

**PROSES SAKARIFIKASI DAN FERMENTASI TERPISAH PADA PRODUKSI
BIOETANOL DARI BAHAN BAKU RUMPUT LAUT *Sargassum* sp.**

*Saccharification and Fermentation Process Separated at Bioethanol Production from Raw
Seaweed *Sargassum* sp.*

Aulia Rachmayanti¹⁾, R.Marwita Sari¹⁾, Aidil Fadli Ilhamdy^{1*)}

*¹⁾Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas
Maritim Raja Ali*

Korespondensi : aidilfadlilhamdy@gmail.com

Diterima Oktober 2018; Disetujui Februari 2019

ABSTRACT

*The purpose of this study to obtain the best reducing sugars using acid solvent H_2SO_4 and HCl to be used as a substrate in fermentation processes to produce bioethanol. The research phase includes the preparation of raw materials *Sargassum* sp., the processing of acid hydrolysis used a solvent H_2SO_4 and HCl. Hydrolysis then fermented for five days for the production of ethanol. Hidrolisis using acid solvent H_2SO_4 obtained the best acid concentration of 2% with the result of reducing sugars 82,62 g/L, whereas using HCl acid solvent obtained the best acid concentration of 2% with the result of reducing sugars 74,79 g/L. Fermented for 120 hours to produce ethanol each H_2SO_4 2 ml and 3 ml HCl.*

Keywords: ethanol, fermentation, hydrolysis, H_2SO_4 , HCl.

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini untuk memperoleh gula pereduksi terbaik dengan menggunakan pelarut asam H_2SO_4 dan HCl yang akan digunakan sebagai substrat dalam proses fermentasi untuk memproduksi bioetanol. Tahap penelitian meliputi persiapan bahan baku *Sargassum* sp., proses hidrolisis dengan menggunakan pelarut asam H_2SO_4 dan HCl. Hasil hidrolisis kemudian difermentasi selama lima hari untuk produksi etanol. Hidrolisis asam menggunakan pelarut asam H_2SO_4 diperoleh konsentrasi asam terbaik yaitu 2% dengan hasil gula pereduksi 82,62 g/L, sedangkan menggunakan pelarut asam HCl diperoleh konsentrasi asam terbaik yaitu 2% dengan hasil gula pereduksi 74,79 g/L. Hasil fermentasi selama 120 jam menghasilkan etanol masing-masing H_2SO_4 2 ml dan HCl 3 ml.

Kata Kunci: etanol, fermentasi, hidrolisis, H_2SO_4 , HCl.

PENDAHULUAN

Kebutuhan manusia akan energi terus meningkat dan akan terus meningkat setiap tahun, terkait dengan perkembangan kegiatan ekonomi dan pertumbuhan jumlah penduduk. Hal tersebut ditunjukkan oleh semakin bertambah output serta beragam aktivitas ekonomi, sehingga peningkatan kebutuhan energi adalah suatu hal yang tidak bisa dihindari. Cadangan minyak bumi di Indonesia sebesar 3,7 milyar barrel, (KESDM 2014). Peningkatan penggunaan bahan bakar minyak di Indonesia berkembang secara pesat seiring dengan pertumbuhan ekonomi yang pesat pula. Hal ini menjadi pertimbangan manusia dalam mencari alternatif untuk menghasilkan bahan bakar yang diperoleh selain dari minyak bumi yang semakin hari semakin berkurang, (Jeckson *et al.* 2014).

Seiring dengan bertambahnya penduduk Indonesia yaitu 255.461.686 juta jiwa dan pertumbuhan ekonomi di Indonesia, serta menipisnya cadangan minyak bumi. Maka diperlukan energi alternatif untuk menunjang kebutuhan akan energi. Alternatif penyediaan energi adalah bioetanol, bioetanol merupakan Bahan Bakar Nabati (BBN) yang berasal dari biomassa yang mengandung pati, gula, dan selulosa yang disederhanakan, kemudian dilanjutkan ke proses fermentasi. Bioetanol dipilih karena mengandung oksigen 35% sehingga dapat meningkatkan efisiensi pembakaran. Pemanfaatan bioetanol dalam kehidupan sehari-hari lebih luas dibandingkan dengan biodiesel maupun biogas, seperti sebagai campuran bahan bakar, (Wiratmaja 2011).

