

Produksi Bioetanol Generasi Kedua dari Pelepah Kelapa Sawit dengan Variasi Pretreatment H₂SO₄ dan Waktu Fermentasi

Adrianto Ahmad¹⁾, Idral Amri²⁾, Rahmah Nabilah³⁾

¹⁾Dosen Jurusan Teknik Kimia ²⁾ Mahasiswa Jurusan Teknik Kimia

Fakultas Teknik, Universitas Riau

Kampus Binawidya Km 12,5 Simpang Baru Panam, Pekanbaru 28293

adri@unri.ac.id

ABSTRAK

Indonesia merupakan negara produsen dan eksportir kelapa sawit terbesar di dunia. Seiring semakin luasnya lahan perkebunan sawit, maka semakin banyak industri pengolahan sawit yang mengakibatkan jumlah limbah yang dihasilkan juga besar. Indonesia menghasilkan limbah kelapa sawit sebesar 66.750 juta pelepah atau sekitar 300 juta ton/tahun. Dengan melimpahnya pelepah kelapa sawit dapat dimanfaatkan sebagai sumber energi alternatif terbaru yaitu bioetanol. Tujuan penelitian ini yaitu mensintesis bioetanol dari pelepah sawit, menentukan pengaruh konsentrasi H₂SO₄ pada proses hidrolisis dan menentukan waktu optimum produksi bioetanol dari bahan baku pelepah kelapa dengan metode *separate hydrolysis and fermentation* (SHF). Tahapan penelitian ini yaitu pretreatment basa menggunakan larutan KOH yang diperoleh dari ekstrak abu Tandan Kosong Sawit, selanjutnya proses pretreatment oksidatif menggunakan larutan H₂O₂ 3%. Kemudian proses hidrolisis dengan variasi H₂SO₄ yaitu 1,5 M, 2 M, dan 2,5 M selama 3 jam pada suhu 100°C dan dilanjutkan dengan proses fermentasi untuk menghasilkan bioetanol dengan waktu fermentasi yaitu 24 jam, 48 jam, 72 jam, 96 jam, dan 120 jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada proses hidrolisis dihasilkan konsentrasi gula maksimum sebesar 161,98 gr/L. Konsentrasi terbaik H₂SO₄ pada penelitian ini yaitu 2 M dan waktu fermentasi terbaik 96 jam dengan kadar bioetanol yang diperoleh sebesar 7% atau 55,25 g/L.

Kata kunci : bioetanol, fermentasi, hidrolisis, Pelepah kelapa sawit, *saccharomyces cerevisiae*

1. Pendahuluan

Kebutuhan energi saat ini masih banyak di *supply* dari bahan bakar yang berasal dari fosil. Kebutuhan energi dunia akan terus meningkat sejalan dengan pertambahan penduduk dan pertumbuhan ekonomi. Peningkatan kebutuhan energi terutama bahan bakar fosil tersebut telah menyebabkan penurunan cadangan minyak dunia sehingga bahan bakar fosil ini menjadi semakin langka dan harganya pun meningkat secara signifikan (Sinaga, 2012). Di sisi lain, perkembangan industri berbahan bakar fosil telah menyebabkan dampak lingkungan dan pemanasan global. Salah satu cara mengurangi krisis energi dan dampak yang diakibatkan oleh penggunaan energi berbahan baku fosil adalah pengembangan energi alternatif baru seperti bioetanol. Selain dapat diperbarui, bioetanol ini juga dapat mengurangi emisi akibat pembuangan gas-gas rumah kaca sehingga dapat mengurangi dampak pemanasan global (Smith, 2008). Sumber energi alternatif sudah saatnya untuk dikembangkan di Indonesia, salah satunya mengolah biomassa dari limbah perkebunan dan pertanian menjadi sumber energi bahan bakar cair yang terbarukan.

Negera tropis seperti Indonesia umumnya mempunyai biomassa yang berlimpah, kira-kira 250 milyar ton/tahun dihasilkan dari biomassa hutan dan pertanian. Limbah pertanian secara umum berasal dari perkebunan kelapa sawit, tebu, kelapa serta sisa panen dan lain-lainnya yang mencapai kira-kira 40 milyar ton/tahun (Suwono, 2004). Dalam satu hektar akan dihasilkan sekitar 6,3 ton pelepah setiap tahunnya. Pemanfaatan pelepah sawit saat ini belum maksimal. Selama ini pelepah hanya tertinggal dan dibiarkan membusuk dilahan perkebunan. Padahal pelepah sawit berpotensi untuk dapat dikonversi menjadi bioetanol, karena pelepah sawit memiliki kandungan selulosa yang cukup besar yaitu sebesar 35,88% (Natasha, 2012). penelitian ini ditunjukkan untuk mengembangkan bahan bakar alternatif bioetanol dari bahan baku limbah industri *Crude Palm Oil* (CPO) dimana limbah yang akan digunakan adalah pelepah kelapa sawit dengan menggunakan metode *Separate Hydrolysis and Fermentation* (SHF).

Komposisi dari pelepah sawit dapat dilihat pada Tabel 1 sebagai berikut.

Tabel 1. Komposisi Komponen Lignoselulosa pada Pelepah Sawit

Komponen Kimia	Komposisi (%)
Selulosa	34,89
Hemiselulosa	27,14
Lignin	19,87
Zat esktraktif	9,20
Air	8,90

(Sumber: Saragih, 2013)

Selulosa merupakan komponen terbesar dalam biomassa dan berfungsi sebagai struktur dinding sel tanaman. Struktur kimia selulosa adalah polisakarida linear yang tersusun dari pengulangan unit β -1,4 glukosida. Struktur yang linear menyebabkan selulosa bersifat kristalin dan tidak mudah larut. Dialam biasanya selulosa berasosiasi dengan polisakarida lain seperti hemiselulosa dan lignin yang membentuk kerangka utama dinding sel tumbuhan. Selulosa mempunyai rumus molekul $(C_6H_{10}O_5)_n$ dengan n sebagai derajat polimerisasi (Subekti, 2006).

Tujuan dari *pretreatment* adalah untuk menghancurkan struktur selulosa pada dinding sel biomassa dan membuat selulosa lebih mudah diambil ketika dihidrolisis (pada proses hidrolisis, selulosa dipecah menjadi gula yang lebih sederhana) (Tong, dkk., 2013).

Pretreatment basa dalam pengolahan biomassa lignoselulosa umumnya menggunakan basa seperti natrium, kalium, kalsium, dan amonium hidroksida. Pemakaian basa menyebabkan perubahan struktur lignin dengan cara mendegradasi ester dan rantai samping glikosidiknya. Penggunaan basa juga menyebabkan dekristalisasi parsial selulosa, solvasi parsial hemiselulosa dan mengakibatkan selulosa membesar. Proses ini dilakukan dengan cara merendam biomassa dalam larutan alkali pada suhu dan waktu yang telah ditentukan. Tahap netralisasi perlu dilakukan sebelum masuk tahap hidrolisis enzimatik untuk menghilangkan lignin dan zat inhibitor (misalnya garam, asam fenolik, dan aldehid) (Menon dan Rao 2012).

Pretreatment oksidatif menggunakan senyawa oksidasi seperti hidrogen peroksida (H_2O_2) atau asam perasetat yang dilarutkan dalam air. Sama seperti metode *pretreatment* lainnya, tujuan metode ini adalah untuk menghilangkan hemiselulosa dan lignin untuk meningkatkan aksesibilitas selulase. Beberapa

kekurangan metode ini adalah penggunaan oksidan yang tidak selektif dan tingkat pembentukan senyawa inhibitor yang tinggi karena lignin yang teroksidasi atau terbentuknya senyawa aromatik (Hendriks and Zeeman 2009).

