

Analisa Kandungan Non Halal (Kadar Ethanol) Pada Peuyeum Menggunakan Gas Chromatography YL6500 Quantum Terhadap Metode Validasi

Analysis of Non-Halal Content (Ethanol Levels) in Peuyeum Using YL6500 Quantum Gas Chromatography on Validation Methods

Adhe Paramita¹, Made Yuri Suryani², Rika Awaln Safitri³

^{1,2,3} Institut Teknologi Kalimantan, Balikpapan

⁴ Nama Institusi, Kota

Corresponding author : Adheprm23@gmail.com

Abstrak

Identifikasi halal sangat diperlukan dalam produk makanan. Jika kadar alkohol $\geq 1\%$ maka dikategorikan makanan khamar. Peuyeum merupakan singkong utuh yang difermentasi menggunakan ragi *Saccharomyces cerevisiae* yang berfungsi memecah glukosa menjadi alkohol. Penelitian ini bertujuan memvalidasi kadar alkohol pada peuyeum. Peuyem memiliki manfaat bagi kesehatan tubuh seperti sistem pencernaan. Peuyem diberikan penambahan ragi 0,5% dengan lama waktu fermentasi yaitu 144 jam dan 168 jam pada suhu ruangan. Analisa menggunakan alat *Gas Chromatography – Flame Ionization Detector* YL65000 Quantum. Parameter validasi diantaranya uji kesesuaian sistem, linieritas, akurasi, presisi (RSD%), LoD dan LoQ. Analisa pengukuran dilakukan menggunakan kolom TG 1-MS merek Thermo Scientific dengan *carrier gas* berupa gas N₂ (Nitrogen). Berdasarkan hasil pengujian diperoleh kadar etanol sebesar 2,8969% pada produk fermentasi 144 jam dan 3,7491% 168 jam. Hasil validasi metode dengan uji kesesuaian sistem pada efisiensi kolom yaitu $134957,770 > 2000$, RSD% $0,0969\% \leq 2\%$ dan nilai resolusi sebesar $32,9501\% \geq 1,5\%$ sedangkan hasil parameter lain seperti kebertimaan validasi nilai linieritas etanol sebesar 0,991, LOD dan LOQ sebesar 2,0131% dan 6,7103%, akurasi pengujian pada sampel 144 jam dan 168 jam yaitu 123,98.

Kata Kunci : etanol, halal, peuyeum, gas chromatography dan validasi

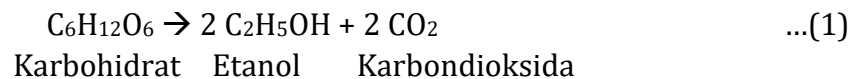
Abstract

Halal identification is indispensable in food products. If the alcohol content is 1%, it is categorized as khamr food. Peuyeum is a cassava fermented using the yeast Saccharomyces cerevisiae which functions to break down glucose into alcohol. This study aims to validate the alcohol content of peuyeum. Peuyeum has benefits for the health of the body such as the digestive system. Peuyem that has been given 0.5% yeast addition is fermented in 144 hours and 168 hours at room temperature. Analysis using the Gas Chromatography–Flame Ionization Detector YL65000 Quantum tool. The validation parameters include system suitability test, linearity, accuracy, precision (RSD%), LoD and LoQ. Measurement analysis was carried out using a Thermo Scientific TG 1-MS column using Carrier gas of N₂(Nitrogen) gas. Based on the test results obtained ethanol content of 2.8969% in 144 hours of fermentation and 3.7491% of 168 hours. The results of method validation with the system suitability test on column efficiency are $134957.770 > 2000$, RSD% $0.0969\% \leq 2\%$ and the resolution value is $32.9501\% \geq 1.5\%$ while the results of other parameters such as the validity of the validation of the linearity value of ethanol is 0.991, LOD and LOQ of 2.0131% and 6.7103%, the accuracy of testing on samples of 144 hours and 168 hours is 123.98.

