dari enzimatik lebih lama dan bioetanol yang dihasilkan lebih kecil. Kemampuan jamur yang mengkonversi gula menjadi bioetanol, sangat mempengaruhi proses pembentukan bioetanol.



Kadar terendah bioetanol sebesar 0,02 (mg/g) terdapat pada reaktor berisi substrat 20 g, konsentrasi inokulum *M. indicus* 5% dan lama waktu fermentasi 96 jam. Hasil ini lebih rendah dibandingkan pada penelitian Millati *et al.*, (2008) sebesar 0,39 (mg/g). Hal ini dipengaruhi oleh waktu fermentasi yang digunakan adalah 96 jam. Pada waktu 96 jam gula reduksi yang harus diolah oleh *M. indicus* merupakan sisa dari proses pembentukan pada waktu 72 jam fermentasi. Pada waktu 96 jam kemampuan *M. indicus* mulai menurun karena waktu optimum pembentukan bioetanol oleh *M. indicus* adalah pada waktu 72 jam. Hal ini sejalan dengan yang dikemukakan oleh Asachi (2011) menyatakan bahwa waktu terbaik dari pembentukan bioetanol dengan *M. indicus* adalah pada waktu 72 jam. Fermentasi lanjutan terjadi setelah terbentuk alkohol. Produk fermentasi berupa bioetanol terus dilanjutkan reaksinya pada waktu 96 jam sehingga terbentuk berupa asam asetat, asam laktat. Dugaan lain yang menyebabkan rendahnya kadar bioetanol yang terbentuk adalah jamur *M. indicus* menggunakan gula reduksi sebagai nutrisi untuk memperbanyak diri sebagai pertumbuhannya. Hal serupa dikemukakan oleh (Asachi *et al.*, 2011) bahwa pembentukan bioetanol dengan *M. indicus* memerlukan tambahan nutrisi untuk memperoleh kadar bioetanol yang lebih banyak.

Penguraian glukosa oleh jamur *M. indicus* dalam menghasilkan bioetanol. Kadar yang diperoleh *M. indicus* jauh lebih sedikit dibandingkan pada penggunaan *P. stipitis*. Perolehan kadar bioetanol yang rendah dipengaruhi oleh glukosa yang digunakan oleh *M. indicus* sebagai nutrienya. Karakteristik jamur berfilamen menyulitkan konversi glukosa menjadi bioetanol. *M. indicus* dapat menghasilkan bioetanol meskipun dalam kadar yang kecil. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Karimi *et al.*, (2005).

Untuk memenuhi kebutuhan sumber karbon tersebut kapang akan mensintesis enzim yang dapat mendegradasi sumber karbohidrat lignoselulosa yang terdapat dalam substrat. Menurut Moore (2003) dan Yudhabuntara (2003) kapang memanfaatkan karbohidrat yang terdapat dalam bahan makanan sebagai sumber energi.

Kadar bioetanol yang terlalu rendah bisa disebabkan karena proses fermentasi terlalu lama. Produk yang terbentuk adalah senyawa-senyawa asam

organik seperti asam asetat, asam karbamat, asam formiat dan gas CO<sub>2</sub> yang merupakan senyawa samping hasil fermentasi bioetanol dapat menghentikan kerja enzim dari *M. indicus* untuk memproduksi bioetanol lebih banyak.

#### 4.9 Perbandingan Kadar Bioetanol Dengan Penggunaan *P. stipitis* dan *M. indicus*

Perbandingan hasil kadar bioetanol pada penggunaan *P. stipitis* dan *M. indicus*. Hasil penelitian ini memberikan hasil yang jauh berbeda dikarenakan sifat dari mikroorganisme yang digunakan pada tahap fermentasi memiliki kemampuan yang berbeda. *P. stipitis* merupakan mikroorganisme jenis ragi. *Yeast* jenis ini memiliki kemampuan jauh lebih kuat dalam mengolah gula hasil hidrolisis berupa glukosa, pentosa, xilosa menjadi bioetanol. Kemampuan *M. indicus* yang hanya dapat mengkonversi glukosa menjadi bioetanol. Penguraian gula hasil proses hidrolisis yang kemudian diubah oleh *P. stipitis* maupun *M. indicus* pada tahap fermentasi secara simultan. Perolehan kadar bioetanol yang dihasilkan oleh *P. stipitis* lebih besar bila dibandingkan pada hasil pembentukan bioetanol menggunakan *M. indicus*. Tabel 4.9 menjelaskan perbedaan kadar bioetanol yang dihasilkan masing-masing mikroorganisme pembentuk bioetanol.

Tabel 4.9 Perbandingan Kadar Bioetanol Menggunakan *P. stipitis* dan *M. indicus*

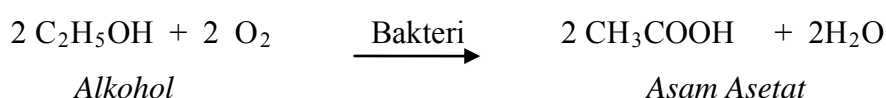
Reaktor	Menggunakan <i>P. stipitis</i>		Reaktor	Menggunakan <i>M. indicus</i>	
	72 Jam (mg/g)	96 Jam (mg/g)		72 Jam (mg/g)	96 Jam (mg/g)
<i>P. stipitis</i> , 5%, 10g I	0,03	0,02	<i>M. indicus</i> , 5%, 10g I	0,02	0,14
<i>P. stipitis</i> , 5%, 10g II	0,03	0,02	<i>M. indicus</i> , 5%, 10g II	0,01	0,11
<i>P. stipitis</i> , 10%, 10g I	0,2	0,05	<i>M. indicus</i> , 10%, 10g I	0,07	0,19
<i>P. stipitis</i> , 10%, 10g II	0,2	0,05	<i>M. indicus</i> , 10%, 10g II	0,06	0,16
<i>P. stipitis</i> , 5%, 20g I	0,02	0,01	<i>M. indicus</i> , 5%, 20g I	0,18	0,01
<i>P. stipitis</i> , 5%, 20g II	0,02	0,01	<i>M. indicus</i> , 5%, 20g II	0,02	0,01
<i>P. stipitis</i> , 10%, 20g I	0,02	0,02	<i>M. indicus</i> , 10%, 20g I	0,01	0,02
<i>P. stipitis</i> , 10%, 20g II	0,06	0,02	<i>M. indicus</i> , 10%, 20g II	0,01	0,02

Untuk *P. stipitis* dan *M. indicus* menghasilkan kadar bioetanol tertinggi pada kondisi reaktor yang sama yaitu berisi substrat 10 g, konsentrasi inokulum 10%, serta waktu fermentasi 72 jam. Kadar bioetanol tertinggi untuk *P. stipitis*

sebesar 0,20 (mg/g) sedangkan untuk *M. indicus* konsentrasi tertinggi sebesar 0,19 (mg/g). Pada reaktor dengan kadar terendah untuk *P. stipitis* dan *M. indicus* terdapat pada kondisi reaktor yang sama yaitu 20 g substrat, 5% konsentrasi inokulum dan waktu fermentasi 96 jam. Pada kondisi substrat 20 g dan inokulum *P. stipitis* 5% menunjukkan perbandingan yang tidak sesuai sehingga ketersediaan protein menurun menyebabkan semakin rendah kemampuan enzim dalam mengolah glukosa menjadi bioetanol.

Pada penelitian ini diperoleh hasil yang rendah pada waktu 96 jam karena terjadi fermentasi lanjutan dari bioetanol yang terbentuk difermentasikan kembali hingga terbentuk asam asetat. Pada waktu fermentasi 96 jam kemungkinan ada kontak dengan udara. Kontaminan oleh udara kemungkinan terjadi pada saat pengambilan sampel. Waktu pengambilan pada 72 dan 96 jam fermentasi sehingga bioetanol yang terbentuk terganggu menghasilkan produk berupa asam asetat.

Reaksi:



Ratio C/N rendah dari bahan baku. Hal ini menyebabkan perolehan bioetanol dalam proses fermentasi rendah. Rendahnya kemampuan mikroorganisme dalam mengkonversi bahan baku eceng gondok menjadi penyebab kadar bioetanol rendah. Penyebab lain kadar bioetanol rendah adalah glukosa yang terbentuk tidak terkonversi menjadi bioetanol melainkan berubah menjadi produk lain yaitu seperti asam laktat dan selanjutnya berubah menjadi asam asetat. Reaksi yang terjadi adalah

Reaksi:



Produk yang terbentuk sebagai hasil dari proses fermentasi bukan hanya bioetanol namun terdapat senyawa lain seperti halnya asam asetat, asam laktat yang dapat mempengaruhi kadar bioetanol yang dihasilkan. Kemungkinan lain adalah dari kondisi kandungan bahan baku dimana kandungan nitrogen yang

terdapat dalam bahan baku cukup tinggi sehingga kemungkinan terbentuk nitrat dalam reaksi dimana nitrat akan mengganggu pembentukan bioetanol. Kondisi fermentasi setelah 96 jam kondisinya menjadi asam sehingga bioetanol yang terbentuk terganggu sehingga kadar bioetanol yang terbentuk adalah rendah hanya sebesar 0,02%. Pengaruh terbentuknya asam adalah dipengaruhi proses kerja mikroorganisme dalam reaktor.

Menurut Takagi (1977) bahwa pada penggunaan metode *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF) lebih baik perolehannya bila dibandingkan pada penggunaan metode *Separate Hydrolysis Fermentation* (SHF) karena waktu proses lebih singkat, penggunaan reaktor akan berkurang. Pada pengolahan dengan metode SSF didapat hasil yang lebih banyak bila dibandingkan pada proses pembuatan bioetanol dengan metode SHF. *Pretreatment* pada pembuatan bioetanol sangat mempengaruhi perolehan bioetanol. Bila menggunakan *pretreatment* secara biologis dipadukan dengan penambahan bahan kimia akan memperoleh produk bioetanol yang lebih banyak.

Metode SSF akan lebih baik hasilnya bila menggunakan perlakuan pendahuluan kombinasi antara secara biologis dengan penambahan bahan kimia. Penggabungan dua metode *pretreatment* akan menghasilkan produk gula reduksi akan lebih banyak. Jika gula reduksi yang dihasilkan banyak maka bioetanol yang terbentuk akan besar.

Faktor lain yang menyebabkan kadar bioetanol rendah adalah terbentuknya hasil samping dari produk fermentasi berupa asam laktat, asam asetat. Hasil lain seperti asam, CO<sub>2</sub> dari produk hasil fermentasi dapat menjadi penghambat terbentuknya produk dari fermentasi. Bioetanol yang terbentuk teroksidasi menjadi aldehid dan keton. Penguraian bioetanol dan pembentukan produk lain pada fermentasi selain etanol menyebabkan perolehan bioetanol yang rendah.

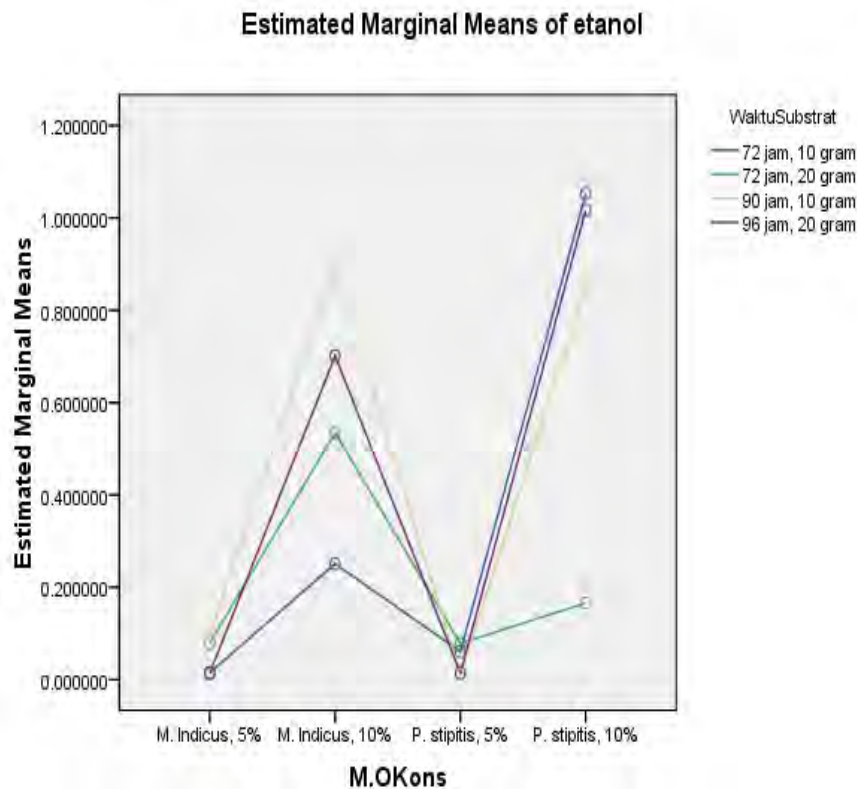
Karakteristik dari mikroorganisme pun dapat mempengaruhi hasil dari pembentukan bioetanol. Sifat atau kondisi optimum dari mikroorganisme seperti suhu, pH bila tidak terpenuhi maka kinerja dari mikroorganisme yang menghasilkan bioetanol tidak akan maksimal. Pada awal proses pH yang

digunakan adalah 5 namun pada akhir proses kemungkinan pH tidak lagi bernilai 5 karena hasil dari fermentasi terdapat jenis asam maka kondisi pH adalah asam.

#### **4.10 Analisis Statistik**

Berdasarkan data-data hasil percobaan laboratorium yang kemudian diolah menggunakan *software* SPSS. Sehingga dapat dianalisis dengan menggunakan metode statistik yaitu metode rancangan penelitian. Data hasil analisis disajikan pada Gambar 4.8.

Pada analisis dengan menggunakan *Main Effect Plot* menunjukkan hubungan saling keterikatan antar masing-masing variabel yaitu variabel jenis mikroorganisme, konsentrasi inokulum, jumlah substrat dan waktu fermentasi. Hasil analisis statistik menggunakan metode rancangan faktorial dengan *software* SPSS. Diperoleh hasil pengolahan data berupa grafik *main effect plot* dari hasil analisa rancangan faktorial. Data yang digunakan adalah variabel mikroorganisme, jumlah inokulum, banyaknya substrat dan waktu fermentasi terhadap kadar etanol. Berdasarkan grafik *main effect plot* menunjukkan bahwa mikroorganisme terbaik yang dapat digunakan pada fermentasi eceng gondok adalah *P. stipitis* metode SSF. Konsentrasi inokulum *P. stipitis* yang digunakan 10% serta dengan berat substrat kering eceng gondok sebanyak 10 g. Hasil konsentrasi bioetanol yang didapat adalah 0,20 (mg/g). Waktu fermentasi selama 72 jam. Pada waktu 72 jam fermentasi produksi bakteri dari glukosa diubah menjadi bioetanol. Pada waktu 96 jam terbentuk hasil lain selain bioetanol yaitu asam-asam seperti asam laktat dan asam asetat sehingga kadar pada waktu fermentasi 96 jam hanya sebesar 0,05 (mg/g). Untuk penggunaan mikroorganisme *M. indicus* 0,18 (mg/g) memberikan hasil yang lebih rendah dibandingkan dengan *P. stipitis* sebesar 0,20 (mg/g). Perbedaan hasil dari penggunaan *P. stipitis* dan *M. indicus* adalah karena kemampuan *P. stipitis* dapat mengubah glukosa dan xylosa menjadi bioetanol, sedangkan *M. indicus* hanya mampu mengubah glukosa menjadi bioetanol.

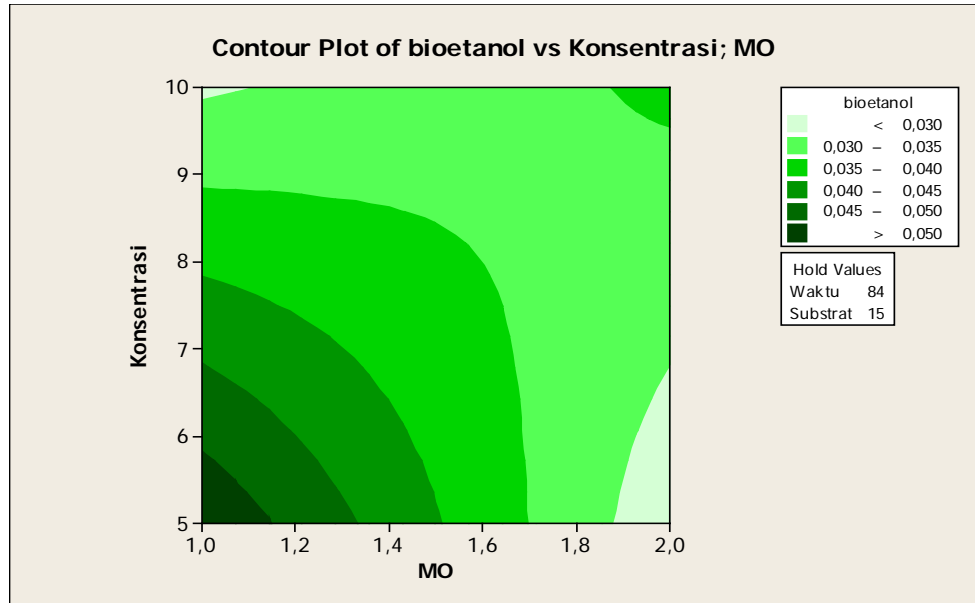


Gambar 4.8 *Main Effect Plot*

Dari hasil analisa didapat bahwa jenis mikroba jenis ragi *P. stipitis* yang memiliki kemampuan lebih baik dalam merombak glukosa, xylosa menjadi bioetanol. Konsentrasi yang terbaik menghasilkan bioetanol adalah pada konsentrasi inokulum ragi *P. stipitis* 10% karena perbandingan konsentrasi dengan substrat harus seimbang. Jumlah konsentrasi inokulum yang lebih banyak akan memudahkan proses degradasi dari komponen lignoselulosa dan gula reduksi yang terbentuk. Bila menggunakan konsentrasi *P. stipitis* 5% dikhawatirkan jumlah substrat lebih banyak dibandingkan dengan jumlah mikroorganisme yang akan menguraikan sehingga perolehan kadar bioetanol rendah.

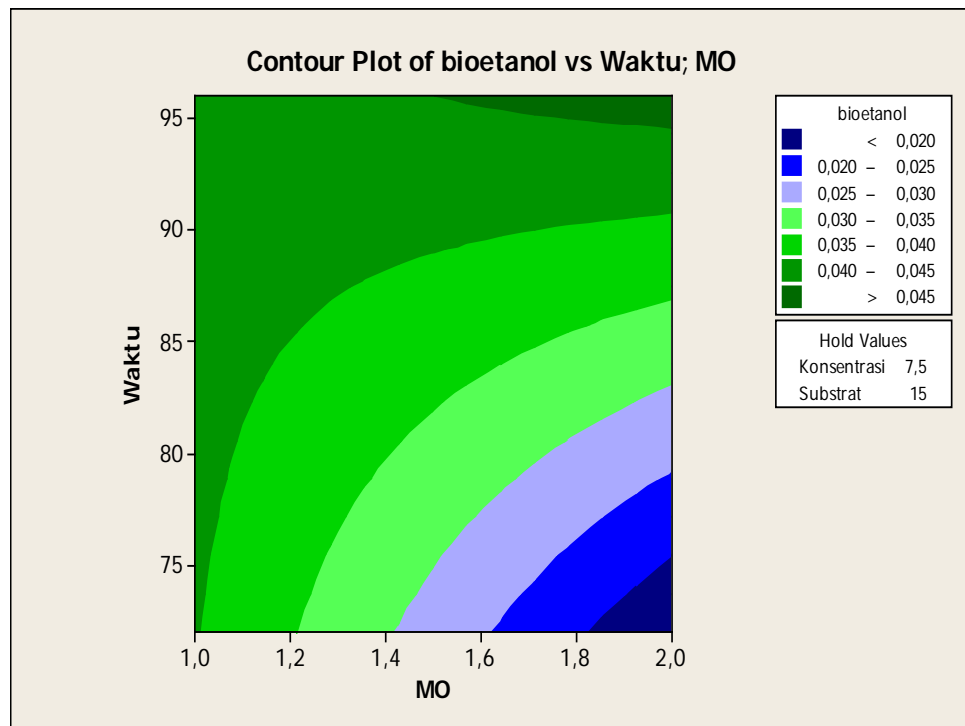
Analisis statistik dengan menggunakan metode *response surface* adalah dimana diperoleh interaksi antar variabel dalam penelitian. Interaksi antar variabel tersebut menghasilkan kondisi optimum untuk masing-masing variabel. Dari analisis *response surface* didapat interaksi antar variabel dengan hasil optimum sebagai berikut:

1. Interaksi antara mikroorganisme dan konsentrasi kondisi optimum adalah pada *P. stipitis* konsentrasi 5%.



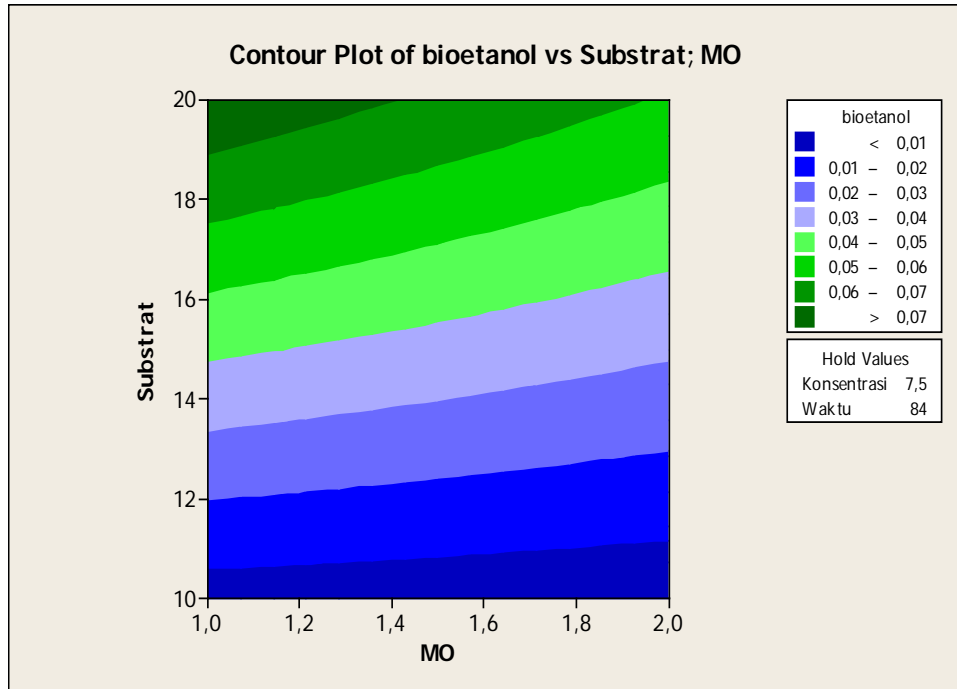
Gambar 4.9 Interaksi antara Mikroorganisme dan Konsentrasi

2. Interaksi antara waktu dan mikroorganisme adalah kondisi optimum pada *M. indicus* waktu fermentasi 96 jam



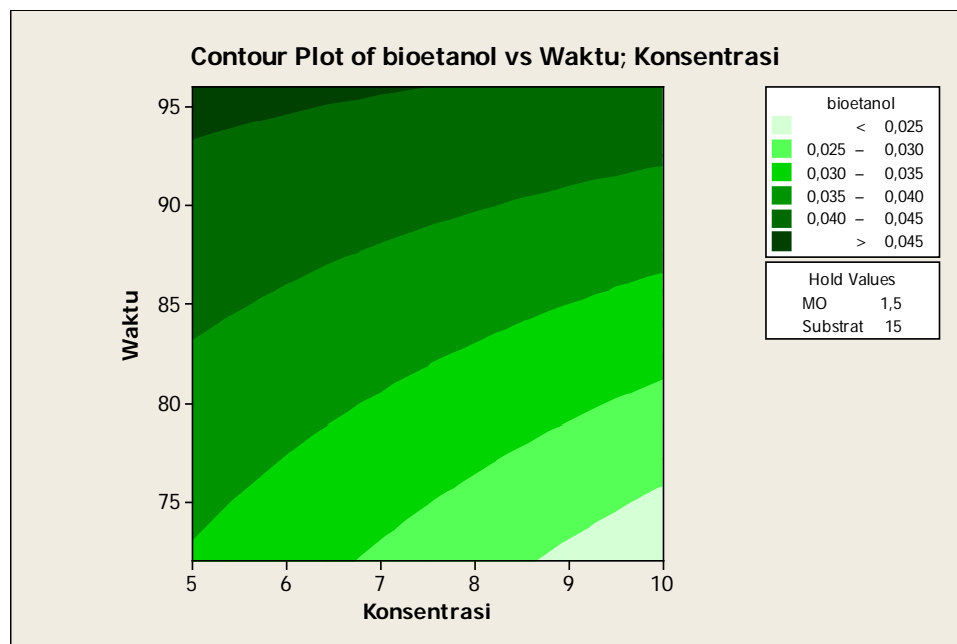
Gambar 4.10 Interaksi antara Waktu dan Mikroorganisme

- Kondisi optimum pada interaksi antara mikroorganisme dan substrat adalah pada *P. stipitis* pada substrat 20 g.



Gambar 4.11 Interaksi antara Mikroorganisme dan Substrat

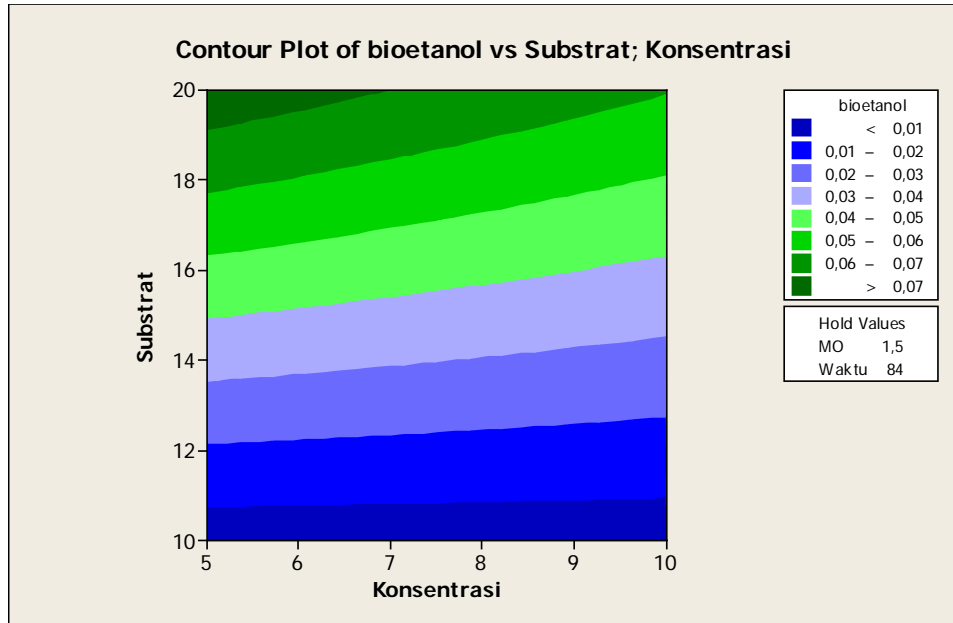
- Kondisi optimum pada interaksi antara konsentrasi dan waktu adalah pada konsentrasi 5% waktu 96 jam.



Gambar 4.12 Interaksi antara konsentrasi dan waktu



5. Kondisi optimum pada interaksi antara konsentrasi dan substrat adalah pada konsentrasi 5% substrat 20 g.



Gambar 4.13 Interaksi antara substat konsentrasi

Berdasarkan hasil analisis yang ditunjukkan dalam bentuk countur plot didapat kondisi optimum dari variabel yang digunakan pada penelitian. Beberapa interaksi antara jenis mikroorganism, konsentrasi, substrat dan waktu fermentasi. Pada analisis menggunakan *response surface* didapat kondisi optimum pada penelitian ini adalah jenis mikroorganism *P.stipitis*, konsentrasi 5%, substrat 20 g, dan waktu 96 jam, bila terus ditingkatkan maka perolehan bioetanol akan terus meningkat.

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 1.1 KESIMPULAN

Kesimpulan yang dapat diambil pada penelitian ini adalah:

1. Mikroorganisme yang terbaik dalam menghasilkan bioetanol dalam penelitian ini adalah *P. stipitis* karena mempunyai kemampuan mengkonversi glukosa dan xylosa menjadi bioetanol. Sedangkan pada *M. indicus* hanya mampu mengkonversi glukosa menjadi bioetanol.
2. Pada penelitian ini dosis terbaik adalah *P. stipitis* dengan konsentrasi inokulum 10%, substrat 10 g, waktu fermentasi 72 jam.

#### 1.2 SARAN

Pada penelitian ini menggunakan perlakuan pendahuluan secara biologis namun perolehan hasil bioetanol masih sangat rendah. Maka disarankan untuk memperoleh hasil yang lebih banyak maka selanjutnya menggunakan *P. stipitis* dengan perlakuan awal bahan baku menggunakan perlakuan pendahuluan secara biologis dan kimiawi.

Penggabungan proses pendahuluan secara biologis dan kimiawi dapat dilakukan dengan menambahkan zat kimia pada substrat. Bahan kimia yang dapat digunakan antara lain; asam, basa dan ozon. Setelah substrat bercampur dengan bahan kimia disesuaikan pH dengan kondisi optimum dari mikroorganisme. Selanjutnya setelah terjadi pencampuran substrat dan bahan kimia serta pH telah disesuaikan, maka dilanjutkan dengan proses fermentasi secara simultan.

