



Fermentasi Etanol dari Limbah Padat Tapioka (Onggok) oleh *Aspergillus niger* dan *Zymomonas mobilis*

Ethanol fermentation from solid waste of tapioca (onggok) by Aspergillus niger and Zymomonas mobilis

SITI JUARIAH, ARI SUSILOWATI[♥], RATNA SETYANINGSIH

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret (UNS) Surakarta 57126

Diterima: 17 Nopember 2003. Disetujui: 1 Mei 2004.

ABSTRACT

The aims of this research were to know the best concentration of *onggok* flour to produce maximum reduction sugar concentration by *Aspergillus niger* and efficiency of ethanol production from reduction sugar as the product of *onggok* flour saccharification by *Zymomonas mobilis*, and the ethanol concentration which produced. The framework of this research was cassava starch in *onggok* can be used as substance which yielded ethanol by fermentation. The ethanol yielded serves as an alternative substitution fuel for fossil fuel. This research was done in two stages; they were saccharification by *A. niger* and ethanol fermentation by *Z. mobilis*. At saccharification stage there were four level of *onggok* flour concentration: 10%, 20%, 30% and 40%. The inoculum concentration of *A. niger* 10% (v/v) and the amount of spore about 3.3×10^6 spore/mL, was inoculated each concentration of *onggok* flour, with the temperature of incubation 50°C and this process taken five days. Parameters have been used were starch concentration before and after saccharification process, reduction sugar concentration, and pH conducted by each, every 24 hours. Stage of ethanol fermentation used concentration of *Z. mobilis* 10% (v/v), with the cell amount 5.1×10^7 cell/mL. Reduction sugar concentration from saccharification product that used 1.9352% and fermentation was done in 72 hours. Parameters were concentration of ethanol and reduction sugar each, every 24 hours and the growth of *Z. mobilis* cell every 24 hours. This research concluded that concentration of *onggok* flour 10% produced maximum reduction sugar concentration on the third day that was 1.1842%. Ethanol concentration yielded was 0.7% (v/v) and efficiency of ethanol that was produced from reduction sugar from saccharification of *onggok* flour was 83% during 72 hours fermentation.

♥ Alamat korespondensi:

Jl. Ir. Sutami 36A, Surakarta 57126
Tel. & Fax.: +62-271-663375.
e-mail: biology@mipa.uns.ac.id

Keywords: *onggok* flour, saccharification, *Aspergillus niger*, ethanol fermentation, *Zymomonas mobilis*.

PENDAHULUAN

Etanol yang dapat digunakan sebagai bahan bakar yaitu etanol 10%. Campuran etanol-bensin sebagai bahan bakar kendaraan bermotor dengan perbandingan 10% etanol: 90% bensin disebut gasohol. Konsentrasi etanol untuk bahan bakar

dapat ditingkatkan sampai dengan 85% (E85) (Wang, 2002). Etanol sebagai bahan bakar kendaraan mempunyai beberapa keuntungan, antara lain: (i) etanol diproduksi dari sumber daya yang dapat diperbaharui, terutama dari produk pertanian atau dari sampah pertanian, (ii) pembakaran etanol lebih bersih daripada

bahan bakar fosil, (iii) etanol dapat mengurangi efek rumah kaca (Wang, 2002).

Etanol dapat dihasilkan secara fermentatif oleh mikroba dari bahan-bahan organik maupun secara sintetik dari bahan-bahan anorganik. Menurut Tjokroadikoesoemo (1993), dengan menggunakan enzim-enzim hidrolase, maka bahan pati, serat, sukrosa dan oligosakarida lainnya dapat dihidrolisis menjadi gula sederhana yang siap difermentasikan. Fungi *A. niger* menghasilkan enzim α -amilase dan enzim glukoamilase yang mampu memecah pati menjadi glukosa (Crueger and Crueger, 1984).

