BIOETANOL DARI LIMBAH KULIT SINGKONG (*Manihot esculenta* Crantz) MELALUI PROSES FERMENTASI

Bioethanol from Waste of Cassava Peel (*Manihot esculenta* Crantz) through Fermentation

*Erna, Irwan Said, dan Paulus H. Abram

Pendidikan Kimia/FKIP - Universitas Tadulako, Palu - Indonesia 94118

Received 08 June 2016, Revised 08 July 2016, Accepted 10 August 2016

Abstract

*Carbohydrates can be obtained from tubers such as cassava. Cassava is a plant from family euphorbiaceae and typical tropical plants. Cassava peel is a major waste that contains carbohydrates. The peel of cassava can be used as an energy source, namely ethanol. The purpose of this study is to determine the contents of ethanol through the fermentation process of cassava peel where obtainable from Malino village, Batu Daka West, Tojo Una-Una. The parameters in this study is content of ethanol that was obtained by fermentation using *saccharomyces cerevisiae* yeast. The fermentation process was conducted by varying day of fermentation, 4, 6, 8, and 10 days. The results showed the fermentation of ethanol with time variation respectively is 4.50, 5.20, 6.00 and 4.00%. In conclusion, it can be said that the highest ethanol content is 6.00% with the fermentation time of 8 days.*

Keywords: cassava peel (*Manihot esculenta* Crantz); *saccharomyces cerevisiae*; ethanol

Pendahuluan

Bahan bakar fosil yang digunakan sebagai sumber energi dapat menimbulkan pencemaran lingkungan. Pencemaran lingkungan tersebut berupa emisi CO₂ dan pemanasan global, gas rumah kaca seperti CO₂, CH₄, dan NO₂ yang dapat membentuk lapisan di atmosfer sehingga menahan panas yang akan keluar dari bumi akibatnya atmosfer bumi semakin panas (Sunarman & Juhana, 2013).

Penggunaan bahan bakar fosil selain mencemari lingkungan juga memiliki ketersediaan yang terbatas, sehingga menyebabkan krisis energi dunia. Krisis energi dunia merupakan masalah yang sedang dihadapi banyak negara termasuk Indonesia. Krisis ini terjadi akibat ketergantungan pemenuhan energi bahan bakar yang digunakan berasal dari bahan bakar fosil. Masalah ini dapat diatasi dengan upaya pemanfaatan sumber energi alternatif untuk dijadikan sebagai bahan bakar (Haryono dkk., 2010). Energi bahan bakar alternatif salah satunya adalah bioetanol yang dapat diproduksi dari bahan yang mengandung

karbohidrat dengan cara fermentasi glukosa dengan menggunakan ragi *saccharomyces cerevisiae* (Sriwulan, 2012)

Bahan yang mengandung karbohidrat dapat diperoleh dari umbi-umbian misalnya singkong (*manihot esculenta* crantz atau *manihot utilisima*). Singkong merupakan tanaman dalam family Euphorbiaceae dan tergolong tanaman tropis. Masyarakat umum telah menggunakan umbi singkong untuk produksi tepung tapioka dan sebagai pengganti makanan pokok. Kulit singkong mengandung karbohidrat cukup tinggi (Rukmana, 1997). Hasil analisa awal kulit singkong yaitu mengandung 36,5% pati atau amilum (Artiyani & Soedjono, 2011). Kulit singkong merupakan bagian kulit luar umbi singkong, tidak digunakan pada waktu penggunaan umbi singkong, hanya dijadikan untuk bahan pakan ternak. Tanaman singkong di Indonesia banyak diproduksi dan kulit singkong tersedia dalam jumlah yang sangat banyak dan belum dimanfaatkan dengan baik. Penggunaan singkong sebanyak 18,9 juta ton per tahun. Berarti limbah kulit dalam yang berwarna putih dapat mencapai 1,5-2,8 juta ton sedangkan limbah kulit luar yang berwarna coklat mencapai 0,04-0,09 juta ton (Hikmiyati & Yantie, 2008).

