

## PEMBUATAN BIOETANOL DARI LIMBAH KEJU (WHEY) MELALUI PROSES FERMENTASI FED-BATCH DENGAN *Kluyveromyces marxianus*

Desiyantri Siti P., Apsari Puspita A., Dessy Ariyanti, Hadiyanto\*)

Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro  
Jalan Prof. Soedarto, SH. Semarang 50239, Telp/Fax : (024) 7460058

### Abstrak

Pengembangan bioetanol sebagai salah satu energi terbarukan harus didukung dengan adanya penelitian mengenai sumber-sumber bahan baku yang dapat dikonversi menjadi bioetanol. Salah satu bahan baku tersebut adalah limbah industri keju (whey). Tujuan dari penelitian ini adalah membandingkan sistem batch dan fed-batch pada fermentasi whey, dan mengetahui pengaruh parameter suhu terhadap proses fermentasi fed-batch dalam pembuatan bioetanol. Whey keju adalah produk sampingan dari industri susu, yang memiliki kandungan laktosa dalam whey sebesar 4-5%. Pembuatan bioetanol dengan bahan baku laktosa dalam whey menggunakan mikroba *Kluyveromyces marxianus*. Fermentasi etanol dari whey menggunakan mikroba *Kluyveromyces marxianus* sistem fed-batch dengan pH 4,5 dan suhu operasi 30°C menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan sistem batch. Growth rate biomassa dan produktivitas biomassa fed-batch yang dihasilkan sebesar 0,186/jam dan 6,47 gr/Ljam, sedangkan untuk batch sebesar 0,13/jam dan 4,74 gr/Ljam. Konsentrasi etanol dan yield etanol untuk fed-batch, yaitu 7,9626 gr/L dan 0,21 gr etanol/gr substrat, sedangkan untuk batch sebesar 4,6362 gr/L dan 0,12 gr etanol/gr substrat. Suhu 30°C menunjukkan hasil yang paling baik dalam melakukan fermentasi dengan nilai growth rate dan konsentrasi biomassa sebesar 0,186/jam dan 13,4 gr/L. Konsentrasi etanol maksimum dicapai pada suhu 30°C sebesar 7,9626 gr/L.

Kata Kunci : Bioetanol, batch, fed-batch, *Kluyveromyces marxianus*, suhu, whey.

### Abstract

Development of bioethanol production as a renewable energy must be supported with research about finding sources of raw materials that can be converted to bioethanol product. Cheese whey is one of these raw materials. The aim of this study is to compare batch and fed-batch operation in fermentation of whey, and to determine the effect of temperature for fed-batch operation in bioethanol process. Cheese whey is by-product of the dairy industry, which contain of 4-5% lactose. *Kluyveromyces marxianus* is one of microorganism used to as stater during ethanol fermentation with whey as a medium. The result showed that ethanol fermentation from whey using *Kluyveromyces marxianus* in fed-batch system with initial pH 4,5 and temperature operation of 30°C give better result than batch system. Growth rate and biomass productivity in fed-batch system are 0,186/h and 6,47 gr/Lh respectively, while for batch are 0,13/h and 4,74 gr/L h, respectively concentration and yield of ethanol for fed-batch are 7,9626 gr/L and 0,21 gr ethanol/gr substrate, for batch system are 4,6362 gr/L and 0,12 gr ethanol/gr substrate. Fermentation under temperature of 30°C showed optimum growth rate and concentration of biomass which is 0,186/h and 13,4 gr/L. Maximum ethanol concentration was achieved at 7,9626 gr/L

Key Words : Bioethanol, batch, fed-batch, *Kluyveromyces marxianus*, temperatur, whey.

## 1. PENDAHULUAN

Ketersediaan minyak bumi semakin lama semakin menipis. Kelangkaan minyak bumi menjadi perhatian banyak peneliti untuk mencari alternatif penggantinya. Minat peneliti untuk mengkonversi produk pertanian menjadi bahan bakar atau disebut juga biofuel kembali intensif (Foda, dkk., 2010). Namun terjadi kekhawatiran mengenai hal ini karena jika semakin banyak produk pertanian yang digunakan untuk bahan baku pembuatan bioetanol, maka ketersediaan pangan juga akan terancam. Sehingga dibutuhkan alternatif bahan baku lain untuk produksi bioetanol. Salah satu bahan baku yang bisa digunakan adalah whey dari

limbah industri keju (Shahani dan Friend, 1980; Athanasiadis, dkk., 2002; Toyoda dan Kazuhisa, 2008; Foda, dkk., 2010).

