

**ZMaysFuel: INOVASI RENEWABLE FUEL LIMBAH  
TONGKOL JAGUNG SEBAGAI BIOMASSA POTENSIAL  
PRODUKSI BIOETHANOL MELALUI METODE *FED-BATCH*  
SSF TERMODIFIKSI ION MINERAL  $\text{PO}_4^{3-}/\text{Mg}^{2+}/\text{Fe}^{2+}$**

Muhammad Fakhrudin Zukhri<sup>1</sup>, Fatchur Rozi<sup>2</sup>, Achmad Dani Baihaqi<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Teknik Kimia Industri, Vokasi, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya,  
Indonesia

<sup>2</sup>Statistika, Sains dan Analitika Data, Institut Teknologi Sepuluh Nopember,  
Surabaya, Indonesia

<sup>3</sup>Teknik Kimia Industri, Vokasi, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya,  
Indonesia

<sup>1</sup>mfzfakhrudin@gmail.com

**Abstrak**

Indonesia, as a country rich in natural resources, has the opportunity to develop bioethanol to replace fossil energy sources which are less abundant. Bioethanol can be made from biomass containing sugar, starch or cellulose which has been processed into glucose. Compared to other types of biomass, corn cobs are the ideal raw material choice for ethanol biosynthesis with a high lignocellulosic composition, so they can be used as raw materials for bioethanol production with cellulose (38.9%), hemicellulose (28.5%), lignin (20.5%). Unfortunately, the rate of development of bioethanol utilization in Indonesia cannot yet be compared to biodiesel, even though the opportunity for bioethanol to achieve success like biodiesel is also large. This can be seen by the issuance of regulations in accordance with the quality standards set by the Minister of Energy and Mineral Resources Number 252.K/HK.02/DJM/2023 which regulate the use of E5 (5% bioethanol and 95% gasoline) in 2023. Therefore, in this research The fed-batch SSF method used aims to produce high bioethanol yields from corncob biomass waste, shorten fermentation time, reduce production costs, and avoid the risk of contamination. To produce optimum bioethanol products using *Saccharomyces Cerevisiae* through the fed-batch Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF) process, the mineral ion  $\text{PO}_4^{3-}$  (5, 7.5, and 10 ppm),  $\text{Mg}^{2+}$  ions (2, 5, and 8 ppm) are added, and  $\text{Fe}^{2+}$  ions (4, 5, and 6 ppm) with a *S. Cerevisiae* strain concentration of 3% (w/v) and fermentation times of 24, 48, and 72 hours. The optimum value to obtain parameters that comply with bioethanol quality standards for fuel is analyzed using Analysis of Variance (ANOVA) and Response Surface Method (RSM). Optimum operating conditions for the addition of  $\text{PO}_4^{3-}/\text{Mg}^{2+}/\text{Fe}^{2+}$  mineral ions were modified using the method by adding mineral ions to the fermentation medium and multilevel distillation was carried out until the content reached 95-99.5%, then quality tests were carried out for density, concentration, specific gravity, API Gravity, and calorific value.

**Keyword:** Bioethanol, Fed-Batch SSF, Lignocellulosa

## Pendahuluan

Krisis energi di seluruh dunia masih menjadi perhatian yang signifikan karena permintaan energi terus meningkat akibat pesatnya pertumbuhan populasi, kemajuan transportasi, dan industrialisasi (Deshmukh & Pathan, 2024). Tercatat emisi CO<sub>2</sub> global terkait energi pada tahun 2021 meningkat menjadi 36,3 Gt, lebih tinggi dibandingkan emisi yang pernah tercatat dalam sejarah umat manusia (IEA, 2022). Oleh karena itu, percepatan transisi energi ke sumber daya terbarukan akan berkontribusi terhadap keamanan energi global dan lingkungan ekologi yang berkelanjutan (Zhang, et al., 2023). Salah satu sumber energi yang saat ini sedang dikembangkan sebagai energi terbarukan adalah bioetanol. Penggunaan bioetanol yang dihasilkan dari biomassa dapat mengurangi ketergantungan terhadap bahan bakar fosil dan bahan bakar tersebut dapat digunakan pada mesin bensin (Juliarnita, et al., 2018). Selain itu, bioetanol lebih efisien dibandingkan bahan bakar konvensional serta penggunaannya melepaskan lebih sedikit CO<sub>2</sub> dibandingkan bahan bakar fosil (Nguyen & Zondervan, 2019). Sayangnya, laju perkembangan pemanfaatan bioetanol di Indonesia belum bisa disamakan dengan biodiesel, padahal peluang bioetanol untuk mencapai kesuksesan seperti biodiesel juga besar. Hal ini terlihat dengan diterbitkannya peraturan sesuai dengan standar mutu yang ditetapkan Menteri ESDM Nomor 252.K/HK.02/DJM/2023 yang mengatur penggunaan E5 (5% bioetanol dan 95% bensin) pada tahun 2023 (ESDM, 2023). Salah satu bahan yang dapat dimanfaatkan dalam pembentukan bioetanol adalah biomassa lignoselulosa.

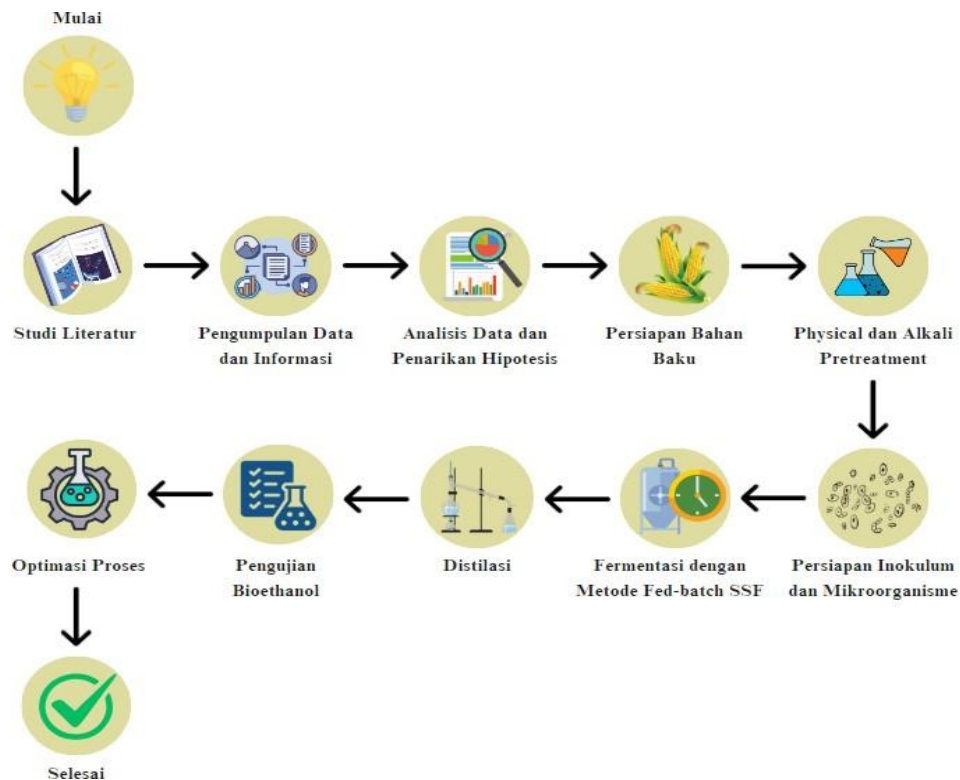
Biomassa lignoselulosa merupakan bahan baku murah dan tersedia dalam jumlah yang cukup banyak yang diperoleh dari residu pertanian merupakan sumber terbarukan global yang paling melimpah dan berkelanjutan untuk produksi *biofuel* (Tursi, 2023). Dibandingkan dengan jenis biomassa lainnya, bonggol jagung merupakan bahan baku pilihan ideal untuk biosintesis etanol dengan komposisi lignoselulosa yang tinggi, sehingga dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku produksi bioetanol dengan kandungan Selulosa (38,9%), hemiselulosa (28,5%), lignin (20,5%) (Bu, et al., 2021). Tingginya kandungan lignin, selulosa dan hemiselulosa menjadikannya cocok sebagai bahan baku pembuatan gula fermentasi untuk produksi energi.

