

REKAYASA BIOPROSES PRODUKSI BIOETANOL DARI UBI KAYU DENGAN TEKNIK KO-KULTUR RAGI TAPE DAN *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

I Wayan Arnata; A.A.M. Dewi Anggreni
PS. Teknologi Industri Pertanian, FTP Unud
Email yan_kadir@yahoo.com

ABSTRACT

*The purpose of this study is to get an alternative bioprocess technology of bioethanol production from cassava using the technique of co-cultured "tape" yeast and *Saccharomyces cerevisiae*. The study was designed with a completely randomized design experiment using 7 level of co-culture techniques. All treatment was repeated 2 times. The parameters measured were the final pH, percentage of substrate consumption, ethanol concentration and fermentation efficiency. Using coculture technique in the process of fermentation to produce bioethanol gives better results than the use of a single culture or pure culture of "tape" yeast and *S. cerevisiae*. Coculture technique that gives the best results is the treatment of fermentation process by giving the "tape" yeast to the first day and followed by giving culture *S. cerevisiae* for the next two days. This treatment has a final pH 4:05, the percentage substrate or glucose consumption of 82.92%, the concentration ethanol of 11.0% (w/v) and the fermentation efficiency of 52.94%.*

Keywords: Bioethanol, cassava, co-culture, "tape" yeast, *Saccharomyces cerevisiae*

PENDAHULUAN

Berbagai jenis sumber bahan baku bioetanol terdapat di Indonesia, seperti ubi kayu, sagu, ubi jalar dan tetes tebu. Ubi kayu sebagai bahan baku bioetanol mempunyai kelebihan yaitu dapat tumbuh pada lahan yang kurang subur, mempunyai daya tahan tinggi terhadap penyakit dan dapat diatur masa panennya. Perkembangan produksi ubi kayu di Indonesia mengalami peningkatan sekitar 23 % (16 ton menjadi 20 ton) dari tahun 2000 - 2008 (Deptan, 2008).

Proses produksi bioetanol dapat dilakukan melalui konversi bahan baku dengan memanfaatkan mikroba yang sesuai. Selama ini mikroba yang dipergunakan dalam proses fermentasi umumnya adalah kultur tunggal (monokultur) *Saccharomyces cerevisiae*. Penggunaan kultur tunggal *S. cerevisiae* memiliki kelemahan dalam hal waktu proses yang lebih lama, karena sebelum proses fermentasi diperlukan proses hidrolisis pati dengan menggunakan enzim-enzim hidrolase. Tahap hidrolisis pati diawali dengan tahap likuifikasi menggunakan enzim

α -amilase untuk mengubah pati ubikayu menjadi dekstrin. Proses ini memerlukan waktu 1 jam pada suhu 100°C. Setelah proses likuifikasi diperlukan proses sakarifikasi menggunakan enzim amiloglukosidase untuk mengubah dekstrin menjadi glukosa. Proses ini memakan waktu 3 hari pada suhu 55-60°C. Setelah terbentuk glukosa, dilanjutkan dengan proses fermentasi menggunakan *S. cerevisiae* untuk mengubah glukosa menjadi bioetanol. Proses ini memerlukan waktu 3 sampai 4 hari (Budiyanto *et al.*, 2005). Jadi dengan menggunakan kultur tunggal untuk memproduksi bioetanol akan memerlukan waktu sekitar 7 hari. Lamanya waktu proses produksi juga disebabkan oleh ketidakmampuan dari *S. cerevisiae* untuk menghasilkan enzim-enzim hidrolase yang memecah pati menjadi glukosa, sehingga secara umum akan memerlukan enzim-enzim komersial penghidrolisis pati. Kondisi ini juga berakibat pada mahalnya proses produksi karena enzim-enzim komersial sampai saat ini harganya sangat mahal.