Kandungan karbohidrat ubi kayu di dalam onggok masih cukup tinggi, yaitu mencapai 67,93-68,30%, sementara kadar airnya 19,70-20,3% (BPPI, 1997). Dengan tingginya kandungan karbohidrat maka onggok dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku untuk memproduksi alkohol. Bakteri *Zymomonas mobilis* mempunyai banyak keunggulan, antara lain tumbuh lebih cepat daripada *yeast* dan toleran pada konsentrasi etanol tinggi sampai 10%. *Zymomonas mobilis* dapat memfermentasikan substrat glukosa, fruktosa atau sukrosa (Wijono, 1988). Gula-gula tersebut terfermentasi melalui jalur yang sama yaitu "Etner-Doudoroff pathway" (Doelle, 1990).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk (1) mengetahui konsentrasi tepung onggok yang terbaik untuk memproduksi gula reduksi yang maksimum oleh *A. niger* dan (2) mengetahui konsentrasi etanol dan efisiensi pengubahan gula reduksi hasil sakarifikasi maksimum tepung onggok menjadi etanol oleh *Z. mobilis*.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bioteknologi, Jurusan Teknologi Pengolahan Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian UGM dan di Sub Laboratorium Biologi, Laboratorium Pusat UNS. Waktu penelitian mulai bulan Januari sampai bulan Mei 2003.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: (i) Isolat *A. niger*, isolat *Z. mobilis* yang diperoleh dari Laboratorium Pangan dan Gizi, PAU UGM, (ii) Onggok yang diperoleh dari industri tapioka PT. Tainesia Jaya yang terletak di Sonoharjo, Wonogiri, dan (iii) Medium *Potato*

Dextrosa Agar (PDA), medium *Pepton Glucose Yeast Extract* (PGY) dan medium glukosa.

Cara kerja

Persiapan alat dan bahan.

Alat dan medium yang digunakan disterilisasi dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.

Penyiapan inokulum *A. niger*

Isolat *A. niger* terlebih dahulu ditumbuhkan pada medium PDA miring selama 3-5 hari pada suhu 35-37°C. Setelah terbentuk massa spora, spora diambil dengan cara mensuspensikan dengan menambahkan 5 mL aquades steril, kemudian spora diambil dengan jumlah spora sekitar $3,3 \times 10^6$ spora/mL untuk diinokulasikan ke dalam medium PGY. Suspensi spora tersebut diinkubasi pada suhu kamar dengan kecepatan penggoyangan 200 rpm selama 48 jam sampai terbentuk pelet dengan menggunakan *rotary shaker*. Setelah pelet terbentuk maka pelet dimasukkan ke dalam substrat bubur onggok sebagai inokulum.

Penyediaan inokulum *Z. mobilis*

Isolat *Z. mobilis* sebanyak 1 ose diinokulasikan ke dalam medium glukosa 10 mL, lalu digoyang dengan kecepatan penggoyangan 100 rpm selama 24 jam pada suhu kamar. Suspensi sel kemudian dimasukkan ke dalam medium glukosa 90 mL, lalu digoyang lagi dengan kecepatan yang sama. Setelah 4 jam, suspensi sel sebanyak 10% (v/v) dengan jumlah sel sekitar $5,1 \times 10^7$ sel/mL dimasukkan ke dalam medium gula reduksi hasil sakarifikasi tepung onggok sebagai inokulum.

Pembuatan tepung onggok

Tepung onggok dibuat dengan cara, onggok basah dikeringkan di bawah sinar matahari selama 2-3 hari kemudian digiling. Setelah itu diayak dan tepung onggok siap untuk digunakan.

Proses sakarifikasi tepung onggok menjadi gula reduksi

Medium yang digunakan adalah tepung onggok yang telah dibuat bubur, dengan 4 konsentrasi tepung onggok, yaitu: konsentrasi tepung onggok 10% (b/v), 20% (b/v), 30% (b/v) dan 40% (b/v).