Indonesia memiliki sekitar sebelas industri keju, yakni tersebar di daerah DKI Jakarta, Jawa Barat, Jawa Tengah, dan Jawa Timur. Rata-rata produksi industri keju yang ada di Indonesia adalah 50 kg per hari, dengan bahan dasar susu segar yang diambil dari peternak lokal sebanyak 500 liter. Industri keju dan kasein menghasilkan *whey* dalam jumlah yang banyak, dimana sebagian besar bahan organik dalam *whey* dapat mengurangi kadar oksigen di dalam air. Kandungan COD dalam *whey* adalah 60.000-80.000 ppm (Athanasiadis, dkk., 2002). Menurut penelitian yang telah dilakukan, *whey* bisa menjadi bahan baku pembuatan bioetanol, karena didalamnya terkandung laktosa. Kandungan laktosa dalam *whey* sebesar 4-5% (Athanasiadis, dkk., 2002; Jelen, 2007; Foda, dkk., 2010;). Proses fermentasi laktosa menjadi bioetanol, peran mikroba sangat diperlukan, dalam hal ini mikroba jenis *Kluyveromyces marxianus* (Lukondeh, dkk., 2005). Karena *whey* dapat dimanfaatkan untuk bahan baku bioetanol, maka diharapkan jumlah *whey* yang selama ini melimpah dan terbuang bisa berkurang.

Dalam penelitian ini akan dikaji perbandingan hasil fermentasi bioetanol dari *whey* dengan *Kluyveromyces marxianus* pada sistem *batch* dan *fed-batch*, dan pengaruh parameter suhu terhadap pembuatan bioetanol dari *whey* melalui fermentasi dengan *Kluyveromyces marxianus* pada sistem *fed-batch*. Pada penelitian ini akan didapatkan beberapa hal diantaranya : *growth rate*, *yield* etanol, serta konsentrasi etanol terbaik yang diperoleh dari hasil fermentasi *whey* sistem *fed-batch* dengan variasi suhu.

## 2. MATERIAL DAN METODE

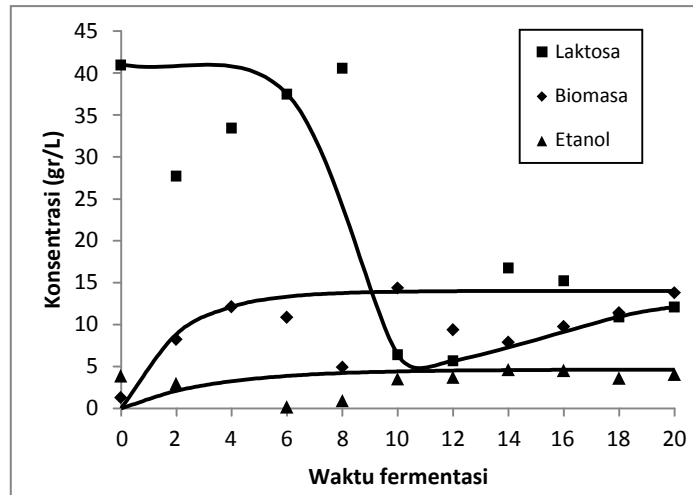
Bahan baku utama dalam penelitian ini adalah *whey* yang berasal dari PT. Bukit Baros cabang Salatiga yang berada di Salatiga, strain *Kluyveromyces marxianus* yang didapatkan dari koleksi PAU UGM (kemudian dikembangkan lagi di Laboratorium Bioproses Teknik Kimia Universitas Diponegoro), serta NaOH sebagai pengatur pH. *Whey* yang dibutuhkan sebanyak 500 ml untuk setiap variabel. Sebelum dijadikan medium fermentasi, *whey* ditambahkan *yeast extract* sebanyak 0,1%. Sedangkan bahan penunjang lain yang digunakan merupakan bahan baku untuk menganalisa *whey*, dan sampel penelitian yang didapatkan. Bahan penunjang tersebut adalah aquades, laktosa pro analysis, Reagen DNS (*Dinitrosalicylic Acid*). KOH, K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, KI, Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, dan amilum.