Hidrolisis adalah proses perubahan atau pemecahan molekul selulosa, hemiselulosa ataupun karbohidrat menjadi gula sederhana (glukosa). Hidrolisa dengan asam encer tidak memerlukan *recovery* asam dan asam tidak akan hilang selama proses. Asam yang digunakan biasanya memiliki konsentrasi sekitar 2-5% dengan suhu reaksi sekitar 160°C pada tekanan 10 atm. Pada proses hidrolisis biasanya menggunakan katalisator untuk mendapatkan glukosa. Proses hidrolisis selulosa dapat dilakukan dengan metode hidrolisis asam, basa, dan enzim. Asam yang biasanya digunakan seperti HCl, H₂SO₄, H₂SO₃, HNO₃, dan enzim yang umumnya digunakan adalah enzim selulase (Firmanto, 2104).

Fermentasi adalah proses produksi energi dalam sel dalam keadaan anaerobik (tanpa oksigen). Gula adalah bahan yang umum dalam fermentasi. Beberapa contoh hasil fermentasi adalah etanol, asam laktat, dan hidrogen. Akan tetapi beberapa komponen lain dapat juga dihasilkan dari fermentasi seperti asam butirat dan aseton. Fermentasi alkohol merupakan proses pembuatan alkohol dengan memanfaatkan aktivitas *yeast* yaitu mengubah glukosa menjadi alkohol tanpa oksigen, tetapi dalam pembuatan starter dibutuhkan suasana aerob dimana oksigen diperlukan untuk pembiakan sel (Eka dan Halim, 2009). Tingkat Keasaman (pH). Artikel ini bertujuan untuk menentukan pengaruh konsentrasi H₂SO₄ dan waktu fermentasi yang terbaik.

2. Metode Penelitian

2.1 Alat yang digunakan

Alat digunakan adalah bioreaktor, erlenmeyer, *autoclave*, *inkubator*, *water bath*, *rotary evaporator*, *oven*, *hot plate*, *magnetic bar*, gelas ukur, kondensor, tabung reaksi, termometer, pH meter, neraca analitik, cawan penguap, ayakan 40 *mesh* dan 80 *mesh*, serta *vortex mixer*. Alat analisa yang digunakan yaitu spektrofotometer UV-Vis, alkoholmeter, dan refraktometer.

2.2 Bahan yang digunakan

Bahan utama yang digunakan adalah pelepah kelapa sawit yang diperoleh dari Inkubator Agribisnis Universitas Riau. Bahan-bahan lain yang digunakan yaitu Abu tandan kosong sawit dari PTPN V Sei Pagar, H₂O₂ 3%, H₂SO₄ 96%, NaOH 50%, *Saccharomyces Cerevisiae* yang berasal dari ragi instan, KH₂PO₄, MgSO₄.7H₂O, (NH₄)₂SO₄, dan larutan antron.

2.3 Variabel Penelitian

Variabel tetap pada penelitian ini antara lain ialah volume fermentasi: 2 liter (Akbar, 2015), waktu inokulasi: 24 jam (Amalia, 2014), Suhu fermentasi: suhu ruang, pH fermentasi 4,5 (Jeckson, 2014). Variabel berubah pada penelitian ini adalah konsentrasi H₂SO₄ yaitu 1,5M, 2 M, dan 2,5 M, dan waktu fermentasi yaitu 24, 48, 72, 96, dan 120 jam.

2.4 Rancangan Percobaan

Tahapan penelitian ini terdiri dari empat tahap. Tahap pertama adalah persiapan pretreatment bahan baku. Tahap kedua adalah hidrolisis selulosa menjadi larutan gula menggunakan senyawa kimia H₂SO₄ 1 M, 2 M dan 2,5 M, kemudian tahap ketiga mengubah larutan gula menjadi bioetanol melalui proses fermentasi. Tahap keempat yaitu melakukan uji dan analisis hasil berupa kadar gula sisa, kadar bioetanol, dan berat sel kering.

2.5 Prosedur Penelitian

2.5.1 Pretreatment Bahan Baku

Bahan baku yang digunakan pada penelitian ini adalah pelepah kelapa sawit yaitu sebanyak 400 gr untuk setiap variasi konsentrasi *Saccharomyces Cerevisiae*. Sebelum dimasak, pelepah kelapa sawit perlu dicacah menjadi ukuran yang lebih kecil. Kemudian pelepah dikeringkan dibawah sinar matahari sampai kadar air yang tersisa $\pm 10\%$. Pelepah kelapa sawit selanjutnya dihaluskan dan diayak untuk mendapatkan serbuk TKS berukuran 40 mesh (Dewi, 2018).

3.5.2 Pembuatan Larutan Pemasak dari Ekstrak Abu TKS

Larutan Pemasak yang digunakan adalah campuran antara akuades dengan abu TKS. Sebelum digunakan, abu TKS disaring terlebih dahulu menggunakan saringan berukuran 60 mesh. Abu yang telah disaring kemudian ditambahkan air dengan perbandingan massa abu dan air 1:4. Larutan tersebut selanjutnya diaduk selama 15 menit setelah itu didiamkan selama 48 jam hingga semua abu terendapkan. Filtrat abu TKS dipisahkan dari padatan dengan penyaringan. Filtrat ekstrak abu TKS tersebut digunakan sebagai larutan pemasak (Irfanto, 2013).

3.5.3 Pretreatment Basa

Pretreatment basa terdiri dari dua tahap, yaitu prehidrolisa dan *cooking*. Prehidrolisa bertujuan untuk mempercepat penghilangan pentosan (hemiselulosa) dalam bahan baku pada waktu pemasakan. Prehidrolisa dilakukan menggunakan larutan ekstrak abu TKS. Temperatur pada saat prehidrolisa adalah 100°C , nisbah berat bahan baku terhadap volume larutan 1:10, dengan waktu prehidrolisa selama 1 jam. Setelah prehidrolisa selesai, filtratnya dibuang dan residu dicuci dengan air panas dan diperas, kemudian pulp pelepah tersebut dimasak kembali (proses *cooking*).

Proses *cooking* bertujuan untuk memurnikan selulosa- α yang terdapat dalam pulp pelepah sawit. *Cooking* dilakukan dengan larutan ekstrak abu TKS. Kondisi operasi *cooking* adalah temperatur 100°C , waktu pemasakan 30 menit, dan nisbah padatan terhadap larutan 1:5. *Pulp* pelepah hasil pemasakan disaring dan dicuci dengan air panas untuk menghilangkan lindi hitam dan dikeringkan hingga beratnya konstan (Dewi, 2018).

3.5.4 Pretreatment Oksidasi

Serbuk pelepah yang telah melalui proses delignifikasi kemudian dilakukan proses pretreatment lanjutan menggunakan larutan H_2O_2 3% dengan nisbah serbuk dan H_2O_2 1:20. Kemudian ditambahkan NaOH 0,1 N sampai pH 9 (Saragih, 2013). Selanjutnya serbuk pelepah dipanaskan pada 90°C selama 60 menit. Setelah proses pretreatment tahap kedua, serbuk pelepah didinginkan, disaring dan dicuci sampai pH nertal dan dikeringkan dalam *oven* sampai suhu 105°C hingga beratnya konstan (Dewi, 2018).