*“Halaman ini sengaja dikosongkan”*

## DAFTAR PUSTAKA

- Abedenifar, S., Karim, K., dan Khanahmadi, M. 2009. "Ethanol Production by *Mucor indicus* and *Rhizopus oryzae* from Rice Straw by Separate Hydrolysis and Fermentation". *Biomass and Bioenergy* **33**, Hal. 828-833
- Adams, M.R. 1985. "The Small Scale Production of Vinegar from Bananas". Tropical Products Institut. London
- Adikara, R. dan Herry, A. 2002. "Biofermentor untuk Fermentasi Sampah Organik". *Jurnal Pusat Penelitian Bioenergi Lembaga Penelitian Universitas Airlangga*. Surabaya
- Anindyawati, T. 2009. "Prospek Enzim dan Limbah Lignoselulosa untuk Produksi Bioetanol". Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI
- Arnata, I.W., Setyaningsih, D., dan Richana, N. 2011. "Produksi Bioetanol dari Ubi Kayu Melalui Proses Sakarifikasi Fermentasi Simultan Menggunakan Kultur Campuran *Trichoderma viride*, *Aspergillus niger*, dan *Saccharomyces cerevisiae*". Research Institute for Food Crops Biotechnology. Indonesia
- Asachi, R., Karimi, K., dan Taherzadeh, M. 2011. "Ethanol Production by *Mucor indicus* using The Fungal Autolysate as A Nutrient Supplement". *Bioenergy Technology* **2**, Hal. 8-13
- Bellido, C., Bolado, S., Coca. S., Lucas. S., Benito.G., dan Gubero, G.M.T. 2011. "Effect of Inhibitor Formed During Wheat Straw Pretreatment on Ethanol Fermentation by *Pichia stipitis*". *Bioresource Technology* **106**, Hal. 10868-10874
- Brades, A.C. dan Tobing, F.S. 2007. "Pembuatan Briket Arang dari Enceng Gondok (*Eichhornia crassipes solm*) dengan Sagu sebagai Pengikat". Skripsi. Jurusan Teknik kimia-Universitas Sriwijaya. Indralaya
- Boominathan, K. dan Adinarayana, C. 1991. "Fungal Degradation Lignin". *Biothechnological Aplicatio* **1**, Hal. 89-90
- Chesson, A. 1981. "Effects of Sodium Hydroxide on Cereal Straws in Relation to the Enhanced Degradation of Structural Polysaccharides by Rumen Microorganisms". *Journal Science Food Agriculture* **32**, Hal. 745-758

- Dalzell, H.W., Bidlestone, A.J., Gray, K.R., dan Thurairajan, K. 1980. "Soil Management: Compost Production and Use in Tropical and Subtropical Environment". Soil Bulletin **56**, Hal. 56-58
- Deker, M. 1995." Fermentation Process Development of Industrial Organism". Cetus Corporation Emeryville. New York
- Eun, J.S., Beauchemin, K.A., Hong, S.H., dan Bauer, B.W. 2006. "Exogenous Enzymes Added to Untreated or Ammoniated Rice Straw: Effect on in Vitro Fermentation Characteristic and Degradability". J. Anim. Sci. and Tech. **131**, Hal. 86-101
- Fifi, N., Umi, M., Vicki, C.J., dan Sugili, P. 2009. "Pembuatan Bioethanol dari Biji Durian sebagai Sumber Energi Alternatif". Seminar Nasional V SDM Teknologi Nuklir. STTN Batan. Yogyakarta
- Fadillah., Sperisa D., Enny K., dan Arif, J. 2006. "Biodelignifikasi Batang Jagung dengan Jamur Pelapuk Putih *Phanerochaete chrysosporum*". Skripsi. Jurusan Teknik Kimia-Fakultas Teknik-UNS. Surakarta
- Fahmi. 2009. "Pemanfaatan Eceng Gondok sebagai Bahan Baku Pembuatan Briket". Skripsi. Departemen Teknologi Hasil Perairan-Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan-IPB. Bogor
- Farrel, R., Molina, J., dan Guierrez, J. 2006. "Isolation and Use of Decay Fungi". US Patent & Trade Mark Office No. 0060246570
- Ganguly, A., Chatterjee P., dan Dey, A. 2012. "Studies on Ethanol Production from Water Hyacinth—A Review". Renewable and Sustainable Energy Reviews **16**, Hal. 966– 972
- Goenadi, D.H., Y. Away., R.A. Pasaribu, dan R. Siagan. 1994. "Biodegradation of Empty Fruit Bunches of Oil Palm for Pulping". Menara Perkebunan **62** (2), Hal. 30-35
- Graf, A. dan Koehler, T. 2000. "Oregon Cellulose-Ethanol Study An Evaluation of The Potential for Ethanol Production in Oregon using Cellulose-Based Feedstock". Oregon Office of Energy. Oregon
- Grootjen, D.R.J., Lans, R.G.J.M.V.D, dan Luyben, K.C.H.A. 1990. "Effect of The Aeration Rate on The Fermentation of Glucose and Xylose by *Pichia stipitis* CBS 5773". Enzyme Microb Technol **12**, Hal. 1193-1198

- Gull, I., Hamed, A., Aslam, M.S., dan Atar, M.A. 2013 “ Optimization of Phytase Production Fermentation by Different Fungi“. African Journal of Microbiology Research **7 (46)**, Hal. 5207-5212
- Gunnarsson, C.C. dan Cecilia M.P. 2006. ”Water Hyacinths as a Resource in Agriculture and Energy Production: A Literature Review”. Waste Management **27**, Hal. 117-129
- Handayani, A. 2014. “Hidrolisis *Eichhornia crassipes* Menggunakan Proses Fisika, Kimia, dan Biologis”. Prosiding Seminar Nasional Waste Management II ISBN 978-602-95595-7-6. Jurusan Teknik Lingkungan-FTSP-ITS. Surabaya
- Harmsen, P., Huijgen, W., Bermudez, L., dan Bakker, R. 2010. “ Literature Review of Physical dan Chemical Preatreatment Processes for Lignocellulosic Biomass”, Wageningen UR Food & Biobased Research. Netherlands
- Hendriks, A. dan Zeeman, G. 2009. “To Enhance The Digestibility of Lignocellulose Biomass”. Biotechnology **5**, Hal. 27 -30
- Howard, R., Abotsi, E., Jansen, V.R., E.L., dan Howard, S. 2003. “Lignocellulose Biotechnology: Issue of Bioconversion and Enzyme Production”. African Journal of Biotechnology **2**, Hal. 602 – 619
- Indra.D., Salim S., dan Mardiah, E. 2012. “Pembuatan Bioetanol dari Ampas Sagu dengan Proses Hidrolisis Asam dan Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*”. Jurnal Kimia Unand **1**, Hal. 1
- Inggrid, M. dan Suharto, I. 2012. “ Fermentasi Glukosa oleh *Aspergillus niger* Menjadi Asam Glukonat”. Lembaga Pengabdian kepada Masyarakat-Universitas Katolik Parahayangan. Bandung
- Juwita, R. 2012. Studi Produksi Alkohol dari Tetes Tebu (*Saccharum officinarum* L) Selama Proses Fermentasi. Skripsi. Program Studi Keteknikpertanian Fakultas Teknik Pertanian-Universitas Hasanuddin. Makasar
- Jeffries, P. dan Koomen, I. 1992. “Strategies and Prospects for Biological Control of Diseases Caused by Colletotrichum”. dalam “Colletotrichum Biology, Pathology and Control”. Bailey, J.A., dan Jeger, M.J., CAB Internasional, Hal. 337-357

- Jeffries, T.W., Igor V.G., Jose M. L., Andrea A., Asaf S., Jeremy S., Erika L., Paramvir D., Harris S., Yong-Su Jin, Volkmar P, dan Paul M. R. 2007. Genome Sequence of the Lignocellulose-Bioconverting and Xylose-Fermenting Yeast *Pichia stipitis*. Article Nature Biotechnology **25**, Hal. 78-86
- Joedodibroto, R. 1983. "Prospek Pemanfaatan Eceng Gondok dalam Industri Pulp dan Kertas". Berita Selulosa **29**, Hal. 3-7
- Judoamidjojo, M.R., Gumbira, E., dan Hartoto, L.B. 1989. "Biokonversi". Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi. Pusat Antar Universitas Bioteknologi-Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Juhasz, T., Kozma, K., Szengyel, Z., dan Reczey, K. 2003. "Production of  $\beta$ -Glucosidase in Mixed Culture of *Aspergillus niger* BKMF 1305 and *Trichoderma reesei* RUT C30 Food Technol". Biotechnol **41 (1)**, Hal. 49-53
- Kasim, A. dan Aisman, F. 2002. "Uji Keefektifan Effective Microorganism -4 (EM-4) pada Delignifikasi Tandan Kosong Kelapa Sawit pada Beberapa Tingkat Konsentrasi Inokulum dan Lama Fermentasi". Andalas **14 (38)**, Hal. 1-10
- Karimi, K., Emtiazi, G., dan Taherzadeh, M. 2005. " Production of Mycelial Biomass Rice Straw Hemicellulose Hydrolyzate by *Mucor indicus*". Process Biochemistry **41**, Hal. 653-658
- Khisti, U., Bastawde, B.K., dan Gokhale, D.V. 2011. " Hyper- Production of Glukosia dan Xylosidase by *Aspergillus N* CIM 1207 IN Xylan-Containing Media". Bioresuces 6, Hal. 2066-2076
- Kusnandar, F. 2010. " Kimia Pangan Komponen Makro". Jakarta: PT. Dian Rakyat
- Lynd, L.R., Weimer, P.J., Zyl, W.H., dan Pretorius, I.S. 2002. "Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology". Microbiology and Molecular Biology Review **66**, Hal. 506-557
- Ma, F., Yang, N., Xu, C., Yu, H., Wu, Y., dan Zhang, X. 2010. "Combination of Biological Pretreatment with Mild Acid Pretreatment or Enzymatic

- Hydrolysis and Ethanol Production from Water Hyacinth”, *Bioresource Technology* **101**, Hal. 9600–9604
- Millati, R., Edebo, L., dan Taherzadeh, M. 2005. “ Performance of *Rhizopus*, *Rhizomucor*, and *Mucor* in Ethanol Production from Glucose, Xylose and Hydrolyzates”. *Enzyme and Microbial Technology* **36**, Hal 294-300
- Millati, R., Karimi, K., Edebo, L., Niklasson, C., dan Taherzadeh, M. 2008. “Ethanol Production from Xylose and Wood Hydrolyzate by *Mucor indicus* at Different Aeration Rates. *Bioresources* **3**, Hal. 1020-1029
- Mishima, D., Kuniki, M., Sei, S., Soda, S., Ike, M., dan Fujita, M. 2008. “Ethanol Production from Candidate Energy Crops: Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*) and Water Lettuce (*Pistia stratiotes L.*)”. *Bioresource Technology* **99**, Hal. 2495-2500
- Mendenhall, B.W. 1975. “Introduction to Probability and Statistic 5<sup>th</sup> edition”. Nort Scituate. Mass. Duxbury Press
- Mey, L. 2013. “ Pembuatan Bioetanol dari Bagasse Melalui Proses Fungal Treatment dengan Kombinasi *Trichoderma viride* dan *Aspergillus niger* serta Penambahan *Trichoderma hazianum*, Dilanjutkan Proses Fermentasi oleh *Zymomonas mobilis*”. Skripsi. Jurusan Teknik Kimia-ITS. Surabaya
- Mosier dan Nathan. 2005. “Features of Promising Technologies for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass”. *Bioresource Technology* **96**, Hal. 673–686
- Moore, E. 1972. “ Fundamentals of Fungi”. Prentice Hall Inc. New York University
- Mulyono, M. 1991. “Hidrokarbon di dalam Lingkungan Perairan”. Pusat Penelitian dan Pengembangan Teknologi Minyak dan Gas Bumi-Lemigas. Jakarta
- Musapahaji, M. 2007. ” Mengganti BBM dengan Bioetanol”. Suara Merdeka. Jakarta
- Myers, J. 1979. “Fundamentals of Experimental Design 3<sup>rd</sup> edition”. Allyn & Bacon.
- Narita, V. 2005. “*Saccharomyces cerevisiae* Super Jamur yang Memiliki Sejarah Luar Biasa”. Pusat Pengkajian dan Penerapan Teknologi Farmasi dan Medica. Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT). Jakarta



- Nigam, J. 2002. "Bioconversion of Water-Hyacinth (*Eichhornia crassipes*) Hemicellulose Acid Hydrolysate to Motor Fuel Ethanol by Xylose-Fermenting Yeast". *Journal of Biotechnology* **97**, Hal.107–116
- Nigam, J. 2001. "Ethanol Production from Wheat Straw Hemicellulosa Hydrolysate by *Pichia stipitis*". *Journal of Biotechnology* **87**, Hal. 17–27
- Nelson, N. 1944. "A Photometric Adaptation Of The Somogyi Method for The Determination of Glucose". *Journal of Biological Chemistry* **153**, Hal. 375–380
- Novembrianto, R. 2014. "Penentuan Laju Reaksi Pembentukan Gula pada Hidrolisis Eceng Gondok (*Eichhornia crassipes*) oleh Jamur dan Bakteri Selulolitik". Tesis. Jurusan Teknik Lingkungan-ITS. Surabaya
- Palmqvist, E. dan Hahn-Hagerdal, B. 2000. "Fermentation of Lignocellulosic Hydrolysates. II: Inhibitors and Mechanisms of Inhibition". *Bioresource Technology* **74**, Hal 25-33
- Patradhiani, R., Utami, I. S., dan Widjaja, A. 2010. "Studi Bahan Baku Berlignoselulosa untuk Produksi Gula Xilosa Murah Diikuti Proses Fermentasi Menghasilkan Etanol". Seminar Nasional Rekayasa Kimia dan Proses. Universitas Diponegoro. Semarang
- Partono, A. 1993. "Pertumbuhan Bakteri". Seminar Bioteknologi. Bandung
- Perez, J., Dorado, J. M., Rubia, T., dan Martinez, J. 2002. "Biodegradation and Biological Treatments of Cellulose, Hemicellulose and Lignin: an Overview". *International Microbiology* **5**, Hal. 53-63
- Pramudono, B., Yonathan, A., dan Prasetya, A. R. 2012." Produksi Biogas dari Eceng Gondok (*Eichhornia crassipes*), Kajian Konsistensi dan pH Terhadap Biogas Dihasilkan". *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri* **1**, Hal. 412-416
- Prasetyo, D. 2014. "Produksi Gula Reduksi pada Proses Sakarifikasi *Eichhornia crassipes* dengan Kombinasi Bakteri, Jamur dan Ragi". Prosiding Seminar Nasional Waste Management II. Hal.7-6
- Prescott, M.C. dan Dunn, C.G. 1981. "Industrial Microbiology". Mcgraw-Hill Book Compny. New York
- Rachmaniah, O., Krishnanta, A., dan Ricardo, D. 2012. "Acid Hydrolysis

- Pretreatment of Bagasse-Ligno-Cellulosic Material for Bioethanol Production”. ITS. Surabaya
- Rayuanti, D. 2003. Studi Pengaruh Penambahan Mikroorganisme dan Sekam Terhadap Proses Pengomposan Sampah Pasar. Tugas Akhir. ITS. Surabaya.
- Ropiah, D. 2010. “Pemanfaatan Hidrolisist Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS) untuk Produksi Etanol dengan *Pichia stipitis*”. Program Studi Kimia-Fakultas Sains dan Teknologi-Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta
- Rosdiana, N. S., Sarjono, P.R., dan Mulyani, N.S. 2013. “ Aktifitas *Fusarium oxysporum* dalam Menghidrolisis Eceng Gondok dengan Variasi Temperatur”. Skripsi. Fakultas MIPA-Universitas Diponegoro. Semarang
- Safaria, S., Idiawati N., dan Zaharah, T. 2013. “Efektivitas Campuran Enzim Selulase dari *A. niger* dan *Trichoderma reesei* dalam Menghidrolisis Substrat Sabut Kelapa”. Skripsi. Fakultas MIPA-Universitas Tanjungpura. Pontianak
- Saha, B. 2003. “Hemicellulose Bioconversion”. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* **30**, Hal. 279-291
- Samsuri, M. 2006. “Pengaruh Perlakuan Jamur Pelapuk Putih dan Steaming pada Produksi Ethanol dari Bagas Melalui Proses Sakarifikasi dan Fermentasi secara Serentak (SSF)”. Tesis. Program Pascasarjana Fakultas Teknik.-Universitas Indonesia. Depok
- Sanito, R. 2014. “Penentuan Kinetika Reaksi dan Gula Reduksi Selulosa Eceng Gondok (*Eichhornia crassipes*) Menggunakan Kombinasi Hidrolisis Asam dan Biologis”. Tesis. Jurusan Teknik Lingkungan-FTSP-ITS. Surabaya
- Singh, A. dan Bishnoi, N. 2013. ”Comparative Study of Various Techniques for Ethanol Production from Water Hyacinth”. *Industrial Crops and Products* **44**, Hal. 283– 289
- Sjorberg, G. 2003. “Lignin Degradation: Long-term Effects of Nitrogen Addition on Decomposition of Forest Soil Organic Matter”. Disertasi. Department of Soil Science Swedish-University of Agricultural Science. Uppsala

- Somogyi, M. 1952. "Notes on Sugar Determination". *Journal of Biological Chemistry* **195**, Hal. 19–23
- Sreenath, H.K. 2002. "Hydrolysis of Carboxymethyl Celluloses by Cellulases". *Lebensmittel-Wiss Technol* **26**, Hal. 224-8
- Sun, Y. dan Cheng, J. 2002. "Hydrolysis of Lignocellulosic Materials for Bioetanol Production: Review". *Bioresources Technology* **83**, Hal. 1-11
- Sutarno, R., Zaharah T., dan Idiawati, N. 2013. "Hidrolisis Enzimatik Selulosa dari Ampas Sagu Menggunakan Campuran Selulase dari *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger*". Fakultas MIPA-Universitas Tanjungpura. Pontianak
- Taherzadeh, M. dan Karimi, K. 2007. "Enzyme-Based Hydrolysis Processes for Ethanol from Lignocellulosic Materials: A Review". *Bioresources* **2**, Hal.707-738
- Taherzadeh, Mohammad J., dan Karimi, K. 2008. "Pretreatment of Lignocellulosic Wastes to Improve Ethanol and Biogas Production: A Review". *International Journal of Molecular Sciences* **9**, Hal. 1621-1651
- Takagi, M., Abe, S., Suzuki, S., Emert, G.H., dan Yata, N. 1977. "A Method for Production of Alcohol Direct from Cellulose using Cellulase and Yeast", *Proceedings of the Bioconversion Symposium, IIT, Delhi*, Hal. 551–571
- Ul-haq, I., Javed, M., Khan T., dan Shiddiq, Z. 2005. "Cotton Saccharifying Activity of Cellulases Provided by Co-Culture of *A. niger* and *Trichoderma viride*". *Research Journal of Agriculture and Biological Science* **1**, Hal. 241-245
- Waites, M.J., Morgan, N.L., Rockey, J.S., dan Gary, H. 2001. "Industrial Microbiology". An Introduction Blackwell Science. USA
- Wardani, A.K. dan Indah, K. 2012. "Pretreatment Ampas Tebu (*Saccharum Oficinarum*) sebagai Bahan Baku Bioetanol Generasi Kedua". Jurusan Teknologi Hasil Pertanian FTP-UB. Malang
- Wididana, G. dan Higa, T. 1993. "Effect if Effective Microorganism 4 (EM4) on Growth and Production of Crops". *Bulletin Kyusei Nature Farming*
- Widianti, L. 2010. "Pengaruh Urea pada Biokonversi Xilosa Menjadi Xilitol dari Hidrolisist Hemiselulosa Limbah Tanaman Jagung (*Zea mays*) oleh

- Debaryomyces hansenii*". Skripsi. Jurusan Kimia-Universitas Sebelas Maret. Surakarta
- Wilson, D. 2011. "Microbial Diversity of Cellulose Hydrolysis". *Current Opinion in Microbiology* **14**, Hal. 259–263
- Wiratmaja, I.M. 2011. "Proses Fermentasi Limbah Rumput Laut *Euceuma Cottoni* sebagai Tahap Awal Pembuatan Bioetanol Generasi Kedua". Tesis. Pascasarjana Program Studi Teknik Mesin-Universitas Udayana. Denpasar
- White, J.G. 2000. "Oregon Perspective on Cellulose-to-Ethanol". Oregon Office of Energy. Oregon
- Yoshari. 2010. "Pembuatan Bioethanol dari Tandan Kosong Kelapa Sawit Melalui Proses Fungal Treatment oleh Kombinasi *Trichoderma harzianum*, *Tricoderma viride*, dan *Apergillus niger* Dilanjutkan Proses Fermentasi oleh *Zymomonas mobilis*". Skripsi. Jurusan Teknik Kimia-ITS. Surabaya
- Yudhabuntara. 2003. "Pegendalian Mikroorganisme dalam Bahan Makanan Asal Hewan". Bina Produksi Peternakan. Departemen Pertanian. Bogor
- Yusak, Y. 2004. "Pengaruh Suhu dan Ph Bufer Asetat Terhadap Hidrolisis CMC oleh Enzim Selulase dari Ekstrak *A. niger* dalam Media Campuran Onggok" *Jurnal Sains Kimia* **8**, Hal. 35-37
- Yusra, F. dan Firmanto, H. 2010. "Pembuatan Bioetanol Dari Xilan Jeram Padi Melalui Degradasi Enzimatik Diikuti Proses Fermentasi Menggunakan *Pichia stipitis*". Skripsi. Jurusan Teknik Kimia-ITS. Surabaya
- Zakpaa, H.D., Mensah, E.E.M., dan Johnson, F.S. 2009. "Production of Bio-Ethanol from Corncobs Using *Aspergillus Niger* and *Saccharomyces Cerevisae* Insimultaneous Saccharification and Fermentation". *African Journal of Biotechnology* **8**, Hal. 3018-302

*“Halaman ini sengaja dikosongkan”*



**HASIL PENGUKURAN KOMPONEN  
LIGNOSELULOSA**

**Sebelum**

<b>Pretreatment</b>	<b>Hemiselulosa</b>	<b>Selulosa</b>	<b>Lignin</b>
I	37,46	26,24	19,42

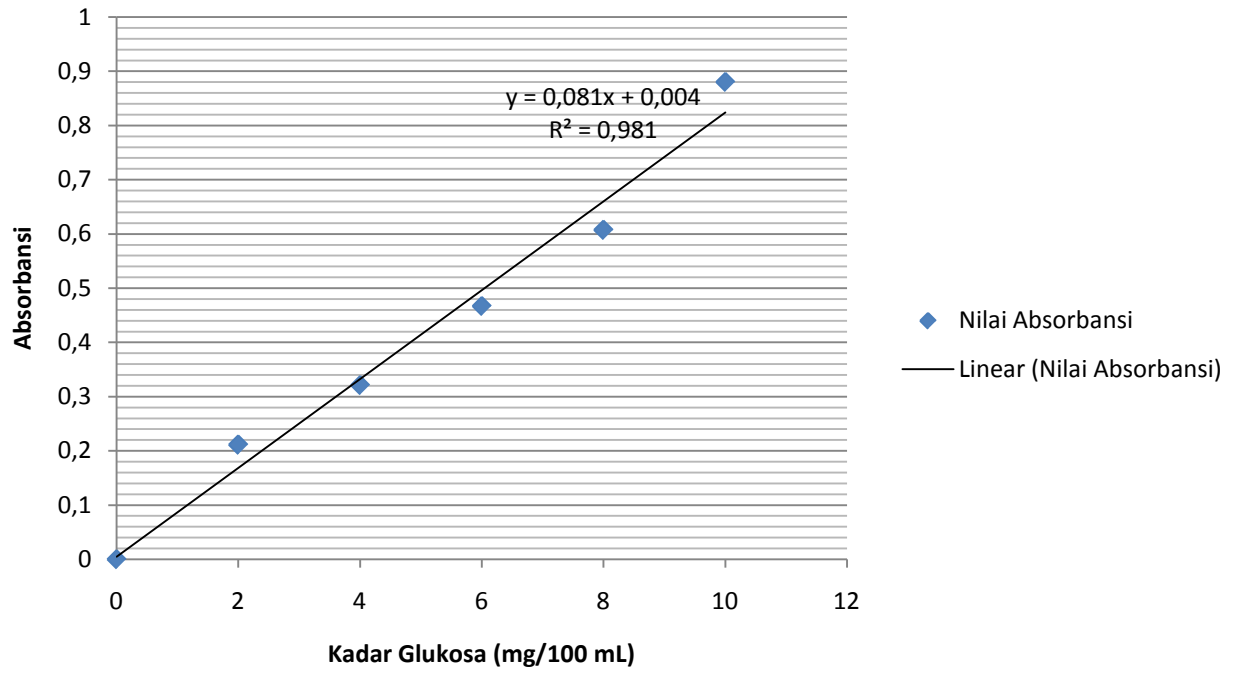
**Setelah**

<b>Pretreatment</b>	<b>Hemiselulosa</b>	<b>Selulosa</b>	<b>Lignin</b>
<b>SAMPEL</b>			
M. indicus 10%, 20 g	35,48	23,03	13,24
P.stipitis, 5%, 10 g	34,04	18,40	9,35
P.stipitis, 10%, 10 g	30,23	29,62	14,83
M. indicus 10%,10 g	34,58	19,77	14,37
M. indicus 5%, 20 g	38,32	19,84	10,34
P.stipitis, 5%, 20 g	39,12	26,55	17,34
M. indicus 5%,10 g	39,74	16,43	11,32
P.stipitis, 10%, 20 g	36,04	19,79	16,75
Kontrol 20 gr	38,60	23,82	13,40
Kontrol 10 gr	38,32	19,84	8,10

**Setelah**

<b>Fermentasi</b>	<b>Hemiselulosa</b>	<b>Selulosa</b>	<b>Lignin</b>
<b>SAMPEL</b>			
M. indicus 10%, 20 g	34,43	16,08	9,94
P.stipitis, 5%, 10 g	27,74	16,43	8,90
P.stipitis, 10%, 10 g	28,37	18,63	10,68
M. indicus 10%,10 g	31,65	18,57	13,24
M. indicus 5%,20 g	31,79	19,36	13,28
P.stipitis, 5%, 20 g	34,53	29,94	10,52
M. indicus 5%,10 g	37,68	12,42	11,33
P.stipitis, 10%,20 g	33,60	17,36	9,52
Kontrol 20 gr	30,48	23,03	10,24
Kontrol 10 gr	35,06	17,09	7,27

## Kurva Glukosa Standart





## Pengukuran Gula Reduksi

Reaktor	Setelah	Fermentasi	Fermentasi
	<i>Pretreatment</i> (mg/g)	72 Jam (mg/g)	96 Jam (mg/g)
Kontrol 10g	5,66	5,13	4,93
Kontrol 20g	3,89	3,71	3,46
<i>P. stipitis</i> ,5%,10g	5,43	4,79	4,41
<i>P. stipitis</i> ,10%,10g	7,01	6,83	5,76
<i>P. stipitis</i> ,5%,20g	3,44	3,21	2,66
<i>P. stipitis</i> ,10%,20g	3,27	2,94	2,28
<i>M. indicus</i> ,5%,10g	4,91	3,43	2,19
<i>M. indicus</i> ,10%,10g	6,73	4,29	1,3
<i>M. indicus</i> ,5%, 20g	3,32	4,32	1,73
<i>M. indicus</i> ,10%, 20g	2,39	1,92	1,17

**Perbandingan perolehan gula reduksi dengan kadar Bioetanol**

**Pada penggunaan *P. stipitis* 72 jam fermentasi**

Reaktor	Kadar Glukosa	Kadar Bioetanol
<i>P. stipitis</i> ,5%,10g I	3,21	0,03
<i>P. stipitis</i> ,5%,10g II	3,15	0,03
<i>P.stipitis</i> ,10%,10g I	2,16	0,02
<i>P.stipitis</i> ,10%,10g II	2,1	0,02
<i>P. stipitis</i> ,5%,20g I	4,57	0,01
<i>P. stipitis</i> ,5%,20g II	4,51	0,2
<i>P. stipitis</i> ,10%,20g I	1,98	0,02
<i>P. stipitis</i> ,10%,20g I	1,91	0,02

**Perbandingan perolehan gula reduksi dengan kadar Bioetanol**

**Pada penggunaan *P. stipitis* 96 jam fermentasi**

Reaktor	Kadar Glukosa	Kadar Bioetanol
<i>P. stipitis</i> ,5%,10g I	2,96	0,05
<i>P. stipitis</i> ,5%,10g II	2,9	0,05
<i>P.stipitis</i> ,10%,10g I	1,73	0,01
<i>P.stipitis</i> ,10%,10g II	1,73	0,01
<i>P. stipitis</i> ,5%,20g I	3,77	0,02
<i>P. stipitis</i> ,5%,20g II	3,86	0,02
<i>P. stipitis</i> ,10%,20g I	1,54	0,02
<i>P. stipitis</i> ,10%,20g I	1,48	0,02

**Pada penggunaan *M. indicus* 72 jam fermentasi**

Reaktor	Kadar Glukosa	Kadar Bioetanol
<i>M. indicus</i> ,5%,10g I	2,04	0,02
<i>M. indicus</i> ,5%,10g II	2,78	0,01
<i>M. indicus</i> ,10%,10g I	1,54	0,18
<i>M.indicus</i> 10%,10g II	3,52	0,02
<i>M. indicus</i> ,5%, 20g I	3,58	0,06
<i>M.indicus</i> ,5%, 20g II	1,48	0,07
<i>M. indicus</i> ,10%, 20g I	1,3	0,01
<i>M. indicus</i> 10%, 20g II	1,23	0,01

**Pada penggunaan *M. indicus* 96 jam fermentasi**

Reaktor	Kadar Glukosa	Kadar Bioetanol
<i>M. indicus</i> ,5%,10g I	2,04	0,14
<i>M. indicus</i> ,5%,10g II	2,78	0,11
<i>M. indicus</i> ,10%,10g I	3,58	0,02
<i>M.indicus</i> 10%,10g II	3,52	0,02
<i>M. indicus</i> ,5%, 20g I	1,54	0,16
<i>M.indicus</i> ,5%, 20g II	1,48	0,19
<i>M. indicus</i> ,10%, 20g I	1,3	0,02
<i>M. indicus</i> 10%, 20g II	1,23	0,02

## LAMPIRAN HASIL UJI STATISTIK

### Univariate Analysis of Variance

#### Between-Subjects Factors

		Value Label	N
M.OKons	1	M. Indicus, 5%	8
	2	M. Indicus, 10%	8
	3	P. stipitis, 5%	8
	4	P. stipitis, 10%	8
WaktuSubstrat	1	72 jam, 10 gram	8
	2	72 jam, 20 gram	8
	3	96 jam, 10 gram	8
	4	96 jam, 20 gram	8

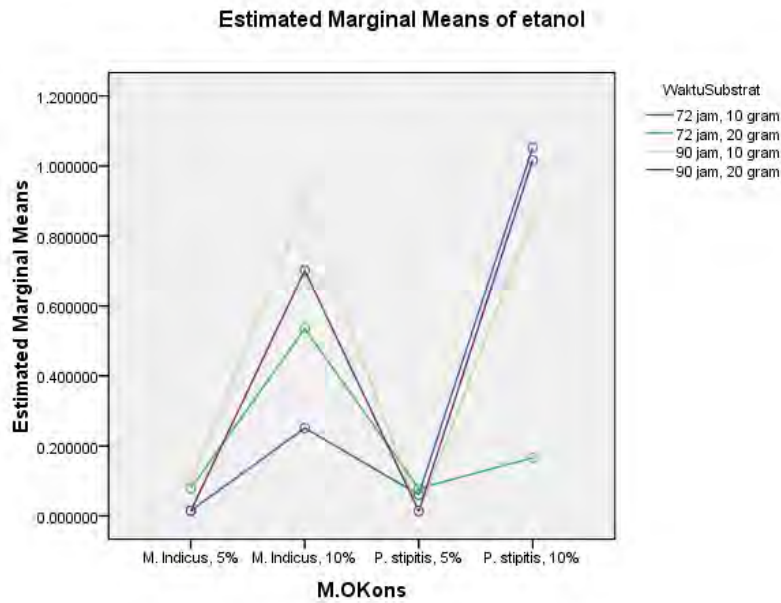
#### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: etanol

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	4.862 <sup>a</sup>	15	.324	.881	.594
Intercept	4.256	1	4.256	11.574	.004
M.OKons	3.376	3	1.125	3.060	.058
WaktuSubstrat	.302	3	.101	.274	.843
M.OKons * WaktuSubstrat	1.184	9	.132	.358	.939
Error	5.884	16	.368		
Total	15.003	32			
Corrected Total	10.747	31			

a. R Squared = ,452 (Adjusted R Squared = -,061)

## Profile Plots



## UJI NORMALITAS

### NPar Tests

#### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Residual for etanol
N		32
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	.0000
	Std. Deviation	.43568
Most Extreme Differences	Absolute	.276
	Positive	.276
	Negative	-.276
Kolmogorov-Smirnov Z		1.561
Asymp. Sig. (2-tailed)		.015
a. Test distribution is Normal.		