Produksi bioetanol dari lignoselulosa dapat dikategorikan menjadi beberapa proses, antara lain; *Separate Hydrolysis Fermentation* (SHF) dan *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF). Dalam proses SHF, hidrolisis enzimatis dan fermentasi etanol dilakukan secara terpisah menggunakan dua wadah terpisah (Du, et al., 2020). Keuntungan utama metode SHF adalah proses hidrolisis dan fermentasi dapat dipisahkan dan dilakukan dalam kondisi optimal. Namun, akumulasi produk enzimatis seperti glukosa dapat menghambat aktivitas enzim, sehingga mempengaruhi hasil dan produktivitas fermentasi berikutnya (Zhou, et al., 2023). Sedangkan fermentasi dengan metode SSF bekerja dengan menggabungkan hidrolisis enzim dan fermentasi dalam satu reaktor dengan risiko kontaminasi yang rendah (Albernas, et al., 2017). Hal ini menghasilkan efek penghambatan yang minimal pada enzim, mengurangi tekanan osmotik pada sel mikroba, dan menunjukkan risiko kontaminasi yang rendah dengan tetap mempertahankan konsentrasi etanol yang tinggi (Afedzi, et al., 2022). Namun, kelemahan dari metode SSF pada konsentrasi padat yang tinggi adalah viskositas yang tinggi dan konsumsi energi yang tinggi (Roberto, et al., 2020). Konsentrasi substrat yang tinggi akan menghasilkan kandungan inhibitor yang tinggi, sehingga menghambat konsentrasi dan hasil etanol (Gao, et al., 2018).

Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan upaya untuk meningkatkan kualitas bioethanol berbasis limbah bonggol jagung melalui metode modifikasi *Fed-Batch Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF) dengan penambahan ion mineral  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ , dan  $\text{Fe}^{2+}$ . Pengaruh dari penambahan komponen medium pada metode *fed-batch* SSF dilakukan analisa statistik dengan *Analysis of Variance* (ANOVA) dan *Response Surface Method* (RSM). Optimasi statistik proses fermentasi dilakukan dengan *Central Composite Design* (CCD) dengan parameter utama rasio penambahan ion mineral  $\text{PO}_4^{3-}$  (5, 7,5, dan 10 ppm), ion  $\text{Mg}^{2+}$  (2, 5, dan 8 ppm), dan ion  $\text{Fe}^{2+}$  (4, 5, dan 6 ppm) dengan konsentrasi *strain* *S. Cerevisiae* 3% (b/v) dan waktu fermentasi selama 24, 48, dan 72 jam. Dengan demikian, melalui modifikasi metode *fed-batch* SSF mampu menghasilkan bioetanol secara efektif sehingga dapat menjamin keamanan energi nasional sebagai upaya mendukung terrealisasinya SDGs Indonesia emas 2045.

### Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan riset terapan sesuai dengan Standar Operasional Prosedur (SOP) yang dilaksanakan selama 2 bulan, terhitung dari bulan Maret-April 2024. Penelitian ini mengacu pada diagram alir sebagai berikut:



**Gambar 3. 1** Diagram Alir Penelitian

### Preparasi Alat dan Bahan dan Pretreatment

Dalam proses produksi bioetanol diawali dengan phisycal pretreatment dengan penjemuran selama 2 hari dan dilakukan penggilingan dan disaring dengan ukuran 40 mesh. Tongkol jagung halus dilakukan alkali pretreatment dengan NaOH 2% untuk mendelignifikasi komponen lignoselulosa. Perbandingan bonggol jagung halus 500 gram dengan aquades 1000 ml dan dipasteurisasi dengan suhu 85°C selama 60 menit. Hasil delignifikasi disaring dan dinetralkan dengan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> hingga mencapai pH netral.

### Persiapan Inokulum dan Mikroorganisme

Starter yang digunakan untuk inokulasi dibuat dengan memanaskan aquades 100 ml. *Buffer* natrium sitrat pH 5,0 (0,1 M) ditambah dengan (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 4 g/L, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1 g/L, dan MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0,1 g /L. Media produksi bioetanol SSF (pH 5,0) diautoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Boonchuay, et al., 2018).

### Fermentasi *Fed-Batch* SSF

Proses *fed-batch* SSF dilakukan dalam erlenmeyer 250 ml yang telah disterilisasi di *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Sampel hasil alkali *pretreatment* dimasukkan ke dalam *erlenmeyer* dengan volume masing-masing 100 ml. Variabel yang digunakan dalam proses fermentasi adalah rasio penambahan ion mineral  $\text{PO}_4^{3-}$  (5, 7,5, dan 10 ppm), ion  $\text{Mg}^{2+}$  (2, 5, dan 8 ppm), dan ion  $\text{Fe}^{2+}$  (4, 5, dan 6 ppm) dengan konsentrasi *strain S. Cerevisiae* 3% (b/v) dan waktu fermentasi selama 24, 48, dan 72 jam. Pada penelitian ini, ion mineral  $\text{PQ}^{3-}$ , ion  $\text{Mg}^{2+}$ , dan ion  $\text{Fe}^{2+}$  diperoleh dari  $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , dan  $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ . Pada metode *fed-batch* SSF, penambahan substrat pada media fermentasi dilakukan dengan interval waktu 24 jam selama proses fermentasi hingga mencapai 150 ml.

### Distilasi Bioetanol

Hasil fermentasi dilakukan distilasi menggunakan seperangkat alat distilat 250 ml sesuai dengan variabel waktu fermentasi. Pada tahap ini dilakukan pemanasan dengan suhu 78°C (titik didih etanol) sampai bioetanol tidak menetes.

### Analisa Kualitas Bioetanol

Hasil distilasi bioethanol dilakukan pengujian nilai densitas menggunakan piknometer 5 ml dengan teknik interpolasi data densitas etanol yang mengacu pada Tabel 3. *Density of Ethanol and Water Mixtures* (Holmquist dan Volz, 2000). Pengukuran densitas setelah distilasi pertama dengan piknometer:

$$\text{Densitas Bioethanol (g/ml)} = \frac{(b - a)}{(c - a)} \times \rho_{\text{aquades}} \dots\dots\dots(1)$$

Keterangan

a= berat piknometer kosong (g)

b= berat piknometer+bioetanol (g)

c= berat piknometer+aquades (g)

$\rho_{\text{aquades}} = 0,9662 \text{ g/ml}$

Besar konsentrasi bioetanol untuk setiap sampel ditentukan berdasarkan Alminderej, et al., (2022) pada persamaan berikut:

$$\text{Konsetrasi Bioethanol } \left(\frac{\text{g}}{\text{L}}\right) = 10 \times \text{Kadar bioethanol (\%)} \times \rho \dots\dots(2)$$

$$\text{Densitas Bioethanol (Y)} = \frac{(X - X_1)}{(X_2 - X_1)} \times (Y_2 - Y_1) + Y_1 \quad \dots\dots\dots(3)$$

Keterangan:

$X_1$  = Data Densitas 1 (batas atas) (g/ml)       $Y_1$  = Data Kadar 1 (batas atas) (%)  
 $X_2$  = Data Densitas 2 (batas bawah) (g/ml)       $Y_2$  = Data Kadar 2 (batas bawah) (%)  
 $X$  = Hasil Pengukuran Densitas (g/ml)       $Y$  = Kadar Etanol yang Diinginkan (%)

Berdasarkan Thangavelu, et al., (2014), produktivitas metode tersebut didasarkan pada konsentrasi bioetanol yang diperoleh dan waktu fermentasi seperti ditunjukkan pada persamaan berikut:

$$\text{ethanol Productivity (g/L/jam)} = \frac{\text{Konsentrasi Etanol (g/L)}}{\text{Waktu Fermentasi (Jam)}} \quad \dots\dots\dots(4)$$

Kualitas bioetanol yang dihasilkan pada kondisi optimum dihitung berdasarkan perhitungan *specific gravity*, API Gravity, dan nilai kalor sesuai dengan penelitian Wijaya, et.,all (2012), sebagai berikut:

$$\text{specific gravity} = \frac{\text{Densitas Bioetanol (g/ml)}}{\text{Densitas Air (g/ml)}} \quad \dots\dots\dots(5)$$

$$\text{API Gravity} = \frac{141,5}{sg} - 131,5 \quad \dots\dots\dots(6)$$

$$\text{Nilai Kalor (kkal/kg)} = \frac{2,2046226}{3,9673727} \times (18.650 + 40 \times (G - 10)) \quad \dots\dots\dots(7)$$