Keywords : ethanol, halal products, peuyeum, gas chromatography and validation.

PENDAHULUAN

Negara Indonesia adalah negara yang mayoritas memeluk agama Islam. Oleh sebab itu, halal dan *toyyib* adalah dua kesatuan yang tidak dapat terpisahkan. Halal dapat diartikan syariah sedangkan *toyyib* dilihat dari sudut pandang kesehatan, gizi, estetika dan lainnya. Kebanyakan makan dan minuman yang diharamkan mengandung alkohol seperti tape dan peuyeum [1]. Peuyeum merupakan makan yang berasal dari Bandung. Tape dan peuyeum merupakan makanan berbahan singkong yang difermentasi. Mengonsumsi makanan fermentasi dapat membreikan mafaat bagi tubuh terutama sistem pencernaan, meningkatkan kekebalan tubuh, merawat kesehatan jantung, menurunkan berat badan dan gangguan psikologis seperti stress dan depresi [2]. Tape dibuat dengan merebus singkong dan membelah singkong sedangkan peuyeum adalah dibuat dengan singkong utus. Ragi atau khamir (*Saccharomyces cerevisiae*) mempunyai kemampuan untuk memecah pangan karbohidrat menjadi alkohol dan karbondioksida dengan reaksi sebagai berikut [3].



Berdasarkan uraian dari reaksi tersebut dapat disimpulkan bahwa proses fermentasi dengan ragi menghasilkan alkohol / etanol. Berdasarkan UU No.33 tahun 2014 tentang Jaminan Produk Halal adalah pionir untuk memberikan garansi bagi penduduk muslim agar dapat melaksanakan kehidupan yang sesuai dengan syariah sehingga kandungan alkohol tidak boleh $\geq 1\%$ [4]. Penentuan kadar etanol dapat dilakukan dengan beberapa metode diantaranya, metode enzimatik, biosensor dan potensiometri dianggap sebagai metode yang memberikan stabilitas, reproducibilitas dan akurasi yang rendah. Selain itu adapula metode *refractive index*, *dichromate oxidation spectrophotometry*, *capillary electrophoresis*, *Fourier Transform Mid Infrared (FT-MIR) Spectroscopy*, *modular Raman Spectroscopy*, *Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Spectroscopy*, *Near-Infrared (NIR) Spectroscopy*, *beer analyzer*, *flow injection analysis*, *High Performance Liquid Chromatography (HPLC)* dan *Gas Chromatography (GC)*. Metode pengujian GC dengan *Flame Ionization Detector* dianggap sebagai metode yang paling sesuai dalam penetapan kadar alkohol/etanol pada produk minuman [5-7]. Oleh karena itu, validasi metode penentuan etanol pada peuyeum dengan menggunakan gas chromatography ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kadar etanol peuyeum yang difermentasi selama 144 dan 168 jam. Proses validasi metode dalam penelitian ini adalah uji kesesuaian sistem, linearitas, presisi, limit deteksi, limit kuantitasi dan akurasi dengan carrier gas N_2 .

METODE

a. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah neraca analitik, 1 set alat distilasi, wadah pelatik, *Gas Chromatography-Flame Ionization Detector (GC-FID)* YL65000

Quantum, kolom TG 1-MS merek Thermo Scientific, kain saringan, kompor, dandang, sendok, thermometer, labu leher dua 500mL, pipet ukur (1 mL, 5mL, 10mL), karet penghisap, labu ukur 5 mL, botol kaca 120mL, kertas lakmus, dan gelas arloji. Bahan yang digunakan daun pisang, singkong (*Manihot esculenta crantz*) 1kg, etanol *Merck*, n-butanol *Merck*, aquadest dan n-Hexane.

