

PRODUKSI BIOETANOL DARI PATI SORGUM DENGAN VARIASI PENAMBAHAN TWEEN 80 DAN EKSTRAK *CORDYCEPS SINENSIS MYCELIUM*

Novebriantika¹, Elvi Yenie², Sri Rezeki Muria²

¹ Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Riau
Kampus Binawidya Jl. HR Subrantas Km12,5 Pekanbaru 28293

² Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Riau
Kampus Binawidya Jl. HR Subrantas Km12,5 Pekanbaru 28293
novebriantikatika@yahoo.com

ABSTRACT

The high dependence on fossil fuels and eco friendly fuel needs cause development of biofuels. Bioethanol is one of the biofuels that lately developed. In this research, the production of bioethanol from sorghum starch with the addition of Tween 80 and extract of Cordyceps sinensis mycelium variation as a supplement. The purpose of this study was to determine the effect of variations in the addition of Tween 80 and extract of Cordyceps sinensis mycelium for the bioethanol yield and determine the effect of variations in the fermentation process time for the bioethanol yield. Sorghum starch was hydrolyzed to produce glucose using alpha amylase and glucoamylase enzyme. After hydrolysis was complete, the fermentation process was carried out in a 2L fermenter with variation time of 24, 48, 72, and 96 hours, variations addition of Tween 80: extract of Cordyceps sinensis mycelium were 15 ml: 1.5 g; and 20 ml: 2.0 g. Bioethanol concentration was analyzed by gas chromatography. The addition of tween 80 and extract of Cordyceps sinensis mycelium effect on the activity of Saccharomyces cerevisiae in converting the sorghum starch into bioethanol, which can preserve viability of cell until the end of fermentation and produced higher ethanol yield. The production of bioethanol from sorghum starch results the best conditions on addition 20 ml of tween 80 and 2.0 grams of extract of Cordyceps sinensis mycelium in 96 hours fermentation time with concentration of bioethanol is 9,15024 mg/ml.

Keywords: *bioethanol, Cordyceps sinensis mycelium, hydrolysis, sorghum starch, tween 80*

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Krisis energi dan kebutuhan akan sumber energi yang ramah lingkungan menjadi masalah serius di dunia saat ini. Krisis energi disebabkan oleh besarnya konsumsi dan ketergantungan manusia pada bahan bakar fosil seperti minyak bumi (sekitar 47%), batubara (sekitar 27%) dan gas (sekitar 20%) (Poernomo, 2014). Oleh karena itu, perlu dilakukan pengembangan bahan bakar nabati untuk menggantikan bahan bakar minyak.

Bioetanol merupakan salah satu bahan bakar nabati yang akhir-akhir ini banyak

dikembangkan. Salah satu tanaman yang paling menjanjikan untuk dikembangkan menjadi bahan bakar pada daerah tropis, subtropis, dan gersang adalah sorgum. Sorgum sangat potensial ditanam di wilayah Riau yang memiliki lahan marginal yang luas, yaitu 5,7 hektar atau 64% wilayah Riau merupakan lahan gambut (Pemerintah Provinsi Riau, 2011), lahan gambut ini dapat dimanfaatkan dalam budidaya sorgum. Sorgum merupakan tanaman dengan efisiensi yang tinggi yaitu mencapai produksi 56 juta ton biji di

seluruh dunia pada tahun 2009 setelah jagung, gandum, padi dan barley (Serna-Saldívar et al., 2012) dan 7.695 ton di Indonesia pada tahun 2011 (Subagio dan Suryawati, 2013). Setiap hektar sorgum manis dapat menghasilkan 3160 liter bioetanol dari seluruh komponen tanamannya, sedangkan dari biji setiap 1 ton menghasilkan 380 liter bioetanol (ICRISAT, 2006). Biji sorgum merupakan salah satu sumber karbohidrat yang penting. Karbohidrat dan serat yang terdapat pada biji-bijian sorgum sekitar 72% (Barcelos et al, 2011).