Saat ini terdapat beberapa teknologi proses produksi bioetanol yang telah dikembangkan seperti proses hidrolisis dan fermentasi secara bertahap, proses sakarifikasi fermentasi secara simultan dan proses hidrolisis ko-fermentasi (Tahezadeh dan Karimi, 2007). Arnata *et al.* (2009) melaporkan bahwa dengan penggunaan teknik ko-kultur *Trichoderma viride*, *Aspergillus niger* dan *S. cerevisiae* pada proses fermentasi tepung ubi kayu mampu menghasilkan konsentrasi bioetanol 7,41 % (b/v) atau meningkat 19,56 % jika dibandingkan dengan proses fermentasi menggunakan monokultur *S. cerevisiae*. Pada produksi dengan menggunakan proses sakarifikasi fermentasi simultan mampu menghasilkan bioetanol dengan konsentrasi 5,32 % (b/v) (Bambang dan Arnata, 2010)

Untuk produksi bioetanol berbahan baku pati, penggunaan amilolitik yeast yang mampu memproduksi enzim-enzim hidrolase dalam proses likuifikasi dan sakarifikasi larutan pati untuk menghasilkan glukosa secara langsung memberikan salah satu alternatif produksi yang lebih murah jika dibandingkan dengan penggunaan enzim-enzim amilolitik komersial yang harganya sangat mahal. Ragi tape dapat menjadi alternatif starter amilolitik yang dapat dipergunakan dalam proses hidrolisis dan fermentasi untuk produksi bioetanol.

Ragi tape merupakan kultur starter kering yang terbuat dari campuran tepung beras, ramuan bumbu, air dan ekstrak gula tebu (Merican dan Queeland, 2004). Di Indonesia, Malaysia, Filipina dan Vietnam secara tradisional ragi tape sering dipergunakan dalam proses fermentasi pembuatan tape ubi, beras atau ketan (Kofli dan Dayaon, 2010). Ragi tape merupakan kultur kering yang terdiri dari konsorsium mikroba berupa yeast atau khamir, kapang (*Mucor*, *Rhizopus* dan *Amylomyces*) dan bakteri dengan jenis cocci (Kofli dan Dayaon, 2010). Merican dan Queeland (2004), melaporkan bahwa ragi tape mengandung sekitar 8×10^7 sel/g – 3×10^8 sel/g kapang, 3×10^6 - 3×10^7 sel/g yeast dan 10^3 sel/g bakteri. Kapang yang terdapat pada ragi tape merupakan jenis kapang yang diketahui mempunyai kemampuan untuk menghasilkan enzim-enzim amilolitik, seperti dilaporkan

oleh Rosita (2008) yang menyatakan bahwa *Rizhopus sp* mampu memproduksi enzim kasar amiloglucidase dengan aktivitas 470,02 U/ml dan enzim kasar α -amilase dengan aktivitas 385,14 U/ml. Selain mempunyai kemampuan amilolitik, penggunaan ragi tape dalam proses produksi juga mempunyai keuntungan harganya murah dan mudah didapatkan, sehingga memungkinkan untuk diaplikasikan dimasyarakat.

Adanya potensi amilolitik dari ragi tape memungkinkan dilakukan proses hidrolisis pati tanpa menggunakan enzim amilolitik komersial khususnya amiloglukosidase. Berkaitan dengan hal tersebut di atas, maka pengembangan teknik fermentasi secara ko-kultur dapat menjadi alternatif untuk memproduksi bioetanol dengan harapan dapat meningkatkan konsentrasi etanol yang dihasilkan jika dibandingkan dengan penggunaan teknik fermentasi monokultur. Dengan teknik ko-kultur ragi tape dan *S. cerevisiae*, mikroba-mikroba amilolitik yang terdapat pada ragi tape terlebih dahulu akan menghidrolisis pati menjadi glukosa dan glukosa yang terbentuk selanjutnya akan dimanfaatkan oleh *S. cerevisiae* untuk menghasilkan bioetanol. Dengan kata lain, kondisi yang diharapkan dengan teknik ko-kultur ini adalah adanya sinergisme antara konsorsium mikroba ragi tape dengan *S. cerevisiae* dalam menghidrolisis dan memfermentasi. Dengan adanya harapan terjadinya sinergisme ini, maka permasalahan yang muncul adalah bagaimana teknik kokultur (waktu pencampuran) yang tepat antara ragi tape dengan *S. cerevisiae* sehingga pati yang dipergunakan sebagai substrat pada tahap awal bisa terhidrolisis secara optimal, selanjutnya.