Bioetanol merupakan salah satu jenis biofuel (bahan bakar cair dari pengolahan tumbuhan) di samping Biodiesel. Bioetanol adalah etanol yang dihasilkan dari fermentasi glukosa yang dilanjutkan dengan proses pemurnian. Bioetanol merupakan bahan bakar dari minyak nabati yang memiliki sifat menyerupai minyak premium. Bioetanol memiliki keunggulan dibandingkan bahan bakar fosil, diantaranya dapat diperbaharui, memiliki nilai oktan yang lebih tinggi dan bersifat ramah lingkungan. Sifat fisika dari etanol adalah bersifat polar disebabkan karena gugus hidroksil (ROH). Seperti air, etanol dapat membentuk ikatan hidrogen. Karena adanya ikatan hidrogen ini maka etanol memiliki titik didih yang lebih tinggi dari senyawa lain yang memiliki berat formula yang sama. Etanol juga memiliki nilai pH sebagai asam lemah. Etanol mudah menguap meskipun pada suhu rendah, mudah terbakar dan mendidih pada suhu 78°C, (Muin *et al.* 2015).

Rumput laut merupakan salah satu sumber devisa negara dan sumber pendapatan bagi masyarakat pesisir. Selain dapat digunakan sebagai bahan makanan, minuman dan obat-obatan, beberapa hasil olahan rumput laut seperti agar-agar, alginat dan karaginan merupakan senyawa yang cukup penting dalam industri serta kandungan karbohidrat dan serat kasar yang terdapat dalam rumput laut berpotensi untuk diproses menjadi bioetanol. Secara umum rumput laut mengandung polisakarida seperti selulosa, alganate dan monosakarida seperti glukosa, fruktosa dan xilosa. Komposisi tersebut menunjukkan potensi rumput laut sebagai bahan baku etanol, (Haslianti *et al.* 2016).

Rumput laut yang dapat digunakan antara lain dari jenis *Sargassum* sp. *Sargassum* sp mengandung karbohidrat (19,06%), protein (5,53%), lemak (0,74%), air (11,71%), abu (34,57%), serat kasar (28,39%). Selain itu juga mengandung polisakarida lain yaitu selulosa yang berkisar antara 23,97-35,22%, (Saputra *et al.* 2012). Kandungan selulosa yang tinggi pada *Sargassum* sp. merupakan salah satu potensi untuk dijadikan sebagai bahan baku untuk produksi bioetanol yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber energi terbarukan (*bioenergy*), (Yunizal 2004).

Fermentasi pada produksi bioetanol dimaksudkan untuk mengubah glukosa menjadi etanol (alkohol) dengan menggunakan *yeast/ragi/khamir*. Khamir yang digunakan adalah *Shaccaromyces cerevisiae*. Khamir jenis ini merupakan spesies khamir yang memiliki daya konversi gula menjadi etanol sangat tinggi. *Shaccaromyces cerevisiae* memerlukan suhu 30°C dan pH 4,0-5,5 agar dapat tumbuh dengan baik, (Sassner *et al.* 2008).

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan utama yang digunakan pada penelitian ini adalah rumput laut *Sargassum* sp. yang diperoleh dari Pantai Trikora Kabupaten Bintan, Tanjungpinang. Mikroorganisme yang digunakan untuk fermentasi etanol adalah *Saccharomyces cerevisiae* dalam bentuk *dry baker yeast* komersial. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini antara lain natrium hidroksida (NaOH), asam sulfat (H₂SO₄), asam klorida (HCl), alkohol

70%, akuades, asam 3,5 dinitrolisilat, Na-K Tatrak, fenol, Na-Metabisulfat.

Proses Hidrolisis

Proses hidrolisis dilakukan secara asam. Hidrolisis dilakukan dengan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C, 15 menit. Sebanyak 10% (b/v) sampel digunakan dalam larutan H₂SO₄ dan HCl. Untuk penentuan perlakuan hidrolisis asam yang digunakan, konsentrasi asam yang digunakan adalah 0%, 1%, 2%, dan 3% (v/v).

Analisis gula pereduksi dilakukan dengan mencampurkan sebanyak 1 mL hidrolisat dengan 3 mL larutan DNS dan dididihkan selama 5 menit (Miller 1959). Perubahan larutan pada hidrolisat selanjutnya diukur dengan menggunakan *Spektrofotometer Thermo Spektronic Visible Genesis 20* pada panjang gelombang 550 nm. Percobaan ini dilakukan dengan dua kali ulangan. Selanjutnya dilakukan analisis lebih lanjut untuk mendapatkan hasil yang terbaik.