Pembuatan bubur onggok dengan mencampur tiap konsentrasi tepung onggok

dalam aquades volume 150 mL lalu diaduk sampai homogen. Kemudian larutan onggok dipanaskan sambil diaduk sampai semua onggok tercampur. Setelah dingin bubuk onggok ditambah HCL sebanyak 1 tetes. Substrat bubuk onggok disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah dingin, pelet *A. niger* 10%(v/v) dengan jumlah spora sekitar $3,3 \times 10^6$ spora/mL diinokulasikan ke dalam medium kemudian diinkubasi pada *water bath shaker* dengan kecepatan penggoyangan 150 rpm, suhu 50°C selama 5 hari. Pengambilan sampel tiap 24 jam selama 5 hari dengan 2 kali ulangan untuk analisis konsentrasi gula reduksi dan pH. Konsentrasi pati substrat bubuk onggok diukur sebelum pelet *A. niger* dimasukkan dan setelah proses sakarifikasi selama 5 hari selesai.

Produksi gula reduksi

Produksi gula reduksi dilakukan setelah mengetahui substrat bubuk onggok yang menghasilkan gula reduksi maksimum selama proses sakarifikasi. Dengan konsentrasi substrat, jumlah inokulum spora *A. niger* dan kondisi lingkungan yang sama perlakuan diulangi sekali lagi. Volume substrat bubuk onggok yang digunakan untuk produksi gula reduksi ditambah sampai dengan 300 mL.

Proses fermentasi etanol

Volume medium gula reduksi untuk fermentasi adalah 400 mL. Inokulum *Z. mobilis* 10% (v/v) dengan jumlah sel $5,1 \times 10^7$ sel/mL, ditambahkan pada medium gula reduksi hasil sakarifikasi lalu diinkubasi pada suhu kamar selama 72 jam. Pengambilan sampel tiap 24 jam untuk analisis konsentrasi gula reduksi, konsentrasi etanol dan jumlah sel.

Penghitungan laju pembentukan etanol selama proses fermentasi etanol oleh *Z. mobilis* adalah dengan rumus (Crueger and Crueger, 1984):

$$\text{Laju pembentukan etanol} = \frac{\text{Produk (etanol)}}{\text{Waktu (jam)}}$$

Untuk mengetahui efisiensi pembentukan etanol selama proses fermentasi etanol oleh *Z. mobilis* adalah dengan rumus (Kumalaningsih dan Hidayat, 1995):

$$\text{Efisiensi fermentasi} = \frac{\text{Banyaknya hasil alkohol}}{\text{alkohol yang dihasilkan secara teoritis dari glukosa}} \times 100\%$$

Pengukuran parameter

Analisis konsentrasi gula reduksi yang dihasilkan selama proses sakarifikasi. Analisis konsentrasi gula reduksi dengan metode Nelson-Somogyi. Konsentrasi gula reduksi diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm.

Analisis konsentrasi pati sebelum dan sesudah proses sakarifikasi. Analisis konsentrasi pati dengan metode Nelson-Somogyi. Konsentrasi pati diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm.

Analisis konsentrasi etanol yang dihasilkan dari proses fermentasi. Analisis konsentrasi etanol dengan metode destilasi.

Analisis pH. pH diukur dengan menggunakan pH meter.

Jumlah sel *Z. mobilis* selama proses fermentasi. Pertumbuhan sel *Z. mobilis* diukur dengan metode turbidimetri, dan diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 400 nm.

Analisis data

Data dianalisis berdasarkan grafik yang diperoleh dari setiap pengukuran parameter dan tiap grafik yang diperoleh untuk melihat hasil yang terbaik dari proses sakarifikasi dan proses fermentasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sakarifikasi tepung onggok

Konsentrasi pati tepung onggok sebelum dan sesudah sakarifikasi

Penurunan konsentrasi pati sesudah proses sakarifikasi berlangsung dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 1. Konsentrasi pati tepung onggok (g/100mL) sebelum dan sesudah proses sakarifikasi oleh *A. niger* selama 5 hari.

Waktu sakarifikasi (hari ke-)	Konsentrasi tepung onggok (%)			
	10	20	30	40
0	3,52	4,97	6,48	12,25
5	0,565	0,962	2,579	4,518

Tabel 1 menunjukkan konsentrasi pati tepung onggok mengalami penurunan dari hari ke-0 sampai hari ke-5. Hal ini menunjukkan bahwa

pati terpecah menjadi gula reduksi oleh aktivitas enzim α -amilase dan glukoamilase dari *A. niger*. Angka penurunan konsentrasi pati yang paling tinggi adalah 7,732 g/100mL pada konsentrasi substrat 40%. Diikuti konsentrasi substrat 20% sebanyak 4,019 g/100mL, konsentrasi substrat 30% sebanyak 3,901 g/100mL dan konsentrasi substrat 10% sebanyak 2,955 g/100mL.