Proses fermentasi *whey* menggunakan *Kluyveromyces marxianus* dilakukan secara *fed-batch* dengan penelitian pendahuluan secara *batch* untuk mengetahui *growth rate Kluyveromyces marxianus*. Sebelum melaksanakan proses fermentasi baik secara *batch* maupun *fed-batch* dilakukan persiapan inokulum terlebih dahulu selama 24 jam dengan mengambil satu koloni *Kluyveromyces marxianus* yang dimasukkan ke dalam *whey* 30 ml dan ditambahkan 0,1% *yeast extract* sebagai nutrisi. Setelah itu dilanjutkan dengan fermentasi secara *batch* suhu 30°C dan *fed-batch* dengan suhu 30°C, 35°C, 40°C, pH awal 4,5, dan pengadukan 120 rpm, dengan volume total fermentor baik *batch* maupun *fed-batch* sebesar 500 ml. Pengambilan sampel dilakukan setiap 2 jam sekali untuk dianalisa. Analisa bahan baku dan hasil fermentasi meliputi analisa laktosa menggunakan metode *DNS Colometric*, analisa biomassa dengan menghitung selisih berat kertas saring awal dan kertas saring akhir, serta analisa etanol menggunakan metode kalium dikromat.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 3.1 Fermentasi Batch

Proses fermentasi *whey* pada penelitian ini menggunakan *Kluyveromyces marxianus* untuk memproduksi etanol. Fermentasi dilakukan dengan proses *batch*, dan konsentrasi awal *whey* sebesar 4,1 % selama 20 jam pada suhu operasi 30°C serta pH 4,5.



Gambar 3.1 Grafik Fermentasi Bioetanol dengan *Kluyveromyces marxianus* dari limbah keju (whey) pada proses *batch* suhu 30°C, dan pH awal 4,5

Kurva pertumbuhan *Kluyveromyces marxianus* pada fermentasi *batch* ditampilkan pada gambar 3.1. Fase eksponensial berlangsung pada jam ke 2-4, fase deselerasi berlangsung pada jam ke 4-10, dan fase stasioner berlangsung pada jam ke 10-18. Fase lag tidak terdeteksi, maka dimungkinkan fase lag terjadi antara jam ke 0-2. Pada jam ke 2-4, mikroba mengalami pertumbuhan sel yang sangat cepat, sehingga jumlah sel akan bertambah secara eksponensial terhadap waktu. Kemudian mikroba akan mengalami fase deselerasi yang berlangsung selama enam jam, dimana konsentrasi substrat berkurang sehingga kecepatan pertumbuhan mikroba mulai menurun sampai akhirnya memasuki fase stasioner. Fase stasioner menandakan bahwa pertumbuhan sel menurun.

Konsentrasi laktosa menurun secara signifikan pada sepuluh jam pertama. Penurunan konsentrasi laktosa terjadi pada jam ke sepuluh bersamaan dengan produksi sel dan etanol yang meningkat. Hal ini dikarenakan sel mengonsumsi laktosa selama sepuluh jam sehingga meningkatkan pertumbuhan sel dan produksi etanol. Konsentrasi biomassa mencapai nilai maksimum yaitu 13,8 gr/L pada 20 jam fermentasi dengan *growth rate* 0,130 dan *yield* biomassa ( $Y_{x/s}$ ) 0,35 gr biomassa /gr substrat (Tabel 3.1)

**Tabel 3.1 Perolehan *growth rate*, *yield* biomassa ( $Y_{x/s}$ ) dan *yield* etanol ( $Y_{p/s}$ ) pada fermentasi *batch***

Parameter	Penelitian ini 30°C	Becerra dan Siso (2006) 30°C	Ariyanti dan Hadiyanto (2012) 35°C
$\mu$ (jam <sup>-1</sup> )	0,130	0,076	0,133
$Y_{x/s}$ (gr/gr)	0,35	0,32	0,095
$Y_{p/s}$ (gr/gr)	0,12	-	0,213

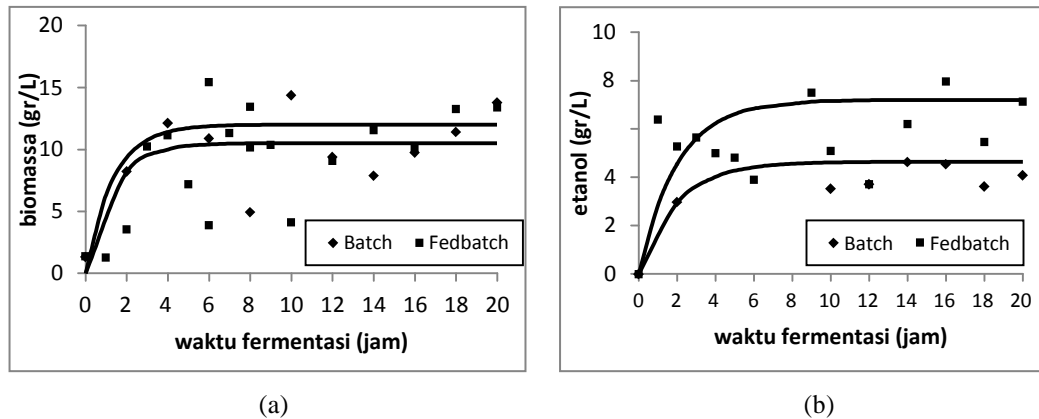
*Growth rate* yang diperoleh pada penelitian yang dilakukan oleh Ariyanti dan Hadiyanto tahun 2012 memiliki nilai yang hampir sama dengan penelitian ini yaitu 0,133, dengan *yield* biomassa yaitu 0,095. *Yield* biomassa yang dihasilkan pada penelitian dilakukan oleh Becerra dan Siso, tahun 2006, hampir sama dengan hasil yang diperoleh penelitian ini. Sedangkan perolehan *yield* biomassa, pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Ariyanti dan Hadiyanto pada tahun 2012. Hal tersebut dikarenakan suhu yang lebih tinggi dapat menyebabkan reduksi aktivitas enzim (Kourkoutas, 2001)

