

## **Pengaruh Variasi Massa *Saccharomyces cerevisiae* dan Waktu Fermentasi pada Pembuatan Bioetanol dari Limbah Padat Pati Aren Metode *Simultaneous of Saccharification and Fermentation***

*The Effect of Saccharomyces cerevisiae Mass Variation and Time of Fermentation on Bioethanol production from Solid Waste of Palm Starch Using Simultaneous of Saccharification and Fermentation Methods*

Nurul Putri Gayatri<sup>1</sup> dan Dewi Astuti Herawati<sup>2\*</sup>

<sup>1,2</sup>Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknik Universitas Setia Budi, Surakarta  
Jln. Letjen Sutoyo-Mojosongo Surakarta-57127 Telp. 0271-852578

\*Corresponding Author: [dewitkusb@gmail.com](mailto:dewitkusb@gmail.com)

**ABSTRAK** : Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh variasi massa *Saccharomyces cerevisiae* (ragi roti) dan menentukan waktu optimum yang diperlukan untuk proses fermentasi bioetanol dari limbah padat pati aren. Proses fermentasi menggunakan variasi massa ragi yaitu: ragi 0,8 g/100ml; 1,6 g/100ml, 2,4 g/100ml, 3,2 g/100ml dan waktu fermentasi yaitu: awal fermentasi sampai hari ke 7. Penelitian ini menggunakan metode *Simultaneous of Saccharification and Fermentation* adalah gabungan proses hidrolisis dan fermentasi secara serempak. Hidrolisis menggunakan campuran enzim dari *Aspergillus niger* dan *Trichoderma sp* dan fermentasi menggunakan ragi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa massa *Saccharomyces cerevisiae* 3,2 g/100ml menghasilkan kadar bioetanol paling tinggi 4,7868% dan waktu optimum yang diperlukan untuk proses fermentasi adalah 4 hari.

**Kata kunci** : Bioethanol; Limbah padat pati aren; *Saccharomyces cerevisiae*; SSF

**ABSTRACT**: This study aims to determine the effect of mass variation of *Saccharomyces cerevisiae* (baker's yeast) and determine the optimum time required for the bioethanol fermentation process from solid waste of sugar palm starch. The fermentation process uses variations in yeast mass : 0.8 g / 100ml; 1.6 g / 100ml, 2.4 g / 100ml, 3.2 g / 100ml and fermentation time from start fermentation until the 7th days. This study uses the *Simultaneous of Saccharification and Fermentation* method, which is a combination of hydrolysis and fermentation processes simultaneously. Hydrolysis using a mixture of enzymes from *Aspergillus niger* and *Trichoderma sp* and fermentation using yeast. The results showed that the mass of *Saccharomyces cerevisiae* 3.2 g / 100ml produced the highest bioethanol content of 4.7868% and the optimum time required for the fermentation process was 4 days.

**Keywords**: bioethanol; *Saccharomyces cerevisiae*; SSF; the palm starch industrial solid waste

### **1. PENDAHULUAN)**

Bioetanol merupakan salah satu sumber energi alternatif yang dapat diproduksi dari limbah padat pati aren, karena kandungan selulosanya yang tinggi yaitu 60,61% (Purnavita dkk., 2014). Proses sakarifikasi dalam bahan tanaman mengandung selulosa menjadi lebih sulit

karena mengandung lignin (Agustryanto (2012). Limbah padat pati aren mengandung lignin perlu didelignifikasi terlebih dahulu menggunakan katalis kimia berupa NaOH (Safaria, 2013).

Selulosa dari proses delignifikasi ampas pati aren selanjutnya disakarifikasi menghasilkan monosakarida kemudian

dikonversi menjadi bioetanol. Sakarifikasi ialah pemecahan polisakarida menjadi glukosa, salah satu prosesnya menggunakan enzim selulase. Hidrolisis serat aren dilakukan dengan menggunakan enzim selulase yang dihasilkan oleh *Aspergillus niger* dan *Trichoderma viride* (Fuadi dkk., 2015). Sakarifikasi dan Fermentasi Simultan (SSF) adalah metode konversi karbohidrat menjadi etanol. Perubahan glukosa menjadi bioetanol dapat dilakukan dengan fermentasi menggunakan ragi (*Saccharomyces cerevisiae*).

