



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar Unand.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Unand.

**PEMBUATAN BIOETANOL DARI SAGU (*Metroxylon Sp*) MELALUI  
HIDROLISIS ENZIMATIS DAN FERMENTASI MENGGUNAKAN  
*Sacharomyes Cerevisiae***

**SKRIPSI**



**YOSI OPTHYMAL  
07932011**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS ANDALAS  
PADANG  
2012**

## LEMBARAN PENGESAHAN

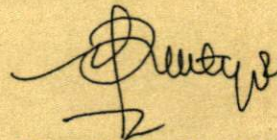
PEMBUATAN BIOETANOL DARI PATI SAGU (*Metroxylon Sp*) MELALUI HIDROLISIS ENZIMATIS DAN FERMENTASI MENGGUNAKAN *Sacharomyces cerevisiae*. Skripsi disusun oleh Yosi Opthymal (07932011) sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (Strata 1) pada Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas.

Pembimbing I



**Elida Mardiah M.Si**  
NIP.195607121983032002

Pembimbing II



**Marniati Salim M.Si**  
NIP.195604061983032001

**Pembuatan Bioetanol dari Pati Sagu (*Metroxylon sp*) Melalui Hidrolisis Enzimatis dan Fermentasi Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae***

Oleh :

Yosi Opthymal (07932011)

Elida Mardiah, MS\* Marniati Salim, MS\*\*

Pembimbing I\* Pembimbing II\*\*

**Abstrak**

Pembuatan bioetanol dari pati sagu ini bertujuan untuk mengamati pengaruh variasi volume enzim  $\alpha$ -amilase, glukoamilase dan variasi lama waktu hidrolisis terhadap konsentrasi gula reduksi. Dan mengamati pengaruh lama waktu fermentasi serta pengaruh penambahan variasi *Saccharomyces cerevisiae* terhadap konsentrasi etanol yang dihasilkan. Sebanyak 15 g pati sagu yang telah dihaluskan dihidrolisis menggunakan enzim  $\alpha$ -amilase dan glukoamilase dengan variasi volume 3, 4, 5, 6, 7, 8, mL dan variasi lama hidrolisis 1, 2, 3, 4 jam. Glukosa yang dihasilkan dianalisis menggunakan metode Somogy-Nelson. Hidrolisis dengan penambahan 6 mL enzim  $\alpha$ -amilase dan 6 mL glukoamilase selama 2 jam memberikan konsentrasi glukosa optimum sebesar 59,11 g/L. Hidrolisat yang dihasilkan dari proses hidrolisis dilanjutkan pada proses fermentasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* yang diisolasi dari fermipan. Hasilnya dianalisis dengan GC. Produksi etanol maksimum didapat setelah fermentasi 96jam dengan jumlah *S. cerevisiae* sebanyak 25mL. Konsentrasi etanol yang diperoleh sebesar 3,742 %.

**Kata Kunci :** bioetanol, pati sagu, hidrolisis, fermentasi, Amilase

**Production of Bioethanol From Sago Starch (*Metroxylon Sp*) Through Enzymatic Hydrolysis and Fermentation Using *Saccharomyces Cerevisiae***

By:

Yosi Ophymal (07932011)

Bachelor of Chemistry Faculty of Mathematic and Natural Science  
Andalas University

Advised by Elida Mardiah, MS and Marniati Salim, MS

**Abstract**

Research of bioethanol from sago starch were focused to observe the influence of variation of volume  $\alpha$ -amylase, glucoamylase and variation of hydrolysis time to the sugar reduction concentration. Beside that, the research focused to observe the influence of fermentation time and variation of addition of *Saccharomyces cerevisiae* to the ethanol concentration. 15 gram sago starch were grinded and hydrolyzed using  $\alpha$ -amylase and glucoamylase by the variation of volume 3, 4, 5, 6, 7, 8mL and the variation of hydrolysis time 1, 2, 3, 4, hours. Glucose which produced was analyzed using somogy nelson method. Hydrolysis with the addition Of 6 mL of enzyme  $\alpha$ -amylase and 6 mL glucoamylase for 2 hours give the optimum concentration obtained 59,11 g/L. Hidrolisat that resulting of hydrolysis process is drawnd out on fermentation process utilizes *Saccharomyces cerevisiae* one that insulation from fermipan. The result were analyzed by GC. Optimum ethanol production obtained at 96 hours of fermentation time, with the amount of *Saccharomyces cerevisiae* 25 mL. Ethanol concetration obtained at 3,742%.

**Key word ;** bioethanol, sago starch, hydrolysis, fermentation, Amylase

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, segala puji bagi Allah SWT atas limpahan berkah, rahmat dan hidaya-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini. Skripsi yang berjudul **“PEMBUATAN BIOETANOL DARI PATI SAGU (*Metroxylon Sp*) Via HIDROLISIS ENZIMATIS DAN FERMENTASI MENGGUNAKAN *Sacharomyces Cerevisiae*”** ini disusun berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas dan Laboratorium Kesehatan Padang.

Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Ibu Elida Mardiah, MS selaku pembimbing I dan ibu Marniati Salim, MS selaku pembimbing II, atas arahan dan bimbingan yang telah diberikan selama penelitian dan penulisan skripsi ini.
2. Bapak Dr. Adlis Santoni selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA UNAND.
3. Bapak Dr. Mai Efdi selaku Koordinator Pendidikan Jurusan Kimia FMIPA UNAND.
4. Bapak Dr. Syukri, M.Si selaku Pembimbing Akademik yang telah memberikan arahan dan bimbingan.
5. Semua staf pengajar di Jurusan Kimia yang telah bersedia memberi ilmunya dan membimbing selama menjadi mahasiswa di Jurusan Kimia UNAND.
6. Bapak Adi Kepala Laboratorium Lingkungan di LABKES Padang, yang telah membantu kelancaran penelitian dan atas bimbingannya.
7. Ibu Fitriyani, Amd selaku Analis Laboratorium Bioteknologi FMIPA UNAND.
8. Semua analis laboratorium Kimia FMIPA yang telah mendukung kelancaran penelitian ini.
9. Semua Pegawai Tata Usaha yang telah membantu kelancaran dalam urusan administrasi dan kelengkapan selama ini.
10. Kedua orang tua, dan seluruh keluarga besar atas do'a, kasih sayang dan perhatian yang telah diberikan selama ini.

11. Teman-teman SoCh4 (Mahasiswa kimia angkatan 2007) dan sahabat-sahabat yang tidak dapat disebutkan satu-persatu, atas semangat persahabatan yang telah diberikan.

Penulis menyadari bahwa masih terdapat kekurangan dalam penulisan skripsi ini. Oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bermanfaat untuk menyempurnakan skripsi ini.

Padang, Januari 2012

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....	i
<b>ABSTRAK</b> .....	iii
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	iii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	iv
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	vi
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	vii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	viii
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Perumusan Masalah .....	2
1.3 Tujuan Penelitian .....	2
1.4 Manfaat Penelitian .....	3
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Pati sagu .....	4
2.2 Hidrolisis Pati .....	5
2.3 Enzim Amylase .....	7
2.4 Fermentasi etanol .....	8
2.5 Bioetanol .....	9
2.6 <i>Sacharomyces cerevisiae</i> .....	10
<b>BAB III. METODOLOGI PENELITIAN</b>	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	11
3.2 Alat dan Bahan	
3.2.1 Alat .....	11
3.2.2 Bahan .....	11
3.3 Pembuatan Reagen dan medium	
3.3.1 Reagen Nelson .....	11
3.3.2 Reagen Fosfomolibdat .....	12
3.3.3 Medium PDA .....	12

3.3.4	Medium Inokulum .....	12
3.3.5	Medium Nutrisi .....	12
3.3.6	Buffer Asetat .....	13
3.3.7	Larutan Standar Glukosa .....	13
3.3.8	Larutan Standar Etanol .....	13
3.4	Prosedur Penelitian	
3.4.1	Persiapan Sampel .....	13
3.4.2	Isolasi <i>Saccharomyces cerevisiae</i> dari Fermipan .....	14
3.4.3	Perbanyakkan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	14
3.4.4	Pembuatan Kurva Standar Glukosa .....	15
3.4.5	Proses Hidrolisis	
3.4.5.1	Variasi Penambahan $\alpha$ -amilase .....	15
3.4.5.2	Variasi Penambahan Glukoamilase dan Lama Hidrolisis .....	15
3.4.5.3	Penentuan Konsentrasi Glukosa dari Hasil Hidrolisis .....	16
3.4.6	Fermentasi Bioetanol	
3.4.6.1	Pengaruh Variasi Lama Fermentasi Fermentasi .....	16
3.4.6.2	Pengaruh jumlah <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	16
3.4.7.	Penentuan konsentrasi etanol dengan GC ( <i>QP 2010 S SHIMADZHU</i> ) ...	17

#### **BAB IV. HASIL DAN DISKUSI**

4.1	Isolasi dan Pemurnian <i>Saccharomyces cerevisiae</i> dari Fermipan .....	18
4.2	Variasi Penambahan Enzim $\alpha$ - amylase .....	19
4.3	Variasi Penambahan enzim Glukoamilase dan Lama Hidrolisis .....	20
4.4	Pengaruh Lama Fermentasi .....	22
4.5	Pengaruh penambahan <i>Saccharomyces sereviceae</i> .....	22

#### **BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN**

5.1	Kesimpulan .....	25
5.2	Saran .....	25

#### **DAFTAR PUSTAKA**

#### **LAMPIRAN**

## BAB I PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Bioetanol merupakan bahan bakar nabati (BBN) yang berasal dari biomassa yang mengandung pati, gula, dan lignoselulosa. Bahan bakar nabati merupakan alternatif pengganti bahan bakar minyak (BBM), sehingga dapat mengurangi ketergantungan masyarakat pada penggunaan BBM. BBM tidak dapat dipertahankan lagi penggunaannya, karena jumlah cadangan minyak bumi semakin berkurang dan juga kontribusinya terhadap pemanasan global akibat terakumulasinya karbondioksida ( $\text{CO}_2$ ) di atmosfer dari hasil pembakaran minyak bumi<sup>(1)</sup>.

Dengan melihat kondisi terbatasnya cadangan energi fosil, serta kepedulian kelestarian lingkungan hidup menyebabkan perhatian terhadap sumber energi yang berasal dari bahan nabati semakin meningkat. Terutama pada sumber-sumber energi yang dapat diperbarui yang berasal dari hasil pertanian, karena sumber energi tersebut dapat menghasilkan biomassa. Biomassa yang merupakan bahan-bahan organik yang berasal dari tumbuhan dapat diproses menjadi bioenergi.

Sagu (*Metroxylon Sp*) merupakan sumber alam yang begitu banyak tumbuh di wilayah Indonesia dan pemanfaatannya belum maksimal sebagai bioenergi. Dari bagian sagu, seperti pati sagu biasanya diolah menjadi bahan makanan dan pakan, sedangkan bagian daunnya digunakan sebagai atap rumah, sehingga masyarakat belum memiliki daya jual yang tinggi terhadap pengolahan sagu. Maka dari itu penulis berusaha mengembangkan pengolahan pati sagu menjadi bioetanol diharapkan dapat menjadi sebuah alternatif lain dalam pemanfaatan sagu. Pati sagu memiliki kadar amilosa sagu berkisar antara 24-31% dengan berat molekul  $1,41 \times 10^6$ - $2,23 \times 10^6$  Da, sedangkan amilopektin sagu  $6,70 \times 10^6$  -  $9,23 \times 10^6$  Da. Amilosa dan amilopektin dapat dipecah dengan proses hidrolisis menghasilkan glukosa<sup>(2)</sup>.

Pada prinsipnya pembuatan etanol dari pati sagu ini diawali dengan proses hidrolisis pati menjadi gula sederhana, dengan penambahan enzim, yaitu enzim

*α-amilase* dan *glukoamilase*. Proses ini disebut juga hidrolisis pati secara enzimatis. Hidrolisis secara enzimatis lebih unggul dibandingkan hidrolisis asam, karena ramah lingkungan, tidak menimbulkan korosi pada alat. Hidrolisis asam akan memutus rantai polimer secara acak, sedangkan hidrolisis enzimatis akan memutus rantai polimer secara spesifik pada percabangan gula tertentu. Kemudian hidrolisat difermentasi dengan mikroorganisme yaitu *Saccharomyces cerevisiae*. Dari hasil fermentasi didapatkanlah etanol yang harus dimurnikan dengan proses destilasi.<sup>(2)</sup>

### 1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan di atas, maka terdapat beberapa masalah yang perlu dirumuskan yaitu :

1. Apakah lama hidrolisis yang digunakan dapat mempengaruhi produksi gula reduksi
2. Apakah jumlah enzim pada proses hidrolisis mempengaruhi produksi gula reduksi
3. Apakah lama fermentasi dan jumlah *Saccharomyces cerevisiae* mempengaruhi produksi bioetanol

### 1.3. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk menghasilkan bioetanol dari pati sagu dengan cara fermentasi oleh *Saccharomyces cerevisiae*, serta mengamati hal – hal yang dapat mempengaruhi konsentrasi etanol. Hal-hal yang perlu diamati tersebut adalah :

1. Pengaruh variasi jumlah enzim *α-amilase* dan *glukoamilase* yang ditambahkan saat hidrolisis terhadap konsentrasi gula reduksi.
2. Pengaruh lama fermentasi dan variasi jumlah *S. cerevisiae* yang ditambahkan saat fermentasi terhadap konsentrasi etanol.

#### **1.4. Manfaat Penelitian**

Hasil yang diinginkan dari penelitian ini adalah menjadikan pati sagu sebagai bahan alternatif untuk campuran BBM, selain sebagai makanan ataupun pakan serta meningkatkan daya jual pati sagu.

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Pati Sagu

Sagu merupakan salah satu hasil hutan bukan kayu (HHBK). Tumbuhan ini merupakan tumbuhan penghasil karbohidrat yang cukup tinggi dibanding dengan tanaman penghasil karbohidrat lainnya. Secara alami tumbuhan sagu tersebar hampir di setiap pulau atau kepulauan di Indonesia dengan luasan terbesar di Papua, sedangkan sagu semi budidaya terdapat di Maluku, Sulawesi, Kalimantan dan Sumatera.<sup>(1)</sup>

Batang sagu merupakan bagian yang terpenting, karena merupakan gudang penyimpanan tepung atau karbohidrat yang pemanfaatannya dalam industri sangat luas, seperti industri pangan, pakan, alkohol dan bermacam-macam industri kimia lainnya. Ukuran batang sagu berbeda-beda tergantung dari jenis, umur dan lingkungan atau habitat pertumbuhannya. Pada umur 3 - 11 tahun tinggi batang bebas daun sekitar 3 - 16 m, bahkan dapat mencapai 20 m. Batang sagu berbentuk silinder dan diameter sekitar 50 cm bahkan mencapai 80 - 90 cm. Umumnya diameter batang bagian bawah agak lebih besar daripada bagian atas dan batang bagian bawah umumnya mengandung pati lebih tinggi daripada bagian atas. Batang sagu terdiri dari lapisan kulit bagian luar yang keras dan bagian dalam berupa empulur yang mengandung serat - serat dan tepung. Tebal kulit yang keras sekitar 3 - 5 cm. Berat kulit batang sagu sekitar 17 - 25 persen dari berat batang sedangkan berat empulurnya sekitar 78 - 83%. Perbandingan antara berat kulit dan empulur selama pertumbuhan sagu relatif tetap. Komponen yang terkandung didalam sagu dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. komponen-komponen yang terdapat dalam sagu<sup>(1)</sup>:

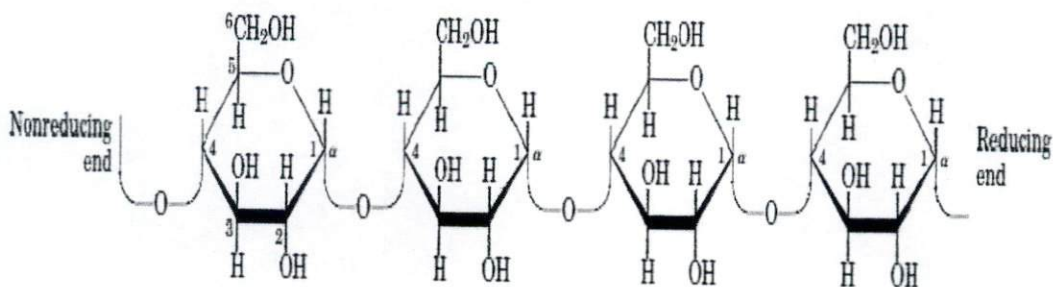
Komponen	Jumlah (%)
Protein	0,62
Abu	0,32
Serat	0,15
Pati	75,88
Amilosa	23,94
Amilopektin	76,06

## 2.2. Hidrolisis Pati

Hidrolisis adalah proses dekomposisi kimia dengan menggunakan air untuk memisahkan ikatan kimia dari substansinya. Hidrolisis pati merupakan proses pemecahan molekul amilum menjadi bagian-bagian penyusunnya yang lebih sederhana seperti dekstrin, isomaltosa, maltosa dan glukosa<sup>(17)</sup>.

Istilah “pati” sering disebut dengan “tepung” dan “kanji”. Sebenarnya pati adalah penyusun utama tepung. Tepung bisa saja tidak hanya mengandung pati, karena tercampur atau sengaja dicampur dengan protein, vitamin, pengawet, dan sebagainya. Pati ada yang berasal dari ketela, beras, jagung, kentang, gandum, sagu, dan lainnya. Pati (*starch*) adalah karbohidrat kompleks yang mengandung dua macam polimer, yaitu amilosa dan amilopektin, dalam komposisi yang berbeda-beda.

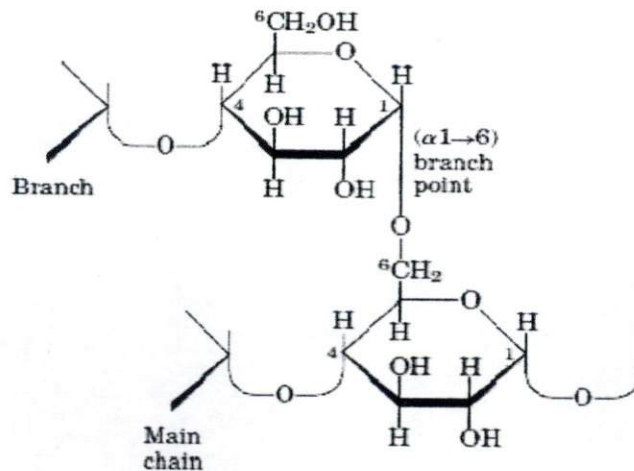
Amilosa merupakan polisakarida, yaitu polimer yang tersusun dari glukosa sebagai monomernya. Setiap monomer terhubung dengan ikatan (1,4) glikosidik. Amilosa adalah polimer yang tidak bercabang. Struktur amilosa dapat dilihat pada gambar 1.<sup>(12)</sup>



Gambar 1. Struktur amilosa

Amilopektin merupakan polisakarida yang tersusun dari monomer  $\alpha$ -glukosa. Amilopektin merupakan senyawa penyusun pati, bersama-sama dengan amilosa. Walaupun tersusun dari monomer yang sama, amilopektin berbeda dengan amilosa, yang terlihat dari karakteristik fisiknya.

Secara struktural amilopektin terbentuk dari rantai glukosa yang terikat dengan ikatan (1,6) glikosidik, hal ini sama dengan yang terdapat pada amilosa. glikosidik. Struktur amilopektin dapat dilihat pada gambar 2.<sup>(12)</sup>



**Gambar 2. Rantai Amilopektin**

Ikatan glikosidik merupakan ikatan yang menggabungkan disakarida (seperti maltosa, laktosa, dan sukrosa) yang terdiri dari 2 monosakarida secara kovalen, yang dibentuk oleh gugus hidroksil dari satu gula reduksi dengan karbon anomer gula lainnya.