Pati sorgum dapat dikonversi menjadi bioetanol melalui proses hidrolisis dan fermentasi. Proses hidrolisis pati dilakukan secara konvensional yang dilakukan dalam tiga langkah: gelatinisasi, likuifikasi dan sakarifikasi. Gelatinisasi merupakan langkah penting di mana butir pati dipanaskan dengan kelebihan air untuk meningkatkan wilayah amorf amilopektin dan aksesibilitas enzim. Di sisi lain, likuifikasi dilakukan oleh enzim α -amilase yang menghidrolisis ikatan kimia α - (1-4) dari pati, memproduksi dekstrin, maltosa, maltotriosa dan maltopentosa. Proses sakarifikasi dari pati yang terhidrolisis sebagian dilakukan oleh enzim glukamilase (amiloglukosidase). Enzim ini menghidrolisis ikatan kimia α - (1-4) dan α - (1-6), untuk mendapatkan produk seperti maltosa atau sirup D-glukosa (Ruiz et al., 2011). Metode hidrolisis enzimatik digunakan karena lebih ramah lingkungan dibandingkan dengan katalis asam. Setelah dihidrolisis, glukosa difermentasi dengan menambahkan yeast sehingga diperoleh bioetanol. Proses fermentasi dipilih *Saccharomyces cerevisiae*, karena dapat tumbuh dengan baik dan mempunyai toleransi yang tinggi terhadap alkohol serta mampu menghasilkan alkohol dalam jumlah yang banyak (Apriwinda, 2013). Kadar bioetanol yang sangat tinggi akan menyebabkan dinding sel yang terdiri dari senyawa organik larut, akibatnya dinding sel *Saccharomyces cerevisiae* akan lisis (hancurnya sel karena robeknya membran

plasma) sehingga menyebabkan mikroorganisme mati. Salah satu upaya mengatasi hal ini adalah dengan penambahan suplemen berupa tween 80 dan *Cordyceps sinensis mycelium*. Tween 80 berperan sebagai surfaktan untuk menurunkan tegangan permukaan cairan di sekitar sel *Saccharomyces cerevisiae* sehingga media fermentasi yang kental tidak memberikan efek negatif pada sel (Feng et al, 2006). Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan proses fermentasi pati sorgum menggunakan tween 80 dan ekstrak *Cordyceps sinensis mycelium* sebagai suplemen, sehingga diperoleh bioetanol dari pati sorgum yang lebih tinggi.

II. METODE PENELITIAN

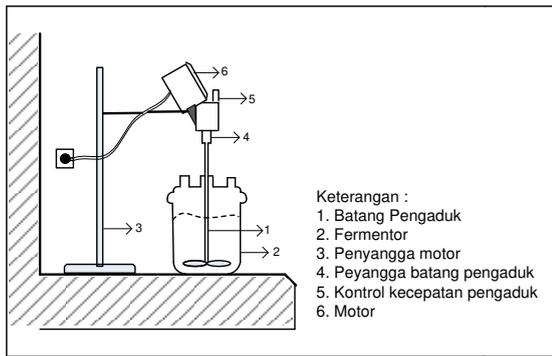
2.1 Bahan dan Alat

2.1.1 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Biji sorgum varietas numbu yang diperoleh dari pembibitan di UIN SUSKA Riau. *Yeast Saccharomyces cerevisiae* atau ragi kemasan Saf-Instant. Enzim α -amilase dan enzim glukamilase yang merupakan produk dari Suntaq International Limited. Reagen Nelson-Somogyi, aquadest, HCl, NaOH, Tween 80, ekstrak *Cordyceps sinensis mycelium*, glukosa, *yeast extract*, $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ (Urea) dan $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ (NPK).