Menurut penelitian Puspawati dkk (2016), produksi bioetanol dari limbah padat pati aren paling baik adalah metode SSF menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* 0,8% b/v menghasilkan kadar sebesar 4,32%. Menurut penelitian Herawati (2019), pembuatan bioetanol dari limbah ampas pati aren metode SSF menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* 0,8% b/v menghasilkan kadar bioetanol 3,5407%. Berdasarkan hasil penelitian - penelitian terdahulu kadar ragi (*Saccharomyces cerevisiae*) yang digunakan masih sedikit dan kadar bioetanol yang dihasilkan juga rendah, maka perlu dilakukan penambahan ragi pada produksi bioetanol agar dihasilkan kadar bioetanol yang lebih tinggi. Penelitian yang sama memperlihatkan bahwa semakin tinggi bobot *Saccaromyces cerevisiae* pada proses fermentasi akan meningkatkan kadar bioetanol. Hal ini senada dengan penelitian

Hapsari dan Pramashinta (2013), pembuatan bioetanol dari 800 gram pati singkong karet dengan variasi ragi 5, 10 dan 15 gram dihasilkan kadar etanol tertinggi 94% menggunakan ragi 15 gram. Menurut Mustofa (2012) bahwa pembuatan etanol dari pati garut dengan variabel penambahan ragi 0,6% hingga 1,4% dihasilkan kadar etanol paling tinggi 11% pada penambahan ragi 1,4 %. Penelitian kali ini akan memproduksi bioetanol dari limbah padat pati aren yang didelignifikasi dengan NaOH 3%, proses fermentasi menggunakan metode SSF dengan variasi penambahan berat *Saccaromyces cerevisiae*

## 2. METODE PENELITIAN

### 2.1 Alat dan Bahan

Alat – alat yang digunakan adalah alat penggilingan, ayakan ukuran 40 *mesh*, *autoclave*, *centrifuge*, *hotplate*, *oven*, peralatan gelas, *gas chromatography*, *thermometer*.

Bahan utama dalam penelitian ini adalah limbah padat diperoleh dari industri pati aren desa Daleman, Kecamatan Tulung, Kabupaten Klaten. Jamur *Trichoderma sp* dari Universitas Sebelas Maret sedangkan jamur *Aspergillus niger* dan *Saccharomyces cerevisiae* dari laboratorium Universitas Setia Budi. Bahan pembantu yang digunakan adalah media tumbuh untuk produksi spora *Aspergillus niger* dan *Trichoderma sp* yaitu: Potato *Dextrose Agar* (PDA). Larutan nutrisi : urea, CaCl.H<sub>2</sub>O, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O,

---

$\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{K}_2\text{SO}_4$ , akuades. Asam sulfat, pH stick, , NaOH, Arsenomolybdat, reagen Nelson, Glukosa pa. dan molase yang diperoleh dari Industri etanol di daerah Bekonang.

## 2.2 Prosedur

### 2.2.1. Preparasi sampel

Mencuci ampas pati aren, dikeringkan, digiling dan diayak dengan ayakan ukuran 40 mesh.

### 2.2.2. Delignifikasi sampel

Sebanyak 50 g sampel yang telah dipreparasi dimasukkan ke dalam erlenmeyer 1000 mL ditambah 800ml larutan NaOH 3% kemudian dipanaskan pada suhu  $121^\circ\text{C}$  selama 90 menit. Dinetralisasi sampai pH 5 kemudian di oven pada suhu  $105^\circ\text{C}$ . Mengulangi langkah delignifikasi tersebut diatas sebanyak 4 kali.

### 2.2.3. Pembuatan larutan nutrisi

Membuat larutan nutrisi dengan melarutkan  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0,5 g/L),  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (10 g/L), urea (3 g/L),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (3 g/L), ,  $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (0,5 g/L) dengan 1 L akuades (Singhania, *et al.*, 2006). Larutan nutrisi dibutuhkan pada produksi enzim selulase dari *Aspergillus niger* dan *Trichoderma sp.* pH larutan nutrisi dan diatur hingga pH 5 merupakan pH optimum untuk pertumbuhan *Aspergillus niger* (Harfinda, 2011) maupun *Trichoderma sp.* (Sukardati, dkk., 2010).