Konsentrasi etanol meningkat 14 jam pertama pada proses fermentasi dan mencapai konsentrasi maksimum sebesar 4,6362 gr/L dengan *yield* etanol 0,12 gr etanol/gr substrat. Setelah itu produksi etanol mengalami penurunan bersamaan dengan konsentrasi laktosa yang semakin menurun. Etanol yang telah terbentuk menghambat produksi etanol selanjutnya (Zafar dan Owais, 2005). *Yield* etanol yang diperoleh pada penelitian ini (0,12 gr etanol/gr substrat) lebih rendah dibandingkan penelitian yang telah dilakukan oleh Ariyanti dan Hadiyanto pada tahun 2012 (0,213 gr etanol/gr substrat). Hal ini dikarenakan mikroba

yang terbentuk memanfaatkan etanol sebagai sumber karbon. Sehingga menyebabkan hasil yield menjadi lebih rendah dibandingkan hasil penelitian terdahulu.

### 3.2 Perbandingan Fermentasi *Batch* dan *Fed-batch*

Beberapa penelitian yang telah dilakukan oleh peneliti lain menjelaskan bahwa fermentasi *fed-batch* menghasilkan hasil produktivitas enzim dan produksi etanol yang lebih baik (Rech dan Ayub, 2006; Rech dan Ayub, 2007). Fermentasi *fed-batch* dilakukan selama 20 jam dengan suhu operasi 30°C dan pH 4,5. Substrat yang ditambahkan pada fermentasi *fed-batch* sebesar 58,5 ml/jam, dimana *growth rate* yang dipakai dalam fermentasi *fed-batch* didapatkan dari penelitian *batch* yang dilakukan sebelumnya, yaitu sebesar 0,130/jam. Perbandingan hasil yang diperoleh dari fermentasi *batch* dan *fed-batch* dengan suhu 30°C ditampilkan pada gambar 3.2.



Gambar 3.2 Grafik Perbandingan biomassa (a) dan produksi etanol (b) antara Fermentasi *Batch* dan *Fed-batch* pada suhu 30°C, pH awal 4,5

Perbandingan biomassa antara *batch* dan *fed-batch* ditampilkan pada gambar 3.2 (a). Fase lag terjadi pada satu jam pertama fermentasi *fed-batch*, kemudian fase eksponensial berlangsung pada jam ke 1-3. Fase deselerasi berlangsung pada jam ke 3-4. Setelah fase deselerasi, berlangsung fase stasioner dari jam ke 4-14. Hasil perhitungan parameter proses *batch* dan *fed-batch* yang bisa dibandingkan antara lain adalah *growth rate*, *yield* biomassa terhadap substrat, dan *yield* produk etanol terhadap substrat dapat dilihat pada tabel 3.2

Tabel 3.2 Hasil perhitungan parameter proses fermentasi sistem *batch* dan *fed-batch*

Parameter	<i>Batch</i> 30°C	<i>Fed-batch</i> 30°C
$\mu$ (jam <sup>-1</sup> )	0,130	0,186
$Y_{p/s}$ (gr/gr)	0,12	0,21
Produktivitas biomassa (gr/Ljam)	4,74	6,47
Produktivitas etanol (gr/L jam)	1,37	4,46