Waktu pencampuran merupakan salah satu faktor kritis yang mempengaruhi sinergisme konsorsium mikroba dalam teknik ko-kultur. Faktor tersebut berpengaruh langsung terhadap laju hidrolisis dan pertumbuhan mikroorganisme. Laju hidrolisis akan berpengaruh terhadap konsentrasi substrat (glukosa) yang dihasilkan oleh ragi tape, selanjutnya konsentrasi substrat akan mempengaruhi biosintesis glukosa menjadi etanol oleh *S. cerevisiae*. Konsentrasi substrat yang terlalu tinggi dapat menjadi faktor

penghambat kinerja enzim-enzim hidrolitik, penghambat pertumbuhan ragi dan bahkan dapat menyebabkan inaktifnya sel ragi. Sebaliknya, konsentrasi yang terlalu rendah menjadi faktor pembatas yang menyebabkan sel ragi kekurangan substrat untuk metabolisme pertumbuhan sel. Jika faktor diatas dapat dikendalikan, maka akan dapat meningkatkan produk yang dihasilkan. Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan alternatif teknologi bioproses pembuatan bioetanol dari ubi kayu dengan menggunakan teknik ko-kultur ragi tape dan *S. cerevisiae* yang menghasilkan konsentrasi etanol yang lebih tinggi dibandingkan dengan proses produksi tanpa ko-kultur.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan yang dipergunakan adalah ubi kayu, ragi tape (diperoleh di pasar komersial), *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763 (Laboratorium mikrobiologi IPB). Enzim yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah enzim α -amilase (Novozyme, Sigma) Bahan-bahan untuk propagasi mikroorganisme meliputi yeast ekstrak, malt, pepton, NPK dan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Bahan kimia yang dipergunakan adalah HCl, NaOH, glukosa standar, H_2SO_4 , asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS), Na-K Tatrak, fenol, Na-Metabisulfit, asam sitrat dan akuades. Alat-alat yang dipergunakan adalah water bath, pipet mikro, spektrofotometer, kromatografi gas (GC), destilator, timbangan analitik dan alat-alat gelas.

Rancangan Percobaan

Penelitian ini dirancang dengan menggunakan 7 taraf perlakuan teknik ko-kultur yaitu (P1) substrat difermentasi dengan kultur tunggal *S. cerevisiae* selama 3 hari, (P2) substrat difermentasi dengan kultur ragi tape selama 3 hari, (P3) substrat difermentasi dengan kultur ragi tape dan *S. cerevisiae* yang ditambahkan secara simultan selama 3 hari, (P4) substrat difermentasi dengan *S. cerevisiae* untuk 1 hari pertama dan diikuti dengan penambahan ragi tape untuk 2 hari berikutnya, (P5) substrat difermentasi dengan *S. cerevisiae* untuk 2 hari pertama dan diikuti dengan penambahan ragi tape untuk 1 hari berikutnya, (P6) substrat difermentasi

dengan ragi tape untuk 1 hari pertama dan diikuti dengan penambahan *S. cerevisiae* untuk 2 hari berikutnya, (P7) substrat difermentasi dengan ragi tape untuk 2 hari pertama dan diikuti dengan penambahan *S. cerevisiae* untuk 1 hari berikutnya. Dari perlakuan ini kemudian dilakukan pengulangan 2 kali sehingga terdapat empat belas (14) unit percobaan.