Hidrolisis pati terdiri dari beberapa tahapan yaitu sebagai berikut:

a. Gelatinisasi

Gelatinisasi, yaitu memecah pati yang berbentuk granular menjadi suspensi. Granular pati dibuat membengkak akibat peningkatan volume oleh air dan tidak dapat kembali lagi ke kondisi semula. Perubahan inilah yang disebut gelatinisasi. Suhu pada saat granular pecah disebut suhu gelatinisasi yang dapat dilakukan dengan adanya panas.

b. Liquifikasi

Tahap liquifikasi secara enzimatik merupakan proses hidrolisa pati menjadi dekstrin oleh enzim  $\alpha$ -amilase pada suhu di atas suhu gelatinisasi dan pH optimum aktivitas enzim, selama waktu yang telah ditentukan untuk setiap jenis enzim.

c. Sakarifikasi

Tahap sakarifikasi adalah tahap pemecahan gula kompleks menjadi gula sederhana dengan penambahan enzim glucoamilase. Pada tahap ini dekstrin diubah menjadi glukosa.<sup>(18)</sup>

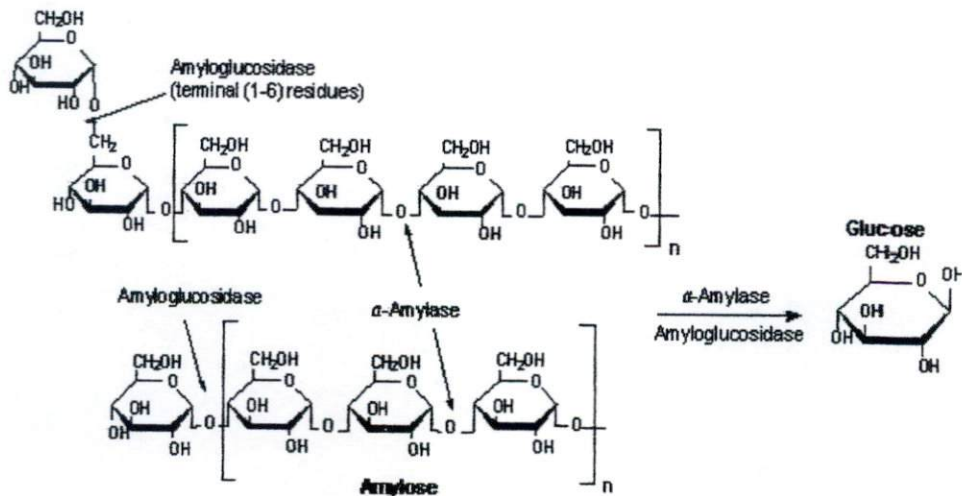
### 2.3 Enzim Amilase

Enzim yang biasa digunakan untuk proses pembuatan glukosa secara sinergis adalah enzim  $\alpha$ -amilase dan enzim glukoamilase. Enzim  $\alpha$ -amilase akan memotong ikatan amilosa dengan cepat pada pati kental yang telah mengalami gelatinisasi. Kemudian enzim glukoamilase akan menguraikan pati secara sempurna menjadi glukosa pada tahap sakarifikasi. Enzim  $\alpha$ -amilase merupakan salah satu jenis enzim yang berperan atau berfungsi menghidrolisis atau memecah molekul-molekul pati menjadi molekul-molekul lain yang lebih sederhana seperti dekstrin, maltosa, dan glukosa. Mekanisme kerja dari enzim alfa amilase adalah dengan cara memecah ikatan  $\alpha$ -1,4 glikosidik rantai glukon pati dari sebelah dalam<sup>(9)</sup>. Enzim ini dapat dihasilkan di dalam tubuh manusia, yaitu pada kelenjar ludah dan pankreas. Tumbuhan dan beberapa jenis bakteri juga dapat memproduksi enzim amilase. Enzim ini diklasifikasikan menjadi tiga bagian, yaitu :  $\alpha$ -Amilase,  $\beta$ -Amilase dan  $\gamma$ -Amilase.

Nama lain  $\alpha$ -amilase adalah 1,4- $\alpha$ -D-glucan glucanohydrolase atau biasa juga disebut glycogenase. Enzim  $\alpha$ -amilase umumnya diisolasi dari *Bacillus amyloquefaciens*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*, *Aspergillus oryzae*, dan *A. Niger*.<sup>(15)</sup>

Enzim Glukoamilase berperan dalam proses sakarifikasi dengan aktivitas optimum pada pH dan suhu masing-masing pada kisaran 4,5–5,0 dan 60 °C. Enzim ini menghidrolisis ikatan 1,4 glikosida dan ikatan 1,6 glikosida dari pati dan oligosakarida menjadi unit-unit glukosa. Kecepatan hidrolisis tergantung pada panjang rantai molekul. Misalnya maltodekstroza dan oligosakarida dengan bobot molekul lebih tinggi akan dihidrolisis lebihcepat dibanding maltosa<sup>(18)</sup>.

Reaksi kimia pembuatan glukosa dengan hidrolisa pati adalah :



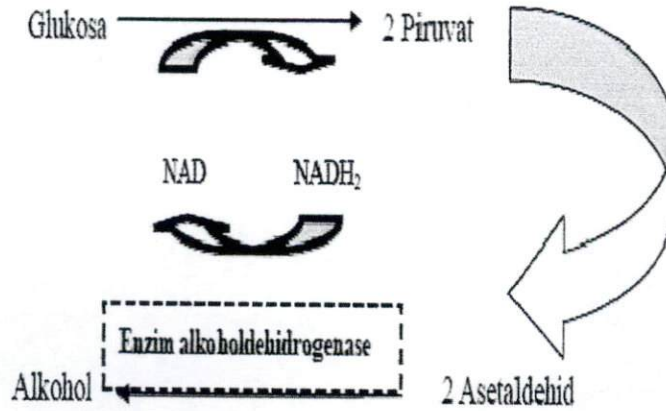
**Gambar 3.** Reaksi kimia pembuatan glukosa dengan hidrolisis pati. <sup>(7)</sup>

## 2.4. Fermentasi Etanol

Faktor-faktor yang mempengaruhi proses fermentasi untuk menghasilkan etanol adalah: sumber karbon, gas karbondioksida, pH substrat, nutrisi, temperatur, dan oksigen. Untuk pertumbuhannya, yeast memerlukan energi yang berasal dari karbon. Gula adalah substrat yang lebih disukai. Oleh karenanya konsentrasi gula sangat mempengaruhi kuantitas alkohol yang dihasilkan<sup>(2)</sup>.

Fermentasi alkohol atau alkoholisasi adalah proses perubahan gula menjadi alkohol dan CO<sub>2</sub> oleh mikroba, terutama oleh khamir *Saccharomyces cerevisiae*. Karbohidrat akan dipecah dahulu menjadi gula sederhana yaitu dengan hidrolisis pati menjadi unit-unit glukosa. Dalam tahap pertama fermentasi glukosa selalu terbentuk asam piruvat melalui jalur *Embden Meyerhof Parnas* (EMP) atau glikolisis.

Piruvat tersebut diubah menjadi alkohol melalui dua tahap yaitu pertama, piruvat didekarboksilasi menjadi asetaldehid oleh *piruvat dekarboksilase* (1) dengan melibatkan tiamin pirofosfat dan tahap kedua asetaldehid oleh *alkoholdehidrogenase*(2) direduksi dengan NADH<sub>2</sub> menjadi alkohol. Perubahan glukosa menjadi alkohol dapat dilihat pada Gambar 4 di bawah ini :



**Gambar 4 : Skema Perubahan Glukosa Menjadi Alkohol**

Selain alkohol, dihasilkan juga sejumlah senyawa lain seperti asam suksinat, amilalkohol dan gliserol. Terdapat beberapa faktor yang berpengaruh terhadap fermentasi alkohol diantaranya konsentrasi inokulum, lama fermentasi, nutrisi dan pH.<sup>(7)</sup>

## 2.5. Bioetanol

Bioetanol adalah etanol atau etil alkohol ( $C_2H_5OH$ ). Etanol mudah mengalir, mudah menguap, mudah terbakar, higroskopik dengan karakteristik bau spiritus, mudah terbakar dengan api biru tanpa asap. Dapat larut dalam air, kloroform, eter, gliserol, dan hampir semua pelarut organik lainnya. Bioetanol diproduksi dengan cara fermentasi menggunakan bahan baku hayati, sedangkan etanol dapat dibuat dengan cara sintesis. melalui hidrasi katalitik dari etilen atau bisa juga dengan fermentasi gula menggunakan ragi *Saccharomyces cerevisiae*. Beberapa bakteri seperti *Zymomonas mobilis* juga diketahui memiliki kemampuan untuk melakukan fermentasi untuk memproduksi etanol.<sup>(4)</sup>

Bioetanol disebut juga sebagai bahan kimia yang diproduksi dari bahan pangan yang mengandung pati, seperti ubi kayu, ubi jalar, jagung, dan sagu. Bioetanol merupakan bahan bakar dari minyak nabati yang memiliki sifat menyerupai minyak premium.



Bahan baku pembuatan bioetanol ini dibagi menjadi tiga kelompok yaitu:

a. Bahan sukrosa

Bahan - bahan yang termasuk dalam kelompok ini antara lain nira, tebu, nira nipah, nira sargum manis, nira kelapa, nira aren, dan sari buah mete.

b. Bahan berpati

Bahan-bahan yang termasuk kelompok ini adalah bahan-bahan yang mengandung pati atau karbohidrat. Bahan-bahan tersebut antara lain tepung ubi ganyong, sorgum biji, jagung, cantel, sagu, ubi kayu, ubi jalar, dan lain - lain.

c. Bahan berselulosa (lignoselulosa )

Bahan berselulosa artinya adalah bahan tanaman yang mengandung selulosa (serat), antara lain kayu, jerami, batang pisang, tongkol jagung dan lain-lain.

Berdasarkan ketiga jenis bahan baku tersebut, bahan berselulosa merupakan bahan yang jarang digunakan dan cukup sulit untuk dilakukan. Hal ini karena adanya lignin yang sulit dicerna sehingga proses pembentukan glukosa menjadi lebih sulit.

Bioetanol yang digunakan sebagai bahan bakar mempunyai beberapa kelebihan, diantaranya lebih ramah lingkungan dan cara pembuatannya yang sederhana yaitu fermentasi menggunakan mikroorganisme tertentu.<sup>(14)</sup>

## 2.6 *Saccharomyces Cerevisiae*

*Saccharomyces* merupakan mikroorganisme yang sangat dikenal masyarakat luas sebagai ragi roti (*baker's yeast*). Ragi roti ini selain digunakan dalam pembuatan makanan dan minuman, juga digunakan dalam industri etanol<sup>(5)</sup>. *S. cerevisiae* adalah mikroorganisme bersel tunggal dengan ukuran antara 5–20 mikron dan berbentuk bola atau telur. *S. cerevisiae* tidak bergerak karena tidak memiliki struktur tambahan di bagian luarnya seperti flagella<sup>(4)</sup>. Ragi ini memerlukan kondisi lingkungan yang cocok untuk pertumbuhannya, yaitu nutrisi sebagai sumber energi terutama gula, pH optimum 4-5, temperatur optimum 28°C-30°C. *Saccharomyces cerevisiae* mempunyai lapisan dinding luar yang terdiri dari polisakarida kompleks dan di bawah dinding luar. Sitoplasma mengandung suatu inti yang bebas (*discrete nucleus*) dan bagian yang berisi sejumlah besar cairan yang disebut *vakuola*.<sup>(5)</sup>

## BAB III METODOLOGI PENELITIAN

### 3.1. Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bioteknologi, jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas dan Balai Laboratorium Kesehatan, dari bulan Agustus – Desember 2011.

### 3.2 Alat dan Bahan

#### 3.2.1. Alat

Neraca analitik, cawan petri, botol vial, alat-alat gelas, incase, autoklaf, hot plate stirrer, blender, peralatan destilasi, kain saring, baskom, wadah plastik, termometer, spektrofotometer (Thermo Spectronic Genesys 20), jarum ose, kertas saring, kantung plastik steril, shaker inkubator, pH indikator, centrifuge, waterbath, stopwatch, dan GC (QP 2010 S SHIMADZHU).

#### 3.2.2. Bahan

Bahan yang digunakan antara lain pati sagu, akuabidest, Medium *Potato Dextrose Agar* (PDA), fermipan, dextrosa, enzim  $\alpha$ -amilase (novozyme), enzim glukoamilase (novozyme), natrium karbonat, natrium asetat, kalium natrium tartarat, natrium bikarbonat, natrium sulfat, tembaga sulfat hidrat, asam sulfat pekat, asam molibdat, natrium hidroksida 5%, natrium tungstat, asam asetat glasial, asampospat 85%,  $(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , dan yeast extract.

### 3.3. Pembuatan reagen dan medium

#### 3.3.1 Reagen Nelson

Reagen Nelson dibuat dengan mencampurkan 25 bagian Nelson A dengan 1 bagian Nelson B. Nelson A dibuat dengan melarutkan 2,5 gram natrium karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), 2,5 gram kalium natrium tartarat, 2 gram natrium bikarbonat ( $\text{NaHCO}_3$ ) dan 20 gram natrium sulfat dalam 100 ml akuabidest. Nelson B dibuat dengan melarutkan 7,5 gram tembaga sulfat hidrat ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) dalam 50 mL akuabidest, lalu ditambahkan 1 tetes asam sulfat pekat ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ).<sup>(13)</sup>

### 3.3.2 Reagen Fosfomolibdat

Reagen fosfomolibdat dibuat dengan cara melarutkan 1 gram natrium tungstat ( $\text{Na}_2\text{O}_4\text{W}$ ) ditambah 7 gram asam molibdat dalam 70 ml natrium hidroksida ( $\text{NaOH}$ ) 5 %. Larutan dididihkan selama 5 menit, kemudian dinginkan dan ditambahkan 25 ml asam pospat ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) 85 %, lalu dilarutkan dengan 100 ml akuabidest.

### 3.3.3 Medium *Potato Dextro Agar* (PDA)

Medium PDA merupakan medium padat yang digunakan untuk mengisolasi *Saccharomyces cerevisiae* dari fermipan. Kentang dikupas dan dipotong kecil-kecil, di timbang sebanyak 50 g, ditambahkan 250 mL akuabidest kedalam erlenmeyer 500 mL, kemudian dipanaskan sampai mendidih selama 15 menit. Air rebusan disaring dengan kertas saring untuk mendapatkan ekstrak kentang. Ekstrak kentang di tambahkan 5 g dektrosa, dan 5 g agar, ditutup dengan alumunium voil dan dipanaskan dengan *hot plate stirrer* hingga mendidih, disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu  $121^\circ\text{C}$  dengan tekanan 1,5 atm.<sup>(14)</sup> (Skema kerja dapat dilihat pada lampiran 3).

### 3.3.4 Medium Inokulum

Medium inokulum ini dibuat dengan melarutkan 1 g glukosa, 0,1 g ekstrak ragi 0,01 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,01 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  dan 0,01 g  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  dalam 100 mL akuabidest. Setelah itu larutan ini disterilisasi dengan autoklaf pada suhu  $121^\circ\text{C}$  selama 15 menit dan tekanan 1,5 atm.<sup>(14)</sup>

### 3.3.5 Medium Nutrisi

Medium nutrisi yang digunakan terdiri 0,2 g ekstrak ragi, 0,3 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,2 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,4 g/L  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , yang dilarutkan dalam 100 mL akuabidest steril.

### **3.3.6 Buffer Asetat**

Buffer asetat pH 5 dibuat dengan mencampurkan 20 ml larutan asam asetat 0,2M (1,2 ml as.asetat glasial dalam 100 ml akuabidest) dan 30 ml larutan natrium asetat 0,2M (1,6571 g natrium asetat dalam 100 ml akuabidest).

### **3.3.7 Larutan Standar Glukosa**

Sebanyak 0,1 gram glukosa dilarutkan dalam labu ukur 100 mL sebagai larutan induk (100 mg/L). Larutan standar glukosa divariasikan dengan konsentrasi 4, 8, 12, 16, 20 mg/L dengan memipet larutan induk glukosa sebanyak 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0 mL dan diencerkan dalam labu ukur 50 mL.

### **3.3.8 Larutan Standar Etanol**

Larutan etanol yang digunakan sebagai larutan induk adalah etanol 96%. Larutan standar etanol divariasikan dengan konsentrasi 0,1; 0,5; 1; 2; dan 4 % dengan mengambil larutan induk etanol sebanyak 0,01; 0,05; 0,10; 0,21; 0,41 mL dan diencerkan dalam labu ukur 10 mL.

## **3.4. Prosedur Penelitian**

### **3.4.1. Persiapan sampel**

Pati sagu sebagai sampel untuk memproduksi bioetanol, didapatkan dari penjual sagu potong di Pasarbaru Padang. Bagian sagu yang diambil adalah patinya. Sagu dipisahkan dari kulit luarnya yang keras, dipotong kecil-kecil dengan ukuran  $\pm$  3 cm kemudian tambahkan akuabidest sampai semua sampel terendam, dan haluskan dengan blender. Setelah semua sampel diblender, dilakukan penyaringan dengan kain saring. Air saringan tersebut ditampung dengan baskom, dan diamkan selama 1 jam sampai air saringan tidak keruh lagi. Setelah 1 jam, air saringan dibuang dengan hati-hati, agar endapan yang tertinggal tidak ikut terbang. Kemudian endapan dipindahkan ke wadah plastik yang lebar untuk mempercepat proses pengeringan. Pengeringan dilakukan dibawah sinar matahari, setelah itu dilakukan pengayakan agar seragam ukuran partikelnya. Pengayakan dengan menggunakan ayakan analitik yang berukuran 425  $\mu$ m. Didapatkan pati sagu untuk proses produksi bioetanol selanjutnya.

### 3.4.2 Isolasi *Saccharomyces cerevisiae* dari Fermipan

Isolasi *Saccharomyces cerevisiae* dari fermipan dilakukan dengan cara pengenceran bertingkat. Sebanyak 1 g fermipan ditimbang, dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambah dengan 9 mL air destilasi ( $10^{-1}$ ) lalu dikocok hingga homogen. 1 ml dari tabung ( $10^{-1}$ ) diambil dengan pipet ukur lalu dipindahkan ke tabung kedua dan ditambah dengan 9 mL air destilasi ( $10^{-2}$ ). Hal yang sama dilakukan sampai pengenceran  $10^{-8}$ . *S. cerevisiae* dengan pengenceran  $10^{-8}$  di biakkan pada medium PDA (*Potato Dextro Agar*) dengan cara mempipet 1 mL larutan, kemudian disebar pada permukaan medium secara merata, medium didiamkan selama 48 jam sampai koloninya tumbuh.

Untuk pemurniannya, 1 jarum ose koloni *Saccharomyces cerevisiae* dinokulasikan secara zig zag pada petridis yang berisi medium PDA, didiamkan selama 72 jam. (Skema kerja dapat dilihat pada lampiran 4).

### 3.4.3 Perbanyak *Saccharomyces cerevisiae*

*Saccharomyces cerevisiae* diperbanyak untuk digunakan dalam fermentasi. Sebanyak 3 ose khamir ini dinokulasikan ke dalam 100 mL medium inokulum kemudian diaduk dengan *shaker* kecepatan 220 rpm selama 20 jam. <sup>(13)</sup>

### 3.4.4 Pembuatan Kurva kalibrasi Standar Glukosa

Sebanyak 1 mL larutan standar glukosa (4, 8, 12, 16, 20mg/L) masing-masing dimasukkan kedalam tabung reaksi. Sebagai blanko digunakan 1 mL akuabidest. Kedalam masing-masing tabung reaksi ditambahkan 1 mL reagen Nelson kemudian dipanaskan pada air mendidih selama 20 menit. Setelah itu didinginkan tabung reaksi hingga suhu larutan  $\pm 25^{\circ}\text{C}$ , ditambahkan 1 mL reagen fosfomolibdat dan 7 mL akuabidest. Larutan dikocok, didiamkan selama 30 menit. Kemudian absorban masing-masing larutan diukur dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 580nm. (Skema kerja dapat dilihat pada lampiran 2). Dibuat kurva standar glukosa (Absorban Vs konsentrasi) pada lampiran 8.

### **3.4.5 Proses Hidrolisis**

#### **3.4.5.1 Variasi Penambahan $\alpha$ -amilase**

15 g pati sagu ditambah dengan 100 mL akuabidest dalam erlenmeyer 250 mL.  $\alpha$ -amilase ditambahkan dengan variasi 3, 4, 5, 6, 7 dan 8 ml dan dipanaskan pada suhu 80°C dan pH 5, serta diaduk 250 rpm selama 2 jam. Selanjutnya dilakukan penginaktifan enzim dengan cara dipanaskan pada suhu  $\pm 105^\circ\text{C}$  selama 15 menit. Larutan disentrifus, filtratnya diambil dianalisis dengan metoda Somogy-Nelson. Sampel yang memiliki absorban paling tinggi dilanjutkan untuk proses hidrolisis dengan menggunakan enzim glukoamilase. Didapatkan kondisi optimum dari variasi penambahan  $\alpha$ -amilase.<sup>(16)</sup> (Skema kerja dapat dilihat pada Lampiran 5).