2.1.2 Alat

Peralatan yang digunakan yaitu rangkaian alat fermentasi seperti ditampilkan pada Gambar 2.1 (reaktor 2 liter, pengaduk, motor pengaduk), autoklaf, erlenmeyer 250 ml, erlemeyer 2000 ml, shaker, inkubator, timbangan analitik, pH meter, *rotary evaporator*, gelas piala 250 ml, labu ukur, pipet tetes, gelas ukur, alkoholmeter, tabung reaksi, sentrifugasi, pengayak 60-80 mesh, *hot plate magnetic stirrer*, *vortex mixer*, dan termometer serta alat analisa (spektrofotometer UV-VIS dan *Gas Chromatography*).



Gambar 2.1 Rangkaian Alat Fermentasi

2.2 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian terdiri dari beberapa tahap sebagai berikut.

1. Persiapan Bahan Baku

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji sorgum. Sebelum digunakan biji sorgum dihaluskan terlebih dahulu. Penghalusan ini dapat meningkatkan luas permukaan. Biji sorgum yang telah dihaluskan kemudian di ayak dengan ukuran pengayak 60-80 mesh. Partikel yang berukuran kecil diperlukan karena dapat menyerap air dengan baik dan gelatinisasi menjadi mudah.

2. Pembuatan Kurva Standar

Kurva standar glukosa digunakan dalam penentuan konsentrasi glukosa dari substrat dengan metode Nelson-Somogyi (Sudarmadji et al., 1997). Kurva ini menyatakan hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi glukosa. Dengan kurva ini larutan yang mengandung gula (gula pereduksi) dapat diketahui konsentrasinya dengan menggunakan spektrofotometer sinar tampak.

3. Sterilisasi Peralatan

Alat-alat yang akan digunakan pada proses pembuatan, penyiapan starter dan proses fermentasi harus disterilisasi terlebih dahulu untuk mencegah terjadinya kontaminasi yang dapat mempengaruhi hasil fermentasi. Sterilisasi dilakukan pada suhu 121°C selama 15 menit dengan menggunakan autoklaf (Pelczar dan Chan, 2005).

4. Pembuatan Medium Inokulasi (Starter)

Medium inokulasi dibuat dengan melarutkan 20 g/l glukosa, 0,4 g/l $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ (Urea), 0,5 g/l $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ (NPK), dan 1 g/l yeast extract dalam 200 ml akuades. Kemudian di atur pH nya menjadi pH 4,5. Campuran tersebut di sterilkan dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Kemudian media pengembang tersebut di dinginkan sampai suhu kamar. Selanjutnya media pengembang ditambahkan *Saccharomyces cerevisiae* sebanyak 20 g/l dan di aduk pada shaker selama 24 jam. Fungsi shaker adalah mempermudah difusi oksigen ke dalam medium dan campuran menjadi homogen.

5. Penyiapan Medium Fermentasi(substrat)

a. Gelatinisasi

Pada penelitian ini medium gelatinisasi di buat dengan mencampurkan pati sorgum sebanyak 120 gram dalam 1800 ml akuades, kemudian di panaskan pada suhu 90°C selama 15 menit. Setelah proses gelatinisasi selesai, kemudian ditambahkan 0,4 g/l $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ (Urea), 0,5 g/l $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ (NPK), 1 g/l yeast extract dan tween 80 dengan variasi penambahan 15 ml, dan 20 ml. Selanjutnya medium di sterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Pelczar dan Chan, 2005).

b. Likuifikasi

Likuifikasi merupakan proses pemecahan pati menjadi gula kompleks (dextrin) oleh enzim alpha-amilase. Enzim alpha-amilase yang digunakan sebanyak 0,03 gram. Proses ini dilakukan pada suhu, konsentrasi, dan pH optimal enzim, selama selang waktu yang telah ditentukan untuk setiap jenis enzim yaitu pada suhu 60°C selama 1 jam dengan pH 6,0.