LAMPIRAN

HASIL ANALISA DATA RESPON SURFACE

1. Analisis dengan menggunakan Respon Surface (Minitab 16)

**Response Surface Regression: bioetanol versus MO; Konsentrasi; Waktu; Substrat**

Estimated Regression Coefficients for bioetanol

Term	Coef	SE Coef	T	P
Constant	0,036471	0,009688	3,764	0,001
MO	-0,005223	0,009688	-0,539	0,596
Konsentrasi	-0,003915	0,009688	-0,404	0,690
Waktu	0,008510	0,009688	0,878	0,390
Substrat	0,031872	0,009688	3,290	0,003
MO*Konsentrasi	0,008504	0,009688	0,878	0,390
MO*Waktu	0,007091	0,009688	0,732	0,472
MO*Substrat	-0,004109	0,009688	-0,424	0,676
Konsentrasi*Waktu	0,002596	0,009688	0,268	0,791
Konsentrasi*Substrat	-0,003941	0,009688	-0,407	0,688
Waktu*Substrat	0,009721	0,009688	1,003	0,327

S = 0,0548064 PRESS = 0,146468

R-Sq = 41,30% R-Sq(pred) = 0,00% R-Sq(adj) = 13,35%

Analysis of Variance for bioetanol

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regression	10	0,044388	0,044388	0,004439	1,48	0,216
Linear	4	0,036188	0,036188	0,009047	3,01	0,041
MO	1	0,000873	0,000873	0,000873	0,29	0,596
Konsentrasi	1	0,000490	0,000490	0,000490	0,16	0,690
Waktu	1	0,002317	0,002317	0,002317	0,77	0,390
Substrat	1	0,032507	0,032507	0,032507	10,82	0,003
Interaction	6	0,008200	0,008200	0,001367	0,46	0,833
MO*Konsentrasi	1	0,002314	0,002314	0,002314	0,77	0,390
MO*Waktu	1	0,001609	0,001609	0,001609	0,54	0,472
MO*Substrat	1	0,000540	0,000540	0,000540	0,18	0,676
Konsentrasi*Waktu	1	0,000216	0,000216	0,000216	0,07	0,791
Konsentrasi*Substrat	1	0,000497	0,000497	0,000497	0,17	0,688
Waktu*Substrat	1	0,003024	0,003024	0,003024	1,01	0,327
Residual Error	21	0,063079	0,063079	0,003004		
Lack-of-Fit	5	0,005532	0,005532	0,001106	0,31	0,901
Pure Error	16	0,057547	0,057547	0,003597		
Total	31	0,107467				

Unusual Observations for bioetanol

Obs	StdOrder	bioetanol	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
25	40	0,198	0,085	0,032	0,113	2,54 R
32	47	0,186	0,088	0,032	0,099	2,23 R

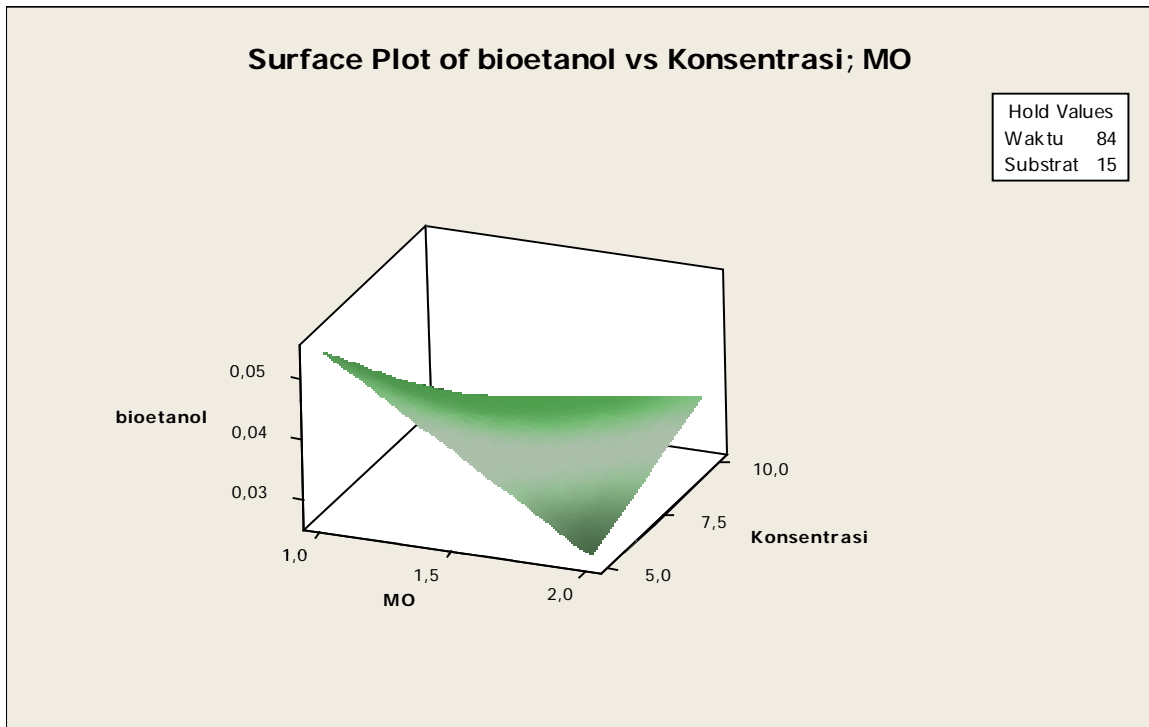
R denotes an observation with a large standardized residual.

Estimated Regression Coefficients for bioetanol using data in uncoded unit

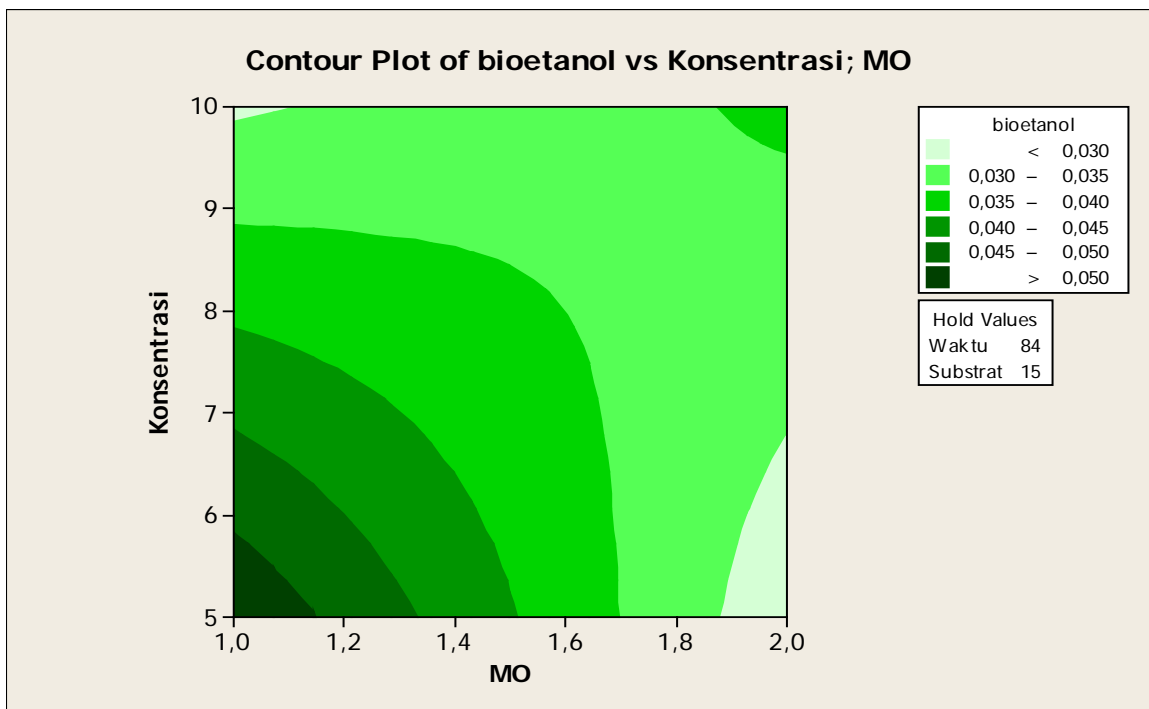
Term	Coef
Constant	0,320364
MO	-0,136092
Konsentrasi	-0,0143105
Waktu	-0,00414302
Substrat	-0,00240525
MO*Konsentrasi	0,00680300
MO*Waktu	0,00118187
MO*Substrat	-0,00164350
Konsentrasi*Waktu	8,65417E-05
Konsentrasi*Substrat	-3,15300E-04
Waktu*Substrat	0,000162021

selanjutnya ingin diketahui nilai optimasi antar variabel dengan surface plot dan contour plot sebagai berikut

1. Mo dan konsentrasi

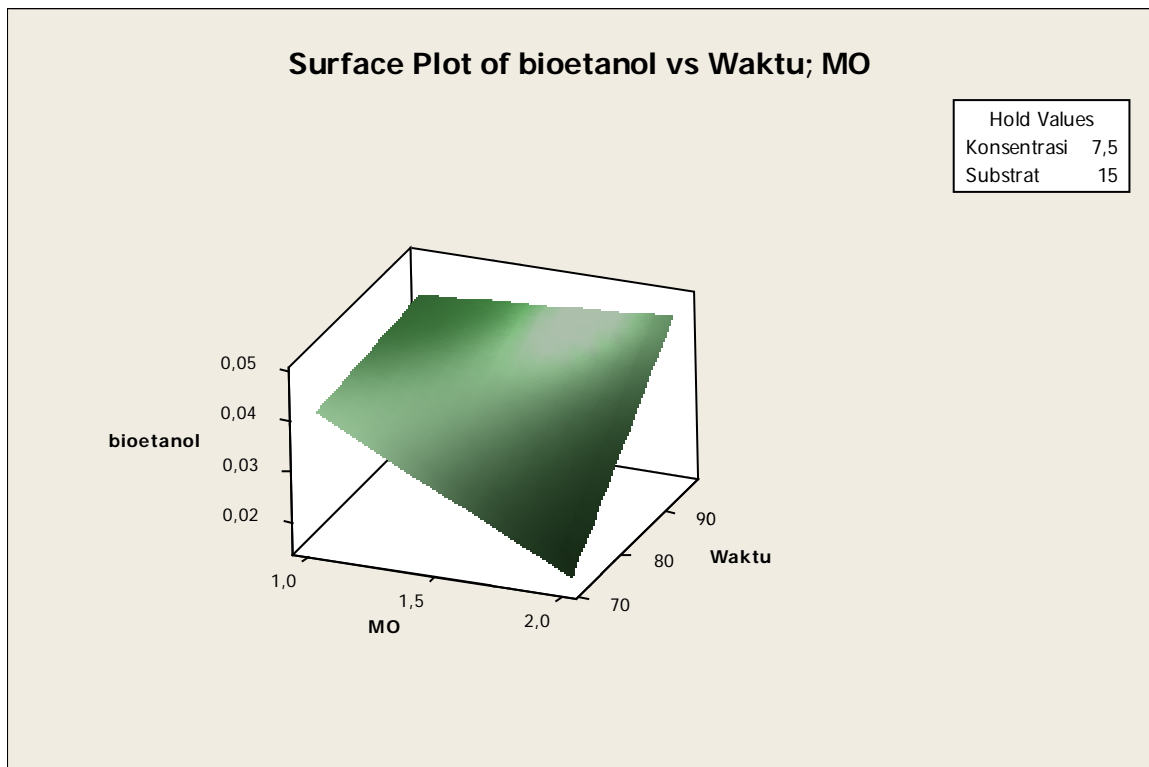


gambar diatas menunjukkan bahwa nilai yang optimum untuk variabel MO adalah MO 1 dan untuk variabel konsentrasi adalah pada 5%

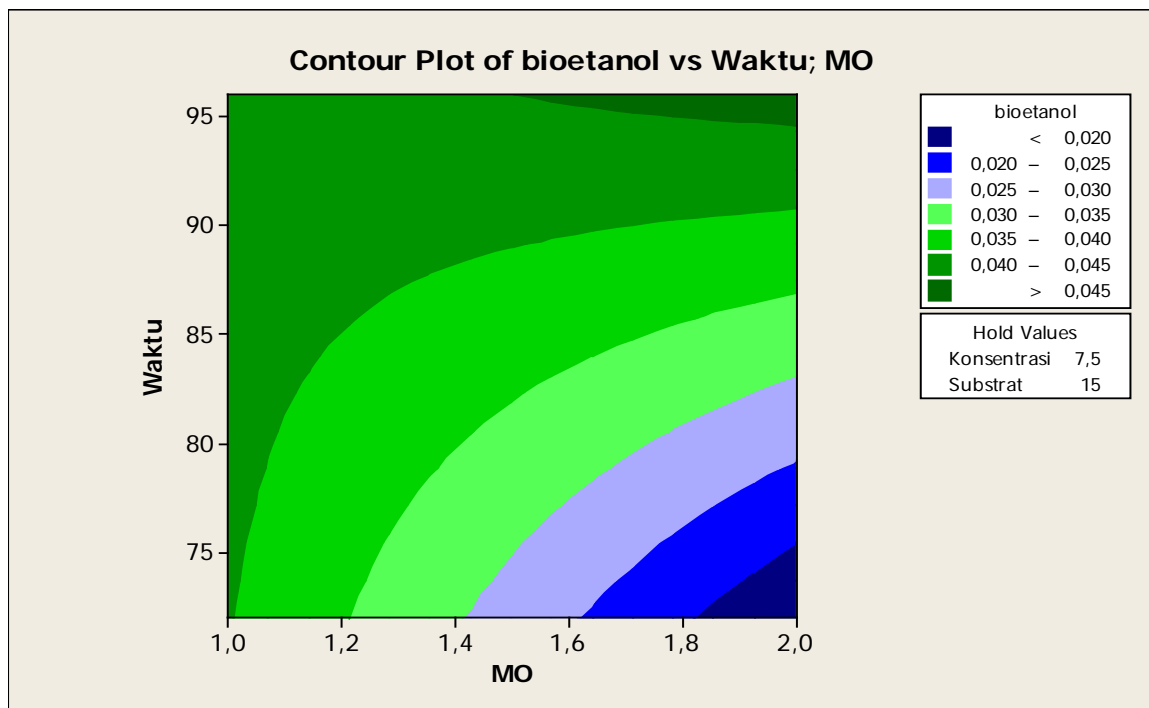


gambar diatas menunjukkan bahwa nilai yang optimum untuk variabel MO adalah MO 1 dan untuk variabel konsentrasi adalah pada 5%

## 2. Mo dan waktu



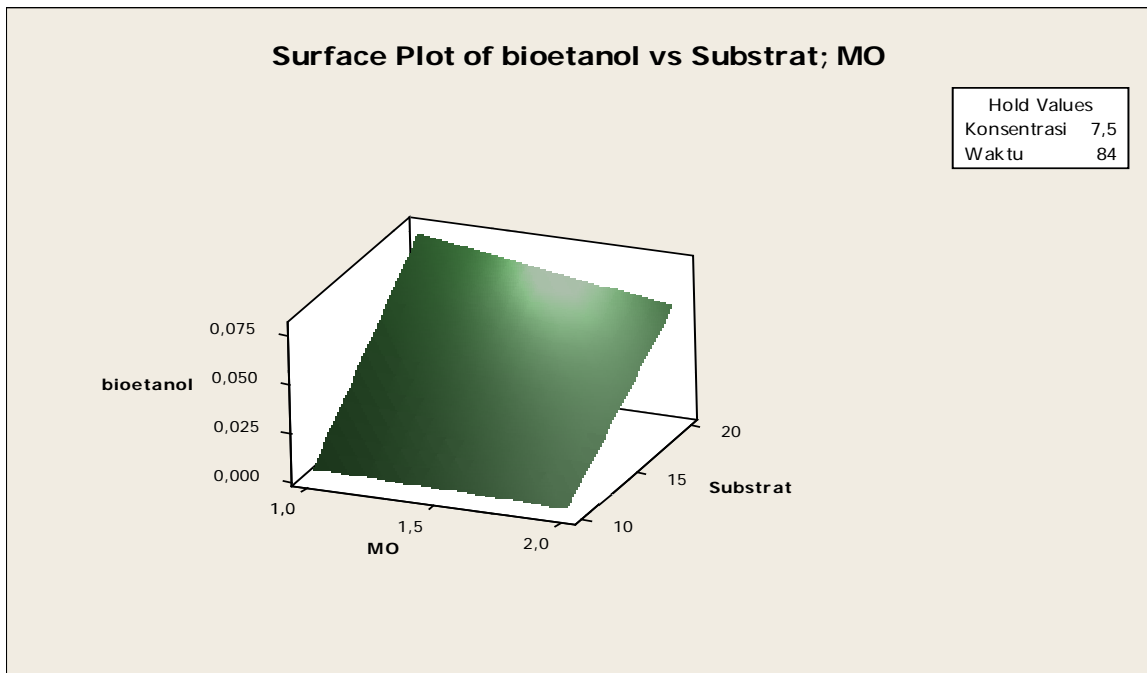
gambar diatas menunjukkan bahwa nilai yang optimum untuk variabel MO adalah MO 2 dan untuk variabel waktu adalah pada 96 jam



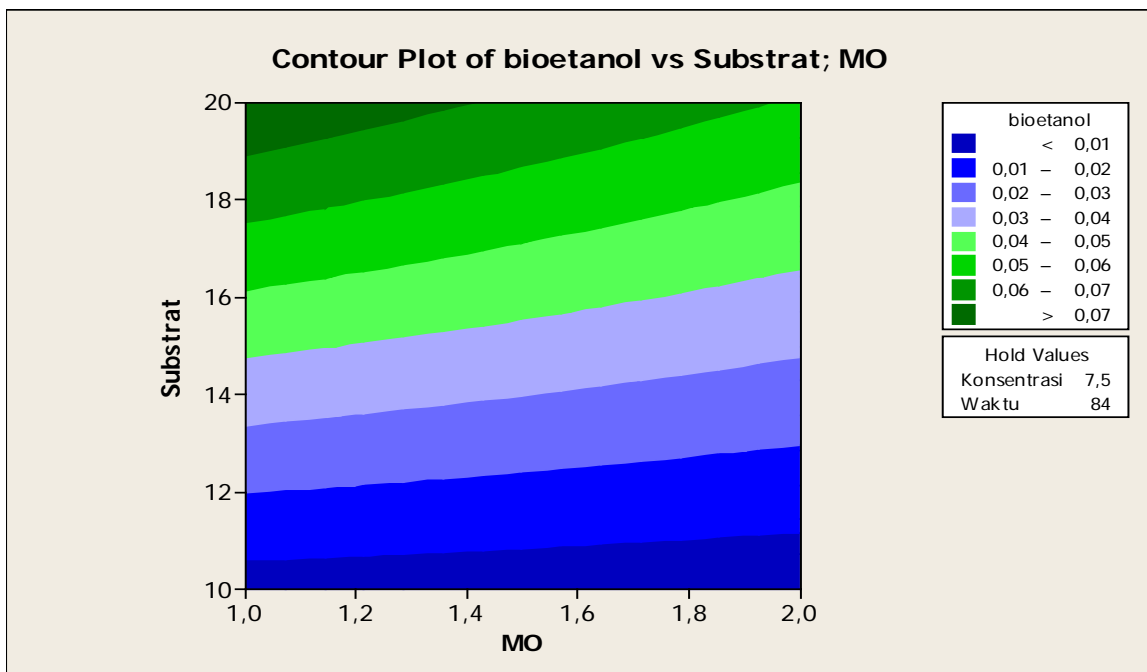
gambar diatas menunjukkan bahwa nilai yang optimum untuk variabel MO adalah MO 2 dan untuk variabel waktu adalah pada 96 jam



### 3. Mo dan substrat

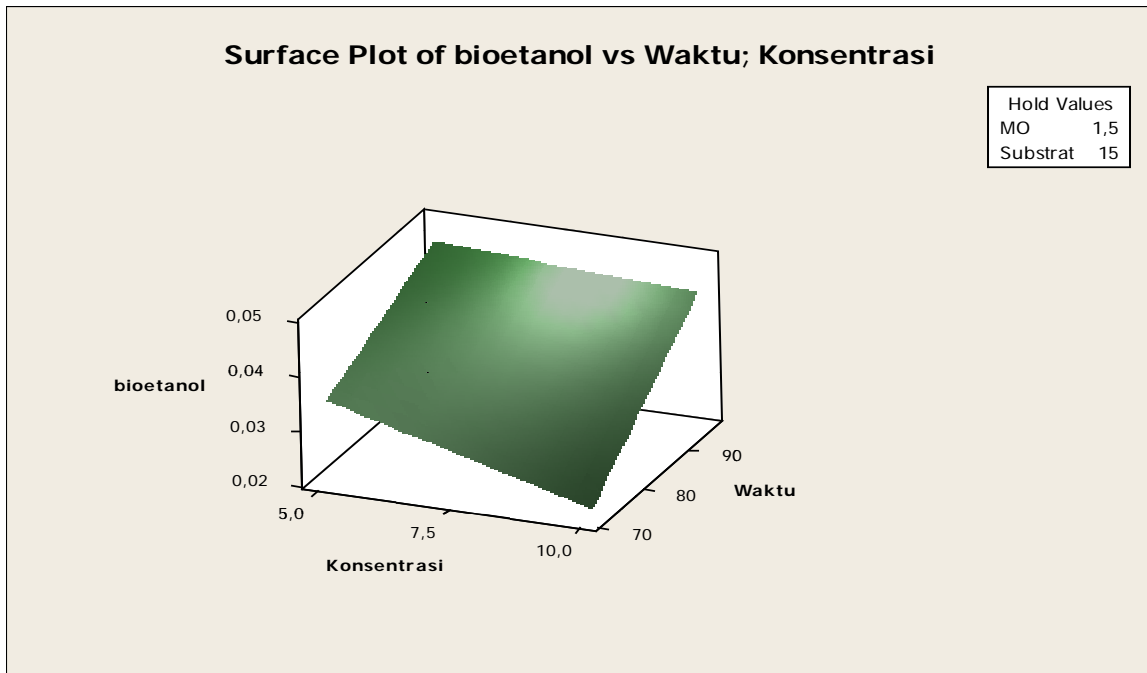


gambar diatas menunjukkan bahwa nilai yang optimum untuk variabel MO adalah MO 1 dan untuk variabel substrat adalah pada 20 gram

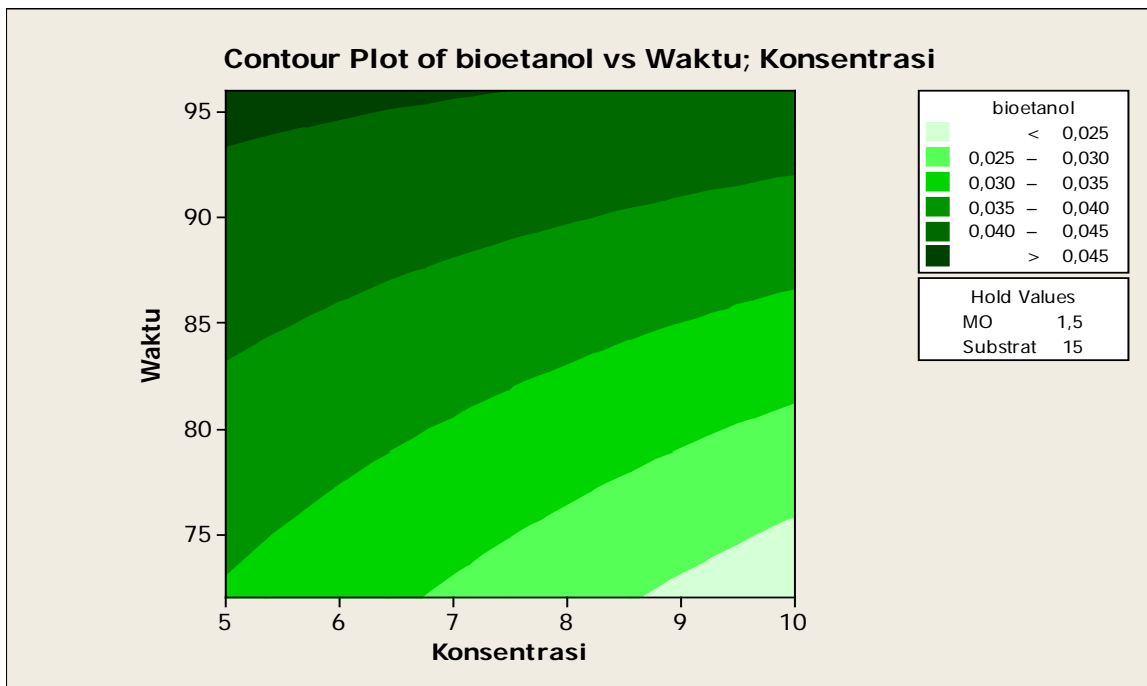


gambar diatas menunjukkan bahwa nilai yang optimum untuk variabel MO adalah MO 1 dan untuk variabel substrat adalah pada 20 gram