#### **3.4.5.2 Variasi Penambahan Glukoamilase dan Lama Hidrolisis**

15 g pati sagu ditambahkan dengan 100 mL akuabidest dalam erlenmeyer 250 mL.  $\alpha$ -amilase ditambahkan 6 mL dan dipanaskan pada suhu 80°C dan pH 5 serta diaduk 250 rpm selama 2 jam. Selanjutnya dilakukan penginaktifan enzim dengan cara dipanaskan pada suhu  $\pm 105^\circ\text{C}$  selama 15 menit. Suhu diturunkan menjadi 55°C. Enzim glukoamilase ditambahkan sebanyak 3, 4, 5, 6, 7, dan 8 ml, diatur pH 5 dengan penambahan buffer asetat sebanyak 2mL, dengan suhu 55°C diaduk 250 rpm selama 1, 2, 3, 4 jam. Setelah itu dilakukan penginaktifan enzim dan analisis gula reduksi yang dihasilkan. Sampel yang memiliki konsentrasi gula reduksi paling tinggi dilanjutkan untuk proses fermentasi. Didapatkan kondisi optimum dari variasi penambahan glukoamilase dan lama hidrolisis.<sup>(16)</sup> (Skema kerja dapat dilihat pada Lampiran 5).

#### **3.4.5.3 Penentuan Konsentrasi Gula reduksi dari Hasil Hidrolisis**

Hidrolisat yang telah diinaktifkan enzimnya, di sentrifus. 1 ml filtrat dipipet dan diencerkan dalam labu ukur 10 mL (pengenceran  $10^1$ ) mL. 1 mL diambil dari pengenceran  $10^1$  dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml dan diencerkan kembali ( $10^2$ ), demikian selanjutnya sampai pengenceran ( $10^4$ ) mL. 1 mL dari pengenceran  $10^4$  ditambahkan dengan 1 mL reagen Nelson didalam tabung reaksi, lalu dipanaskan pada air mendidih selama 20 menit. Tabung reaksi didinginkan hingga

suhu larutan  $\pm 25^{\circ}\text{C}$ , lalu ditambahkan 1 mL reagen fosfomolibdat dan 7 mL akuabidest. Larutan dikocok, didiamkan selama 30 menit. Absorban masing-masing larutan sampel di ukur pada panjang gelombang 580 nm dengan spektrofotometer.

### **3.4.6.Fermentasi Bioetanol**

#### **3.4.6.1.Pengaruh Variasi Lama Fermentasi**

Sebanyak 50 mL hidrolisat dimasukkan kedalam 100 ml medium nutrisi, ditambahkan 20 mL *Saccharomyces cerevisiae*. pHnya diatur menjadi 5 dengan penambahan buffer asetat sebanyak 1mL, ditutup dengan alumunium voil. Sampel diaduk dengan *shaker* pada kecepatan 200 rpm selama 24, 48, 72, 96, 120, dan 144 jam. Proses fermentasi etanol dilakukan secara anaerob fakultatif. Hasil fermentasi selanjutnya didestilasi untuk memisahkan etanol dari larutan lainnya, sampai didapatkan destilat yang diindikasikan sebagai etanol. (Skema kerja dapat dilihat pada lampiran 6). Destilat di ukur konsentrasi etanolnya dengan menggunakan GC.

#### **3.4.6.2.Pengaruh jumlah *Saccharomyces cerevisiae*.**

Sebanyak 50 mL hidrolisat dimasukkan kedalam 100 ml medium nutrisi, ditambahkan *Saccharomyces cerevisiae* dengan variasi 15, 20, 25, 30mL. pHnya diatur menjadi 5 dengan penambahan buffer asetat sebanyak 1mL, ditutup dengan alumunium voil. Sampel diaduk dengan *shaker* pada kecepatan 200 rpm selama 96 jam. Proses fermentasi etanol dilakukan secara anaerob fakultatif. Hasil fermentasi selanjutnya didestilasi untuk memisahkan etanol dari larutan lainnya, sampai didapatkan destilat yang diindikasikan sebagai etanol. (Skema kerja dapat dilihat pada lampiran 6). Destilat di ukur konsentrasi etanolnya dengan menggunakan GC.

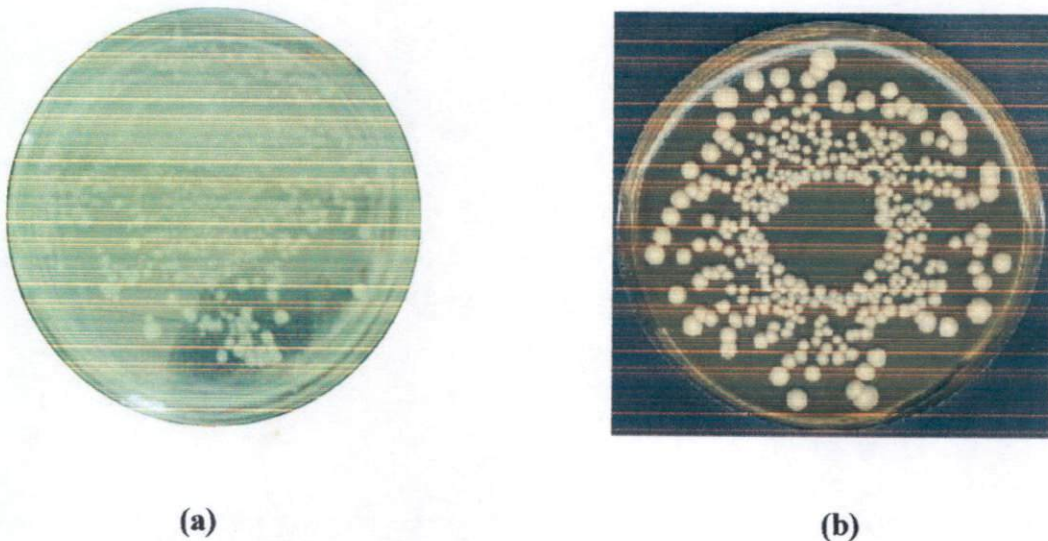
#### **3.4.7. Penentuan konsentrasi etanol dengan GC (QP 2010 S SHIMADZHU).**

Konsentrasi etanol dari hasil fermentasi dianalisis dengan GC, yang dilakukan di Balai Laboratorium Kesehatan Padang dengan kondisi operasional : gas pembawa Helium, tekanan 49,3 kPa, kolom yang digunakan Rtx5MS dengan panjang kolom 30 m dan diameter dalam 0,25  $\mu\text{m}$ , suhu oven 60<sup>0</sup>C, suhu injeksi 150<sup>0</sup>C, volume injeksi 0,5  $\mu\text{L}$ , total alir 453,9 mL/min, suhu interface 180<sup>0</sup>C dan detektor MS.

## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Isolasi dan Pemurnian *Saccharomyces cerevisiae* dari fermipan

*Saccharomyces cerevisiae* diisolasi dari ragi roti dengan merek *Fermipan*. Pengisolasian ini dilakukan dengan cara pengenceran bertingkat, hal ini bertujuan untuk memperkecil atau mengurangi jumlah *Saccharomyces cerevisiae* yang tersuspensi dalam cairan. Mikroorganisme yang terdapat dalam fermipan itu sendiri adalah *Saccharomyces cerevisiae*, sehingga mikroorganisme yang tumbuh hanya satu koloni saja. *S. cerevisiae* tumbuh setelah diinkubasi selama 72 jam, dengan ciri-ciri fisik berwarna putih dan permukaan yang licin mengkilap. Mikroorganisme yang diisolasi dari fermipan memiliki bentuk koloni yang hampir sama dengan koloni *Saccharomyces cerevisiae* ATC 19433.<sup>(17)</sup> dapat dilihat pada gambar 6.



**Gambar 6. (a) *Saccharomyces cerevisiae* hasil isolasi**

**(b) *Saccharomyces cerevisiae* ATC 19433**

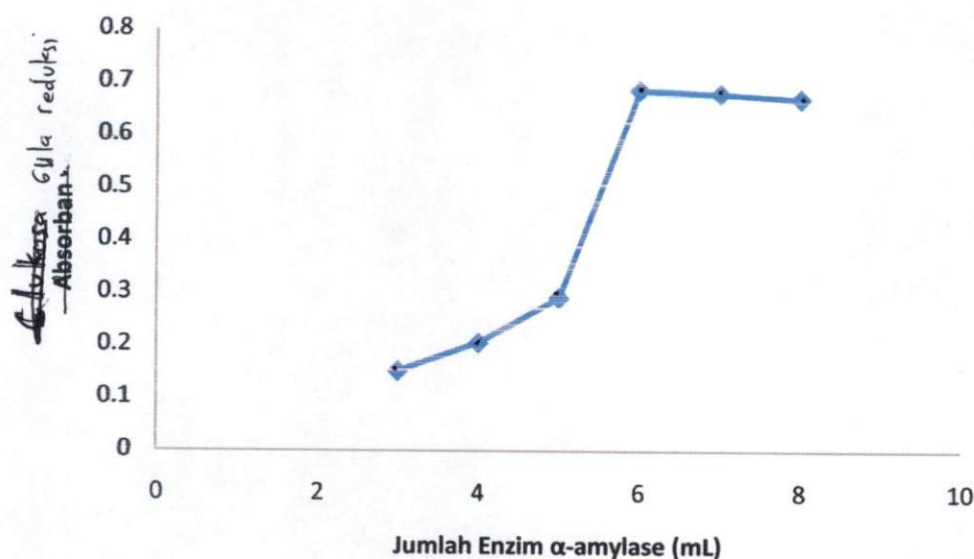
Untuk pemurnian mikroba, satu jarum ose khamir diinokulasikan pada medium PDA dengan cara zig zag dan diinkubasi selama 48 jam. Hasil yang diperoleh dapat dilihat pada gambar 7.



**Gambar 7. Biakan Murni *Sacharomyces serevisiae***

#### 4.2 Variasi Penambahan Enzim $\alpha$ -amilase

Dari perlakuan variasi penambahan jumlah enzim  $\alpha$ -amilase pada proses hidrolisis didapatkan hasil yang dapat dilihat pada gambar 8 (lampiran 9).



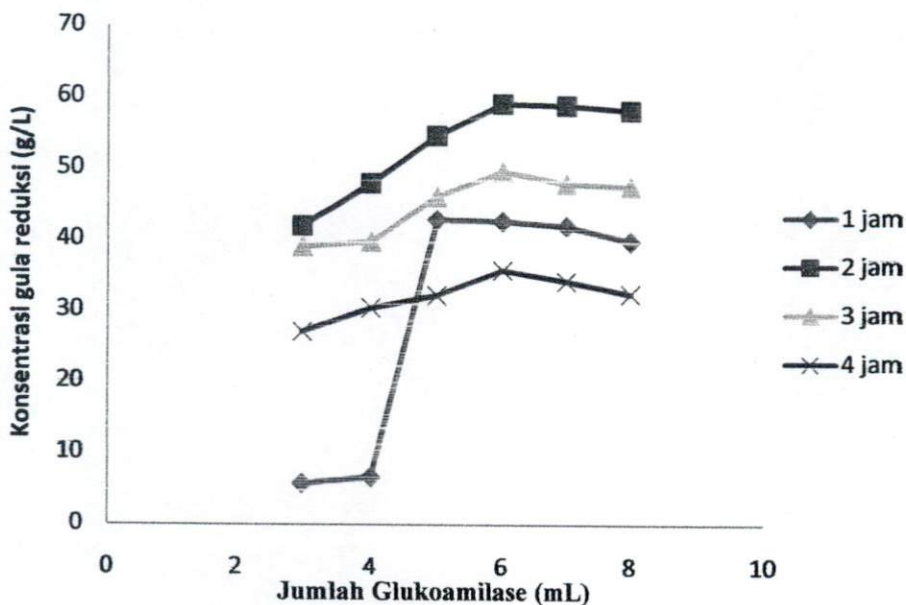
**Gambar 8. Kurva pengaruh penambahan enzim  $\alpha$ -amilase terhadap absorban gula reduksi**

Dari kurva diatas, dapat diketahui bahwa variasi penambahan  $\alpha$ -amilase yang dilakukan sangat berpengaruh terhadap absorban. Absorban akan meningkat dengan adanya peningkatan penambahan enzim  $\alpha$ -amilase (3 - 6 ml), dengan jumlah optimum penambahannya yaitu sebanyak 6mL ditunjukkan dengan absorban senilai 0,686.

Konsentrasi enzim akan meningkatkan kecepatan reaksi enzimatik dari proses hidrolisis. Kecepatan reaksi enzimatik berbanding lurus dengan konsentrasi enzim sampai batas optimum yang ditunjukkan oleh titik absorbansi yang paling tinggi. Pada batas optimum antara enzim dengan substrat mengalami kesetimbangan. Peningkatan jumlah enzim melebihi 6 mL tidak menaikkan absorbansi, aktivitas enzim terhadap substrat tidak meningkat, karena substrat sudah jenuh oleh enzim. <sup>(18)</sup>

#### 4.3 Variasi Penambahan enzim Glukoamilase dan Lama Hidrolisis

Variasi penambahan glukoamilase dilakukan setelah proses hidrolisis dengan  $\alpha$ -amilase 6 ml selama 2 jam. Pengaruh variasi penambahan glukoamilase pada lama hidrolisis 1-4 jam dapat dilihat pada Gambar 9.



**Gambar 9. Pengaruh variasi volume glukoamilase dan lama hidrolisis terhadap konsentrasi gula reduksi**

Pada gambar 9 terlihat pada lama hidrolisis 1 jam, memperlihatkan kenaikan konsentrasi gula reduksi dari penambahan 3-5 mL. Konsentrasi gula reduksi tertinggi yaitu pada penambahan glukoamilase 5 mL. Namun, konsentrasi gula reduksi yang terbentuk masih rendah, hal ini menandakan bahwa waktu kontak antara enzim dengan substrat belum sempurna. Sehingga enzim masih bisa

meningkatkan aktivitasnya dalam memecah substrat menjadi gula reduksi, dengan menambah waktu hidrolisisnya.

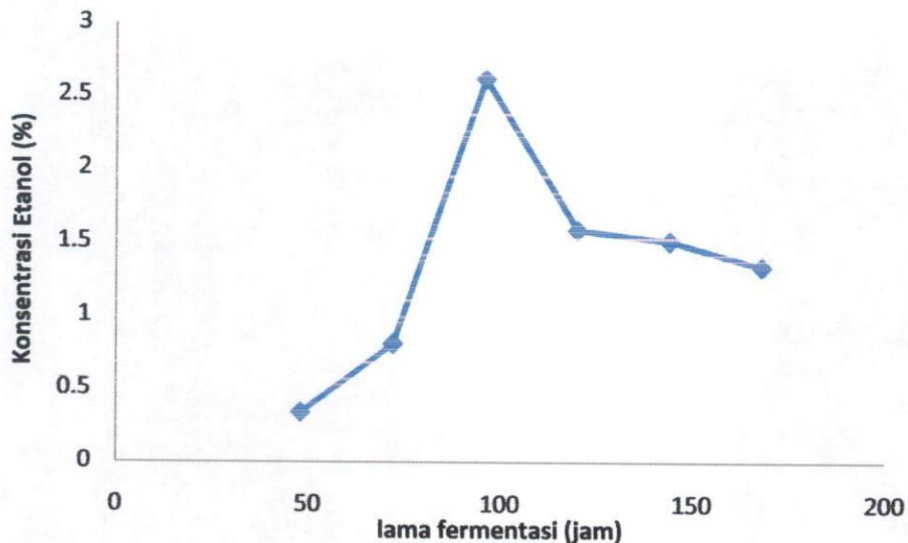
Penambahan glukoamilase 3-6 mL untuk lama hidrolisis 2-4 jam terjadi peningkatan konsentrasi gula reduksi, hal tersebut sebanding dengan kenaikan absorbannya. Konsentrasi gula reduksi tertinggi didapatkan pada penambahan glukoamilase sebanyak 6 mL sebesar 59,111 g/L (lampiran 8). Pada penambahan glukoamilase 6 mL komposisinya tepat untuk membantu proses pemecahan maltosa menjadi gugus glukosa. Pada penambahan glukoamilase 7 mL tidak terjadi lagi kenaikan konsentrasi gula reduksi, karena sudah terjadi keseimbangan kontak antara substrat dengan enzim dalam pembentukan gula reduksi. <sup>(6)</sup>

Konsentrasi gula reduksi maksimum diperoleh pada 2 jam. Hal tersebut diindikasikan bahwa pemecahan maltosa menjadi gugus glukosa telah sempurna. Oleh karena itu, gula reduksi yang terbentuk pada penambahan glukoamilase 6 mL dengan lama hidrolisis 2 jam dapat dinyatakan sebagai glukosa. Pada hidrolisis 3-4 jam terjadi penurunan konsentrasi gula reduksi, karena kestabilan enzim mulai menurun pada waktu hidrolisis yang terlalu lama. Data konsentrasi pada variasi penambahan glukoamilase dan lama hidrolisis dapat dilihat pada lampiran 10. Pengukuran konsentrasi gula reduksi yang dihasilkan dari proses hidrolisis dilakukan pada panjang gelombang 580 nm, karena  $\lambda$  580 nm tersebut adalah panjang gelombang maksimum untuk glukosa, dapat dilihat pada lampiran 7.

Untuk menghasilkan konsentrasi glukosa tinggi, pengaturan pH dan suhu hidrolisis juga harus diperhatikan. pH sangat berpengaruh karena dapat meningkatkan kerja enzim, dan pengaturan suhu dapat mempercepat proses hidrolisis. Pada penelitian ini digunakan pH 5 dan suhu hidrolisis 55°C.<sup>(16)</sup>

#### 4.4 Pengaruh Lama Fermentasi

Hasil Pengaruh Lama Fermentasi terhadap konsentrasi etanol yang diperoleh dapat dilihat pada gambar 10 (lampiran 13 tabel 11).

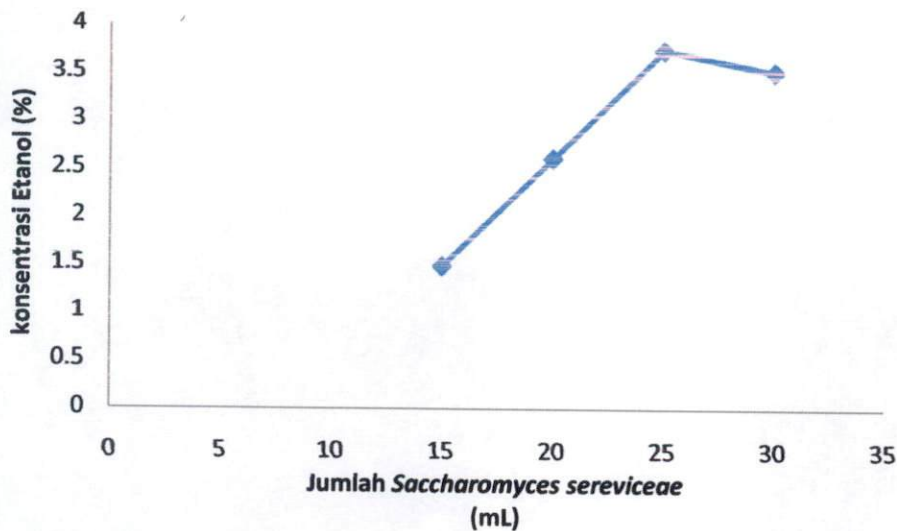


Gambar 10. Kurva pengaruh Lama Fermentasi terhadap konsentrasi etanol

Pada gambar 10 dapat dilihat konsentrasi etanol meningkat mulai dari lama fermentasi 48 sampai 96 jam. Pada lama fermentasi 48 jam etanol yang terbentuk sedikit, karena *S. Cerevisiae* baru memasuki fasa pertumbuhan. Konsentrasi etanol maksimum dihasilkan pada lama fermentasi 96 jam. Pada lama fermentasi diatas 96 jam terjadi penurunan konsentrasi etanol. Hal ini terjadi, karena nutrisi yang ada pada medium sudah sangat berkurang sehingga mikroorganisme terhambat pertumbuhannya. Akibatnya tidak semua glukosa dapat diubah menjadi etanol. Mikroorganisme hidup dan beraktivitas pada kondisi yang spesifik, maka perlu pengkondisian seperti kadar media dan nutrisi agar didapatkan konsentrasi etanol yang maksimum.<sup>(16)</sup>

#### 4.5 Pengaruh penambahan *Saccharomyces cereviceae*

Jumlah *Saccharomyces cerevisiae* yang divariasikan adalah 15, 20, 25, dan 30 mL. Konsentrasi etanol dari hasil variasi jumlah mikroba tersebut dapat dilihat pada gambar 11.