### 2.2.4. Produksi Enzim

Larutan nutrisi sebanyak 100 mL ditambahkan ke dalam Erlenmeyer 500mL

yang berisi 10 g limbah padat pati aren yang telah mengalami preparasi dan delignifikasi kemudian ditutup. Campuran disterilisasi pada suhu  $121^\circ\text{C}$  selama 15 menit di dalam *autoclave* kemudian didinginkan. Hasil sterilisasi campuran tersebut siap digunakan sebagai media bagi *Aspergillus niger* dan *Trichoderma sp* dalam menghasilkan enzim selulase. Produksi enzim dihasilkan dengan menginokulasi *Aspergillus niger* dan *Trichoderma sp* ke dalam media tersebut secara terpisah diinkubasi selama 14 hari pada suhu ruang.

### 2.2.5. Ekstraksi enzim

Ekstraksi enzim dilakukan dengan cara mengestraksi hasil produksi enzim dengan menggunakan larutan 0,1% tween 80 sebanyak 100 mL . Kemudian campuran diaduk dengan kecepatan 100 rpm selama 120 menit pada suhu ruang. Selanjutnya larutan disentrifugasi dengan kecepatan 6000rpm selama 10 menit. Supernatan yang dihasilkan dipisahkan, sebagai ekstrak enzim kasar (Szendefy, *et al.*, 2006).

### 2.2.6. Produksi Bioetanol

Masing-masing 5 g limbah padat pati aren yang telah didelignifikasi, larutan nutrisi steril sebanyak 150 mL dan molase sebanyak 35% (v/v).dimasukan ke dalam erlenmeyer 500 mL, Kemudian dilakukan fermentasi secara serempak (SSF) menggunakan enzim selulase dan ragi roti secara bersamaan secara aseptis. Enzim selulase yang digunakan sebanyak 45 ml dengan perbandingan enzim dari

*Aspegilus niger* : enzim dari *Trichoderma* sp yaitu 1:2. (Puspawati dkk., 2016). Ragi roti (*Saccharomyces cereviceae*) yang ditambahkan divariasikan bobotnya yaitu 0,8g/100ml, 1,6g/100ml, 2,4g/100ml, 3,2g/100ml. Proses produksi bioetanol secara SSF diamati setiap hari selama 7 hari dan dianalisis kadar etanol yang diperoleh.

### 2.3 Analisis Data

Hasil penelitian dianalisis kadar bioetanolnya setiap hari selama 7 hari. Analisis kadar bioetanol menggunakan metode Kromatografi Gas.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 3.1 Delignifikasi

*Delignifikasi* bertujuan menurunkan kadar lignin bahan berlignoselulosa. Larutan NaOH 3% sebagai delignifikator Delignifikasi berlangsung pada suhu  $\pm 121^{\circ}\text{C}$  selama 90 menit. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan (Herawati dkk, 2019) diperoleh kadar lignin setelah delignifikasi menurun dari 91,5364 % menjadi 75,835 %.

Hasil ini menunjukkan bahwa perolehan kadar lignin hasil delignifikasi limbah padat pati aren menggunakan *delignifikasi* basa dengan konsentrasi NaOH 3% mengalami penurunan. NaOH sebagai delignifikator dapat merusak struktur lignin pada bagian kristalin dan amorf dan mampu mengekstraksi hemiselulosa dengan cara memecah struktur amorf pada hemiselulosa. NaOH

juga dapat menguraikan lignin pada suhu kurang dari  $180^{\circ}\text{C}$  (Hidayat, 2013)

Berdasarkan hasil penelitian Wang *et al* (2010), konsentrasi NaOH 3% dengan waktu delignifikasi 90 menit pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  dapat mendegradasi lignin sebanyak 85,41%. Hasil delignifikasi penelitian relatif rendah dibandingkan dengan penelitian tersebut, hal ini disebabkan kurangnya kontrol suhu pada saat proses delignifikasi sehingga kemungkinan selulosa juga terdegradasi. Hal ini senada dengan pernyataan Singh & Bishnoi (2012), suhu  $121^{\circ}\text{C}$  merupakan suhu optimum untuk delignifikasi, apabila suhu terlalu tinggi menyebabkan kemungkinan selulosa ikut terdegradasi dan terlarut, NaOH yang tersisa akan mendegradasi selulosa. Apabila delignifikasi pada suhu lebih rendah lignin belum terurai, selulosa terlindungi sehingga selulosa tidak terdegradasi.