Banyaknya pati yang terpecah pada konsentrasi substrat 40% tidak menjadi dasar untuk produksi gula reduksi, karena pada konsentrasi substrat 40% gula reduksi yang dihasilkan lebih sedikit daripada gula reduksi yang dihasilkan pada substrat 10%. Hal ini disebabkan pada konsentrasi substrat 40%, substrat menjadi padat dan keras, sehingga pelet *A. niger* tidak bercampur dengan substrat dan hanya tumbuh dipermukaan substrat. Gula reduksi yang dihasilkan dari pemecahan pati digunakan oleh *A. niger* untuk tumbuh secara generatif dipermukaan substrat dan ada yang diubah menjadi asam sitrat. Sedangkan pada konsentrasi substrat 10%, substrat lebih cair sehingga pelet *A. niger* bisa bercampur dengan substrat dan tidak tumbuh dipermukaan. Didalam substrat, *A. niger* tumbuh secara vegetatif dan lebih banyak menghasilkan enzim α -amilase dan glukoamilase.

Konsentrasi gula reduksi selama sakarifikasi tepung onggok

Hasil pengukuran konsentrasi gula reduksi dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Konsentrasi gula reduksi (g/100mL) hasil proses sakarifikasi oleh *A. niger* selama 5 hari.

Waktu (hari)	Konsentrasi tepung onggok (%)			
	10	20	30	40
0	0,0202	0,0500	0,0501	0,0579
1	0,6255	0,5695	0,5251	0,6647
2	0,7196	0,7229	0,7157	0,6886
3	1,1842	0,9518	0,9381	0,6401
4	0,9095	0,9317	0,6929	0,6464
5	0,5534	0,6781	0,4478	0,3358

Tabel 2 menunjukkan bahwa konsentrasi substrat 10%, 20% dan 30% rata-rata mengalami peningkatan konsentrasi gula reduksi sampai hari ke-3 lalu mengalami penurunan sampai hari ke-5. Sedangkan konsentrasi substrat 40% mengalami peningkatan konsentrasi gula reduksi sampai hari ke-2, lalu mengalami penurunan sampai hari ke-5.

Dari konsentrasi gula reduksi menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi substrat tepung onggok, maka konsentrasi gula reduksi yang dihasilkan juga semakin rendah. Hal ini disebabkan pada konsentrasi pati lebih tinggi, substrat menjadi padat dan keras sehingga pelet *A. niger* tidak bercampur dengan substrat dan tumbuh dipermukaan substrat secara generatif menghasilkan spora. Sedangkan pada konsentrasi pati rendah, substrat bisa lebih mengembang pada waktu pemanasan dan kadar airnya juga masih banyak sehingga *A. niger* bisa bercampur dengan substrat. Enzim α -amilase dan glukoamilase yang dihasilkan *A. niger* bisa bekerja lebih maksimum pada konsentrasi pati rendah. Menurut Berka (1992), enzim glukoamilase dari *Aspergillus* sp. digunakan untuk sakarifikasi pada substrat pati cair.

Konsentrasi gula reduksi yang dihasilkan pada penelitian ini sedikit yaitu hanya sebesar 1,1842 g/100 mL. Hal ini disebabkan pH dan suhu yang digunakan merupakan pH dan suhu optimum untuk aktivitas enzim tetapi bukan pH dan suhu optimum untuk pertumbuhan *A. niger*. Pada suhu 50°C, *A. niger* tidak bisa tumbuh optimum sehingga tidak bisa menghasilkan banyak enzim. Apabila pada suhu optimum pertumbuhan maka *A. niger* bisa tumbuh membentuk hifa lalu menghasilkan banyak enzim α -amilase dan glukoamilase yang digunakan untuk memecah pati menjadi gula reduksi.