Tahapan Penelitian

1. Persiapan substrat

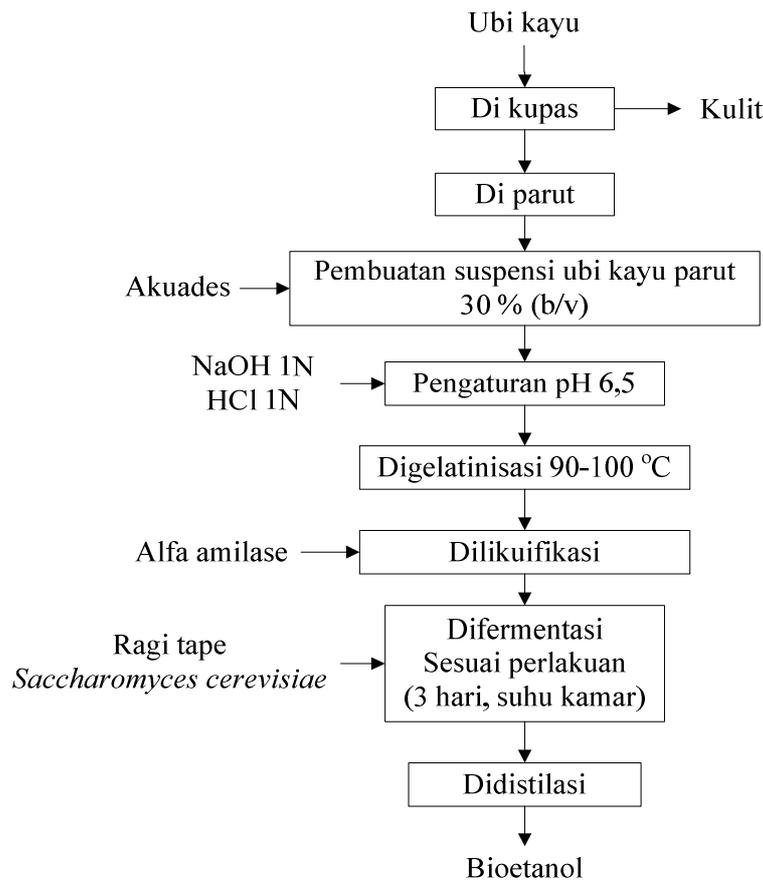
Ubi kayu dikupas dan dicuci sampai bersih kemudian diparut. Parutan ubi kayu kemudian dihidrolisis secara enzimatik. Suspensi ubi kayu dibuat dengan konsentrasi 30 % (b/v), pH diatur sampai 6,5 dengan menggunakan NaOH 1N. Enzim α -amilase (Thermamyl, NOVO) ditambahkan 1,2 ml/kg pati (150 Unit/mg protein). Larutan dipanaskan pada suhu 90-100 °C selama 1 jam. Selanjutnya hasil proses likuifikasi dianalisis konsentrasi gula reduksi dan total gulanya.

2. Persiapan kultur ragi tape dan *Saccharomyces cerevisiae*

Ragi tape dan isolat *S. cerevisiae* dengan konsentrasi masing-masing 5 % ditumbuhkan pada media yang terdiri dari glukosa 10 g/l, yeast ekstrak 1 g/l, KH_2PO_4 0,1 g/l, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,1 g/l dan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,1 g/l, di dalam erlenmeyer 200 ml. Inkubasi dilakukan pada *shacker* berkecepatan 125 rpm dengan suhu 30°C selama 24 jam sebelum diinokulasikan.

3. Proses fermentasi

Proses fermentasi menggunakan sistem *batch* pada gelas erlenmeyer 500 ml dengan volume substrat 250 ml. Erlenmeyer yang telah diisi substrat terlebih dahulu disterilisasi pada suhu 121 °C tekanan 1 atm selama 15 menit, setelah sterilisasi suhu diturunkan sampai 30 °C kemudian diinokulasi dengan inokulum sesuai perlakuan dalam rancangan percobaan. Jumlah inokulum yang ditambahkan kedalam substrat baik untuk ragi tape dan *S. cerevisiae* masing-masing 5 % (v/v) dan proses fermentasi dilakukan pada suhu ruang dengan pemberian agitasi 125 rpm. Bagan alir proses penelitian disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Diagram alir penelitian

Parameter Yang Diamati

Parameter yang diamati sebagai indikator kinerja proses produksi adalah perubahan pH selama proses fermentasi (pH-meter), perubahan konsentrasi total gula substrat selama fermentasi (metode Phenol H_2SO_4), konsentrasi etanol (*gas chromatography*) dan efisiensi fermentasi.