Fermentasi

Persiapan Starter (Azizah *et al.* 2012)

Starter yang digunakan adalah ragi roti merk fermipan yang ditumbuhkan dalam substrat pertumbuhan. Substrat pertumbuhan terdiri dari 100 mL aquades yang ditambahkan 10 gram gula pasir (konsentrasi gula 10%) yang disiapkan dalam gelas beker. Setelah semua bahan dimasukkan, kemudian dihomogenkan terlebih dahulu dengan *magnetic stirrer* kemudian disterilisasi dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah substrat dingin suhu 30-33°C, selanjutnya diinkubasi pada suhu 30°C selama 8 jam.

Inokulasi Starter

Setelah *starter* diinkubasi selama 8 jam, maka *starter* tersebut siap untuk diinokulasikan di dalam substrat fermentasi. Inokulasi *starter* baik dilakukan setelah *starter* diinkubasi selama 8 jam. Hal ini didasarkan pada asumsi bahwa 8 jam, *Saccharomyces cerevisiae* telah mengakhiri fase logaritmik. Akhir fase logaritmik ditandai dengan adanya perlambatan pertumbuhan dan peningkatan kemampuan metabolisme. *Starter* dimasukkan dalam medium fermentasi pada kondisi yang aseptis. Jumlah *starter* yang dimasukkan adalah sebanyak 10%, (Tipteerasri *et al.* 2009).

Proses Fermentasi

Larutan substrat hasil hidrolisis yang telah di saring dan diambil filtratnya, kemudian dilakukan pengenceran 200 kali. Sebanyak 0,5 ml hidrolisat ditambahkan 100 ml akuades. Selanjutnya larutan dilakukan pengukuran pH hingga 5-6. Kemudian dilakukan *autoclave* 121°C selama 15 menit terlebih dahulu. Setelah sejumlah 10% *starter* diinokulasikan ke dalam substrat fermentasi dalam keadaan yang aseptis maka proses selanjutnya adalah melakukan fermentasi substrat yang telah diinokulasi dengan *starter*, proses fermentasi dilaksanakan selama 120 jam.

Kadar Etanol

Alat yang digunakan untuk mengukur kadar alkohol adalah alkoholmeter. Langkah-langkah pengukuran menggunakan alkoholmeter adalah dengan memasukkan destilat sebanyak 100 ml ke dalam gelas ukur, kemudian alkoholmeter dicelupkan ke dalam

destilat. Batas yang tercelup pada permukaan destilat menunjukkan kadar alkohol pada sampel yang diuji, (Wijaya *et al.* 2012).

Rancangan Percobaan

Data yang diperoleh dari penelitian dianalisis dengan menggunakan *software* SPSS 21 dengan model Rancangan Acak Lengkap dengan 2 kali ulangan. Model rancangan yang digunakan adalah sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

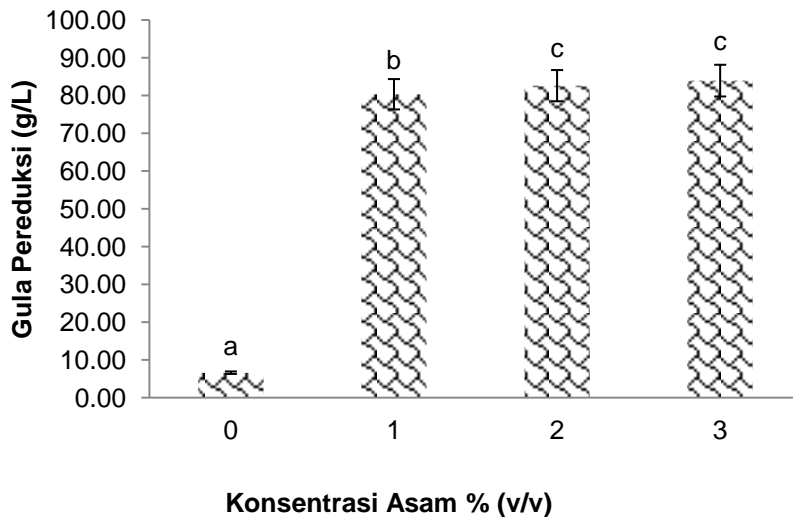
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hidrolisis Asam