3.5.5 Hidrolisis Serbuk Pelepah Sawit

Serbuk pelepah dari proses delignifikasi tahap kedua dikecilkan ukurannya sampai 80 mesh dan dihidrolisis menggunakan asam sulfat (H_2SO_4) dengan variasi 1,5 M, 2 M, dan 2,5 M dengan nisbah serbuk dan asam 1:10 pada suhu 100°C selama 60 menit. Dalam proses hidrolisis diperoleh ampas dan larutan. Larutan tersebut adalah yang mengandung gula hasil konversi dari pelepah kelapa sawit. Larutan gula selanjutnya dinertalkan dengan NaOH 1 M hingga pH 4,5 (Fitriani

dkk., 2013). Filtrat yang diperoleh akan dianalisis kadar gula dalam larutan dan selanjutnya digunakan sebagai substrat fermentasi.

3.5.6 Pembuatan Inokulum

Pembuatan inokulum bertujuan untuk memperpendek fase lag yaitu dengan cara mengadaptasikan sel kedalam media fermentasi berupa larutan gula hasil hidrolisis. *Saccharomyces cerevisiae* dari ragi kemasan diinokulasi kedalam medium (larutan gula hasil hidrolisis, 1 gr/L KH_2PO_4 , 0,05 gr/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dan 2 gr/L $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dan dimasukkan kedalam erlenmeyer. Medium inokulum disterilisasi kedalam *autoclave* dengan temperatur 121°C selama 15 menit, setelah itu medium inokulum didinginkan hingga mencapai temperatur ruang. Setelah temperatur medium inokulum mencapai temperatur ruang, dimasukkan *Saccharomyces cerevisiae* dengan 8 g/L lalu diinokulasikan selama 24 jam pada suhu 30°C (Amalia, 2014).

3.5.7 Fermentasi

Proses fermentasi dilakukan dengan cara fermentasi cair. Larutan gula hidrolisis difermentasi oleh *Saccharomyces cerevisiae* dengan volume fermentasi 2 liter. Larutan gula dimasukkan kedalam fermentor sesuai variasi kemudian ditambahkan nutrisi (1 g/l KH_2PO_4 , 0,05 g/l $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, dan 2 g/l $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$), selanjutnya ditutup rapat lalu disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121 °C selama 15 menit. Fermentasi dilakukan dengan kecepatan pengadukan 250 rpm. Suhu fermentasi dijaga 30 °C. Pengambilan sampel dilakukan sesuai dengan variasi waktu yaitu 0 jam, 24 jam, 48 jam, 72 jam, 96 jam, dan 120 jam. Setelah waktu tercapai, sampel dianalisis kadar gula sisa dan bioetanol yang dihasilkan.

3.5.8 Pemisahan

Hasil fermentasi yang didapat kemudian diambil 120 ml dengan 20 ml untuk dianalisa kadar gula sisa menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan 100 ml campuran bioetanol yang berada di dalam substrat hasil fermentasi dipisahkan dari mikroorganisme *Saccharomyces cerevisiae*, nutrisi dan larutan gula sisa, dengan cara menguapkan campuran bioetanol dan air pada suhu 77-80°C dengan menggunakan *rotary evaporator*, kemudian bioetanol yang terdapat di dalam campuran bioetanol dan air di analisa menggunakan alkoholmeter..

3.5.9 Analisa Hasil

Pada penelitian ini parameter yang dianalisa yaitu konsentrasi bioetanol, konsentrasi gula substrat, dan berat sel kering. Konsentrasi gula substrat berupa kadar gula awal dan kadar gula akhir dianalisa dengan metode antron. Untuk pengukuran kadar bioetanol akan dianalisa dengan menggunakan alkoholmeter dan refraktometer. Dan untuk mengukur konsentrasi *Saccharomyces cerevisiae* dengan berdasarkan pengukuran berat sel kering.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Hidrolisis Serat Buah Sawit

Pada dasarnya prinsip hidrolisis adalah memutuskan rantai polimer bahan menjadi unit-unit monomer yang lebih sederhana dengan bantuan katalis. Hidrolisis selulosa akan menghasilkan glukosa sedangkan hemiselulosa akan menghasilkan xilosa, manosa, asam asetat, galaktosa dan glukosa (Subekti, 2006).

Konsentrasi larutan glukosa awal pada masing-masing hasil hidrolisis serbuk pelepah kelapa sawit dapat dilihat pada Tabel 2. berikut.

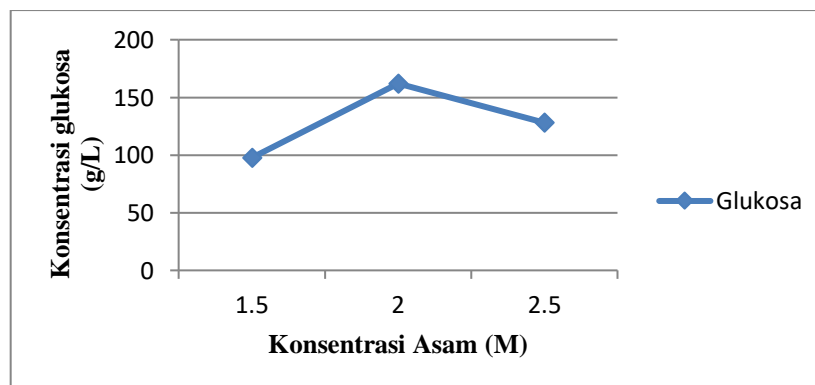
Tabel 2. Konsentrasi Larutan Gula Awal Hasil Hidrolisis

Konsentrasi Asam	Konsentrasi (g/L)
1,5 M	97,63
2 M	161,98
2,5 M	128,03

Dari Tabel 2. menunjukkan konsentrasi larutan glukosa awal yang diperoleh dari proses hidrolisis pelepah kelapa sawit yang akan digunakan sebagai medium fermentasi didapatkan konsentrasi glukosa tertinggi yaitu 161,98 g/L pada penambahan H_2SO_4 2 M. Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Safitri dkk., (2018) menghasilkan kadar glukosa maksimum sebesar 0,05 g/mL pada konsentrasi yang sama 2 M bahan baku yang berbeda yaitu Kulit buah naga merah.

3.2 Pengaruh Konsentrasi H_2SO_4 terhadap kadar glukosa

Metode Antron-Sulfat merupakan salah satu contoh metode kolorimetri untuk menetapkan konsentrasi dari gula total yang ada disampel. Gula akan bereaksi dengan reagen Antron dalam kondisi asam yang akan membentuk warna biru-kehijauan. Sampel akan bercampur dengan asam sulfat dan reagen Antron dengan bantuan pemanasan. Larutan kemudian didinginkan dan dibaca pada absorbansi 590 nm. Metode ini akan menentukan gula pereduksi dan gula non pereduksi karena adanya H_2SO_4 sebagai oksidator yang sangat kuat. Jadi dalam hasil dimungkinkan yang terbaca bukan hanya glukosa, tapi juga gula-gula lain yang ada didalam ekstrak sampel, seperti sukrosa (Al-Kayyis dkk., 2016). Hubungan hasil hidrolisis terhadap kadar glukosa dengan variasi H_2SO_4 1,5 M, 2 M, dan 2,5 M dapat dilihat pada Gambar 1.

