

PENGARUH *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* TERHADAP KADAR ETANOL DARI KULIT NANAS SECARA FERMENTASI

THE EFFECT OF SACCHAROMYCES CEREVISIAE ON ETHANOL LEVELS FROM FERMENTATION OF PINEAPPLE PEEL

Rifdah¹⁾, Ummi Kalsum²⁾, Intan Seprina Anugrah³⁾

^{1,2,3)}Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Muhammadiyah Palembang, Palembang, Indonesia
Corresponding Author E-mail: rifdah147@gmail.com, ummikalsum1207@gmail.com dan intananugrah307@gmail.com

Abstract: Indonesia as a country rich in natural resources has ample opportunity for the development of ethanol to replace fewer fossil energy sources. Currently, bioethanol has begun to be produced from various raw materials such as bagasse, cassava, potatoes and so on. The government has also strengthened the development of bioethanol with Presidential Regulation of the Republic of Indonesia Number 5 of 2006 concerning National Energy Policy to develop alternative energy sources as a substitute for fuel. Bioethanol can be produced through a fermentation process from plants that produce carbohydrates and sugar. One of the raw materials that can be used for the manufacture of bioethanol is pineapple peel. This research was knowing the effect of *Saccharomyces cerevisiae* on the ethanol content. In this study, the stages of fermentation for 7 days and 14 days, distillation to obtain ethanol at temperature of 80°C for 60 minutes and hydrolisis with 75% sulfuric acid as much as 14 ml at 120°C and heating time for 45 minutes. Pineapple peel extract was divided into 200 ml Erlenmyer flasks each given *Saccharomyces cerevisiae* as much as 4 grams, 8 grams, 10 grams, 11 grams and 12 grams. From the research, it was found that 10 grams of *Saccharomyces cerevisiae* with 7 days of fermentation had the highest ethanol content of the other variations, which was 3.7778%.

Keywords: Pineapple Peel, *Saccharomyces cerevisiae*, Fermentation, Ethanol, Distillation.

Abstrak: Indonesia sebagai negara yang kaya dengan sumber daya alam memiliki kesempatan yang luas untuk pengembangan etanol untuk menggantikan sumber energi fosil yang semakin sedikit. Saat ini sudah mulai diproduksi bioethanol dari berbagai bahan baku seperti ampas tebu, singkong, kentang dan sebagainya. Pemerintah juga sudah memperkuat pengembangan bioethanol ini dengan Peraturan Presiden Republik Indonesia Nomor 5 Tahun 2006 tentang Kebijakan Energi Nasional untuk mengembangkan sumber energi alternatif sebagai pengganti BBM. Bioetanol dapat diproduksi melalui proses fermentasi dari tanaman penghasil karbohidrat dan gula. Salah satu bahan baku yang dapat digunakan untuk pembuatan bioetanol ini adalah kulit nanas. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh *Saccharomyces cerevisiae* terhadap kadar etanol. Pada penelitian ini menggunakan tahapan fermentasi selama 7 hari dan 14 hari, distilasi untuk mendapatkan etanol dengan suhu 80°C selama 60 menit serta hidrolisis dengan asam sulfat 75% sebanyak 14 ml suhu 120°C dan lama pemanasan selama 45 menit. Ekstrak kulit nanas dibagi pada labu erlenmyer masing-masing 200ml diberi *Saccharomyces cerevisiae* sebanyak 4 gram, 8 gram, 10 gram, 11gram dan 12gram. Dari penelitian didapatkan 10gram *Saccharomyces cerevisiae* lama fermentasi 7 hari memiliki kadar etanol paling tinggi dari variasi yang lain, yaitu sebesar 3,7778%.

Kata kunci: Kulit Nanas, *Saccharomyces cerevisiae*, Fermentasi, Etanol, Distilasi.

1. PENDAHULUAN

Indonesia sebagai negara yang kaya dengan sumber daya alam memiliki kesempatan yang luas untuk pengembangan etanol untuk menggantikan sumber energi fosil yang semakin sedikit. Saat ini sudah mulai diproduksi bioethanol dari berbagai bahan baku seperti ampas tebu, singkong, kentang dan sebagainya. Pemerintah juga sudah memperkuat pengembangan bioethanol ini dengan Peraturan Presiden Republik Indonesia Nomor 5 Tahun 2006 tentang

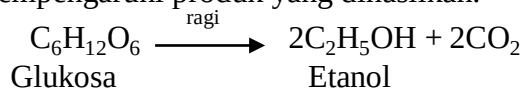
Kebijakan Energi Nasional untuk mengembangkan sumber energy alternatif sebagai pengganti BBM (Warsa, 2013). Tingginya ketergantungan terhadap bahan bakar fosil terutama minyak bumi (sekitar 47%), batubara (27%) dan gas alam (20%) mengakibatkan ketersediaan bahan bakar fosil semakin menipis. Sumberdaya fosil merupakan sumber daya alam yang tidak dapat diperbaharui dan lamakelamaan akan habis apabila di eksplorasi secara terus menerus. Sehingga diperlukan adanya pengembangan

energy terbarukan seperti produktivitas etanol Poernomo, (2014). Menurut Andayana, (2014) masalah yang sering dihadapi pada industri kimia adalah pemanfaatan bahan tidak berguna yang murah menjadi bahan-bahan yang lebih berguna dan bernilai tinggi. Sumber energi alternatif yang cukup potensial adalah bioetanol. Bioetanol merupakan etanol yang dihasilkan dari fermentasi glukosa (gula) yang dilanjutkan dengan proses distilasi. Proses distilasi dapat menghasilkan etanol dengan kadar 95% volume, untuk digunakan sebagai bahan bakar (*biofuel*) perlu lebih dimurnikan lagi hingga mencapai 99% yang lazim disebut *Fuel Grade Ethanol* (FGE). Proses pemurnian dengan prinsip dehidrasi umumnya dilakukan dengan metode *Molecular Sieve*, untuk memisahkan air dari senyawa etanol (Musnif, 2012).

Bioetanol dapat diproduksi melalui proses fermentasi dari tanaman penghasil karbohidrat dan gula. Salah satu bahan baku yang dapat digunakan untuk pembuatan bioetanol ini adalah kulit nanas. Kulit nanas mengandung 81,72% air, 17,53% karbohidrat, 4,41% protein, 13,65% gula pereduksi, dan 20,87% serat kasar. (Wijana, 1991). Kulit nanas mengandung 81,72 % air, 20,87 % serat kasar, 17,53 % karbohidrat, 4,41 % protein dan 13,65 % gula reduksi. Mengingat kandungan karbohidrat dan gula yang cukup tinggi tersebut, maka kulit nanas memungkinkan untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku bioetanol (Setyawati, 2012).