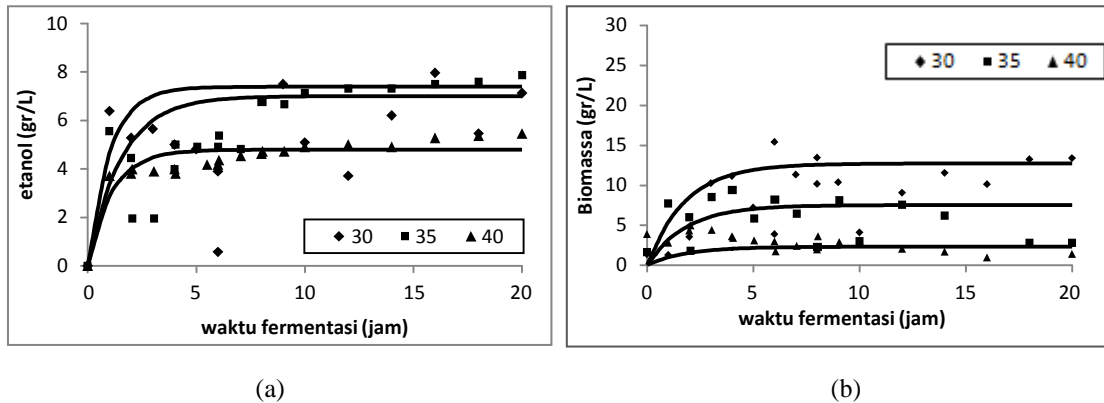
Fermentasi *batch* menghasilkan *growth rate* 0,130/jam, dan produktivitas biomassa sebesar 4,74 gr/L jam. *Fed-batch* menghasilkan *growth rate* yang lebih besar yaitu 0,186/jam dengan produktivitas biomassa sebesar 6,47 gr/L jam. Perbandingan produksi etanol antara fermentasi *batch* dan *fed-batch* ditunjukkan pada gambar 3.2 (b). Konsentrasi etanol yang dihasilkan pada fermentasi *batch* sebesar 4,6362 gr/L dengan *yield* etanol ( $Y_{p/s}$ ) 0,12 gr etanol/gr substrat. *Fed-batch* menghasilkan konsentrasi etanol yang lebih besar yaitu 7,9626 gr/L, dengan *yield* etanol 0,21 gr etanol/gr substrat.

Perolehan *growth rate*, produktivitas biomassa, dan *yield* etanol ( $Y_{p/s}$ ) fermentasi *whey* dengan proses *fed-batch* lebih tinggi dibandingkan dengan proses *batch*. Pernyataan juga diungkapkan pada penelitian yang dilakukan oleh Rech dan Ayub tahun 2006, dimana produksi etanol pada *fed-batch* lebih baik dibandingkan dengan proses *batch*. Penambahan substrat yang dilakukan secara bertahap pada proses fermentasi *fed-batch* dapat mencegah inhibisi substrat selama fermentasi (Cheng, dkk., 2009). Selain itu cara tersebut dimungkinkan untuk mengontrol konsentrasi substrat yang rendah selama fermentasi, sehingga

meningkatkan kecepatan pembentukan produk (Saarela, dkk., 2003). Oleh karena itu, proses fermentasi *fed-batch* dapat menghasilkan produksi etanol yang lebih tinggi dari proses *batch*.

### 4.3 Pengaruh Suhu pada Fermentasi Fed-batch

Fermentasi *fed-batch* ini dilakukan selama 20 jam dengan variasi suhu, yaitu 30°C, 35°C, dan 40°C, serta pH awal 4,5. Konsentrasi awal whey yang digunakan 4,1% dan *yeast extract* 0,1%. Respon yang diambil adalah biomassa, dan konsentrasi etanol. Gambar 3.3 (a) menampilkan data konsentrasi etanol, sedangkan gambar 3.3 (b) menampilkan data konsentrasi biomassa yang diperoleh selama fermentasi *fed-batch* pada variasi suhu.



Gambar 3.3. Grafik Pembentukan Bioetanol Variasi Suhu dengan Pendekatan Grafis ( $R^2$  30°C = 0,72;  $R^2$  35°C = 0,78;  $R^2$  40°C = 0,97 (a), dan Grafik Pembentukan Biomassa Variasi Suhu dengan Pendekatan Grafis ( $R^2$  30°C = 0,82;  $R^2$  35°C = 0,75;  $R^2$  40°C = 0,93) (b)

Pada gambar 3.3 didapatkan nilai koefisien determinasi ( $R^2$ ) diatas 0,7. Hal ini menunjukkan bahwa 70% dari variasi pada variabel respon dapat digambarkan dengan grafis model. Sedangkan 30% tidak diketahui, variabel tidak dapat dijelaskan (wikipedia, 2013). Data penelitian pada gambar 3.3 memperlihatkan bahwa konsentrasi etanol pada suhu 40°C lebih rendah dibandingkan dengan suhu 35°C dan suhu 30°C. Hal ini disebabkan pada suhu tinggi aktivitas sel menurun, walaupun demikian mikroba *Kluyveromyces marxianus* masih mampu menghasilkan konsentrasi etanol yang tidak sebaik pada suhu 30°C dan 35°C, yaitu sebesar 5,4678 gr/L. Penurunan produksi etanol yang lebih signifikan terjadi pada suhu 40°C karena terjadi reduksi aktivitas atau inaktivitas enzim termasuk produksi etanol (Kourkoutas, 2001). Konsentrasi etanol yang paling baik untuk penelitian ini berada pada suhu 30°C.