*Correspondence:

Erna

Program Studi Pendidikan Kimia, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Tadulako
email: erna.kazayara@yahoo.co.id

Published by Universitas Tadulako 2016

Limbah kulit singkong dapat dijadikan sebagai sumber energi berupa etanol. Kebutuhan etanol semakin meningkat baik sebagai pelarut, desinfektan, bahan baku pabrik kimia maupun sebagai energi alternatif pengganti bahan bakar minyak (BBM). Etanol (C_2H_5OH) adalah cairan dari proses fermentasi gula dari sumber karbohidrat menggunakan bantuan mikroorganisme. Bioetanol dapat juga diartikan sebagai bahan kimia yang diproduksi dari bahan pangan yang mengandung pati, seperti ubi kayu, ubi jalar, jagung, dan sagu. Bioetanol dapat juga dikatakan sebagai bahan bakar dari minyak nabati yang memiliki sifat menyerupai minyak premium. Etanol merupakan produk hasil fermentasi yang berasal dari sumber hayati. Bahan baku pembuatan etanol dapat berasal dari bahan yang mengandung selulosa, polisakarida, dan monosakarida. Kendala dalam proses pembuatan bioetanol yaitu mengacu pada empat besar aspek yaitu bahan baku, teknologi konversi, proses hidrolisis, dan konfigurasi fermentasi (Sarkar dkk., 2011)

Singkong merupakan tanaman yang mudah diperoleh di Sulawesi Tengah salah satu daerah penghasil singkong di Sulawesi Tengah yaitu di desa Malino Kecamatan Batu Daka Barat Kabupaten Tojo Una-Una. Selama ini masyarakat di desa Malino Kecamatan Batu Daka Barat mengolah singkong hanya terbatas pada umbinya sementara kulit dari singkong hanya menjadi limbah. Kulit singkong yang menjadi limbah ternyata masih perlu dimanfaatkan untuk diolah menjadi produk yang sangat berguna bagi masyarakat, singkong mengandung karbohidrat tinggi maka perlu dijadikan suatu penelitian mengenai pembuatan bioetanol dari kulit singkong.

Tulisan ini bertujuan untuk menentukan kandungan etanol melalui fermentasi kulit singkong yang diperoleh dari desa Malino Kecamatan Batu Daka Barat Kabupaten Tojo Una-Una. Parameter dalam penelitian ini adalah kadar etanol yang diperoleh melalui fermentasi dengan menggunakan ragi *Saccharomyces cerevisiae*.

METODE

Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu neraca analitik, erlenmeyer, gelas kimia, labu ukur, gelas ukur, pipet tetes, corong, penangas listrik, pH meter, batang pengaduk, aluminium foil, kertas saring, lumpang dan alu, ayakan No.40 mesh, *magnet*

stirrer, oven, pompa vakum, blender, 1 set evaporator, alkoholmeter dan spektrofotometer UV-vis T80+Pg-Instrument. Bahan kegiatan yang digunakan yaitu kulit singkong (*saccharomyces cerevisiae*), HCl (*Merck*), H_2SO_4 (*Merck K GaA*), $(NH_4)_2SO_4$ (ammonium sulfat) (*Merck*), NaOH (*Merck*), $(NH_2)_2CO_2$ (urea) (*Merck*), anthrone, aquades (H_2O) dan ragi (*Saccharomyces cerevisiae*).