b. Preparasi Sampel

Sampel dibuat dengan kulit singkong dikupas sampai bersih, ditimbang 1kg. Singkong ditanak selama ± 30 menit dan kemudian didinginkan selama 1 jam. Singkong kemudian ditimbang ± 200 gram dan ditambahkan ragi sebanyak 0,5% (1 gram ragi : 200 gram singkong) dan difermentasi berdiri dalam wadah yang telah terbungkus daun pisang selama 144 jam (6 hari) dan 168 jam (7 hari) pada suhu ruangan.

c. Distilasi Alkohol Pada Pueyuem

Peuyeum disaring menggunakan kain saringan dan diambil sebanyak 60mL. Sampel kemudian di tambahkan 50mL aquadest. Larutan di disitilasi suhu 100°C. dan ditilasi hingga menyisihkan filtrate sebanyak 45mL dan distilat 50mL. Distilat disimpan ke dalam botol kaca 120mL dan ditutup rapat. Sampel kemudian di masukkan sebanyak 10mL ke dalam labu ukur 10mL dan ditambahkan sampel standar n-butanol 1 mL. Larutan digojok hingga homogen. Sedangkan untuk uji akurasi di tambahkan 4% etanol standar 1 mL ke dalam larutan.

d. Preparasi Larutan Baku Standard 1 %

Larutan n-butanol pekat diambil sebanyak 1,24 mL dengan pipet ukur untuk membuat larutan induk n-butanol 10 %, dimasukkan ke dalam labu ukur 10mL. Akuades di tambahkan hingga tanda tera dan digojok hingga homogen. Larutan n-butanol 10% kemudian diambil sebanyak 1mL, kemudian di tambahkan akuades hingga tanda tera dan digojok hingga homogen.

e. Pembuatan Kurva Kalibrasi / Baku Etanol

Dibuat larutan baku etanol dengan konsentrasi 0,5;1;2;4 dan 6% V/V ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan larutan n-butanol 1 % sebanyak 1 mL. Larutan kemudian digojok dan dihomogenkan

f. Preparasi Larutan Sampel

Hasil distilat dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL hingga tanda tera dan di tambahkan 1 mL n-butanol 1%. Larutan kemudian digojok hingga homogen. Larutan sampel kemudian di ambil sebanyak 2 mL dan dimasukkan ke dalam botol sampel GC untuk diuji kadar etanol.

g. Uji kesesuaian Sistem

g.1 Opimasi Kondisi Gas Chromatography

Kolom yang digunakan adalah TG-IMS dengan jenis detector flame ionization detector (FID) dengan suhu oven 50°C, init time 1 menit. Dinaikkan betahap 10 mL menit hingga 200 °C. Suhu injector yang digunakan 200 °C dan suhu detector 250°C dengan split rasio 50:1 dengan menggunakan hidrogen sebagai gas pembakarnya. H₂ Flow yang digunakan 40mL/menit dan udara penggeraknya 400 mL/menit. Volume injeksi yang digunakan 1µL dengan constant flow 1mL/menit tanpa menggunakan *make up gass*.

g.2 Nilai Lempeng (*Plate Number*), Presisi Intrument dan Nilai Resolusi

Larutan etnol 0,5% dan n-butanol 1 % disuntik sebanyak 3 kali pengulangan dan dihitung nilai lempeng (N), presisi instrument (RSD %) dan nilai resolusi (RS). Perhitungan dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$N = 5,54 \left(\frac{Rt}{W_{\frac{1}{2}}} \right)^2 \quad \dots(2)$$

$$Rs = \frac{Tr2-Tr1}{0,5(W2+W1)} \quad \dots (3)$$

h. Parameter Validasi

h.1 Selektivitas

Distilat diinjeksi etanol, butanol dan sampeldengan standar internal butanol masing-masing 1mL ke dalam labu ukur 10mL dan diinjeksi ke dalam kromatografi gas sebanyak 1µL.