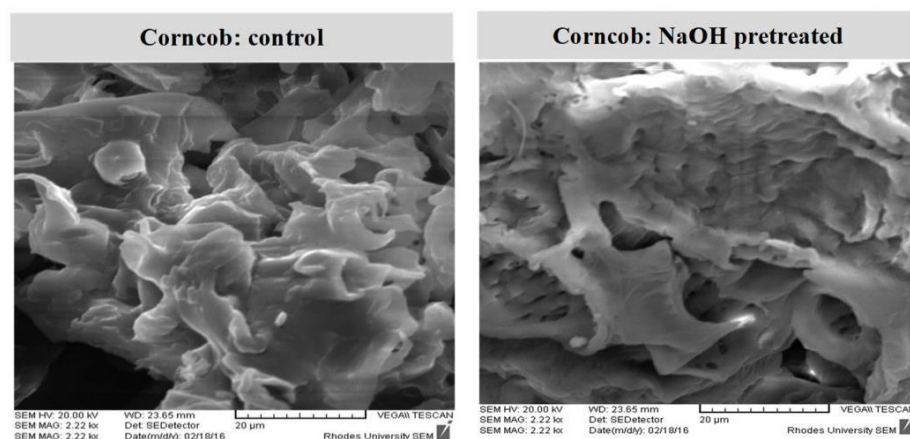
### **Design of Experiment**

Pengaruh dari penambahan komponen medium pada metode *fed-batch* SSF dilakukan analisa statistik dengan *Analysis of Variance* (ANOVA) menggunakan software **MINITAB Statistical Software** dan *Respon Surface Method* (RSM) menggunakan software **DESIGN EXPERT 13**. Optimasi statistik proses fermentasi dilakukan dengan *Central Composite Design* (CCD) dengan parameter utama rasio penambahan ion mineral  $\text{PO}_4^{3-}$  (5, 7,5, dan 10 ppm), ion  $\text{Mg}^{2+}$  (2, 5, dan 8 ppm), dan ion  $\text{Fe}^{2+}$  (4, 5, dan 6 ppm) dengan konsentrasi *strain S. Cerevisiae* 3% (b/v) dan waktu fermentasi selama 24, 48, dan 72 jam. Hasil optimasi digunakan sebagai parameter untuk memproduksi bioetanol dengan kadar 96-99,5% yang akan disubstitusikan ke bahan bakar jenis gasoline.

## Pembahasan

### Pengaruh Alkali *Pretreatment* Terhadap Produksi Bioetanol

Lignoselulosa memiliki struktur kompleks yang terdiri dari polimer selulosa dan hemiselulosa (polisakarida) serta lignin (makromolekul fenolik) (Brethauer, et al., 2020). Sebaliknya, bagian lignin terletak pada rongga antara dinding sel, selulosa, dan hemiselulosa (Baldino, et al., 2019). Lignin dalam biomassa lignoselulosa menyebabkan kesulitan dalam pemecahan ikatan dan akses bahan kimia atau enzim. Perlakuan *pretreatment* sangat penting untuk memisahkan lignin dan meningkatkan daya cerna serta kesesuaian untuk melarutkan selulosa dan hemiselulosa (Lee, et al., 2014). Oleh karena itu, dalam proses produksi bioetanol dengan biomassa tongkol jagung diawali dengan dilakukannya *pretreatment* dengan alkali NaOH 2% untuk mendelignifikasi selulosa dan hemiselulosa yang terdapat dalam struktur rumit. Hal ini memungkinkan enzim mengakses gula yang ada dalam fraksi holoselulosa dan menghidrolisisnya menjadi etanol (Mankar, et al., 2021). Selain itu, Perlakuan awal dengan basa menginduksi reaksi saponifikasi, dimana ion hidroksida bebas memutus ikatan ester yang ada antara molekul bagian dalam lignoselulosa yang menghubungkan hemiselulosa dan komponen lainnya yang mengakibatkan peningkatan struktur pori lignoselulosa karena hilangnya ikatan penghubung (Chen, et al., 2017).



**Gambar 4. 1** Scanning Electron Microscope (SEM) Pretreatment NaOH Pada Tongkol Jagung dan Sorgum (Sumber: Mafa, et al., (2020))

**Gambar 4.1** menunjukkan hasil SEM yang dilakukan oleh Mafa, et al., (2020) terhadap pengaruh perlakuan awal bonggol jagung dengan NaOH membentuk lapisan tebal dan halus berwarna keputihan. Setelah *pretreatment*.

biomassa memiliki morfologi yang menunjukkan bahwa lignin telah terurai dan terkondensasi menjadi tetesan dan lembaran kecil. Lignin menciptakan luas permukaan biomassa yang lebih besar yang ideal untuk aktivitas enzimatik. Sekitar lebih dari 90% lignin telah dihilangkan dari biomassa meninggalkan selulosa dan hemiselulosa dengan pori-pori di permukaannya. Terdapat korelasi yang tinggi antara komposisi biomassa **Gambar 4.1** dan hasil SEM yang menunjukkan bahwa perlakuan awal NaOH efektif dalam menghilangkan lignin dari biomassa.

#### **Pengaruh *Saccharomyces Cerevisiae* dalam Memproduksi Bioetanol**

Penambahan *yeast* pada media fermentasi memainkan peran penting dalam proses produksi etanol (Walker & Stewart, 2016). Sejumlah penelitian telah mengkonfirmasi efektivitas *saccharomyces cerevisiae* sebagai ragi yang paling cocok untuk fermentasi bioetanol. Berdasarkan penelitian Sriputorn, et al., (2021), penambahan urea dalam media fermentasi dapat meningkatkan hasil produksi etanol dengan menggunakan konsentrasi urea yang lebih tinggi. Namun pada penelitian Wongsurakul, et al., (2022), kandungan urea yang tinggi tidak dianjurkan karena dapat mendukung produksi senyawa karsinogenik, seperti etil karbamat. *S. cerevisiae* tidak dapat memfiksasi nitrogen di atmosfer karena bersifat non-diazotrofik. Nitrogen dalam media fermentasi *yeast* berperan anabolik untuk biosintesis protein struktural dan fungsional (enzim) dan asam nukleat serta berperan katabolik dalam produksi alkohol yang lebih tinggi (Walker & Stewart, 2016). *S. Cerevisiae* mampu dengan cepat mengubah gula menjadi etanol secara anaerobik, dimana glukosa dimetabolisme melalui jalur glikolitik (Chen, et al., 2018). Penelitian yang dilakukan oleh Yaverino-Gutiérrez, et al., (2024), pada sintesis etanol dilakukan oleh mikroorganisme melalui fermentasi gula pereduksi, monomer glukosa dioksidasi dalam proses glikolisis, membentuk dua molekul asam piruvat dan sepasang molekul NADH dari dua molekul  $\text{NAD}^+$ . Pada keadaan ini, satu molekul glukosa diubah menjadi dua molekul piruvat dan diubah dalam jalur fermentasi *S. cerevisiae* menjadi asetaldehida dan karbon dioksida dalam reaksi yang dikatalisis oleh enzim piruvat dekarboksilase. Asetaldehida kemudian direduksi menjadi etanol pada reaksi selanjutnya yang dikatalisis oleh enzim alkohol dehidrogenase (Topaloğlu, et al., 2023).



### Pengaruh penambahan Ion Mineral Terhadap Kualitas Bioetanol

Berdasarkan penelitian terhadap penambahan ion mineral  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ , dan  $\text{Mg}^{2+}$  dalam proses produksi bioethanol diperoleh data sebagai berikut;

**Tabel 4. 1** Pengaruh Penambahan Ion  $\text{PO}_4^{3-}$  Terhadap Kualitas Bioetanol

| run | Ion $\text{PO}_4^{3-}$<br>(ppm) | Waktu<br>(Jam) | Densitas<br>(g/ml) | Kadar<br>Ethanol (%) | konsentrasi<br>(g/L) | Produktivitas<br>(g/L/Jam) | Spesific<br>Gravity | API<br>Gravity | Nilai Kalor<br>(kkal/kg) |
|-----|---------------------------------|----------------|--------------------|----------------------|----------------------|----------------------------|---------------------|----------------|--------------------------|
| 1   | 5                               | 24             | 0,9837             | 7,89                 | 77,679               | 3,2366                     | 1,0182              | 7,4687         | 10.307                   |
| 2   | 7,5                             |                | 0,9804             | 10,45                | 102,483              | 4,2701                     | 1,0146              | 7,9503         | 10.318                   |
| 3   | 10                              |                | 0,9737             | 14,31                | 139,352              | 5,8063                     | 1,0078              | 8,8985         | 10.339                   |
| 4   | 5                               | 48             | 0,9820             | 8,89                 | 87,350               | 1,8197                     | 1,0164              | 7,7153         | 10.312                   |
| 5   | 7,5                             |                | 0,9758             | 11,95                | 116,639              | 2,4299                     | 1,0100              | 8,5977         | 10.332                   |
| 6   | 10                              |                | 0,9706             | 16,49                | 160,067              | 3,3347                     | 1,0045              | 9,3522         | 10.349                   |
| 7   | 5                               | 72             | 0,9805             | 9,83                 | 96,389               | 1,3387                     | 1,0148              | 7,9255         | 10.317                   |
| 8   | 7,5                             |                | 0,9777             | 12,68                | 124,035              | 1,7227                     | 1,0119              | 8,3355         | 10.326                   |
| 9   | 10                              |                | 0,9697             | 17,50                | 169,756              | 2,3577z                    | 1,0036              | 9,4787         | 10.352                   |