Analisis Data

Pada akhir proses fermentasi dilakukan pengambilan sampel untuk masing-masing perlakuan. Sampel kemudian dianalisis dan data yang diperoleh pada tahap fermentasi dianalisis rerata dan keragamannya. Data dan hasil analisis selanjutnya disajikan dalam bentuk tabel dan grafik. Pemilihan perlakuan terbaik didasarkan pada kadar etanol tertinggi yang dihasilkan dari alternative proses produksi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

pH Akhir Proses Fermentasi

Dari hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa adanya perbedaan perlakuan dalam teknik ko-kultur berpengaruh nyata terhadap pH akhir proses fermentasi ($P < 0,05$). Selama proses fermentasi terjadi penurunan pH awal substrat (5,0) pada seluruh perlakuan. Penurunan pH tertinggi terjadi pada perlakuan P2 yaitu pada proses fermentasi menggunakan kultur tunggal ragi tape dengan pH akhir $3,55 \pm 0,07$ dan perlakuan ini berbeda nyata dengan perlakuan yang lainnya. Penurunan pH awal terendah terjadi pada perlakuan P1 yaitu pada proses fermentasi menggunakan kultur tunggal *S. cerevisiae* dengan pH akhir $4,25 \pm 0,07$ dan perlakuan ini berbeda dengan perlakuan P2. Adanya perbedaan penurunan pH awal fermentasi menunjukkan bahwa selama proses fermentasi, selain terbentuk senyawa alkohol juga terbentuk senyawa-senyawa asam.

Terbentuknya senyawa asam dapat disebabkan oleh adanya oksigen dalam proses fermentasi, sehingga metabolisme mikroba berlangsung secara aerob. Suasana aerob sebenarnya tidak diharapkan dalam proses pembentukan bioetanol, karena substrat berupa glukosa yang seharusnya dikonversi menjadi etanol akan dikonversi lebih lanjut menjadi senyawa asam terutama asam-asam organik. Perubahan pH awal substrat selama proses fermentasi disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. pH akhir substrat dalam proses fermentasi

Perlakuan	pH Akhir		Rerata Ph Akhir *)
	1	2	
P1	4,3	4,2	4,25 a
P2	3,6	3,5	3,55 b
P3	4,3	4	4,15 a
P4	4	4,3	4,15 a
P5	4,1	4	4,05 a
P6	4,2	3,9	4,05 a
P7	4	3,9	3,95 a

*) Huruf yang sama dibelakang nilai rerata menunjukkan perlakuan tidak berbeda nyata

($P > 0,05$)

Perubahan Konsentrasi Total Gula

Selama proses fermentasi juga terjadi penurunan konsentrasi total gula awal. Penurunan konsentrasi total gula awal tertinggi dihasilkan dari perlakuan P6 yaitu proses fermentasi menggunakan ragi tape pada hari pertama yang diikuti dengan penambahan *S. cerevisiae* untuk dua hari berikutnya. Penurunan terjadi dari konsentrasi $49,23 \pm 1,58\%$ (b/v) menjadi $8,41 \pm 0,95\%$ (b/v). Ini menunjukkan bahwa dengan menggunakan perlakuan P6, sekitar 82,92% substrat telah dikonsumsi oleh mikroba selama proses fermentasi. Penurunan konsentrasi total gula terendah dihasilkan dari perlakuan P1 yaitu proses fermentasi menggunakan yang hanya menggunakan *S. cerevisiae*. Pada perlakuan ini, penurunan konsentrasi total gula awal terjadi dari $49,23 \pm 1,58\%$ (b/v) menjadi $16,63 \pm 1,19\%$ (b/v) atau dapat dikatakan sekitar 66,23% substrat telah dikonsumsi selama proses fermentasi. Penurunan konsentrasi total gula awal dan persentase konsumsi substrat selama proses fermentasi disajikan pada Table2 dan Tabel 3.

Tabel 2. Perubahan konsentrasi total gula awal selama proses fermentasi

Perlakuan	Konsentrasi awal % (b/v)	Konsentrasi Akhir % (b/v)		Rerata Kons. akhir
		1	2	
P1	49,23	17,46	15,79	16,63
P2	49,23	10,76	12,77	11,76
P3	49,23	14,78	15,79	15,28
P4	49,23	11,09	9,41	10,25
P5	49,23	12,43	13,10	12,77
P6	49,23	9,08	7,74	8,41
P7	49,23	15,12	13,44	14,28