c. Sakarifikasi

Sakarifikasi merupakan proses pengubahan gula kompleks (dextrin) menjadi glukosa oleh enzim glukoamilase. Enzim glukoamilase yang digunakan sebanyak 0,8 gram. Proses ini juga dilakukan pada suhu, konsentrasi,

dan pH optimal enzim, selama selang waktu yang telah ditentukan untuk setiap jenis enzim, yaitu pada suhu 40°C selama 1 jam dengan pH 4,6. Setelah proses sakarifikasi selesai, sampel diambil untuk di analisa konsentrasi gula awal dengan metode Nelson-Somogyi menggunakan spektrofotometer.

6. Proses Fermentasi

Proses fermentasi dilakukan dalam reaktor berpengaduk 2 liter pada suhu kamar (25-30°C), dan pH 4,5. Medium inokulasi ditambahkan kedalam medium fermentasi sebanyak 10% dari volume total cairan fermentasi yaitu 2 liter. Setelah itu ditambahkan ekstrak *Cordyceps sinensis mycelium* dengan variasi penambahan 1,5 gr, dan 2 gr. Waktu fermentasi divariasikan pada 24, 48, 72 dan 96 jam untuk mengamati pengaruh waktu fermentasi terhadap bioetanol yang dihasilkan. Untuk setiap variasi, sampel diambil untuk di analisa konsentrasi gula substrat dengan menggunakan spektrofotometer dan analisa konsentrasi bioetanol dengan menggunakan *Gas Chromatography*.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Hidrolisis Enzimatik Pati Sorgum

Hidrolisis yang dilakukan dengan menggunakan enzim alpha-amilase dan enzim glukoamilase. Hidrolisis enzimatik memutus rantai pati secara spesifik pada percabangan tertentu dan merupakan proses yang ramah lingkungan (Axelsson, 2011). Gula hasil hidrolisis dianalisa dengan menggunakan metode Nelson-Samogyi agar diketahui kadar gula awal dari medium fermentasi. Berikut merupakan konsentrasi gula awal pati sorgum yang diperoleh dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS untuk masing-masing variabel. R1 dan R2 masing-masing merupakan sampel dengan penambahan tween 80 : ekstrak *Cordyceps sinensis mycelium* yaitu 15 ml : 1,5 gr; dan 20 ml : 2,0 gr .

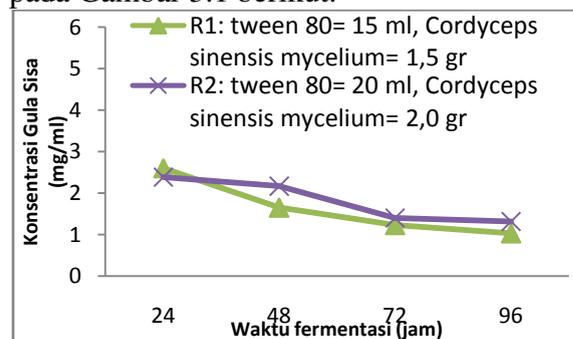
Tabel 3.1 Konsentrasi Gula Awal Hidrolisis Pati Sorgum

| Variabel | Konsentrasi Gula Awal (mg/ml) |
|------------------|-------------------------------|
| R1 | 21,2 |
| R2 | 20 |
| R3 | 20,8667 |
| R4 | 20,4667 |
| Rata-rata | 20,6333 |

Berdasarkan Tabel 3.1 diketahui konsentrasi gula awal tertinggi terdapat pada variabel R1 sebanyak 21,2 mg/ml dan konsentrasi rata-rata gula awal yaitu 20,6333 mg/ml. Adanya perbedaan konsentrasi gula awal dikarenakan proses hidrolisis dilakukan pada waktu yang berbeda. Konsentrasi larutan gula yang diperoleh dari proses hidrolisis akan digunakan sebagai substrat fermentasi.