Perolehan biomassa penelitian ini ditampilkan dengan nilai *growth rate* dari masing-masing suhu. *Growth rate* pada suhu 30°C sebesar 0,186/jam, suhu 35°C sebesar 0,089/jam, dan untuk suhu 40°C sebesar 0,005/jam. *Growth rate* pada suhu 30°C lebih besar dibandingkan dengan suhu 35°C maupun 40°C. Konsentrasi biomassa maksimum pada suhu 30°C didapat sebesar 13,4 gr/L pada jam ke-20. Sedangkan pada suhu 35°C konsentrasi biomassa maksimum yang didapat sebesar 9,44 gr/L pada jam ke-4 dan suhu 40°C sebesar 4,34 gr/L pada jam ke-2. Parameter fermentasi *fed-batch* dengan variasi suhu dapat dilihat dari perhitungan *yield* biomassa dan *yield* etanol. Hasil *yield* tersebut ditunjukkan pada tabel 3.3.

**Tabel 3.3 Perolehan *growth rate*, *yield* biomassa ( $Y_{x/s}$ ) dan *yield* etanol ( $Y_{p/s}$ ) pada fermentasi *fed-batch* dengan variasi suhu**

Parameter	Penelitian ini			Lukondeh, dkk. (2005)	Ozmihci (2007)
	30°C	35°C	40°C	30°C	26°C
$\mu$ (jam <sup>-1</sup> )	0,186	0,089	0,005	0,138	0,0084
$Y_{x/s}$ (gr/gr)	0,32	0,032	0,006	0,37	0,16
$Y_{p/s}$ (gr/gr)	0,21	0,19	0,047	0,055	0,54

Yield biomassa pada suhu 30°C sebesar 0,32 gr biomassa/gr substrat, suhu 35°C sebesar 0,032 gr biomassa/gr substrat, dan suhu 40°C sebesar 0,006 gr biomassa/gr substrat. Sedangkan untuk yield etanol suhu 30°C sebesar 0,21 gr etanol/gr substrat, suhu 35°C sebesar 0,19 gr etanol/gr substrat, dan suhu 40°C sebesar 0,047 gr etanol/gr substrat.

Hasil konsentrasi, *yield* biomassa, dan *yield* etanol menunjukkan bahwa suhu yang paling optimum untuk proses fermentasi *whey* dengan *Kluyveromyces marxianus*, yaitu suhu 30°C. Sedangkan *yield* etanol pada suhu 30°C (0,21 gr etanol/gr substrat) lebih besar dibandingkan dengan suhu 35°C (0,19 gr etanol/gr substrat). Sehingga untuk konsentrasi etanol, suhu optimum yang didapatkan adalah 30°C. *Yield* biomassa yang diperoleh pada penelitian Lukondeh, dkk pada tahun 2005 dengan suhu 37°C sebesar 0,37 gr biomassa/gr substrat, sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Ozmihci dan Kargi tahun 2007 pada suhu 26°C menunjukkan *yield* etanol dan biomassa sebesar 0,16 gr biomassa/gr substrat dan 0,54 gr etanol/gr substrat. Pada penelitian yang dilakukan oleh Ozmihci dan Kargi tahun 2007, *yield* etanolnya lebih besar dibandingkan penelitian ini. Hal tersebut dikarenakan adanya perbedaan jenis mikroba yang digunakan, kondisi operasi serta nutrien yang digunakan antara penelitian ini dengan penelitian yang dilakukan oleh Lukondeh, dkk (2005) maupun Ozmihci dan Kargi (2007).

#### 4. KESIMPULAN DAN SARAN

##### 4.1 KESIMPULAN

Fermentasi etanol dari *whey* menggunakan mikroba *Kluyveromyces marxianus* sistem *fed-batch* dengan pH 4,5 dan suhu operasi 30°C menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan sistem *batch*. *Growth rate* biomassa dan produktivitas biomassa *fed-batch* yang dihasilkan sebesar 0,186/jam dan 6,47 gr/L jam, sedangkan untuk *batch* sebesar 0,13/jam dan 4,74 gr/L jam. Konsentrasi etanol dan *yield* etanol untuk *fed-batch*, yaitu 7,9626 gr/L dan 0,21 gr etanol/gr substrat, sedangkan untuk *batch* sebesar 4,6362 gr/L dan 0,12 gr etanol/gr substrat.