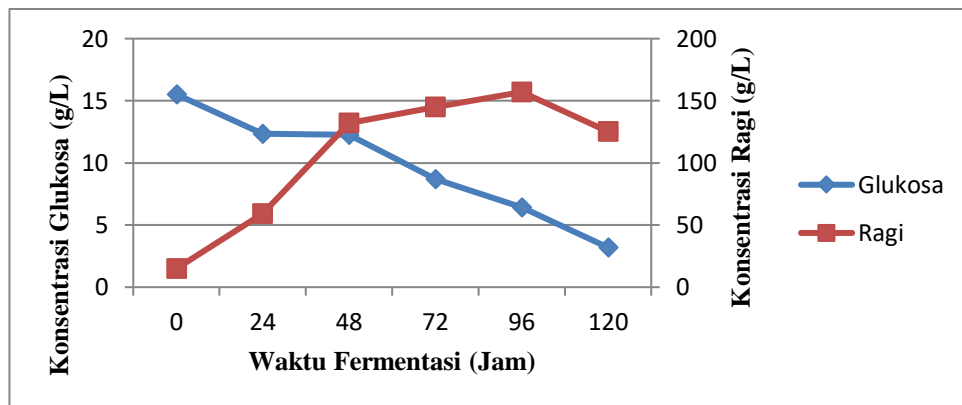
**Gambar 1.** Hubungan konsentrasi H_2SO_4 dan glukosa

Pada Gambar 1. menunjukkan kadar gula tertinggi hasil hidrolisis diperoleh pada konsentrasi asam sulfat 2 M yakni 161,98 g/L. Tingginya kadar gula yang diperoleh pada hidrolisis asam sulfat 2 M terjadi gugus H^+ pada asam akan mengubah gugus serbuk pelepah kelapa sawit menjadi gugus radikal bebas dan gugus radikal bebas kemudian akan berikatan dengan gugus OH^- dari air dan bereaksi pada suhu 100°C menghasilkan gula tinggi. Hal ini sesuai dengan pernyataan Fatmawati dkk., (2008) yang menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi H_2SO_4 maka semakin banyak ion H^+ yang akan memperbanyak kemungkinan terbentuknya asam konjugat (II) sehingga pemecahan ikatan semakin cepat dan dihasilkan glukosa lebih banyak.

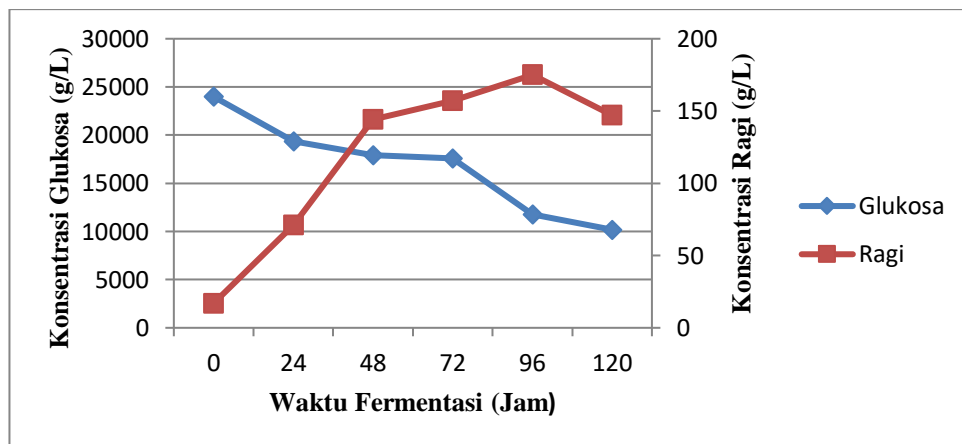
Kadar gula terendah hasil hidrolisis pada konsentrasi asam sulfat 1 M yakni 97,63 g/L. Hal ini disebabkan kebutuhan H^+ dari asam belum mencukupi sehingga tidak banyak terbentuk radikal bebas dari serbuk pelepah kelapa sawit sehingga glukosa yang dihasilkan belum maksimal. Akan tetapi pada konsentrasi H_2SO_4 2,5 M terjadi penurunan glukosa yaitu 128,03 g/L. Hal ini dikarenakan semakin lama waktu hidrolisis dan semakin tinggi konsentrasi H_2SO_4 mampu menurunkan kadar glukosa yang dihasilkan (Rilek, 2017). Pada penelitian ini konsentrasi H_2SO_4 2 M adalah konsentrasi yang terbaik untuk digunakan pada proses hidrolisis.

3.3 Analisa Berat Kering Sel terhadap Konsentrasi Glukosa

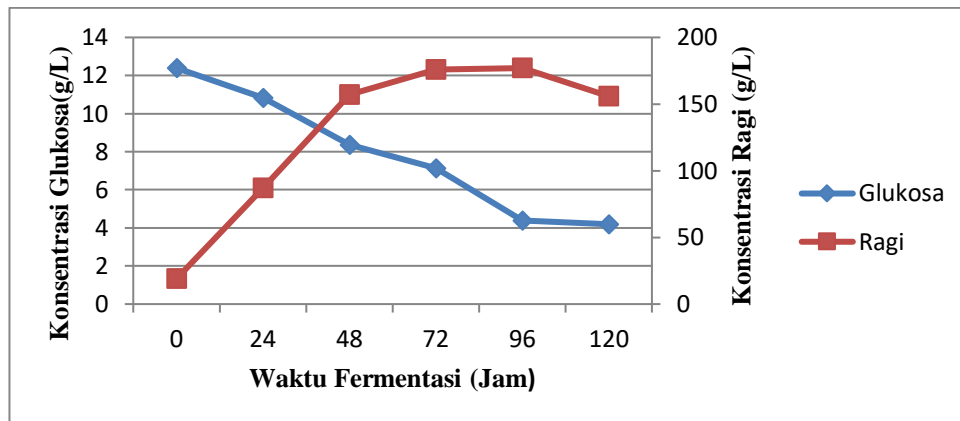
Analisa berat kering sel digunakan untuk mengukur konsentrasi sel selama proses fermentasi berlangsung. Dengan mengukur berat kering sel kita dapat melihat pertumbuhan mikroba. Hasil pengukuran berat kering sel *Saccharomyces cerevisiae* selama proses fermentasi pelepah kelapa sawit dapat dilihat pada Gambar 2.



(a)



(b)



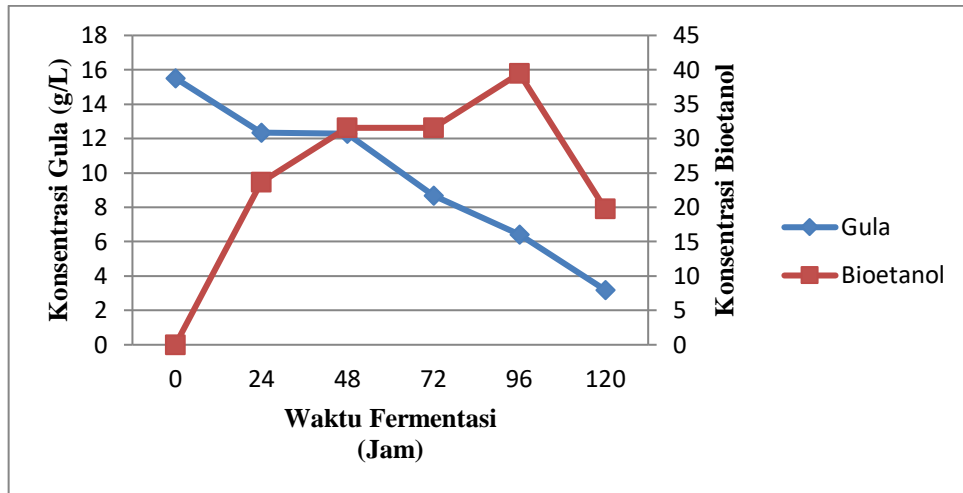
(c)