2. TEORI DASAR

Ada banyak metode yang digunakan dalam pembuatan bioethanol dari kulit nanas ini. Namun yang paling sering digunakan, yaitu dengan metode fermentasi dengan menggunakan ragi. Dalam proses ini juga terdapat beberapa faktor yang menjadi penentu besarnya konsentrasi etanol yang dihasilkan. Mulai dari metode, jenis ragi, banyaknya penambahan ragi sampai jangka waktu melakukan fermentasi akan sangat mempengaruhi produk yang dihasilkan.



2.1 Bioethanol

Bioetanol (*bioethanol*) merupakan etanol (etil alkohol) yang proses produksinya menggunakan bahan baku alami dan proses biologis, berbeda dengan etanol sintetik yang diperoleh dari sintesis kimiawi senyawa hidrokarbon. Etanol yang digunakan sebagai bahan bakar kendaraan memiliki struktur kimia yang persis sama dengan etanol yang ditemukan pada minuman keras. Etanol yang digunakan untuk bahan bakar disebut dengan *Fuel Grade Ethanol* (FGE) dengan tingkat kemurnian 99,5%.

Bahan baku yang digunakan untuk produksi bioetanol terbagi menjadi:

1. Gula (*glucose*) dengan rumus kimia $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$, berbeda dengan pengertian gula sehari-hari yang mengandung sukrosa, laktosa dan fruktosa. Gula dapat diperoleh dari tebu (*sugarcane*) melalui hasil sampingan produksinya berupa tetes (*molasses*). Sebagai bahan baku bioetanol, glukosa dapat langsung digunakan dalam proses peragian.
2. Pati (*strach*) banyak ditemukan pada jagung, singkong, sagu dan beragam makanan pokok manusia yang mengandung karbohidrat. Rumus kimia dari pati adalah $(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_n$ dengan jumlah n antara 40–3.000. Sebagai bahan baku bioetanol, pati membutuhkan proses untuk memecah ikatan kimianya menjadi glukosa. Proses yang umum dilakukan adalah dengan penambahan enzim *amylase* untuk menghidrolisis menjadi glukosa. Penggunaan bahan pati sebagai bahan baku bioetanol secara umum akan bersaing dengan cadangan pangan bagi manusia, yang pada akhirnya akan meningkatkan harga bahan pangan.
3. Selulosa (*cellulose*) merupakan polisakarida dengan rumus kimia $(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_n$, dengan jumlah ribuan hingga lebih dari puluhan ribu, yang membentuk dinding tanaman dan kayu. Selulosa merupakan senyawa organik yang paling banyak jumlahnya di muka bumi. Sekitar 1/3 komposisi tanaman adalah selulosa yang tidak tercerna oleh manusia. Karena tidak bersaing dengan

bahan pangan, maka selulosa diperkirakan akan mendominasi bahan baku bioetanol di masa mendatang. Sebagai bahan baku bioetanol, selulosa membutuhkan pengolahan awal yang lebih intensif dibandingkan dengan bahan baku lain. Konsumsi bioethanol dalam negeri rata-rata setiap tahunnya 100.000.000 liter. (Indra Purnomo,20-03-2020).

Produksi ethanol / bioethanol (alkohol) dengan bahan baku tanaman yang mengandung pati atau karbohidrat, dilakukan melalui proses konversi karbohidrat menjadi gula (glukosa) larut air. Konversi bahan baku tanaman yang mengandung pati atau karbohidrat dan tetes menjadi bioethanol. Glukosa dapat dibuat dari pati-patian, proses pembuatannya dapat dibedakan berdasarkan zat pembantu yang dipergunakan, yaitu hidrolisa asam dan atau hidrolisa enzim. Berdasarkan kedua jenis hidrolisa tersebut. Saat ini hidrolisa enzim lebih banyak dikembangkan, sedangkan hidrolisa asam (misalnya dengan asam sulfat) kurang dapat berkembang, sehingga proses pembuatan glukosa dari bahan berpati sekarang ini menggunakan hidrolisa enzim. Konversi bahan baku tanaman yang mengandung pati.

Proses fermentasi menghasilkan alkohol dengan kadar maksimal hanya 7-9% (15% jika menggunakan *strain* ragi yang paling tahan alkohol). Untuk meningkatkan kadar etanol hingga mencapai *Fuel Grade Ethanol (FGE)* 99,5% dibutuhkan proses penyulingan (*destillation*) dan dehidrasi (*dehydration*). Proses penyulingan akan menghasilkan etanol dengan kadar maksimum 95,6% dan tidak bisa ditingkatkan lagi karena sifat *azeotrope* larutan etanol-air.

Etanol > 99,5%, digunakan untuk bahan bakar. Jika dimurnikan lebih lanjut dapat digunakan untuk keperluan farmasi dan pelarut di laboratorium analisis. Etanol ini disebut dengan *Fuel Grade Ethanol (FGE)* atau *anhydrous ethanol* (etanol anhidrat) atau etanol kering, yakni etanol yang bebas 5 air atau hanya mengandung air minimal (Prihandana, 2007). Berikut ini

merupakan tabel sifat-fisik dari etanol berdasarkan SNI 06-3565- 1994:

Tabel 2.1 Sifat Fisik Dari Etanol Berdasarkan SNI 06-3565-1994

Parameter	Ethanol
Rumus Kimia	C ₂ H ₅ OH
Berat Molekul (g/mol)	46
Densitas (g/ml)	0,7851
Titik Didih (°C)	78,4
Titik Nyala (°C)	13
Titik Beku (°C)	-112,4
Indeks Bias	1,3633
Panas Evaporasi (cal/g)	204
Viscositas pada 20°C (poise)	0,0122

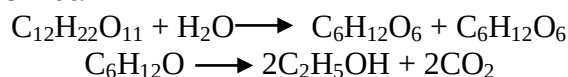
Sumber : SNI 06-3565-1994

Etanol atau alcohol dimanfaatkan untuk berbagai keperluan, antara lain: bahan baku industri atau senyawa kimia, misalnya industri minuman beralkohol, industri asam asetat dan asetaldehid; pelarut dalam industri, misalnya industri farmasi, kosmetika dan plastik; bahan desinfektan, misalnya peralatan kedokteran, rumah tangga dan peralatan di rumah sakit; dan bioetanol sebagai energi alternatif untuk kendaraan bermotor.