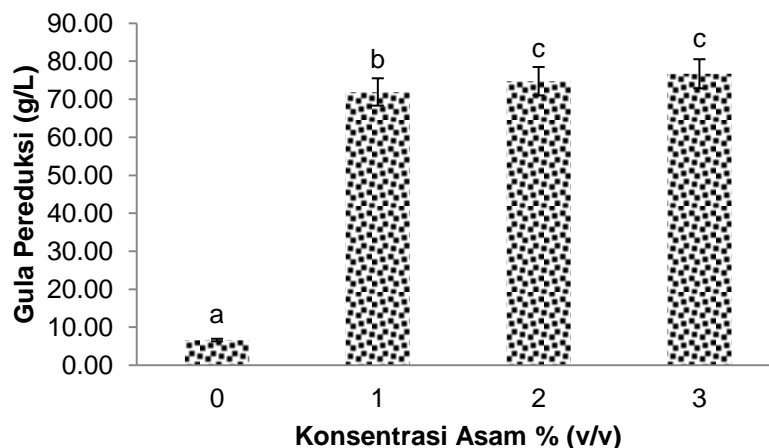
Proses konversi biomassa lignoselulosa menjadi etanol pada dasarnya terdiri dari tiga tahap, yaitu atau perlakuan pendahuluan, sakarifikasi atau hidrolisis selulosa menjadi gula-gula sederhana, dan fermentasi gula tersebut menjadi etanol, (Hermiati *et al.* 2014). Hidrolisis adalah pengubahan atau konversi gula kompleks menjadi gula sederhana. Jenis hidrolisis yang digunakan dalam penelitian ini adalah hidrolisis secara asam. Sebelum dilakukan proses fermentasi, maka terlebih dahulu dilakukan penentuan perlakuan hidrolisis asam yang akan digunakan, (Kartini dan Pandebesie 2016). Hidrolisis dilakukan dengan tujuan untuk menyediakan glukosa yang akan dipergunakan sebagai substrat *S. cerevisiae* dalam proses fermentasi. Pada penentuan hidrolisis asam, untuk asam yang digunakan adalah H₂SO₄ dan HCl. Penelitian ini dilakukan dengan memvariasikan konsentrasi asam yang digunakan pada proses hidrolisis asam untuk mengetahui konsentrasi asam terbaik dalam

menghasilkan gula pereduksi yang optimal. Konsentrasi asam yang dipilih adalah 3 taraf yakni 1%, 2%, dan 3%

(v/v), dengan suhu 121°C selama 15 menit.



Gambar 1. Diagram Hidrolisis Rumput Laut *Sargassum* sp. menggunakan H_2SO_4



Gambar 2. Hidrolisis Rumput Laut *Sargassum* sp. menggunakan HCl

Pada Gambar 1, terlihat bahwa dari berbagai konsentrasi asam menggunakan bahan baku *Sargassum* sp. 10 g dalam 100 ml larutan H_2SO_4 dihasilkan total gula pereduksi tertinggi pada konsentrasi asam 3% yakni gula pereduksi sebesar 83,96 g/L. Hasil analisis ragam terhadap total gula pereduksi menunjukkan perbedaan nyata antar perlakuan. Konsentrasi asam 2% merupakan konsentrasi

terbaik ($p < 0,05$) pada hidrolisis asam H_2SO_4 .

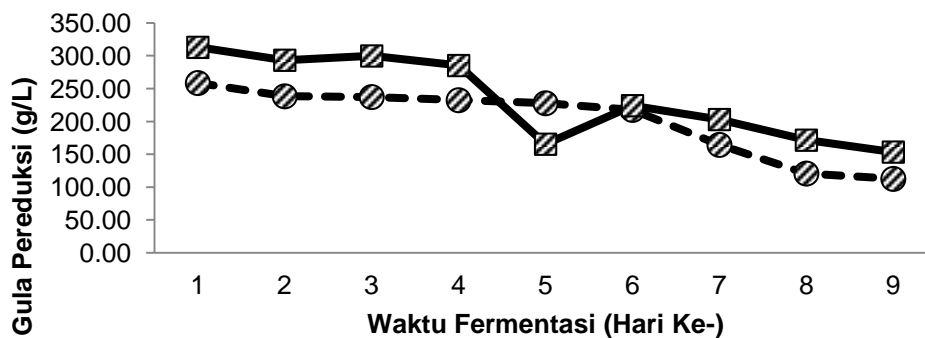
Pada Gambar 2, terlihat bahwa dari berbagai konsentrasi asam menggunakan bahan baku *Sargassum* sp. 10 g dalam 100 ml larutan HCl dihasilkan total gula pereduksi tertinggi pada konsentrasi asam 3% yakni gula pereduksi sebesar 76,73 g/L. Hasil analisis ragam terhadap total gula pereduksi menunjukkan perbedaan