Gambar 2. Hubungan Penurunan Konsentrasi Gula Terhadap Konsentrasi ragi

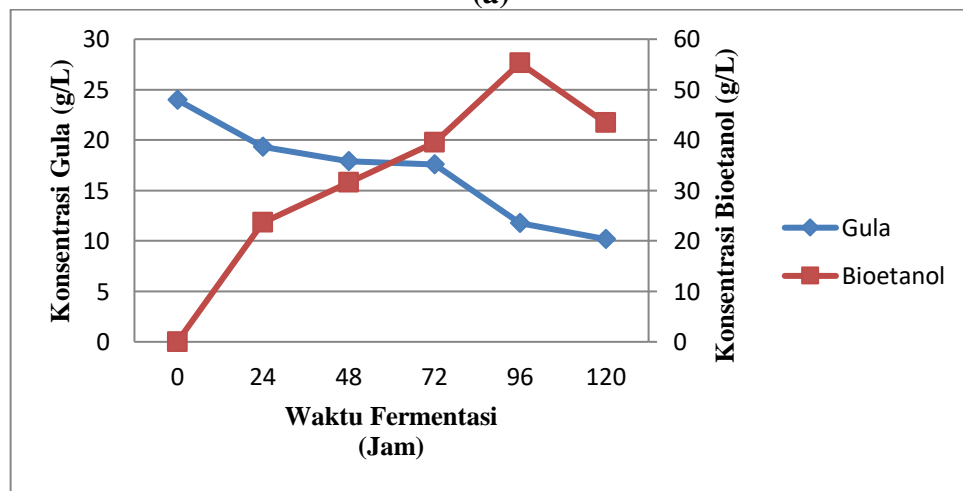
Berdasarkan Gambar 2. menunjukkan dengan bertambahnya waktu fermentasi berat kering sel cenderung meningkat. Peningkatan berat kering sel ini berbanding terbalik dengan konsentrasi glukosa pada substrat saat proses fermentasi. Penurunan konsentrasi glukosa menunjukkan bahwa mikroba *Saccharomyces cerevisiae* mengkonsumsi glukosa yang ada di dalam substrat yang digunakan mikroba untuk memperbanyak sel serta menghasilkan bioetanol (Siburian, 2015). Pada waktu fermentasi 24 jam, berat kering *Saccharomyces cerevisiae* masih relatif rendah, hal ini dikarenakan pada tahap awal sel masih melakukan adaptasi atau penyesuaian diri terhadap medium fermentasi dan waktu untuk melakukan pembelahan sel hanya sedikit, sehingga jumlah sel yang dihasilkan masih belum maksimal. Pada waktu 48 jam, berat kering sel yang dihasilkan lebih banyak dibandingkan dengan waktu fermentasi 24 jam, hal ini dikarenakan *Saccharomyces cerevisiae* memiliki banyak waktu untuk membelah dan memperbanyak sel dibandingkan waktu 24 jam. Pada waktu fermentasi 72 jam dan 96 jam, berat kering sel yang dihasilkan tidak begitu signifikan, yaitu hanya bertambah sedikit dibanding dengan berat kering sel yang ada pada waktu fermentasi 48 jam. Hal ini menandakan bahwa pada jam ke 72 dan 96, sel masuk dalam fase stasioner, yaitu fase dimana pertumbuhan mikroorganisme mencapai keadaan yang maksimum dan mikroorganisme yang aktif dan mati relatif seimbang karena makanan (nutrisi) relatif sedikit. Pada saat fermentasi 120 jam terjadi penurunan berat kering sel, ini menunjukkan bahwa sel telah mengalami fase pertumbuhan di perlambat atau fase kematian.

3.4 Pengaruh Penurunan gula Terhadap Bioetanol

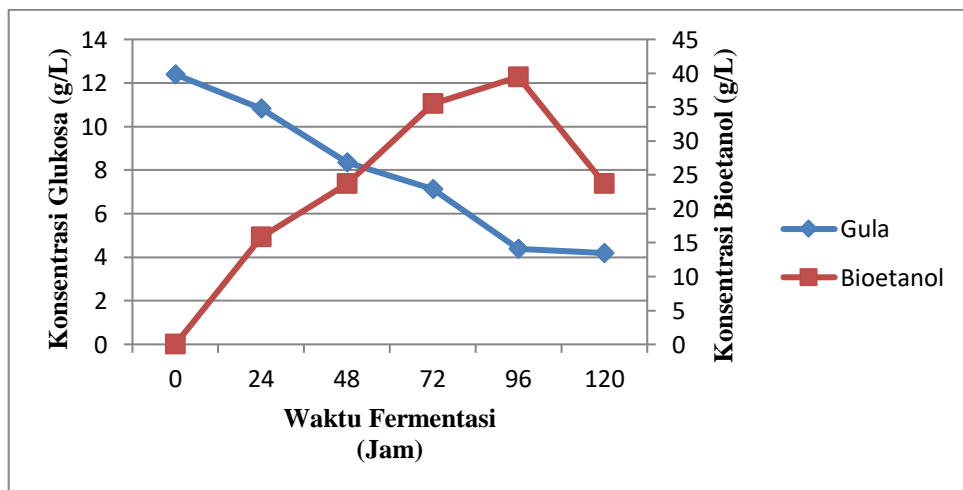
Larutan glukosa yang diperoleh dari proses hidrolisis digunakan sebagai medium fermentasi dikonsumsi oleh *Saccharomyces cerevisiae* untuk memperbanyak sel serta menghasilkan bioetanol. Hubungan konsentrasi gula terhadap konsentrasi bioetanol yang dihasilkan dari proses fermentasi seperti terlihat pada Gambar 3. berikut ini.



(a)



(b)



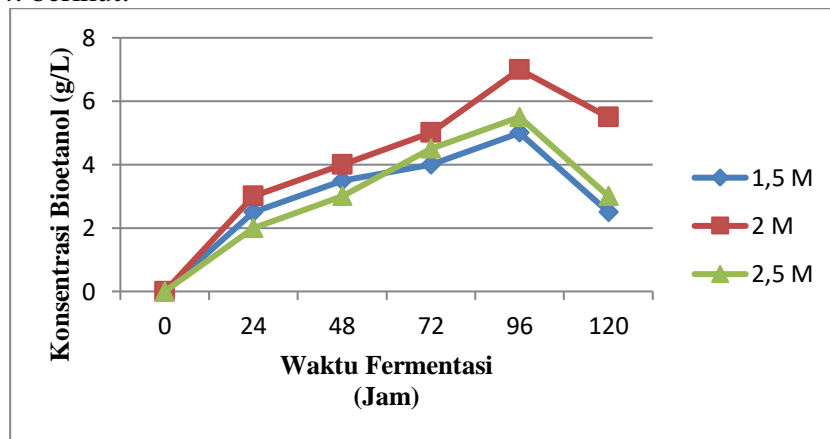
(c)

Gambar 3. Hubungan Penurunan Konsentrasi Gula Terhadap Konsentrasi Bioetanol pada H_2SO_4 (a) 1,5 M, (b) 2 M, dan (c) 2,5 M

Berdasarkan Gambar 3. terlihat bahwa secara umum pada konsentrasi H_2SO_4 1,5 M, 2 M, dan 2,5 M terjadi penurunan konsentrasi glukosa seiring dengan peningkatan kadar bioetanol. Hal ini disebabkan gula yang terdapat pada substrat terkonversi menjadi bioetanol dan sebagian digunakan sebagai sumber karbon untuk proses pertumbuhan mikroorganisme (Retno dan Nuri, 2011). Seiring dengan berjalannya waktu, konsentrasi gula akan berkurang sejalan dengan bertambahnya konsentrasi bioetanol yang terbentuk, selain terkonversi menjadi bioetanol, gula berfungsi sebagai bahan makanan bagi bakteri untuk mempertahankan hidupnya dan memproduksi (Bailey dan David, 1986).