**Tabel 4. 2** Pengaruh penambahan Ion  $\text{Fe}^{2+}$  Terhadap Kualitas Bioetanol

| run | Ion $\text{Fe}^{2+}$<br>(ppm) | Waktu<br>(Jam) | Densitas<br>(g/ml) | Kadar<br>Ethanol (%) | konsentrasi<br>(g/L) | Produktivitas<br>(g/L/Jam) | Spesific<br>Gravity | API Gravity | Nilai Kalor<br>(kkal/kg) |
|-----|-------------------------------|----------------|--------------------|----------------------|----------------------|----------------------------|---------------------|-------------|--------------------------|
| 10  | 4                             | 24             | 0,9846             | 7,65                 | 75,299               | 3,1374                     | 1,0190              | 7,3581      | 10304,863                |
| 11  | 5                             |                | 0,9801             | 10,57                | 103,578              | 4,3158                     | 1,0143              | 8,0000      | 10319,131                |
| 12  | 6                             |                | 0,9733             | 14,67                | 142,787              | 5,9495                     | 1,0073              | 8,9740      | 10340,781                |
| 13  | 4                             | 48             | 0,9821             | 8,89                 | 87,350               | 1,8198                     | 1,0164              | 7,7153      | 10312,804                |
| 14  | 5                             |                | 0,9761             | 11,86                | 115,805              | 2,4126                     | 1,0103              | 8,5602      | 10331,585                |
| 15  | 6                             |                | 0,9699             | 16,97                | 164,583              | 3,4288                     | 1,0039              | 9,4535      | 10351,439                |
| 16  | 4                             | 72             | 0,9807             | 9,77                 | 95,850               | 1,3313                     | 1,0150              | 7,9132      | 10317,202                |
| 17  | 5                             |                | 0,9760             | 13,89                | 135,604              | 1,8834                     | 1,0102              | 8,5727      | 10331,863                |
| 18  | 6                             |                | 0,9708             | 16,37                | 158,938              | 2,2075                     | 1,0048              | 9,3270      | 10348,627                |

**Tabel 4. 3** Pengaruh penambahan Ion  $\text{Mg}^{2+}$  Terhadap Kualitas Bioetanol

| run | Ion $\text{Mg}^{2+}$<br>(ppm) | Waktu<br>(Jam) | Densitas<br>(g/ml) | Kadar<br>Ethanol (%) | Konsentrasi<br>(g/L) | Produktivitas<br>(g/L/Jam) | Spesific<br>Gravity | API Gravity | Nilai Kalor<br>(kkal/kg) |
|-----|-------------------------------|----------------|--------------------|----------------------|----------------------|----------------------------|---------------------|-------------|--------------------------|
| 19  | 2                             | 24             | 0,9853             | 6,87                 | 67,676               | 2,8198                     | 1,0197              | 7,2598      | 10302,680                |
| 20  | 5                             |                | 0,9808             | 10,31                | 101,115              | 4,2131                     | 1,0151              | 7,8884      | 10316,652                |
| 21  | 8                             |                | 0,9771             | 13,54                | 132,287              | 5,5119                     | 1,0113              | 8,4229      | 10328,531                |
| 22  | 2                             | 48             | 0,9851             | 7,48                 | 73,709               | 1,5356                     | 1,0196              | 7,2844      | 10303,225                |
| 23  | 5                             |                | 0,9794             | 10,80                | 105,765              | 2,2034                     | 1,0136              | 8,0992      | 10321,338                |
| 24  | 8                             |                | 0,9715             | 15,87                | 154,189              | 3,2123                     | 1,0055              | 9,2259      | 10346,381                |
| 25  | 2                             | 72             | 0,9825             | 8,62                 | 84,680               | 1,1761                     | 1,0169              | 7,6536      | 10311,432                |
| 26  | 5                             |                | 0,9777             | 11,69                | 114,259              | 1,5869                     | 1,0119              | 8,3356      | 10326,591                |
| 27  | 8                             |                | 0,9702             | 16,79                | 162,891              | 2,2624                     | 1,0041              | 9,4155      | 10350,595                |

Fermentasi bioetanol dilakukan secara anaerobik dengan ion mineral  $\text{PO}_4^{3-}$  (5, 7,5, dan 10 ppm), ion  $\text{Mg}^{2+}$  (2, 5, dan 8 ppm), dan ion  $\text{Fe}^{2+}$  (4, 5, dan 6 ppm) dengan konsentrasi *strain S. Cerevisiae* 3% (b/v) dan waktu fermentasi selama 24, 48, dan 72 jam. Pada **Tabel 4.1** diperoleh data pengaruh penambahan ion  $\text{PO}_4^{3-}$  terhadap kualitas bioethanol. Ion  $\text{PO}_4^{3-}$  merupakan mineral yang sangat dibutuhkan oleh *S. Cerevisiae* sebagai sumber fosfor atau nutrien dalam proses produksi

bioethanol. Berdasarkan **Tabel 4.1**, kadar bioethanol meningkat seiring dengan penambahan ion  $\text{PO}_4^{3-}$ . Kadar bioethanol tertinggi dihasilkan dari penambahan ion  $\text{PO}_4^{3-}$  sebanyak 10 ppm dengan lama waktu fermentasi 72 jam sebesar 17,50% dan kadar bioethanol terendah dihasilkan dari penambahan ion  $\text{PO}_4^{3-}$  sebanyak 5 ppm dengan lama waktu fermentasi 24 jam sebesar 7,89%. Oleh karena itu, jumlah ion  $\text{PO}_4^{3-}$  dan waktu fermentasi berpengaruh terhadap produksi bioethanol. Peningkatan kadar bioethanol disebabkan oleh *S. Cerevisiae* telah memasuki fase eksponensial dengan menghasilkan enzim selulase yang maksimal untuk menghidrolisis selulosa menjadi gula sederhana dan kemudian diubah menjadi bioethanol (Rachman et al., 2019). Dalam hal ini, ion  $\text{PO}_4^{3-}$  berperan sebagai sintesis asam nukleat, ATP, fosfolipid, dan senyawa lain yang mengandung fosfor. Selain itu, ion  $\text{PO}_4^{3-}$  dalam proses fermentasi juga dapat meningkatkan viabilitas *S. Cerevisiae* serta sebagai homeostasis dengan menjaga kestabilan pH internal (Ribeiro-Filho et al., 2022). Ketika *S. Cerevisiae* dapat tumbuh dengan baik maka proses fermentasi dapat berjalan dengan optimal dan diperoleh kadar bioethanol yang tinggi.

Untuk meningkatkan hasil fermentasi bioethanol dan toleransi sel *S. Cerevisiae* terhadap kualitas bioethanol adalah dengan penambahan ion  $\text{Fe}^{2+}$ . Ion  $\text{Fe}^{2+}$  berperan sebagai kofaktor dalam metabolisme sel *S. Cerevisiae* (Rachman et al., 2019). Berdasarkan **Tabel 4.2** dapat diketahui bahwa kadar bioethanol paling tinggi yaitu 16,97% diperoleh dari penambahan ion  $\text{Fe}^{2+}$  sebanyak 6 ppm dengan lama waktu 48 jam dan kadar bioethanol paling rendah yaitu 7,65% diperoleh dari penambahan ion  $\text{Fe}^{2+}$  sebanyak 4 ppm dalam lama waktu 24 jam. Semakin tinggi penambahan konsentrasi ion  $\text{Fe}^{2+}$  maka kadar bioethanol yang dihasilkan semakin tinggi sehingga kualitas bioethanol juga akan meningkat karena ion  $\text{Fe}^{2+}$  merupakan nutrisi dalam meningkatkan proses pertumbuhannya ketika memasuki tahap fermentasi untuk menghasilkan produk bioethanol (Gaensly et al., 2014).