#### 4. Konsentrasi dan waktu

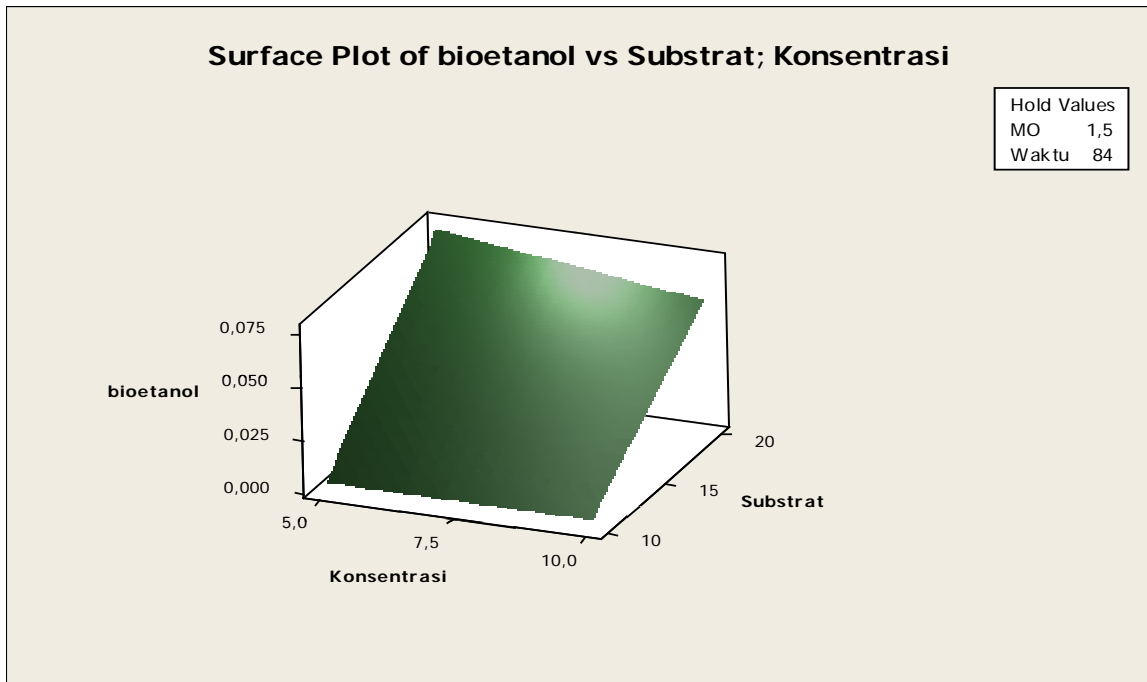


gambar diatas menunjukkan bahwa nilai yang optimum untuk variabel konsentrasi adalah 5% dan untuk variabel waktu adalah pada 96 jam

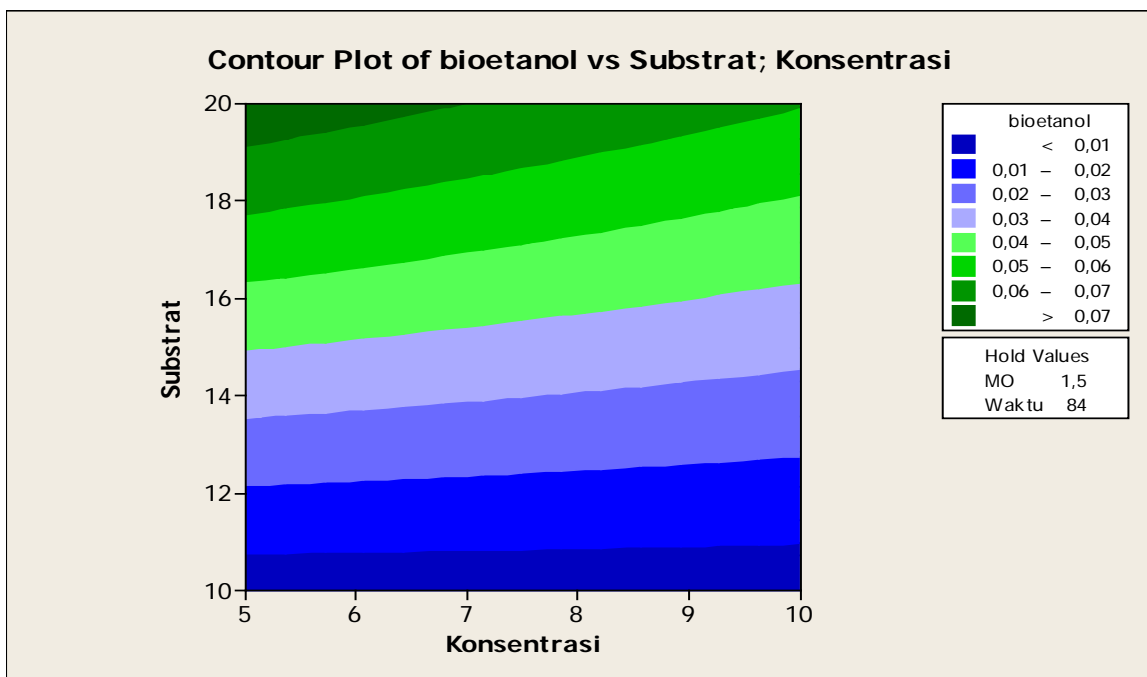


gambar diatas menunjukkan bahwa nilai yang optimum untuk variabel konsentrasi adalah 5% dan untuk variabel waktu adalah pada 96 jam

## 5. Konsentrasi dan substrat

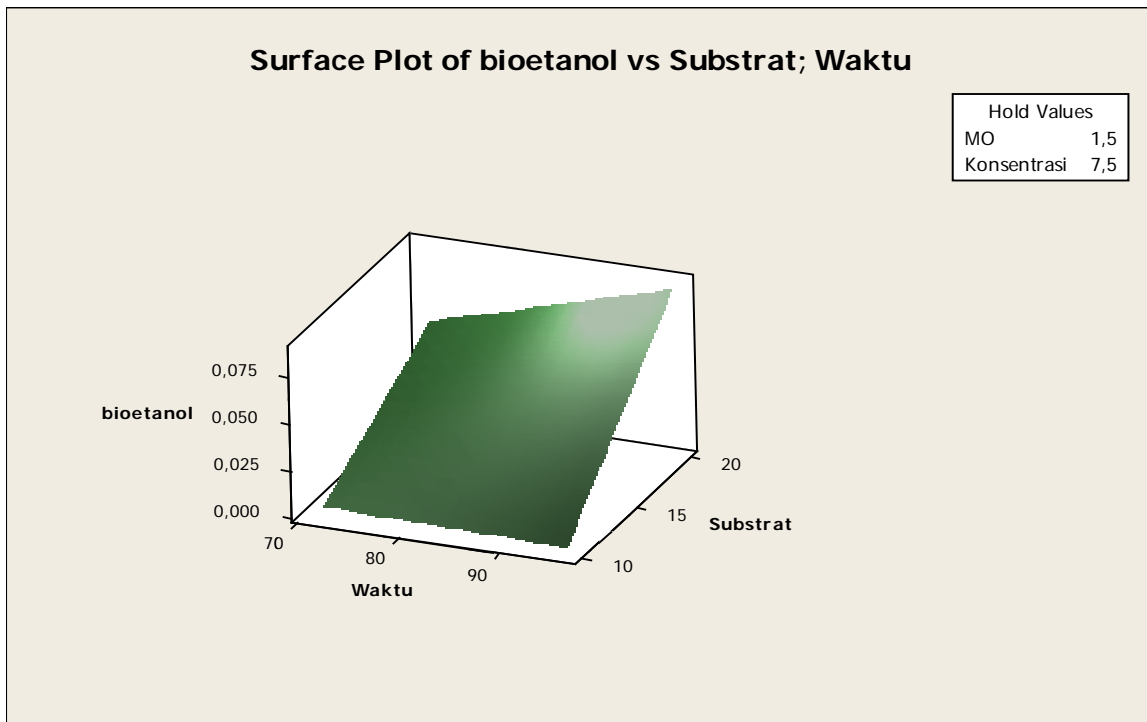


gambar diatas menunjukkan bahwa nilai yang optimum untuk variabel konsentrasi adalah 5% dan untuk variabel substrat adalah pada 20 gram

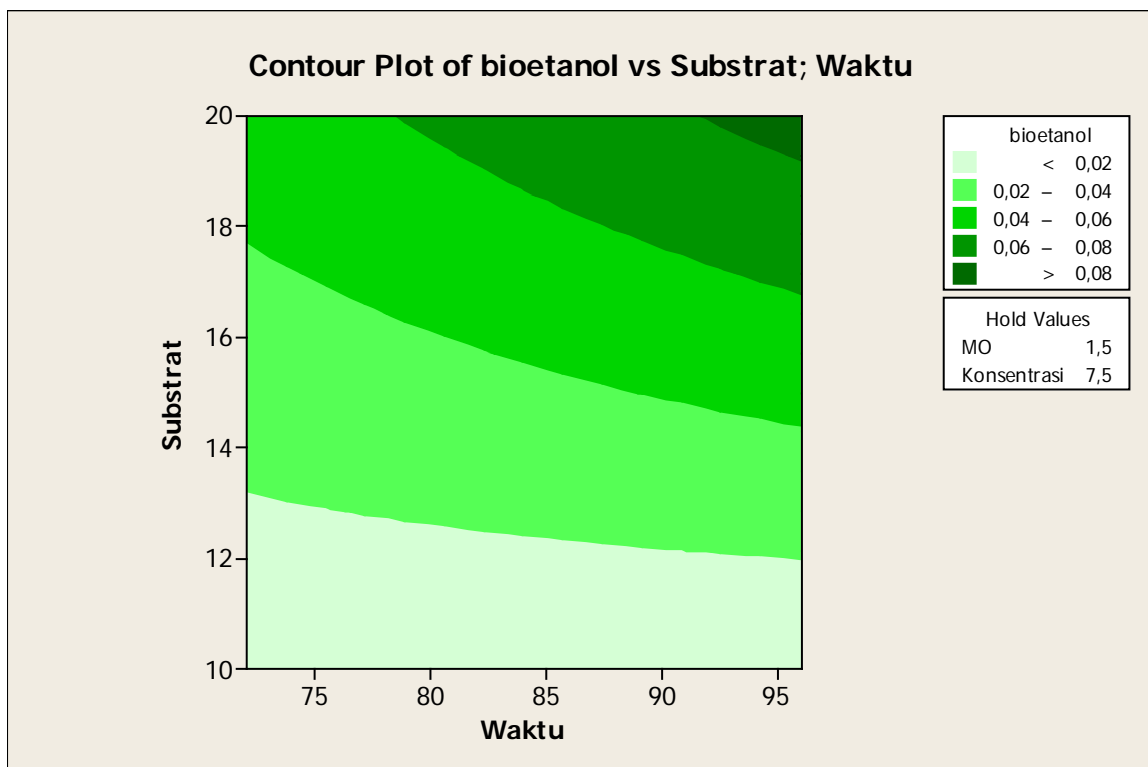


gambar diatas menunjukkan bahwa nilai yang optimum untuk variabel konsentrasi adalah 5% dan untuk variabel substrat adalah pada 20 gram

## 6. Waktu dan substrat

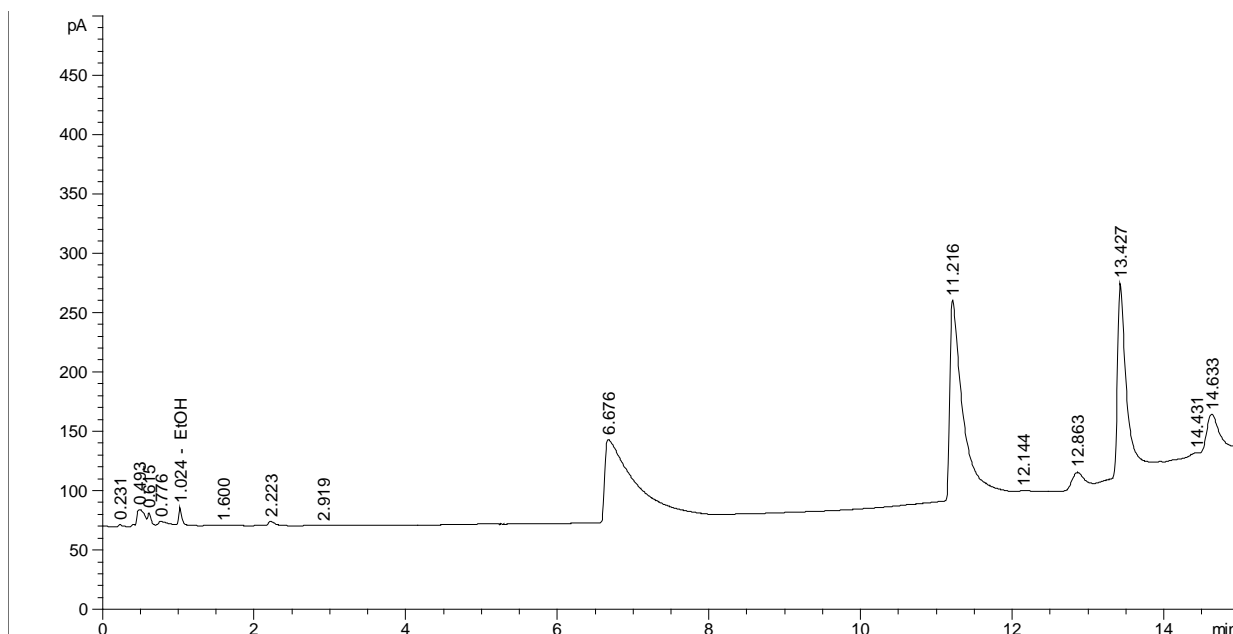


gambar diatas menunjukkan bahwa nilai yang optimum untuk variabel substrat adalah pada substrat 20 gram dan untuk variabel waktu adalah pada 96 jam



gambar diatas menunjukkan bahwa nilai yang optimum untuk variabel substrat adalah pada substrat 20 gram dan untuk variabel waktu adalah pada 96 jam

## HASIL PENGUJIAN BIOETANOL 72 JAM



Data File C:\HPCHEM\1\DATA\NIELA\10.D Sample Name: YaBCD2  
 Instrument 1 11/6/2014 11:56:58 AM

PORAPLOT-Q04 1uL DIRECT

```

=====
Injection Date   : 11/4/2014 3:30:14 PM
Sample Name     : YaBCD2
Acq. Operator   :
Location        : Vial 1
Inj             : 1
Inj Volume      : Manually

Acq. Method     : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/4/2014 11:26:23 AM
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/6/2014 9:39:18 AM
                  (modified after loading)
  
```

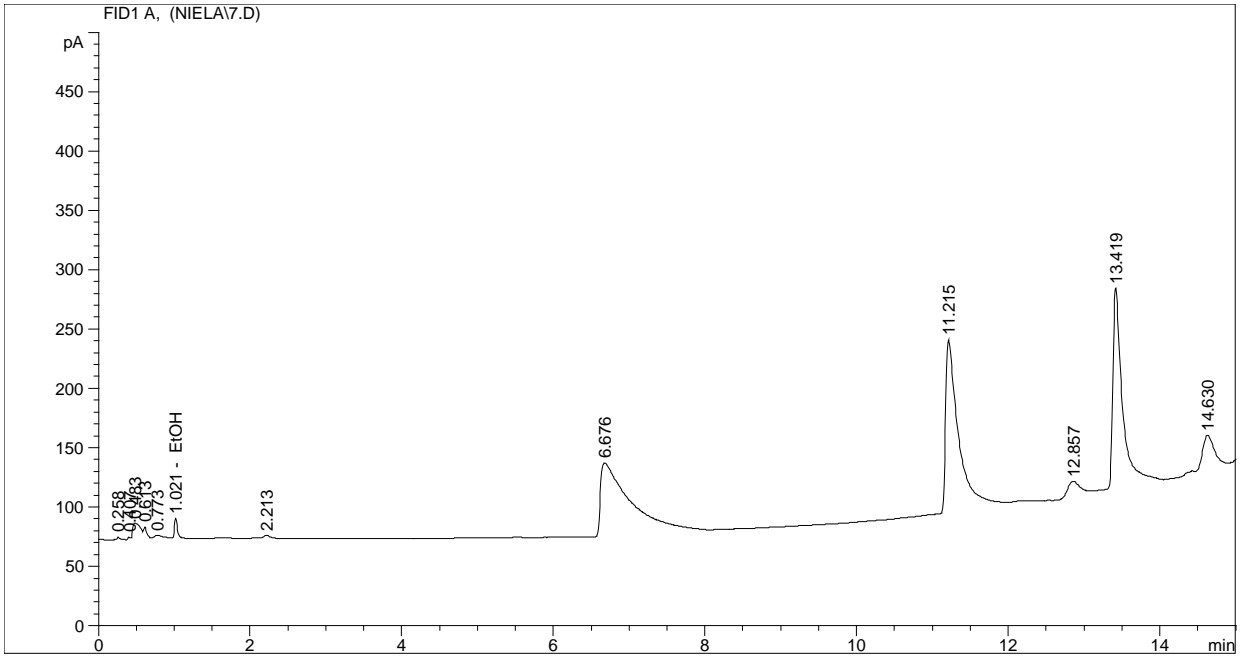
External Standard Report (Sample Amount is 0!)

```

Sorted By       : Signal
Calib. Data Modified : 11/4/2014 11:26:20 AM
Multiplier      : 1.0000
Dilution        : 1.0000
Signal 1: FID1 A,
  
```

RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
1.024	VV	56.36206	4.89335e-5	2.75800e-3		EtOH
Totals :				2.75800e-3		

\*\*\* End of Report \*\*\*



Instrument 1 11/6/2014 12:09:16 PM

PORAPLOT-Q04 1uL DIRECT

```

=====
Injection Date   : 11/4/2014 2:14:38 PM
Sample Name     : YaBCD1
Acq. Operator   :
Location        : Vial 1
Inj             : 1
Inj Volume      : Manually

Acq. Method     : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/4/2014 11:26:23 AM
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/6/2014 9:39:18 AM
                  (modified after loading)
=====

```

External Standard Report (Sample Amount is 0!)

```

Sorted By       : Signal
Calib. Data Modified : 11/4/2014 11:26:20 AM
Multiplier      : 1.0000
Dilution        : 1.0000

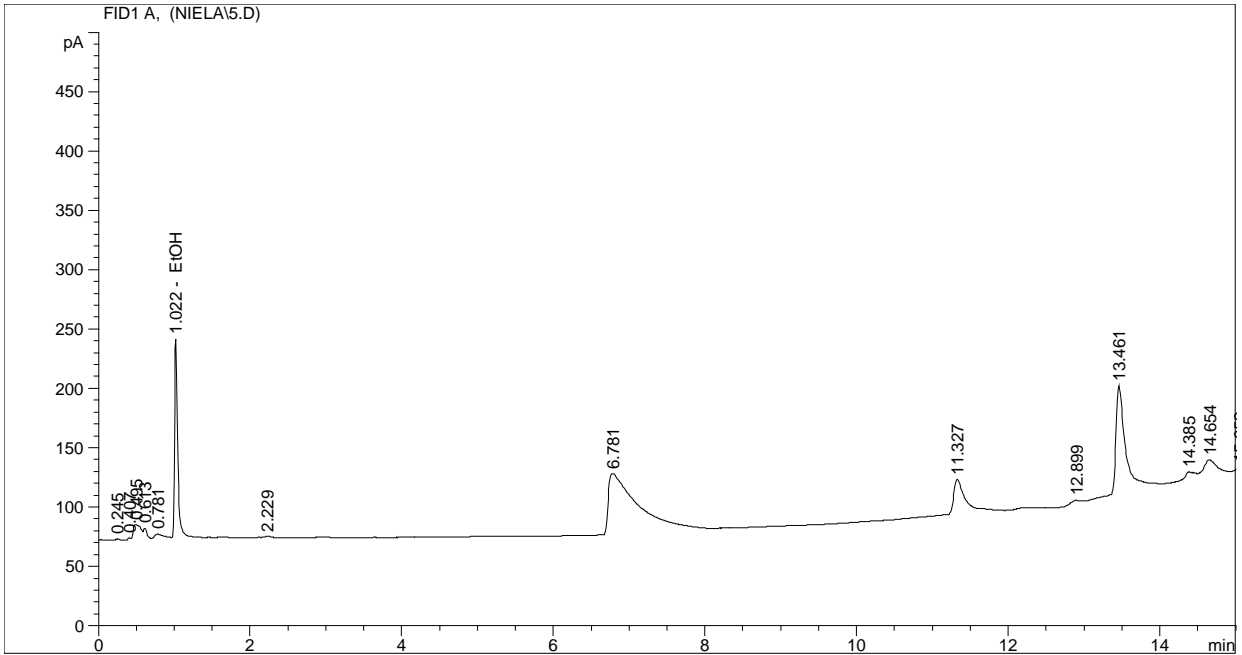
```

```

Signal 1: FID1 A,
RetTime  Type   Area      Amt/Area  Amount  Grp  Name
 [min]    [pA*s]
-----|-----|-----|-----|-----|---|-----
  1.021  VV     60.54926  4.79222e-5  2.90166e-3  EtOH
Totals :

```

\*\*\* End of Report \*\*\*



Data File C:\HPCHEM\1\DATA\NIELA\5.D Sample Name: YabCD2  
 Instrument 1 11/6/2014 12:08:35 PM

PORAPLOT-Q04 1uL DIRECT

```

=====
Injection Date   : 11/4/2014 12:51:14 PM
Sample Name     : YabCD2
Acq. Operator   :
Location        : Vial 1
Inj             : 1
Inj Volume      : Manually

Acq. Method     : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/4/2014 11:26:23 AM
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/6/2014 9:39:18 AM
                  (modified after loading)
=====
  
```

External Standard Report (Sample Amount is 0!)

```

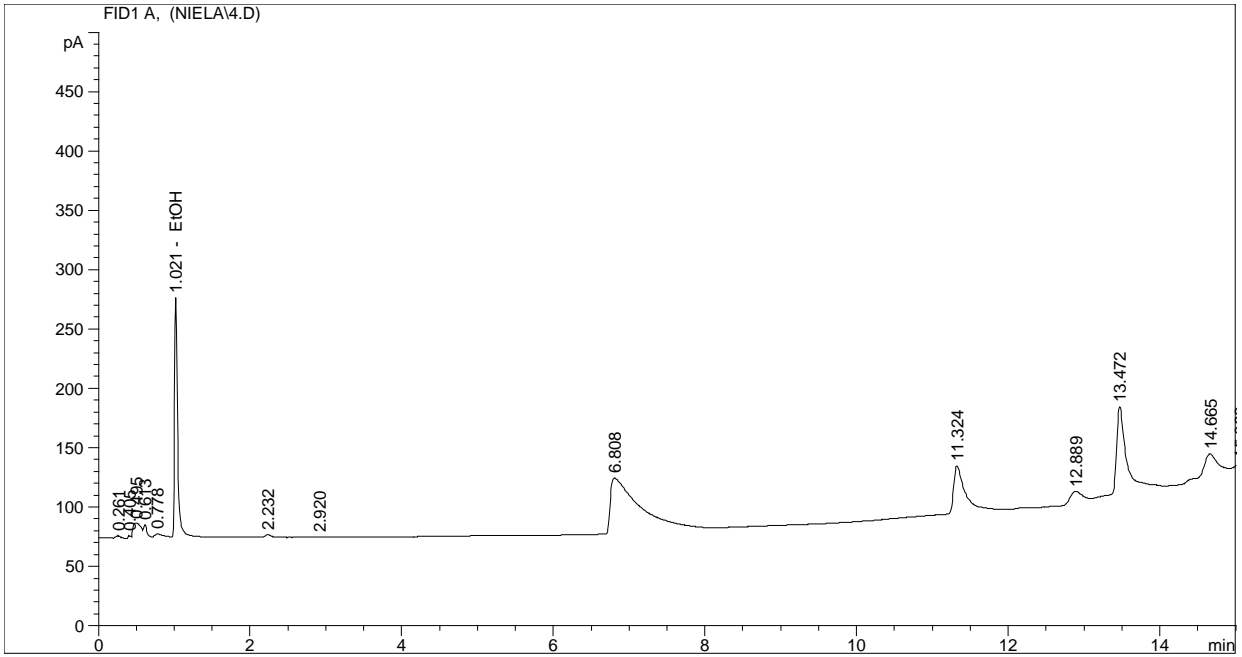
Sorted By       : Signal
Calib. Data Modified : 11/4/2014 11:26:20 AM
Multiplier      : 1.0000
Dilution        : 1.0000
  
```

Signal 1: FID1 A,

RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
1.022	VB	519.18713	3.58969e-5	1.81068e-2		EtOH
Totals :				1.81068e-2		

\*\*\* End of Report \*\*\*





Data File C:\HPCHEM\1\DATA\NIELA\4.D Sample Name: YabCD1  
 Instrument 1 11/6/2014 12:08:18 PM

PORAPLOT-Q04 1uL DIRECT

```

=====
Injection Date   : 11/4/2014 12:28:34 PM
Sample Name     : YabCD1
Acq. Operator   :
Location        : Vial 1
Inj             : 1
Inj Volume      : Manually

Acq. Method     : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/4/2014 11:26:23 AM
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/6/2014 9:39:18 AM
                  (modified after loading)
=====
  
```

External Standard Report (Sample Amount is 0!)

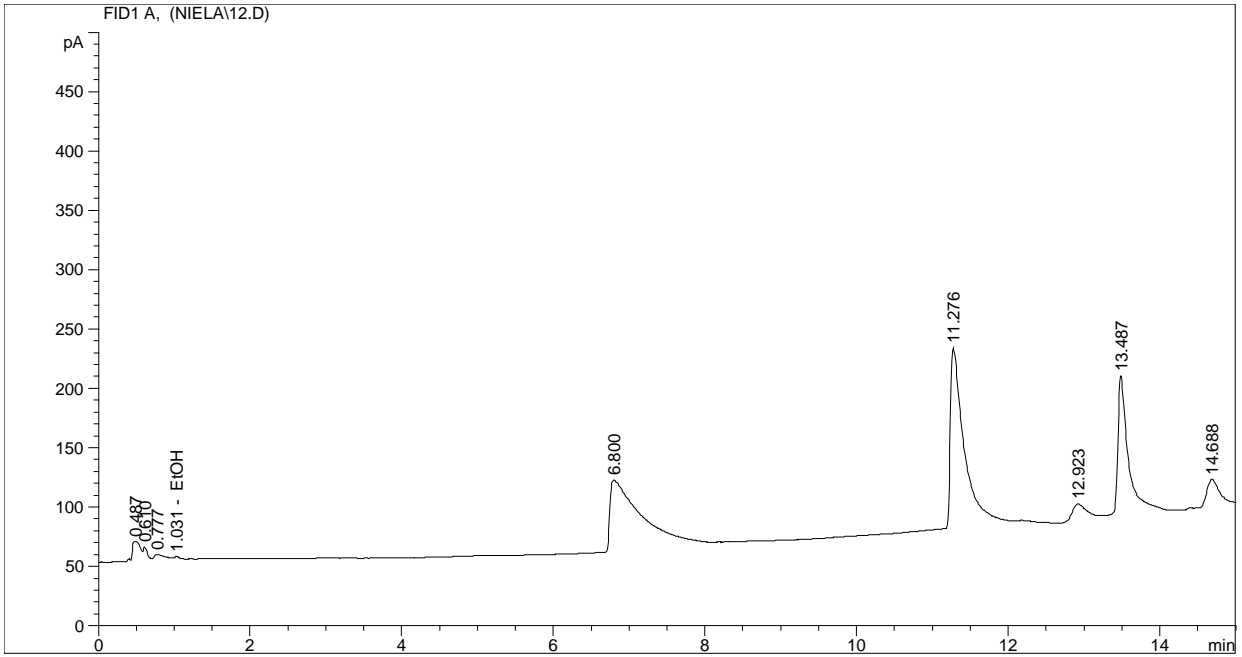
```

Sorted By       : Signal
Calib. Data Modified : 11/4/2014 11:26:20 AM
Multiplier      : 1.0000
Dilution        : 1.0000
  
```

Signal 1: FID1 A,

RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
1.021	VB	553.26270	3.57991e-5	1.98063e-2		EtOH
Totals :				1.98063e-2		

\*\*\* End of Report \*\*\*



PORAPLOT-Q04 1uL DIRECT

```

=====
Injection Date   : 11/5/2014 9:44:12 AM
Sample Name     : YABCD1
Acq. Operator   :
Location        : Vial 1
Inj             : 1
Inj Volume      : Manually

Acq. Method     : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/5/2014 9:40:55 AM
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/6/2014 9:39:18 AM
                  (modified after loading)
=====

```

External Standard Report (Sample Amount is 0!)

```

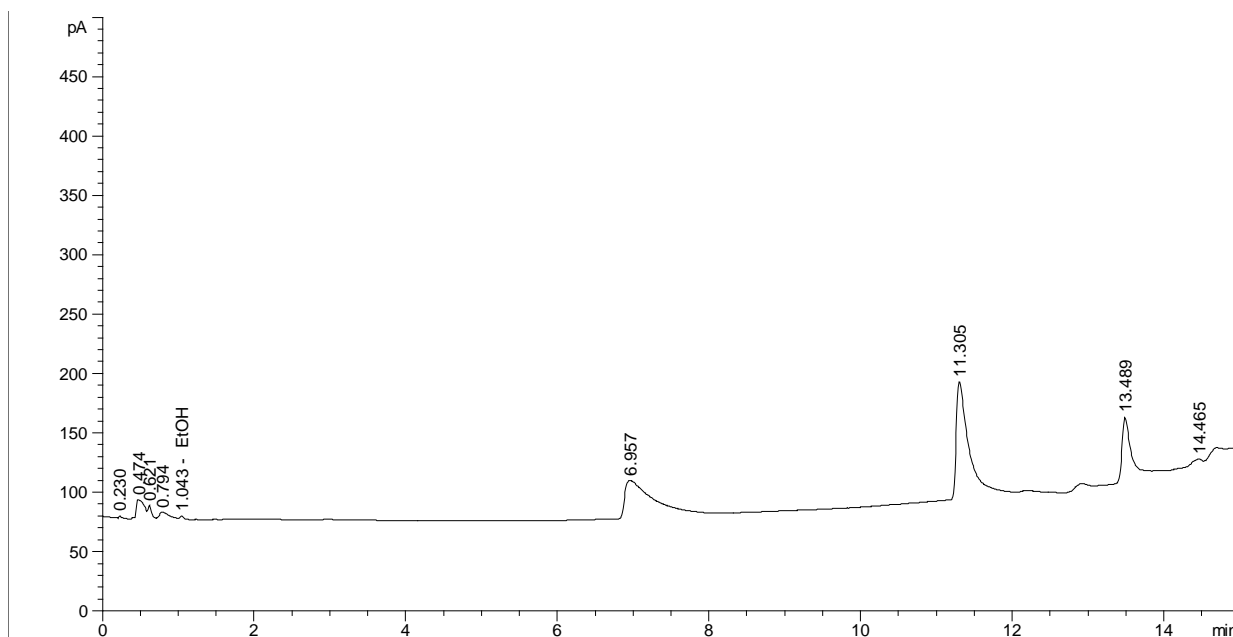
Sorted By       : Signal
Calib. Data Modified : 11/4/2014 11:26:20 AM
Multiplier      : 1.0000
Dilution        : 1.0000

```

Signal 1: FID1 A,

RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
1.031	VV	25.66048	6.64308e-5	1.70465e-3		EtOH
Totals :				1.70465e-3		

\*\*\* End of Report \*\*\*



Data File C:\HPCHEM\1\DATA\NIELA\2.D Sample Name: YABCD2  
 Instrument 1 11/6/2014 12:00:24 PM

PORAPLOT-Q04 1uL DIRECT

```

=====
Injection Date   : 11/4/2014 11:49:54 AM
Sample Name     : YABCD2                      Location  : Vial 1
Acq. Operator   :                               Inj      : 1
                                           Inj Volume : Manually

Acq. Method     : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/4/2014 11:26:23 AM
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/6/2014 9:39:18 AM
                  (modified after loading)
=====
  
```

External Standard Report (Sample Amount is 0!)