Variasi suhu (30°C, 35°C, dan 40°C) digunakan untuk mengetahui kondisi optimum pada fermentasi *whey* menggunakan sistem *fed-batch* dengan melihat biomassa dan etanol yang terbentuk. Suhu 30°C menunjukkan hasil yang paling baik dalam melakukan fermentasi dengan nilai *growth rate*, konsentrasi biomassa dan etanol sebesar 0,186/jam, 13,4 gr/L, dan 7,9626 gr/L dibandingkan dengan suhu 35°C sebesar 0,032/jam, 9,44 gr/L, dan 7,8 gr/L serta suhu 40°C sebesar 0,006/jam, 4,34 gr/L, dan 5,4678 gr/L.

##### 4.2 SARAN

Penyaringan limbah keju (*whey*) perlu dilakukan sebagai media fermentasi agar kandungan lain selain laktosa tidak mengganggu proses fermentasi sehingga dapat dihasilkan konsentrasi etanol dan biomassa yang tinggi. Ketelitian diperlukan untuk mendapatkan biomassa *Kluyveromyces marxianus* yang valid serta perlu adanya penelitian lebih lanjut untuk mengembangkan fermentasi bioetanol dari *whey* dalam skala industri.

#### 5. DAFTAR PUSTAKA

- Ariyanti, D., dan Hadiyanto. 2012. Ethanol Production from Whey by *Kluyveromyces marxianus* in Batch Fermentation System: Kinetics Parameters Estimation. *Bulletin of Chemical Engineering and Catalysis*, Vol. 7(3): 179-184.
- Arifin, I. 2012. *Milk Industry*. ismailarifin.wordpress.com/2012/02/03/oil. Diakses tanggal 2 April 2012.
- Athanasiadis, I., Boskou, D., Kanellaki, M., Kiosseoglou, V., dan Koutinas, A. A. 2002. Whey Liquid Waste of the Dairy Industry as Raw Material for Potable Alcohol Production by Kefir Granules. *Journal of Agricultural and Biochemistry*.
- Becerra, M., dan Siso, M. I. G. 2006. Yeast  $\beta$ - Galaktosidase in Solid-State Fermentations. *Journal of Enzyme and Microbial Technology*, Vol. 19 : (39-44).
- Cheng, N. G., Hasan, M., Kumoro, A. C., Ling, C. F., dan Tham, M. 2009. Production of Ethanol by Fed-batch Fermentation. *Journal Science and Technology Pertanian*, Vol. 17(2) : 399-408.
- Domingues, L., Guimares, P. M. R., dan Oliveira, C. 2010. Metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for lactose/Whey fermentation. *Journal of Bioengineered Bugs*, Vol. 1(3) : 164 - 171.