Magnesium merupakan nutrisi yang dibutuhkan oleh *S. Cerevisiae* yang berperan terhadap aktivitas enzimatik dan metabolisme *S. Cerevisiae* dalam memproduksi bioethanol. Pengaruh penambahan ion  $\text{Mg}^{2+}$  pada **Tabel 4.3**, menunjukkan bahwa semakin tinggi penambahan konsentrasi ion  $\text{Mg}^{2+}$  maka kualitas bioethanol yang dihasilkan akan semakin tinggi. Hal ini dikarenakan sumber nitrogen sangat penting untuk pertumbuhan sel *S. Cerevisiae*, dimana gen akan

responsif terhadap defisiensi  $Mg^{2+}$  dalam media fermentasi dengan respon terhadap stres dan berpengaruh terhadap konversi energi yang diperlukan oleh *S. Cerevisiae* dalam mengkonversi gula sederhana menjadi etanol. Penambahan  $Mg^{2+}$  dapat mengurangi akumulasi spesies oksigen reaktif dan mempengaruhi pertumbuhan sel mikroba karena ion  $Mg^{2+}$  merupakan kofaktor enzim yang terlibat dalam aktivitas mikroorganisme (Kosaka, et al., 2020). Pada penelitian Li, et al., (2020), menunjukkan bahwa ion magnesium dalam media fermentasi memengaruhi pertumbuhan sel, konsumsi glukosa, dan produksi etanol. kekurangan  $Mg^{2+}$  dapat memicu respons stres dan ekspresi gen yang terlibat dalam metabolisme sehingga akan menyebabkan energi berkurang (Li, et al., 2020).

Meskipun bahan baku dalam memproduksi bioethanol murah tetapi dalam memproduksi bioethanol masih berjalan dengan tingkat produktivitas yang rendah. Pada metode *fed-batch* SSF dapat digunakan untuk meningkatkan produktivitas, konsentrasi bioethanol, serta inhibisi pada media fermentasi. Pada penelitian ini, konversi produktivitas tertinggi dihasilkan dengan penambahan ion  $PO_4^{3-}$  10 ppm dan waktu fermentasi selama 24 jam dengan nilai 5,8063 g/L.Jam dan nilai terendah dihasilkan pada penambahan  $Mg^{2+}$  2 ppm dan waktu fermentasi selama 72 jam dengan nilai 1,1761 g/L.Jam. Konversi bioethanol dengan kondisi *fed-batch* SSF pada penelitian ini terbukti mampu menghasilkan produktivitas lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian Haditjaroko, et al., (2014) yang memproduksi bioethanol dengan penerapan *repeated-batch* memiliki nilai produktivitas hanya 1,78-2,66 g/L.Jam dan konsentrasi sebesar 42,72-63,66 g/L.

Berdasarkan **Tabel 4.1** sampai dengan **Tabel 4.3**, nilai *specific gravity* menunjukkan nilai tertinggi dihasilkan pada penambahan ion  $Mg^{2+}$  2 ppm dengan waktu fermentasi selama 48 jam sebesar 1,0197 dan nilai terendah dihasilkan pada penambahan ion  $PO_4^{3-}$  10 ppm dengan waktu fermentasi selama 48 jam dengan nilai 1,0039. Dalam hal ini, nilai *specific gravity* merupakan harga relatif dari densitas suatu bahan terhadap air dan memiliki hubungan berbanding terbalik dengan nilai densitas. Besarnya harga *specific gravity* bioetanol maksimal 0,99968 dan harga nilai *API gravity* antara 0-100. Harga dari *specific gravity* dan *API gravity* akan mempengaruhi besar dari nilai kalor yang dihasilkan. Hal ini disebabkan oleh nilai densitas yang sangat memengaruhi nilai kalor, dimana semakin tinggi densitas

bioethanol yang dihasilkan maka akan semakin meningkatkan konsumsi bahan bakar kendaraan.

### ***Design of Experiment Optimasi Proses Produksi Bioetanol***

Dalam mengoptimasi proses produksi bioethanol, pada penelitian ini menggunakan *Central Composite Design* (CCD) untuk mengetahui kombinasi dari konsentrasi penambahan ion mineral  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ , dan  $\text{Fe}^{2+}$  untuk menghasilkan bioetanol yang optimum serta analisa regresi dan *Analysis of Variance* (ANOVA). Data yang dihasilkan pada penelitian ini diolah berdasarkan desain statistik menggunakan Minitab dan *Design-Expert* 13. Variabel *respons* dan variabel bebas (faktor) pada *experiment* diolah melalui *Design of Experiment*. Pengaruh penambahan ion mineral terhadap densitas (g/ml) akan memberikan respons terhadap konsentrasi bioetanol dan kadar bioethanol.

**Tabel 4.4** *Design of Experiment* Ion  $\text{PO}_4^{3-}$

| Std | Run | Factor 1                       | Factor 2         | Response 1 | Response 2     | Response 3          |
|-----|-----|--------------------------------|------------------|------------|----------------|---------------------|
|     |     | A:<br>$\text{PO}_4^{3-}$ (ppm) | B:<br>Time (Jam) | EtOH (%)   | Density (g/ml) | Concentration (g/L) |
| 11  | 1   | 7,5                            | 48               | 11,9523    | 0,975871       | 116,639             |
| 5   | 2   | 3,96447                        | 48               | 8,89463    | 0,982056       | 87,3503             |
| 1   | 3   | 5                              | 24               | 7,8959     | 0,9837         | 77,7698             |
| 10  | 4   | 7,5                            | 48               | 11,9523    | 0,975871       | 116,639             |
| 7   | 5   | 7,5                            | 14,0589          | 10,4533    | 0,980401       | 102,484             |
| 8   | 6   | 7,5                            | 81,9411          | 12,6865    | 0,9777         | 124,036             |
| 13  | 7   | 7,5                            | 48               | 11,9523    | 0,975871       | 116,639             |
| 4   | 8   | 10                             | 72               | 17,5048    | 0,969772       | 169,756             |
| 2   | 9   | 10                             | 24               | 14,3105    | 0,97378        | 139,353             |
| 3   | 10  | 5                              | 72               | 9,82988    | 0,980576       | 96,3894             |
| 9   | 11  | 7,5                            | 48               | 11,9523    | 0,975871       | 116,639             |
| 12  | 12  | 7,5                            | 48               | 11,9523    | 0,975871       | 116,639             |
| 6   | 13  | 11,0355                        | 48               | 16,4908    | 0,970643       | 160,068             |

**Tabel 4.5** *Design of Experiment* Ion  $\text{Fe}^{2+}$

| Std | Run | Factor 1                     | Factor 2         | Response 1 | Response 2     | Response 3          |
|-----|-----|------------------------------|------------------|------------|----------------|---------------------|
|     |     | A:<br>$\text{Fe}^{2+}$ (ppm) | B:<br>Time (Jam) | EtOH (%)   | Density (g/ml) | Concentration (g/L) |
| 13  | 1   | 5                            | 48               | 11,8637    | 0,976132       | 115,805             |
| 10  | 2   | 5                            | 48               | 11,8637    | 0,976132       | 115,805             |
| 12  | 3   | 5                            | 48               | 11,8637    | 0,976132       | 115,805             |
| 1   | 4   | 4                            | 24               | 7,64776    | 0,984583       | 75,2986             |
| 2   | 5   | 6                            | 24               | 14,671     | 0,973257       | 142,787             |
| 5   | 6   | 3,58579                      | 48               | 8,89463    | 0,982056       | 87,3503             |
| 11  | 7   | 5                            | 48               | 11,8637    | 0,976132       | 115,805             |
| 9   | 8   | 5                            | 48               | 11,8637    | 0,976132       | 115,805             |
| 8   | 9   | 5                            | 81,9411          | 13,8932    | 0,976045       | 135,604             |
| 7   | 10  | 5                            | 14,0589          | 10,5687    | 0,980053       | 103,578             |
| 3   | 11  | 4                            | 72               | 9,77403    | 0,980663       | 95,8503             |
| 4   | 12  | 6                            | 72               | 16,3715    | 0,970818       | 158,938             |
| 6   | 13  | 6,41421                      | 48               | 16,9683    | 0,969946       | 164,583             |