h.2 Linieritas

Uji liniertitas dilakukan dengan membuat larutan standar etanol 0,5% , 1%, 2%, 4% dan 6% dan diamati luas puncak. Data yang diperoleh dibut persamaan regresi linier $y=bx+a$ dan di injeksi diulang sebanyak 5 kali dan ditentukan koefisien determinasinya

h.3 Penentuan LOD dan LOQ

Nilai LOD dan LOQ dihitung melalui garis linear dari kurva kalibrasi, sedangkan simpangan baku blanko sama dengan simpangan baku residual (Sy/x) [8].

$$LOD = 3x \frac{(Sy/x)}{b} \quad \dots(4)$$

$$LOQ = 10 x \frac{(Sy/x)}{b} \quad \dots(5)$$

h.4 Penentuan Presisi

Hasil analisis dari konsentrasi sampel yang dihasilkan untuk menghitung persen *Relative Standard Deviation* (RSD)

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(xi-x)^2}{n-1}} \text{ dan } \%RSD = \frac{SD}{x} \times 100 \% \dots(6)$$

h.5 Penentuan Akurasi

Penentuan akurasi dilakukan dengan membuat larutan spike menggunakan campuran larutan standar etanol 4% dan n-butanol 1% masing-masing 1 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10mL dan ditera dengan distilat sampel. Campuran di injeksi 1 μ L sebanyak 3 kali (triplo) dan ditentukan persen *recovery*.

$$\%Recovery = \frac{\text{konsentrasi spike} - \text{konsentrasi sampel}}{\text{konsentrasi Standar}} \times 100 \% \dots(7)$$

Tabel 1.

Rentang Nilai Recovery Berdasarkan Konsentrasi Sampel

Analit pada matriks sampel (A)	Recovery yang diterima (%)
10<A≤100%	98-102
1<A≤10%	97-103
0,1<A≤1%	95-105
0,001<A≤0,1%	90-107
100ppb<A≤1ppm	80-110
10ppb<A≤ppb	60-115
1ppb<A≤ppb	40-120

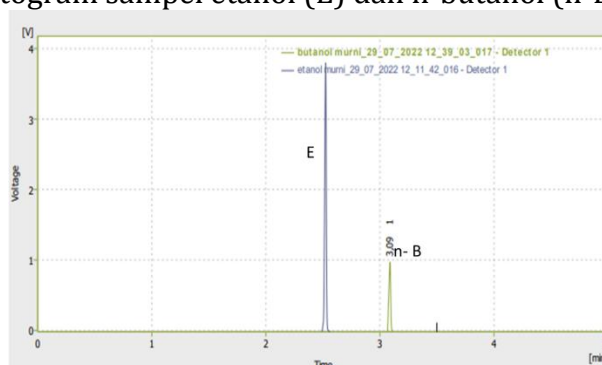
Sumber : [8]

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebagai makan traditional dari Bandung, peuyeum merupakan makanan fermentasi yang memiliki manfaat untuk tubuh, namun sebagai negara mayoritas muslim maka sesuai UU No.33 tahun 2014 tentang Jaminan Produk Halal kandungan alkohol tidak boleh $\geq 1\%$ [4]. Gas Chromatography YL65000 dilakukan pengujian kesesuaian sistem agar system dan prosedur yang digunakan mampu memberikan data yang akurat serta diterima. Berdasarkan hasil pengujian nilai lempeng (N) sebesar 134957,7698 > 2000, sehingga pemisahan dinyatakan baik. Selain itu nilai %RSD etanol sebesar 0,1365% $\leq 2\%$ dan (Rs) antara peak etanol diperoleh sebesar 32,9501 $\geq 1,5$ sehingga alat dinyatakan optimum dan baik untuk digunakan[9].