3.2 Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Konsentrasi Gula Sisa Hasil Fermentasi

Analisa gula sisa bertujuan untuk melihat efektivitas sel dalam mengkonversi gula menjadi bioetanol. Pengaruh waktu terhadap konsentrasi gula sisa dapat dilihat pada Gambar 3.1 berikut.



Gambar 3.1 Hubungan Variasi penambahan Tween 80, Ekstrak *Cordyceps sinensis mycelium* dan Waktu Fermentasi terhadap gula sisa fermentasi.

Dari grafik tersebut terlihat bahwa gula yang dihasilkan menurun seiring dengan lamanya waktu fermentasi. Penurunan konsentrasi gula tersebut terjadi karena gula yang tersedia setiap waktunya terkonversi menjadi bioetanol akibat dari aktivitas sel ragi dan juga digunakan untuk makanan

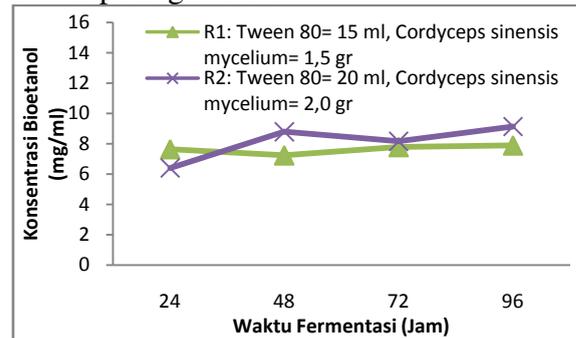
(sebagai sumber karbon) sel ragi dalam mempertahankan hidupnya, untuk pertumbuhan dan bereproduksi (Kurniawan et al, 2012). Selain diubah menjadi bioetanol, gula juga diubah menjadi asam-asam organik meskipun dalam jumlah sedikit.

Produksi bioetanol pada penelitian ini dilakukan dengan fermentasi secara anaerob. Pada keadaan anaerob, *Sacharomyces cerevisiae* tidak dapat mensintesis sterols dan asam lemak tak jenuh (Casey et al., 1984). Oleh karena itu, dilakukan penambahan tween 80 dan ergosterol yang terdapat pada *Cordyceps sinensis mycelium*. Tween 80 dapat meningkatkan permeabilitas membran, meningkatkan pelepasan enzim intraseluler, dan mendukung migrasi senyawa nutrisi ke dalam sel (Qi et al., 2009). Pada Gambar 3.1 dapat dilihat konsentrasi gula sisa pada akhir fermentasi bervariasi terhadap penambahan tween 80 dan ekstrak *Cordyceps sinensis mycelium*. Semakin banyak tween 80 dan ekstrak *Cordyceps sinensis mycelium* yang ditambahkan maka konsentrasi gula sisa di akhir fermentasi semakin banyak. Konsentrasi gula sisa pada R1 dan R2 berturut-turut adalah 1,0333 mg/ml, dan 1,3167 mg/ml. Menurut Qi et al. (2009), tween 80 berpengaruh terhadap konsumsi gula dan pertumbuhan mikroba. Tween 80 menjadi toksik pada konsentrasi tinggi yang menyebabkan pengrusakan struktur membran sel atau kehilangan fungsi dari membran sel.

3.3 Pengaruh Variasi Tween 80, Ekstrak *Cordyceps sinensis mycelium* dan Waktu Fermentasi Terhadap Perolehan Bioetanol

Sampel hasil fermentasi terlebih dahulu di *rotary evaporator* untuk memisahkan impuritis dari hasil fermentasi. Untuk menentukan konsentrasi bioetanol yang dihasilkan dari proses fermentasi pati sorgum digunakan alat *Gas Chromatography (GC)*. Konsentrasi bioetanol yang diperoleh didapatkan dengan memasukkan area sampel (area

etanol/area propanol) pada GC kedalam persamaan kurva standar etanol. Kemudian konsentrasi bioetanol yang diperoleh dikalikan dengan berat jenis etanol untuk mendapatkan konsentrasi bioetanol dalam mg/ml. Data yang diperoleh kemudian ditampilkan dalam bentuk hubungan waktu fermentasi terhadap konsentrasi bioetanol. Konsentrasi bioetanol yang diperoleh pada masing-masing variabel penelitian dapat dilihat pada gambar 3.2.