**Gambar 11. Kurva pengaruh jumlah *Saccharomyces cerevisiae* terhadap konsentrasi etanol**

Dari kurva diatas dapat dilihat bahwa konsentrasi etanol optimum didapatkan pada penambahan 25 mL *Saccharomyces cerevisiae* yaitu sebesar 3,742% (Lampiran 13 tabel 12). Pada pemakaian jumlah *S. Cerevisiae* 15 dan 20mL, didapatkan hasil konsentrasi etanol yang rendah karena jumlah mikroorganisme yang tersedia belum mencukupi. Akibatnya, kemampuannya untuk mengkonversikan glukosa menjadi etanol pada proses fermentasi menjadi sedikit. Dan begitu pula jika mikroorganisme yang digunakan berlebihan, akan mengakibatkan terjadinya persaingan dalam penyerapan nutrisi. Dan akhirnya, aktivitas mikroorganisme itu sendiri menjadi tidak maksimal.<sup>(15)</sup>

Konsentrasi etanol yang diperoleh dari 15 g pati sagu lebih kecil yaitu 3,742% dibandingkan dengan konsentrasi etanol yang diperoleh dari penelitian sebelumnya, konsentrasi yang diperolehnya adalah 5,931% dari 15 g pati sagu.<sup>(15)</sup> Konsentrasi etanol yang kecil dapat disebabkan oleh metode fermentasi yang digunakan dan pemisahan yang kurang maksimal. Metode fermentasi yang digunakan pada penelitian ini adalah metode *batch*, dimana proses fermentasi terjadi didalam satu tempat dan produk yang terbentuk tetap bercampur dengan substratnya, produk yang terbentuk adalah etanol dan CO<sub>2</sub>. Produk yang terbentuk seharusnya dialirkan ketempat penampungan produk, seperti metode *kontinyu* yang digunakan peneliti sebelumnya. Produk diperkirakan bersifat toksik terhadap

subtratnya yang dapat mengganggu proses fermentasi, terutama pada aktivitas *S.cerevisiae* dalam proses mengubah glukosa menjadi etanol sehingga konsentrasi etanol yang diinginkan kurang maksimal. CO<sub>2</sub> dalam subtrat, mengakibatkan oksigen yang terlarut menurun dan pertumbuhan sel terlalu padat, sehingga subtrat tidak cukup untuk pertumbuhan selanjutnya, akibatnya pembentukan alkohol juga menurun.<sup>(18)</sup> Untuk pemisahan etanol yang terbentuk, pada penelitian ini pemisahan dilakukan dengan cara destilasi saja. Untuk mendapatkan konsentrasi etanol yang lebih tinggi sebaiknya, dilakukan dengan cara destilasi dan adsorpsi menggunakan adsorben (CaO). Destilasi bertujuan untuk memisahkan etanol dari campuran hasil fermentasi. Adsorpsi dilakukan setelah proses destilasi gunanya untuk menyerap H<sub>2</sub>O dalam etanol sehingga dapat meningkatkan konsentrasi etanol.<sup>(15)</sup>

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Pati sagu (*Metroxylon sp*) setelah dilakukan hidrolisis mengandung glukosa 59,111 g/L.
2. Proses hidrolisis yang memberikan hasil maksimum adalah dengan menggunakan  $\alpha$ -amilase 6 mL dan glukoamilase 6 mL.
3. Glukosa maksimum dihasilkan setelah 2 jam hidrolisis dengan glukoamilase.
4. Dari 15 g pati sagu didapatkan konsentrasi etanol 3,742% pada fermentasi selama 96 jam dan jumlah *Saccharomyces cerevisiae* sebanyak 25mL.

#### 5.2 Saran

Dari hasil penelitian ini maka disarankan untuk :

1. Melakukan optimasi terhadap pH, suhu, kecepatan pengadukan, pada proses fermentasi, agar *Saccharomyces cerevisiae* bekerja dengan maksimal untuk merubah glukosa menjadi etanol.
2. Menentukan aktifitas spesifik enzim  $\alpha$ -amilase dan glukoamilase yang digunakan.
3. Pelakukan pemisahan etanol yang terbentuk dengan metode destilasi dan adsorpsi menggunakan adsorben (CaO).

13. Adek Handayani Lubis. *Produksi Etanol Dari Ampas Tapioka yang dihidrolisis dengan Enzim  $\alpha$ -amilase (Apozyme 480) dan Difermentasi Oleh Saccharomyces cerevisiae*. Padang : FMIPA UNAND.(2007) 20-30
14. K. Manikandan and T. Viruthagiri José Amir González Calderón, Evangelina Trujillo Vázquez and Eusebio Bolaños Reynos. *Optimization of Ethanol Production Process from Cassava Starch by Surface Response*. J. Mex. Chem. Soc.(2010) 544
15. Komarayati Sri, dkk. *Pembuatan bioetanol dari empulur sagu (metroxylon spp.) Dengan menggunakan enzim*. Jurnal penelitian Hasil Hutan Vol.29 No.1, maret 2011. 20-32
16. Endah Retno D, Enny Kriswiyanti A dan Adrian Nur . *Bioetanol Fuel Grade Dari Talas (Colocasia Esculenta)*. Ekuilibrium. Vol. 8. No. 1. Januari 2009. (2009) 1-6.
17. Rapp, M. *Indicator ad selective medium saccharomyces cerevisiae and malt extract broth*. Milchwiss. (1974)
18. Gedhe pratama agoung. *Mempelajari pengaruh konsentrasi ragi instan dan waktu fermentasi terhadap pembuatan alkohol dari ampas ubi kayu (Manihot utilisma)*. USU. (2009) 68-70

## DAFTAR PUSTAKA

1. Dwi Cahyani Rizki dkk. Limbah sagu sebagai bahan baku penghasil bioetanol inovasi bahan bakar nabati non pangan. IPB. Bogor. (2009) 1-7.
2. Akmar PF dan Kennedy JF. *The potential of oil and sago palm trunk wastes as carbohydrate resource*. Wood Sci and Technol. (2001) 35: 467-473.
3. Jeon, Bo Young et al. *Development of a Serial Bioreactor System for Direct Ethanol Production from Starch Using Aspergillus niger and Saccharomyces cerevisiae*. Biotechnology and Bioprocess Engineering. Vol. 12, pp. (2007) 566-573.
4. D. Subashini dkk. *Ethanol production from sago waste using saccharomyces cerevisiae Vits-M1*. School of biosciences and Technology, VIT University. India. (2011).3(1) 42-51
5. Umbreit, Wayne W. *Advances In Applied Microbiology*, Rutgers University Vol. 1, New Jersey. (1959)
6. Rahmayanti Dian. *Pemodelan dan optimasi hidrolisa pati Menjadi glukosa dengan metode artificial neural network-genetic algorithm (ann-ga)*. Universitas diponegoro. Semarang. (2010). 14-19
7. Fardias, Srikandi. *Fisiologi Fermentasi*. Lembaga Sumber Daya Informasi. IPB. Bogor. (1988)
8. Chafid Achmad dan Kusumawardhani Galuh. *Modifikasi Tepung Sagu Menjadi Maltodekstrin Menggunakan Enzim  $\alpha$ -Amylase*. Jurusan teknik kimia fakultas teknik Universitas Diponegoro. Semarang. (2010). 14-49
9. Nursalim, M.. *Isolasi, Pemurnian, dan Penentuan Beberapa Sifat Amilase yang dihasilkan oleh Kapang R2*. PS MIPA UNSOED. Purwokerto. (2005).
10. Branita Rezky. *Pengaruh Konsentrasi Limbah Sagu (Metroxylon Sagus Rottb) Pada Pembuatan Bioetanol Dengan Menggunakan Bakteri Zimomonas Mobilis*. Universitas Hasanuddin. Makassar. (2010). 1-9
11. Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia. *Tanaman Sagu sebagai Sumber Energi Alternatif*. <http://pustaka.litbang.deptan.go.id/publikasi/wr294072.pdf> diakses tanggal 16 Desember 2010.
12. Lehninger A. L., *Dasar-dasar Biokimia Jilid I, alih bahasa Thenawidjaja M.*, Jakarta : Erlangga (1988). 237-258

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Skema kerja persiapan sampel

#### Sagu

- Dipisahkan dari kulitnya
- Dipotong kecil-kecil dengan ukuran  $\pm 3$  cm
- Ditambahkan sampai semua sampel terendam
- ↓ - Dihaluskan dengan blender

#### Bubur sagu

- Disaring untuk memisahkan ampas dan filtrat

#### Filtrat

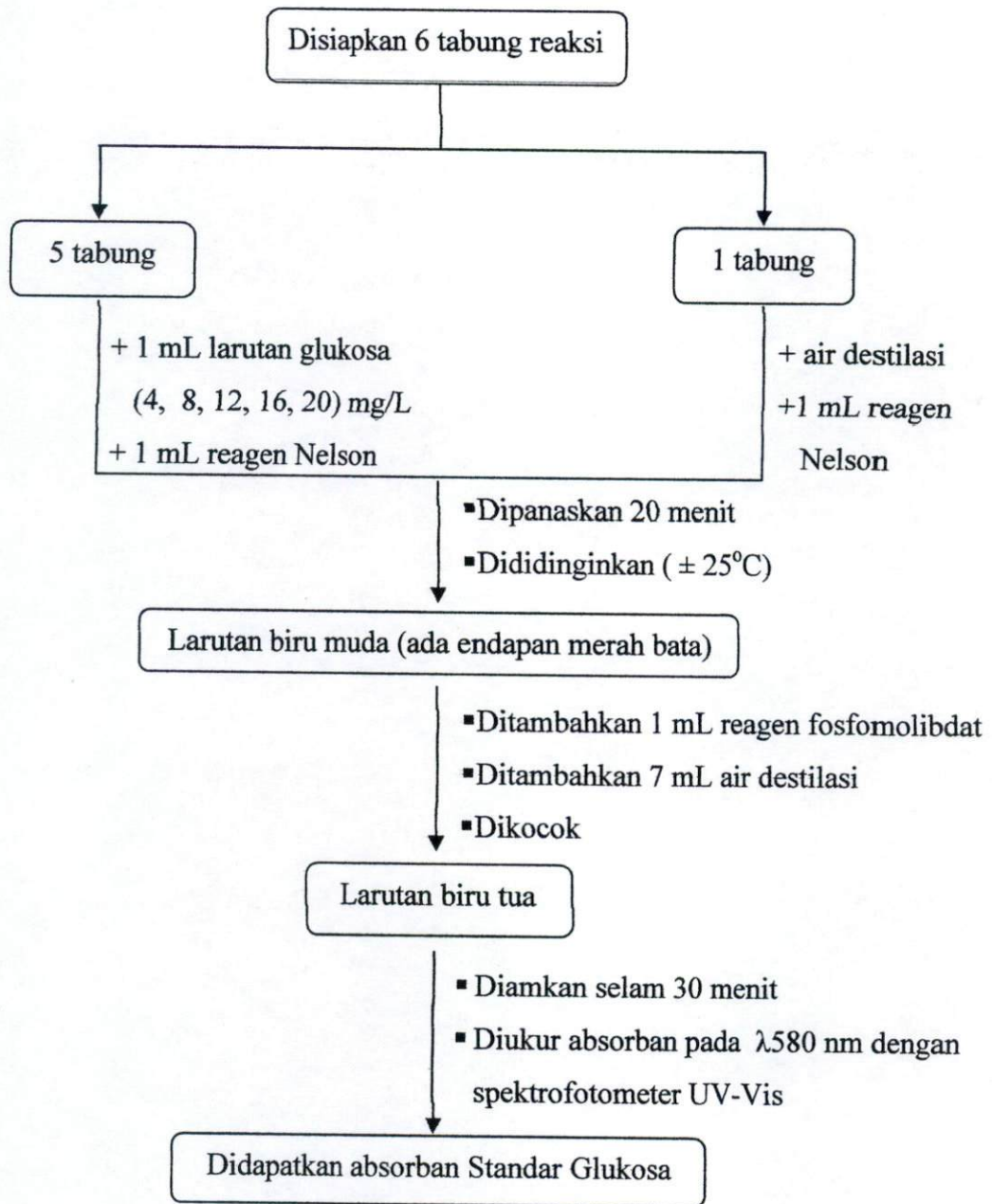
- Ditampung dalam wadah plastik
- Didiamkan selama 1 jam
- ↓ - Filtrat dibuang perlahan-lahan

#### Endapan pati

- Dijemur
- Diayak
- ↓

#### Pati sagu

## Lampiran 2. Skema Kerja Pembuatan Kurva Kalibrasi Standar Glukosa



### Lampiran 3. Skema Kerja Pembuatan Medium PDA

**50 g Kentang dalam 250 mL akuabidest**

- Dipanaskan sampai mendidih ( $\pm$  15 menit)
- Disaring

**Filtrat**

- Ditambahkan 5 g dekstrosa, 5 g agar
- Dipanaskan sambil distirrer

**Larutan**

- Disterilisasi dengan autoklaf pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit

**PDA**

#### Lampiran 4. Skema Kerja Isolasi *Saccharomyces cerevisiae* dari Fermipan

**1 g fermipan**

- Tambahkan 9 mL akuabidest dalam tabung reaksi ( $10^{-1}$ )
- Dikocok hingga homogen

**Campuran Homogen**

- Ambil 1 mL larutan
- Tambahkan 9 mL akuabidest dalam tabung reaksi ( $10^{-2}$ )
- Lakukan sampai  $10^{-8}$

**Larutan  $10^{-8}$**

- Ambil 1 tetes Larutan
- Teteskan pada medium PDA
- Sebarkan secara merata
- Diamkan selama 48 jam

**Koloni *Saccharomyces cerevisiae***

- 1 jarum ose koloni *S.cerevisiae* dinokulasikan secara zig zag pada medium PDA
- Diinkubasi selama 72 jam

***Saccharomyces cerevisiae* murni**

## Lampiran 5. Skema kerja Variasi Penambahan $\alpha$ -Amilase Dan Glukoamilase Serta Lama Hidrolisis

### 1. Variasi Penambahan $\alpha$ -Amilase

erlenmeyer masing-masing berisi 15 g sampel

- Ditambahkan akuabidest 100mL
- Ditambahkan enzim  $\alpha$ -amilase dengan variasi 3; 4; 5; 6; 7; 8 mL
- Dishaker dengan kecepatan 250rpm selama 2 jam pada suhu 80°C dan pH 5

Hidrolisat

- Dipanaskan pada suhu  $\pm 105^\circ\text{C}$  selama 15 menit
- Disentrifuge

Diukur gula reduksi dengan metoda Somogy-Nelson

### 2. Variasi Penambahan Enzim Glukoamilase dan Lama Hidrolisis

erlenmeyer masing-masing berisi 15 g sampel

- Ditambahkan dengan akuabidest 100mL
- Ditambahkan enzim  $\alpha$ -amilase sebanyak 6 mL
- Diaduk dengan kecepatan 250rpm selama 2 jam pada suhu 80°C dan pH 5
- Dipanaskan pada suhu  $\pm 105^\circ\text{C}$  selama 15 menit
- Suhu diturunkan menjadi 55°C

Hidrolisat

- Ditambahkan enzim glukoamilase dengan variasi 3; 4; 5; 6; 7; 8 mL
- Diatur pH 5 dengan penambahan buffer asetat 2mL
- Dishaker dengan kecepatan 250rpm selama 1, 2, 3, 4 jam pada suhu 55°C

Hidrolisat

- Dipanaskan pada suhu  $\pm 105^\circ\text{C}$  selama 15 menit
- Disentrifuge

Diukur konsentrasi Gula reduksi dengan metoda Somogy-Nelson

**Lampiran 6. Skema Kerja Pengaruh Variasi Lama Fermentasi dan Jumlah Volume *Saccharomyces cerevisiae***

**1. Variasi Lama Fermentasi**

**Erlenmeyer masing-masing berisi 15 g sampel**

- Ditambahkan dengan akuabidest 100mL
- Ditambahkan enzim  $\alpha$ -amilase sebanyak 6 mL
- Diaduk dengan kecepatan 250rpm selama 2 jam pada suhu 80°C dan pH 5
- ↓ - Dipanaskan pada suhu  $\pm 105^\circ\text{C}$  selama 15 menit
- Suhu diturunkan menjadi 55°C

**Hidrolisat**

- Ditambahkan enzim glukoamilase dengan variasi 6mL
- Diatur pH 5 dengan penambahan buffer asetat 2mL
- Diaduk dengan kecepatan 250rpm selama 2 jam pada suhu 55°C

**50 mL hidrolisat**

- Dimasukkan ke dalam 100 ml medium nutrisi ditambahkan 20 ml medium cair *S. cerevisiae*
- Diatur pH 5 dengan penambahan buffer asetat 1mL
- Ditunggalkan dengan aluminium foil
- ↓ - Diaduk 200 rpm selama 48, 72, 96, 120, 144, dan 168 jam

**Hasil fermentasi**

- Didestilasi

**Destilat**

- Diukur konsentrasi etanol dengan GC

**Konsentrasi Etanol**

## 2. Variasi Penambahan *Saccharomyces cerevisiae*

### Erlenmeyer masing-masing berisi 15 g sampel

- Ditambahkan dengan akuabidest 100mL
- Ditambahkan enzim  $\alpha$ -amilase sebanyak 6 mL
- Diaduk dengan kecepatan 250 rpm selama 2 jam pada suhu 80°C dan pH 5
- Dipanaskan pada suhu  $\pm 105^\circ\text{C}$  selama 15 menit
- Suhu diturunkan menjadi 55°C

### Hidrolisat

- Ditambahkan enzim glukoamilase dengan variasi 6mL
- Diatur pH 5 dengan penambahan buffer asetat 2 mL
- Diaduk dengan kecepatan 250rpm selama 2 jam pada suhu 55°C

### 50 mL hidrolisat

- Dimasukkan ke dalam 100 ml medium nutrisi ditambahkan 15, 20, 25, 30 ml medium cair *S. cerevisiae*
- Diatur pH 5 dengan penambahan buffer asetat 1 mL
- Ditunggalkan dengan aluminium foil
- Diaduk 200 rpm selama 96 jam

### Hasil fermentasi

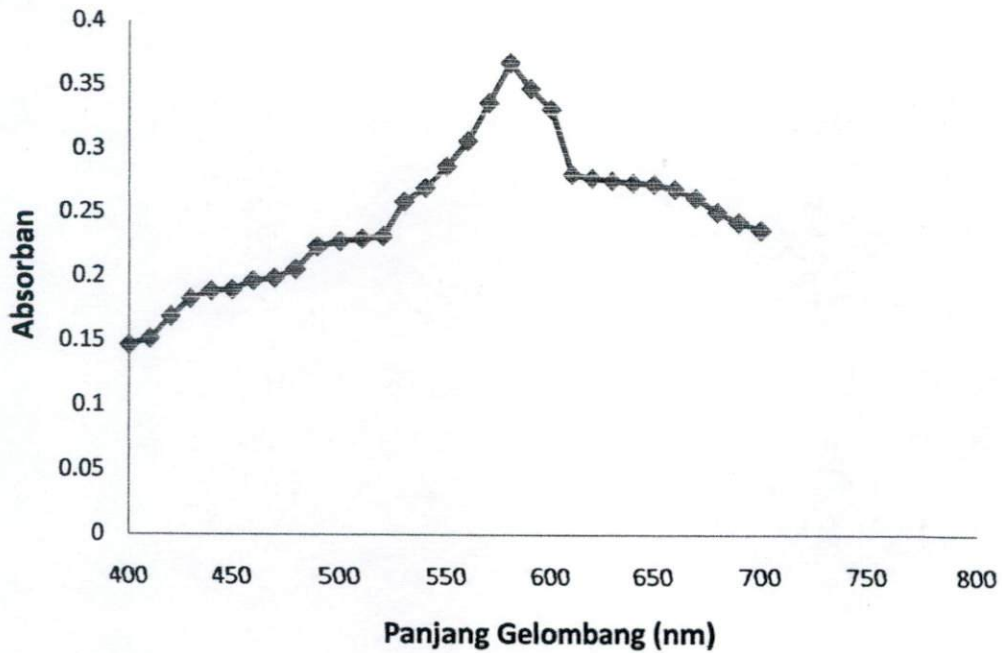
- Didestilasi

### Destilat

- Diukur konsentrasi etanol dengan GC

### Konsentrasi Etanol

**Lampiran 7. Data spektrum absorpsi maksimum standar glukosa**



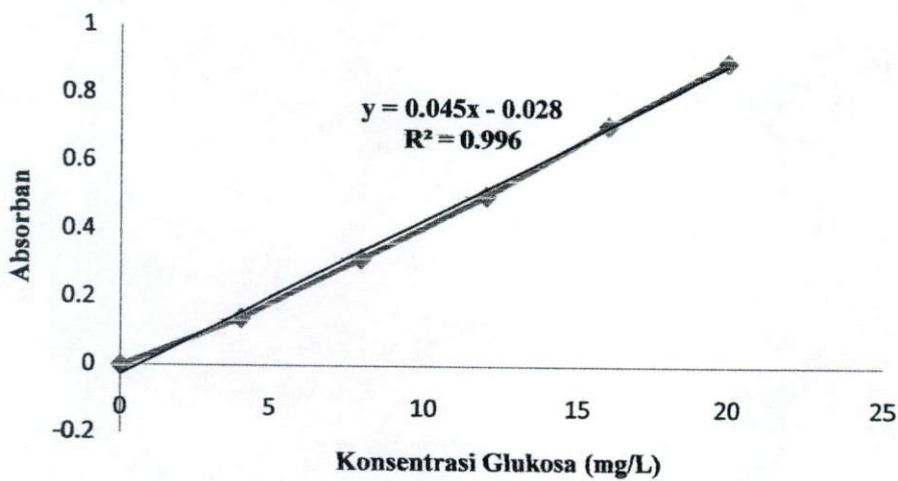
**Gambar 12 Spektrum absorpsi maksimum standar glukosa**

Dari kurva, pengukuran absorban tertinggi pada panjang gelombang 580 nm. Pada panjang gelombang 580 nm tersebut merupakan panjang gelombang maksimum glukosa yang digunakan untuk mengukur absorban sampel selanjutnya.