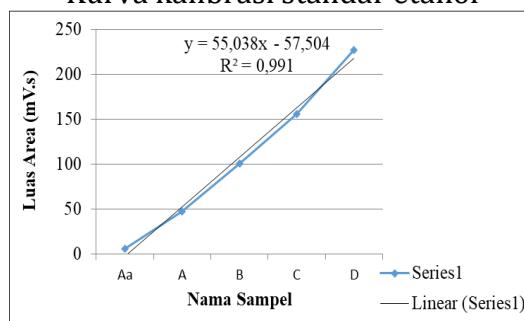
Kemudian sampel murni etanol, butanol merek merk diuji untuk mengetahui Rt(menit) peak sampel yang ditunjukkan pada gambar dibawah ini :

Gambar 1 :
Kromatogram sampel etanol (E) dan n-butanol (n-B) murni



Berdasarkan gambar di atas sampel etanol dan n-butanol muncul pada Rt (menit) secara urut yaitu 2,5233 dan 3,0888. Sampel standar dengan konsentrasi etanol 0,5%, 1%, 2%, 4% dan 6% dengan tambahan internal standar n-butanol 1 % diuji untuk membuat kurva kalibrasi untuk membantu analisis secara kuantitatif kadar suatu analit yang terkandung dalam sampel yang ditunjukkan pada grafik berikut :

Grafik 1:
Kurva kalibrasi standar etanol



Berhubungan dengan kurva kromatogram yang muncul pada Rt (Menit) range 2,5233 didapatkan garis linier etanol dengan nilai determinasi (R^2)= 0,991 dan koefisien korelasi (r)=0,991, memenuhi persyaratan nilai koefisien korelasi (r) lebih besar dari 0,99 [10]. Sampel peuyeum dengan penambahan ragi 0,5% (ragi 1 gram: singkong 200 gram) dengan waktu fermentasi 144 & 168 jam diambil sarinnya dan di distilasi untuk mendapatkan distilat yang tidak mengandung lemak, gula zat pengganggu lainnya.

Gambar 2:
Rangkaian alat distilasi peuyeum



Sumber : Dokumentasi Pribadi
Distilat kemudian diuji dan ditambahkan internal standar n-butanol 1 % dan diuji sebanyak 5 kali dengan hasil sebagai berikut :

Tabel 2.
Kadar etanol dalam sampel peuyeum

Pengulangan n	Etanol pada 144 jam			Etanol pada 168 jam		
	Rt (menit)	Luas area	Konsentrasi (%)	Rt (menit)	Luas area	Konsentrasi (%)
Replika 1	2,5250	104,8517	2,9499	2,5200	147,7142	3,7287
Replika 2	2,5267	100,2757	2,8667	2,5183	149,0459	3,7529
Replika 3	2,5250	101,0159	2,8802	2,5217	150,5047	3,7794
Replika 4	2,5250	101,7449	2,8934	2,5200	147,0577	3,7167
Replika 5	2,5200	101,7825	2,8941	2,5200	149,8747	3,7679
Rata-rata			2,8969	Rata-rata		3,7491

Dari hasil pengujian didapatkan kadar etanol 144 jam dan 168 jam secara berurutan yaitu 2,8969% dan 3,7491% dengan pH ± 3 dan dinyatakan khamar atau minuman yang memabukkan yaitu $>1\%$ [4]. Waktu maksimum fermentasi yaitu pada hari ke 4 dengan kadar 6,03% [11]. Namun menurut seiring lamanya waktu fermentasi dikarenakan berada posisi *death phase* yaitu karena berkurangnya beberapa nutrient esensial dalam media [12]. Kemudian sampel standar etanol dilakukan perhitungan nilai LoD (*limit of detection*) dan LoQ (*limit of quantitation*) untuk mengetahui parameter uji batas terkecil yang dimiliki oleh instrument and mengetahui konsentrasi terendah yang terkandung dalam sampel yang dapat dikuantifikasi akurasi dan presisi [13]. Dari hasil pengujian didapatkan nilai LoD yaitu 2,0131 dan 6,7103 untuk nilai LoQ. Sehingga sampel masih masuk dalam kebertimaan dalam penentuan uji presisi dan akurasi.