Gambar 3.2 Hubungan Variasi penambahan Tween 80, Ekstrak *Cordyceps sinensis mycelium* dan Waktu Fermentasi Terhadap Konsentrasi Bioetanol

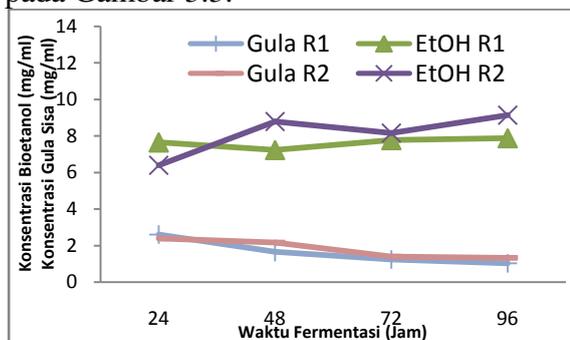
Berdasarkan Gambar 3.2. dapat dilihat bahwa hasil perolehan bioetanol relatif meningkat dengan konsentrasi bioetanol tertinggi terjadi pada waktu fermentasi 96 jam dengan penambahan tween 80 sebanyak 20 ml dan ekstrak *Cordyceps sinensis mycelium* sebanyak 2,0 gram diperoleh konsentrasi bioetanol sebesar 9,15024 mg/ml. Meningkatnya perolehan bioetanol terhadap lamanya waktu fermentasi disebabkan karena semakin lama waktu fermentasi maka aktivitas ragi semakin tinggi dalam mengkonversi glukosa menjadi bioetanol. Pada penambahan tween 80 sebanyak 15 ml dan ekstrak *Cordyceps sinensis mycelium* sebanyak 1,5 gram diperoleh konsentrasi bioetanol sebesar 7,89164 mg/ml pada waktu fermentasi 96 jam. Konsentrasi tertinggi pada masing-masing variabel di dapatkan pada waktu fermentasi 96 jam, hal ini merupakan pengaruh penambahan twen 80 dan ergosterol yang terdapat pada *Cordyceps sinensis mycelium*, sehingga

mampu mempertahankan kelangsungan hidup sel sampai akhir fermentasi.

Penambahan tween 80 dan ekstrak *Cordyceps sinensis mycelium* secara nyata mempengaruhi perolehan bioetanol yang dihasilkan. Selain itu penambahan tween 80 dapat meningkatkan daya serap ergosterol pada membran plasma dan aksesibilitass enzimatik (Mcallister *et al.*, 2000). Ergosterol dapat meningkatkan pertumbuhan mikroorganisme, kegiatan fermentasi, dan bioetanol yang dihasilkan dari hasil fermentasi (Chen *et al.*, 1990). Selain itu sterol (ergosterol) berperan penting bagi pertumbuhan dan metabolime ragi. Menurut Dawes dan Sutherland (1992) dalam (Deacon, 1997) ergosterol memberi peranan penting dalam regulasi osmotik, penyerapan nutrisi, sekresi, biosintesis dinding sel dan komponen utama membran plasma fungi dan khamir.

3.4 Hubungan antara Konsentrasi Gula Sisa terhadap Kadar Bioetanol

Bioetanol merupakan hasil perombakan gula dari proses glikolisis yang dilakukan oleh *Saccharomyces cerevisiae*. Secara teori, dari 1 molekul glukosa akan terbentuk 2 molekul bioetanol dan CO₂, sehingga berdasarkan bobotnya secara teoritis 1 gram glukosa akan menghasilkan 0,511 gram bioetanol dan 0,489 gram CO₂. Namun, Efisiensi fermentasi ragi umumnya diasumsikan 90% dan karena itu menghasilkan konversi maksimum 0,46 g EtOH/g glukosa (Öhgren *et al.*, 2007). Hubungan konsentrasi gula terhadap konsentrasi bioetanol dapat dilihat pada Gambar 3.3.