- Endah R. D., Sperisa, D., Nur, A., Paryanto. 2007. Pengaruh Kondisi Fermentasi terhadap Yield Etanol pada Pembuatan Bioetanol dari Pati Garut. *Jurnal Gema Teknik*, Vol. 2.
- Foda, M. I., Joun, H., dan Li, Y. 2010. Study the Suitability of Cheese Whey for BioButanol Production by Clostridial. *Journal of American Science* : 39-46.
- Fonseca, G. G., Heinze, E., Wittmann, C., Gombert, A. K. 2008. The mikroba *Kluyveromyces marxianus* and Its Biotechnological Potential. *Journal of Applied Microbiol Biotechnol*, Vol. 79 :339-354
- Guimaraes, P.M.R., Teixeira, J. A., Domingues, L. 2010. Fermentation of Lactose to bio-ethanol by mikrobas as part of integrated solutions for the valorization of cheese Whey. *Biotechnology Advances*, Vol. 28: 375-384.
- Hamilton, R., and Wansbrough, H. 2005. *The Manufacture of Ethanol from Whey*. [nzic.org.nz/ChemProcesses/dairy/3H.pdf](http://nzic.org.nz/ChemProcesses/dairy/3H.pdf). [online]. Diakses tanggal 11 April 2012.
- Pujaningsih, R. I. 2005. *Teknologi Fermentasi dan Peningkatan Kualitas Pakan*. Skripsi. Fakultas Peternakan, Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia.
- Jelen, Paul. 2007. Properties of lactose as determinants of crystallization behaviour and of industrial applications. *IDF Symposium Lactose and its Derivatives and IDF Regional Conference Fermented milks Technology and Nutrition*.
- Kourkoutas, Y., Dimitropoulou, S., Kanellaki, M., Marchant, R., Nigam, P., Banat, I. M., Koutinas, A. A. 2002. High Temperature alcoholic fermentation of whey using *Kluyveromyces marxianus* IMB3 yeast immobilized on delignified cellulosic material. *Journal of Bioresources Technology*, Vol.82 : 177-181.
- Lin, Y., Zhang, W., Li, C., Sakakibara, K., Tanaka, S., Kong, H. 2012. Factors Affecting Ethanol Fermentation using *Saccharomyces cerevisiae* BY4742. *Journal of Biomass and Bioenergy*, Vol.30 : 1-7.
- Lukondeh, T., Ashbolt, N. J, Rogers, P. L. 2005. Fed-batch fermentation for production of *Kluyveromyces marxianus* FII 510700 cultivated on a lactose-based medium. *Journal of industrial microbiology and biotechnology*, Vol. 32(7) : 284-288.
- Ozmihci, S., dan Kargi, F. 2007. Etanol Fermentation of Cheese Whey Powder Solution by Repeated Fed-batch Operation. *Journal of Enzyme and Microbial Technology*, Vol. 41: 169-174.
- Rahmawati, A. 2010. *Total Bakteri Asam Laktat (BAL), Kadar Laktosa dan Keasaman Whey yang Difermentasi dengan Bifidobacterium bifidum pada Lama Inkubasi yang Berbeda*. Skripsi. Fakultas Peternakan. Universitas Diponegoro. Indonesia.
- Rech R. dan Ayub, M. A. Z. 2006. Fed-batch Bioreactor Process with Recombinant *Saccharomyces cerevisiae* Growing on Cheese Whey. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, Vol. 23 (04) : 435 - 442.
- Rech, R. dan Ayub, M. A. Z. 2007. Simplified feeding strategies for fed-batch cultivation of *Kluyveromyces marxianus* in cheese Whey. *Journal of Elsevier*, Vol. 42 (5) :873-877.
- Saarela, U., Leiviska, K., Juuso, E. 2003. *Modelling of a Fed-batch Fermentation Process*. Report A No. 21, June 2003. Control Engineering Laboratory, University of Oulu Finland.
- Shahani, K. M. dan Friend, B. A. 1980. *Fuel Alcohol Production from Whey and Grain Mixtures*. Department of Food Science and Technology University of Nebraska Lincoln. American Chemical Society Div. Fuel Chem., Prepr., Vol.25 (4).
- Shuler, M. L. dan Kargi, F. 2002, *Bioprocess Engineering Basic Concepts.*, 2<sup>nd</sup> edn. Prentice Hall International Series in the Physical and Chemical Engineering Science, New Jersey.
- Supriyanto, T. dan Wahyudi. 2010. *Proses Produksi Etanol Oleh Saccharomyces Cerevisiae dengan Operasi Kontinyu pada Kondisi Vakum*. Skripsi. Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik. Universitas Diponegoro. Indonesia.
- Toyoda, T. dan Kazuhisa O. 2008. Production of Ethanol from Lactose by *Kluyveromyces lactis* NBRC 1903. *Thammasat Int. J. Sc. Tech.*, Vol.13 : 30-35.
- Virtual Labs. 2012. *Batch Microbial Cultivation*. <http://iitd.vlab.co.in>. Diakses tanggal 18 April 2012.
- Virtual Labs. 2012. *Fed-batch Microbial Cultivation*. <http://iitd.vlab.co.in>. Diakses tanggal 18 April 2012.
- Wikipedia. 2012. *Fermentor*. [id.wikipedia.org/wiki/Fermentor](http://id.wikipedia.org/wiki/Fermentor). [online]. Diakses tanggal 2 April 2012.



- Wikipedia. 2012. *Ethanol Fermentation*. en.wikipedia.org/wiki/Ethanol\_fermentation. [online]. Diakses tanggal 25 Mei 2012.
- Wikipedia. 2012. *Fermentasi*. id.wikipedia.org/wiki/Fermentasi. [online]. Diakses tanggal 25 Mei 2012.
- Wikipedia. 2012. *Lactose*. en.wikipedia.org/wiki/Lactose. [online]. Diakses tanggal 2 April 2012.
- Wikipedia. 2013. *Coefficient of Determination*. En.wikipedia.org/wiki/Coefficient\_of\_Determination. [online]. Diakses tanggal 28 Mei 2013.
- Zafar, S. dan Owais, M. 2005. Ethanol Production from Crude Whey by *Kluyveromyces marxianus*. *Biochemisal Engineering Journal*, Vol. 27 : 295-298.