Tabel 3. Persentase konsumsi substrat selama proses fermentasi

Perlakuan	Persentase Konsumsi substrat (%)		Rerata *)
	1	2	
P1	64,53	67,93	66,23 e
P2	78,15	74,06	76,11 bc
P3	69,98	67,93	68,95 de
P4	77,47	80,88	79,17 ab
P5	74,75	73,38	74,06 bcd
P6	81,56	84,28	82,92 a
P7	69,30	72,70	71,00 cde

*) huruf yang sama dibelakang nilai rerata menunjukkan perlakuan tidak berbeda nyata ($P>0,05$)

Tabel 4. Konsentrasi etanol selama proses fermentasi

Perlakuan	Konsentrasi etanol (% b/v)		Rerata *)
	1	2	
P1	4.91	3.48	4.20 c
P2	2.88	3.25	3.07 c
P3	10.27	10.42	10.34 ab
P4	11.13	8.26	9.69 ab
P5	10.13	9.16	9.65 ab
P6	12.27	9.73	11.00 a
P7	7.015	7.90	7.46 b

*) Huruf yang sama dibelakang nilai rerata menunjukkan perlakuan tidak berbeda nyata ($P>0,05$)

Tabel 5. Efisiensi Fermentasi selama proses fermentasi

Perlakuan	Konsentrasi etanol (% b/v)		Rerata *)
	1	2	
P1	30.33	20.43	25.38 c
P2	14.69	17.48	16.08 c
P3	58.44	61.11	59.77 ab
P4	57.21	40.66	48.94 ab
P5	53.98	49.74	51.86 ab
P6	59.92	45.96	52.94 a
P7	40.32	43.28	41.80 b

*) Huruf yang sama dibelakang nilai rerata menunjukkan perlakuan tidak berbeda nyata ($P>0,05$)

Konsentrasi Etanol

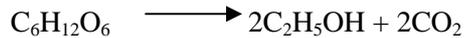
Selama proses fermentasi terjadi proses biokonversi glukosa menjadi etanol. Tinggi rendahnya konsentrasi etanol yang dihasilkan dalam proses fermentasi dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti pH, tinggi rendahnya konsentrasi glukosa sebagai substrat, konsentrasi kultur starter dan suhu fermentasi. Pada penelitian ini dicoba mengembangkan teknik ko-kultur dalam proses fermentasinya untuk menghasilkan etanol, dan dari hasil analisis menunjukkan bahwa adanya perbedaan perlakuan dalam teknik ko-kultur berpengaruh sangat nyata terhadap konsentrasi etanol yang dihasilkan ($P<0.01$). Konsentrasi etanol yang dihasilkan selama proses fermentasi disajikan pada Tabel 4.

Dari Tabel 4 terlihat bahwa konsentrasi etanol tertinggi 11,0 % (b/v) dihasilkan dari perlakuan P6 yaitu perlakuan

fermentasi dengan pemberian ragi tape untuk satu hari pertama dan dilanjutkan dengan pemberian kultur *S. cerevisiae* untuk dua hari berikutnya. Perlakuan ini berbeda nyata dengan perlakuan P1, P2 dan P7, namun tidak berbeda nyata dengan perlakuan P3, P4, dan P5. Perlakuan P1 dan P2 merupakan proses fermentasi dengan menggunakan kultur tunggal, dan jika dibandingkan dengan proses fermentasi menggunakan kultur campuran, terlihat bahwa penggunaan kultur campuran baik yang dicampurkan secara simultan (P3) maupun bertahap (P4, P5, P6, P7) memberikan hasil konsentrasi etanol yang lebih tinggi dibandingkan dengan menggunakan kultur tunggal. Adanya konsentrasi perbedaan ini, menunjukkan bahwa antara ragi tape dan *S. cerevisiae* mampu bersinergi untuk menghasilkan etanol dengan konsentrasi yang lebih tinggi.