Persyaratan bahan dasar pembuatan etanol di antaranya adalah:

1. mengandung sukrosa (*sucrose*), umumnya dipakai *molasse* (tetes) dari gula tebu,
2. mengandung pati (*amylum*) dan juga dapat berasal dari padi padian atau tumbuh tumbuhan, dan
3. dapat berasal dari gas hidrokarbon dan juga dari bahan yang mengandung selulosa (*cellulose*) serta bahan-bahan sisa dari hasil pertanian.

Reaksi kimia pembentukan etanol dari sukrosa dengan cara fermentasi sebagai berikut:



Salah satu faktor yang dapat mempengaruhi jumlah etanol adalah proses fermentasi mikroorganisme dan media yang digunakan. Fermentasi adalah perubahan suatu bahan ke bahan lain dengan pertolongan mikroorganisme. Mikroorganisme ini berupa tumbuhan yang tidak mempunyai *chlorophyl*, yaitu bakteri *yeast* dan *mold*. Mikroorganisme

ini memakan bahan organik. Oleh karena itu, makanan merupakan faktor yang penting dalam proses fermentasi dan karena perubahan suatu zat tertentu (nutrisi), maka mikroorganisme dapat tumbuh dan berkembang biak dan mengubah bahan makanan itu menjadi bahan yang lain. Fermentasi juga merupakan suatu reaksi oksidasi atau reaksi dalam sistem biologi yang menghasilkan energi dimana donor dan aseptor adalah senyawa organik. Senyawa organik yang biasa digunakan adalah zat gula. Senyawa tersebut akan diubah oleh reaksi reduksi dengan katalis enzim menjadi senyawa lain.

2.2 Kulit Nanas

Buah nanas (*Ananas comosus L. Merr*) merupakan salah satu jenis buah yang terdapat di Indonesia, mempunyai penyebaran yang merata. Selain dikonsumsi sebagai buah segar, nanas juga banyak digunakan sebagai bahan baku industri pertanian.

Dari berbagai macam pengolahan nanas seperti selai, manisan, sirup, dan lain-lain, maka akan didapatkan kulit yang cukup banyak sebagai hasil sampingan. Secara ekonomi kulit nanas masih bermanfaat untuk diolah menjadi pupuk. Berdasarkan kandungan nutriennya, ternyata kulit buah nanas mengandung karbohidrat dan gula yang cukup tinggi. Menurut Wijana, dkk. (1991) kulit nanas mengandung 81,72 % air, 20,87 % serat kasar, 17,53 % karbohidrat, 4,41 % protein, 0,02 % lemak, 0,48 % abu, 1,66 % serat basah, dan 13,65 % gula reduksi. Selain itu, buah nanas juga mengandung asam *chlorogen*, yaitu antioksidan kemudian *cytine* yang berguna untuk pembentukan kulit dan rambut, lalu zat asam amino esensial yang dibutuhkan oleh tubuh untuk mempercepat pertumbuhan dan memperbaiki jaringan otot. Kulit nanas mengandung enzim bromelin sebanyak 0,050-0,0754 %, Murniati (2010).

Bromelin dikenal secara kimia sejak tahun 1876 dan mulai diperkenalkan sebagai bahan terapeutik saat ditemukan konsentrasinya yang tinggi pada bonggol nanas tahun 1957. Bromelin, yang didapatkan dari ekstrak mentah tanaman nanas (*Ananas*

comosus L.), mengandung beberapa jenis proteinase, Naritasari, dkk. (2010). Enzim bromelin merupakan enzim proteolitik yang memiliki kemampuan untuk mengkatalisis reaksi hidrolisis dari protein. Enzim bromelin bisa digunakan sebagai efek antibakteri yang menekan pertumbuhan bakteri secara bakteriosida maupun bakteriostatik. Cara kerja bromelin sebagai antiseptik, yaitu dengan menurunkan tegangan permukaan bakteri dengan menghidrolisis protein dari saliva dan glikoprotein menjadi mediator bakteri untuk melekat dipermukaan gigi, Rakhmanda, (2008). Bromelin juga memiliki efek anti inflamasi telah lama digunakan di Central dan South America untuk meningkatkan penyembuhan luka, mengobati pembengkakan dan mengurangi peradangan setelah operasi, Khosropanah, dkk., (2012). Kegunaan lain dari enzim bromelin adalah memperlancar pencernaan protein, menyembuhkan artritis, sembelit, infeksi saluran pernafasan, angina, dan trauma (Wuryanti, 2006). Bromelin telah terbukti menunjukkan berbagai aktivitas fibrinolitik, antiedematous, antitrombotik, dan kegiatan anti-inflamasi baik in vitro dan in vivo. Bromelin juga mempunyai sifat antiadhesi yang dapat mencegah bakteri mengikuti reseptor glikoprotein spesifik yang salah satunya ada pada mukosa usus. Oleh karena itu, bromelin dimungkinkan dapat mencegah menempelnya bakteri, sehingga mengarahkan aksi anti bakteri (Nc. Praveen, dkk., 2014). Saat ini banyak industri yang memanfaatkan limbah untuk pembuatan produk baru yang bermanfaat bagi makhluk hidup lainnya seperti kulit buah nanas yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan bioetanol, dimana dengan memanfaatkan kulit buah nanas dapat mengurangi pencemaran terhadap lingkungan (Harahap, 2014).

2.3 *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae adalah genus dalam kerajaan jamur yang mencakup banyak jenis ragi. *Saccharomyces* berasal dari bahasa Latin yang berarti gula jamur. Banyak anggota dari genus ini dianggap sangat penting

dalam produksi makanan. Salah satu contoh adalah *Saccharomyces cerevisiae*, yang digunakan dalam pembuatan anggur, roti, dan bir. Anggota lain dari genus ini termasuk *Saccharomyces bayanus*, digunakan dalam pembuatan anggur, dan *Saccharomyces boulardi*, digunakan dalam obat-obatan. Koloni dari *Saccharomyces* tumbuh pesat dan jatuh tempo dalam 3 hari. Mereka rata, mulus, basah, *glistening* atau kuyu, dan *cream* untuk *cream tannish* dalam warna. Ketidakmampuan untuk memanfaatkan nitrat dan kemampuan untuk berbagai memfermentasi karbohidrat adalah karakteristik khas dari *Saccharomyces*.