3.5 Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Bioetanol

Bioetanol merupakan produk akhir yang ingin diperoleh pada penelitian ini. Pada proses fermentasi faktor yang mempengaruhi fermentasi yaitu Tingkat keasaman (pH), suhu, oksigen, waktu fermentasi, dan nutrisi. Hubungan antara waktu fermentasi terhadap konsentrasi bioetanol yang diperoleh dapat dilihat pada Gambar 4. berikut.



Gambar 4. Hubungan antara Waktu Fermentasi terhadap Konsentrasi Bioetanol

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan seperti pada Gambar 4. Waktu fermentasi berpengaruh terhadap konsentrasi bioetanol yang dihasilkan dimana semakin lama waktu fermentasi maka semakin tinggi bioetanol yang dihasilkan. Pada variasi konsentrasi H_2SO_4 dengan waktu fermentasi 24 jam sampai 96 jam mengalami peningkatan hasil bioetanol yang dihasilkan, hal ini dikarenakan pertumbuhan mikroorganisme *Saccharomyces cerevisiae* mengalami penurunan sehingga substrat hanya digunakan sebagai metabolisme dan menghasilkan bioetanol. Konsentrasi bioetanol maksimum didapatkan pada konsentrasi H_2SO_4 2 M yaitu 7% (v/v) pada waktu fermentasi 96 jam. Karena pada kondisi tersebut, mikroba berada pada fase eksponensial dan waktu paling optimum bagi mikroba untuk dapat menguraikan glukosa menjadi bioetanol. Waktu fermentasi berpengaruh terhadap aktivitas bakteri karena semakin lama waktu fermentasi, maka mikroba berkembangbiak, artinya semakin banyak jumlahnya, sehingga mempunyai kemampuan untuk memecah substrat semakin besar. Menurut Sukaryo (2013) semakin lama waktu fermentasi gula yang tereduksi semakin banyak membentuk alkohol. Gula reduksi berpengaruh terhadap kadar atau konsentrasi etanol dihasilkan. Makin banyak gula reduksi yang dimanfaatkan oleh *Saccharomyces cerevisiae* maka makin tinggi pula konsentrasi etanol yang dapat

dihasilkan dan sebaliknya makin sedikit gula reduksi yang dimanfaatkan oleh *Saccharomyces cerevisiae* maka makin rendah pula konsentrasi bioetanol yang dihasilkan. Hal ini sesuai dengan pendapat Winarti (1996) yang menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi substrat atau gula reduksi yang dapat dipecah oleh sel khamir menjadi bioetanol maka semakin tinggi pula konsentrasi etanol yang dihasilkan. Namun pada waktu fermentasi setelah 96 jam aktivitas mikroorganisme menurun pada konsentrasasi H₂SO₄ 1,5 M, 2 M, dan 2,5 M yang menunjukkan bahwa *Saccharomyces cerevisiae* berada pada fase kematian dan tidak bekerja secara optimal. Pada kondisi tersebut disebabkan tumbuhnya *Saccharomyces cerevisiae* yang dapat merubah alkohol menjadi asam asetat dengan adanya oksigen, dan gula yang tereduksi menjadi alkohol semakin habis (Sukaryo, 2016). Menurut Kunaepah (2008) semakin lama waktu fermentasi maka jumlah mikroba semakin menurun, dan akan menuju ke fase kematian karena bioetanol yang dihasilkan semakin meningkat dan nutrisi yang ada sebagai makanan mikroba semakin berkurang. Selain itu konsentrasi bioetanol yang menurun dipengaruhi oleh konsentrasi glukosa yang semakin berkurang, sehingga *yeast* kehabisan nutrisi untuk bertahan hidup dan mengalami fase kematian.

3.6 Hasil Pengukuran Bioetanol dengan Menggunakan Refraktometer

Konsentrasi bioetanol yang di analisa menggunakan Refraktometer pada setiap waktu fermentasi seperti ditampilkan pada Tabel 3. sebagai berikut.

Tabel 3. Kadar Bioetanol pada Kondisi Terbaik

Waktu Fermentasi (Jam)	Kadar Bioetanol	
	(% v/v)	(g/L)
0	0	0
24	3	23,679
48	4	31,572
72	5	39,465
96	7	55,251
120	5,5	43,4115

Analisa Refraktometer ini bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya bioetanol yang dihasilkan dari proses fermentasi. Sampel yang dianalisa merupakan sampel hasil fermentasi pada konsentrasi substrat H₂SO₄ 2 M dengan konsentrasi *Saccharomyces cerevisiae* sebesar 8 gr/L waktu fermentasi 24 jam hingga 120 jam. Konsentrasi bioetanol optimum didapatkan pada waktu 96 jam, yaitu sebesar 7% (v/v) atau 55,251 g/L dan menurun pada waktu fermentasi 120 jam. Kunaepah (2008) menyatakan bahwa semakin lama waktu fermentasi, konsentrasi bioetanol yang dihasilkan juga semakin meningkat. Akan tetapi, setelah kondisi optimum tercapai, bioetanol yang diperoleh cenderung menurun. Hal ini dikarenakan karena nutrisi yang ada sebagai makanan mikroba juga semakin menurun. Selain itu, menurut Widayanti dkk., (2013) pada fermentasi terjadi reaksi lanjut dari bioetanol sehingga bioetanol yang diperoleh menurun seiring dengan bertambahnya waktu fermentasi setelah melewati kondisi optimum. Reaksi lanjut ini terjadi karena teroksidasinya bioetanol menjadi asam asetat.

4. Kesimpulan dan Saran

4.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan hal-hal berikut ini .

1. Konsentrasi H_2SO_4 berpengaruh terhadap glukosa yang dihasilkan. Dimana semakin tinggi konsentrasi H_2SO_4 digunakan pada proses hidrolisis, maka semakin besar pula glukosa yang dihasilkan akan tetapi apabila sudah mencapai optimum maka konsentrasi glukosa menurun. Konsentrasi H_2SO_4 optimum pada proses hidrolisis diperoleh sebesar 2 M.
2. Bioetanol dapat diproduksi dari bahan baku pelepah sawit melalui proses *Separated Hydrolysis and Fermentation* (SHF) menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* dengan kadar bioetanol tertinggi sebesar 55,25 g/L.
3. Waktu fermentasi berpengaruh terhadap konsentrasi bioetanol yang dihasilkan. Waktu optimum fermentasi pelepah sawit melalui proses *Separated Hydrolysis and Fermentation* (SHF) menggunakan yeast *Saccharomyces cerevisiae* yaitu selama 96 jam.

4.2 Saran

1. Hasil fermentasi sebaiknya segera dilakukan analisa atau disimpan pada tempat yang tertutup sangat rapat dan suhu yang rendah untuk menghindari penguapan.
2. Kondisi proses selama fermentasi sebaiknya dibuat anaerob untuk menghindari mikroba cepat mati dan oksidasi produk menjadi asam asetat.