Cara Kerja

Prosedur kerja yang dikembangkan pada penelitian ini merupakan modifikasi dari tahap-tahap produksi bioetanol dari kulit singkong yang telah dilaksanakan oleh (Artiyani & Soedjono, 2011). Beberapa tahap yang dilakukan dalam penelitian ini adalah :

Tahap pendahuluan

Kulit singkong segar direndam selama 3 hari lalu dipotong menjadi bagian-bagian yang lebih kecil dan ditimbang sebanyak 4 kg. Kulit singkong dikeringkan selama 5 hari dan diperoleh kulit singkong kering sebanyak 1,7 kg. Kulit singkong dihaluskan kemudian diayak dengan menggunakan ayakan 40 mesh. Setelah itu, kulit singkong hasil penggilingan dioven pada suhu ± 105 oC selama 2 jam

Tahap Delignifikasi

Pretreatment atau delignifikasi dilakukan dengan mengambil sebanyak 180 gram serbuk kulit singkong hasil pengayakan dimasukkan ke dalam erlenmeyer kemudian ditambahkan 2160 mL aquades dan 250 mL NaOH 10%, dipanaskan dan diaduk dengan menggunakan stirer selama 30 menit pada suhu 160 oC. Selanjutnya larutan disaring dengan menggunakan kertas saring. Residu hasil penyaringan dicuci dengan aquades sampai diperoleh pH netral lalu dioven pada suhu 105 °C selama 2 jam kemudian menggerusnya hingga halus dengan menggunakan lumpang dan alu dan mengayaknya dengan menggunakan ayakan 40 mesh.

Tahap Hidrolisis

Hasil delignifikasi selanjutnya dilakukan proses hidrolisis dengan menimbang 15 gram dari hasil ayakan pada tahap delignifikasi sebanyak 4 kali perlakuan. Masing-masing sampel tersebut dimasukkan ke dalam gelas kimia dan ditambahkan dengan larutan HCl 15%, HCl 7%, H_2SO_4 15% dan H_2SO_4 7% sebanyak 180 mL lalu dipanaskan pada suhu

100 °C selama 2 jam. Larutan disaring dengan menggunakan kertas saring. Filtrat yang diperoleh diukur kadar glukosanya dengan menggunakan spektrometer UV-vis.

Tahap Fermentasi

Proses fermentasi dilakukan dengan mengambil sebanyak 160 mL filtrat dari hasil hidrolisis ditambahkan dengan larutan NaOH 6 M hingga pH-nya menjadi 4,5. Kemudian ditambahkan dengan 14 gram ammonium sulfat dan 14 gram NH_4SO_4 lalu dipasteurisasi pada suhu 80 °C selama 15 menit. Setelah itu, ditambahkan dengan ragi (*Sacharomyces cerevisiae*) sebanyak 14 gram lalu larutan dibagi larutan menjadi 4 bagian dan ditutup dengan aluminium foil kemudian didiamkan selama 4 hari, 6 hari dan 8 hari dan 10 hari pada suhu 27-30 °C.

Tahap Pemisahan

Proses pemisahan dilakukan dengan memasukkan hasil fermentasi ke dalam erlenmeyer dan dipasang pada rangkaian alat evaporator. Pada proses ini dilakukan pemanasan pada suhu 78 °C. Kemudian masing-masing larutan hasil evaporasi ditentukan kadar etanol dengan menggunakan alkohol meter.

Hasil dan Pembahasan

Kulit singkong, (*Manihot Esculenta* Cranz atau *Manihot utilissima*) merupakan limbah utama pangan. Setiap kilogram singkong dapat menghasilkan 15-20% kulit singkong. Kandungan pati kulit singkong yang cukup tinggi, memungkinkan digunakan sebagai sumber energi bagi mikroorganisme (Muhiddin dkk., 2000)

Sampel kulit singkong pada tahap pendahuluan didelignifikasi untuk menghilangkan lignin karena lignin merupakan polimer yang memiliki dinding yang kokoh sehingga dapat menghambat proses hidrolisis dan menghambat pertumbuhan mikroba dalam proses fermentasi (Gunam dkk., 2010). Proses delignifikasi dalam penelitian ini menggunakan larutan NaOH 10% karena selain larutan ini dapat melarutkan lignin dan hemiselulosa juga dapat menyebabkan pengembangan struktur selulosa, sehingga selulosa dalam jaringan dapat dibebaskan (Fitriani dkk., 2013). Larutan NaOH dengan konsentrasi 10% merupakan konsentrasi yang optimum dalam memecah pati, selulosa, hemiselulosa dan komponen lainnya dalam kulit singkong dengan kandungan lignin yang tertinggal dalam tepung kulit singkong hanya sebesar 2,035% dan kadar glukosa

yang diperoleh sebesar 4,279% (Artiyani & Soedjono, 2011).