Fase pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae*:

a. Fase adaptasi (*lag phase*)

Pada fase ini sebagian besar *S. cerevisiae* terlebih dahulu menyesuaikan diri (adaptasi) dengan lingkungan barunya dan belum mengadakan.

b. Perbanyakan sel

Pada fase ini mikroba merombak substrat menjadi nutrisi untuk pertumbuhannya. Jika ditemukan senyawa kompleks yang tidak dikenalnya, mikroba akan memproduksi enzim untuk merombak senyawa tersebut (Casselman, 2005). *S. cerevisiae* termasuk ragi yang mudah beradaptasi, ditunjukkan dengan singkatnya waktu yang dibutuhkan untuk beradaptasi, yaitu selama 1 jam 40 menit.

c. Fase percepatan (*acceleration phase*)

Pada fase ini mulai terjadi peningkatan jumlah sel dalam waktu singkat (*rapid growth*). Waktu percepatan yang dibutuhkan selama 20 menit.

d. Fase eksponensial/pertumbuhan (*log phase*)

Pada fase ini *S. Cerevisiae* telah dapat menyesuaikan diri dengan lingkungannya. Pembelahan sel telah dapat menyesuaikan diri dengan lingkungannya. Pembelahan sel terjadi sangat cepat secara eksponensial. Dalam kondisi kultur yang optimum, sel mengalami reaksi metabolisme yang maksimum. Fase eksponensial ini berlangsung selama 2 jam. Hal ini menunjukkan bahwa kultur telah berada dalam kondisi aktif dan proses

aktivasi yang dilakukan sebelumnya berjalan dengan baik.

e. Fase penurunan (*deceleration phase*)

Pada fase ini laju pertumbuhan mengalami perlambatan. Fase ini berlangsung selama 20 menit.

f. Fase penetapan/konstan (*stasioner phase*)

Selama fase ini kecepatan pertumbuhan adalah nol. Meskipun demikian, tidak berarti terjadi pertumbuhan sel.

2.4 Fermentasi

Fermentasi adalah proses produksi energi dalam sel, dalam keadaan anaerobik (tanpa oksigen). Secara umum, fermentasi adalah salah satu bentuk respirasi anaerobik, akan tetapi, terdapat definisi yang lebih jelas yang mendefinisikan fermentasi sebagai respirasi dalam lingkungan anaerobik dengan tanpa akseptor elektron eksternal. Gula adalah bahan yang umum dalam fermentasi. Beberapa contoh hasil fermentasi adalah etanol, asam laktat, dan hidrogen. Perubahan yang terjadi selama proses fermentasi adalah glukosa menjadi bioetanol oleh sel ragi tape dan ragi roti. Mikroba yang umumnya terlibat dalam fermentasi pangan adalah bakteri, khamir dan kapang. Prinsip dasar fermentasi adalah mengaktifkan aktivitas mikroba tertentu agar dapat merubah sifat bahan sehingga dihasilkan produk fermentasi yang bermanfaat. Beberapa faktor yang mempengaruhi fermentasi antara lain mikroorganisme, substrat (medium), pH (keasaman), suhu, oksigen, dan aktivitas air (Afrianti, 2013)

Jenis-jenis fermentasi:

1. Fermentasi alkohol

Etanol merupakan salah satu produk hasil fermentasi dari bahan yang mengandung gula sederhana, pati, atau bahan berserat lainnya. Bioproses etanol dapat diawali dengan pemecahan gula atau pati menjadi bentuk sederhana yang berlangsung dengan hidrolisis atau reaksi enzimatis (Azizah, dkk., 2012). Etanol memiliki rumus kimia C_2H_5OH dan dikenal juga sebagai alkohol. Etanol dipakai sejak ratusan tahun lalu untuk meragikan gula

menjadi arak sebagai minuman keras. Etanol juga dapat dimanfaatkan dalam bidang pengobatan, pangan, pembuatan kosmetik, dan bahan bakar (Sebayang, 2006). Produksi etanol awalnya dilakukan dalam produksi minuman beralkohol, seperti anggur (*wine*). Produksi alkohol dalam *wine* sendiri telah dilakukan sejak 6000 tahun sebelum masehi (Hawusiwa dkk., 2015). Produksi etanol saat ini banyak dikembangkan untuk bahan bakar pengganti bahan bakar fosil, karena lebih mudah terbakar dan sisa pembakarannya lebih bersih (Singh dan Sharma, 2015).

2. Fermentasi laktat

a. Fermentasi alkohol

Fermentasi alkohol merupakan suatu reaksi pengubahan glukosa menjadi etanol (etil alkohol) dan karbon dioksida. Organisme yang berperan, yaitu *Saccharomyces cerevisiae* ragi untuk pembuatan tape, ragi roti atau minuman keras.

b. Fermentasi asam

Laktat adalah respirasi yang terjadi pada sel hewan atau manusia, ketika keutuhan oksigen tidak tercukupi akibat bekerja terlalu berat di dalam sel otot asam laktat dapat menyebabkan gejala kram dan kelelahan. Laktat yang terakumulasi sebagai produk limbah dapat menyebabkan otot letih dan nyeri, namun secara perlahan diangkat oleh darah ke hati untuk diubah kembali menjadi piruvat. Glukosa dipecah menjadi dua molekul asam piruvat melalui glikolisis, membentuk 2 ATP dan 2 NADH.

c. Fermentasi asam

Cuka merupakan suatu contoh fermentasi yang berlangsung dalam keadaan aerob. Fermentasi ini dilakukan oleh bakteri asam cuka (*acetobacter aceti*) dengan substrat etanol. Energi yang dihasilkan 5 kali lebih besar dari energi yang dihasilkan oleh fermentasi alkohol secara anaerob (Wikipedia).

Keberhasilan fermentasi ditentukan oleh beberapa faktor, yaitu:

1. Keasaman (pH),

Kondisi keasaman yang baik untuk bakteri adalah 4,5–5,5 supaya fermentasi berjalan dengan baik.

2. Mikroba

Fermentasi biasanya dilakukan dengan kultur murni yang dihasilkan di laboratorium. Kultur ini dapat disimpan dalam keadaan kering atau dibekukan.

3. Suhu fermentasi sangat menentukan macam mikroba yang dominan selama fermentasi. Tiap-tiap mikroorganisme memiliki suhu pertumbuhan yang maksimal, suhu pertumbuhan minimal, dan suhu optimal yaitu suhu yang memberikan terbaik dan perbanyak diri tercepat.