Efisiensi Fermentasi

Efisiensi fermentasi merupakan persentase konsentrasi etanol hasil produksi terhadap konsentrasi etanol secara teoritis. Konsentrasi etanol teoritis merupakan konsentrasi etanol yang diperoleh berdasarkan persamaan reaksi berikut:



Secara teoritis 100 % glukosa diubah menjadi 51,1 % etanol dan 48,9 % menjadi CO₂ (Rudolf *et al.*, 2005). Dari hasil analisis menunjukkan bahwa adanya perbedaan perlakuan dalam teknik ko kultur berpengaruh sangat nyata terhadap efisiensi fermentasi ($P < 0.01$). Efisiensi fermentasi tertinggi sebesar 52,94 % diperoleh dari perlakuan P6 yaitu perlakuan fermentasi dengan pemberian ragi tape untuk satu hari pertama dan dilanjutkan dengan pemberian kultur *S. cerevisiae* untuk dua hari berikutnya. Perlakuan ini berbeda nyata dengan perlakuan P1, P2 dan P7, namun tidak berbeda nyata dengan perlakuan P3, P4, dan P5.

Adanya perbedaan antar perlakuan ini menunjukkan bahwa secara umum dengan menggunakan teknik kultur campuran ragi tape dan *S. cerevisiae* pada proses fermentasi dapat meningkatkan efisiensi fermentasi jika dibandingkan dengan penggunaan kultur tunggal baik dengan ragi tape maupun *S. cerevisiae*. Secara umum juga dapat dilihat bahwa teknik pencampuran dalam ko-kultur berpengaruh secara nyata terhadap efisiensi fermentasi. Ini terlihat dari adanya perbedaan antara perlakuan P4, P5, P6 dengan perlakuan P7. Efisiensi fermentasi selama proses fermentasi disajikan pada Tabel 5.

Efisiensi fermentasi 52,94 % menunjukkan bahwa hanya 52,94% dari glukosa yang dikonsumsi oleh kultur ragi tape dan *S. cerevisiae* dimanfaatkan untuk pembentukan etanol, sedangkan sisanya 47,06% dimanfaatkan untuk proses lain, seperti untuk mempertahankan metabolisme sel, untuk pembentukan biomassa atau asam piruvat yang terbentuk pada proses glikolisis belum mampu sepenuhnya dirubah menjadi etanol oleh *S. cerevisiae*, tetapi dapat membentuk senyawa-senyawa asam organik.

Senyawa asam-asam organik dapat berupa asam asetat, laktat dan asam piruvat (Arnata, 2009).

KESIMPULAN DAN SARAN

Penggunaan teknik kokultur dalam proses fermentasi untuk memproduksi bioetanol memberikan hasil yang lebih baik daripada penggunaan kultur tunggal ragi tape maupun kultur musni *S. cerevisiae*. Teknik kokultur yang memberikan hasil terbaik adalah perlakuan proses fermentasi dengan pemberian ragi tape untuk satu hari pertama dan dilanjutkan dengan pemberian kultur *S. cerevisiae* untuk dua hari berikutnya. Perlakuan ini mempunyai pH akhir 4.05, persentase konsumsi substrat atau glukosa sebesar 82,92 %, menghasilkan etanol dengan konsentrasi 11,0 % (b/v) dan efisiensi fermentasi 52,94%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Udayana yang telah memberikan pendanaan terhadap penelitian ini melalui anggaran (DIPA) BLU Universitas Udayana dengan surat perjanjian pelaksanaan penelitian nomor : 25.27/un.14/lppm/kontrak/2012 tanggal: 16 mei 2012

DAFTAR PUSTAKA

- Apriyantono, A., D. Fardiaz, N.L. Puspitasari, Sedarnawati dan S. Budiyanto, 1989. Petunjuk Laboratorium Analisis Pangan. PAU Pangan dan Gizi IPB, Bogor.
- Arnata I W., Dwi S., Richana N. 2009. Bioprocess Technology to Produce Bioethanol from Cassava by Co-Culture *Trichoderma viride*, *Aspergillus niger* and *Saccharomyces cerevisiae*. Prossiding. International Conferece on Biotechnology for Sustainable Future
- Balagopalan C, Padmaja G, nanda SK, Moorthy SN. 1988. *Cassava in Food*,