**Tabel 4.6** *Design of Experiment* Ion  $Mg^{2+}$

|     |     | Factor 1              | Factor 2         | Response 1 | Response 2     | Response 3          |
|-----|-----|-----------------------|------------------|------------|----------------|---------------------|
| Std | Run | A:<br>$Mg^{2+}$ (ppm) | B:<br>Time (Jam) | EtOH (%)   | Density (g/ml) | Concentration (g/L) |
| 1   | 1   | 2                     | 24               | 6,86872    | 0,98528        | 67,6761             |
| 6   | 2   | 9,24264               | 48               | 15,871     | 0,971515       | 154,189             |
| 13  | 3   | 5                     | 48               | 10,7995    | 0,979356       | 105,765             |
| 8   | 4   | 5                     | 81,9411          | 11,6865    | 0,9777         | 114,259             |
| 5   | 5   | 0,757359              | 48               | 7,48234    | 0,985106       | 73,709              |
| 10  | 6   | 5                     | 48               | 10,7995    | 0,979356       | 105,765             |
| 7   | 7   | 5                     | 14,0589          | 10,309     | 0,980837       | 101,115             |
| 9   | 8   | 5                     | 48               | 10,7995    | 0,979356       | 105,765             |
| 4   | 9   | 8                     | 72               | 16,7893    | 0,970208       | 162,891             |
| 11  | 10  | 5                     | 48               | 10,7995    | 0,979356       | 105,765             |
| 3   | 11  | 2                     | 72               | 8,61892    | 0,982492       | 84,6802             |
| 12  | 12  | 5                     | 48               | 10,7995    | 0,979356       | 105,765             |
| 2   | 13  | 8                     | 24               | 13,5388    | 0,97709        | 132,287             |

### ANOVA (Analysis of Variance)

ANOVA digunakan untuk menganalisis setiap model yang terbentuk dari variabel bebas yang digunakan untuk menunjukkan apakah suatu variabel bebas (faktor) tersebut signifikan terhadap variabel responsnya. Nilai *Sum of Squares* menunjukkan penjumlahan kuadrat dari setiap data, derajat bebas (df) menunjukkan jumlah nilai independen yang bebas untuk bervariasi dalam suatu model statistik. Sedangkan *mean square* merupakan perbandingan antara *Sum of Square* dengan derajat bebasnya. *Mean square* dapat dihitung nilai *F-value* untuk menentukan keputusan signifikansinya. Selain itu, dapat juga menggunakan nilai *p-value* dengan taraf signifikansi sebesar 95% sehingga nilai *alpha* sebesar 0,05.

**Tabel 4.7** ANOVA Linier Model Ion  $PO_4^{3-}$

| Source               | Sum of Squares | df                             | Mean Square | F-value | p-value  |             |
|----------------------|----------------|--------------------------------|-------------|---------|----------|-------------|
| <b>Model</b>         | 85,66          | 2                              | 42,83       | 108,15  | < 0.0001 | significant |
| A- $PO_4^{3-}$ (ppm) | 77,08          | 1                              | 77,08       | 194,63  | < 0.0001 |             |
| B-Time (Jam)         | 8,58           | 1                              | 8,58        | 21,67   | 0,0009   |             |
| <b>Residual</b>      | 3,96           | 10                             | 0,3960      |         |          |             |
| Lack of Fit          | 3,96           | 6                              | 0,6600      |         |          |             |
| Pure Error           | 0,0000         | 4                              | 0,0000      |         |          |             |
| <b>Cor Total</b>     | 89,62          | 12                             |             |         |          |             |
| Std. Dev.            | 0,6293         | <b>R<sup>2</sup></b>           |             | 0,9558  |          |             |
| Mean                 | 12,14          | <b>Adjusted R<sup>2</sup></b>  |             | 0,9470  |          |             |
| C.V. %               | 5,18           | <b>Predicted R<sup>2</sup></b> |             | 0,9045  |          |             |
|                      |                | <b>Adeq Precision</b>          |             | 29,0414 |          |             |

**Tabel 4.8** ANOVA Linier Model Ion  $Fe^{2+}$

| Source             | Sum of Squares | df                             | Mean Square | F-value | p-value  |             |
|--------------------|----------------|--------------------------------|-------------|---------|----------|-------------|
| <b>Model</b>       | 87,46          | 2                              | 43,73       | 182,62  | < 0.0001 | significant |
| A- $Fe^{2+}$ (ppm) | 78,37          | 1                              | 78,37       | 327,27  | < 0.0001 |             |
| B-Time (Jam)       | 9,09           | 1                              | 9,09        | 37,97   | 0,0001   |             |
| <b>Residual</b>    | 2,39           | 10                             | 0,2395      |         |          |             |
| Lack of Fit        | 2,39           | 6                              | 0,3991      |         |          |             |
| Pure Error         | 0,0000         | 4                              | 0,0000      |         |          |             |
| <b>Cor Total</b>   | 89,85          | 12                             |             |         |          |             |
| Std. Dev.          | 0,4893         | <b>R<sup>2</sup></b>           |             | 0,9734  |          |             |
| Mean               | 12,16          | <b>Adjusted R<sup>2</sup></b>  |             | 0,9680  |          |             |
| C.V. %             | 4,02           | <b>Predicted R<sup>2</sup></b> |             | 0,9463  |          |             |
|                    |                | <b>Adeq Precision</b>          |             | 37,6585 |          |             |

**Tabel 4.9** ANOVA Linier Model Ion  $Mg^{2+}$ 

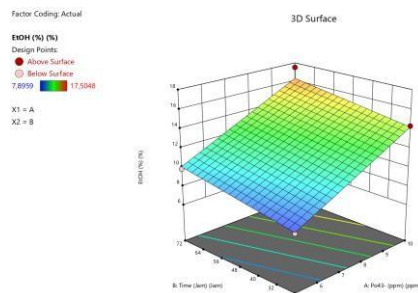
| Source             | Sum of Squares | df | Mean Square | F-value   | p-value  |             |
|--------------------|----------------|----|-------------|-----------|----------|-------------|
| <b>Model</b>       | 95,17          | 2  | 47,59       | 107,74    | < 0.0001 | significant |
| A- $Mg^{2+}$ (ppm) | 89,14          | 1  | 89,14       | 201,81    | < 0.0001 |             |
| B-Time (Jam)       | 6,04           | 1  | 6,04        | 13,66     | 0,0041   |             |
| <b>Residual</b>    | 4,42           | 10 | 0,4417      |           |          |             |
| Lack of Fit        | 4,42           | 6  | 0,7362      | 1,625E+09 | < 0.0001 | significant |
| Pure Error         | 1,812E-09      | 4  | 4,531E-10   |           |          |             |
| <b>Cor Total</b>   | 99,59          | 12 |             |           |          |             |

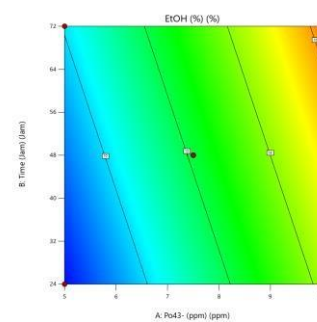
|           |        |                                |         |
|-----------|--------|--------------------------------|---------|
| Std. Dev. | 0,6646 | <b>R<sup>2</sup></b>           | 0,9556  |
| Mean      | 11,17  | <b>Adjusted R<sup>2</sup></b>  | 0,9468  |
| C.V. %    | 5,95   | <b>Predicted R<sup>2</sup></b> | 0,9091  |
|           |        | <b>Adeq Precision</b>          | 29,5718 |

*Analysis of Variance* (ANOVA) untuk respons Y kadar EtOH (%) pada setiap variabel menunjukkan bahwa model *experiment* terbukti berpengaruh nyata terhadap respons. Pada setiap tabel ANOVA masing-masing faktor, nilai *p-value* kurang dari nilai alfa (0.05) yang menandakan bahwa faktor-faktor yang diberikan berpengaruh signifikan terhadap variabel respons. Hal tersebut diperkuat dengan nilai  $R^2$  yang tinggi yakni pada ion  $PO_4^{3-}$  sebesar 0.9558, pada ion  $Fe^{2+}$  sebesar 0.9734 dan pada ion  $Mg^{2+}$  sebesar 0.9556. dan menandakan bahwa memiliki hubungan yang kuat di antara kedua variabel. Tabel tersebut menunjukkan bahwa model  $R^2$  mendekati 1. Nilai  $R^2$  pada setiap perlakuan penambahan ion mineral menunjukkan nilai lebih dari 0,95 ( $R^2 > 0,95$ ), di mana nilai tersebut menunjukkan faktor penambahan ion mineral memberikan pengaruh lebih dari 95%.