4. Oksigen atau udara selama fermentasi harus diatur sebaik mungkin untuk memperbanyak atau menghambat pertumbuhan mikroba tertentu. Setiap mikroba membutuhkan oksigen yang berbeda jumlahnya untuk pertumbuhan atau membentuk sel-sel baru dan untuk fermentasi. Misalnya ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*) akan tumbuh lebih baik dalam keadaan aerobik, tetapi keduanya akan melakukan fermentasi terhadap gula jauh lebih cepat dengan keadaan anaerobik.

5. Waktu

Laju perbanyak bakteri bervariasi menurut spesies dan kondisi pertumbuhannya. Pada kondisi optimal, bakteri akan membelah sekali setiap 20 menit. Untuk beberapa bakteri memilih waktu generasi, yaitu selang waktu antara pembelahan, dapat dicapai selama 20 menit. Jika waktu generasinya 20 menit pada kondisi yang cocok sebuah sel dapat menghasilkan beberapa juta sel selama 7 jam (indotetis.com, 2017).

Gula-gula di dalam kulit nanas akan dikonversi menjadi bioethanol dengan bantuan *Saccharomyces cerevisiae*. *Saccharomyces cerevisiae* dapat mengkonversi gula menjadi etanol karena adanya enzim invertase dan zymase. Dengan adanya enzim-enzim ini *Saccharomces cerevisiae* memiliki kemampuan yang baik gula dari kelompok

monosakarida maupun dari kelompok disakarida. Jika gula yang tersedia dalam substrat merupakan gula disakarida, maka enzim invertase akan bekerja menghidrolisis disakarida menjadi monosakarida. Setelah itu, enzim zymase akan mengubah monosakarida tersebut menjadi alkohol dan CO_2 . (Azizah N, Al-Baari, S. Mulyani, 2015).

2.5 Distilasi

Distilasi ataupun disebut dengan penyulingan ialah sebuah metode yang dipakai memisahkan bahan kimia menurut perbedaan kecepatan ataupun kemudahan menguap maupun volatilitas bahan. Pada proses penyulingan ini, zat bercampur akan dididihkan agar menguap dan uap itu berikutnya akan dididihkan lagi ke bentuk cairan. Sedangkan zat yang mempunyai titik didih lebih sedikit juga akan menguap terlebih dahulu.

Distilasi merupakan cara pemisahan antara zat cair terhadap campurannya menurut perbedaan titik didih ataupun kemampuan zat guna menguap. Destilasi atau penyulingan adalah suatu metode pemisahan bahan kimia berdasarkan perbedaan kecepatan atau kemudahan menguap (*volatilitas*) bahan atau didefinisikan juga teknik pemisahan kimia yang berdasarkan perbedaan titik didih. Dalam penyulingan, campuran zat dididihkan sehingga menguap, dan uap ini kemudian didinginkan kembali ke dalam bentuk cairan. Zat yang memiliki titik didih lebih rendah akan menguap lebih dulu. Metode ini merupakan termasuk unit operasi kimia jenis perpindahan massa. Penerapan proses ini didasarkan pada teori bahwa pada suatu larutan, masing-masing komponen akan menguap pada titik didihnya. Model ideal distilasi didasarkan pada Hukum Raoult dan Hukum Dalton. Distilasi adalah suatu teknik yang digunakan untuk memisahkan dan memurnikan cairan.

Distilasi terdiri dari pemanasan cairan sampai pada titik didihnya, penghantaran uap pada alat pendingin dimana terjadi kondensasi dan mengambil zat yang telah terkondensasi. Distilasi juga merupakan suatu perubahan

cairan menjadi uap dan uap tersebut didinginkan kembali menjadi cairan. Unit operasi destilasi merupakan metode yang digunakan untuk memisahkan komponen-komponennya yang terdapat dalam salah satu larutan atau campuran dan bergantung pada distribusi komponen-komponen tersebut antara fasa uap dan fasa air. Syarat utama dalam operasi pemisahan komponen-komponen dengan cara destilasi adalah komposisi uap harus berbeda dengan komposisi cairan dengan terjadi keseimbangan larutan-larutan, dengan komponen-komponennya cukup dapat menguap. Bila zat non volatil dilarutkan ke dalam suatu zat cair tersebut akan turun. Hukum Raoult menyatakan bahwa tekanan masing-masing komponen berbanding langsung dengan fraksi molnya. Apabila yang didinginkan adalah bagian campuran yang tidak teruapkan dan bukan destilatnya, maka proses tersebut biasanya dinamakan pengentalan dengan evaporasi (Pamularsih, 2013).

Destilasi ini dikatakan normal karena tekanan campuran yang telah dipisahkan, tekanannya sama dengan tekanan udara luar yang besarnya adalah satu atm. Destilasi normal digunakan untuk memisahkan campuran volatil dari bahan yang tidak volatil. Itu dibuat dari cairan yang mendidih dan uap yang disimpan di dalam sebuah penerima hasil destilasi yang telah siap dilanjutkan dalam kotak pemisah. Pengaruh dari penambahan kolom fraksinasi akan mempersingkat beberapa pekerjaan pemisah dari distilasi biasa hanya menjadi satu pekerjaan. Proses distilasi berlangsung dimana uap cairan akan menjadi cairan di dalam kondensor pendingin. Cairan yang menjadi uap merupakan senyawa murni yang terpisah dari campurannya dan dari zat pengotamin atau penyeter. Jika semua cairan sudah terpisah, maka terdapat residu yang bersifat padatan.

Hasil distilasi disebut distilat. Distilasi tergantung pada temperatur zatnya, beberapa molekul zat cair memiliki energi yang cukup untuk diubah dan membuat suatu tekanan uap. Kecendrungan untuk penguapan menjadi lebih besar karena energi kinetik yang ditambah dari

kenaikan temperatur. Ketika suatu cairan dipanaskan sampai tekanan uapnya sama dengan atmosfer lingkungan cairan yang mendidih, maka hal ini disebut titik didih. Besarnya perbedaan titik didih beberapa senyawa berbanding lurus dengan tingkat kemudahan pemisahannya. Semakin besar perbedaan titik didih akan semakin mudah pula pemisahan senyawa tersebut.