- Feed and Industry*. CRC Press, Inc, Florida.
- Bambang A. H., I W. Arnata. 2010. Upaya meningkatkan Produksi Bioetanol dari Ubi Jalar (*Ipomea batatas* L) Melalui Proses Likuifikasi dan Sakarifikasi Fermentasi Simultan (SFS). Laporan Penelitian Hibah Unggulan Udayana.
- Budiyanto A, Martosuyono P, Richana N. 2005. Optimasi Proses Produksi Tepung Kasava Dari Pati Ubi Kayu Skala Laboratorium. Buletin Balai Besar Pascapanen, 1-16.
- Boyles D. 1984. *Bio-Energy, Thermodynamics and Cost*. Ellis Horwood Limited, West Sussex.
- Campbell IM. 1983. *Biomass, Catalyst and Liquid Fuels*. Technomic Publishing Co. Inc, Pennsylvania.
- Depatemen Energi dan Sumberdaya Mineral. 2007. Target dan Tahapan Penggunaan Biofuel di Indonesia. Dalam: Agro Observer “ *Agribusiness Review and Reference*. No. 5
- Departemen Pertanian. 2008. Statistik Tanaman Pangan (Ubi Kayu). www.Deptan.go.id. [27 Februari 2009].
- Djien K. S. 1972. Tape Fermentation. *Applied Microbiol.*, 23:976-978.
- Hambali E, Mudjadlipah S, Tambunan AH, Pattiwiri AW, Hendroko R. 2007. *Teknologi Bioenergi*. Agromedia Pustaka, Jakarta.
- Harrison JS, Graham JGJ. 1970. *Yeast in Destilery Practice*. Academic Press, New York.
- Kay DE. 1979. *Root Crops. The Tropical Product Institute*, London.
- Kunkee K D, C J Mardon. 1970. *Yeast Wine Making*. Academic Press, London.
- Kofli N T, Dayaon S H M. 2010. Identification Of Microorganism From Ragi For Bioethanol Production by API Kit. *J. Applied Science* 10 (21):2751-2753.
- Merican Z, Queeland Y. 2004. *Tapi Processing In Malaysia: A Technology In Transition*. Industrialization Of Indigeneous Fermented Foods, pp. 247-270. Marcel Dekker Inc., New York
- Muchtadi D, Palupi NS, Astawan M. 1992. *Enzim dalam Industri Pangan*. PAU-Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Nurdyastuti I. 2005. Teknologi Proses Produksi Bio-Ethanol. Prospek Pengembangan Bio-Fuel Sebagai Substitusi Bahan Bakar Minyak.
- Oura E. 1983. *Reaction Product of Yeast Fermentations*. Di dalam H. Dellweg (ed.). *Biotechnology Volume III*. Academic Press, New York.
- Pelezar M, Chan ECS. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Terjemahan R S Hadioetomo, T Imas, S S Tjitrosomo, S L Angka. UI-Press, Jakarta.
- Prescott JM, Dunn CG. 1981. *Industrial Microbiology*. McGraw-Hill Book Co. Ltd., New York.
- Ratledge C. 1991. Yeast Physiology-Micro-Synopsis. *J Bioprocess Engineering* 6:195-203.
- Rodmui A, Jirasak K, Yuwapin D. 2008. Optimization of Agitation Conditions for Maximum Ethanol Production by Coculture. *Kasetsart J. (Nat. Sci.)* 42 : 285 – 293
- Rudolf A, malek A, Guido Z, Gunnar L. 2005. A Comparisson Between Batch And Fed Bacth Simultaneous Saccharification And Fermentation Of Steam Pretreated Spruce. *J. Enzyme and Microbial Technology* 37 : 195-204.
- Rosita. 2008. Produksi Etanol dari Onggok Menggunakan Ekstrak Kasar Enzim Alfa amilase, Glukoamilase dan *Saccharomyces cerevisiae*. Tesis. Program Studi Magister Bioteknologi SITH.
- Syarief R, Irawati A. 1988. *Pengetahuan Bahan untuk Industri Pertanian*. Mediyatama Sarana Perkasa, Jakarta.
- Taherzadeh MJ, Karimi K. 2007. Enzyme-Based Hydrolysis Process for Ethanol from Lignocellulosic Material. Review: *J BioResources* 2 (4) : 707-738.
- Waluyo L. 2004. *Mikrobiologi Umum*. UMM Press, Malang.