nyata antar perlakuan. Konsentrasi asam 2% merupakan konsentrasi terbaik ($p < 0,05$) pada hidrolisis asam HCl. Oleh karena itu, dipilih konsentrasi asam 2% pada perlakuan asam H_2SO_4 dan HCl untuk hidrolisis asam yang nantinya hidrolisat tersebut akan digunakan sebagai substrat dalam proses fermentasi.

Fermentasi

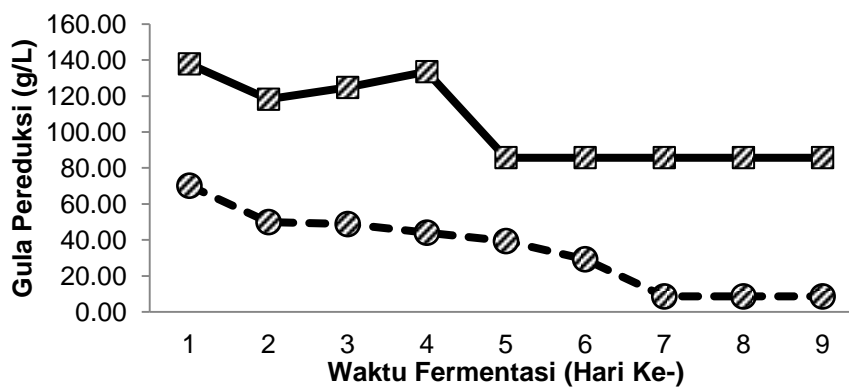
Pembuatan bioetanol pada umumnya dilakukan melalui proses fermentasi. Proses fermentasi merupakan proses pembebasan energi tanpa adanya oksigen, sehingga sering disebut respirasi anaerob. Pada fermentasi, beberapa mikroba peristiwa pembebasan energi terlaksana karena asam piruvat diubah menjadi asam asetat dan CO_2 kemudian selanjutnya

asam asetat diubah menjadi alkohol, (Saputra *et al.* 2012). Khamir merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi produksi etanol. Pertumbuhan khamir dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan faktor nutrisi, (Putri *et al.* 2016). Secara umum, fermentasi dapat diartikan sebagai proses untuk mengkonversi gula menjadi etanol. Proses fermentasi substrat yang digunakan adalah filtrat hasil hidrolisis *Sargassum* sp. menggunakan larutan asam H_2SO_4 dan HCl. Jenis khamir yang digunakan pada penelitian ini adalah *Saccharomyces cerevisiae* dalam bentuk fermipan. Selama proses fermentasi dilakukan sampling setiap 24 jam, hasil sampling dianalisa kadar gula pereduksi Miller (1959) dan pH.



Keterangan : -●- H_2SO_4 -■- HCl

Gambar 3. Total Gula Pereduksi Selama Proses Fermentasi



Keterangan : -●- H_2SO_4 -■- HCl

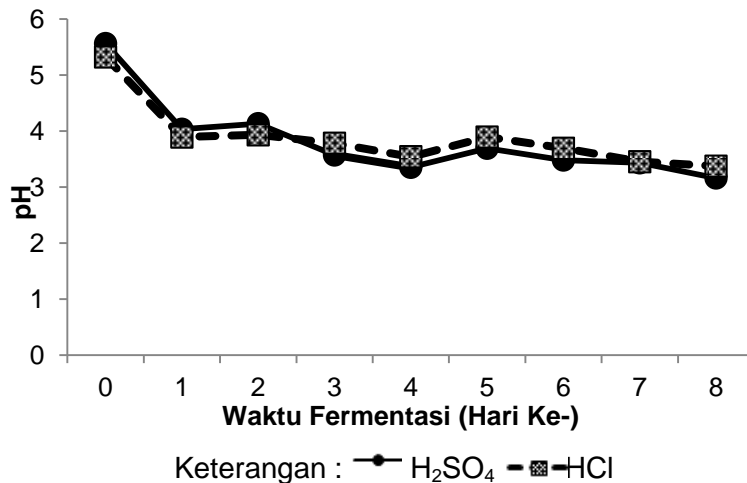
Gambar 4. Estimasi Penurunan Gula Hidrolisat *Sargassum* sp. dengan Pelarut Asam Selama Proses Fermentasi Fermentasi