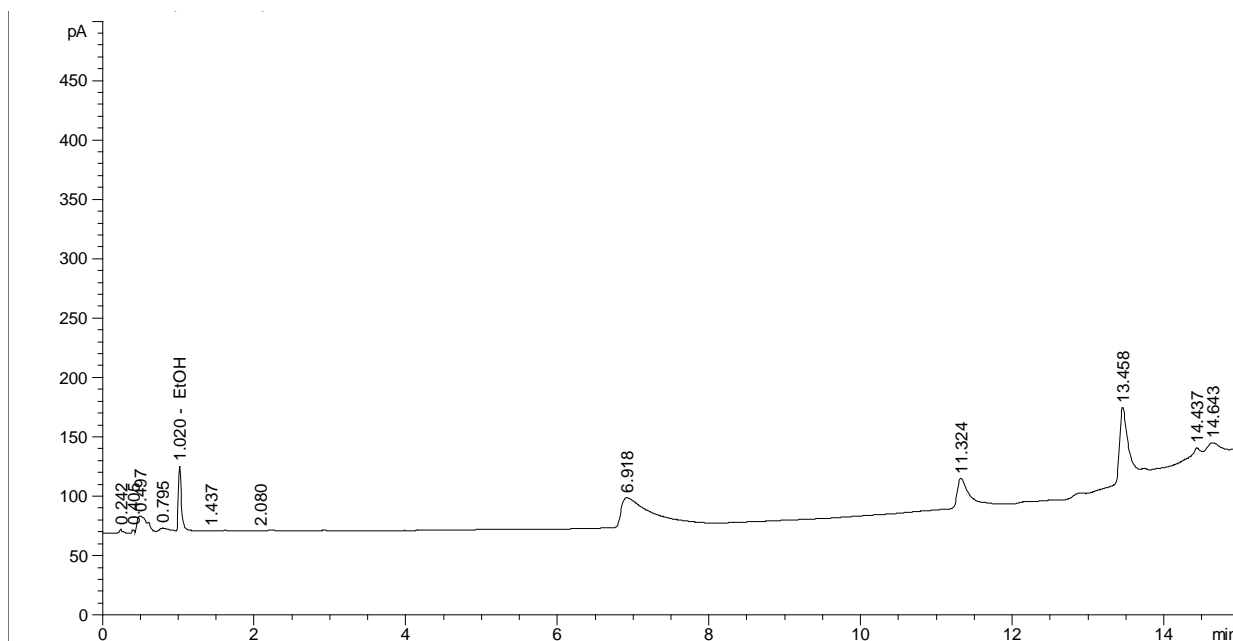
```

=====
Sorted By           : Signal
Calib. Data Modified : 11/4/2014 11:26:20 AM
Multiplier          : 1.0000
Dilution            : 1.0000
=====
  
```

Signal 1: FID1 A,

RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
1.043	VB	13.30254	9.62714e-5	1.28065e-3		EtOH
Totals :				1.28065e-3		

\*\*\* End of Report \*\*\*



Data File C:\HPCHEM\1\DATA\NIELA\11.D Sample Name: YAbCD1  
 Instrument 1 11/6/2014 11:57:24 AM

PORAPLOT-Q04 1uL DIRECT

```

=====
Injection Date   : 11/4/2014 3:53:04 PM
Sample Name     : YAbCD1
Acq. Operator   :
Location        : Vial 1
Inj             : 1
Inj Volume      : Manually

Acq. Method     : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/4/2014 11:26:23 AM
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/6/2014 9:39:18 AM
                  (modified after loading)
=====
  
```

External Standard Report (Sample Amount is 0!)

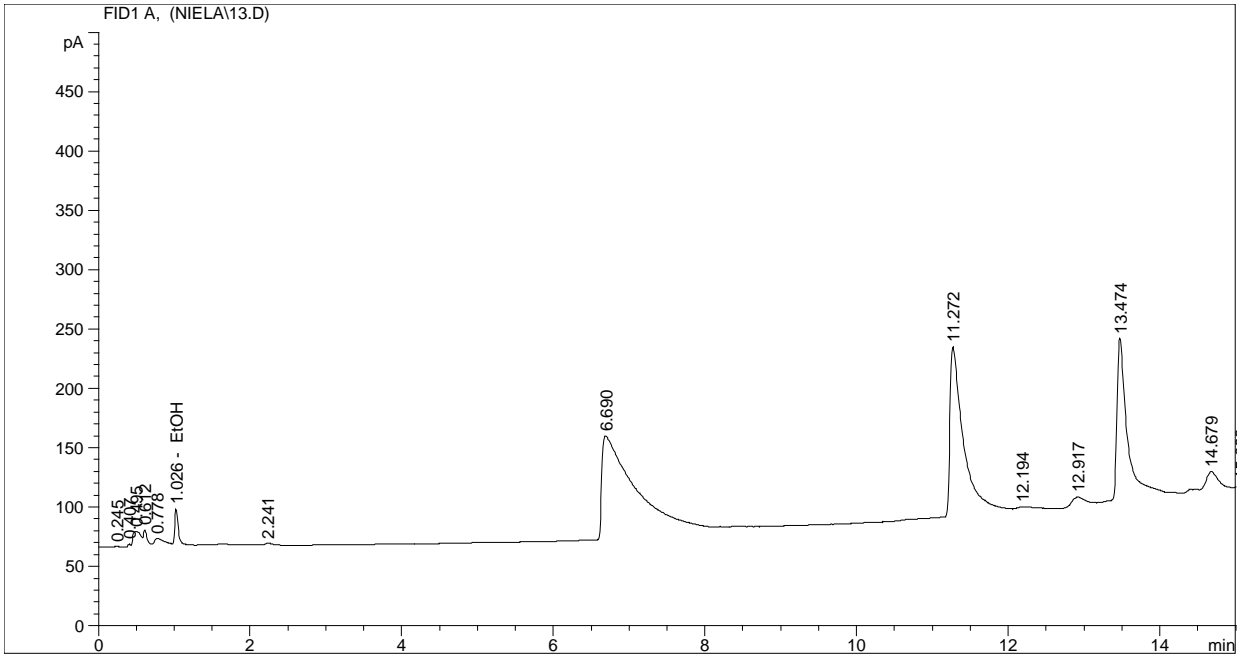
```

Sorted By       : Signal
Calib. Data Modified : 11/4/2014 11:26:20 AM
Multiplier      : 1.0000
Dilution        : 1.0000
  
```

```

Signal 1: FID1 A,
RetTime Type Area Amt/Area Amount Grp Name
 [min] [pA*s] [% (v/v)]
-----|-----|-----|-----|-----|-----
 1.020 VV 172.62581 3.90841e-5 6.74692e-3 EtOH
Totals : 6.74692e-3
=====
  
```

\*\*\* End of Report \*\*\*



Data File C:\HPCHEM\1\DATA\NIELA\13.D Sample Name: YAbCD2  
 Instrument 1 11/6/2014 11:58:11 AM

PORAPLOT-Q04 1uL DIRECT

```

=====
Injection Date   : 11/5/2014 10:04:39 AM
Sample Name     : YAbCD2
Acq. Operator   :
Location        : Vial 1
Inj             : 1
Inj Volume      : Manually

Acq. Method     : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/5/2014 9:40:55 AM
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/6/2014 9:39:18 AM
                  (modified after loading)
  
```

External Standard Report (Sample Amount is 0!)

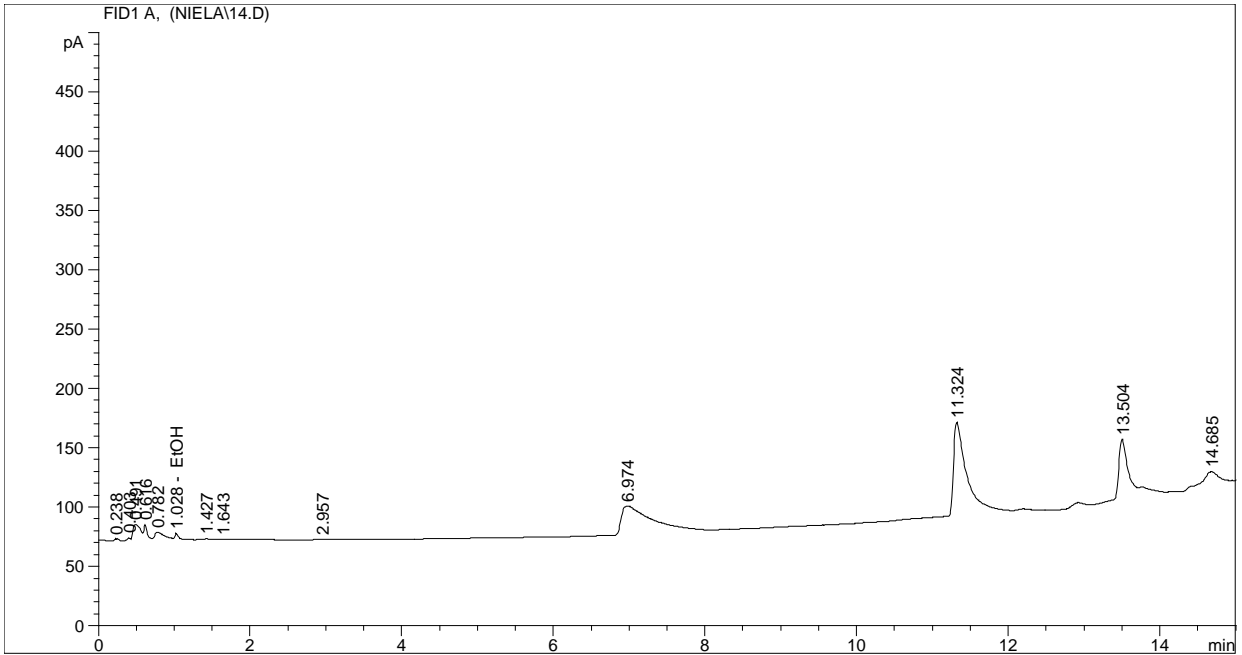
```

Sorted By       : Signal
Calib. Data Modified : 11/4/2014 11:26:20 AM
Multiplier      : 1.0000
Dilution        : 1.0000
  
```

Signal 1: FID1 A,

RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
1.026	VV	133.14357	4.05000e-5	5.39232e-3		EtOH
Totals :				5.39232e-3		

\*\*\* End of Report \*\*\*



Data File C:\HPCHEM\1\DATA\NIELA\14.D Sample Name: YaBcd1  
 Instrument 1 11/6/2014 11:58:34 AM

PORAPLOT-Q04 1uL DIRECT

```

=====
Injection Date   : 11/5/2014 10:25:27 AM
Sample Name     : YaBcd1
Acq. Operator   :
Location        : Vial 1
Inj             : 1
Inj Volume      : Manually

Acq. Method     : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/5/2014 9:40:55 AM
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/6/2014 9:39:18 AM
                  (modified after loading)
  
```

External Standard Report (Sample Amount is 0!)

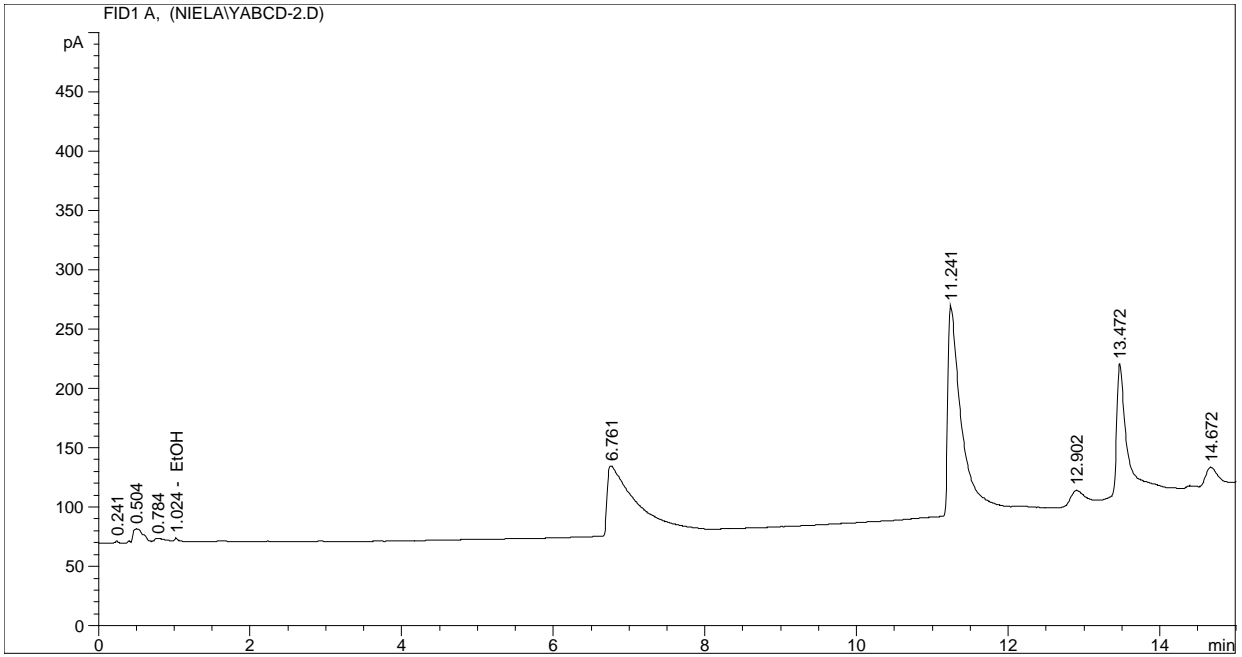
```

Sorted By       : Signal
Calib. Data Modified : 11/4/2014 11:26:20 AM
Multiplier      : 1.0000
Dilution        : 1.0000
  
```

Signal 1: FID1 A,

RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
1.028	VV	23.38752	6.95526e-5	1.62666e-3		EtOH
Totals :				1.62666e-3		

\*\*\* End of Report \*\*\*



Data File C:\HPCHEM\1\DATA\NIELA\YABCD-2.D Sample Name: YaBCd2  
 Instrument 1 11/4/2014 11:27:44 AM

PORAPLOT-Q04 1uL DIRECT

```

=====
Injection Date   : 11/4/2014 10:42:05 AM
Sample Name     : YaBCd2
Acq. Operator   :
Location        : Vial 1
Inj             : 1
Inj Volume      : Manually

Acq. Method     : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/4/2014 10:22:34 AM
                  (modified after loading)

Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/4/2014 11:26:23 AM
                  (modified after loading)
  
```

External Standard Report (Sample Amount is 0!)

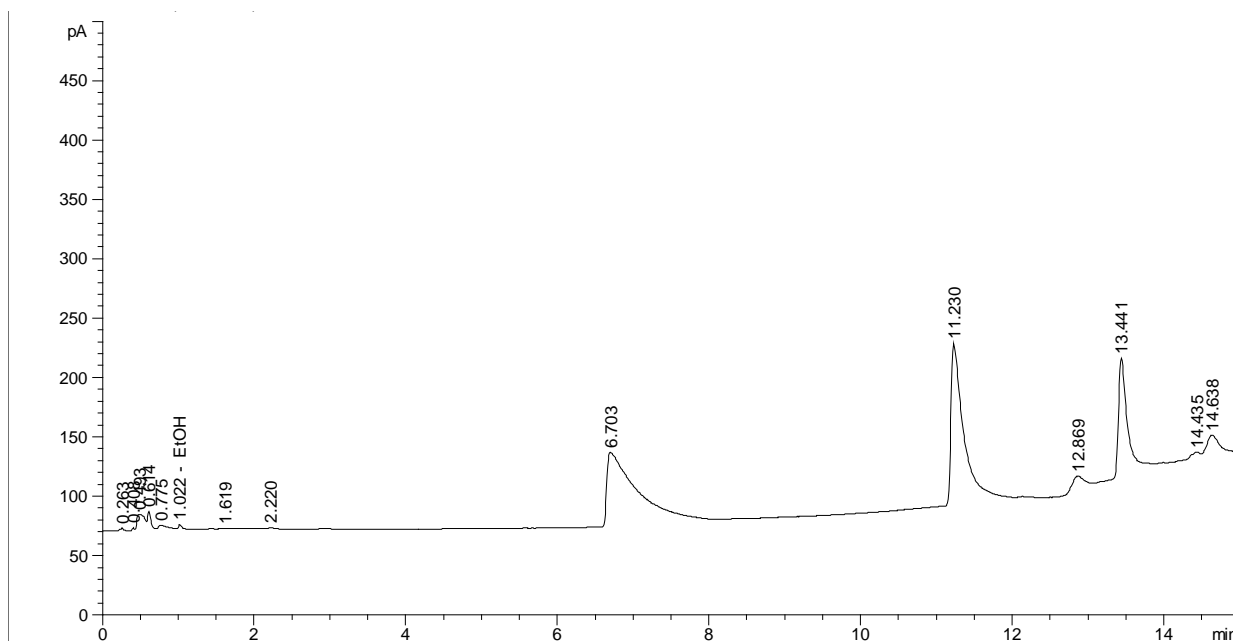
```

Sorted By       : Signal
Calib. Data Modified : 11/4/2014 11:26:20 AM
Multiplier      : 1.0000
Dilution        : 1.0000
  
```

Signal 1: FID1 A,

RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
1.024	VV	22.47602	7.09819e-5	1.59539e-3		EtOH
Totals :				1.59539e-3		

\*\*\* End of Report \*\*\*



Data File C:\HPCHEM\1\DATA\NIELA\9.D Sample Name: YabCd1  
 Instrument 1 11/6/2014 12:10:03 PM

PORAPLOT-Q04 1uL DIRECT

```

=====
Injection Date   : 11/4/2014 3:08:58 PM
Sample Name     : YabCd1
Acq. Operator   :
Location        : Vial 1
Inj             : 1
Inj Volume      : Manually

Acq. Method     : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/4/2014 11:26:23 AM
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/6/2014 9:39:18 AM
                  (modified after loading)
=====
  
```

External Standard Report (Sample Amount is 0!)

```

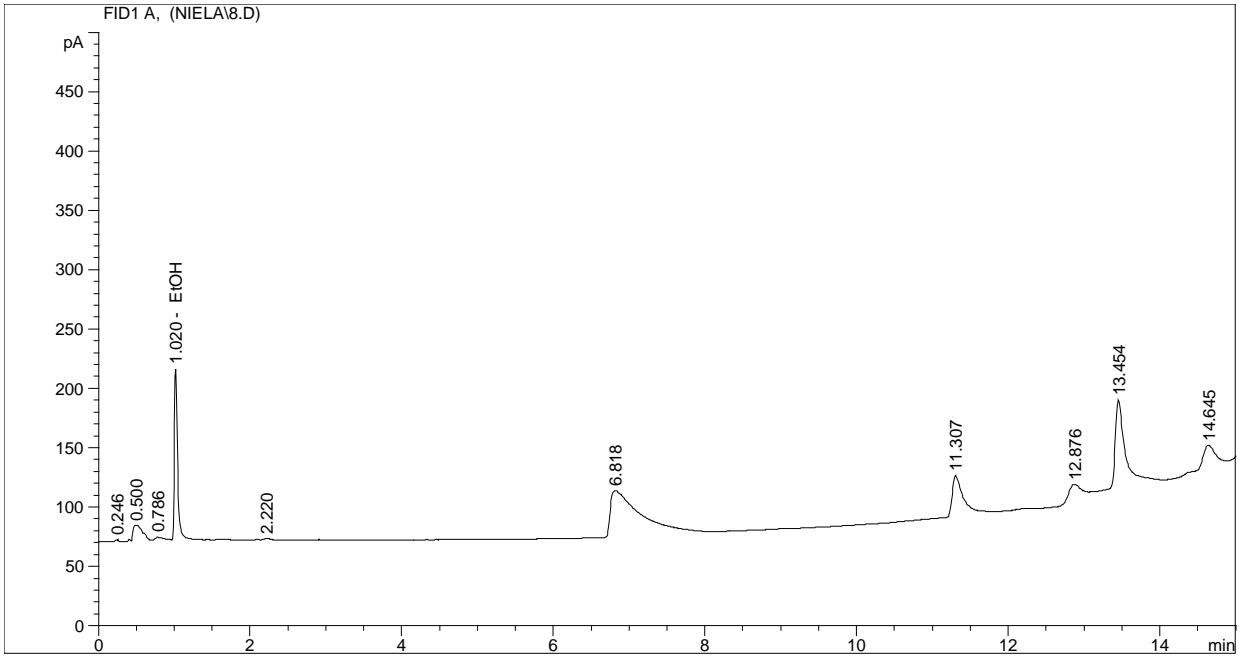
Sorted By       : Signal
Calib. Data Modified : 11/4/2014 11:26:20 AM
Multiplier      : 1.0000
Dilution        : 1.0000
  
```

```

Signal 1: FID1 A,
RetTime Type Area Amt/Area Amount Grp Name
 [min] [pA*s] [% (v/v)]
-----|-----|-----|-----|-----|-----
 1.022 VV 21.81030 7.21012e-5 1.57255e-3 EtOH
Totals : 1.57255e-3
=====
  
```

\*\*\* End of Report \*\*\*





Data File C:\HPCHEM\1\DATA\NIELA\8.D Sample Name: YabCd2  
 Instrument 1 11/6/2014 12:09:40 PM

PORAPLOT-Q04 1uL DIRECT

```

=====
Injection Date   : 11/4/2014 2:40:57 PM
Sample Name     : YabCd2
Acq. Operator   :
Location        : Vial 1
Inj             : 1
Inj Volume      : Manually

Acq. Method     : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/4/2014 11:26:23 AM
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/6/2014 9:39:18 AM
                  (modified after loading)
=====
  
```

External Standard Report (Sample Amount is 0!)

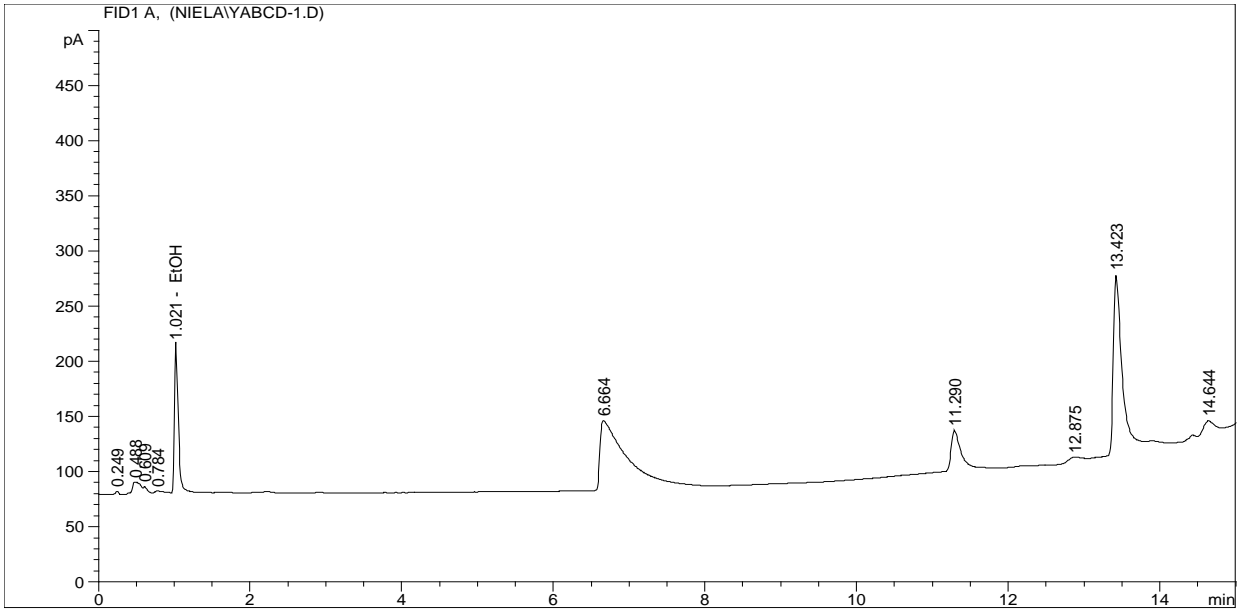
```

Sorted By       : Signal
Calib. Data Modified : 11/4/2014 11:26:20 AM
Multiplier      : 1.0000
Dilution        : 1.0000
  
```

Signal 1: FID1 A,

RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
1.020	VB	426.65128	3.62412e-5	1.54624e-2		EtOH
Totals :				1.54624e-2		

\*\*\* End of Report \*\*\*



Instrument 1 11/4/2014 11:27:04 AM

PORAPLOT-Q04 1uL DIRECT

```

=====
Injection Date   : 11/3/2014 3:42:43 PM
Sample Name     : YABCd1                      Location  : Vial 1
Acq. Operator   :                               Inj      : 1
                                                    Inj Volume : Manually

Acq. Method     : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/3/2014 1:53:16 PM
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/4/2014 11:26:23 AM
                  (modified after loading)
=====

```

External Standard Report (Sample Amount is 0!)

```

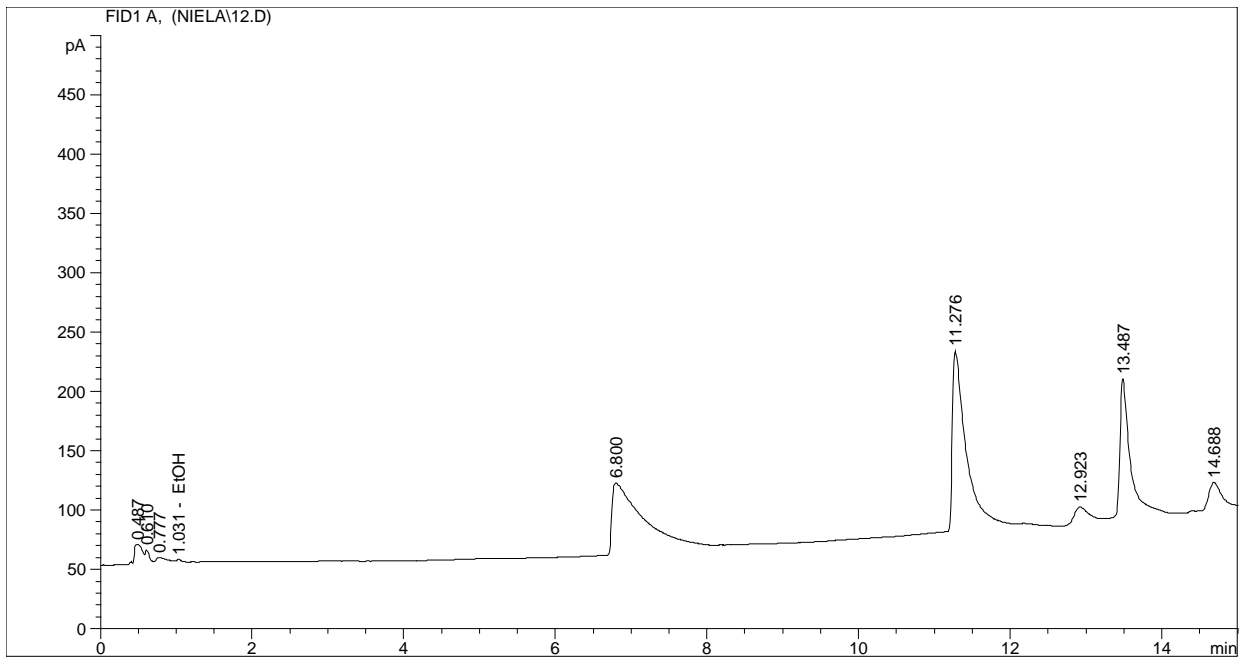
Sorted By       : Signal
Calib. Data Modified : 11/4/2014 11:26:20 AM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000

```

Signal 1: FID1 A,

RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
1.021	VB	489.95090	3.59916e-5	1.76341e-2		EtOH
Totals :				1.76341e-2		

\*\*\* End of Report \*\*\*



Data File C:\HPCHEM\1\DATA\NIELA\12.D Sample Name: YABCd2  
 Instrument 1 11/6/2014 11:57:49 AM

PORAPLOT-Q04 1uL DIRECT

```

=====
Injection Date   : 11/5/2014 9:44:12 AM
Sample Name     : YABCd2
Acq. Operator   :
Location        : Vial 1
Inj             : 1
Inj Volume      : Manually

Acq. Method     : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/5/2014 9:40:55 AM
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/6/2014 9:39:18 AM
                  (modified after loading)
  
```

External Standard Report (Sample Amount is 0!)