## Lampiran 8. Data Kurva Kalibrasi Larutan Standar glukosa

Tabel 2. Absorban Standar glukosa

Konsentrasi (mg/L)	Absorban
0	0,000
4	0,139
8	0,316
12	0,501
16	0,709
20	0,896



Gambar 13. Kurva Kalibrasi standar Glukosa

### Contoh Perhitungan Konsentrasi Glukosa Sampel

Persamaan Regresi :  $Y = 0,045x - 0,028$

Nilai absorban optimum pada jumlah enzim glucoamilase 6mL dengan nilai absorban = 0,294(Y)

Maka konsentrasi Glukosa adalah :  $0,294 = 0,045X - 0,028$

$$X = 5,9111 \text{ mg/L}$$

Pada perhitungan dilakukan pengenceran  $10^4$  kali, maka konsentrasi glukosa sampel sebenarnya adalah :  $5,9111 \text{ mg/L} \times 10000 = 59111 \text{ mg/L}$   
 $= 59,111 \text{ g/L}$

**Lampiran 9. Data Absorban Pada Penambahan Enzim  $\alpha$ -amilase**

**Tabel 3. Hasil Pengukuran absorban pada penambahan enzim  $\alpha$ -amilase**

Volume enzim $\alpha$ -amilase (mL)	$\lambda$	Absorban
3	580	0,152
4	580	0,206
5	580	0,292
6	580	0,686
7	580	0,680
8	580	0,670

**Lampiran 10. Data Konsentrasi gula reduksi Setelah Hidrolisis**

**Tabel 4. Data konsentrasi Gula reduksi pada penambahan glukamilase**

Volume enzim Glukoamilase (mL)	Konsentrasi gula reduksi (g/L)			
	1 jam	2 jam	3 jam	4 jam
3	5,78	42,00	39,11	27,11
4	6,67	48,00	39,78	30,44
5	42,89	54,67	46,18	32,22
6	42,67	59,11	49,68	35,78
7	42,00	58,89	48,00	34,22
8	39,86	58,22	47,56	32,44

## Lampiran 12. Data Larutan Standar Etanol

### Contoh Pembuatan Standar Etanol 4 % dari Etanol 96 %

Standar etanol 4 %

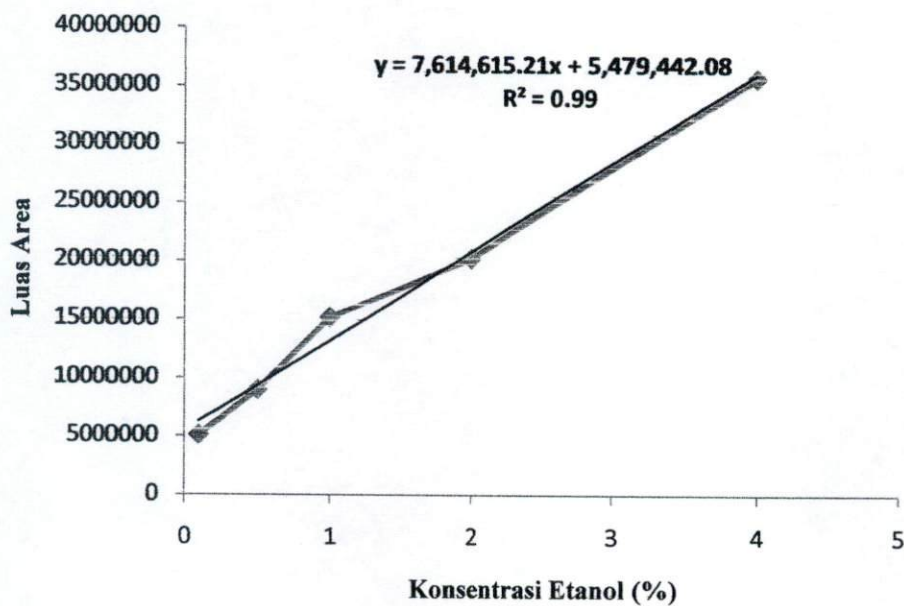
$$M1 \cdot V1 = M2 \cdot V2$$

$$96 \cdot V1 = 4 \cdot 10 \text{ mL}$$

$$V1 = 0,41 \text{ mL}$$

Tabel 5. Luas Area Standar Etanol

Konsentrasi (%)	Luas area
0,1	5134577
0,5	9001045
1	15188327
2	20224588
4	35719749



Gambar 14. Kurva kalibrasi Standar Etanol

**Lampiran 13. Hasil konsentrasi etanol pada variasi lama fermentasi dan variasi jumlah *S. cerevisiae***

**Tabel 6. Data konsentrasi etanol pada variasi lama fermentasi**

Waktu (jam)	Luas area	Konsentrasi Etanol (%)
48	6609767	0,341
72	8162872	0,810
96	14136942	2,615
120	10725273	1,584
144	10477499	1,509
168	9899592	1,335

**Tabel 7. Data konsentrasi etanol pada variasi jumlah *S. sereviceae***

Jumlah <i>Saccharomyces sereviceae</i> (mL)	Luas area	Konsentrasi Etanol (%)
15	10410479	1,489
20	14136942	2,615
25	17871374	3,742
30	17135627	3,520

**Contoh Perhitungan Konsentrasi Etanol**

Persamaan regresi :  $Y = 7.614.615,21x + 5.479.442,08$

**Pengaruh jumlah *Saccharomyces sereviceae* 25mL**

Luas area pada lama fermentasi 96 jam dan 25mL *S.sereviceae* optimum = 17871374(Y)

Maka konsentrasi etanol adalah :  $17871374 = 7614615,21 X + 5479442,08$

$$X = 1,672\%$$

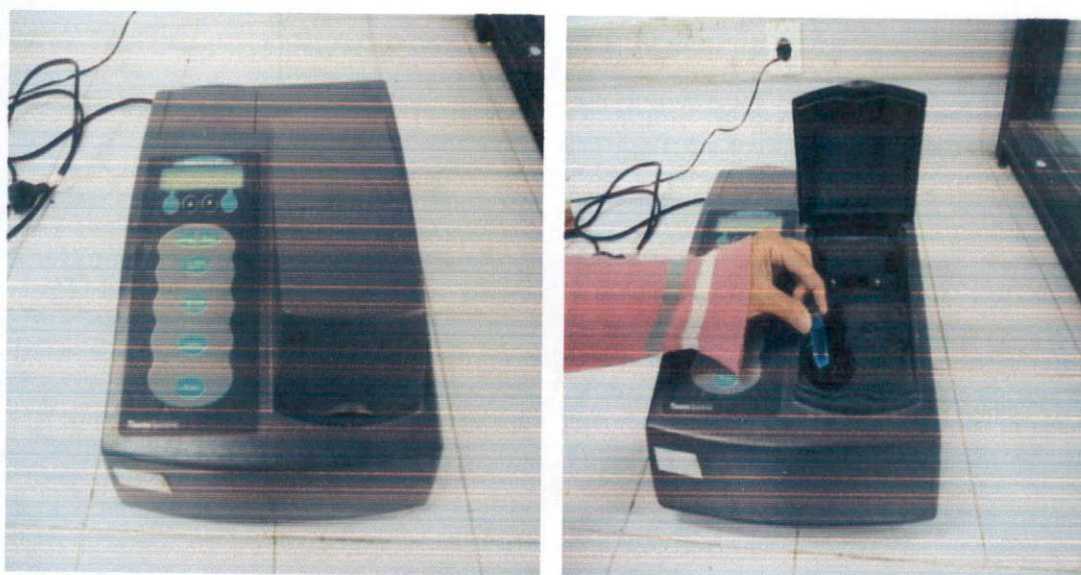
Hidrolisat yang diperoleh setelah hidrolisis = 115mL

Hidrolisat yang difermentasi = 50 mL

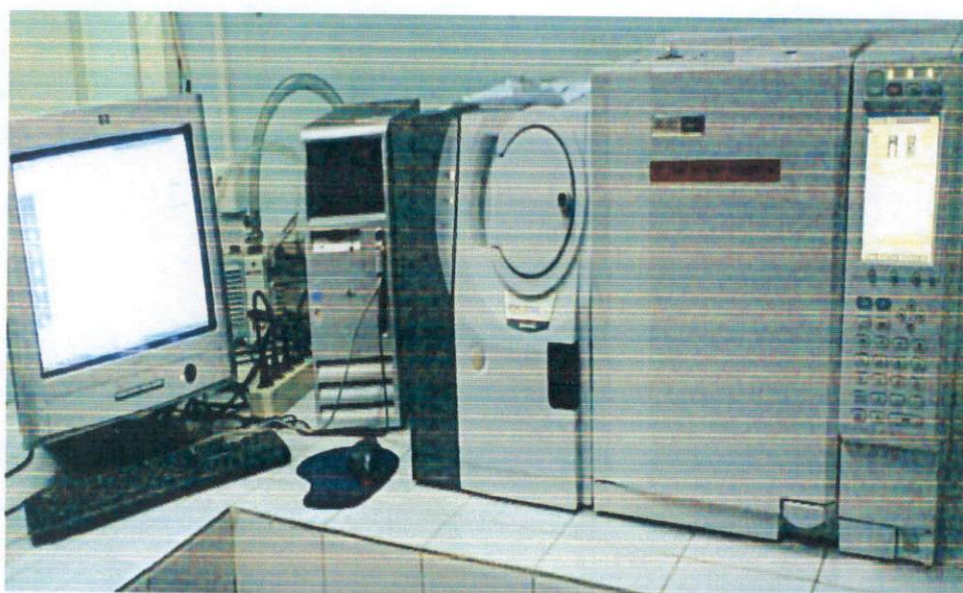
sehingga konsentrasi etanol sebenarnya =  $\frac{115\text{mL}}{50\text{ mL}} \times 1,672\% = 3,742\%$

$$50\text{ mL}$$

**Lampiran 14. Gambar alat**



**Gambar 15. Spektrofotometer (Thermo Spectronic Genesys 20)**



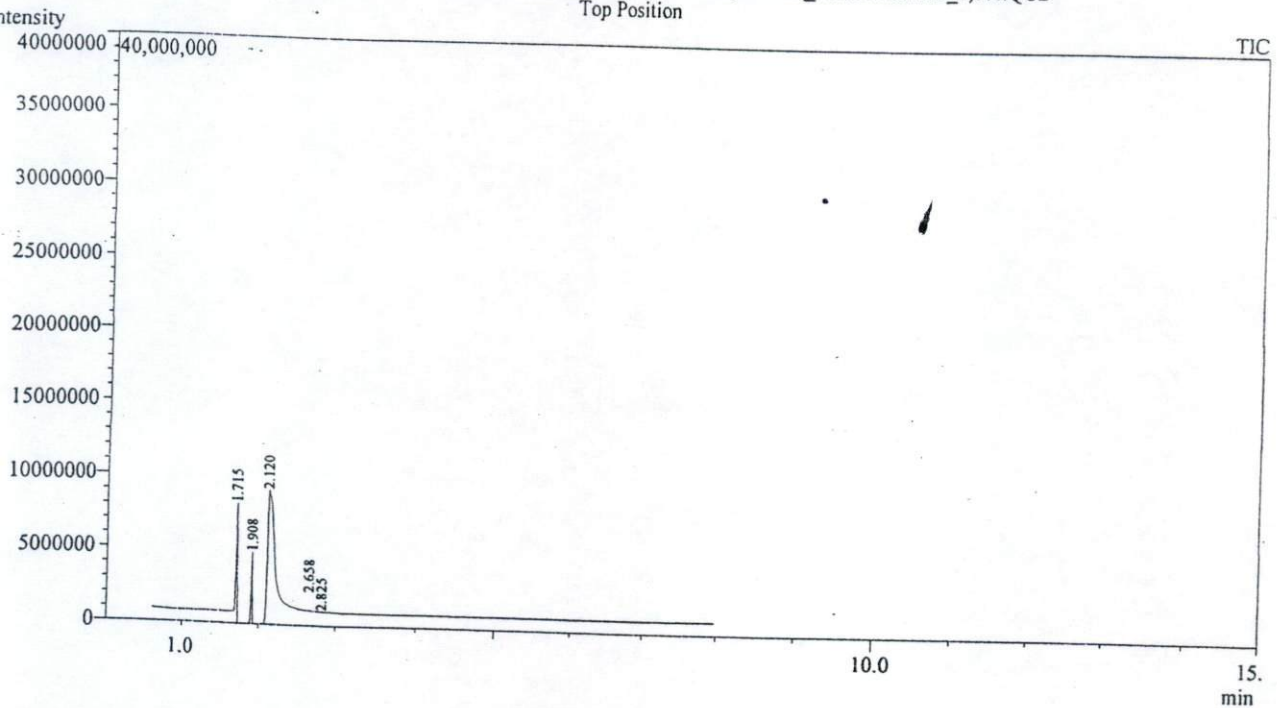
**Gambar 16. GC(QP 2010 S SHIMADZHU)**

# Lampiran 15. Kromatogram Standar Etanol dari Analisis GC

## Etanol Konsentrasi 0,1 %

Analyzed by : Admin  
 Analyzed : 10/21/2011 11:30:27 AM  
 Sample Type : Unknown  
 Level # : 1  
 Sample Name : Penelitian Mahasiswa  
 Sample ID : Sampel hasil fermentasi  
 Sample Amount : [1]=1  
 Sample Amount : 1  
 Dilution Factor : 1  
 Vial # : 1  
 Injection Volume : 0.5  
 Data File : C:\GCMSsolution\Sample\Rika\_Fermentasi\Std\_0,1%.QGD  
 Org Data File : C:\GCMSsolution\Sample\Rika\_Fermentasi\Std\_0,1%.QGD  
 Method File : C:\GCMSsolution\METODA ANALYSIS\E\_THANOL.qgm  
 Org Method File : C:\GCMSsolution\METODA ANALYSIS\E\_THANOL.qgm  
 Report File : C:\GCMSsolution\Data\Report\Pestisida PdgPanjang\Spl\_263.qgr  
 Naming File : C:\GCMSsolution\System\Tune1\Ethanol.qgt  
 Comment :  
 Standard Etanol 0,1%  
 Modified by : Admin  
 Modified : 10/21/2011 11:38:31 AM

Chromatogram Penelitian Mahasiswa C:\GCMSsolution\Sample\Rika\_Fermentasi\Std\_0,1%.QGD  
 Top Position



Peak#	R.Time	Area	Area%	Height	Peak Report TIC	Base m/z
					A/H Mark Name	
1	1.715	9467967	10.00	7935415	1.19	18.20
2	1.908	5134577	5.42	4835439	1.06	18.20
3	2.120	74859881	79.06	9094259	8.23	18.15
4	2.658	3773565	3.99	481263	7.84 V	18.15
5	2.825	1445527	1.53	263919	5.47 V	18.15
		94681517	100.00	22610295		18.15

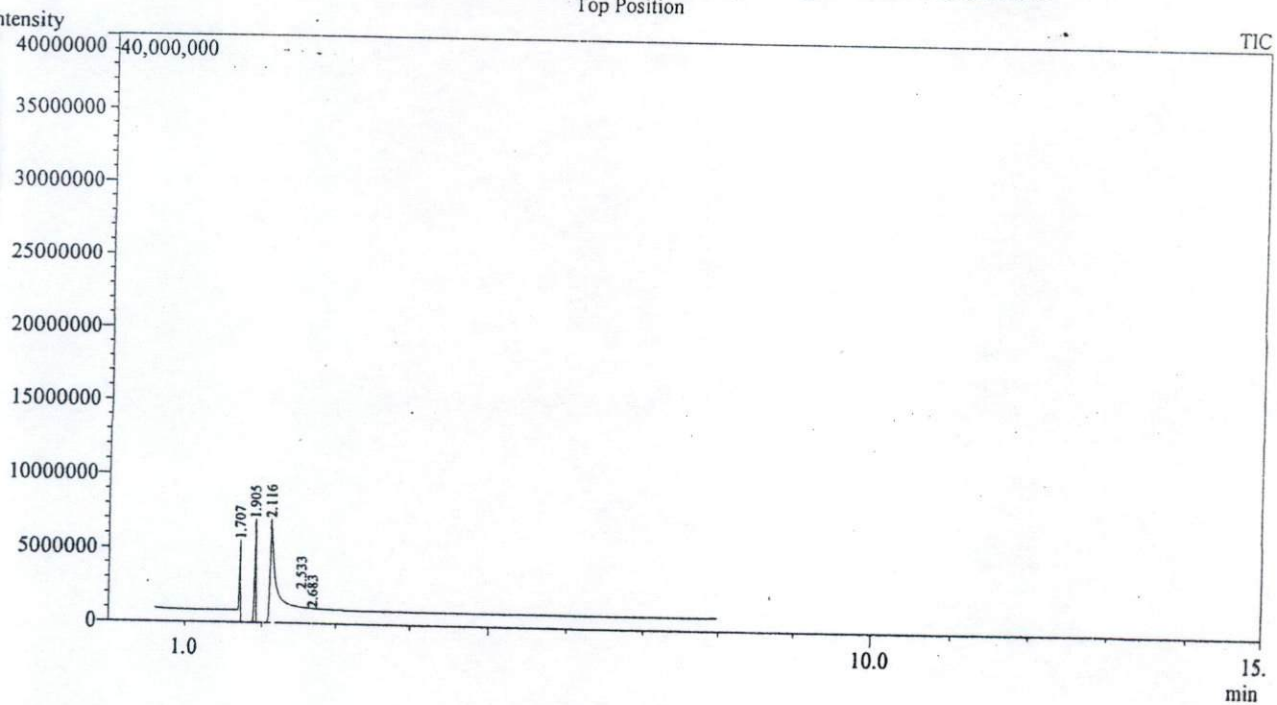
# Lampiran 15. Kromatogram Standar Etanol dari Analisis GC

## Etanol Konsentrasi 0,5 %

Sample Information

Analyzed by : Admin  
 Analyzed : 10/21/2011 11:18:25 AM  
 Sample Type : Unknown  
 Level # : 1  
 Sample Name : Penelitian Mahasiswa  
 Sample ID : Sampel hasil fermentasi  
 Sample Amount : [1]=1  
 Sample Amount : 1  
 Dilution Factor : 1  
 Vial # : 1  
 Injection Volume : 0.5  
 Data File : C:\GCMSsolution\Sample\Rika\_Fermentasi\Std\_0,5%.QGD  
 Org Data File : C:\GCMSsolution\Sample\Rika\_Fermentasi\Std\_0,5%.QGD  
 Method File : C:\GCMSsolution\METODA ANALYSIS\ETANOL.qgm  
 Org Method File : C:\GCMSsolution\METODA ANALYSIS\ETANOL.qgm  
 Report File : C:\GCMSsolution\Data\Report\Pestisida PdgPpanjang\Sp\_263.qgr  
 Printing File : C:\GCMSsolution\System\Tune1\Ethanol.qgt  
 Comment :  
 Standard Etanol 0,5%  
 Modified by : Admin  
 Modified : 10/21/2011 11:26:29 AM

