



**POTENSI YEAST DALAM FERMENTASI ALGINOFIT
Sargassum polycystum C.A Agardh DENGAN HIDROLISIS ASAM
SULFAT UNTUK PEMBUATAN BIOETANOL**

Nur Indah Febriani^{*)}, Ali Ridlo, AB. Susanto

*Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas
Diponegoro Kampus Tembalang, Semarang 50275 Telp/Fax. 024-7474698*

Email : Journalmarineresearch@gmail.com

A B S T R A K

Kebutuhan energi merupakan masalah besar yang dihadapi oleh bangsa Indonesia, karena energi yang digunakan saat ini berasal dari bahan bakar fosil yang jumlahnya terbatas dan *non-renewable*. Salah satu solusi untuk mengatasi krisis energi adalah dengan menggunakan bioetanol. Pemanfaatan biomassa selulosa dari rumput laut *S. polycystum* diharapkan dapat mengatasi permasalahan kebutuhan energi. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan konsentrasi optimum asam sulfat pada proses hidrolisis serbuk kasar rumput laut *S. polycystum*, serbuk halus rumput laut *S. polycystum*, Na alginat *S. polycystum* dan sodium alginat; mengetahui pengaruh yeast serta lama fermentasi terhadap bioetanol yang dihasilkan. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial dan tiga ulangan untuk proses hidrolisis. Fermentasi dilakukan selama 3 hari (72 jam), pengukuran kadar etanol dilakukan setiap 24 jam dengan 3 kali ulangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa serbuk halus rumput laut *S. polycystum* dengan konsentrasi H₂SO₄ optimum 0,1 M mempunyai kadar gula reduksi tertinggi. Bioetanol optimum dicapai menggunakan yeast *S. cerevisiae*. Kadar bioetanol optimum dicapai pada lama fermentasi 72 jam yaitu (0,8167% v/v ± 0,1530).

Kata Kunci : Bioetanol, rumput laut *S. polycystum*, hidrolisis, fermentasi, yeast

A B S T R A C T

Energy needs is a major problem faced by Indonesian people, because of the energy used these days comes from fossil fuels which are limited and non-renewable. One of the solutions to overcome the energy crisis is to use bioethanol. Utilizing cellulosic biomass from seaweed *S. polycystum* which can be expected to overcome the energy needs problem. This research aims to determine the optimum concentration of sulfuric acid on the process of hydrolysis of seaweed *S. polycystum* coarse powder, seaweed *S. polycystum* fine powder, Na alginate *S. polycystum* and sodium alginate; to investigate the effect of yeasts and the duration of fermentation towards ethanol produced. The method used in this study is experimental with complete random design (RAL) factorial pattern and three repetitions for the hydrolysis process. Fermentation was done for 3 days (72 hours), the measurement of ethanol was done every 24 hours with 3 repetitions. The results showed that the seaweed *S. polycystum* fine powder with the concentration of H₂SO₄ 0,1 M optimum has the highest sugar content reduction. Optimum bioethanol was achieved by using *S. cerevisiae* yeast with time duration of fermentation at 72 hours (0,8167% v/v ± 0,1530), respectively.

Keywords : bioethanol, seaweed *S. polycystum*, hydrolysis, fermentation, yeast

**) Penulis penanggung jawab*



PENDAHULUAN

Perkembangan kegiatan ekonomi dan pertambahan jumlah penduduk saat ini mendorong meningkatnya kebutuhan manusia akan energi setiap tahunnya, hal ini ditunjukkan kian bertambah output serta beragam aktivitas ekonomi yang dilakukan oleh masyarakat, sehingga peningkatan kebutuhan energi adalah suatu hal yang tak bisa dihindari (Syariep, 2005 dalam Prahastha, 2010). Kementerian Energi dan Sumberdaya Mineral (2006) mencatat bahwa terjadinya pertumbuhan yang cukup substansial dalam permintaan energi di Indonesia pada kurun waktu 1990-2005, yaitu dengan rata-rata pertumbuhan konsumsi sebesar 4,08% per tahun. Pada akhir tahun 2005, konsumsi energi di Indonesia mencapai angka sekitar 816.762 SBM (Setara Barel Minyak) dan minyak menjadi jenis energi yang paling dominan sebesar 524.045 SBM.

Permasalahan energi bagi kelangsungan hidup manusia merupakan masalah besar yang dihadapi oleh hampir seluruh negara di dunia. Tidak lagi ditemukannya cadangan sumber energi khususnya minyak bumi dalam jumlah yang besar pada rentang waktu terakhir membuat hampir seluruh dunia menjadikan permasalahan energi menjadi permasalahan besar yang perlu ditangani secara serius (Manurung, 2011).