Gambar 3.3 Hubungan Konsentrasi Gula Terhadap Konsentrasi Bioetanol

Gambar 3.3 di atas menunjukkan bahwa dengan berkurangnya konsentrasi gula maka kadar bioetanol akan semakin meningkat. Hal ini menunjukkan bahwa gula yang dikonsumsi oleh mikroba akan dikonversi menjadi bioetanol. Namun, tidak semua gula yang dikonsumsi oleh mikroba dikonversi menjadi bioetanol. Maharani (2011) mengatakan bahwa gula pada proses fermentasi tidak hanya diubah menjadi bioetanol saja tetapi juga digunakan untuk pembentukan sel. Kelangsungan hidup sel, proses fermentasi, dan penyerapan gula berhubungan langsung dengan kondisi medium fermentasi. Produksi bioetanol dari pati sorgum menggunakan metode hidrolisis dan fermentasi yang merupakan proses biologi, dimana hasil yang diperoleh dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti temperatur dan pH. Temperatur yang rendah menyebabkan tingkat pertumbuhan sel yang rendah, sedangkan temperatur yang tinggi dapat mempersingkat fase *log* dari sel dan waktu maksimum fermentasi, namun dapat menghambat pertumbuhan sel. Hal ini disebabkan temperatur tinggi dapat menyebabkan denaturasi ribosom dan enzim serta masalah pada fluiditas membran. Temperatur ideal untuk fermentasi berkisar pada 20-35°C. Selain pengaruh temperatur, pH juga menjadi faktor penting pada fermentasi untuk produksi bioetanol. pH optimum pada proses produksi bioetanol secara anaerob berkisar pada pH 4,0-5,0. Ketika pH terlalu rendah atau terlalu tinggi, glukosa yang dikonsumsi terkonversi menjadi produk samping, sehingga membuat konversi etanol menurun (Lin *et al.*, 2012)

IV. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa kondisi maksimum dari fermentasi pati sorgum ini adalah pada variabel penambahan tween 80 20 ml dan ekstrak *Cordyceps sinensis mycelium* 2,0 gram serta waktu fermentasi 96 jam dengan perolehan konsentrasi bioetanol sebesar 9,15024 mg/ml.