Sebaliknya apabila perbedaan titik didih kecil, maka akan semakin sulit pula pemisahan senyawa tersebut. Proses destilasi bisa dikerjakan dalam satu langkah menggunakan sebuah kolom *fractionating* antara botol destilasi dan alat kondensor. Salah satu tipe dari kolom adalah pipa vertikal panjang yang sederhana dengan gelas embun atau material lembam lainnya. Sebuah tipe *fractionating* setelah mendestilasi sebuah cairan bias dilanjutkan. Kondensasi dan penguapan diulangi beberapa kali sebelum air bereaksi dikondensor atau alat pendingin, akibatnya komponen terpisah dalam jumlah yang besar dari larutannya. Proses ini disebut distilasi fraksinasi. Untuk menggambarkan perbedaan ciri khas di antara sebuah zat dan sebuah larutan dilakukan dengan menguji dua cairan homogen sehingga berubah sifatnya menjadi gas oleh pemanasan dan kemudian didinginkan. Proses inilah yang disebut destilasi (Ardhian, 2015). Prinsip kerja destilasi ialah: bila suatu zat pada larutan tak sama-sama menguap, berarti uap larutan akan mempunyai komponen yang beda dengan larutan yang aslinya. Jika salah satu dari zat menguap, berarti pemisahannya akan terjadi secara sempurna. Tapi jika kedua zat itu menguap, proses pemisahannya hanya terjadi secara sebagian tapi destilat ataupun produk akan memiliki kaya dapat dari komponen dibandingkan larutan aslinya.

Berikutnya adalah tujuan destilasi ialah untuk memurnikan bentuk cair di titik didihnya serta memisahkan cairan terhadap zat padatnya. Uap tersebut akan dikeluarkan terhadap campurannya sebagai uap bebas. Konsentrat yang jatuh juga sebagai destilat serta bagian cair yang tak menguap merupakan residu. Bila yang diinginkan dibagian

campuran yang tak teruapkan, berarti proses tersebut disebut menjadi pengentalan dengan evaporasi (Ruangguru.co.id., 2018). Destilasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah destilasi sederhana. Destilasi jenis ini biasanya melalui cara menaikkan suhu, sehingga tekanan uapnya ada diluar cairan ataupun tekanan atmosfer ataupun titik didih normal. Pada destilasi sederhana ini, dasar dari pemisahannya adalah perbedaan dari titik didihnya yang jauh maupun salah satu komponennya bersifat volatin. Jika campuran tersebut dipanaskan / dididihkan, maka komponen yang memiliki titik yang lebih rendah akan menguap lebih dahulu.

3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Metode Penelitian

Lokasi dan waktu penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kimia Analisa Teknik Kimia Universitas Muhammadiyah Palembang pada bulan Juni-Agustus.

3.2 Alat dan Bahan

a. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah kulit nanas, *Saccharomyces cerevisiae* yang berasal dari toko bahan kimia, H_2SO_4 75% yang berasal dari toko kimia, dan *aquadest*.

b. Alat

Alat-alat yang digunakan timbangan digital, kaca arloji, spatula, kertas saring, pipet ukur, tabung ukur, labu erlenmeyer, *blender*, *beaker glass*, perlengkapan fermentasi, termometer dan perlengkapan destilasi.

3.3 Prosedur Penelitian

Tahapan langkah-langkah penelitian sebagai berikut:

1. Preparasi bahan

Kulit nanas yang didapat dari pedagang nanas di pasar 4 Ulu Darat, sebanyak 3 kg. Kemudian dipotong-potong menjadi kecil lalu dijemur selama 3 hari. Lalu kulit nanas kering seberat 1 kg dihaluskan dengan 1.000 ml *aquadest* menggunakan *blender* hingga membentuk *slurry* (bubur). *Slurry* (bubur) dari hasil kulit nanas disaring dan diambil filtratnya.

2. Hidrolisis

Larutan kulit nanas ditambahkan dengan H_2SO_4 10,4 ml dalam setiap 200 ml ekstrak air kulit nanas. Setelah itu, dihidrolisis dengan menggunakan suhu 120°C selama 45 menit. Dinginkan kembali hingga mencapai suhu ruang sekitar 30°C - 40°C .

3. Fermentasi

Fermentasi dilakukan di dalam lima labu erlenmeyer dengan volume masing-masing 200 ml ekstrak kulit nanas. Ditambahkan *Saccharomyces cerevisiae* ke dalam labu erlenmeyer dengan masing-masing berat sebanyak 4 gram, 8 gram, 10 gram, 11 gram dan 12 gram. Kemudian difermentasi selama 7 hari dan 14 hari

4. Distilasi

Menyiapkan rangkaian alat distilasi. Kemudian memasukkan hasil proses fermentasi ke labu alas bulat. Dipanaskan pada suhu 80°C selama 60 menit. Akan terjadi pemisahan antara air dan etanol dikarenakan perbedaan titik didih.

3.4 Analisis Produk Biopellet

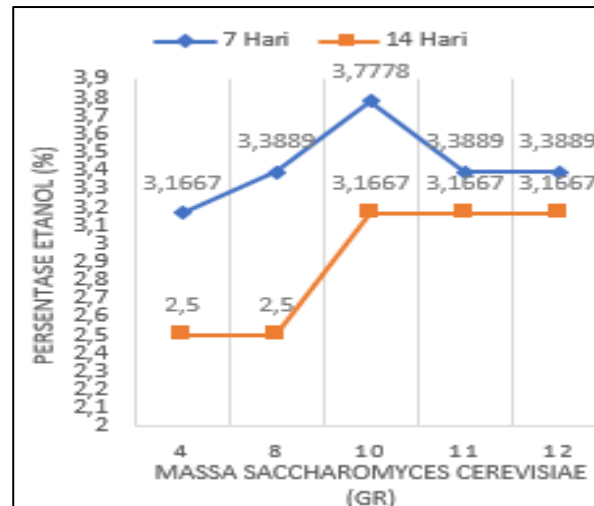
Analisa dilakukan di Laboratorium Kimia Analisa Politeknik Negeri Sriwijaya Palembang dengan menggunakan alat refraktometri.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan dengan maksud dan bertujuan untuk mengetahui pengaruh banyaknya *Sachharomyces cerevisiae* terhadap kadar persentase etanol. Bahan baku yang digunakan sebagai umpan, yaitu kulit nanas secara fermentasi selama 7 hari dan 14 hari.