DAFTAR PUSTAKA

- Akbar, M. A. 2015. Pengaruh Pengadukan pada Pembuatan Bioetanol dari Pelepah Sawit Menggunakan *Saccharomyces Cerevisiae*. *Skripsi*. Program Studi Teknik Kimia S1 Fakultas Teknik Universitas Riau. Pekanbaru.
- Al-Kayyis, H dan Susanti, H. 2011. Perbandingan Metode Somogyi-Nelson dan Anthrone-Sulfat pada Penetapan Kadar Gula Pereduksi dalam Umbi Cilembu (*Ipomea batatas. L*). *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*. ISSN: 2527-7146, pp. (81-89). Universitas Ahmad Dahlan. Yogyakarta.
- Amalia, Y. 2014. Pembuatan Bioetanol dari Limbah Padat Sagu Menggunakan Enzim Selulase dan Yeast *Saccharomyces Cerevisiae* dengan Proses Simultaneous Sacharification and Fermentation (SSF) dengan Variasi Konsentrasi Substrat dan Volume Inokulum. *Skripsi*. Universitas Riau. Pekanbaru.
- Anita, S.S.N.I.T. 2013. Efektivitas campuran enzim selulase dari *Aspergillusniger* dan *Trichoderma reesei* dalam menghidrolisis substrat sabut kelapa. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 2(1).
- Anshory. 2004. Etanol Sebagai Bahan Bakar Alternatif. Jakarta: Erlangga
- Artati, E. K., Effendi, A., dan Hayanto, T. 2009. Pengaruh Konsentrasi Larutan Pemasak Pada Proses Delignifikasi Eceng Gondok Dengan Proses Organosol. *Skripsi*. Universitas Sebelas Maret. Jawa Tengah.
- Awaltanova, E. 2015. Fermentasi Bioetanol dari Nira Nipah menggunakan Teknik Immobilisasi Sel *Saccharomyces cerevisiae* dengan Pengaruh Penambahan Tween 80 dan Ergosterol. *Skripsi*. Universitas Riau. Pekanbaru.
- Azizah, N., Al-Barrii, A.N., dan 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(3): 72-77
- Bailey, J.N dan Olis, D.F. 1986. Biochemical Eng. Fund "Second Mc.Grawhill, pp. 373-445. New York.
- Brennan, L., dan Owende, P. 2010. Biofuels From Microalgae A Review of Technologies For Production, Processing, And Extractions Of BiofuelsAnd Co-Products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 14:557-577.
- Buckle, K. A. 1987. Ilmu pangan. Universitas Indonesia (UI-PRESS). Jakarta.
- Chairul, S.Z., Amraini, dan Muria, S.R. 2011. Pengembangan Produksi Bioetanol dari *Reject Pulp* Pabrik Pulp & Paper dengan Proses Sakarifikasi & Fermentasi Serentak. *Laporan ITENAS*. Universitas Riau. Pekanbaru.
- Chaudhary, L., Pradhan, N., Soni, P., Singh, dan Tiwari, A. 2014. Algae as A Feedstock For Bioethanol Production: New Entrance In Biofuel World. *Int. Journal Chemistry Technology*. Res.6, 1381–1389.
- Chisti, Y. 2007. Biodiesel From Microalgae. *Biotechnology Advances*. 25:294-306.
- Direktorat Jendral Perkebunan. 2013. Luas Areal Kelapa Sawit Menurut Provinsi di Indonesia. <http://bangkittani.com/topik-utama/berkebun-kelapa-sawit-menatap-masa-depan-yang-panjang-nan-indah/>. 15 November 2018 (11:20)
- Dragon, G., Fernandes, B., Vicente, A.A., dan Teixeira, T.A. 2010. Third Generation Biofuels From Microalgae. In *Current Research, Technology and Education Topicsin Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*, ed. A. Mendez-Vilas (Madrid:Formatex), 1355–1366.
- Eka, P., dan Halim, A. 2009. Pembuatan Bioethanol dari Nira Siwalan Secara Fermentasi Fase Cair Menggunakan Fermipan. *Seminar Tugas Akhir S1 Teknik Kimia UNDIP 2009*.
- Elevri, P., dan Putra, S. 2006. Produksi Bioetanol Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* Yang diamobilisasi Dengan Agar Batang. *Jurnal Akta Kimindo* (1)2:105-114
- Fatmawati, A., Soeseno, N., Chiptadi, N., dan Natalia, S. (2008). Hidrolisis Batang Padi Dengan Menggunakan Asam Sulfat Encer. *Jurnal Teknik Kimia*, 3(1). Universitas Sriwijaya. Sumatera Selatan.
- Firmanto. 2014. Pengaruh waktu inokulasi inokulum dalam pembuatan bioetanol dari limbah serabut buah sawit. *Skripsi*. Universitas Riau. Pekanbaru.
- Fitriani, S., Bahri., dan Naurhaeni.2013. Produksi BioetanolTongkol Jagung (*Zae mays*) dari Hasil Proses Delignifikasi. *Jurnal of natural science* (3)2:66-74.Fakultas MIPA. Universitas Tadulako. Sulawesi Tengah.
- Gaman, M. dan Sherrington, K.B., 1981. *Ilmu Pangan, Pengantar Ilmu Pangan, Nutrisi dan Mikrobiologi*.Ed ke-2. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Hedge, J.E., dan Hofreiter, B.T. 1962. In Carbohydrate Chemistry 17 (Eds whistler RL and Be Millee, JN) Academic press. New York.
- Hermiati, E., Mangun Widjaja, Candra Sunarti, T., Suparno, O., dan Prasetya, B. 2010. Pemanfaatan Biomassa Lignoselulosa Ampas Tebu untuk Produksi Bioetanol. *Jurnal Litbang Pertanian*.24(4).
- Honso, N. 2012.Analisis *Lifecycle* Bioetanol Berbasis Singkong dan Tandan Kosong Kelapa Sawit di Indonesia. *Skripsi*. Fakultas Teknik. Universitas Indonesia.

- Hovart., dan Ari, L. 2006. *Solubility of Structurally Complicated Materials: I Wood*. J. Phys. Chem. Ref Data, Vol. 35 No. 1.
- Ibrahim, M., 1998. Clean Fractionation of Biomass-Steam Explosion and Extraction. *Disertasi*, Virginia Tech.
- Irawan, D., dan Arifin, Z. 2012. Proses Hidrolisis Sampah Organik Menjadi Gula dengan Katalis Asam Klorida. *Jurnal Teknik Kimia*, 6(2), pp.36-40.
- Irfanto, H. 2012. Proses *Bleaching* Pelepah Sawit Hasil Hidrolisis sebagai Bahan Baku Nitroselulosa dengan Variasi Suhu dan Waktu Reaksi. *Skripsi*. Universitas Riau.
- Isroi. 2008. Potensi Biomassa Lignoselulosa di Indonesia sebagai Bahan Baku Bioetanol: JERAMI PADI. <http://isroi.wordpress.com>. Diakses 21 September 2018.
- Jayanuddin. 2010. Pengaruh Konsentrasi dan Waktu Pemutihan Serat Daun Nanas menggunakan Hidrogen Peroksida. *Jurnal Rekayasa Proses*, (3)1: 10-14
- Jeckson, E., 2014. Pengaruh Laju Pengadukan dalam Pembuatan Bioetanol dari Limbah Serabut Buah Sawit Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*. *Skripsi*. Universitas Riau.
- Kardono, B. 2010. Teknologi Pembuatan Bioetanol Berbasis Lignoselulosa Tumbuhan Tropis untuk Produksi Biogasoline. *Laporan Akhir Program Intensif Peneliti dan Rekayasa LIPI Tahun 2010*.
- Kasim, F., dan Kasim, A. 2013. Hydrolysis of Oil Palm Empty Fruit Bunch Fibers to Produce Sugar Hydrolyzate as Raw Material for Bioethanol Production. *Jurnal International*, (3)3:24-27
- Kumar, P., Barrett, D.M., Delwiche, M.J. dan Stroeve, P., 2009. Methods for pretreatment of lignocellulosic biomass for efficient hydrolysis and biofuel production. *Industrial & engineering chemistry research*, 48(8), pp.3713-3729.
- Kusumaningati, M.A., Nurhatika, S., dan Muhibuddin, A. 2013. Pengaruh Konsentrasi Inokulum Bakteri *Zymomonas mobilis* dan Lama Fermentasi Pada Produksi Etanol dari Sampah Sayur dan Buah Pasar Wonokromo Surabaya. *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 2(2), pp.E218-E223.
- Maharani, D. M. 2011. Adaptasi *Saccharomyces cerevisiae* terhadap Asam Hidrolisat Ubi Kayu untuk Produksi Bioetanol. *Tesis*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Mauliana, R.M., dan Sutikno, M. 2015. Effects Of Seaweed (*Eucheuma Cottonii*) Extraction And Hydrolysis On Reducing Sugar For Bioethanol Production. *Prosiding Seminar Nasional Sains & Teknologi VI*. Lembaga Penelitian dan Pengabdian. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Moeksin, R., Eni, R., dan Sari, W. 2016. Pembuatan Bioetanol dari Air Limbah Cucian Beras Menggunakan Metode Hidrolisis Enzimatik dan Fermentasi. *Jurnal Teknik Kimia*, 21(1).
- Nasrun, N., Jalaluddin, J., dan Mahfuddhah, M. 2017. Pengaruh Jumlah Ragi dan Waktu Fermentasi terhadap Kadar Bioetanol yang Dihasilkan dari Fermentasi Kulit Pepaya. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*, 4(2), pp.1-10.
- Natasha, N. 2012. Variasi Komposisi dan Sumber Nutrisi Bagi Miselium pada Proses Pelapukan Pelepah Kelapa Sawit Untuk Mendegradasi Lignin Dengan *Pleurotus Ostreatus*. *Skripsi*. Universitas Indonesia. Depok.