Proses pemanasan dan penambahan asam (HCl) pada substrat sangat berguna untuk *A. niger*. Proses pemanasan dan penambahan asam akan menghasilkan glukosa yang dapat digunakan oleh *A. niger* untuk tumbuh dan berkembang dulu. Menurut Reed (1975), ketika mengembang pasta campuran pati air sangat peka pada pengaruh bahan kimia, tekanan mekanik dan aktivitas enzim. Sebagian molekul rantai lurus dan pendek amilosa akan pecah dan berdifusi keluar dari granula pati yang mengembang.

Perubahan pH selama sakarifikasi tepung onggok

Aktivitas optimum enzim glukoamilase terjadi pada pH 4-5 (Reed,1975). Tabel 3 menunjukkan bahwa semua substrat mengalami penurunan pH mulai hari ke-1 sampai hari ke-5. Penurunan pH disebabkan adanya pemecahan pati menjadi gula reduksi. Proses sakarifikasi oleh enzim α -amilase dan glukoamilase pada

substrat pati cair menyebabkan pH substrat akan turun menjadi lebih asam daripada pH optimum enzim ini (Priest, 1992). Hal ini disebabkan *A. niger* selama proses sakarifikasi berlangsung selain menghasilkan glukosa juga menghasilkan asam amino organik lain terutama asam sitrat (Rogers et al, 1993).

Tabel 3. Perubahan pH selama proses sakarifikasi oleh *A. niger* selama 5 hari.

Waktu (hari)	Konsentrasi tepung onggok (%)			
	10	20	30	40
0	5,06	4,90	5,10	5,00
1	4,96	4,78	4,71	4,50
2	4,56	4,28	4,25	4,31
3	4,48	4,25	4,14	4,09
4	3,93	4,19	3,99	3,90
5	3,62	3,79	3,85	3,88

Penurunan pH selama proses sakarifikasi berlangsung, berpengaruh pada proses pemecahan pati menjadi gula reduksi selanjutnya. Apabila pH substrat di bawah pH optimum maka enzim α -amilase dan glukamilase dari *A. niger* tidak dapat bekerja dengan maksimum. Menurut Reed (1975), aktivitas α -amilase pada tepung gandum turun dengan cepat apabila pH di bawah 4,0 dan aktivitas lebih rendah di atas 5,0. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian bahwa selama pH masih diatas 4, aktivitas pemecahan pati menjadi gula reduksi masih berlangsung dan konsentrasi gula reduksi masih terus meningkat (gambar 2 dan gambar 3). Waktu pH dibawah 4 konsentrasi gula reduksi yang dihasilkan juga menurun.

Produksi gula reduksi

Konsentrasi tepung onggok yang telah diketahui menghasilkan konsentrasi gula reduksi maksimum digunakan untuk produksi gula reduksi. Dari proses sakarifikasi, yang paling maksimum menghasilkan gula reduksi adalah konsentrasi substrat tepung onggok 10% pada hari ke-3. Dengan konsentrasi substrat, jumlah spora *A. niger* sebagai inokulum dan kondisi lingkungan yang sama, substrat 10% diperlakukan sekali lagi untuk memproduksi gula reduksi.

Pemanenan gula reduksi dilakukan pada hari ke-3, dengan disentrifus untuk mengendapkan substrat tepung onggok yang masih ada dan dilakukan penyaringan. Konsentrasi gula reduksi yang dihasilkan dari proses produksi gula reduksi yaitu 1,9352 g/100mL sebanyak 400 mL.

Konsentrasi gula reduksi yang dihasilkan sedikit lebih tinggi karena volume untuk produksi gula reduksi diperbanyak sampai 300 mL. Waktu pemanenan gula reduksi, tidak dilakukan pengenceran dengan aquades steril, sehingga konsentrasi gula reduksinya bisa lebih tinggi.

Fermentasi etanol oleh *Z. mobilis*

Pertumbuhan sel *Z. mobilis* selama fermentasi

Penghitungan jumlah sel bakteri untuk mengetahui pertumbuhan bakteri selama proses fermentasi berlangsung.

Tabel 4. Jumlah sel bakteri *Z. mobilis* dan konsentrasi etanol (%) selama 72 jam fermentasi etanol.