### 3.2 Kadar gula (glukosa) dalam proses fermentasi

Aktivitas pertumbuhan stater dipengaruhi oleh banyaknya gula dalam substrat. Kondisi pertumbuhan stater membutuhkan gula dengan kadar 10 – 18%. Gula sebagai sumber karbon bagi *Saccharomyces cereviceae* yang mempercepat pertumbuhannya selanjutnya menguraikan karbohidrat menjadi etanol terfermentasi (Moeksin dan Francisca, 2010).

Hasil analisis kadar gula total limbah padat pati aren menggunakan

---

metode *Nelson Semogy* sebesar 0.904%*b/v*. Kadar gula total ini masih belum memenuhi *range* kadar gula dalam proses fermentasi. Jika kadar gula kurang dari 10% fermentasi etanol tidak dapat berlangsung secara optimal bahkan kemungkinan mengalami kegagalan. Kadar ethanol yang dihasilkan dari fermentasi menggunakan kadar gula rendah sangat rendah dibawah 1% tidak efisien untuk didestilasi. Jika kadar gula di atas 18 % laju fermentasi menurun dan alkohol yang dihasilkan menghambat aktivitas ragi, menyebabkan waktu fermentasi bertambah lama dan sisa gula tidak terfermentasi .(Moeksin dan Francisca, 2010).

Limbah padat pati aren mempunyai kadar gula 0,904%*b/v*, kadar gula tersebut dibawah kadar gula optimum untuk aktivitas stater ( Moksien dan Fransisca 2010) maka diperlukan tambahan glukosa agar dapat terfermentasi dengan baik. Molase ditambahkan untuk meningkatkan kadar gula dalam limbah padat pati aren. Molase mempunyai kadar gula total sebesar 41,493%*v/v*. Kadar gula total molase ini melebihi *range* kadar gula dalam proses fermentasi, sehingga perlu penyesuaian kadar gula yang ditambahkan ke dalam limbah padat pati aren sehingga mendapatkan kadar gula yang optimal untuk terjadinya fermentasi. Penelitian ini menggunakan range kadar glukosa sebanyak 14%.

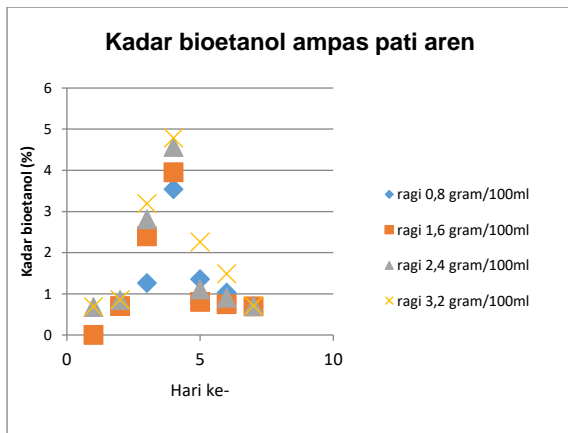
Proses hidrolisis glukosa dalam penelitian ini menggunakan campuran

kapang., sehingga dapat menghemat enzim yang digunakan . Enzim campuran kapang menghasilkan aktivitas enzim selulase yang tinggi. Hal ini juga akan meningkatkan kadar etanol. Menurut penelitian Kusuma (2010), konsentrasi enzim . tertentu diperlukan untuk mengubah semua substrat menjadi produk Hal ini berarti jumlah etanol optimal yang dihasilkan ditentukan oleh konsentrasi substrat (glukosa) yang diubah oleh enzim.

### **3.3 Pengaruh variasi massa ragi (*sacharomyces cerevisiae*) terhadap kadar etanol**

Berdasarkan analisis kadar etanol menggunakan *Gas Chromatography* diperoleh data pengaruh massa ragi roti terhadap kadar etanol dari limbah padat pati aren dengan metode SSF menggunakan campuran enzim selulase *Aspergillus niger* dan *Trichoderma sp* (1:2) seperti terlihat pada Gambar 1. Fermentasi dilakukan pada suhu ruang dengan pH 5.