Seiring dengan bertambahnya penduduk dan pertumbuhan ekonomi di Indonesia, serta menipisnya cadangan minyak bumi, maka dicari energi alternatif untuk menunjang kebutuhan akan energi. Salah satu alternatif penyediaan energi adalah bioetanol. Bioetanol merupakan Bahan Bakar Nabati (BBN) yang berasal dari biomassa yang mengandung pati, gula, dan selulosa yang disederhanakan, kemudian di lanjutkan ke proses fermentasi (Samsuri et al., 2007). Bioetanol memiliki keunggulan dibandingkan bahan bakar fosil,

diantaranya dapat diperbaharui, memiliki nilai oktan yang lebih tinggi dan bersifat ramah lingkungan (Ishom et al., 2007).

Rumput laut merupakan salah satu biomassa yang berpotensi sebagai bahan baku untuk memproduksi bioetanol (Aizawa et al., 2007). Komponen utama dalam rumput laut adalah karbohidrat (gula dan gum). Komponen ini berpotensi untuk dikonversi menjadi bioetanol. Selain itu, komponen lain yang terdapat dalam jumlah kecil di antaranya adalah protein, lemak dan abu yang sebagian besar tersusun dari sodium dan potassium (Ishibashi dan Yamamoto, 1960). Rumput laut yang dapat digunakan antara lain dari jenis *Sargassum* sp.

Rumput laut jenis *S. polycystum* C.A Agardh, merupakan rumput laut yang banyak di jumpai di perairan Indonesia (Yulianto et al., 2010). Keberadaan *S. polycystum* hingga saat ini belum banyak dimanfaatkan, dan hanya terbatas pada produk alginat. Oleh karena itu, ada harapan terhadap produksi energi dari rumput laut sebagai langkah mengatasi permasalahan bahan bakar.

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan konsentrasi optimum asam sulfat pada proses hidrolisis serbuk kasar rumput laut *S. polycystum*, serbuk halus rumput laut *S. polycystum*, Na alginat *S. polycystum* dan sodium alginat; mengetahui pengaruh yeast serta lama fermentasi terhadap bioetanol yang dihasilkan.

MATERI DAN METODE

Materi penelitian yang digunakan adalah rumput laut *S. polycystum* C.A. Agardh yang diperoleh dari perairan Teluk Awur, Kabupaten Jepara, Provinsi Jawa Tengah. Sodium alginat diperoleh dari distributor komersial di Jakarta. Biakan mikroba *S. Cerevisiae* yang diperoleh dari koleksi kultur mikroba Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi LIPI, Cibinong.

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode Eksperimental dengan rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial dan tiga ulangan. Perlakuan berupa perbedaan jenis sampel dan perbedaan konsentrasi asam sulfat. Faktor perbedaan jenis sampel terdapat empat macam yaitu serbuk halus rumput laut *S. polycystum*, serbuk kasar rumput laut *S. polycystum*, Na alginat dan sodium alginat.



Gambar 1. Sampel yang digunakan yaitu Sodium alginat (1a), serbuk halus rumput laut *S. polycystum* (1b), serbuk kasar *S. polycystum* (1c) dan natrium alginat hasil ekstraksi *S. polycystum* (1d).

Hasil hidrolisis pada uji pendahuluan menunjukkan perlakuan dengan materi serbuk halus rumput laut *S. polycystum* yang dihidrolisis menggunakan larutan H_2SO_4 0,1 M menghasilkan kadar gula reduksi paling tinggi, sehingga materi dan konsentrasi tersebut digunakan pada proses fermentasi. Proses fermentasi menggunakan inokulan yeast *S. cerevisiae*, fermentasi selama 72 jam, pengukuran kadar etanol dilakukan setiap 24 jam.

a. HIDROLISIS

Sampel rumput laut *S. polycystum* serbuk halus, rumput laut *S. polycystum* serbuk kasar, Na alginat dan sodium alginat, masing-masing sampel ditimbang sebanyak 10 gram, dimasukkan kedalam erlenmeyer yang telah berisi 100 ml larutan H_2SO_4 dengan konsentrasi 0 M (Aquadest); 0,02 M; 0,04 M; 0,06 M; 0,08 M; 0,1 M; 0,2 M; 0,3 M; 0,4 M; dan 0,5 M. Setiap konsentrasi dibuat 3 kali

pengulangan. Erlenmeyer dimasukkan kedalam autoclave selama 15 menit pada suhu 121 °C. Setelah selesai, sampel didinginkan sampai suhunya sama dengan suhu ruangan, kemudian sampel disaring dan dilakukan analisa kadar gula reduksi dengan metode Miller (1959).

b. PENGUKURAN GULA REDUKSI

Larutan hasil hidrolisis dianalisa kadar gula reduksinya dengan menambahkan reagen DNS (*Dinitrosalicylic acid*). Sampel hasil hidrolisis diambil sebanyak 250 µl kemudian ditambahkan 500 µl reagen DNS (*Dinitrosalicylic acid*) dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian divortex. Larutan yang telah homogen ditutup menggunakan kelereng, kemudian ditempatkan pada pemanas air suhu 100°C selama 5 menit, setelah itu larutan didinginkan dan ditambahkan aquadest sebanyak 5000 µl dan kemudian dihomogenkan menggunakan vortex. Penambahan reagen DNS (*Dinitrosalicylic acid*) bertujuan untuk membentuk asam 3-amno-5-nitrosilicylic yang menyerap cahaya kuat pada saat pembacaan menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 540 nm (Miller, 1959).