Jam	Jumlah sel/mL	Log jumlah sel	Konsentrasi etanol (%)
0	$5,1 \times 10^7$	7,7075702	0,0
24	$7,2 \times 10^7$	7,8573325	0,3
48	$1,5 \times 10^7$	7,1760913	0,5
72	$4,7 \times 10^6$	6,6720979	0,7

Dari Tabel 4 terlihat jumlah sel bakteri mengalami peningkatan pada jam ke-24 dan mengalami penurunan pada jam ke-48 dan ke-72 jumlah sel. Jumlah sel *Z. mobilis* pada jam ke-24 mengalami peningkatan disebabkan tersedianya gula reduksi sebagai substrat yang masih cukup banyak yaitu 1,9253 g/100mL. Sedangkan penurunan jumlah sel pada jam ke-48 dan ke-72 disebabkan substrat gula reduksi yang ada tinggal sedikit, sehingga gula reduksi yang ada tidak cukup untuk pertumbuhan sel *Z. mobilis*. Peningkatan jumlah sel pada jam ke-24, diikuti dengan peningkatan konsentrasi etanol. Hal ini menunjukkan bahwa gula reduksi yang ada dimanfaatkan oleh *Z. mobilis* untuk tumbuh dan menghasilkan etanol. Peningkatan jumlah sel dan konsentrasi etanol efektif pada 24 jam pertama.

Etanol merupakan hasil samping pemecahan glukosa oleh *Z. mobilis* sehingga pada waktu jumlah sel meningkat maka etanol yang dihasilkan juga meningkat. Pada jalur ED, terbentuk suatu unit antara yaitu 2 keto-3 deoksi-6 fosfoglukonat (KDFG). Komponen ini akan dipecah oleh aldolase menjadi gliseraldehid-3P dan piruvat (Fardiaz, 1988). Pada keadaan anaerob gliseraldehid-3P akan diubah menjadi piruvat, sehingga pada jalur ED akan dihasilkan 2 mol piruvat dan 1 mol ATP. 2 mol piruvat yang dihasilkan akan diubah menjadi 2 mol etanol dan 2 mol CO₂ (Lee and Huang, 2000). Sedangkan

pada jam ke-48 dan ke-72, jumlah sel *Z. mobilis* mengalami penurunan. Penurunan jumlah sel menyebabkan laju pembentukan etanol juga melambat (0,2/24 jam). Karena menurut Mc Lellan (1999), produksi etanol mengalami penurunan ketika biomassa sel mulai turun.

Konsentrasi gula reduksi dan etanol selama fermentasi oleh *Z. mobilis*

Tabel 5. Konsentrasi gula reduksi (g/100mL) dan etanol (%) selama 72 jam fermentasi etanol oleh *Z. mobilis*

Jam	Kons. gula reduksi (g/100mL)	Kons. etanol (%)	Laju pembentukan etanol / 24 jam
0	1,9253	0,0	0,0
24	0,4043	0,3	0,3
48	0,3834	0,5	0,2
72	0,2813	0,7	0,2

Tabel 5 menunjukkan penurunan konsentrasi gula reduksi diikuti dengan adanya kenaikan konsentrasi etanol. Konsentrasi gula reduksi pada jam ke-24 mengalami penurunan sebanyak 1,52 100 g/100mL. Sedangkan pada jam ke-48 dan ke-72 mengalami penurunan sebanyak 0,0219 g/100mL dan 0,1021 g/100mL. Hal ini menunjukkan bahwa *Z. mobilis* bekerja optimum pada 24 jam pertama.

Laju pembentukan etanol yang paling tinggi adalah pada jam ke-24 yaitu 0,3/24 jam. Pada jam ke-48 dan ke-72, konsentrasi etanol masih mengalami peningkatan tetapi laju pembentukan etanolnya tidak setinggi pada jam ke-24. Penurunan konsentrasi gula reduksi dan kenaikan konsentrasi etanol yang paling tinggi pada 24 jam pertama. Hal ini sesuai dengan pernyataan Doelle (1990), bahwa waktu fermentasi etanol untuk *Zymomonas* adalah 24-34 jam. Tersedianya gula reduksi sebagai substrat fermentasi yang masih banyak pada 24 jam pertama sehingga bakteri *Z. mobilis* dapat tumbuh dan menghasilkan etanol.