Akibat proses delignifikasi ini menyebabkan perubahan warna pada serbuk kulit singkong dari coklat menjadi coklat tua dan massanya mengalami penurunan dari 180 gram menjadi 153 gram. Proses delignifikasi secara umum dapat dilihat pada Gambar 1.

Gambar 1. Reaksi Delignifikasi pada Kulit Singkong (Cardona & Sanchez, 2007)

Serbuk kulit singkong dari hasil delignifikasi dicuci kemudian dioven pada suhu 65 oC selama 2 jam untuk menghilangkan kadar air dan selanjutnya dihaluskan kembali untuk dihidrolisis. Proses hidrolisis dilakukan sebanyak 4 kali perlakuan dengan masing-masing ditambahkan larutan HCl 15%, HCl 7%, H_2SO_4 15% dan H_2SO_4 7%. Penggunaan jenis dan konsentrasi asam yang berbeda adalah untuk mengetahui asam yang baik untuk menghidrolisis pati. Hidrolisis dilakukan selama 2,5 jam pada suhu 100 °C. Hidrolisis menyebabkan perubahan warna pada sampel. Perbedaan perubahan warna larutan setelah proses hidrolisis dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Perubahan warna larutan setelah hidrolisis

No.	Konsentrasi Asam	Warna
1.	HCl 15 %	Coklat Tua
2.	HCl 7 %	Coklat muda
3.	H_2SO_4 15 %	Coklat Tua
4.	H_2SO_4 7 %	Coklat muda

Perubahan warna karena selulosa telah diubah menjadi glukosa dan perbedaan perubahan warna disebabkan oleh perbedaan

kekuatan hidrolisis dari masing-masing asam. Tabel 1 menunjukkan kadar glukosa maksimum dari hasil hidrolisis yaitu pada HCl 15% dan H₂SO₄ 15% yang ditandai dengan filtrat berwarna coklat tua. Hal ini disebabkan telah terjadi degradasi sempurna hemiselulosa maupun selulosa menjadi glukosa. Tetapi konsentrasi asam yang tinggi akan mempengaruhi kekuatan hidrolisis asam yang menyebabkan terjadinya degradasi lanjut hemiselulosa dan selulosa menjadi karbon. HCl 7% dan H₂SO₄ 7% belum terjadi degradasi sempurna hemiselulosa maupun selulosa menjadi glukosa yang ditandai dengan filtrat berwarna coklat muda (Ariyani dkk., 2013)

Sampel hasil hidrolisis didinginkan kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring untuk memisahkan filtrat dan residu. Filtrat yang diperoleh diukur kadar glukosanya dengan menggunakan spektrometer UV-vis. Hidrolisis tujuannya untuk mendapatkan glukosa. Gugus H⁺ dari HCl dalam proses hidrolisis akan mengubah serat dari kulit singkong menjadi suatu gugus radikal bebas. Gugus radikal bebas tersebut akan berikatan dengan gugus OH⁻ dari molekul air dan menghasilkan glukosa. Jumlah glukosa yang dihasilkan bergantung pada konsentrasi larutan penghidrolisis yang digunakan. Jika dilakukan penambahan konsentrasi suatu larutan asam terlalu banyak, maka glukosa yang dihasilkan akan berkurang. Hal ini disebabkan banyaknya pembentukan gugus radikal bebas serat, akan tetapi penambahan konsentrasi tersebut menyebabkan semakin sedikitnya molekul air dalam larutan hidrolisis. Sehingga berkurangnya kebutuhan gugus OH⁻ sebagai pengikat gugus radikal bebas serat dan glukosa yang dihasilkan pula menjadi sedikit (Hikmiyati & Yantie, 2008). Mekanisme yang terjadi pada proses hidrolisis kulit singkong dapat ditunjukkan seperti pada Gambar 2.