Gula reduksi adalah golongan gula yang dapat mereduksi senyawa-senyawa penerima

elektron, atau gula yang dapat dioksidasi oleh agen pengoksidasi karena agen pengoksidasi berkurang dalam reaksi. Oleh karena itu, semua monosakarida (glukosa, fruktosa, galaktosa) dan disakarida (laktosa, maltosa), kecuali sukrosa dan pati (polisakarida), termasuk sebagai gula pereduksi, (Astuti dan Rustanti 2014).

Pada Gambar 4, terlihat bahwa selama proses fermentasi terjadi penurunan gula pereduksi untuk dua jenis larutan asam yaitu H_2SO_4 dan HCl. Konsentrasi gula sederhana pada hidrolisat dua jenis larutan asam pada awal fermentasi adalah 70,13 g/L (H_2SO_4) dan 137,89 g/L (HCl) dan terus menurun. Pada hari pertama penurunan gula belum signifikan karena *Saccharomyces cerevisiae*

masih beradaptasi. Pada hari ke-5 penurunan gula menjadi 29,24 g/L untuk larutan H_2SO_4 , sedangkan pada perlakuan larutan asam HCl gula pereduksi menurun hingga hari ke-3 yaitu 133,56 g/L. Menurunnya jumlah substrat dalam cairan fermentasi ini disebabkan oleh dimanfaatkannya substrat oleh *Saccharomyces cerevisiae* selama fermentasi untuk pertumbuhan dan produksi alkohol. Akan tetapi, sebenarnya masih tersedia kandungan gula dalam substrat yang tidak habis dikonsumsi. Semakin banyak gula reduksi yang dapat dimanfaatkan oleh *Saccharomyces cerevisiae* maka konsentrasi etanol yang dihasilkan semakin tinggi, (Wignyanto *et al.* 2001).



Gambar 5. pH Selama Proses Fermentasi

Keasaman atau pH medium merupakan salah satu faktor penting yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme dan pembentukan produk dalam proses fermentasi karena setiap mikroorganisme mempunyai kisaran pH optimal, (Wignyanto *et al.* 2001). Pada Gambar 10 terlihat bahwa,

selama proses fermentasi terjadi perubahan pH pada hari pertama hingga hari terakhir fermentasi. Penurunan pH terjadi karena diduga konsumsi glukosa melalui proses glikolisis yang menghasilkan asam organik seperti asam piruvat belum terkonversi semua menjadi etanol.

Pada penelitian ini pH awal fermentasi pada pelarut asam H₂SO₄ adalah 5,56 sedangkan pH awal fermentasi pada pelarut asam HCl adalah 5,31. Menurut Wignyanto *et al.* (2001), bahwa produksi bioetanol oleh *Saccharomyces cerevisiae* yang paling optimum dapat dicapai dengan kondisi pH 4,2-6,5.

Selama proses fermentasi, mikroba akan mengkonversi sumber karbon dari substrat menjadi produk, baik produk utama yaitu etanol maupun produk

sampingan berupa asam-asam organik seperti asam piruvat melalui proses glikolisis. Gula reduksi merupakan faktor penting bagi sel *Saccharomyces cerevisiae* sebagai sumber energi untuk melakukan metabolisme yang pada akhirnya akan berpengaruh terhadap konsentrasi etanol yang dihasilkan, (Widyanti dan Moehadi 2016). Hasil analisa terhadap kadar etanol yang dihasilkan oleh proses fermentasi ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Analisa Kadar Etanol Hasil Fermentasi