Chromatogram Penelitian Mahasiswa C:\GCMSsolution\Sample\Rika\_Fermentasi\Std\_0,5%.QGD  
 Top Position

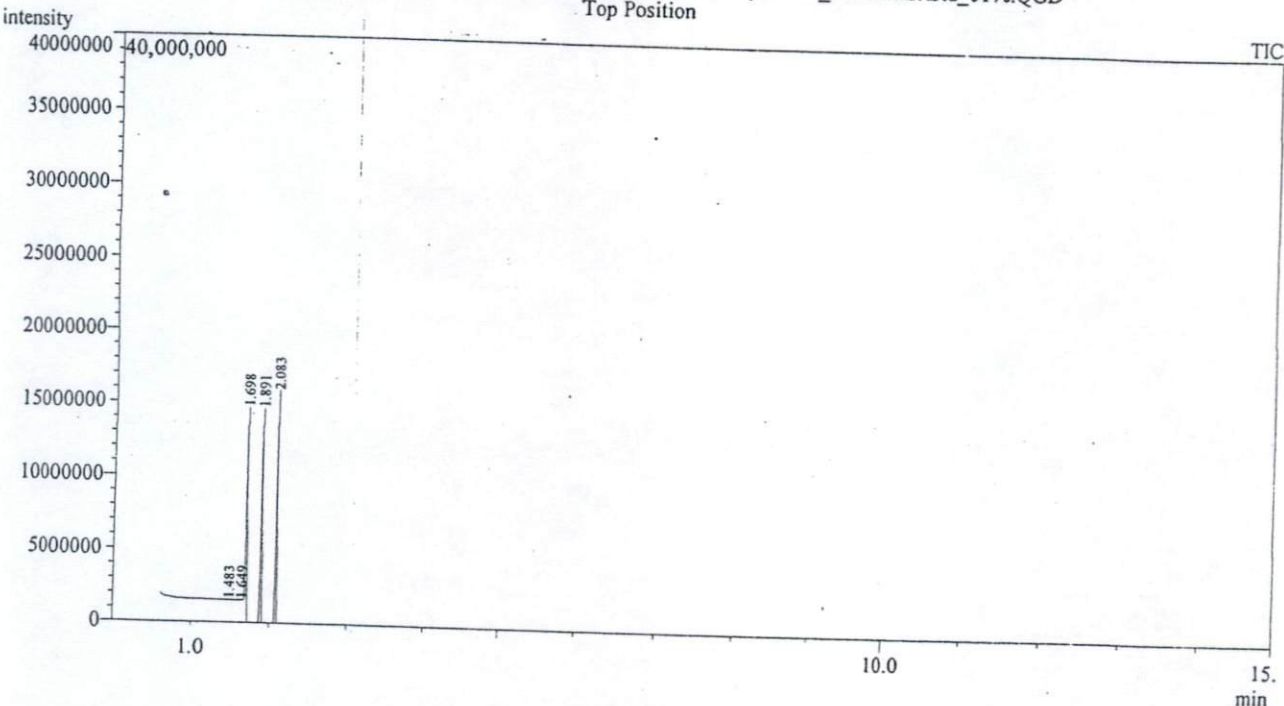


Peak#	R.Time	Area	Area%	Height	Peak Report TIC			Base m/z
					A/H	Mark	Name	
1	1.707	5686300	9.30	5259752	1.08		18.15	
2	1.905	9001045	14.73	6952862	1.29		18.15	
3	2.116	43438138	71.07	6935607	6.26		18.15	
4	2.533	2140887	3.50	408523	5.24	V	28.10	
5	2.683	856645	1.40	128097	6.68	V	18.15	
		61123015	100.00	19684841				

# Lampiran 15. Kromatogram Standar Etanol dari Analisis GC

Analyzed by : Admin  
 Analyzed **Etanol Konsentrasi 1 %**  
 Sample Type : Unknown  
 Level # : 1  
 Sample Name : Penelitian Mahasiswa  
 Sample ID : Sampel hasil fermentasi  
 S Amount : [1]=1  
 Sample Amount : 1  
 Dilution Factor : 1  
 Vial # : 1  
 Injection Volume : 0.5  
 Data File : C:\GCMSsolution\Sample\Rika\_Fermentasi\Std\_01%.QGD  
 Orig Data File : C:\GCMSsolution\Sample\Rika\_Fermentasi\Std\_01%.QGD  
 Method File : C:\GCMSsolution\METODA ANALISISVE\_THANOL.qgm  
 Orig Method File : C:\GCMSsolution\METODA ANALISISVE\_THANOL.qgm  
 Report File : C:\GCMSsolution\Data\Report\Pestisida PdgPanjang\Spl\_263.qgr  
 Tuning File : C:\GCMSsolution\System\Tune\Ethanol.qgt  
 Standard Etanol 1%  
 Modified by : Admin  
 Modified : 10/22/2011 9:10:50 AM

Chromatogram Penelitian Mahasiswa C:\GCMSsolution\Sample\Rika\_Fermentasi\Std\_01%.QGD  
Top Position



Peak#	R.Time	Area	Area%	Height	Peak Report A/H	TIC Mark	Name	Base m/z
1	1.483	54257	0.11	18331	2.95	V		18.15
2	1.649	911639	1.87	420856	2.16			18.15
3	1.698	16726207	34.40	14363313	1.16	V		18.15
4	1.891	15188327	31.23	14627772	1.03			18.15
5	2.083	15748011	32.38	15869202	0.99			19.05
		48628441	100.00	45299474				18.05

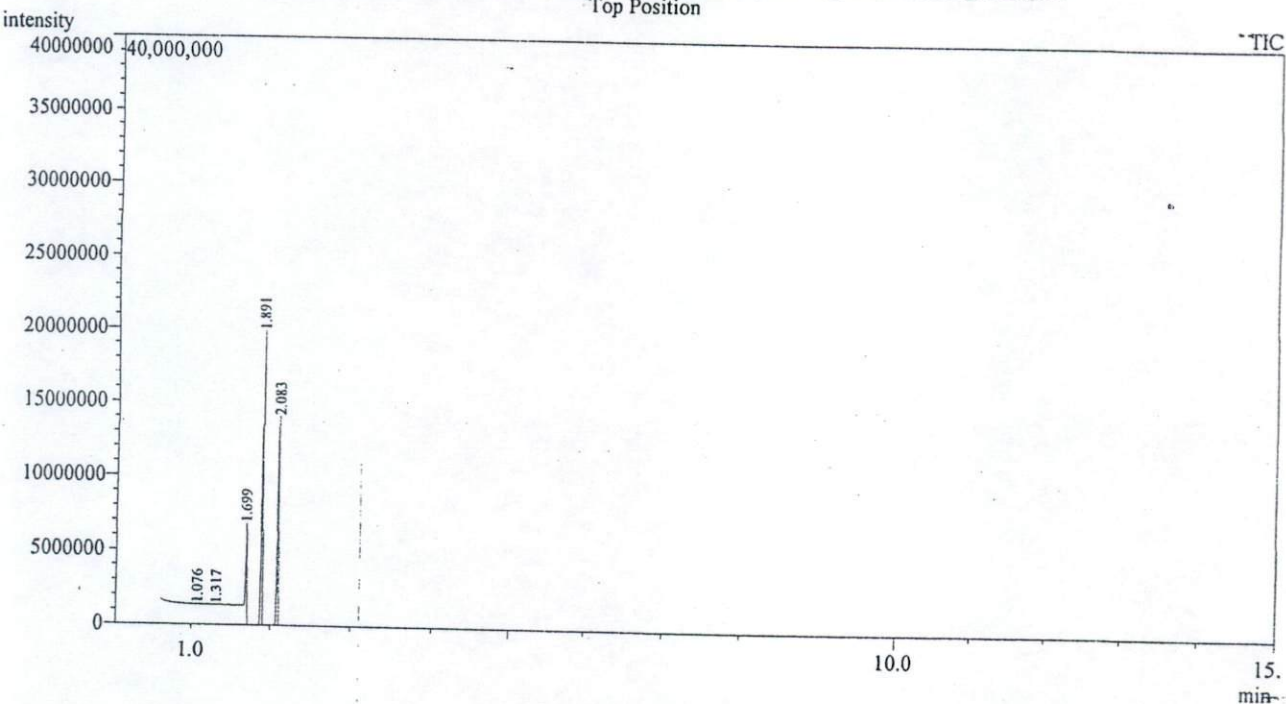
# Lampiran 15. Kromatogram Standar Etanol dari Analisis GC

## Etanol Konsentrasi 2 %

Sample Information

Analyzed by : Admin  
 Analyzed : 10/22/2011 9:17:31 AM  
 Sample Type : Unknown  
 Level # : 1  
 Sample Name : Penelitian Mahasiswa  
 Sample ID : Sampel hasil fermentasi  
 S Amount : [1]=1  
 Sample Amount : 1  
 Dilution Factor : 1  
 Vial # : 1  
 Injection Volume : 0.5  
 Data File : C:\GCMSsolution\Sample\Rika\_Fermentasi\Std\_02%.QGD  
 Orig Data File : C:\GCMSsolution\Sample\Rika\_Fermentasi\Std\_02%.QGD  
 Method File : C:\GCMSsolution\METODA ANALYSISIE\_THANOL.qgm  
 Orig Method File : C:\GCMSsolution\METODA ANALYSISIE\_THANOL.qgm  
 Report File : C:\GCMSsolution\Data\Report\Pestisida PdgPanjang\Spl\_263.qgr  
 Tuning File : C:\GCMSsolution\System\Tune\Ethanol.qgt  
 Comment :  
 Standar Etanol 2%  
 Modified by : Admin  
 Modified : 10/22/2011 9:25:35 AM

Chromatogram Penelitian Mahasiswa C:\GCMSsolution\Sample\Rika\_Fermentasi\Std\_02%.QGD  
 Top Position



Peak#	R.Time	Area	Area%	Height	Peak Report A/H	TIC Mark	Name	Base m/z
1	1.076	64033	0.15	22660	2.82			18.15
2	1.317	34581	0.08	9460	3.65	V		18.15
3	1.699	6982331	16.69	6320430	1.10			18.15
4	1.891	20224588	48.34	19874276	1.01			18.05
5	2.083	14533063	34.74	14082694	1.03			18.05
		41838596	100.00	40309520				

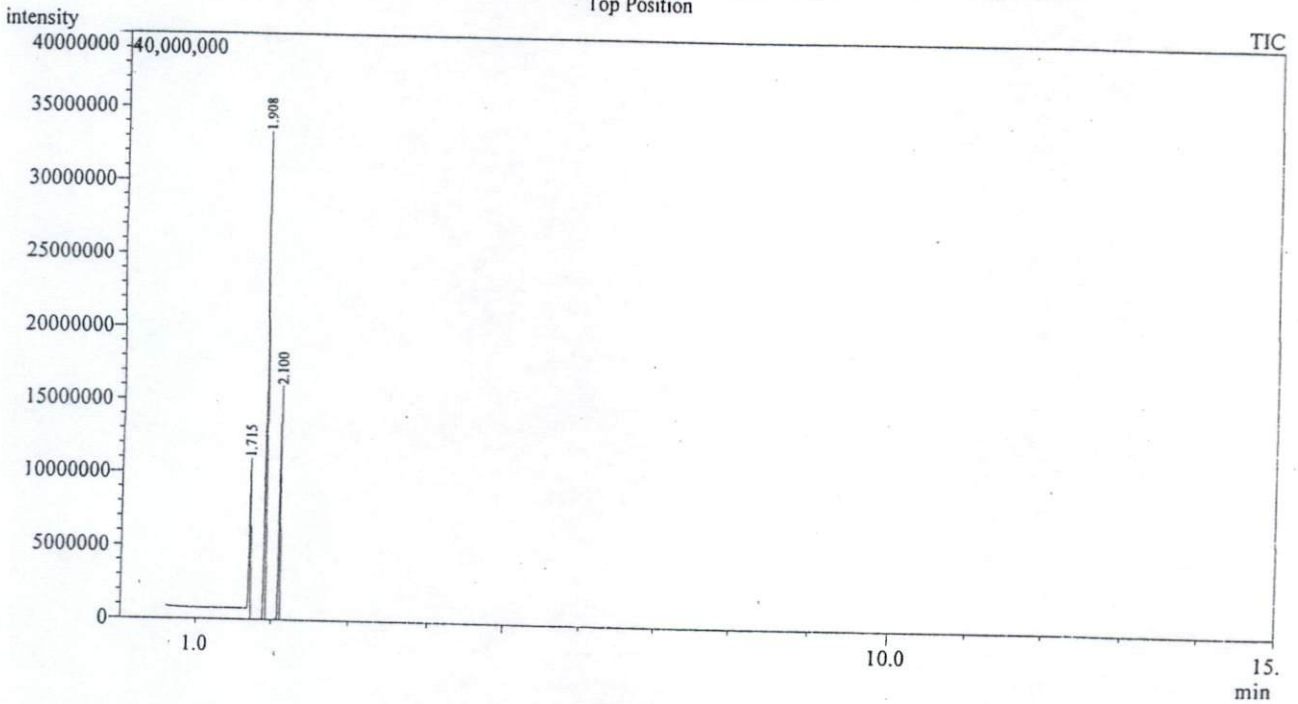
# Lampiran 15. Kromatogram Standar Etanol dari Analisis GC

## Etanol Konsentrasi 4 %

Sample Information

Analyzed by :  
 Analyzed : 10/22/2011 11:38:38 AM  
 Sample Type : Unknown  
 Level # : 1  
 Sample Name : Penelitian Mahasiswa  
 Sample ID : Sampel hasil fermentasi  
 Sample Amount : [1]=1  
 Dilution Factor : 1  
 Vial # : 1  
 Injection Volume : 0.5  
 Data File : C:\GCMSsolution\Sample\Rika\_Fermentasi\Std04%\_ul.QGD  
 Original Data File : C:\GCMSsolution\Sample\Rika\_Fermentasi\Std04%\_ul.QGD  
 Method File : C:\GCMSsolution\METODA ANALYSIS\ETANOL.qgm  
 Original Method File : C:\GCMSsolution\METODA ANALYSIS\ETANOL.qgm  
 Report File : C:\GCMSsolution\Data\Report\Pestisida PdG Panjang\Spl\_263.qgr  
 Tuning File : C:\GCMSsolution\System\Tune\Ethanol.qgt  
 Comment :  
 Standar 04% ulangan  
 Modified by : Admin  
 Modified : 10/22/2011 11:46:40 AM

Chromatogram Penelitian Mahasiswa C:\GCMSsolution\Sample\Rika\_Fermentasi\Std04%\_ul.QGD  
 Top Position

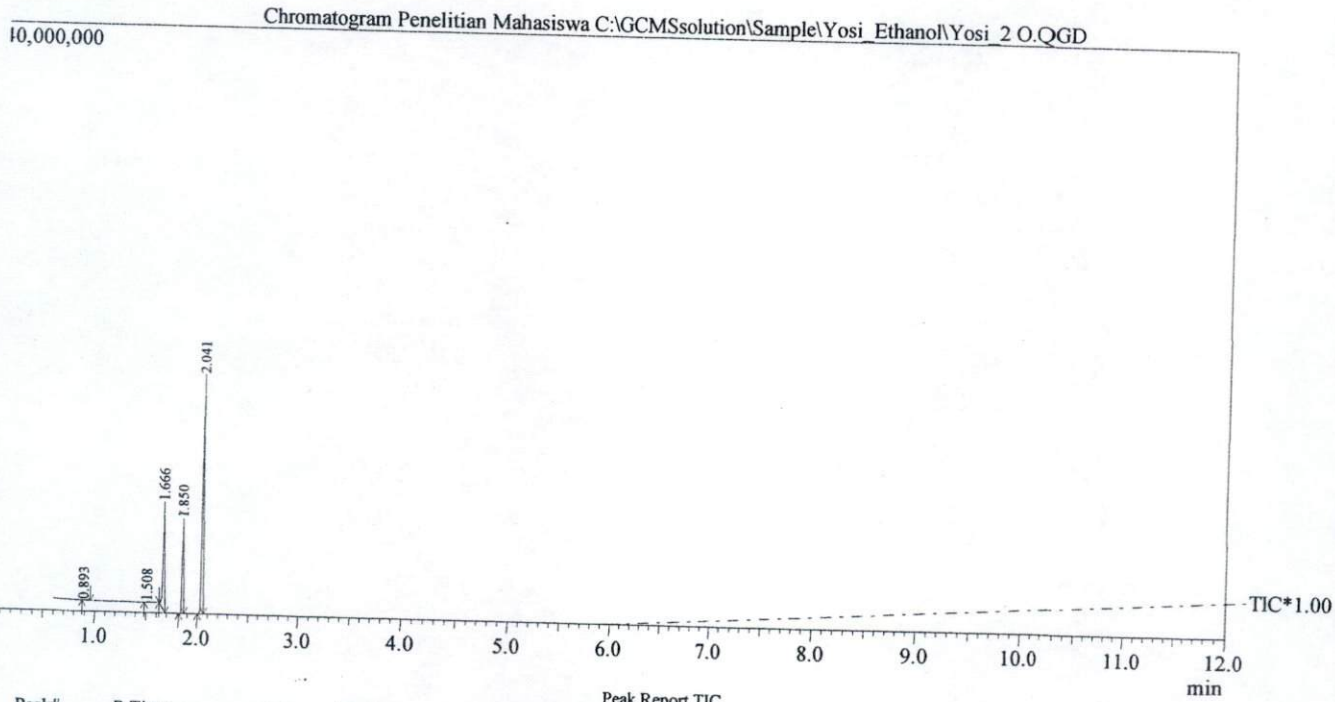


Peak#	R.Time	Area	Area%	Height	Peak Report TIC	Base m/z
					A/H Mark Name	
1	1.715	12079043	18.87	10694902	1.12	18.15
2	1.908	35719749	55.81	33353829	1.07	18.10
3	2.100	16206049	25.32	15990451	1.01	18.10
		64004841	100.00	60039182		

# Lampiran 16. Kromatogram Pati Sagu Dari Analisis GC Pengaruh Lama Fermentasi Fermentasi 2 hari

Analyzed by : Admin  
 Analyzed : 10/29/2011 11:37:21 AM  
 Sample Type : Unknown  
 Level # : 1  
 Sample Name : Penelitian Mahasiswa  
 Sample ID : Sampel hasil fermentasi  
 IS Amount : [1]=1  
 Sample Amount : 1  
 Dilution Factor : 1  
 Vial # : 1  
 Injection Volume : 1  
 Data File : C:\GCMSsolution\Sample\Yosi\_Ethanol\Yosi\_2 O.QGD  
 Org Data File : C:\GCMSsolution\Sample\Yosi\_Ethanol\Yosi\_2 O.QGD  
 Method File : C:\GCMSsolution\METODA ANALYSIS\ETHANOL.qgm  
 Org Method File : C:\GCMSsolution\METODA ANALYSIS\ETHANOL.qgm  
 Report File : C:\GCMSsolution\Data\Report\Yosi\_Ethanol\Spl E2.qgr  
 Tuning File : C:\GCMSsolution\System\Tune1\Ethanol.qgt  
 [Comment]  
 Sampel kode 2 O  
 Modified by : Admin  
 Modified : 10/29/2011 11:43:25 AM