Gambar 1 menunjukkan bahwa fermentasi etanol dari limbah padat pati aren menggunakan ragi dengan massa 0,8gram/100ml konsentrasi 0,27% sampai 3,2gram/100mL konsentrasi 1,02% menghasilkan kadar bioetanol dari 3,5407% menjadi 4,7868%.



**Gambar 1. Grafik kadar etanol limbah padat pati aren**

Data tersebut menunjukkan bahwa seiring bertambahnya jumlah ragi yang digunakan pada saat proses fermentasi maka akan menghasilkan kadar bioetanol yang tinggi pula. Menurut Rikana dan Adam (2008), jumlah ragi roti menunjukkan jumlah mikroba yang diberikan, sehingga kerja ragi dalam merubah glukosa menjadi etanol lebih optimal dengan semakin banyak maka kadar etanol semakin tinggi. Hasil penelitian ini sesuai dengan pernyataan Moeksin dan Francisca (2010), bahwa konsentrasi ragi optimal sebanyak 1% dari volume larutan. Jika konsentrasi ragi kurang dari kadar optimal akan menurunkan laju fermentasi karena sedikitnya massa ragi yang akan menguraikan glukosa menjadi etanol.

Hasil dari penelitian ini senada dengan penelitian Faizal dkk (2012), yang menggunakan variasi berat ragi pada proses fermentasi ampas kelapa dan didapatkan kadar etanol tertinggi pada berat ragi 15 gram dalam 500 gram ampas kelapa yaitu berat ragi paling banyak.

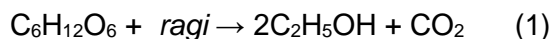
Penelitian Moeksin dan Francisca (2010), juga menghasilkan kadar etanol tertinggi pada berat ragi paling banyak yaitu 6 gram, dalam 300 mL larutan semakin besar massa ragi menyebabkan semakin tinggi etanol yang terbentuk. Penelitian Rahman & Setyawati(2012) menyebutkan bahwa pembuatan bioetanol dari kulit buah nenas menggunakan variasi massa *Saccharomyces cereviceae*, penambahan 30 gram *Saccaromyces cerevisiae*.pada sari kulit nenas dengan kadar glukosa awal 8,5325% mendapatkan kadar bioetanol tertinggi yaitu 3,965%

#### 3.4. Pengaruh waktu fermentasi terhadap kadar etanol

Hasil penelitian diperoleh data pengaruh waktu fermentasi terhadap kadar etanol dari limbah ampas aren. Berdasarkan analisis kadar etanol menggunakan alat *Gas Chromatography* dapat diketahui kadar etanol pada fermentasi hari ke 1 sampai hari ke 7 diperlihatkan pada Gambar 1.

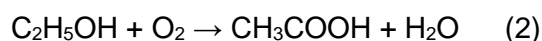
Kecepatan pertumbuhan sel *sacharomyces cerevisiae* pada hari ke1 hingga hari ke 4 terus mengalami peningkatan. Hal ini menandakan bahwa *sacharomyces cerevisiae* mengalami fase pertumbuhan eksponensial (fase log), sehingga mikroba merombak substrat menjadi nutrisi untuk pertumbuhannya dan merubah glukosa menjadi bioetanol. Kavanagh (2005), menyebutkan bahwa pada fase ini *Saccharomyces cerevisiae* ber produksi kembali dengan membentuk

tunas. Reaksi fermentasi alkohol adalah sebagai berikut :



Glukosa                      etanol

Setelah hari ke 4, sel *Saccharomyces cerevisiae* mengalami fase kematian (*death phase*) ditandai dengan mulai menurun jumlahnya, ini dikarenakan metabolit primer (bioetanol) yang dihasilkan bersifat toksik bagi *Saccharomyces cerevisiae* (Wahono dkk, 2011). Penurunan kadar bioetanol Pada hari ke 5 sampai 7 disebabkan ragi tidak dapat lagi memecah glukosa menjadi etanol, dan semakin berkurangnya glukosa dan nutrisi pada sampel tersebut. Hal ini sependapat dengan Moeksin dan Francisca (2010), bahwa kadar etanol yang terbentuk akan semakin tinggi hingga mencapai waktu tertentu (waktu maksimal) dan setelah waktu maksimal terlewati kadar etanol akan menurun. Menurunnya kadar etanol dimungkinkan terjadinya penguraian alkohol, . dan akan teroksidasi menjadi asam asetat dalam waktu yang lama. Menurut Prescott dan Dunn (1959), reaksi yang terjadi saat fermentasi etanol dalam jangka waktu yang lama adalah sebagai berikut:



Etanol                      Asam asetat

Terjadinya penurunan pH kemungkinan disebabkan terbentuknya asam-asam pada proses fermentasi antara lain asam asetat, asam piruvat, dan asam laktat, sedangkan asam butirat dan asam lemak lainnya hanya sedikit berpengaruh

dalam penurunan pH cairan (Wahono dkk, 2011). Media fermentasi cenderung semakin asam disebabkan amonia sebagai sumber Nitrogen oleh sel khamir diubah menjadi  $NH_4^+$ . Molekul  $NH_4^+$  akan bergabung ke dalam sel sebagai  $R-NH_3$ .  $H^+$  dalam proses ini tetap berada dalam media, sehingga semakin lama waktu fermentasi maka semakin rendah pH media (Judoamidjojo dkk., 1989). Derajat keasaman akan mempengaruhi laju fermentasi, sedangkan 4-4,5 merupakan pH optimum untuk pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* .(Budiyanto, 2003).

Berdasarkan hasil pengamatan bahwa waktu optimal *Saccharomyces cerevisiae* pada proses fermentasi adalah pada hari ke 4. Setelah lebih dari 4 hari dapat disimpulkan bahwa proses fermentasi telah selesai dilakukan karena sebagian *Saccharomyces cerevisiae* telah mati dan etanol berubah menjadi asam asetat dan asam-asam.

#### 4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, dapat disimpulkan .bahwa variasi massa *Saccharomyces cerevisiae* berpengaruh terhadap perolehan kadar bioetanol yaitu pada massa ragi terbesar 3,2 g/100ml menghasilkan kadar bioetanol paling tinggi 4,7868% dan waktu optimum pada hari ke 4.

#### 5. UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat Direktorat Jendral Penguatan Riset dan Pengembangan Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi yang telah mendanai riset ini pada penelitian Hibah Bersaing tahun 2016.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agustryanto, R., A. Fatmawati., M. Angelina., dan R. Monica. 2012. *Study enzymatis Hydrolysis of Dilute Acid Pretreated Coconut Husk. Bulletin of chemical Reaction Engineering and catalysis*. 7(2) : 137-141
- Budiyanto, M.A.K., 2003. Mikrobiologi terapan. UMM Press. Malang.
- Faizal, H.M, Zuhandri., I. Andrio. 2012. Pengaruh Massa Ragi dan Lama Fermentasi Terhadap Pembentukan Etanol dari Ampas Kelapa. Teknik Kimia. Universitas Sriwijaya.
- Fuadi, A., Abdillah, H., Achmad, alfian, EP, D., Setiawan, A. 2015. Pengaruh Kadar Glukosa dan Waktu Inokulasi Pada Optimasi Pembuatan Enzim Selulase Dengan Menggunakan Jamur *Aspergillus Niger* dan Substrat Kertas. Simp. Nas. RAPI XIV - 2015. Fakultas Teknik. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Hapsari, Mira A., Pramashinta, dan Alice. 2013. pembuatan bioetanol dari singkong karet (*manihot glaziovii*) untuk bahan bakar kompor rumah tangga sebagai upaya mempercepat konversi minyak tanah ke bahan bakar nabati. J. Teknol. Kim. Dan Ind. 2, 240–245.
- Harfinda, E. M. (2011). Pengaruh Kadar Air, pH, dan Waktu Fermentasi Terhadap Produksi Enzim Selulase oleh *Aspergillus niger* Pada Ampas Sagu. Universitas Tanjungpura, Pontianak, (Skripsi).
- Hidayat, M.R. 2013. Teknologi *Pretreatment* Bahan Lignoselulosa Dalam Proses Produksi Bioetanol. *BIOPROPAL INDUSTRI Vol. 4 No. 1. hal : 33-48*. Pontianak.
- Herawati, D.A, Wibowo. D.A.A., 2019. Pengaruh Penambahan Molase pada produksi Bioethanol dari Limbah Padat Industri Pati Aren, Jurnal Biomedika Vol 12, No 2. hal 197-204
- Judoamidjojo, R.M., E.G. Sa'id, dan L.Hartoto. 1989. *Biokonversi*. Bogor: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Dirjen Dikti, Pusat Antar Universitas Bioteknologi Institut Pertanian Bogor.
- Kavanagh, Kevin, 2005, *Fungi Biology and Applications*, John Willey & Sons Ltd, England.
- Kusuma, S. A. F. 2010. Enzim. (Karya Ilmiah). Fakultas Farmasi. Universitas Padjajaran. Bandung.
- Moeksin, R., dan Francisca, S. 2010. Pembuatan Etanol Dari Bengkuang Dengan Variasi Berat Ragi, Waktu, Dan Jenis Ragi. Jurnal Teknik Kimia, No. 2, Vol. 17. Universitas Sriwijaya
- Prescott, S. C. dan Dunn, G.G., 1959, *Industrial Microbiology*, Mc. Graw-Hill Book Company Inc, New York.
- Purnavita, S., Sriyana, H.Y., Hartini, S. 2014. Rekayasa Proses Produksi Asam Laktat Dari Limbah Ampas Pati Aren Sebagai Bahan Baku Poli Asam Laktat. Momentum 10.
- Puspawati., E. Kusumawardhani., D.A. Herawati. 2016. Pemanfaatan Limbah Pati Aren Menjadi Bioetanol Secara Enzimatis Metode Konvensional dan SSF (Simultaneous of Saccarification and Fermentation). Publikasi Ilmiah. Unuversitas Muhammadiyah Surakarta.
- Rahman, N.A., Setyawati, H. 2012. *Bioethanol From Pineapple Peel With Saccharomyces Cereviceae Mass And Fermentation Time Variation*. Tek. Kim. 6.