Parameter	Kadar Etanol (ml)
H ₂ SO ₄	2
HCl	3

Bioetanol dihasilkan dari gula yang merupakan hasil aktivitas fermentasi sel khamir. Khamir yang baik digunakan untuk menghasilkan bioetanol adalah dari genus *Saccharomyces*, (Nasrun *et al.* 2015). Pada Tabel 1, dapat dilihat bahwa fermentasi menggunakan pelarut asam H₂SO₄ dengan biomassa 10 g lama fermentasi 5 hari menghasilkan kadar etanol 2 ml (v/v) sedangkan fermentasi menggunakan pelarut asam HCl dengan biomassa 10 g lama fermentasi 5 menghasilkan kadar etanol 3ml (v/v). Hal ini di duga *Saccharomyces cerevisiae* tahan terhadap kadar gula yang cukup tinggi dan tetap aktif melakukan fermentasi pada suhu 4-32°C, (Febriani *et al.* 2014). Pada pengukuran kadar etanol setelah fermentasi dengan *Saccharomyces cerevisiae* terlihat kadar etanol tertinggi pada perlakuan asam HCl yaitu 3ml (v/v), hal ini disebabkan karna *Saccharomyces cerevisiae* mampu mengubah gula reduksi menjadi alkohol dengan baik. Penggunaan *Saccharomyces cerevisiae* dapat

mengurai glukosa menjadi piruvat dengan bantuan enzim piruvat dekarboksilase yang direduksi menjadi bioetanol melalui peristiwa glikoisis. Efisiensi proses fermentasi yang rendah dalam konversi gula sederhana oleh *Saccharomyces cerevisiae Sargassum* sp. menjadi etanol diduga disebabkan tingginya konsentrasi gula dan proses pemanasan pada saat sterilisasi hidrolisat. Pada penelitian Sadimo *et al.* (2016), kadar bioetanol yang dihasilkan melalui hidrolisis asam HCl pada fermentasi dengan menggunakan ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*) adalah 7,716%. Pada penelitian Wiratmaja (2011), kadar etanol yang dihasilkan adalah 15,5% dengan fermentasi selama 6 hari menggunakan rumput laut *Eucheuma cottonii*.

KESIMPULAN

Sargassum sp. perlu dihidrolisis sebelum digunakan sebagai bahan baku untuk fermentasi etanol. Hasil terbaik dari berbagai perlakuan

hidrolisis adalah menggunakan hidrolisis asam H_2SO_4 dengan konsentrasi asam 2% menghasilkan gula pereduksi $82,62 \pm 0,16$ (g/L) sedangkan hidrolisis asam HCl dengan konsentrasi asam 2% menghasilkan gula pereduksi $74,79 \pm 0,08$ (g/L). Perbedaan hasil tersebut diduga terjadi karena pengaruh perbedaan jenis pelarut asam. Akan tetapi, dari hasil hidrolisis dari masing-masing pelarut asam terlihat adanya peningkatan kadar gula. Fermentasi dengan pelarut asam H_2SO_4 menghasilkan kadar etanol sebesar 2ml, sedangkan fermentasi dengan pelarut asam HCl menghasilkan kadar etanol sebesar 3ml.