Distilat sampel kemudian dilakukan pengujian presisi dengan hasil sebagai berikut :

Tabel 3.
Hasil perhitungan presisi sampel peuyeum

Pengulangan	Etanol 144 jam		Etanol 168 jam	
	Konsentrasi Xi (%)	(Xi-Xrata) ²	Konsentrasi Xi (%)	(Xi-Xrata) ²
Replika 1	2,9499	0,00281	3,7286638	0,00042
Replika 2	2,8667	0,00091	3,7528598	0,00001
Replika 3	2,8802	0,00028	3,7793652	0,00092
Replika 4	2,8934	0,00001	3,7167357	0,00105
Replika 5	2,8941	0,00001	3,7679185	0,00035
Rata-rata (X)		2,89687	Rata-rata (X)	3,74911
total (X-Xrata)²		0,00402	total (X-Xrata)²	0,00275
SD		0,02834	SD	0,03708
RSD (%)		0,97830	RSD (%)	0,98894

%RSD didapatkan $\leq 2\%$ sehingga metode ini dapat dianggap kriteria presisi dengan hasil persen *relative standard deviation* (%RSD) pada distilat peuyeum 144 jam dan 168 jam yaitu 0,97830% dan 0,98894%. Selain itu sampel perlu dilakukan penentuan akurasi untuk menunjukkan kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya [14]. Akurasi dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*). Hasil pengukuran akurasi ditunjukkan pada tabel di bawah :

Tabel 4.
Hasil pengukuran akurasi sampel dengan penambahan spike

Sampel Uji	Luas Area	Konsentrasi Sampel Uji (%)	Konsentrasi Standar (%)	C. Spike+sa mpel (%)	C. Spike (%)	Recovery
6 +spike	124,4191	2,8969	4%	3,3054	0,4	102,1338
7 + spike	170,4738	3,7491	4%	4,1422	0,4	98,2701

nilai persentase perolehan kembali (*recovery*) etanol 144 jam dan 168 jam sebesar 102,1338% dan 98,2701%. Perolehan kembali (*recovery*) dengan konsentrasi analit $1 < A \leq 10\%$, maka rentang keberterimaan pada 97-103%. Dari hasil yang diperoleh %*recovery* pada etanol berada pada kriteria rentang keberterimaan. Sehingga dapat disimpulkan bahwa metode ini mempunyai ketepatan yang baik dalam menunjukkan nilai pengukuran dengan nilai sebenarnya [8].

KESIMPULAN

Gas Chromatography YL65000 dengan gas carrier nitrogen (N_2) memiliki nilai lempeng (N) sebesar 134957,7698 > 2000, sehingga pemisahan dinyatakan baik. Selain itu nilai %RSD etanol sebesar 0,1365% $\leq 2\%$ dan (Rs) antara peak etanol diperoleh sebesar 32,9501 $\geq 1,5$ dengan nilai koefisien kolerasi (r) lebih besar dari 0,991, sehingga alat dinyatakan optimum dan baik untuk digunakan. *Retention time* (Rt) peak etanol dan n-butanol muncul pada 2,5233 menit dan 3,0883 menit. Pengaruh lama fermentasi dan kadar ragi berpengaruh terhadap kadar etanol. Peuyeum dengan penambahan ragi 0,5 % (1 gram ragi : 200 gram singkong) pada penyimpanan 6 hari dan 7 hari menghasilkan kadar etanol 2,8969% dan 3,7491% dan termasuk khamar yaitu lebih dari 1% . Menurut Hafidatul,dkk tahun 2012 [15], menyatakan bahwa 0,85gram ragi pada 100 gram singkong menghasilkan tape dengan kadar 0,844% pada waktu penyimpanan 1 hari. Distilat peuyeum 6 hari dan 7 hari menghasilkan % RSD yaitu 0,97830% dan 0,98894% yaitu $\leq 2\%$ sehingga metode presisi untuk digunakan. Selain itu sampel juga memiliki nilai persen *recovery* sebesar 102,1338% dan 98,2701% . Sehingga dapat disimpulkan bahwa metode ini mempunyai ketepatan yang baik dalam menunjukkan nilai pengukuran dengan nilai sebenarnya