Gambar 2. Mekanisme Reaksi Hidrolisis Kulit Singkong (Xiang dkk., 2003)

Filtrat dari hasil hidrolisis dianalisis kadar glukosanya untuk mengetahui asam yang paling baik digunakan dalam proses hidrolisis. Pada penelitian ini analisis kadar glukosa menggunakan metode anthrone yang merupakan salah satu metode yang digunakan untuk menentukan kadar gula pereduksi dengan menggunakan pereaksi anthrone. Metode anthrone menggunakan larutan standar dan larutan blanko. Pembuatan larutan standar dengan melarutkan 0,2 mg glukosa standar dalam 100 mL aquades. Kemudian membuat deret glukosa yaitu 0 ppm, 40 ppm, 80 ppm dan 100 ppm untuk memperoleh kurva standar. Selanjutnya membuat larutan blanko sebanyak 4 kali perlakuan lalu masing-masing larutan tersebut diambil sebanyak 1 mL kemudian ditambahkan pereaksi anthrone sebanyak 5 mL dan dipanaskan selama 12 menit lalu didinginkan dalam wadah berisi air selanjutnya diukur absorbansi larutan pada panjang gelombang 630 nm dengan menggunakan Spektrometer UV-Vis. Hasil pengukuran kadar glukosa secara spektrofotometer dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Analisis kadar glukosa hasil hidrolisis

No.	Hidrolisis	Glukosa (%)
1.	HCl 15 %	9,9
2.	HCl 7 %	0,6
3.	H ₂ SO ₄ 15 %	5,9
4.	H ₂ SO ₄ 7 %	7

Kadar glukosa terbanyak diperoleh pada HCl 15%. Hal ini disebabkan gugus H⁺ dari HCl membentuk radikal bebas dari serbuk kulit singkong yang kemudian bereaksi dengan gugus OH⁻ dari air dan menghasilkan glukosa (Hikmiyati & Yantie, 2008). HCl 7% jumlah H⁺ belum mencukupi sehingga tidak banyak terbentuk radikal bebas dan glukosa yang dihasilkan belum maksimal. H₂SO₄ 15% dan H₂SO₄ 7% konsentrasi asam yang tinggi untuk asam kuat akan menyebabkan jumlah air semakin menurun sehingga glukosa yang dihasilkan sedikit.

Sampel dengan kadar glukosa tertinggi dari hasil hidrolisis yaitu 9,9% difermentasi untuk memperoleh etanol. Sebelum dilakukan fermentasi filtrat hasil hidrolisis dinaikkan pHnya hingga pH mencapai 4,5 sesuai dengan pendapat (Azizah dkk., 2012) bahwa kisaran

pertumbuhan mikroba *Saccharomyces cerevisiae* yaitu pH 3,5-6,5 dan pada pH 4,5 adalah kondisi pH yang optimal. Selanjutnya sampel ditambahkan masing-masing 14 gram urea dan ammonium sulfat.