DAFTAR PUSTAKA

- Apriwinda. 2013. *Studi Fermentasi Nira Batang Sorgum Manis (Sorghum Bicolor (L) Moench) Untuk Produksi Etanol*. Skripsi. Universitas Hasanuddin.
- Axelsson, J. 2011. *Separate Hydrolysis and Fermentation of Pretreated Spruce*. Master's Thesis. Linköping University.
- Barcelos, C., A., R. N. Maeda, G. J. V. Betancur and N. Pereira Jr. 2011. *Ethanol Production From Sorghum Grains [Sorghum Bicolor (L.) Moench]: Evaluation Of The Enzymatic Hydrolysis And The Hydrolysate Fermentability*. Brazilian Journal of Chemical Engineering. ISSN 0104-6632. Vol. 28, No. 04, pp. 597 – 604.
- Casey, G. P., Magnus, C. A. and Ingledew, W. M. 1984. *High-Gravity Brewing: Effects of Nutrition on Yeast Composition, Fermentative Ability, and Alcohol Production*. Applied and Environmental Microbiology, Sept. 1984, p. 639-646.
- Chen, C., Dale, M. C. and Okos, M. R. 1990. *Minimal nutritional requirements for immobilized yeast*. Biotechnology and Bioengineering 36: 993-1001.
- Dawes, I. W dan I. W. Sutherland. 1992. *Microbial Physiology (Basic Microbiology)*. Dunfermline: Willey-Blackwell.
- Deacon, J. W. 1997. *Modern Mycology*. Blackwell Scientific Publitions. London
- Feng, J., Y. Zeng, C. Ma, X. Cai, Q. Zhang, M. Tong, B. Yu, and P. Xu. 2006. *The surfactant tween 80 enhances biodesulfurization*. Applied and Environmental Microbiology 72 (11) : 7390-7393.
- ICRISAT. 2006. *Sweet sorghum : Food, Feed, Fodder and Fuel Crop*. <http://www.icrisat.org>. Diakses 28 Agustus 2015.
- Kurniawan,R., S.Juhanda., Melati Septiyanti., Yufithia Resgiaty. 2012. *Produksi Etanol Secara Continue dengan Sel Tertambat Menggunakan Bioreactor Tower Fluidized Bed*. Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia Kejuangan 2012. ISSN: 1693-4393.
- Lin, Y., W. Zhang, C. Li, K. Sakakibara, S. Tanaka, dan H. Kong. 2012. *Factors affecting ethanol fermentation using Saccharomyces cerevisiae BY4742*. Biomass and Bioenergy.
- Maharani, D. M. 2011. *Adaptasi Saccharomyces cerevisiae terhadap Asam Hidrolisat Ubi Kayu untuk Produksi Bioetanol*. Tesis. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Mcallister, T. A., K. Stanford, H. D. Bae, R. J. Treacher, A. N. Hristov, J. Baah, J. A. Shelford And K.-J. Cheng. 2000. *Effect Of A Surfactant And Exogenous Enzymes On Digestibility Of Feed And On Growth Performance And Carcass Traits Of Lambs*. Can. J. Anim. Sci. 80:35-44.
- Öhgren, K., Bura, R., Lesnicki, G., Saddler, J., and Zacchi, G. 2007. *A comparison between simultaneous saccharification and fermentation and separate hydrolysis and fermentation using steam-pretreated corn stover*. Process Biochemistry 42 (2007) 834–839.
- Pelczar, M. J., and E.C.S. Chan. 2005. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jilid 2. Jakarta: UI-press
- Pemerintah provinsi riau. 2011. *Profil: Konservasi Sumberdaya Alam dan Keanekaragaman Hayati Riau*. Riau: Badan Lingkungan Hidup.
- Poernomo, A. 2014. *Prospek Panas Bumi Untuk Mendukung Ketahanan Energi*. Dewan Energi Nasional. Pekanbaru.
- Qi, B., R. Yao, M. Lai1 and S. Deng. 2009. *Effect of Tween 80 on production of lactic acid by Lactobacillus casei*. Songklanakarin J. Sci. Technol. 31 (1), 85-89
- Ruiz, M. I., C. I. Sanchez, R. G. Torres and D. R. Molina. 2011. *Enzymatic Hydrolysis of Cassava Starch for Production of Bioethanol with a*

- Colombian Wild Yeast Strain*. J. Braz. Chem. Soc., Vol. 22, No. 12, 2337-2343.
- Serna-Saldívar, S. O., C. Chuck-Hernández, E. Pérez-Carrillo and E. Heredia-Olea. 2012. *Sorghum as a Multifunctional Crop for the Production of Fuel Ethanol: Current Status and Future Trends, Bioethanol*. Prof. Marco Aurelio Pinheiro Lima (Ed.). ISBN: 978-953-51-0008-9, InTech.
- Subagio, H. dan Suryawati. 2013. *Wilayah penghasil dan ragam penggunaan sorgum di Indonesia*. Maros: Balai Penelitian Tanaman Serealia
- Sudarmadji, S., Bambang Haryono., Suhardi., 1997. *Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan Dan Pertanian*. Liberty. Yogyakarta