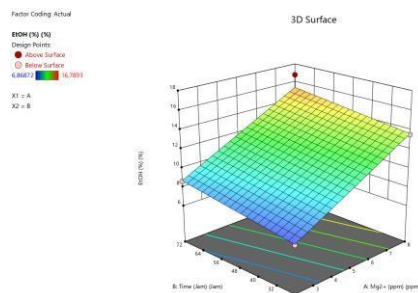
#### 4.6. Optimasi Proses Produksi Bioetanol



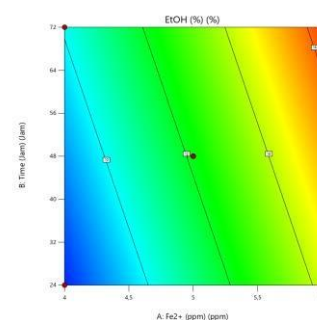
(a)



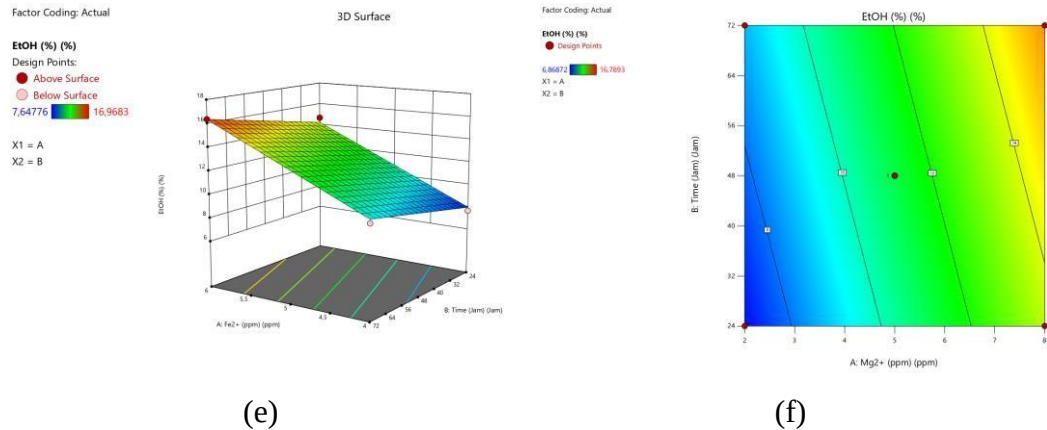
(b)



(c)



(d)



**Gambar 4.2** Kurva Respon Surface Penambahan ion  $\text{PO}_4^{3-}$ (a),  $\text{Mg}^{2+}$ (c),  $\text{Fe}^{2+}$ (e) dan Kontur Plot Penambahan ion  $\text{PO}_4^{3-}$ (b),  $\text{Mg}^{2+}$ (d),  $\text{Fe}^{2+}$ (f) Terhadap Respon EtOH (%)

Berdasarkan **Gambar 4.3**, merupakan grafik respon yang digunakan untuk mengoptimasi proses produksi bioetanol. Dengan menggunakan desain percobaan *central composite design* (CCD) 13 plot percobaan hasil terlihat pada tabel dan dianalisis sesuai dengan kontur plot pada **Gambar 4.3**. Produksi bioetanol dengan konsentrasi yang dihasilkan dari beberapa variabel bebas (faktor) pada **Gambar 4.3**, terlihat bahwa kadar bioethanol meningkat seiring peningkatan waktu fermentasi dan konsentrasi  $\text{PO}_4^{3-}$ . Demikian juga pada gambar x2 dan x3 terlihat bahwa kadar bioethanol meningkat seiring peningkatan waktu fermentasi dan konsentrasi  $\text{Fe}^{2+}$  dan  $\text{Mg}^{2+}$ . Hal tersebut menunjukkan bahwa *Saccharomyces cerevisiae* mampu tumbuh dan berkembang pada media larutan fermentasi yang mampu mengkonversi gula sederhana menjadi bioetanol. Berdasarkan hasil optimasi dengan *Respon Surface Method* (Terlampir), menunjukkan bahwa kondisi operasi yang optimum dalam memproduksi bioetanol diperoleh pada penambahan ion  $\text{PO}_4^{3-}$  10 ppm dengan waktu fermentasi selama 72 jam akan menghasilkan bioethanol optimum sebesar 16,28%. Pada penambahan ion  $\text{Fe}^{2+}$  6 ppm dengan waktu fermentasi selama 72 jam akan menghasilkan bioethanol optimum sebesar 16,358 %. Pada penambahan ion  $\text{Mg}^{2+}$  8 ppm dengan waktu fermentasi selama 72 jam akan menghasilkan bioethanol optimum sebesar 15,373%.

## BAB V. PENUTUP

### 5.1 KESIMPULAN

Pada penelitian ini, produksi bioethanol menggunakan modifikasi metode *fed-batch* SSF dengan penambahan ion mineral  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ , dan  $\text{Mg}^{2+}$  terbukti mampu menghasilkan bioethanol dengan baik. Kadar bioethanol tertinggi diperoleh dengan penambahan ion  $\text{PO}_4^{3-}$  10 ppm yang mampu memproduksi bioethanol sebesar 17,50%, pada penambahan ion  $\text{Fe}^{2+}$  10 ppm, mampu memproduksi bioethanol sebesar 17,50%, serta pada penambahan ion  $\text{Mg}^{2+}$  8 ppm mampu memproduksi bioethanol sebesar 16,79%. Hasil analisa ANOVA menunjukkan nilai  $R^2$  pada setiap perlakuan penambahan ion mineral menunjukkan nilai lebih dari 0,95 ( $R^2 > 0,95$ ), di mana nilai tersebut menunjukkan faktor penambahan ion mineral memberikan pengaruh lebih dari 95%. *Respon Surface* yang dihasilkan menunjukkan bahwa kondisi operasi yang optimum dalam memproduksi bioethanol diperoleh pada penambahan ion  $\text{PO}_4^{3-}$  10 ppm dengan waktu fermentasi selama 72 jam akan menghasilkan bioethanol optimum sebesar 16,28%. Pada penambahan ion  $\text{Fe}^{2+}$  6 ppm dengan waktu fermentasi selama 72 jam akan menghasilkan bioethanol optimum sebesar 16,358 %. Pada penambahan ion  $\text{Mg}^{2+}$  8 ppm dengan waktu fermentasi selama 72 jam akan menghasilkan bioethanol optimum sebesar 15,373%. Dengan demikian, melalui modifikasi metode *fed-batch* SSF dengan penambahan ion mineral mampu menghasilkan bioethanol sebagai sumber energi baru terbarukan secara efektif sehingga dapat menjamin keamanan energi nasional sebagai upaya mendukung terealisasinya SDGs Indonesia emas 2045.

### 5.2 SARAN

Penelitian mengenai proses produksi bioethanol dengan modifikasi metode *fed-batch Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF) perlu dikembangkan lebih lanjut. Kontrol pH yang sesuai, pemberian nutrisi terhadap *S. Cerevisiae*, serta penggunaan jenis ragi lain perlu dikembangkan agar mendapatkan kualitas bioethanol yang lebih baik.



### DAFTAR PUSTAKA

- Afedzi, A. E. K., Rattanaporn, . K. & Parakulsuksatid, P., 2022. Impeller selection for mixing high-solids lignocellulosic biomass in stirred tank bioreactor for ethanol production. *Bioresource Technology Reports*.
- Aghaei, S., Alavijeh, M. K., Shafiei, M., & Karimi, K. (2024). Biomass and Bioenergy A comprehensive review on bioethanol production from corn stover : Worldwide potential , environmental importance , and perspectives. *Biomass and Bioenergy*, 161(April 2022), 106447. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2022.106447>
- Albernas, Y. C., Corsano, G., Cortés, M. G. & Suárez, E. G., 2017. Preliminary design for simultaneous saccharification and fermentation stages for ethanol production from sugar cane bagasse. *Chemical Engineering Research and Design*.
- Baldino, C., Berg, . R., Pavlenko, N. & Searle, S., 2019. Advanced alternative fuel pathways: Technology overview and status. *INTERNATIONAL COUNCIL ON CLEAN TRANSPORTATION*.
- Boonchuay, P. et al., 2018. An integrated process for xylooligosaccharide and bioethanol production from corncob. *Bioresource Technology*.
- Brethauer, S., Shahab , R. L. & Studer, M. H., 2020. Impacts of biofilms on the conversion of cellulose. *Applied Microbiology and Biotechnology* .
- Bu, C.-Y. et al., 2021. Comprehensive utilization of corncob for furfuryl alcohol production by chemo-enzymatic sequential catalysis in a biphasic system. *Bioresource Technology*.
- Cha, Y.-L. et al., 2015. Bioethanol production from *Miscanthus* using thermotolerant *Saccharomyces cerevisiae* mbc 2 isolated from the respiration-deficient mutants. *Renewable Energy*.
- Chang, Y. H., Chang, K. S., Chen, C. Y., Hsu, C. L., Chang, T. C., & Jang, H. Der. (2018). Enhancement of the efficiency of bioethanol production by *Saccharomyces cerevisiae* via gradually batch-wise and fed-batch increasing the glucose concentration. *Fermentation*, 4(2). <https://doi.org/10.3390/fermentation4020045>
- Chen, C.-Y. et al., 2018. Enhancement of the Efficiency of Bioethanol Production by *Saccharomyces cerevisiae* via Gradually Batch-Wise and Fed-Batch Increasing the Glucose Concentration. *Jornal Fermentation*.
- Chen, H. et al., 2017. A review on the pretreatment of lignocellulose for high-value chemicals. *Fuel Processing Technology*, pp. 196-206.