DAFTAR PUSTAKA

1. Hasanah, H., Jannah, Akyunul dan A. Ghanaim Fasya, "Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kadar Alkohol Tape Sing (Manihot utilissima Pohl)". *ALCHEMY*, 2012. 2(1): p. 68-79.



2. Rahayu, M.I. *11 Makanan Fermentasi untuk Pencernaan dan Cegah Penyakit*. 2020 [cited 2022 24 September]; Available from: <https://doktersehat.com/gaya-hidup/gizi-dan-nutrisi/makanan-fermentasi/>.
3. Maya Sari and N. Fajar, "*Analisa Kualitatif dan Kuantitatif Kandungan Alkohol pada Tapai Ketan di Kota Batusangkar*". *Sains dan Teknologi*, 2018. **10**(2): p. 33-36.
4. Perdana, A.I., "*Optimasi Dan Validasi Metode Analisis Kadar Alkohol Pada Produk Pangan Dengan Spektrofotometer UV-Vis*". *Jurnal Inovasi dan Pengelolaan Laboratorium* 2020. **2**(1).
5. Wang, M., Y. Choong, N. Su and M. Lee, "*A rapid method for determination of ethanol in alcoholic beverages using capillary gas chromatography*". *Journal of Food and Drug Analysis*, 2003. **11**(2): p. 133-140.
6. Pestisida, L.R. *Alkohol/ Etanol dalam Pengujian Halal Produk Pangan*. 2020 [cited 2022 23 September 2022]; Available from: <http://jlppi.or.id/berita-319-alkoholetanol-dalam-pengujian-halal-produk-pangan.html>.
7. Ala Yahya Sirhan, et al., "*Simultaneous determination of ethanol and methanol in alcohol free malt beverages, energy drinks and fruit juices by gas chromatography*". *Asian J Agric & Biol (AJAB)*, 2019. **7**(2): p. 183-189.
8. Harmita, "*Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya*". *Jurnal Majalah*, 2004. **1**(3): p. 117-135.
9. Snyder, L.R., S.J. Kirkland, and J.W. Dolan, "*Intoduction to Modern Liquid Chromatography*", ed. E. ^{3rd}2010, Canada: John Wiley dan Sons.
10. (ICH), I.C.o.H., *Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2 (R1)*, in *International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use* 2005.
11. Dirayati, A.G., dan Erlidawati, "*PENGARUH JENIS SINGKONG DAN RAGI TERHADAP KADAR ETANOL TAPE SINGKONG*". *Jurnal IPA dan Pembelajaran IPA (JIPI)*, 2017. **1**(1): p. 26-33.
12. Mario G. Mirisola, Ralf J. Braun, and D. Petranovic, "*Approaches to study yeast cell aging and death*". *FEMS Yeast Research*, 2014. **14**(1): p. 109-118.
13. Hidayati, D., Ba'ido, D., dan Hastuti, S, *Pola Pertumbuhan Ragi Tape pada Fermentasi Kulit Singkong*. *Agrointek*, 2013. **7**(1): p. 6-10.
14. Riyanto, "*Validasi dan Verifikasi Metode Uji: sesuai dengan ISO/IEC 17025 Laboratorium Pengujian dan Kalibrasi*", 2014, Deepublish: Yogyakarta.



15. Hafidatul Hasanah, Akyunul Jannah, and A.G. Fasya, "*Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kadar Alkohol Tape Singkong (Manihot utilissima Pohl)*". *Alchemy*, 2012. **2**(1): p. 68-79.