## Sample Information

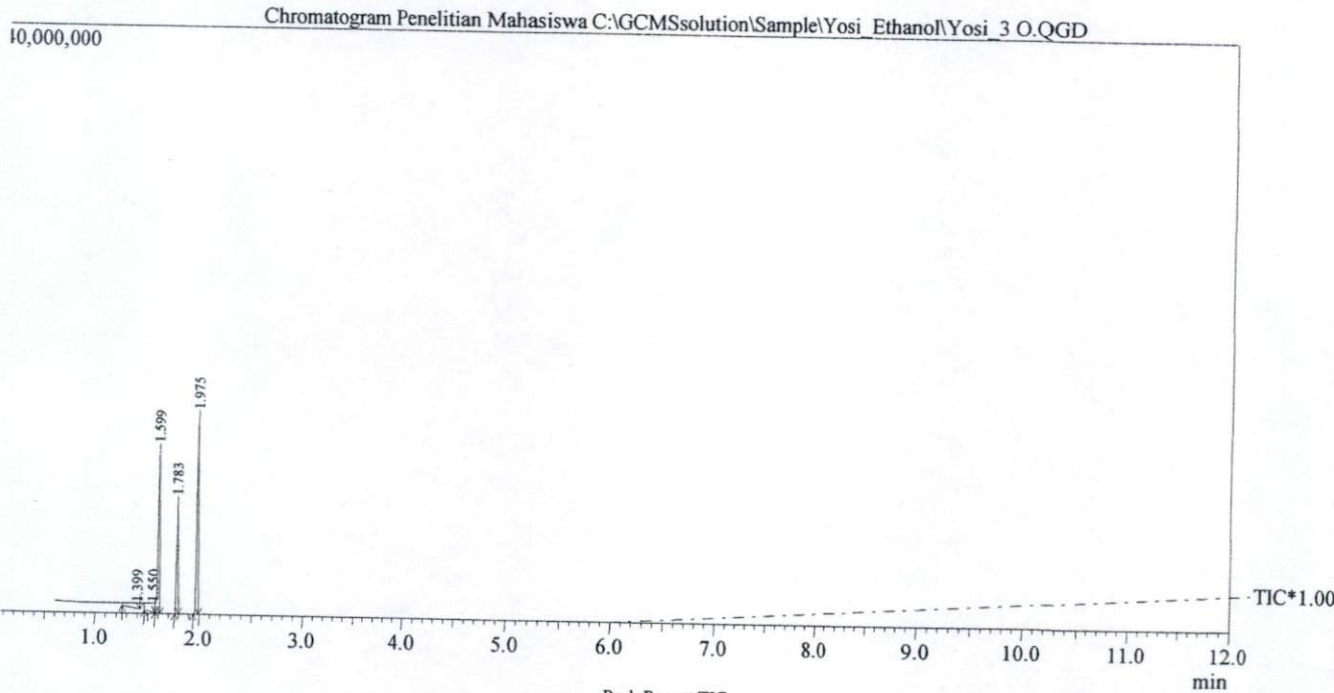


Peak#	R.Time	Area	Area%	Height	Height%	A/H Name
1	0.893	30769	0.10	11003	0.04	2.79
2	1.508	57414	0.18	10766	0.04	5.33
3	1.666	7938045	25.58	7340162	24.35	1.08
4	1.850	6609767	21.30	6466552	21.45	1.02
5	2.041	16398810	52.84	16314872	54.12	1.00
		31034805	100.00	30143355	100.00	

# Lampiran 16. Kromatogram Pati Sagu Dari Analisis GC Pengaruh Lama Fermentasi Fermentasi 3 hari

Analyzed by : Admin  
 Analyzed : 10/29/2011 11:47:28 AM  
 Sample Type : Unknown  
 Level # : 1  
 Sample Name : Penelitian Mahasiswa  
 Sample ID : Sampel hasil fermentasi  
 IS Amount : [1]=1  
 Sample Amount : 1  
 Dilution Factor : 1  
 Vial # : 1  
 Injection Volume : 1  
 Data File : C:\GCMSsolution\Sample\Yosi\_Ethanol\Yosi\_3 O.QGD  
 Org Data File : C:\GCMSsolution\Sample\Yosi\_Ethanol\Yosi\_3 O.QGD  
 Method File : C:\GCMSsolution\METODA ANALYSIS\E\_THANOL.qgm  
 Org Method File : C:\GCMSsolution\METODA ANALYSIS\E\_THANOL.qgm  
 Report File : C:\GCMSsolution\Data\Report\Yosi\_Ethanol\Spl E2.qgr  
 Tuning File : C:\GCMSsolution\System\Tune1\Ethanol.qgt  
 [Comment]  
 Sampel kode 3 O  
 Modified by : Admin  
 Modified : 10/29/2011 11:53:31 AM

## Sample Information



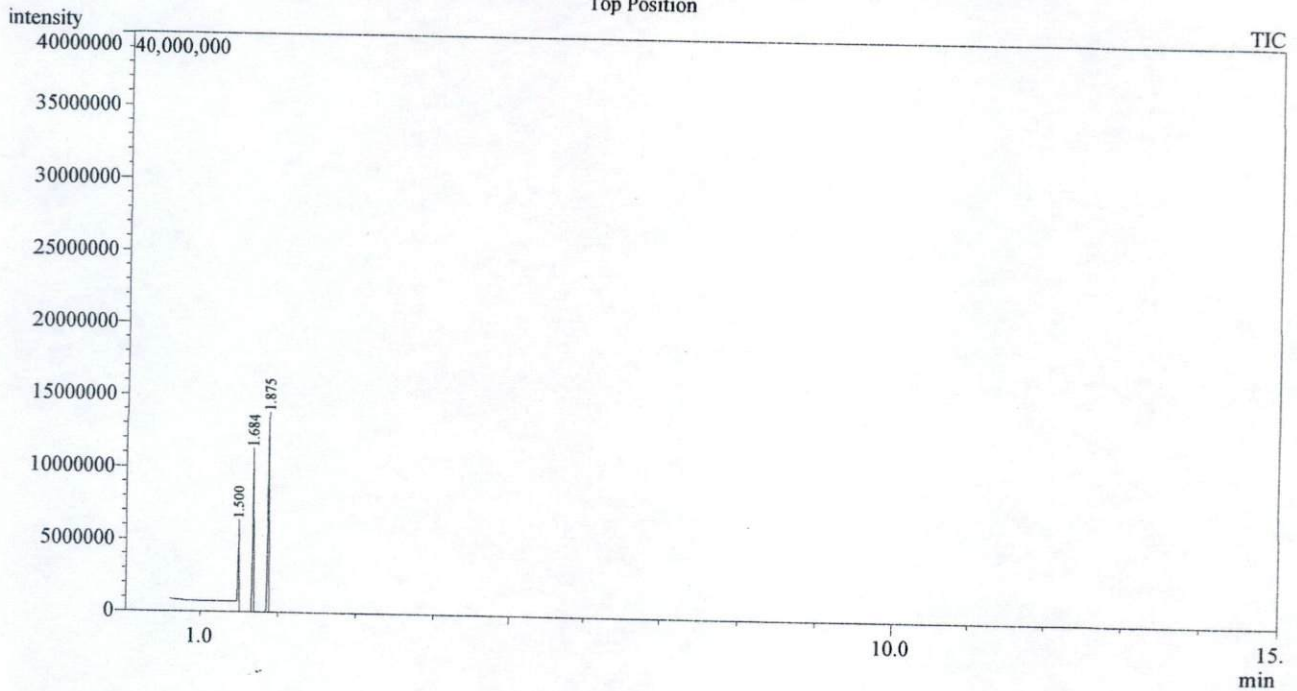
Peak#	R.Time	Area	Area%	Height	Height%	A/H Name
1	1.399	2972724	7.29	389364	1.13	7.63
2	1.550	3398998	8.33	622969	1.81	5.45
3	1.599	12145909	29.78	11523442	33.47	1.05
4	1.783	8162872	20.01	8024301	23.31	1.01
5	1.975	14104475	34.58	13871098	40.29	1.01
		40784978	100.00	34431174	100.00	

# Lampiran 16. Kromatogram Pati Sagu Dari Analisis GC Pengaruh Lama Fermentasi Fermentasi 4 hari

Analyzed by : Admin  
 Analyzed : 10/19/2011 10:52:04 AM  
 Sample Type : Unknown  
 Level # : 1  
 Sample Name : Penelitian Mahasiswa  
 Sample ID : Sampel hasil fermentasi  
 Sample Amount : [1]=1  
 Sample Amount : 1  
 Dilution Factor : 1  
 Vial # : 1  
 Injection Volume : 0.5  
 Data File : C:\GCMSsolution\Sample\Rika\_Fermentasi\Sp14HO.QGD  
 Org Data File : C:\GCMSsolution\Sample\Rika\_Fermentasi\Sp14HO.QGD  
 Method File : C:\GCMSsolution\METODA ANALYSIS\ETHANOL.qgm  
 Org Method File : C:\GCMSsolution\METODA ANALYSIS\ETHANOL.qgm  
 Report File : C:\GCMSsolution\Data\Report\Pestisida PdgPanjang\Sp1\_263.qgr  
 Tuning File : C:\GCMSsolution\System\Tune1\Ethanol.qgt  
 Comment]  
 Sample 4 HO  
 Modified by : Admin  
 Modified : 10/19/2011 11:01:06 AM

## Sample Information

Chromatogram Penelitian Mahasiswa C:\GCMSsolution\Sample\Rika\_Fermentasi\Sp14HO.QGD  
 Top Position

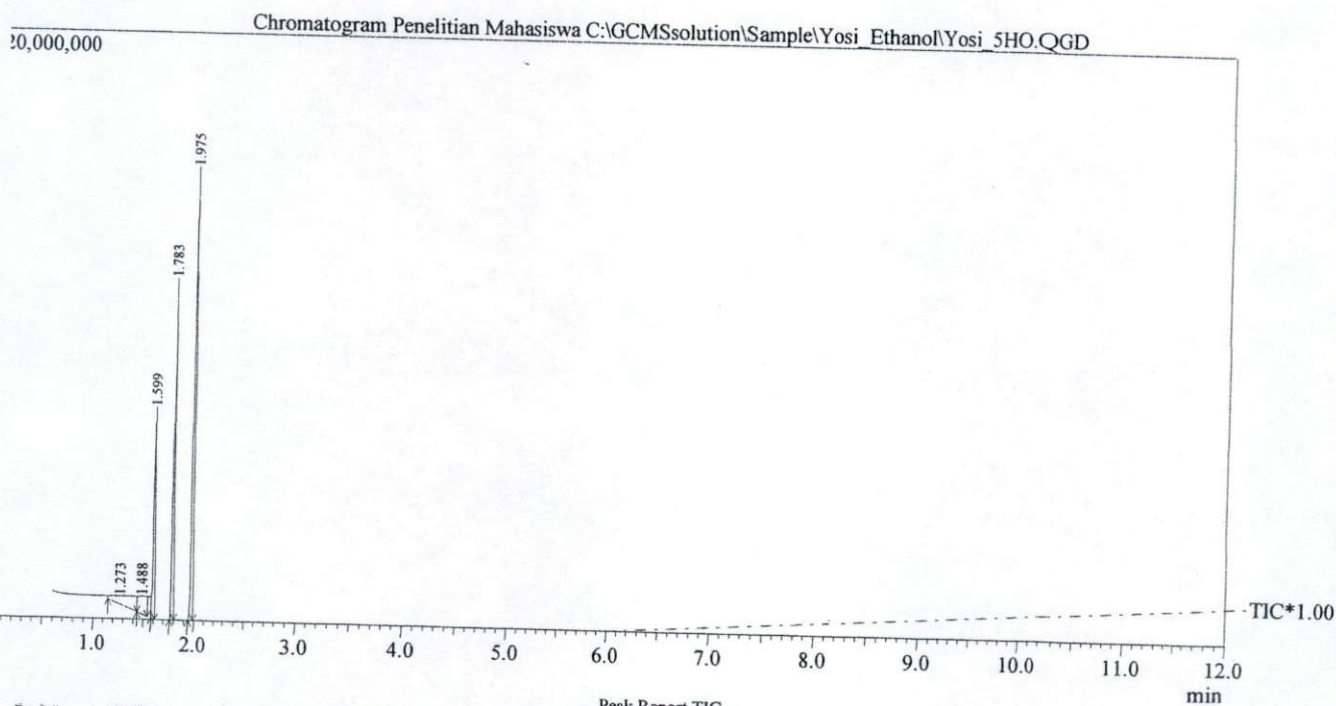


Peak#	R.Time	Area	Area%	Height	Peak Report TIC	Base m/z
					A/H Mark Name	
1	1.500	6086005	19.62	6090760	0.99	18.15
2	1.684	10803065	34.82	11352667	0.95	18.05
3	1.875	14136942	45.56	13855427	1.02	18.10
		31026012	100.00	31298854		

# Lampiran 16. Kromatogram Pati Sagu Dari Analisis GC Pengaruh Lama Fermentasi Fermentasi 5 hari

Analyzed by : Admin  
 Analyzed : 11/10/2011 11:01:19 AM  
 Sample Type : Unknown  
 Level # : 1  
 Sample Name : Penelitian Mahasiswa  
 Sample ID : Sampel hasil fermentasi  
 IS Amount : [1]=1  
 Sample Amount : 1  
 Dilution Factor : 1  
 Vial # : 1  
 Injection Volume : 1  
 Data File : C:\GCMSsolution\Sample\Yosi\_Ethanol\Yosi\_5HO.QGD  
 Org Data File : C:\GCMSsolution\Sample\Yosi\_Ethanol\Yosi\_5HO.QGD  
 Method File : C:\GCMSsolution\METODA ANALYSIS\ETHANOL.qgm  
 Org Method File : C:\GCMSsolution\METODA ANALYSIS\ETHANOL.qgm  
 Report File : C:\GCMSsolution\Data\Report\Yosi\_Ethanol\Spl 2 E.qgr  
 Tuning File : C:\GCMSsolution\System\Tune\Ethanol.qgt  
 [Comment]  
 Sampel kode 5 HO  
 Modified by : Admin  
 Modified : 11/10/2011 11:07:23 AM

## Sample Information

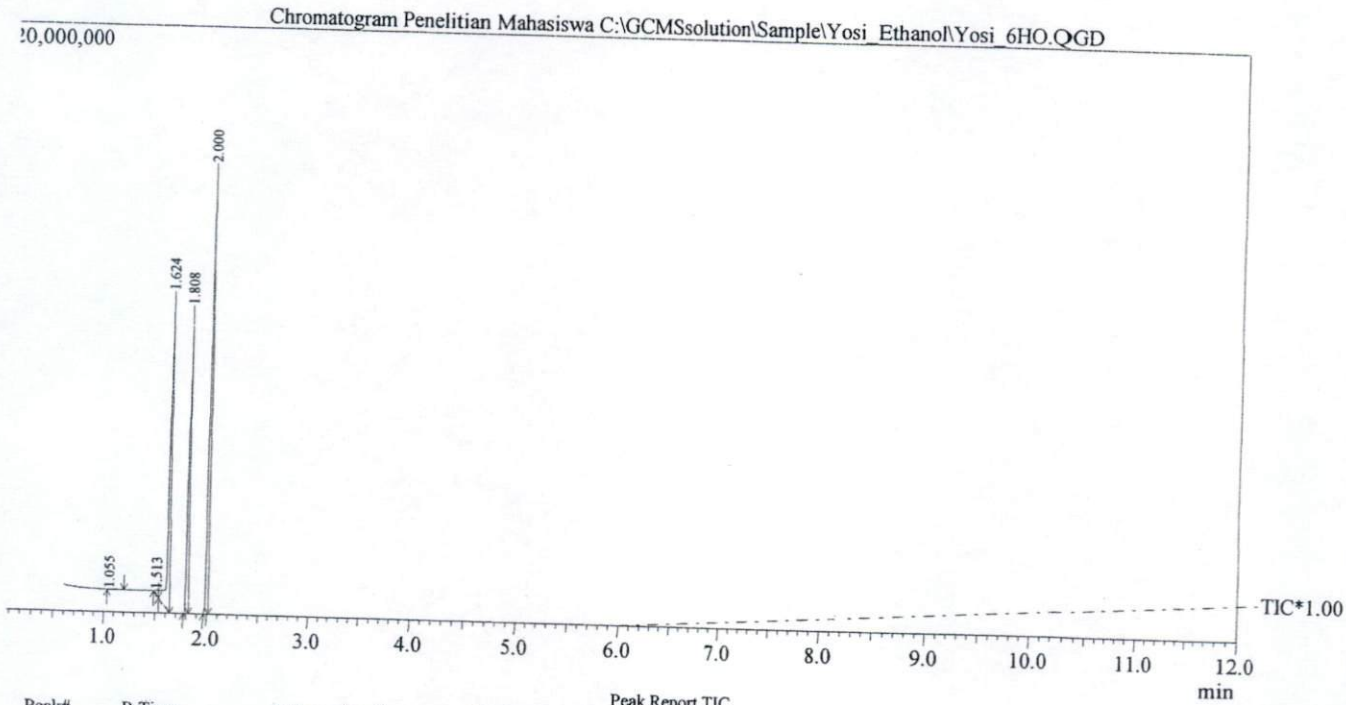


Peak#	R.Time	Area	Area%	Height	Height%	A/H Name
1	1.273	5541615	12.52	289689	0.82	19.12
2	1.488	3607294	8.15	603754	1.71	5.97
3	1.599	7959603	17.99	7216521	20.48	1.10
4	1.783	10725273	24.24	11663971	33.10	0.91
5	1.975	16419391	37.10	15465850	43.89	1.06
		44253176	100.00	35239785	100.00	

# Lampiran 16. Kromatogram Pati Sagu Dari Analisis GC Pengaruh Lama Fermentasi Fermentasi 6 hari

Analyzed by : Admin  
 Analyzed : 11/10/2011 11:14:46 AM  
 Sample Type : Unknown  
 Level # : 1  
 Sample Name : Penelitian Mahasiswa  
 Sample ID : Sampel hasil fermentasi  
 IS Amount : [1]=1  
 Sample Amount : 1  
 Dilution Factor : 1  
 Vial # : 1  
 Injection Volume : 1  
 Data File : C:\GCMSsolution\Sample\Yosi\_Ethanol\Yosi\_6HO.QGD  
 Org Data File : C:\GCMSsolution\Sample\Yosi\_Ethanol\Yosi\_6HO.QGD  
 Method File : C:\GCMSsolution\METODA ANALYSIS\ETHANOL.qgm  
 Org Method File : C:\GCMSsolution\METODA ANALYSIS\ETHANOL.qgm  
 Report File : C:\GCMSsolution\Data\Report\Yosi\_Ethanol\Sp1 2 E.qgr  
 Tuning File : C:\GCMSsolution\System\Tune1\Ethanol.qgt  
 [Comment]  
 Sampel kode 6 HO  
 Modified by : Admin  
 Modified : 11/10/2011 11:20:50 AM

## Sample Information



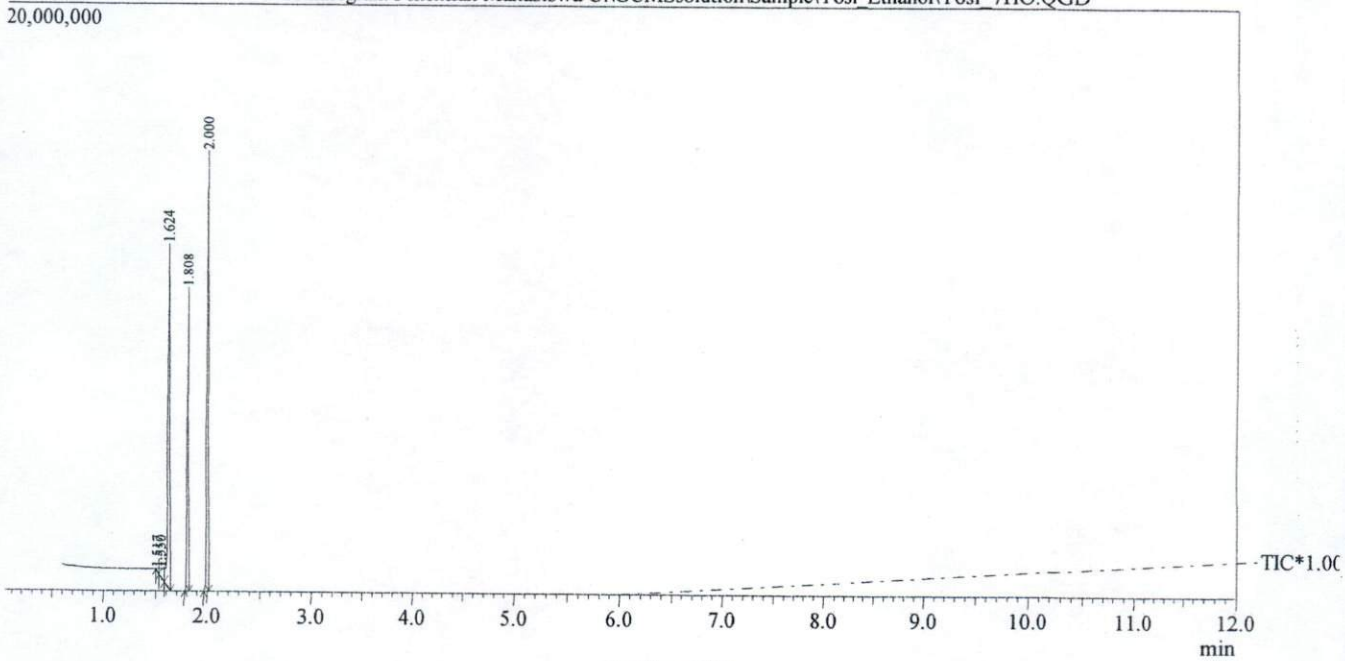
Peak#	R.Time	Area	Area%	Height	Height%	A/H	Name
1	1.055	57974	0.15	10429	0.03	5.55	
2	1.513	400585	1.01	158479	0.43	2.52	
3	1.624	13027692	32.73	10888965	29.48	1.19	
4	1.808	10477499	26.32	10501288	28.43	0.99	
5	2.000	15843053	39.80	15380110	41.64	1.03	
		39806803	100.00	36939271	100.00		