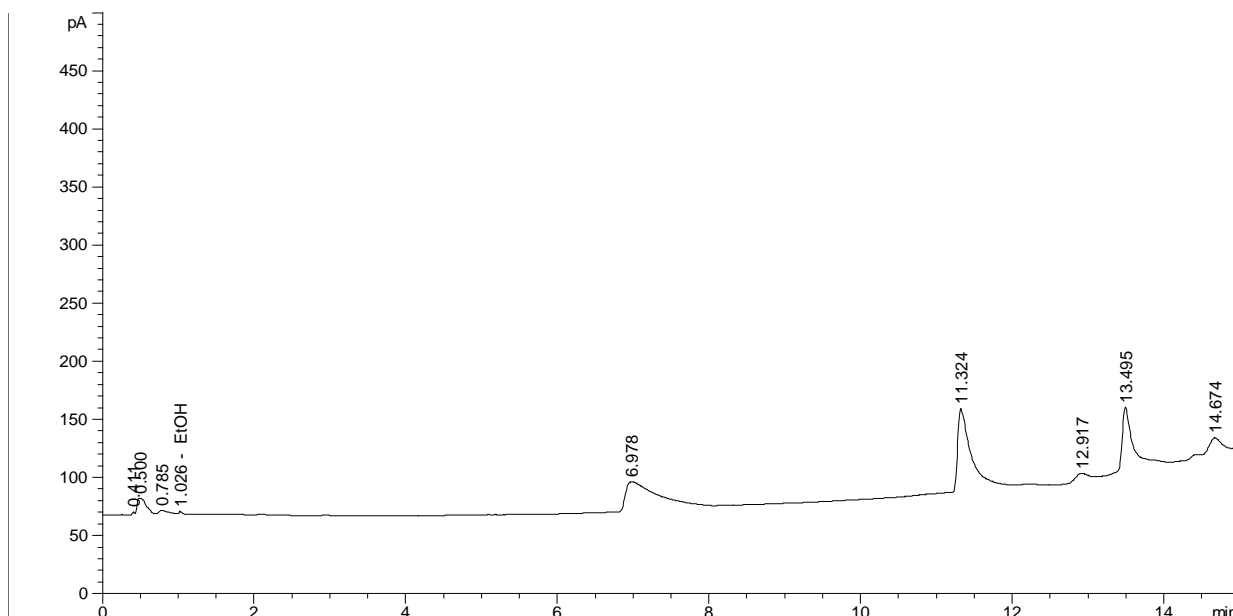
```

Sorted By       : Signal
Calib. Data Modified : 11/4/2014 11:26:20 AM
Multiplier      : 1.0000
Dilution        : 1.0000
  
```

Signal 1: FID1 A,

RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
1.031	VV	25.66048	6.64308e-5	1.70465e-3		EtOH
Totals :				1.70465e-3		

\*\*\* End of Report \*\*\*



Data File C:\HPCHEM\1\DATA\NIELA\25.D Sample Name: YAbCd1  
 Instrument 1 11/6/2014 12:06:32 PM

PORAPLOT-Q04 1uL DIRECT

```

=====
Injection Date   : 11/5/2014 3:55:30 PM
Sample Name     : YAbCd1
Acq. Operator   :
Location        : Vial 1
Inj             : 1
Inj Volume      : Manually

Acq. Method     : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/5/2014 2:53:04 PM
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/6/2014 9:39:18 AM
                  (modified after loading)
=====
  
```

External Standard Report (Sample Amount is 0!)

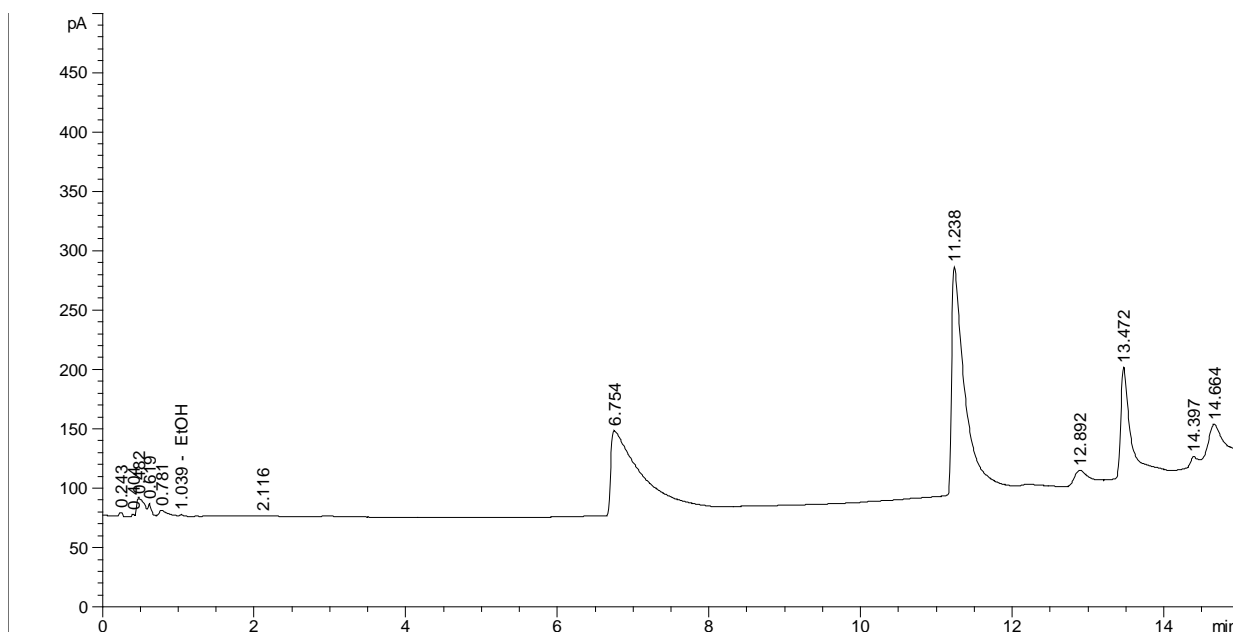
```

Sorted By       : Signal
Calib. Data Modified : 11/4/2014 11:26:20 AM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
  
```

Signal 1: FID1 A,

RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
1.026	VV	12.25745	1.01554e-4	1.24480e-3		EtOH
Totals :				1.24480e-3		

\*\*\* End of Report \*\*\*



Data File C:\HPCHEM\1\DATA\NIELA\3.D Sample Name: YAbCd2  
 Instrument 1 11/6/2014 12:08:03 PM

PORAPLOT-Q04 1uL DIRECT

```

=====
Injection Date   : 11/4/2014 12:07:12 PM
Sample Name     : YAbCd2
Acq. Operator   :
Location        : Vial 1
Inj             : 1
Inj Volume      : Manually

Acq. Method     : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/4/2014 11:26:23 AM
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/6/2014 9:39:18 AM
                  (modified after loading)
=====
  
```

External Standard Report (Sample Amount is 0!)

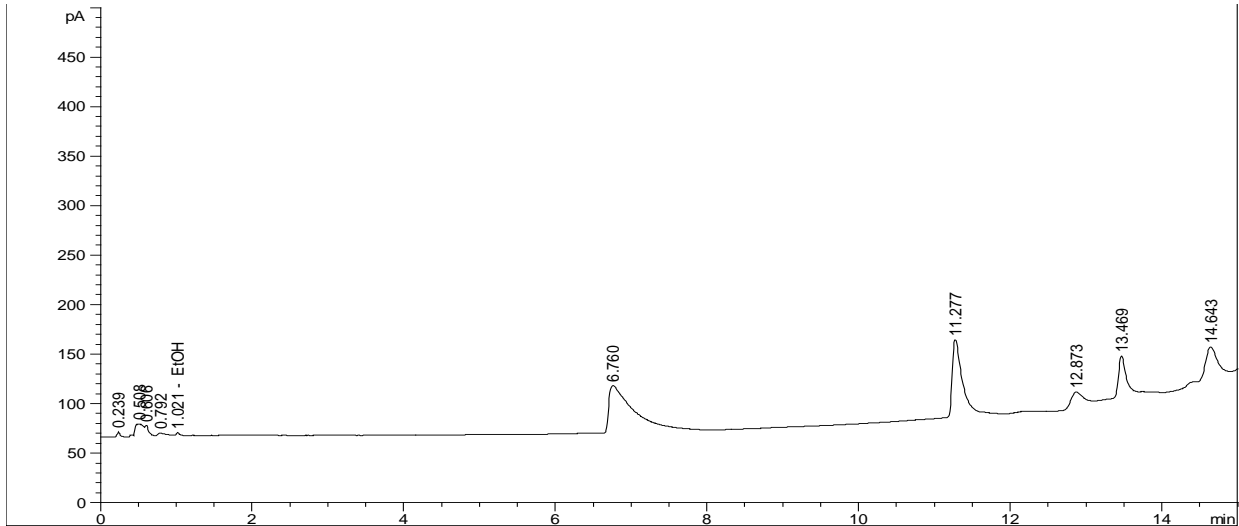
```

=====
Sorted By       : Signal
Calib. Data Modified : 11/4/2014 11:26:20 AM
Multiplier      : 1.0000
Dilution        : 1.0000
  
```

Signal 1: FID1 A,

RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
1.039	VB	6.40634	1.62971e-4	1.04405e-3		EtOH
Totals :				1.04405e-3		

\*\*\* End of Report \*\*\*



Data File C:\HPCHEM\1\DATA\NIELA\KON-10G1.D Sample Name: KONTROL 10GR 1  
 Instrument 1 11/6/2014 1:36:40 PM

PORAPLOT-Q04 1uL DIRECT

```

=====
Injection Date   : 11/6/2014 12:29:56 PM
Sample Name     : KONTROL 10GR 1
Acq. Operator   :
Method          : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/6/2014 9:39:18 AM
                  (modified after loading)
=====
  
```

External Standard Report (Sample Amount is 0!)

```

Sorted By       : Signal
Calib. Data Modified : 11/4/2014 11:30:20 AM
Multiplier      : 1.0000
Dilution        : 1.0000
  
```

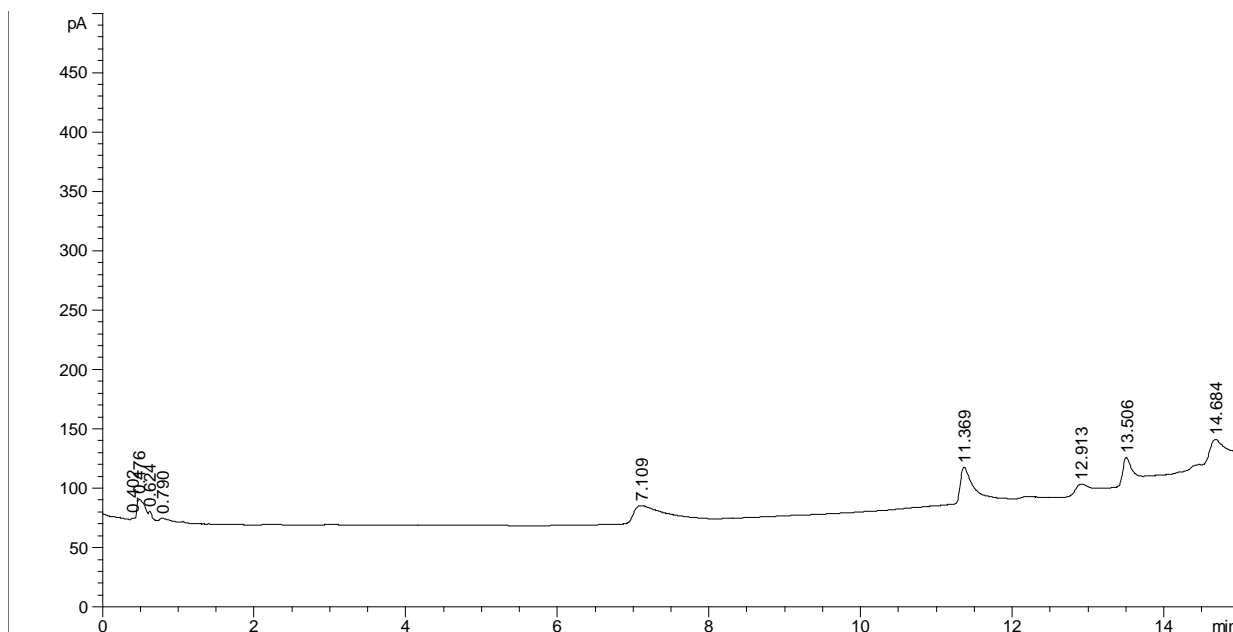
Signal 1: FID1 A,

RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
1.024		-	-	-		EtOH
Totals :				0.00000		

1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found

\*\*\* End of Report \*\*\*



Data File C:\HPCHEM\1\DATA\NIELA\K-10GR-1.D Sample Name: KONTROL 10GR 2  
 Instrument 1 11/6/2014 12:10:25 PM

PORAPLOT-Q04 1uL DIRECT

```

=====
Injection Date   : 11/6/2014 11:27:07 AM
Sample Name     : KONTROL 10GR 1
Acq. Operator   :
Location        : Vial 1
Inj             : 1
Inj Volume      : Manually
Method          : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/6/2014 9:39:18 AM
                  (modified after loading)
=====
  
```

External Standard Report (Sample Amount is 0!)

```

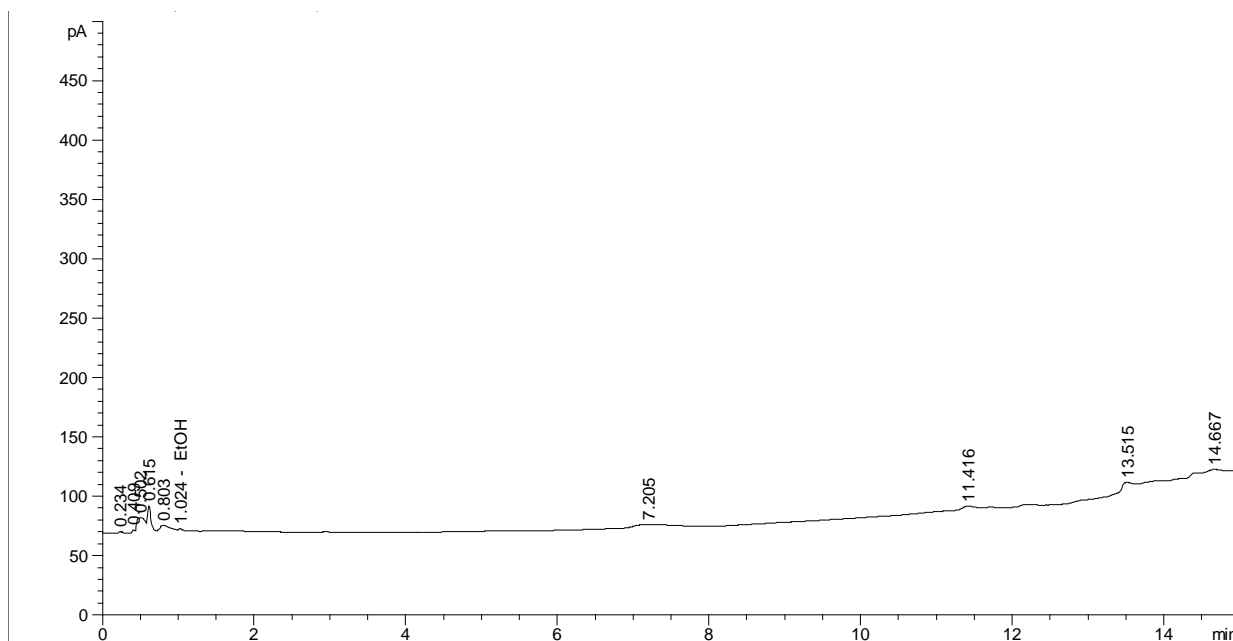
Sorted By       : Signal
Calib. Data Modified : 11/4/2014 11:26:20 AM
Multiplier      : 1.0000
Dilution        : 1.0000
  
```

Signal 1: FID1 A,

RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
1.024		-	-	-		EtOH
Totals :				0.00000		

1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found



Data File C:\HPCHEM\1\DATA\NIELA\K-20GR-2.D Sample Name: KONTROL 20GR 1  
 Instrument 1 11/6/2014 12:11:39 PM

PORAPLOT-Q04 1uL DIRECT

```

=====
Injection Date   : 11/6/2014 10:42:18 AM
Sample Name     : KONTROL 20GR 1
Acq. Operator  :
Method         : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed   : 11/6/2014 9:39:18 AM
                  (modified after loading)
Location       : Vial 1
Inj           : 1
Inj Volume    : Manually
  
```

External Standard Report (Sample Amount is 0!)

```

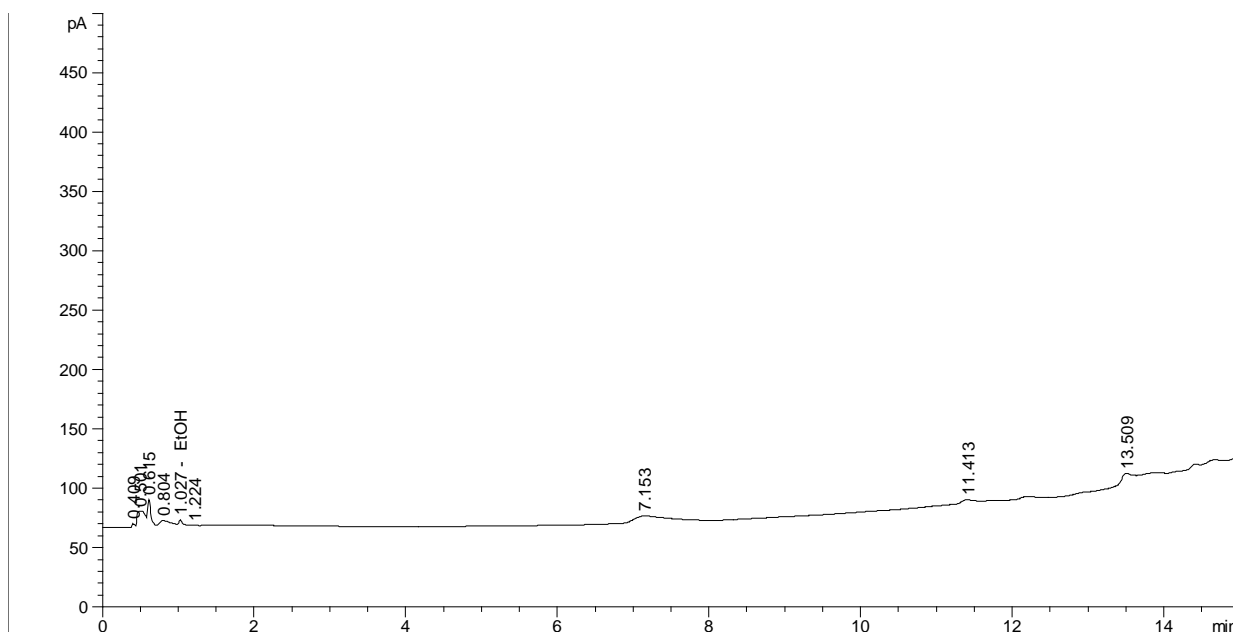
Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : 11/4/2014 11:26:20 AM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
  
```

Signal 1: FID1 A,

RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
1.024	VV			0.0000		EtOH
Totals :						

\*\*\* End of Report \*\*\*





Data File C:\HPCHEM\1\DATA\NIELA\KO20G2.D Sample Name: KONTROL 20GR 2  
 Instrument 1 11/6/2014 1:37:33 PM

PORAPLOT-Q04 1uL DIRECT

```

=====
Injection Date   : 11/6/2014 12:05:08 PM
Sample Name     : KONTROL 20GR 2
Acq. Operator  :
Location       : Vial 1
Inj           : 1
Inj Volume    : Manually

Method        : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed  : 11/6/2014 9:39:18 AM
                (modified after loading)
  
```

External Standard Report (Sample Amount is 0!)

```

Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : 11/4/2014 11:26:20 AM
Multiplier    : 1.0000
Dilution      : 1.0000
  
```

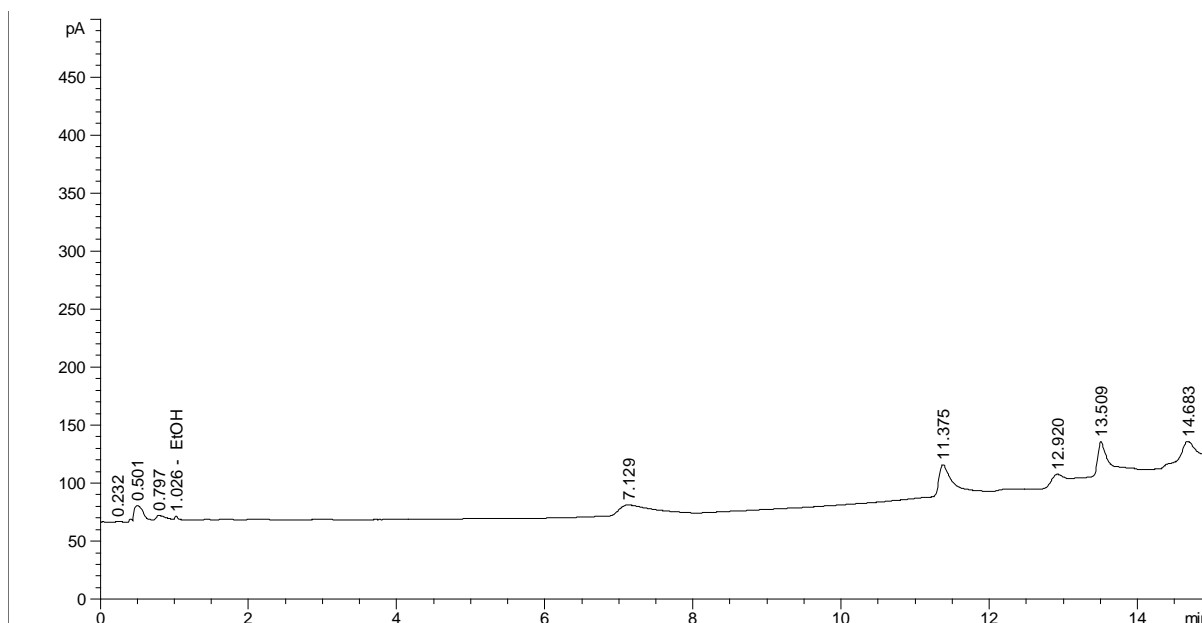
Signal 1: FID1 A,

RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
1.027	VV			0.000		EtOH

Totals :

\*\*\* End of Report \*\*\*

## HASIL PENGUJIAN BIOETANOL 96 JAM



Instrument 1 11/6/2014 12:06:09 PM

PORAPLOT-Q04 1uL DIRECT

```

=====
Injection Date   : 11/5/2014 3:35:50 PM
Sample Name     : YaBcD2
Acq. Operator   :
Location        : Vial 1
Inj             : 1
Inj Volume      : Manually

Acq. Method     : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/5/2014 2:53:04 PM
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/6/2014 9:39:18 AM
                  (modified after loading)
=====

```

External Standard Report (Sample Amount is 0!)

```

Sorted By       : Signal
Calib. Data Modified : 11/4/2014 11:26:20 AM
Multiplier      : 1.0000
Dilution        : 1.0000

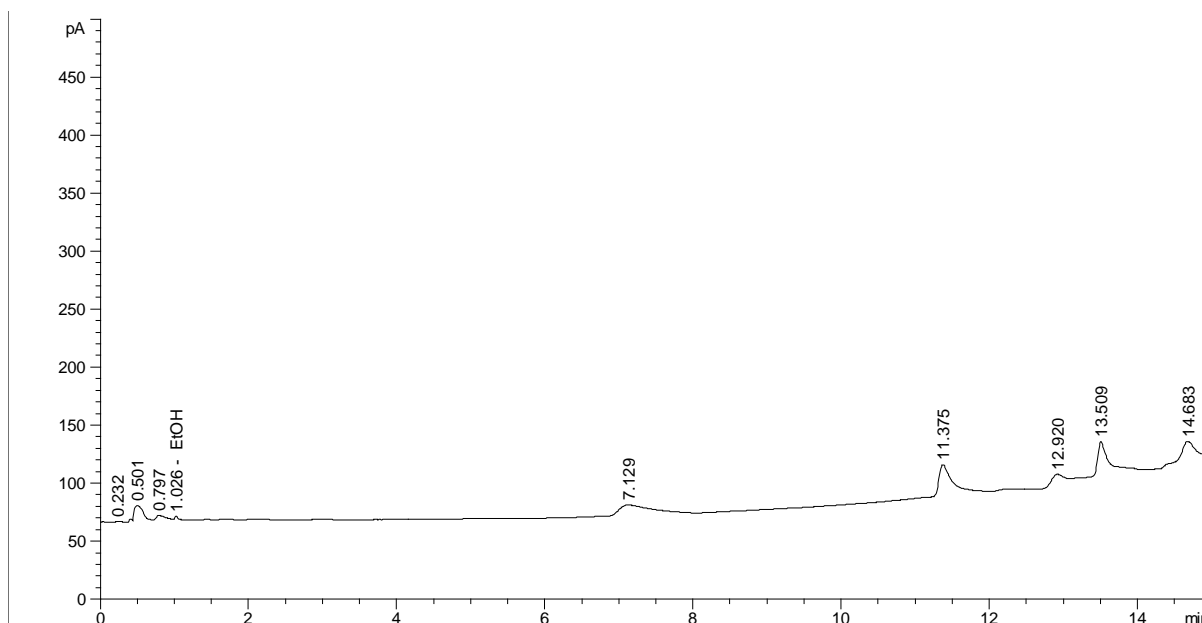
```

```

Signal 1: FID1 A,
RetTime Type Area Amt/Area Amount Grp Name
 [min] [pA*s] [% (v/v)]
-----|-----|-----|-----|-----|-----
 1.026 VV 23.50705 6.93734e-5 1.69370e-3 EtOH
Totals : 1.69370e-3
=====

```

\*\*\* End of Report \*\*\*



Instrument 1 11/6/2014 12:06:09 PM

PORAPLOT-Q04 1uL DIRECT

```

=====
Injection Date   : 11/5/2014 3:35:50 PM
Sample Name     : YaBcD2
Acq. Operator   :
Location        : Vial 1
Inj             : 1
Inj Volume      : Manually

Acq. Method     : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/5/2014 2:53:04 PM
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/6/2014 9:39:18 AM
                  (modified after loading)
=====

```

External Standard Report (Sample Amount is 0!)

```

Sorted By       : Signal
Calib. Data Modified : 11/4/2014 11:26:20 AM
Multiplier      : 1.0000
Dilution        : 1.0000

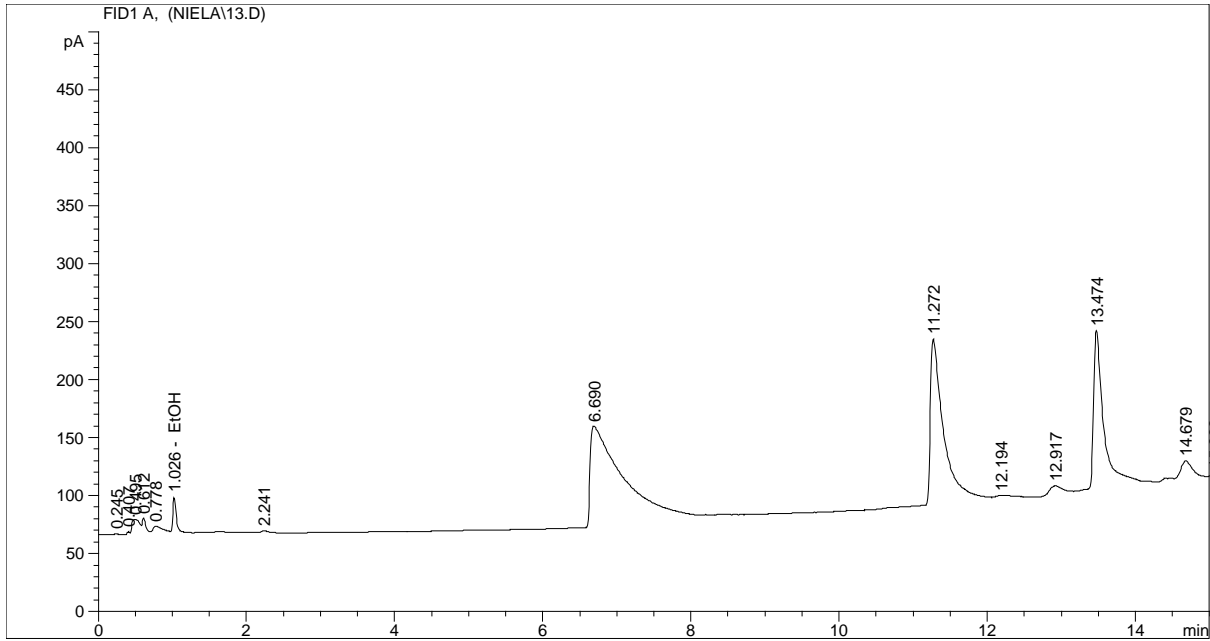
```

```

Signal 1: FID1 A,
RetTime Type Area Amt/Area Amount Grp Name
 [min] [pA*s] [% (v/v)]
-----|-----|-----|-----|-----|-----
 1.026 VV 23.50705 6.93734e-5 1.63076e-3 EtOH
Totals : 1.63076e-3
=====

```

\*\*\* End of Report \*\*\*



Data File C:\HPCHEM\1\DATA\NIELA\13.D Sample Name: Yabcd1  
 Instrument 1 11/6/2014 11:58:11 AM

PORAPLOT-Q04 1uL DIRECT

```

=====
Injection Date   : 11/5/2014 10:04:39 AM
Sample Name     : Yabcd1
Acq. Operator   :
Location        : Vial 1
Inj             : 1
Inj Volume      : Manually

Acq. Method     : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/5/2014 9:40:55 AM
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/6/2014 9:39:18 AM
                  (modified after loading)
  
```

External Standard Report (Sample Amount is 0!)