Pada penelitian ini, efisiensi pembentukan etanol selama 72 jam yaitu sebesar 83%. Efisiensi pembentukan etanol oleh *Z. mobilis* selama 72 jam sudah bagus, karena menurut Doelle (1990), industri besar melakukan percobaan dengan menggunakan *Zymomonas* pada bioreaktor sampai 586.000 L, prosesnya menunjukkan perubahan efisiensi sebesar 96-98%.

KESIMPULAN

Pada penelitian fermentasi etanol dari limbah padat tapioka (onggok) oleh *A. niger* dan *Z. mobilis* ini menghasilkan: (i) Konsentrasi tepung onggok 10% yang terbaik untuk menghasilkan gula reduksi maksimum oleh *A. niger*. Konsentrasi gula reduksi yang dihasilkan sebesar 1,1842 g/100mL pada hari ke-3. (ii) Konsentrasi etanol yang dihasilkan selama proses fermentasi adalah 0,7% (v/v) dan efisiensi perubahan gula reduksi hasil sakarifikasi menjadi etanol oleh *Z. mobilis* adalah 83% selama 72 jam fermentasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 1981. *Microbial Processes: Promising Technology for Developing Countries*. Washington: National Academy of Science.
- Balai Penelitian dan Pengembangan Industri Semarang. 1997. *Laporan Teknologi Pengolahan Air Buangan Industri Tapioka*. Semarang: Balai Penelitian dan Pengembangan Industri.
- Berka, R.M., D Nigel, and W. Michael, 1992. Industrial Enzymes from *Aspergillus* spesies. In Bennett, J.W., and M.A. Klich, (Eds.) *Aspergillus Biology and Industrial Applications*. New York: Butterworth-Heinemann.
- Crueger, W. and A. Crueger, 1984. Organic Feedstocks Produced by Fermentation. In Thomas, D.B (ed.) *Biotechnology: A Textbook of Industrial Microbiology*. Madison: Sinauer Associates Inc.
- Doelle, H.W. 1990. *Zymomonas Ethanol Process Laboratory to Commercial Evaluation*. In Yu, P.L. (ed.). *Fermentation Technologies Industrial Application*. New York: Elsevier Applied Science.
- Fardiaz, S. 1988. *Fisiologi Fermentasi*. Bogor: PAU IPB.
- Kumalaningsih, S dan N. Hidayat, 1995. *Mikrobiologi Hasil Pertanian*. Malang: IKIP Press.
- Lee, W and C. Huang, 2000. Modelling of Ethanol Fermentation Using *Zymomonas mobilis* ATCC 10988 Grown on The Media Containing Glucose and Fructose. *Biochemistry Engineering Journal* 4 (3): 217-227.
- Mc Lellan, P.J., A.J. Daugulis, and J. Li, 1999. The Incidence of Oscillatory Behavior in The Continuous Fermentations of *Z. mobilis*. *Biotechnology Progress* 15 (4): 667-680.
- Priest, F.G. 1992. Enzymes extracellular. In Lederberg, J. (ed.) *Encyclopedia of Microbiology*. San Fransisco: Academic Press Inc.
- Reed, G. 1975. *Enzymes in Food Processing*. 2nd ed. London: Academic Press Inc.
- Roger, S., D. Michael, and A.A. Edward, 1993. *The Microbial World*. New Jersey: Practice-Hall Inc.
- Tjokroadikoesoemo, P.S. 1993. *HFS dan Industri Ubi Kayu Lainnya*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Wang, M., C. Saricks, and M. Wu, 2002. *Fuel-Ethanol Energy Use and Greenhouse Gas Emissions of Fuel Ethanol Produced from U.S.M Corn*. www.ejpau.media.pl/series/art-04.html.
- Wijono, D. 1988. *Evaluasi Kinetika Proses Fermentasi Etanol oleh Zymomonas mobilis ZM 4**. FTP UGM dalam Bioproses dalam Industri Pangan. Yogyakarta: PAU Pangan dan Gizi UGM.