# Lampiran 16. Kromatogram Pati Sagu Dari Analisis GC Pengaruh Lama Fermentasi Fermentasi 7 hari

## Sample Information

Analyzed by : Admin  
 Analyzed : 11/10/2011 11:26:31 AM  
 Sample Type : Unknown  
 Level # : 1  
 Sample Name : Penelitian Mahasiswa  
 Sample ID : Sampel hasil fermentasi  
 IS Amount : [1]=1  
 Sample Amount : 1  
 Dilution Factor : 1  
 Vial # : 1  
 Injection Volume : 1  
 Data File : C:\GCMSsolution\Sample\Yosi\_Ethanol\Yosi\_7HO.QGD  
 Org Data File : C:\GCMSsolution\Sample\Yosi\_Ethanol\Yosi\_7HO.QGD  
 Method File : C:\GCMSsolution\METODA ANALYSIS\E\_THANOL.qgm  
 Org Method File : C:\GCMSsolution\METODA ANALYSIS\E\_THANOL.qgm  
 Report File : C:\GCMSsolution\Data\Report\Yosi\_Ethanol\Sp1 2 E.qgr  
 Tuning File : C:\GCMSsolution\System\Tune\Ethanol.qgt  
 [Comment]  
 Sampel kode 7 HO  
 Modified by : Admin  
 Modified : 11/10/2011 11:32:34 AM

Chromatogram Penelitian Mahasiswa C:\GCMSsolution\Sample\Yosi\_Ethanol\Yosi\_7HO.QGD



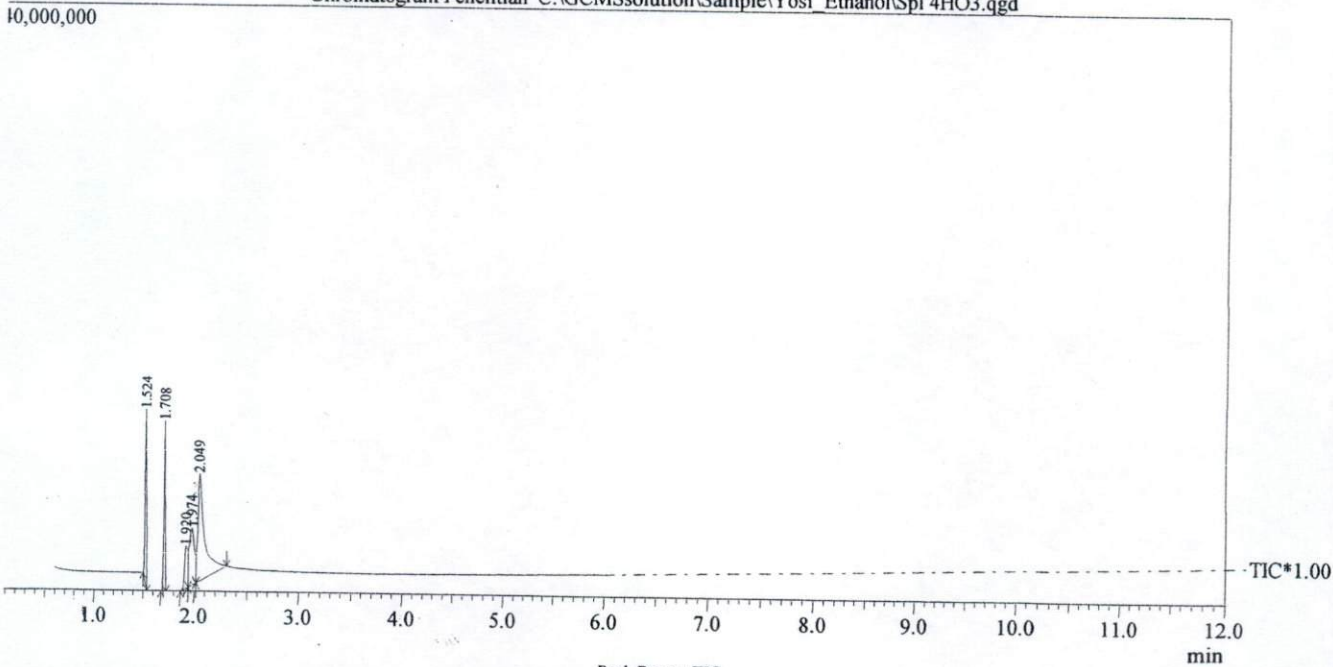
Peak#	R.Time	Area	Area%	Height	Height%	A/H Name
1	1.517	188166	0.48	96838	0.26	1.94
2	1.550	943454	2.40	274348	0.73	3.43
3	1.624	13245378	33.70	11745434	31.33	1.12
4	1.808	9899592	25.19	10360568	27.64	0.95
5	2.000	15029938	38.24	15013199	40.05	1.00
		39306528	100.00	37490387	100.00	

15 mL *Saccharomyces cerevisiae*

Sample Information

Analyzed by : Admin  
 Analyzed : 12/6/2011 9:55:22 AM  
 Sample Type : Unknown  
 Level # : 1  
 Sample Name : Penelitian  
 Sample ID : Hasil Fermentasi  
 IS Amount : [1]=1  
 Sample Amount : 1  
 Dilution Factor : 1  
 Vial # : 1  
 Injection Volume : 1  
 Data File : C:\GCMSsolution\Sample\Yosi\_Ethanol\Spl 4HO3.qgd  
 Org Data File : C:\GCMSsolution\Sample\Yosi\_Ethanol\Spl 4HO3.qgd  
 Method File : C:\GCMSsolution\METODA ANALYSIS\E\_THANOL.qgm  
 Org Method File : C:\GCMSsolution\METODA ANALYSIS\E\_THANOL.qgm  
 Report File : C:\GCMSsolution\Data\Report\Yosi\_Ethanol\Spl 2 E.qgr  
 Tuning File : C:\GCMSsolution\System\Tune1\Ethanol.qgt  
 [Comment]  
 Sampel 4HO3  
 Modified by : Admin  
 Modified : 12/6/2011 10:01:26 AM

Chromatogram Penelitian C:\GCMSsolution\Sample\Yosi\_Ethanol\Spl 4HO3.qgd



Peak#	R.Time	Area	Area%	Height	Height%	A/H	Name
1	1.524	11995340	15.79	11839049	31.56	1.01	
2	1.708	10410479	13.71	11596436	30.92	0.89	
3	1.920	7135138	9.39	2886610	7.70	2.47	
4	1.974	13397564	17.64	3883758	10.35	3.44	
5	2.049	33011282	43.46	7304395	19.47	4.51	
		75949803	100.00	37510248	100.00		

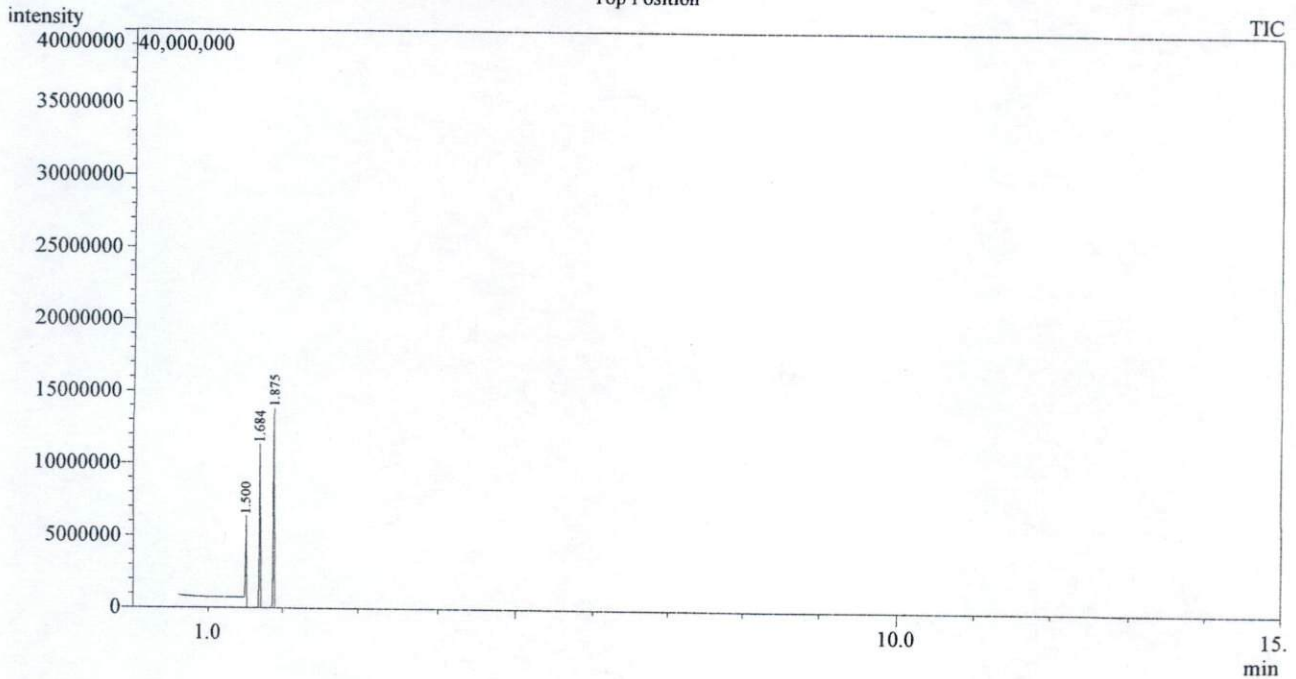
Lampiran 17. Kromatogram Pati Sagu Dari Analisis GC Pengaruh Jumlah  
*Saccharomyces cerevisiae*

20 mL *Saccharomyces cerevisiae*

Sample Information

Analyzed by : Admin  
 Analyzed : 10/19/2011 10:52:04 AM  
 Sample Type : Unknown  
 Level # : 1  
 Sample Name : Penelitian Mahasiswa  
 Sample ID : Sampel hasil fermentasi  
 Sample Amount : [1]=1  
 Sample Amount : 1  
 Dilution Factor : 1  
 Vial # : 1  
 Injection Volume : 0.5  
 Data File : C:\GCMSsolution\Sample\Rika\_Fermentasi\Spl4HO.QGD  
 Orig Data File : C:\GCMSsolution\Sample\Rika\_Fermentasi\Spl4HO.QGD  
 Method File : C:\GCMSsolution\METODA ANALYSIS\ETHANOL.qgm  
 Orig Method File : C:\GCMSsolution\METODA ANALYSIS\ETHANOL.qgm  
 Report File : C:\GCMSsolution\Data\Report\Pestisida PdgPanjang\Spl\_263.qgr  
 Tuning File : C:\GCMSsolution\System\Tune\1\Ethanol.qgt  
 Comment :  
 Sample 4 HO  
 Modified by : Admin  
 Modified : 10/19/2011 11:01:06 AM

Chromatogram Penelitian Mahasiswa C:\GCMSsolution\Sample\Rika\_Fermentasi\Spl4HO.QGD  
 Top Position



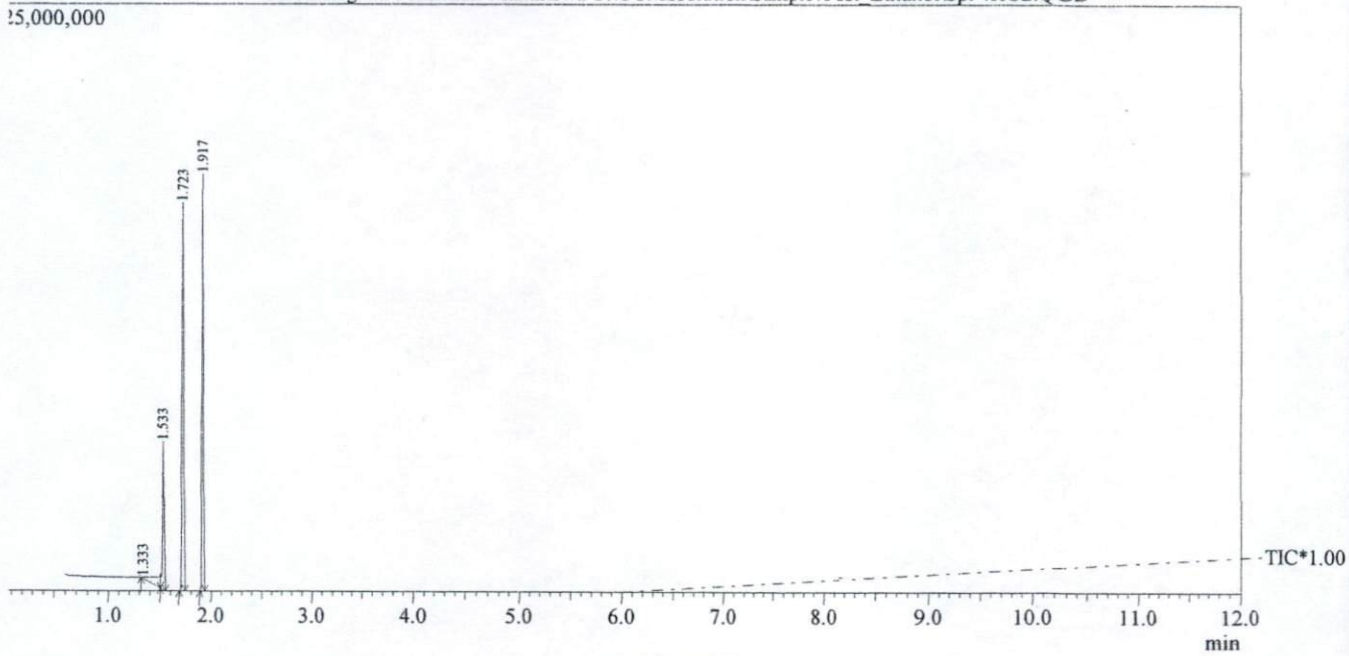
Peak#	R.Time	Area	Area%	Height	A/H	Mark	Name	Base m/z
1	1.500	6086005	19.62	6090760	0.99			18.15
2	1.684	10803065	34.82	11352667	0.95			18.05
3	1.875	14136942	45.56	13855427	1.02			18.10
		31026012	100.00	31298854				

25 mL *Saccharomyces cerevisiae*

Sample Information

Analyzed by : Admin  
 Analyzed : 11/21/2011 12:33:52 PM  
 Sample Type : Unknown  
 Level # : 1  
 Sample Name : Penelitian Mahasiswa  
 Sample ID : Sampel hasil fermentasi  
 IS Amount : [1]=1  
 Sample Amount : 1  
 Dilution Factor : 1  
 Vial # : 1  
 Injection Volume : 1  
 Data File : C:\GCMSsolution\Sample\Yosi\_Ethanol\Spl 4HO2.QGD  
 Org Data File : C:\GCMSsolution\Sample\Yosi\_Ethanol\Spl 4HO2.QGD  
 Method File : C:\GCMSsolution\METODA ANALYSIS\ETHANOL.qgm  
 Org Method File : C:\GCMSsolution\METODA ANALYSIS\ETHANOL.qgm  
 Report File : C:\GCMSsolution\Data\Report\Yosi\_Ethanol\Spl 2 E.qgr  
 Tuning File : C:\GCMSsolution\System\Tune\Ethanol.qgt  
 [Comment]  
 Sampel kode 4HO2  
 Modified by : Admin  
 Modified : 11/21/2011 12:39:55 PM

Chromatogram Penelitian Mahasiswa C:\GCMSsolution\Sample\Yosi\_Ethanol\Spl 4HO2.QGD



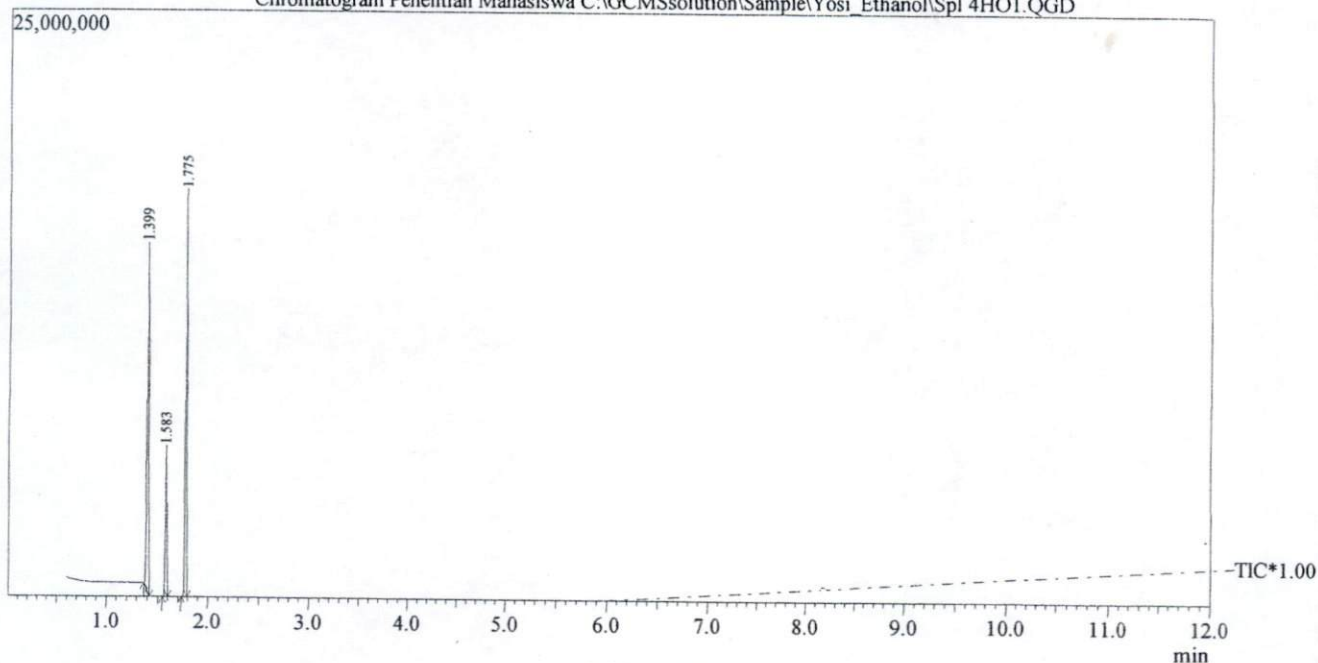
Peak#	R.Time	Area	Area%	Height	Height%	A/H Name
1	1.333	2633440	5.64	54052	0.13	48.72
2	1.533	7017344	15.02	6314917	15.50	1.11
3	1.723	19200479	41.09	16568068	40.67	1.15
4	1.917	17871374	38.25	17796648	43.69	1.00
		46722637	100.00	40733685	100.00	

30 mL *Saccharomyces cerevisiae*

Sample Information

Analyzed by : Admin  
 Analyzed : 11/21/2011 11:44:30 AM  
 Sample Type : Unknown  
 Level # : 1  
 Sample Name : Penelitian Mahasiswa  
 Sample ID : Sampel hasil fermentasi  
 IS Amount : [1]=1  
 Sample Amount : 1  
 Dilution Factor : 1  
 Vial # : 1  
 Injection Volume : 1  
 Data File : C:\GCMSsolution\Sample\Yosi\_Ethanol\Spl 4HO1.QGD  
 Org Data File : C:\GCMSsolution\Sample\Rika\_Fermentasi\Spl 4HO1.QGD  
 Method File : C:\GCMSsolution\METODA ANALYSIS\_E\_THANOL.qgm  
 Org Method File : C:\GCMSsolution\METODA ANALYSIS\_E\_THANOL.qgm  
 Report File : C:\GCMSsolution\Data\Report\Yosi\_Ethanol\Spl 2 E.qgr  
 Tuning File : C:\GCMSsolution\System\Tune1\Ethanol.qgt  
 [Comment]  
 Sampel kode 4HO1  
 Modified by : Admin  
 Modified : 11/21/2011 11:50:32 AM

Chromatogram Penelitian Mahasiswa C:\GCMSsolution\Sample\Yosi\_Ethanol\Spl 4HO1.QGD



Peak#	R.Time	Area	Area%	Height	Height%	A/H	Name
1	1.399	16188954	40.56	14930343	38.47	1.08	
2	1.583	6591716	16.51	6456575	16.64	1.02	
3	1.775	17135627	42.93	17422887	44.89	0.98	
		39916297	100.00	38809805	100.00		