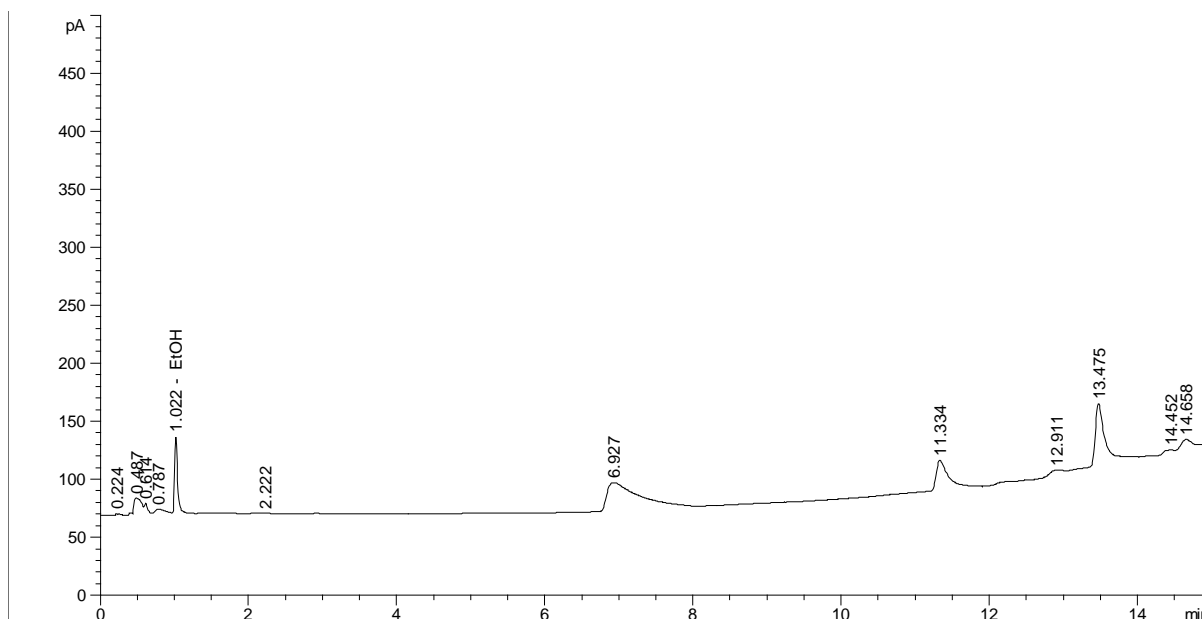
```

Sorted By       : Signal
Calib. Data Modified : 11/4/2014 11:26:20 AM
Multiplier      : 1.0000
Dilution        : 1.0000
  
```

```

Signal 1: FID1 A,
RetTime Type Area Amt/Area Amount Grp Name
 [min] [pA*s] [% (v/v)]
-----|-----|-----|-----|-----|-----
 1.026 VV 133.14357 4.05000e-5 5.39232e-3 EtOH
Totals : 5.39232e-3
  
```

\*\*\* End of Report \*\*\*



Data File C:\HPCHEM\1\DATA\NIELA\20.D Sample Name: YabcD2  
 Instrument 1 11/6/2014 12:00:45 PM

PORAPLOT-Q04 1uL DIRECT

```

=====
Injection Date   : 11/5/2014 1:06:59 PM
Sample Name     : YabcD2
Acq. Operator   :
Location        : Vial 1
Inj             : 1
Inj Volume      : Manually

Acq. Method     : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/5/2014 9:40:55 AM
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/6/2014 9:39:18 AM
                  (modified after loading)
=====
  
```

External Standard Report (Sample Amount is 0!)

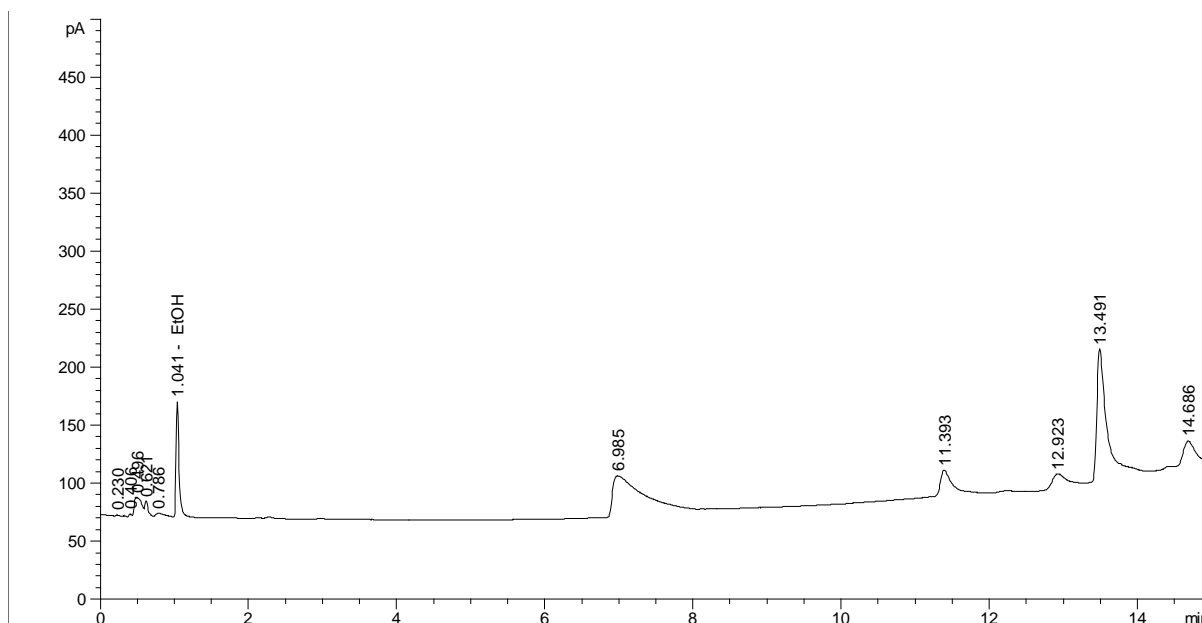
```

Sorted By       : Signal
Calib. Data Modified : 11/4/2014 11:26:20 AM
Multiplier      : 1.0000
Dilution        : 1.0000
  
```

```

Signal 1: FID1 A,
RetTime Type Area Amt/Area Amount Grp Name
 [min] [pA*s] [% (v/v)]
-----|-----|-----|-----|-----|-----
 1.024 VV 131.67210 3.83146e-5 5.28484e-3 EtOH
Totals : 5.28484e-3
=====
  
```

\*\*\* End of Report \*\*\*



Data File C:\HPCHEM\1\DATA\NIELA\23.D Sample Name: YABcD1  
 Instrument 1 11/5/2014 12:01:59 PM

PORAPLOT-Q04 1uL DIRECT

```

=====
Injection Date   : 11/5/2014 3:12:24 PM
Sample Name     : YABcD1
Acq. Operator   :
Location        : Vial 1
Inj             : 1
Inj Volume      : Manually

Acq. Method     : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/5/2014 2:53:04 PM
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/5/2014 9:39:18 AM
                  (modified after loading)
=====
  
```

External Standard Report (Sample Amount is 0!)

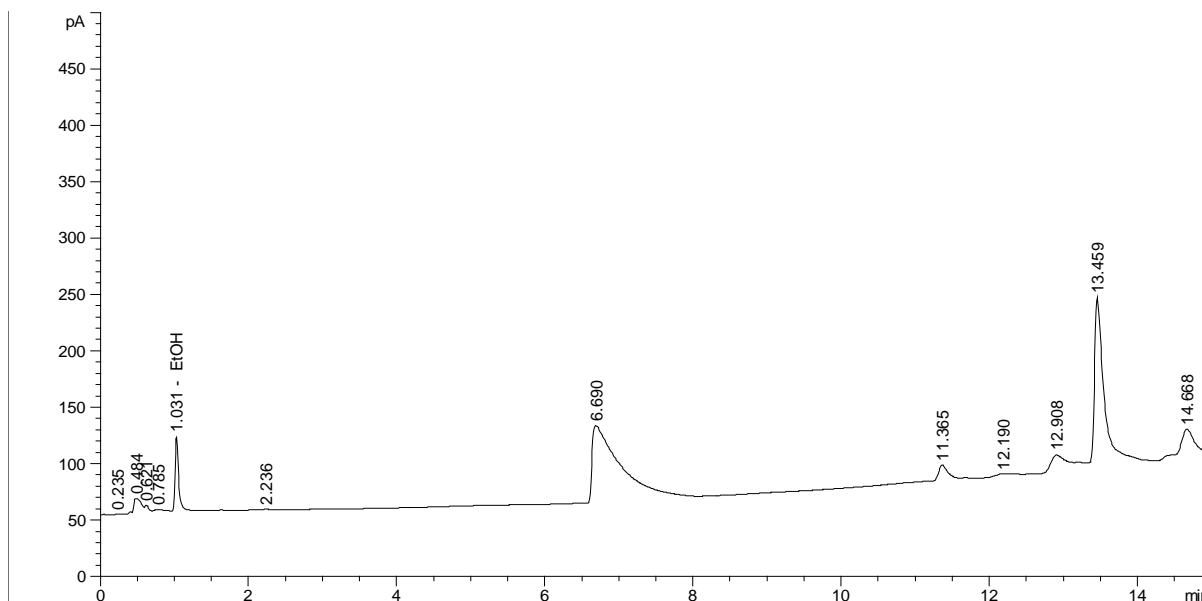
```

Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : 11/5/2014 11:26:20 AM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
  
```

```

Signal 1: FID1 A,
RetTime Type Area Amt/Area Amount Grp Name
 [min] [pA*s] [% (v/v)]
-----|-----|-----|-----|-----|-----
 1.041 VB 277.33017 3.72814e-5 1.03393e-2 EtOH
Totals : 1.03393e-2
=====
  
```

\*\*\* End of Report \*\*\*



Data File C:\HPCHEM\1\DATA\NIELA\YABCD2.D Sample Name: YABCD2  
 Instrument 1 11/5/2014 11:29:04 AM

PORAPLOT-Q04 1uL DIRECT

```

=====
Injection Date   : 11/5/2014 10:22:27 AM
Sample Name     : YABCD2
Acq. Operator   :
Location        : Vial 1
Inj             : 1
Inj Volume      : Manually

Acq. Method     : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/5/2014 10:22:34 AM
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/5/2014 11:26:23 AM
                  (modified after loading)
=====
  
```

External Standard Report (Sample Amount is 0!)

```

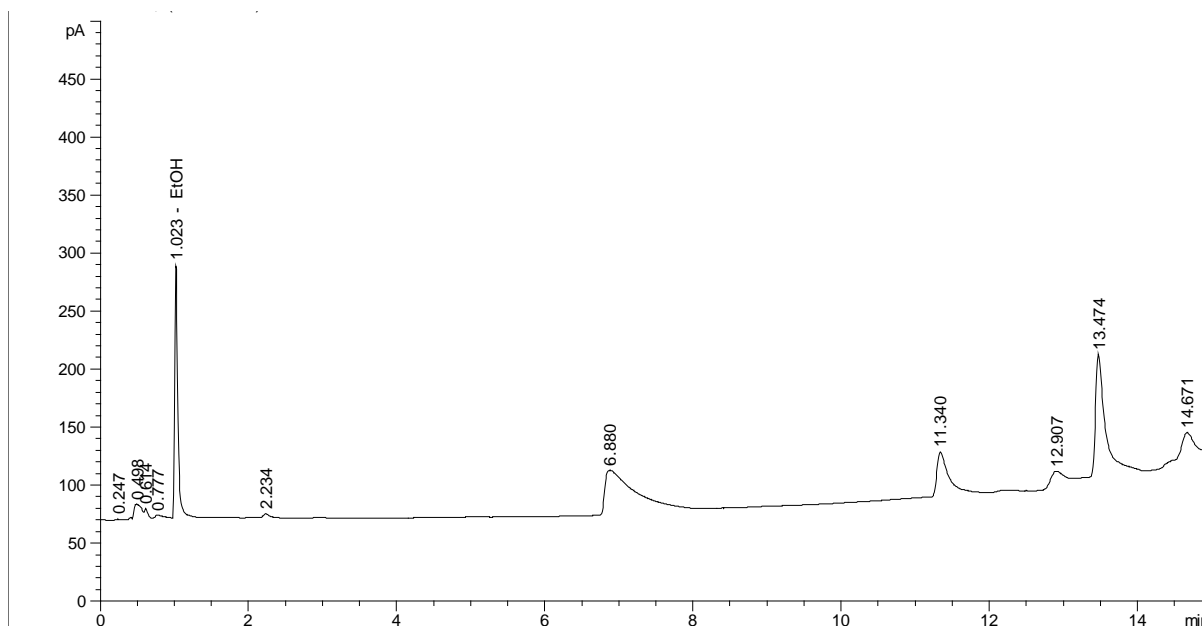
Sorted By       : Signal
Calib. Data Modified : 11/5/2014 11:26:20 AM
Multiplier      : 1.0000
Dilution        : 1.0000
  
```

Signal 1: FID1 A,

RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
1.031	VV	297.93805	3.70758e-5	1.10463e-2		EtOH
Totals :				1.10463e-2		

\*\*\* End of Report \*\*\*





Data File C:\HPCHEM\1\DATA\NIELA\17.D Sample Name: YAbcD1  
 Instrument 1 11/6/2014 11:59:17 AM

PORAPLOT-Q04 1uL DIRECT

```

=====
Injection Date   : 11/5/2014 11:28:44 AM
Sample Name     : YAbcD1
Acq. Operator   :
Location        : Vial 1
Inj             : 1
Inj Volume      : Manually

Acq. Method     : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/5/2014 9:40:55 AM
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/6/2014 9:39:18 AM
                  (modified after loading)
=====
  
```

External Standard Report (Sample Amount is 0!)

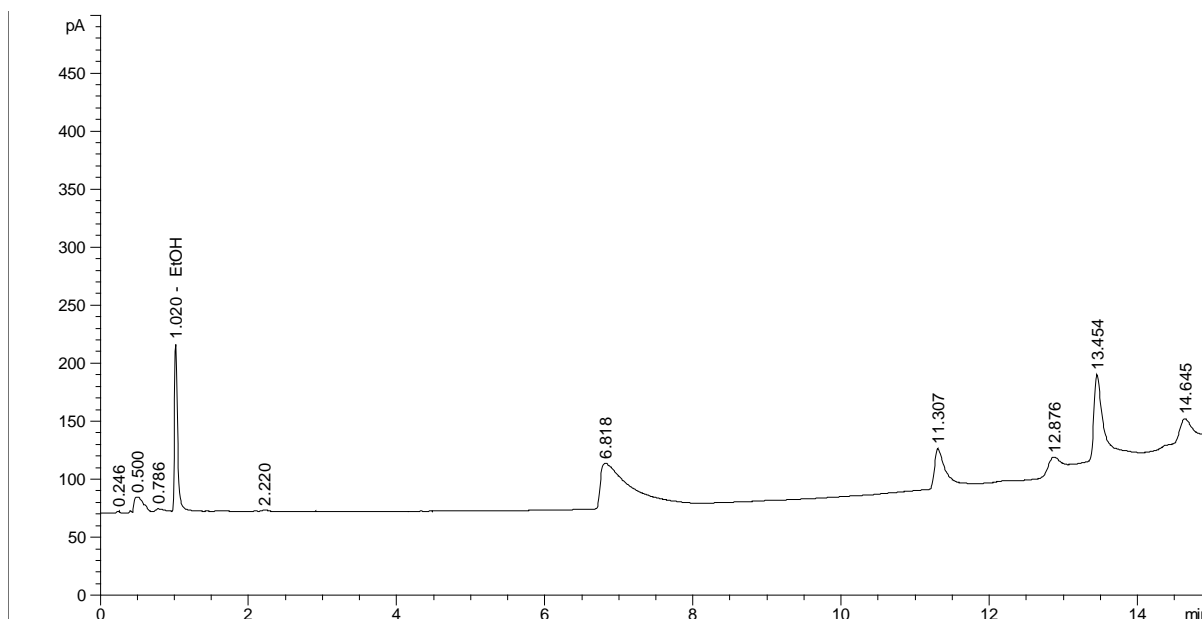
```

Sorted By       : Signal
Calib. Data Modified : 11/4/2014 11:26:20 AM
Multiplier      : 1.0000
Dilution        : 1.0000
  
```

```

Signal 1: FID1 A,
RetTime  Type   Area   Amt/Area  Amount  Grp  Name
 [min]    [pA*s]  [%(v/v)]
-----|-----|-----|-----|-----|-----
  1.020  VB     538.01984  3.55883e-5  1.91068e-2  EtOH
Totals :                               1.91068e-2
=====
  
```

\*\*\* End of Report \*\*\*



Data File C:\HPCHEM\1\DATA\NIELA\8.D Sample Name: YAbcD2  
 Instrument 1 11/6/2014 12:09:40 PM

PORAPLOT-Q04 1uL DIRECT

```

=====
Injection Date   : 11/4/2014 2:40:57 PM
Sample Name     : YAbcD2
Acq. Operator   :
Location        : Vial 1
Inj             : 1
Inj Volume      : Manually

Acq. Method     : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/4/2014 11:26:23 AM
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/6/2014 9:39:18 AM
                  (modified after loading)
=====
  
```

External Standard Report (Sample Amount is 0!)

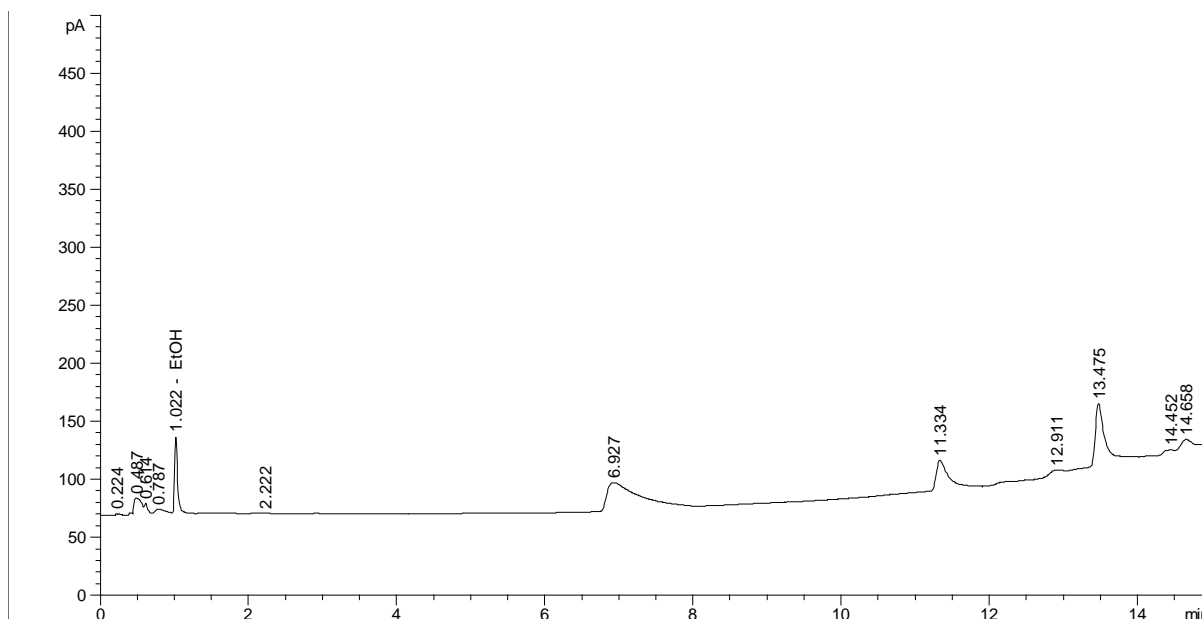
```

Sorted By       : Signal
Calib. Data Modified : 11/4/2014 11:26:20 AM
Multiplier      : 1.0000
Dilution        : 1.0000
  
```

```

Signal 1: FID1 A,
RetTime Type Area Amt/Area Amount Grp Name
 [min] [pA*s] [% (v/v)]
-----|-----|-----|-----|-----|-----
 1.021 VB 433.26270 3.77991e-5 1.58063e-2 EtOH
Totals : 1.58063e-2
=====
  
```

\*\*\* End of Report \*\*\*



Data File C:\HPCHEM\1\DATA\NIELA\20.D Sample Name: YaBcd1  
 Instrument 1 11/6/2014 12:00:45 PM

PORAPLOT-Q04 1uL DIRECT

```

=====
Injection Date   : 11/5/2014 1:06:59 PM
Sample Name     : Yabc d1                      Location  : Vial 1
Acq. Operator   :                               Inj      : 1
                                                    Inj Volume: Manually

Acq. Method     : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/5/2014 9:40:55 AM
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/6/2014 9:39:18 AM
                  (modified after loading)
=====
  
```

External Standard Report (Sample Amount is 0!)

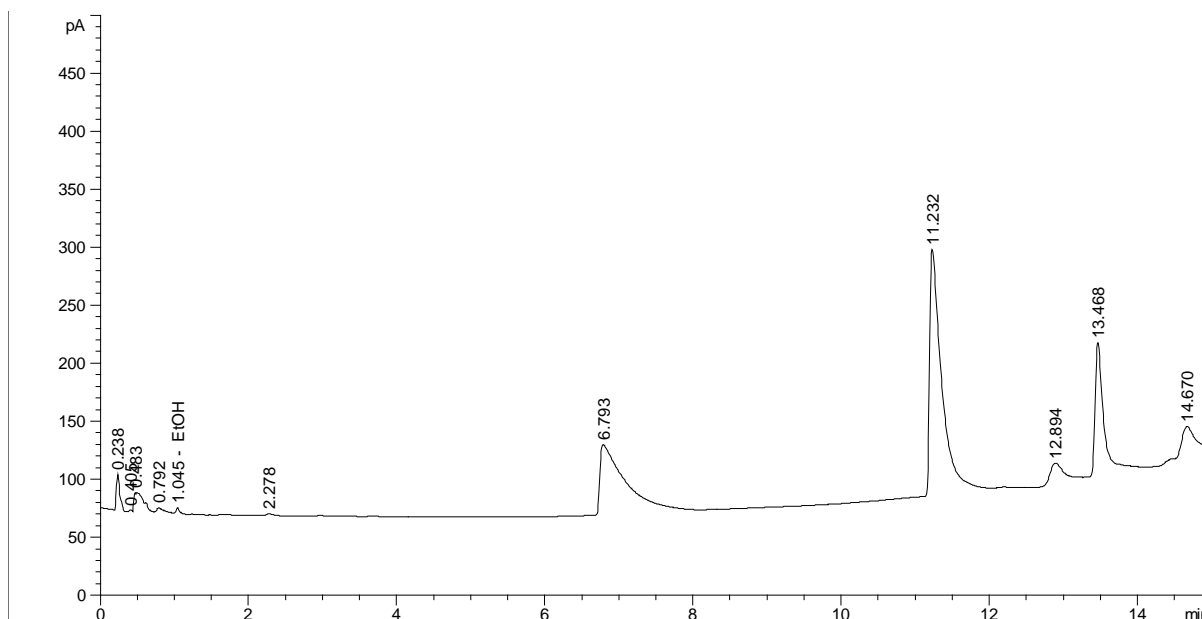
```

Sorted By       : Signal
Calib. Data Modified : 11/4/2014 11:26:20 AM
Multiplier      : 1.0000
Dilution        : 1.0000
  
```

```

Signal 1: FID1 A,
RetTime Type Area Amt/Area Amount Grp Name
 [min] [pA*s] [% (v/v)]
-----|-----|-----|-----|-----|-----
 1.025 VV 13.27444 9.64025e-5 1.27969e-3 EtOH
Totals :                               1.27969e-3
=====
  
```

\*\*\* End of Report \*\*\*



Data File C:\HPCHEM\1\DATA\NIELA\26.D Sample Name: YaBcd2  
 Instrument 1 11/5/2014 12:06:53 PM

PORAPLOT-Q04 1uL DIRECT

```

=====
Injection Date   : 11/5/2014 4:12:11 PM
Sample Name     : YaBcd2
Acq. Operator   :
Location        : Vial 1
Inj             : 1
Inj Volume      : Manually

Acq. Method     : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/5/2014 2:53:04 PM
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/5/2014 9:39:18 AM
                  (modified after loading)
=====
  
```

External Standard Report (Sample Amount is 0!)

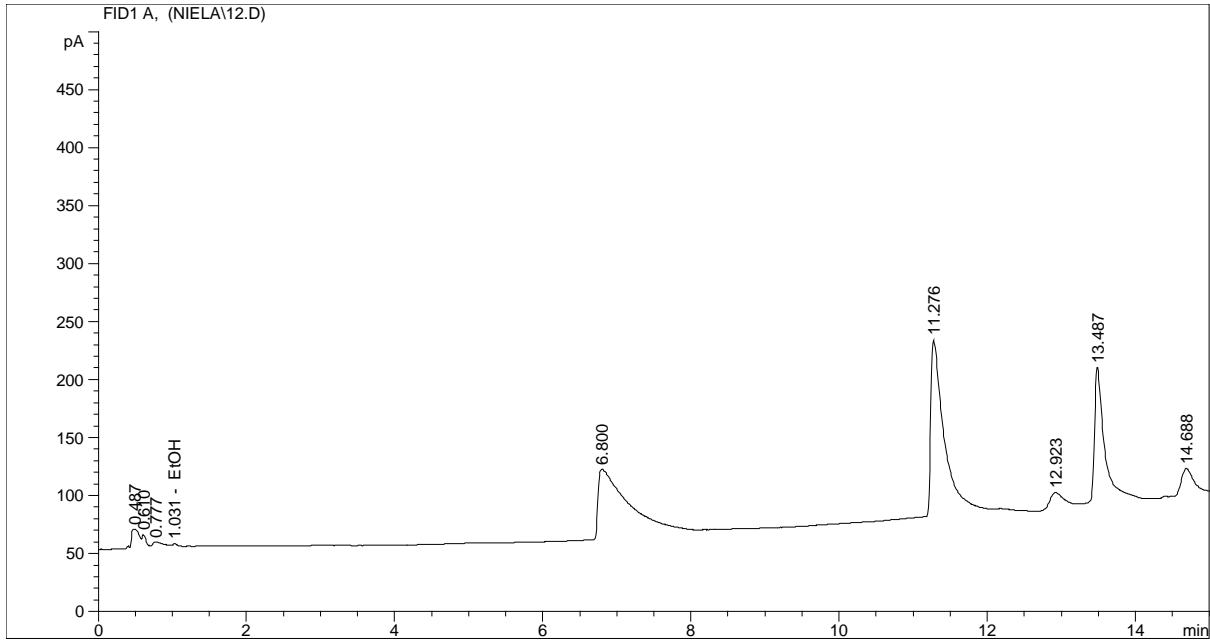
```

Sorted By       : Signal
Calib. Data Modified : 11/4/2014 11:26:20 AM
Multiplier      : 1.0000
Dilution        : 1.0000
  
```

```

Signal 1: FID1 A,
RetTime Type Area Amt/Area Amount Grp Name
 [min] [pA*s] [% (v/v)]
-----|-----|-----|-----|-----|-----
 1.041 VV 12.14815 1.02159e-5 1.24105e-3 EtOH
Totals : 1.24105e-3
=====
  
```

\*\*\* End of Report \*\*\*



Data File C:\HPCHEM\1\DATA\NIELA\12.D Sample Name: Yabcd1  
 Instrument 1 11/6/2014 11:57:49 AM

PORAPLOT-Q04 1uL DIRECT

```

=====
Injection Date   : 11/5/2014 9:44:12 AM
Sample Name     : Yabcd1                      Location  : Vial 1
Acq. Operator  :                               Inj      : 1
                                                    Inj Volume: Manually

Acq. Method     : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/5/2014 9:40:55 AM
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/6/2014 9:39:18 AM
                  (modified after loading)
  
```

External Standard Report (Sample Amount is 0!)