Tabel 4.1 Data Hasil Analisis Etanol Dengan Menggunakan Refraktometri

No.	Massa <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (g)	Lama Fermentasi (hari)	%Etanol
1	4	7	3,1667
	8		3,3889
	10		3,7778
	11		3,3889
	12		3,3889
2	4	14	2,5000
	8		2,5000
	10		3,1667
	11		3,1667
	12		3,1667



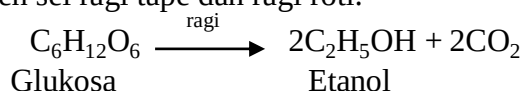
Gambar 4.1 Hasil Analisa Kadar Etanol Dari Kulit Nanas

Dari hasil penelitian di atas dapat disimpulkan bahwa nilai persentase etanol tertinggi terdapat pada massa *Saccharomyces cerevisiae* seberat 10 gram dengan lama fermentasi selama 7 hari sebesar 3,7778%. Sedangkan nilai persentase etanol terendah sebesar 2,5000% terdapat pada massa *Saccharomyces cerevisiae* seberat 4 gram dan 8 gram dengan lama fermentasi selama 14 hari.

Etanol merupakan salah satu produk hasil fermentasi dari bahan yang mengandung gula sederhana, pati, atau bahan berserat lainnya. Bioproses etanol dapat diawali dengan pemecahan gula atau pati menjadi bentuk sederhana yang berlangsung dengan hidrolisis atau reaksi enzimatis (Azizah, dkk., 2012). Karbohidrat terbagi menjadi tiga, yaitu: monosakarida (glukosa dan fruktosa), disakarida (sukrosa, maltose dan laktosa) dan polisakarida (amilum, glikogen dan selulosa). Menurut Harahap (2014), kandungan gula reduksi pada filtrat kulit nanas sebesar 11,40%. Mengingat kandungan gula yang cukup tinggi tersebut, maka kulit nanas memungkinkan untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan bioethanol melalui proses fermentasi. Etanol memiliki rumus kimia $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ dan dikenal juga sebagai alkohol. Etanol dipakai sejak ratusan tahun lalu untuk meragikan gula menjadi arak sebagai minuman keras.

Fermentasi adalah proses produksi energi dalam sel, dalam keadaan anaerobik (tanpa oksigen). Secara umum, fermentasi adalah salah satu bentuk respirasi anaerobik, akan tetapi, terdapat definisi yang lebih jelas yang mendefinisikan fermentasi sebagai respirasi dalam lingkungan anaerobik dengan tanpa akseptor elektron eksternal.

Gula adalah bahan yang umum dalam fermentasi. Beberapa contoh hasil fermentasi adalah etanol, asam laktat, dan hidrogen. Perubahan yang terjadi selama proses fermentasi adalah glukosa menjadi bioetanol oleh sel ragi tape dan ragi roti.



Mikroba yang umumnya terlibat dalam fermentasi pangan adalah bakteri, khamir dan kapang. Prinsip dasar fermentasi adalah mengaktifkan aktivitas mikroba tertentu agar dapat merubah sifat bahan sehingga dihasilkan produk fermentasi yang bermanfaat. Beberapa factor yang mempengaruhi fermentasi antara lain mikroorganisme, substrat (medium), pH (keasaman), suhu, oksigen, dan aktivitas air. Gula-gula di dalam kulit nanas akan dikonversi menjadi bioetanol dengan bantuan *Saccharomyces cerevisiae*. *Saccharomyces cerevisiae* dapat mengkonversi gula menjadi etanol karena adanya enzim invertase dan zymase. Dengan adanya enzim-enzim ini *Saccharomces cerevisiae* memiliki kemampuan yang baik gula dari kelompok monosakarida maupun dari kelompok disakarida. Jika gula yang tersedia dalam substrat merupakan gula disakarida, maka enzim invertase akan bekerja menghidrolisis disakarida menjadi monosakarida. Setelah itu, enzim zymase akan mengubah monosakarida tersebut menjadi alkohol dan CO₂.

Dari hasil penelitian di atas dapat disimpulkan bahwa nilai persentase etanol tertinggi terdapat pada massa *Saccharomyces cerevisiae* seberat 10 gram dengan lama fermentasi selama 7 hari sebesar 3,7778%. Sedangkan nilai persentase etanol terendah sebesar 2,5000% terdapat pada massa *Saccharomyces cerevisiae* seberat 4 gram dan

8 gram dengan lama fermentasi selama 14 hari.

Pada variable 4 gram dan 8 gram dengan lama fermentasi 14 hari gula pada kulit nanas memiliki kadar etanol yang rendah disebabkan karena substrat yang dikonversi menjadi produk oleh mikroorganisme telah habis. Terlalu lama dilakukan fermentasi sehingga etanol yang dihasilkan berubah menjadi asam-asam organik seperti asam cuka.

Untuk 10 gram *Saccharomyces cerevisiae* 7 hari dan 14 hari *Saccharomyces cerevisiae* gula terkonversi maksimal menjadi etanol pada masing-masing lama fermentasi. 11 gram dan 12 gram *Saccharomyces cerevisiae* lama fermentasi 7 hari lebih optimal mengkonversi gula menjadi etanol daripada 11 gram dan 12 gram *Saccharomyces cerevisiae* dengan lama fermentasi 14 hari karena fermentasi yang dilakukan tidak terlalu lama. Sedangkan 4 gram dan 8 gram *Saccharomyces* dengan lama fermentasi 7 hari memiliki perbedaan kadar etanol yang tidak signifikan karena waktu yang dibutuhkan untuk berkembang berlangsung sama. Terjadi perbedaan kadar etanol dikarenakan memiliki jumlah *Saccharomyces cerevisiae* yang berbeda sehingga jumlah mikroorganisme yang mengkonversi gula juga lebih banyak. Diketahui waktu optimal fermentasi, yaitu 3 hari. Pada waktu tersebut aktivitas *Saccharomyces cerevisiae* bekerja secara optimal serta kegiatan enzimatik tidak terhambat. Fase ini dikenal dengan fase eksponensial dimana sel akan tumbuh dan membelah diri hingga mencapai jumlah maksimum (Chairul, 2013). Hanya penurunan kadar etanol yang didapatkan disebabkan karena etanol yang dihasilkan berubah menjadi asam-asam organik seperti asam cuka.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian pengaruh *Saccharomyces cerevisiae* terhadap kadar etanol dari kulit nanas secara fermentasi yang telah dilakukan dan dari pembahasan yang

telah diuraikan pada hasil penelitian, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Pada data analisa etanol hasilnya bisa dilihat bahwa penambahan *Saccharomyces cerevisiae* memiliki pengaruh untuk meningkatkan kadar persentase etanol sebesar 3,7778% pada massa seberat 10 gram dengan lama fermentasi 7 hari.
2. Untuk hasil persentase etanol terendah terdapat pada massa *Saccharomyces cerevisiae* dengan berat sebesar 4 gram dan 8 gram dengan lama fermentasi 14 hari.
3. Banyaknya *Saccharomyces cerevisiae* memberikan pengaruh terhadap kadar etanol karena semakin banyak *Saccharomyces cerevisiae*, maka akan semakin banyak jamur yang bereaksi.
4. Waktu fermentasi berpengaruh terhadap meningkatnya kadar etanol karena semakin lama waktu fermentasi kadar etanol semakin meningkat, namun bila fermentasi terlalu lama nutrisi dalam substrat akan habis dan *Saccharomyces cerevisiae* tidak lagi memfermentasi alkohol. *Saccharomyces cerevisiae* termasuk ragi yang mudah beradaptasi, ditunjukan dengan singkatnya waktu yang dibutuhkan untuk beradaptasi, yaitu selama 1 jam 40 menit.
5. Fase penurunan (*deceleration phase*), pada fase ini laju pertumbuhan mengalami perlambatan. Fase ini berlangsung selama 20 menit.