- Rikana, H., dan Adam, R. 2008. Pembuatan Bioethanol Dari Singkong Secara Fermentasi Menggunakan Ragi Tape. Jurusan Teknik Kimia. Fakultas Teknik. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Safaria, S. 2013. *Efektivitas campuran enzim selulase dari Aspergillus niger dan Trichoderma reesei dalam menghidrolisis Substrat sabut kelapa*. ISSN: 2303-1077, 2(1) : 46-51
- Singhania, R. R., Sukumaran, R. K., Pillai, A., Prema, P., Szakacs, G., & Pandey, A. (2006). *Solid State Fermentation of Lignocellulosic Substrat for Cellulase Production by Trichoderma reesei NRRL 11460*. *Indian J. Biotechnol*, 5: 332-336.
- Singh, A., & Bishnoi, N. R. 2012. Enzymatic Hydrolysis Optimization Of Microwave Alkali Pretreated Wheat Straw. *Bioresource Technology* , 108: 95--101.
- Sukardati, S., Kholisoh, D. S., Prasetyo, H., Santoso, P. W., & Mursini, P. W. (2010). Produksi Gula Reduksi dari Sabut Kelapa Menggunakan Jamur *Trichoderma reesei*. Yogyakarta: Teknik Kimia, UPN Yogyakarta, (Tesis).
- Szendefy, J., Szakacs, G., & Christopher, L. (2006). *Potential of solid-state Fermentation Enzymes of Aspergillus in Biobleaching of Paper Pulp*. *Enzymes and Microbial Technology* 39 1354-1360.
- Wahono, S. K., E. Damayanti, V.T., Rosyida dan E.I., Sadyastuti. 2011. Laju Pertumbuhan *Saccharomyces Cerevisiae* Pada Proses Fermentasi Pembentukan Bioetanol Dari Biji Sorgum (*Sorghum bicolor* L.). Seminar Rekayasa Kimia dan Proses, ISSN : 1411-4216. Jurusan Teknik Kimia. Fakultas Teknik. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Wang, Z., Keshwani, D.R., Redding, A.P., dan Cheng, J.J., 2010. *Sodium hydroxide pretreatment and enzymatic hydrolysis of coastal Bermuda grass*. *BioresourceTechnology*. 101, pp.3583-3585.
- Zely., F. D. 2014. Pengaruh Waktu dan Kadar *Saccharomyces Cerevisiae* Terhadap Produksi Etanol Dari Serabut Kelapa Pada Proses Sakarifikasi dan Fermentasi Simultan Dengan Enzim Selulase. Pendidikan Kimia. Universitas Bengkulu..