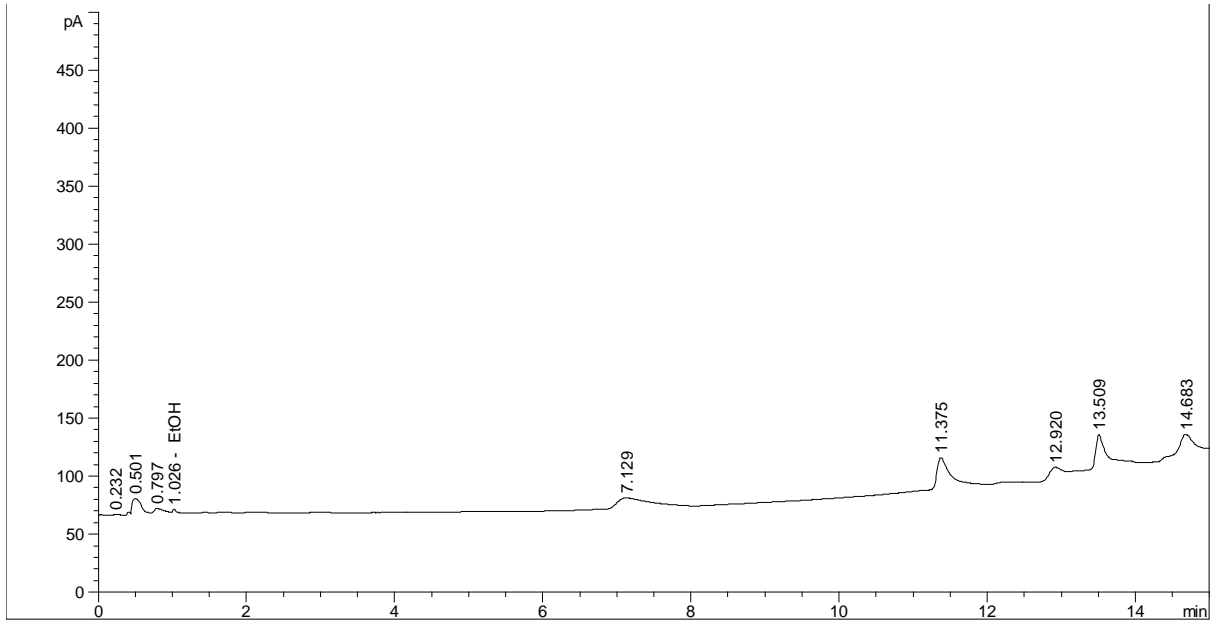
```

Sorted By       : Signal
Calib. Data Modified : 11/4/2014 11:26:20 AM
Multiplier      : 1.0000
Dilution        : 1.0000
  
```

Signal 1: FID1 A,

RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
1.031	VV	25.66048	6.64308e-5	1.70465e-3		EtOH
Totals :				1.70465e-3		

\*\*\* End of Report \*\*\*



Data File C:\HPCHEM\1\DATA\NIELA\24.D Sample Name: Yabcd2  
 Instrument 1 11/6/2014 12:06:09 PM

PORAPLOT-Q04 1uL DIRECT

```

=====
Injection Date   : 11/5/2014 3:35:50 PM
Sample Name     : Yabcd2
Acq. Operator   :
Location        : Vial 1
Inj             : 1
Inj Volume      : Manually

Acq. Method     : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/5/2014 2:53:04 PM
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/6/2014 9:39:18 AM
                  (modified after loading)
  
```

External Standard Report (Sample Amount is 0!)

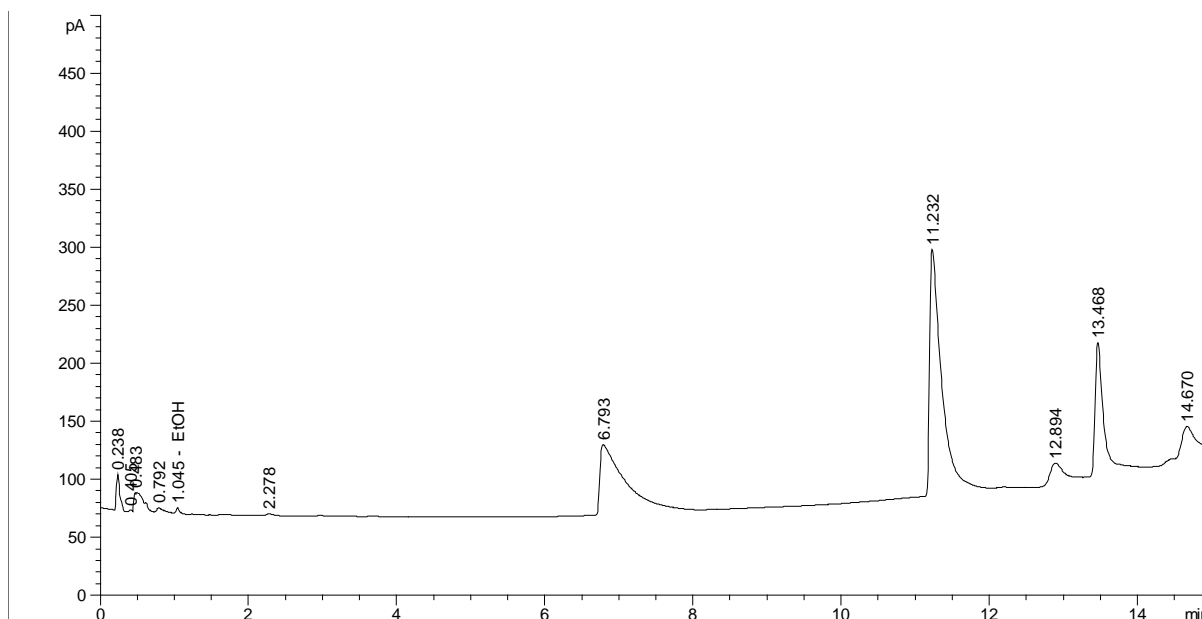
```

Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : 11/4/2014 11:26:20 AM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
  
```

Signal 1: FID1 A,

RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
1.026	VV	23.50705	6.93734e-5	1.63076e-3		EtOH
Totals :				1.63076e-3		

\*\*\* End of Report \*\*\*



Data File C:\HPCHEM\1\DATA\NIELA\26.D Sample Name: YABcd1  
 Instrument 1 11/5/2014 12:06:53 PM

PORAPLOT-Q04 1uL DIRECT

```

=====
Injection Date   : 11/5/2014 4:12:11 PM
Sample Name     : YABcd1                      Location  : Vial 1
Acq. Operator   :                               Inj      : 1
                                                    Inj Volume: Manually

Acq. Method     : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/5/2014 2:53:04 PM
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/5/2014 9:39:18 AM
                  (modified after loading)
=====
  
```

External Standard Report (Sample Amount is 0!)

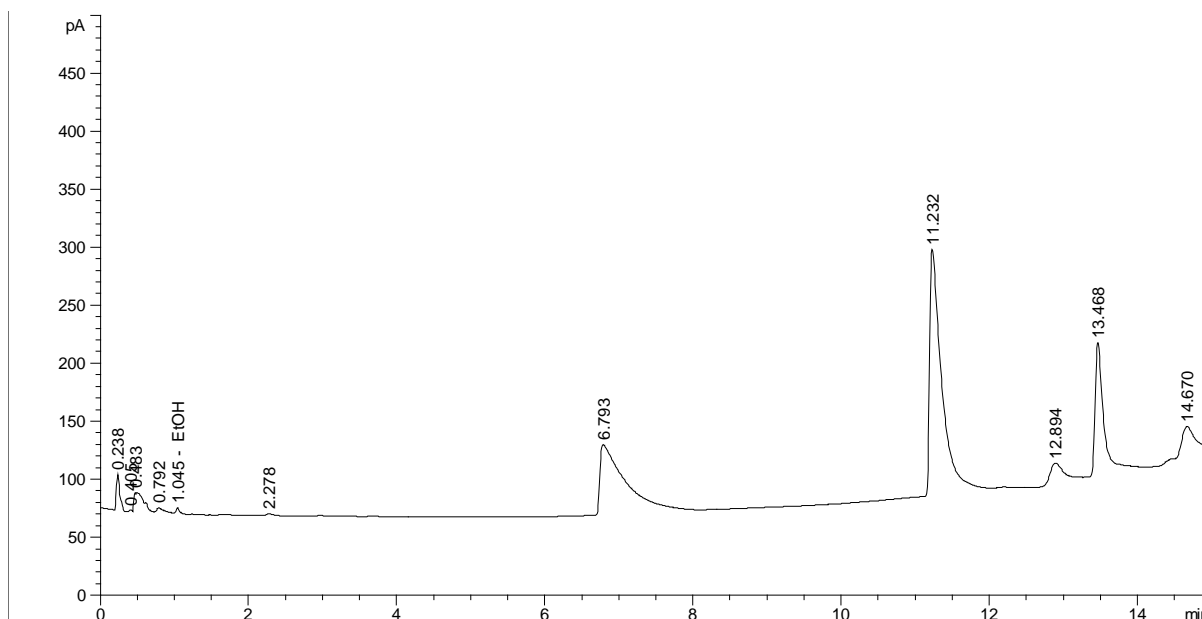
```

Sorted By       : Signal
Calib. Data Modified : 11/4/2014 11:26:20 AM
Multiplier      : 1.0000
Dilution        : 1.0000
  
```

```

Signal 1: FID1 A,
RetTime Type   Area   Amt/Area   Amount   Grp   Name
 [min]         [pA*s]                [% (v/v)]
-----|-----|-----|-----|-----|-----
  1.027 VV      17.78159 8.06636e-5 1.43433e-3 EtOH
Totals :                               1.43433e-3
=====
  
```

\*\*\* End of Report \*\*\*



Data File C:\HPCHEM\1\DATA\NIELA\26.D Sample Name: YABcd2

Instrument 1 11/5/2014 12:06:53 PM

PORAPLOT-Q04 1uL DIRECT

```

=====
Injection Date   : 11/5/2014 4:12:11 PM
Sample Name     : YABcd2                      Location  : Vial 1
Acq. Operator   :                               Inj      : 1
                                                    Inj Volume: Manually

Acq. Method     : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/5/2014 2:53:04 PM
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/5/2014 9:39:18 AM
                  (modified after loading)
=====

```

External Standard Report (Sample Amount is 0!)

```

Sorted By       : Signal
Calib. Data Modified : 11/4/2014 11:26:20 AM
Multiplier      : 1.0000
Dilution       : 1.0000

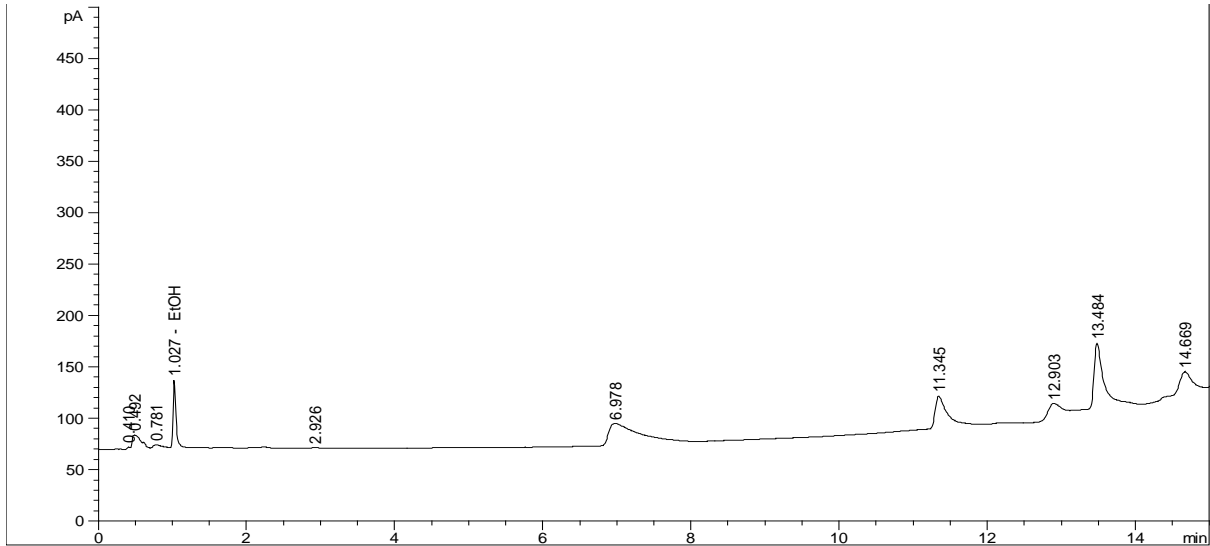
```

Signal 1: FID1 A,

RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
1.045	VP	17.64901	8.10118e-5	1.42978e-3		EtOH
Totals :				1.42978e-3		

\*\*\* End of Report \*\*\*





Data File C:\HPCHEM\1\DATA\NIELA\18.D Sample Name: YAbcd1  
 Instrument 1 11/6/2014 11:59:37 AM

PORAPLOT-Q04 1uL DIRECT

```

=====
Injection Date   : 11/6/2014 11:55:16 AM
Sample Name     : YAbcd1
Acq. Operator   :
Location        : Vial 1
Inj             : 1
Inj Volume      : Manually

Acq. Method     : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/6/2014 9:40:55 AM
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/6/2014 9:39:18 AM
                  (modified after loading)
=====
  
```

External Standard Report (Sample Amount is 0!)

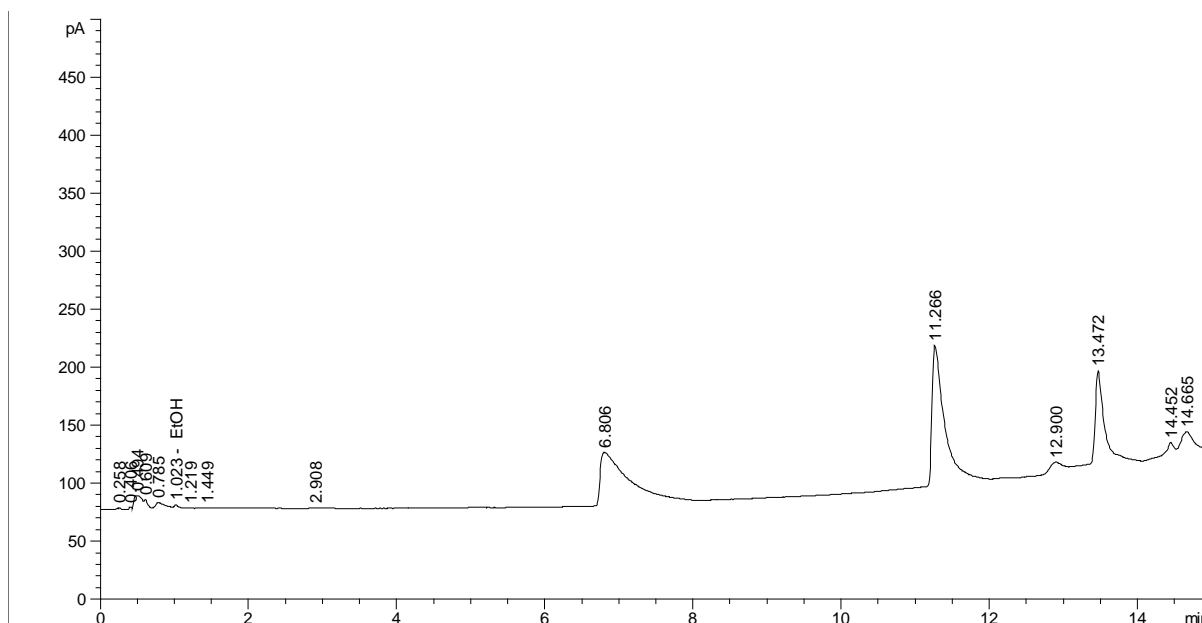
```

Sorted By       : Signal
Calib. Data Modified : 11/6/2014 11:26:20 AM
Multiplier      : 1.0000
Dilution        : 1.0000
  
```

Signal 1: FID1 A,

RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
1.041	VV	19.35827	7.68881e-5	1.48842e-3		EtOH
Totals :				1.48842e-3		

\*\*\* End of Report \*\*\*



Data File C:\HPCHEM\1\DATA\NIELA\1.D Sample Name: YAbcd2  
 Instrument 1 11/6/2014 11:56:35 AM

PORAPLOT-Q04 1uL DIRECT

```

=====
Injection Date   : 11/5/2014 11:32:46 AM
Sample Name     : YAbcd2
Acq. Operator   :
Location        : Vial 1
Inj             : 1
Inj Volume      : Manually

Acq. Method     : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/4/2014 11:26:23 AM
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/6/2014 9:39:18 AM
                  (modified after loading)
=====
  
```

External Standard Report (Sample Amount is 0!)

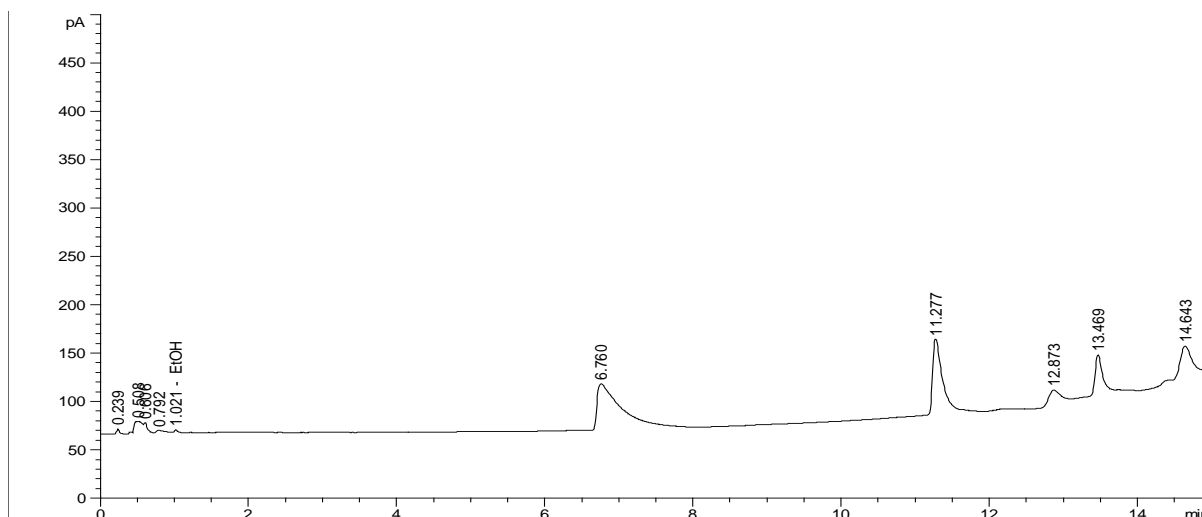
```

=====
Sorted By       : Signal
Calib. Data Modified : 11/4/2014 11:26:20 AM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
  
```

Signal 1: FID1 A,

RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
1.023	VV	21.39894	7.28277e-5	1.55844e-3		EtOH
Totals :				1.55844e-3		

\*\*\* End of Report \*\*\*



Data File C:\HPCHEM\1\DATA\NIELA\KON-10G1.D Sample Name: KONTROL 10GR 1  
 Instrument 1 11/6/2014 1:36:40 PM

PORAPLOT-Q04 1uL DIRECT

```

=====
Injection Date   : 11/5/2014 12:29:56 PM
Sample Name     : KONTROL 10GR 1
Acq. Operator  :
Location       : Vial 1
Inj           : 1
Inj Volume    : Manually

Method         : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed  : 11/6/2014 9:39:18 AM
                (modified after loading)
  
```

External Standard Report (Sample Amount is 0!)

```

Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : 11/4/2014 11:30:20 AM
Multiplier    : 1.0000
Dilution      : 1.0000
  
```

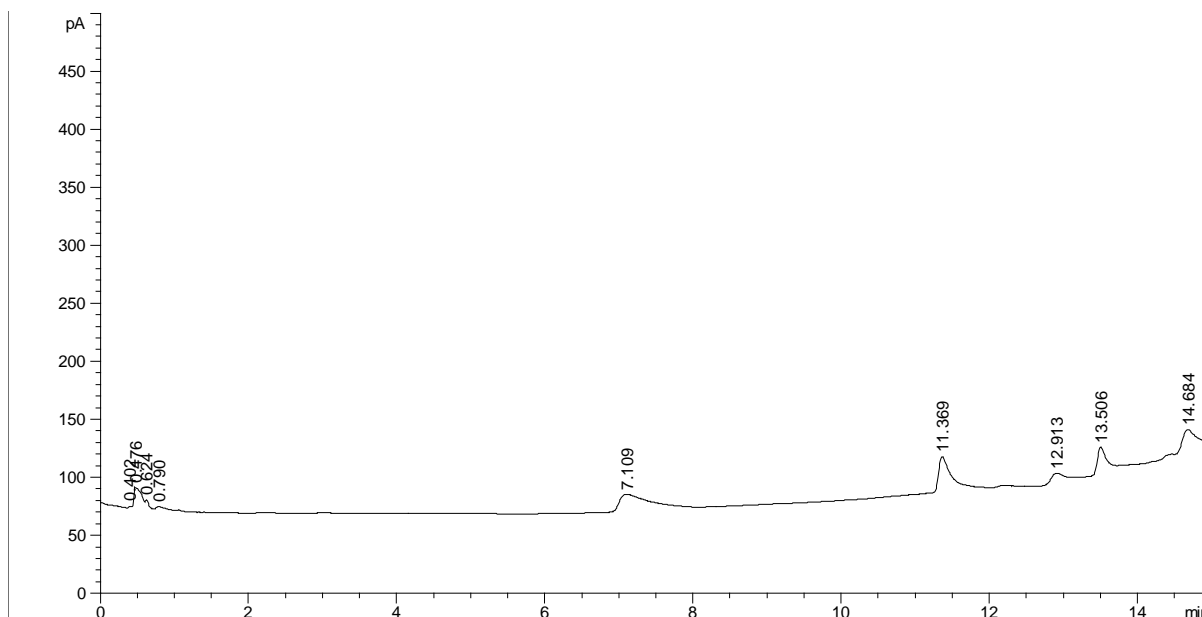
Signal 1: FID1 A,

RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
1.024	-	-	-	-	-	EtOH
Totals :				0.00000		

1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found

\*\*\* End of Report \*\*\*



Data File C:\HPCHEM\1\DATA\NIELA\K-10GR-1.D Sample Name: KONTROL 10GR 2  
 Instrument 1 11/6/2014 12:10:25 PM

PORAPLOT-Q04 1uL DIRECT

```

=====
Injection Date   : 11/6/2014 11:27:07 AM
Sample Name     : KONTROL 10GR 1           Location : Vial 1
Acq. Operator  :                          Inj      : 1
                                           Inj Volume: Manually

Method          : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed   : 11/6/2014 9:39:18 AM
                 (modified after loading)
=====
  
```

External Standard Report (Sample Amount is 0!)

```

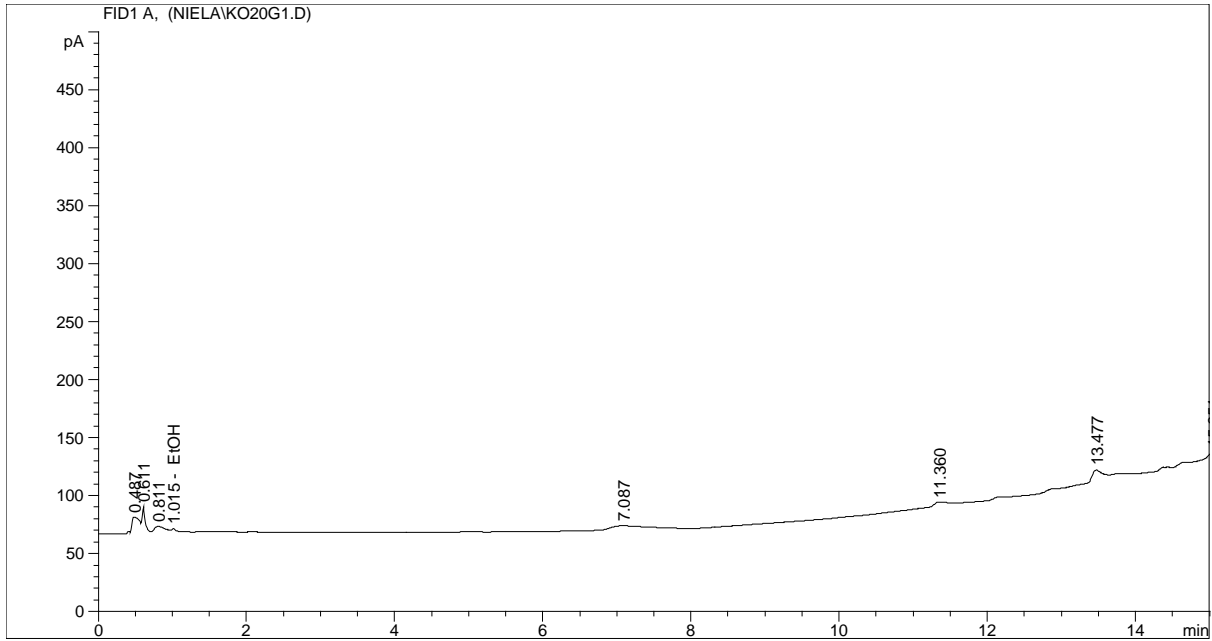
Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : 11/4/2014 11:26:20 AM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
  
```

Signal 1: FID1 A,

RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
1.024		-	-	-		EtOH
Totals :				0.00000		

1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found



Data File C:\HPCHEM\1\DATA\NIELA\K-10GR-1.D Sample Name: KONTROL 20GR 1  
 Instrument 1 11/6/2014 12:10:25 PM

PORAPLOT-Q04 1uL DIRECT

```

=====
Injection Date   : 11/6/2014 11:27:07 AM
Sample Name     : KONTROL 20GR 1
Acq. Operator  :
Location       : Vial 1
Inj           : 1
Inj Volume    : Manually

Method         : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed  : 11/6/2014 9:39:18 AM
                (modified after loading)
=====
  
```

External Standard Report (Sample Amount is 0!)

```

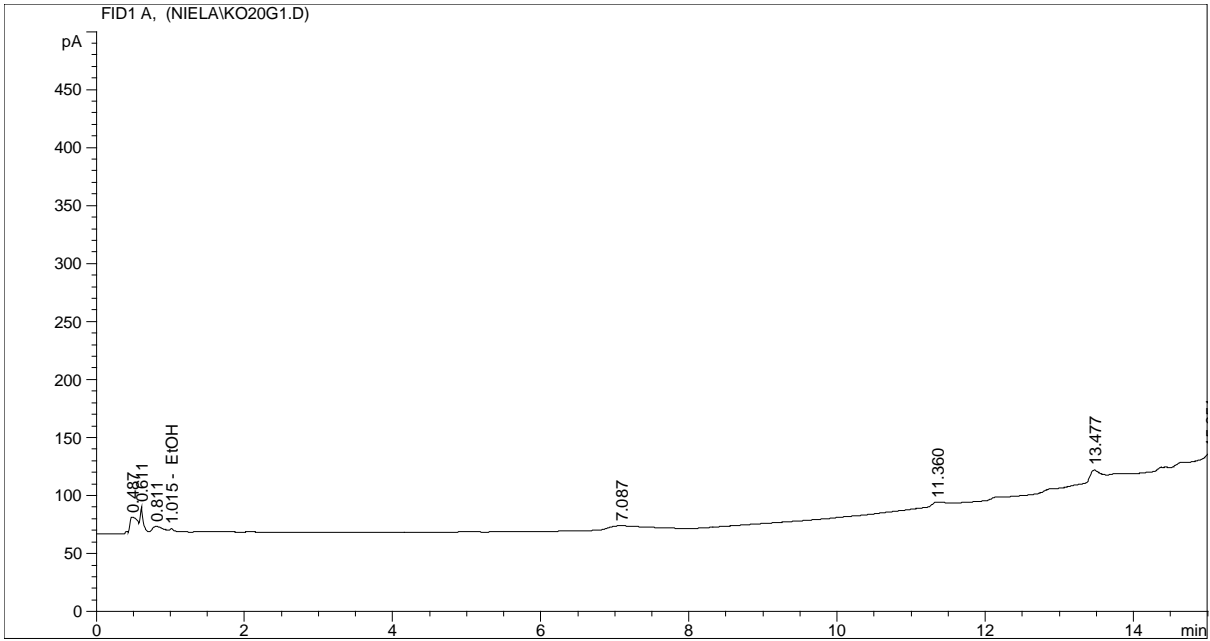
Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : 11/4/2014 11:26:20 AM
Multiplier    : 1.0000
Dilution      : 1.0000
  
```

Signal 1: FID1 A,

RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
1.024	-	-	-	-	-	EtOH
Totals :				0.00000		

1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found



Data File C:\HPCHEM\1\DATA\NIELA\K-10GR-1.D Sample Name: KONTROL 20GR 1  
Instrument 1 11/6/2014 14:10:25 PM

PORAPLOT-Q04 1uL DIRECT

```

=====
Injection Date   : 11/6/2014 14:27:07 AM
Sample Name     : KONTROL 20GR 1           Location : Vial 1
Acq. Operator  :                          Inj      : 1
                                           Inj Volume: Manually

Method          : C:\HPCHEM\1\METHODS\ETOH-MET.M
Last changed    : 11/6/2014 9:39:18 AM
                  (modified after loading)
=====

```

External Standard Report (Sample Amount is 0!)

```

Sorted By       : Signal
Calib. Data Modified : 11/4/2014 11:26:20 AM
Multiplier      : 1.0000
Dilution        : 1.0000

```

Signal 1: FID1 A,

RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
1.024	-	-	-	-	-	EtOH
Totals :				0.00000		

1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found

## BIODATA PENULIS



Penyusun laporan tesis ini bernama Nila Juwita dan sering dipanggil dengan nama Nila. Penyusun dilahirkan di Bangka tanggal 16 September 1983 ini merupakan anak pertama dari tiga bersaudara yang dilahirkan dari pasangan Ibu Wamoka dan Bapak Abdul Mansyah. Penyusun dibesarkan dalam keluarga yang sederhana dan penuh dengan kebersamaan. Riwayat pendidikan penyusun yaitu di SD di SDN Tg. Priok 04. PG pada tahun ajaran 1990-1996, SMP di SMP SEROJA Bekasi pada tahun ajaran 1996-1999, SMA di SMF Caraka Nusantara pada tahun ajaran 1999-2002. Setelah menyelesaikan pendidikan di SMF penyusun melanjutkan kuliah di Universitas Muhammadiyah Jakarta jurusan Teknik Kimia angkatan 2003. Di Teknik Kimia ini penyusun memiliki beberapa pengalaman kepanitiaan, sempat aktif sebagai Asisten Laboratorium Teknik Kimia Fisika dilingkungan Teknik Kimia dan aktif di BEM FT UMJ. Serta penyusun pernah mengikuti kerja praktik di PT Pupuk Kujang Cikampek, Jawa Barat. Setelah menyelesaikan pendidikan strata satu di Universitas Muhammadiyah Jakarta, penyusun melanjutkan pendidikan pada jenjang magister di Institut Teknologi Sepuluh Nopember Jurusan Teknik Lingkungan angkatan 2013. Jika ingin menanyakan sesuatu tentang penelitian ini atau sekedar memberikan saran dan kritik silahkan hubungi email penyusun [nila.juwita@yahoo.co.id](mailto:nila.juwita@yahoo.co.id).