Mikroba yang digunakan pada proses fermentasi yaitu ragi *Saccharomyces cerevisiae* sebesar 14 gram dengan terlebih dahulu dilakukan penambahan masing-masing 14 gram urea dan ammonium sulfat sebagai nutrisi dalam proses fermentasi. Selanjutnya campurannya dipasteurisasi dalam penangas air dengan menggunakan suhu 30 °C selama 30 menit untuk menambah daya simpan larutan. Selanjutnya filtrat dibagi dalam 4 bagian untuk difermentasi dengan variasi hari yaitu 4 hari, 6 hari, 8 hari dan 10 hari. Variasi hari dilakukan untuk mengetahui lama penyimpanan yang baik untuk menghasilkan kadar etanol. Mikroba *Saccharomyces cerevisiae* akan tumbuh optimal dalam kisaran suhu 30-35 °C dan puncak produksi alkohol dicapai pada suhu 33 °C. Suhu yang terlalu rendah akan menyebabkan fermentasi berlangsung lambat, dan pada suhu yang terlalu tinggi menyebabkan mikroba *Saccharomyces cerevisiae* akan mati sehingga proses fermentasi tidak dapat berlangsung (Azizah dkk., 2012). Lama fermentasi dipengaruhi oleh beberapa faktor baik yang secara langsung maupun yang tidak langsung berpengaruh terhadap proses fermentasi antara lain substrat, suhu, pH, oksigen, dan mikroba yang digunakan dalam proses fermentasi tersebut (Kunaepah, 2008).

Penelitian ini menggunakan ragi *Saccharomyces cerevisiae* karena mikroba *Saccharomyces cerevisiae* memiliki beberapa kelebihan dibandingkan mikroba lain, *Saccharomyces cerevisiae* dapat menghasilkan alkohol hingga 2% dalam 72 jam (O'Leary dkk., 2004). Mikroba *Saccharomyces cerevisiae* menghasilkan enzim invertase dan enzim zimase dengan adanya kedua enzim tersebut mikroba *Saccharomyces cerevisiae* dapat mengkonversi gula menjadi etanol. Gula dari kelompok disakarida akan dihidrolisis enzim invertase menjadi monosakarida selanjutnya enzim zimase akan mengkonversi monosakarida menjadi alkohol dan karbondioksida (Judoamidjojo dkk., 1992).

Hasil fermentasi dipisahkan dengan menggunakan evaporator, proses pemisahan dilakukan pada suhu 79 °C dengan bertujuan untuk memisahkan suatu cairan dari

campurannya berdasarkan titik didihnya. Senyawa yang menguap terlebih dahulu adalah etanol karena memiliki titik didih paling rendah yaitu 78,3 °C. Dibandingkan dengan pelarutnya seperti air yaitu 100 °C (Artiyani & Soedjono, 2011). Selanjutnya dilakukan pengukuran kadar etanol dengan menggunakan alkohol meter. Hasil pengukuran kadar etanol dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Analisis kadar etanol hasil fermentasi

No.	Hari Fermentasi	Kadar Etanol (%)
1.	4	4,50
2.	6	5,20
3.	8	6,00
4.	10	4,00

Berdasarkan Tabel 3. Dilihat bahwa terjadi peningkatan kadar etanol dari hari ke-4, hari ke-6 sampai hari ke-8 hal ini menunjukkan bahwa semakin lama fermentasi maka kadar etanol yang dihasilkan semakin tinggi karena pertumbuhan mikroba yang semakin cepat. Hari ke-10 terjadi penurunan kadar etanol karena pada fermentasi lanjut etanol telah dikonversi menjadi senyawa lain seperti asam karboksilat dan lebih lanjut dikonversi menjadi ester. Hal ini sesuai mekanisme reaksi pengubahan alkohol dan asam karboksilat menjadi ester seperti yang ditunjukkan pada reaksi berikut (Prismasiswa, 2014):

Kesimpulan

Fermentasi kulit singkong Kabupaten Tojo Una-Una menghasilkan kadar glukosa sebesar 9,9% dengan etanol tertinggi sebesar 6,00% pada waktu fermentasi 8 hari. 1.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Lab. Agroteknologi FAPERTA, Lab. FKIP KIMIA UNTAD dan semua pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian ini.