- Deshmukh, M. & Pathan, A., 2024. Bambusa tulda: A potential feedstock for bioethanol and its blending effects on the performance of spark ignition engine. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*.
- Du, C. et al., 2020. Production of bioethanol and xylitol from non-detoxified corn cob via a two-stage fermentation strategy. *Bioresource Technology*.
- Gaensly, F., Picheth, G., Brand, D., & Bonfim, T. M. B. (2014). The uptake of different iron salts by the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 45(2), 491–494. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822014000200016>
- Gao, Y. et al., 2018. Ethanol production from sugarcane bagasse by fed-batch simultaneous saccharification and fermentation at high solids loading. *Energy Science & Engineering*.
- Haditjaroko, L., Syamsu, K., Meryandini, A. & Manurung, A. J., 2014. Produksi Bioetanol Dari Hidrolisat Pati Singkong Racun Dengan Fermentasi Repeated-Batch Oleh *Saccharomyces cerevisiae* Terimobilisasi Pada Ampas Singkong. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*.
- Hage, M. El, Louka, N., Rezzoug, S.-A., Maugard, T., Sable, S., Kouba, M., Debs, E., & Rezzoug, Z. M. (2023). Bioethanol Production from Woody Biomass: Recent Advances on the Effect of Pretreatments on the Bioconversion Process and Energy Yield Aspects. 16(5052). <https://doi.org/10.3390/en16135052>
- IEA, 2022. *Global Energy Review: CO2 Emissions in 2021*.
- Jahnavi, G., Prashanthi, G. S., Sravanthi, K. & Rao, L. V., 2017. Status of availability of lignocellulosic feed stocks in India: Biotechnological strategies involved in the production of Bioethanol. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*.
- Juliarnita, I. G. A., Hadisoebroto, R. & Rinanti, A., 2018. Bioethanol production from mixed culture microalgae biomass with temperature hydrolysis variation. *MATEC Web of Conferences*.
- Kosaka, T. et al., 2020. Enhancement of Thermal Resistance by Metal Ions in Thermotolerant *Zymomonas mobilis* TISTR 548. *Front Microbiol*.
- Lee, H. V., Hamid, S. B. A. & Zain, S. K., 2014. Conversion of Lignocellulosic Biomass to Nanocellulose: Structure and Chemical Process. *The Scientific World Journal*.
- Li, R. et al., 2020. The Magnesium Concentration in Yeast Extracts Is a Major Determinant Affecting Ethanol Fermentation Performance of *Zymomonas mobilis*. *Front Bioeng Biotechnol*.

- Mafa, M. S. et al., 2020. The Effects of Alkaline Pretreatment on Agricultural Biomasses (Corn Cob and Sweet Sorghum Bagasse) and Their Hydrolysis by a Termite-Derived Enzyme Cocktail. *Journals of Agronomy*.
- Mankar, A. R., Pandey, A., Modak, A. & Pant, K., 2021. Pretreatment of lignocellulosic biomass: A review on recent advances. *Bioresource Technology*.
- Maryana, R., Ma'rifatun, D., I, W. A., W, S. K., & Rizal, W. A. (2014). Alkaline Pretreatment on Sugarcane Bagasse for Bioethanol Production. *Energy Procedia*, 47, 250–254. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2014.01.221>
- Nguyen, T. B. & Zondervan, E., 2019. Methanol production from captured CO<sub>2</sub> using hydrogenation and reforming technologies\_ environmental and economic evaluation. *Journal of CO<sub>2</sub> Utilization*.
- Parinduri, L., & Parinduri, T. (2020). Konversi Biomassa Sebagai Sumber Energi Terbarukan. *Journal of Electrical Technology*, 5(2), 88–92. <https://www.dosenpendidikan>.
- Patra, C. A. F. (2022). Pengembangan Energi Terbarukan Dalam Upaya Mewujudkan Pembangunan Berkelanjutan Di Pt. Pertamina. *Jurnal Green Growth Dan Manajemen Lingkungan*, 11(2), 113–122. <https://doi.org/10.21009/jgg.v11i2.28358>
- Pratama, A. W., Mulyono, T., Piluharto, B., Widiastuti, N., Mahardika, M., Tamam, B., Ali, B. T. I., Asranudin, Allouss, D., & Elbalrhiti, I. E. A. (2023). Potential of cellulose from wood waste for immobilization *Saccharomyces cerevisiae* in bioethanol production. *Journal of the Indian Chemical Society*, 100(11), 101106. <https://doi.org/10.1016/j.jics.2023.101106>
- Pratomo, J., Supartono & Cahyono, E., 2016. Pengaruh Selulase Berbagai Jamur Pada Hidrolisis Enzimatis Kulit Pisang Dalam Pembuatan Bioetanol. *Indonesian Journal of Chemical Science*.
- Rachman, S. D., Maulida, N., Safari, A., Anggraeni, N. I., Fadhlillah, M., & Ishmayana, S. (2019). Peranan Ion Logam Kobalt Terhadap Kinerja Fermentasi dan Toleransi Cekaman Lingkungan Sel Ragi *Saccharomyces cerevisiae*. *Chimica et Natura Acta*, 7(3), 114. <https://doi.org/10.24198/cna.v7.n3.26266>
- Ribeiro-Filho, N., Linforth, R., Bora, N., Powell, C. D., & Fisk, I. D. (2022). The role of inorganic-phosphate, potassium and magnesium in yeast-flavour formation. *Food Research International*, 162(October). <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112044>
- Roberto , I. C., Castro , R. . C. A., Silva , J. . P. A. & Mussatto , S. I., 2020. settingsOrder Article Reprints. *Energies* .

- Singh, Y. D., & Satapathy, K. B. (2018). Conversion of Lignocellulosic Biomass to Bioethanol: An Overview with a Focus on Pretreatment. *International Journal of Engineering and Technologies*, 15, 17–43. <https://doi.org/10.56431/p-j5uq4j>
- Thangavelu, S. K., Ahmed, A. S. & Ani, F. N., 2014. Bioethanol production from sago pith waste using microwave hydrothermal hydrolysis accelerated by carbon dioxide. *Applied Energy*.
- Topaloğlu, A. et al., 2023. From *Saccharomyces cerevisiae* to Ethanol: Unlocking the Power of Evolutionary Engineering in Metabolic Engineering Applications.
- Tursi, A., 2023. A review on biomass: importance, chemistry, classification, and conversion. *Biofuel Research Journal*.
- Walker, G. M. & Stewart, G. G., 2016. *Saccharomyces cerevisiae* in the Production of Fermented Beverages. *Beverages* .
- Wongsurakul, P. et al., 2022. Comprehensive Review on Potential Contamination in Fuel Ethanol Production with Proposed Specific Guideline Criteria. *Energies*.
- Yaverino-Gutiérrez, M. A. et al., 2023. Perspectives and Progress in Bioethanol Processing and Social Economic Impacts. *Journals of sustainability*.
- Yaverino-Gutiérrez, M. A. et al., 2024. Perspectives and Progress in Bioethanol Processing and Social Economic Impacts. *Journal of Sustainability*.
- Zhang, P. et al., 2023. Assessment of advanced bioethanol potential under water and land resource constraints in China. *Renewable Energy*.
- Zhou, Z., Peng, S., Jing, Y., Wei, S., Zhang, Q., Ding, H., & Li, H. (2023). Exploration of separate hydrolysis and fermentation and simultaneous saccharification and co-fermentation for acetone , butanol , and ethanol production from combined diluted acid with laccase pretreated *Puerariae* Slag in *Clostridium beijerinckii* ART44. *Energy*, 279(June), 128063. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2023.128063>