5.2 SARAN

Perlunya ketelitian dan kecermatan lebih tinggi lagi dalam proses distilasi selama menjaga suhu saat melakukan distilasi, untuk lama waktu distilasi disarankan bisa lebih lama dari 60 menit dan bisa menggunakan H_2SO_4 dengan kadar yang lebih tinggi dari yang telah dilakukan oleh peneliti saat melakukan hidrolisis.

DAFTAR PUSTAKA

Adrian, A., Sulaeman, R., & Oktorini, Y. 2015. *Karakteristik Wood Pellet dari Limbah Kayu Karet (Heveabrazilliensis Muell. Arg) sebagai Alternatif Sumber Energi Terbarukan*. Jurnal Online Mahasiswa Fakultas Pertanian, 2(2), 1-6.

Anita, S.H., dkk.. 2011). *Pemanfaatan Lignin Hasil Isolasi dari Lindi Hitam Proses Biopulping Bambu Betung (Dendrocalamus asper) sebagai Media Selektif Jamur Pelapuk Putih*. Jurnal Penelitian, 29(4), 312–321.

Alcazar, A., J.M. Jurado, F. Pablos, A.G. Gonzalez, and M. J. Martin. 2006. *HFLC Determination Of 2-L'uraldehyde And 5~Hydroxymelhyl-2-Furaldehyde In Alcoholic Beverages*. Microchemical Journal. 82(1): 22-28.

Alley, E.R. 2007. *Water Quality Control Handbook*. New York, N.Y.: McGraw Hill.

Bailey, P.S. 1982. *Ozonation In Organic Chemistry*. New York, N.Y.: Academic press. Inc.

Barrer, FRS, R.M.. 1978. *Zeolites and Clay Minerals As Sorbents And Molecules*. Academic Press, New York.

Boonfung, C and Rattanaphanee, P.. 2010. *Pressure Swing Adsorption With Cassava Adsorbent for Dehydration of Ethanol Vapor*. World Academy of Science, Engineering and Technology, 71.

Campo, E., J. Cacho, and V. Ferreira. 2007. *Solid Phase Extraction, Multidimensional Gas Chromatography Mass Spectrometry Determination Of Four Novel Aroma Powerful Ethyl Esters: Assessment Of Their Occurrence and Importance In Wine and Other Alcoholic Beverages*. Journal of Chromatography A. 1140: 180-188

Desroir, Norman. 1988. *Unit Processing Organic Synthesis, Ed 5*. McGraw-Hill Book Company. New York.

Groggins, P.H.. 1992. *Unit Process In Organic Synthesis*. McGrawHill Book Company, New York.

Herald, E.; Hisyam, S. W.. *Characterization and Activation Of Natural Zeolite From*

Ponorogo. Indonesian Journal Of Chemistry, 2003, Vol. 3, 91-97.

Igbokwe, P.K., Okolomike, R.O., and Nwokolo, S.O.. 2008. *Zeolite For Drying Og Ethanol-Water System From A Nigerian Clay Resource*. Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy, 43, 1, 109-112.

Levine, I.N.. *Physical Chemistry*. Mb Ed, McGraw Hill, New York, 2002; p. 570.

Lee S, Speight J.G., Loyalka S.K.. 2007 *Hand Book Of Alternative Fuel Technologies*. USA: CRC Taylor and Francis Group.

Ma'ruf, A., dan Mulyadi, A.H.. 2010. *Pembuatan Zeolit Pelet Sebagai Adsorben Pada Pembuatan Bioetanol Tradisional*, Laporan Penelitian, Program Studi Teknik Kimia, UMP, Purwokerto.

Mccabe, L.W.; Smith, C.J.; Harriot, P.. 2004. *Unit Operation of Chemical Engineering, 7th Ed.*, McGraw-Hill, New York.

McMillan, J.D.. 1997. *Bioethanol Production: Status and Prospects*. Renewable Energy, 10, 295.

N. Azizah, A.N. Al-Baari., S. Mulyani., *Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kadar Alkohol, pH, dan Produksi Gas Pada Proses Fermentasi Bioetanol Dari Whey dengan Substitusi Kulit Nanas*. Vol. 1 No. 2, 2012 Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan.

Niven, R.K.. 2005. *Ethanol In Gasoline: Environmental Impacts and Sustainability Review Article*. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 9, 535.

Osamu, K., Carl H.W.. 1989. *Biomass Handbook*. Gordon Breach Science Publisher.

Perry, R.H.. 1984. *Perry Chemical Engineering Hands Book*. Mc Grow Hill, Singapore.

Plham, C.B., Mansigan, V.E., and Luis, V.S., *Development Of Low Energy Process Of Water Adsorption From Ethyl Alcohol*. Philippines: National Institutes of Biotechnology and Applied Microbiology, U.P. at Los Banos, College, Laguna.

Poedjiadi, A. 1994. *Dasar-dasar Biokimia*. Jakarta: Universitas Indonesia.

Prescott. S.G. and C.G., Said. 1959. *Industrial Microbiology, Ed.3*. New York: McGraw-Hill Book Company.

Raklimatullah, D.K.A., Wiradini, G., dan Ariyanto, N.P.. 2007. *Pembuatan Adsorben Dari Zeolit Alam Dengan Karakteristik Adsorption Properties Untuk Kemurnian Bioetanol*. Bandung: Program Studi Teknik Fisika, FTI, ITB.

Rini, D.K. 2010. *Optimasi Aktivasi Zeolit Alam untuk Dehumifikasi Udara*. Skripsi SI, Semarang: Universitas Diponegoro.