Referensi

- Ariyani, E., Ekusumo, E., & Supartono. (2013). Produksi bioetanol dari jerami padi (*oryza sativa* L.). *Jurnal Institut Teknologi Nasional*, 2(2), 168 – 172.

- Artiyani, A., & Soedjono, E. S. (2011). Bioetanol dari limbah kulit singkong melalui proses hidrolisis dan fermentasi dengan *saccharomyces cerevisiae*. *Prosiding Seminar Nasional Manajemen Teknologi XIII*. Surabaya: FTSP Institut Teknologi Sepuluh Nopember.
- 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 substitusi kulit nanas. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 1(2), 72-77.
- Cardona, A., & Sanchez, O. J. (2007). Feul ethanol production process design trends and integration opportunities. *Bioresource Technology*, 98(12), 45-57.
- Fitriani, Bahri, S., & Nurhaeni. (2013). Produksi bioetanol tongkol jagung (zea mays) dari hasil proses delignifikasi. *Jurnal Natural Science*, 2(3), 66-74.
- Gunam, I. B. W., Buda, K., & Guna, M. Y. S. (2010). Pengaruh perlakuan delignifikasi dengan larutan NaOH dan konsentrasi substrat jerami padi terhadap produksi enzim selulase dari *aspergillus niger* NRRL A-II, 264. *Jurnal Biologi*, XIV(1), 55-61.
- Haryono, R. Kurniawan, Nurhayani, A. & Soviyani, D. A. (2010). Pembuatan bioetanol dari bahan berbasis selulosa. *Jurnal intitut teknologi nasional*, 2(4), 1-7.
- Hikmiyati, N., & Yantie, N. S. (2008). *Pembuatan bioetanol dari limbah kulit singkong melalui proses hidrolisa asam dan enzimatik*. Skripsi, Universitas Diponegoro.
- Judoamidjojo, M., Darwis, A. A. & Sa'id, E. G. (1992). *Teknologi fermentasi*. Jakarta: Rajawali Pers.
- Kunaepah, U. (2008). *Pengaruh lama fermentasi dan konsentrasi glukosa terhadap aktivitas antibakteri, polifenol total dan mutu kimia kefir susu kacang merah*. Thesis, Universitas Diponegoro.
- Muhiddin, N., Juli, N. & Aryantha, I. N. P. (2000). Peningkatan kandungan protein kulit umbi kayu melalui proses fermentasi. *Jurnal Matematika dan Sains*, 6(1), 1-12.
- O'Leary, V. S., Green, R., Sullivan, B. C., & Holsinger, V. H. (2004). Alcohol production by selected yeast strains in lactase hydrolyzed acid whey. *Jurnal Biotechnology and Bioengineering*, 19(7), 1019-1035.
- Prismasiswa. (2014). *Senyawa karbon*. Retrieved from Retrieved from <http://www.primasiswa.com/posts/>. Diakses 27 Desember 2014.
- Rukmana, R. (1997). *Ubi kayu budidaya paskapanen*. Jakarta: Kanisius.
- Sarkar, N., Ghosh, S. K., Bannerjee, S. & Aikat, K. (2011). Bioethanol production from agricultural wastes: An overview. *Jurnal Renewable Energy*, 37, 19-27.
- Sriwulan, D. (2012). *Pembuatan bioetanol dari biji durian sebagai energi alternatif*. Retrieved from Retrieved from file:///G:/Proposal%20Titiy/Sriwulan%20D atau%20%20 Pembuatan %20Bioetanol%20. Diakses 27 Desember 2014.
- Sunarman, B., & Juhana, R. (2013). Pemanfaatan limbah sawit untuk bahan bakar energi baru dan terbarukan (ebt). *Jurnal Tekno Intensif Kopwil*, 2, 1-14.
- Xiang, Q., Lee, Y. Y., Pettersson, P. O., & Torget, R. W. (2003). Heterogeneous aspects of acid hydrolysis of a cellulose. *Journal Humana Press*, 107(1), 505-514.