- Ni'mah, L., Ardiyanto, A. dan Zainuddin, M., 2016. Pembuatan Bioetanol dari Limbah Serat Kelapa Sawit Melalui Proses Pretreatment, Hidrolisis Asam dan Fermentasi Menggunakan Ragi Tape. *INFO-TEKNIK*, 16(2), pp.227-242.
- Oktavia, S., Soeradjaja, T.H., Purwadi R. L., dan Putrawan, A. 2011. Pengolahan Awal Lignoselulosa Menggunakan Amoniak Untuk Meningkatkan Perolehan Gula Fermentasi. *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia Kejuangan*, 22 Februari 2011: B13-1- B13-6.
- Olofsson. 2008. A Short Review on SSF- An Interesting Process Option For Ethanol Production From Lignocellulosic Feedstock. *BioMed Central Ltd*.
- Padil, S.A., dan Aziz, Y. 2010. Penentuan Temperatur Terhadap Kemurnian Selulosa Batang Sawit Menggunakan Ekstrak Abu TKS. *Prosiding Seminar Nasional Teknik- UR*, 29-30 Juni 2010 :1-9
- Rahayu, W.P., dan Nurwitri, C. C. 2012. *Mikrobiologi Pangan*. Bogor: IPB Press.
- Rilek, M. N., Hidayat, N., dan Sugiarto, Y. 2017. Hidrolisis Lignoselulosa Hasil Pretreatment Pelepah Sawit (*ElaeisguineensisJacq*) menggunakan H₂SO₄ pada produksi bioetanol. *Jurnal Teknologi dan Manajemen Agro industri*. ISSN 2549-3892. Vol.6. No.2: 76-82. Universitas Bramawijaya. Malang.
- Safitri, R., Anggita, I.D., Safitri, F.M., dan Ratnadew. 2018. Pengaruh Konsentrasi Asam Sulfat dari Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus costaricensis*) untuk Produksi Bioetanol. *9th Industrial Research Workshop and National Seminar*. Bandung
- Saragih, E. 2013. Pembuatan Nitroselulosa dari Selulosa Hasil Pemurnian Pelepah Sawit dengan Hidrogen Peroksida (H₂O₂) Sebagai Bahan Baku Propelen. *Skripsi*. Universitas Riau. Pekanbaru
- Siburian, Roy. 2015. Pengaruh Waktu Inokulasi Inokulum Dalam Pembuatan Bioetanol Dari Pelepah Sawit Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*. *Skripsi*. Universitas Riau. Pekanbaru.
- Sinaga, C. 2012. Analisis Respon Masyarakat Terhadap Rencana Kenaikan Harga Bbm Jenis Premium (Kasus: Pengendara Mobil Pribadi Di Bogor). *Skripsi*. Departemen Ilmu Ekonomi Fakultas Ekonomi dan Manajemen Institut Pertanian Bogor.
- Sitorus, R. S. 2011. Pretreatment dan Hidrolisis Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS) dengan Metode Steaming dan Enzimatik. *Skripsi*. Universitas Indonesia. Depok.
- Smith, A. M. 2008. Prospect for Increasing Starch and Sucrose Yields for Bioethanol Production. *The Plant Journal*. 54:546-558
- Stanbury, Peter, F. dan Allan Whitaker. 1984. *Principles of Fermentation Technology*. Pergamon Press plc. UK.
- Subekti, H. 2006. Produksi Bioetanol dari Hidrolisis Fraksi Selulosa Tongkol Jagung oleh *Saccharomyces Cerevisiae*. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Sutikno, dan Nawansih, O. 2014. Optimasi Sakarifikasi dan Fermentasi Holoselulosa TKKS Untuk Memproduksi Bioetanol Sebagai Pengganti Bahan Bakar Minyak. *Usulan Hibah Penelitian*. Teknologi Hasil Pertanian. Universitas Lampung. Bandar Lampung.

- Suwono, A. 2004. Indonesia's Potential Contribution of Biomass in Sustainable Energy Development. *Conference Proceeding of the 10th APCCHE Congress*. the Asia Pasific Conderation of Chemical Engineering, Kiyatyushu Oct. 17-21. Japan
- Taherzadeh, M.J., dan Karimi, K. 2007. Acid-Based Hydrolysis Processes for Ethanol from Lignocellulosic Materials: A Review. *Bio Resources*, 2(3), pp.472-499.
- Tjokroadikoesoemo, P. S. 1986. HFS dan Industri Ubi Kayu Lainnya. Gramedi. Jakarta
- Tong, Z., Cheng, N., dan Pullammanappallil, P. 2013. Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Biofuels and Bioproduct. *Agricultural and Biological Engineering Department UF/IFAS Extension*. Florida
- Usmana, A.S., Rianda, S., dan Novia, N. 2012. Pengaruh Volume Enzim dan Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Etanol (Bahan Baku Tandan Kosong Kelapa Sawit dengan Pretreatment Alkali). *Jurnal Teknik Kimia, Universitas Sriwijaya*, 18(2), pp.17-25.
- Walker, G.M., dan Stewart, G.G. 2016. *Saccharomyces cerevisiae* in the Production of Fermented Beverages. *Beverages*, 2(4), p.30.
- Wignyanto, Suharjono, dan Nivita. 2001. Pengaruh Konsentrasi Gula Reduksi Sari Hati Nanas dan Inokulum *Saccharomyces cerevisiae* pada Fermentasi Etanol. *Jurnal Teknologi Pangan* (2) 1: 68-77
- Xiang, Q., Lee, Y.Y., Pettersson, P.O., dan Torget, R.W. 2003. Heterogeneous aspects of acid hydrolysis of α -cellulose. In *Biotechnology for Fuels and Chemicals* (pp. 505-514). Humana Press, Totowa, NJ.
- Yenti, S.R., 2013. Pembuatan Bioetanol dari Nira Nipah Menggunakan *Sacharomyces cereviceae*. *Jurnal Teknobiologi*, 4(2), pp.105-108.