DAFTAR PUSTAKA

- Astuti, I.M., Rustanti, N. 2014. Kadar Protein Gula Total Total Padatan Viskositas Nila pH Es Krim yang Disubstitusi Inulin Umbi Gemila (*Dioscorea esculenta*). Jurnal. Journal of Nutrition College 3(3): 331-336.
- Azizah, N., Al-Baarri, A.N., Mulyani, S. 2012. Pengaruh lama fermentasi terhadap kadar alkohol, Ph, dan produksi gas pada proses fermentasi bioetanol dari whey dengan substitusi kulit nanas. Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan 1(2):72-77.
- Febriani, N.I., Ridlo, A., Susanto, A.B. 2014. Potensi *Yeast* dalam Fementasi Alginofit *Sargassum polycystum* C.A Agardh dengan Hidrolisis Asam Sulfat Untuk Pembuatan Bioetanol. Journal Of Marine Research 2(3):91-98.
- Haslianti., Purnama, F.M., Piliانا, O.W. 2016. Potensi Industri Pengolahan Rumput Laut Menjadi Bioetanol. Jurnal Bisnis Perikanan. 3(1):89-96.
- Hermiati, E., Risanto, L., Anita, H.S., Aristiawan, Y., Sudiyani, Y., Hanafi, A., Abimanyu, H. 2014. Sakarifikasi Serat Tandan Kosong dan Pelepah Kelapa Sawit Setelah *Pretreatment* Menggunakan Kultur Campuran Jamur Pelapuk Putih *Pbanerocbaete cbyso sporium* dan *Trametes versicolor*. Jurnal Penelitian Hasil Hutan 32(2):111-122.
- Jeckson, E., Ahmad, A., Muria, R.S. 2014. Pengaruh Laju Pengadukan Dalam Pembuatan Bioetanol Dari Limbah Serabut Buah Sawit Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*. Jurnal Jom FTEKNIK 1(2):1-8.
- Kartini, A.M., Pendebesie, E.S. 2016. Produksi Bioetanol dari Batang *Sorghum biocolor (L.) Moench* dengan *S. cerevisiae* dan Konsorsium *S. Cerevisiae-Pichia stipitis*. Jurnal Purifikasi. 16(2):119-129.
- KESDM. 2014. Kementerian Energi dan Sumber Daya Mineral. Direktorat Jendral Minyak dan Gas. Statistik minyak bumi. Jakarta.
- Miller, G.L., Blum, R., Glennon, W.E., Burton, A.L. 1959. Use of finitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Analitical Chemistry Journal 31(3):426-428.
- Muin, R., Hakim, I., Febriyansyah, A. 2015. Pengaruh Waktu Fermentasi dan Konsentrasi Enzim Terhadap Kadar Bioetanol Dalam Proses Fermentasi Nasi Aking Sebagai Substrat Organik. Jurnal Teknik Kimia. 3(21):59-69.
- Nasrun., Jalahuddin., Mahfuddhah. 2015. Pengaruh Jumlah Ragi dan Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Bioetanol yang Dihasilkan dari

- Fermentasi Kulit Pepaya. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal* 4(2):1-10.
- Putri, A.S., Restuhadi, F., Rahmayuni. 2016. Hubungan Antara Kadar Gula Reduksi Jumlah Sel Mikroba dan Etanol Dalam Produksi Bioetanol DDari Fermentasi Air Kelapa Dengan Penambahan Urea. *Jurnal Jom FAPERTA* 3(2):1-8.
- Sadimo, M.M., Said, I., Mustapa, K. 2016. Pembuatan Bioetanol dari Pati Umbi Talas (*Colocasia [L] schot*) Melalui Hidrolisis Asam dan Fermentasi. *Jurnal Akademika Kimia* 5(2):79-84.
- Saputra, D.R., Ridio., Widiowati, I. 2012. Kajian Rumput Laut *Sargassum duplicatum* J.G. Agardh Sebagai Penghasil Bioetanol dengan Proses Hidrolisis Asam dan Fermentasi. *Journal of Marine Research* 1(2):145-151.
- Sassner, P., Martensson, C.G., Galbe, M., Zacchi, G. 2008. Steam Pretreatment of H₂SO₄ impregnated salix for production of bioetanol. *Journal Biores Technol.* 99:137-145.
- Tipteerasri, T., Hanmoungjai, W., Hanmoungjai, P. 2009. Ethanol Production From Crude Whey by *Kluyveromyces marxianus* TISTR 5695. Chaing Mai University. Thailand.
- Widyanti, E.M., Moehadi, B.I. 2016. Proses Pembuatan Etanol dari Gula Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* Amobil. *Metana.* 12(2):31-38.
- Wignyanto, Suarjono, dan Novita. 2001. Pengaruh konsentrasi gula reduksi sari hari nanas dan inokulum *Saccharomyces cerevisiae* pada fermentasi etanol. *Jurnal Teknologi Pertanian* 2(1):68-77.
- Wijaya, I.M.A.S., Arthawan, I.G.K.A., Sari, A.N. 2012. Potensi Nira Kelapa Sebagai Bahan Baku Etanol. *Jurnal Bumi Lestari* 12(1):85-92.
- Wiratmaja, I.G., Kusuma, I.G.B.W., Winaya, I.N.S. 2011. Pembuatan Etanol Generasi Kedua dengan Memanfaatkan Limbah Rumput Laut *Eucheuma cottoni* Sebagai Bahan Baku. *Jurnal Ilmiah Teknik Mesin* 5(1):75-84.
- Yunizal. 2004. *Teknologi Pengolahan Alginat. Pusat Riset Pengolahan Produk dan Sosial Ekonomi Kelautan dan Perikanan.* Jakarta.