c. PENYIAPAN INOKULUM YEAST

Isolat yeast diperoleh dari koleksi Laboratorium Biokimia Mikroba, Pusat Penelitian Biologi LIPI Cibinong. Isolat yang didapatkan diremajakan dengan cara memindahkan pada media PDA (*Potato Dextrose Agar*) yang berada di cawan petri dan diinkubasi selama 48 jam. Untuk mengetahui pertumbuhan yeast, dibuat kurva pertumbuhan dengan media PDB (*Potato Dextrose Broth*) dengan komposisi : 100 ml ekstrak kentang dengan menambahkan 2 gram dextrose, inkubasi selama 24 jam, kemudian diukur kepadatan sel menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm. Suspensi yeast di inokulasikan sebanyak 10 % kedalam media fermentasi.

d. FERMENTASI

Proses fermentasi menggunakan sampel serbuk halus rumput laut *S. polycystum* C.A. Agardh karena larutan hasil hidrolisis memiliki kadar gula reduksi terbaik dengan konsentrasi H_2SO_4 0,1 M. Sebanyak sembilan puluh mililiter larutan hasil hidrolisis (pH 4,5) dimasukkan dalam botol fermentasi, seratus mililiter aquadest disiapkan dalam botol yang berbeda, kemudian sampel dimasukkan kedalam *Autoclave*, *Autoclave* digunakan untuk sterilisasi larutan pada suhu 121 °C selama 15 menit. Selanjutnya, larutan dipindahkan dalam *Laminar Air Flow* (LAF) untuk diinokulasi yeast. 10% inokulan yeast *S. Cerevisiae* dimasukkan dalam botol yang berisi hasil hidrolisis. Inkubasi dilakukan diatas magnetik strirer. Fermentasi selama 72 jam dan dilakukan sampling setiap 24 jam. Hasil sampling dianalisa kadar gula reduksi menggunakan metode Miller (1959) dan kadar etanol menggunakan *Gas Chromatography*.

e. PENGUKURAN KADAR BIOETANOL

Pengukuran kadar bioetanol dilakukan menggunakan *Gas Chromatography* (GC-14B) Shimadzu FID system. GC dioperasikan pada tekanan udara 100 kpa, gas pembakar H_2 100 kpa dan gas pembawa N_2 300 kpa. Untuk memulai pengukuran, setiap 1 μ l standart atau sampel diinjeksikan pada injektor suhu 170 °C, yang dilengkapi kolom *Porapak Q* (80%;170 °C). Detektor (*FID/hydrogen flame ionization detector*) dipasang pada suhu 170 °C. Hasilnya dicatat pada alat *Chromatopac C-R6A* (Shimadzu).

f. ANALISIS DATA

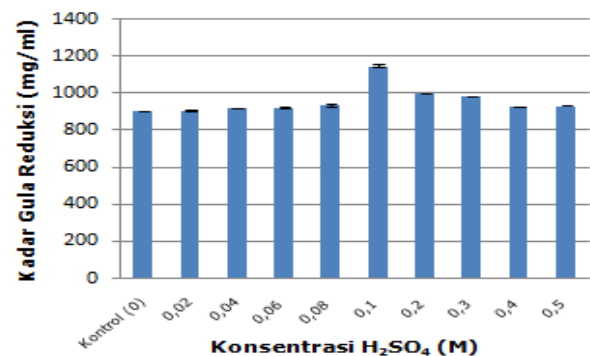
Data hasil penelitian dianalisis secara statistik menggunakan program SPSS (*Statistical Product and Service Solution*) Versi 18.0. Analisis data dilakukan dengan menggunakan analisis *General linear model* (GLM) *Repeated measures* dan analisis ragam (Anova) pada taraf

kepercayaan 95 persen ($P < 0,05$). Jika hasil analisis ragam berbeda nyata, dilanjutkan dengan uji lanjut DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) pada taraf kepercayaan 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

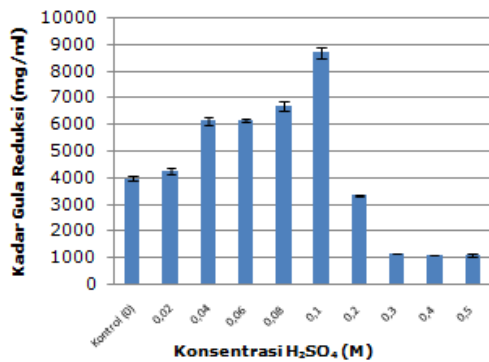
Uji pengaruh perbedaan konsentrasi asam sulfat dilakukan untuk menentukan pengaruh konsentrasi asam sulfat terhadap gula reduksi yang dihasilkan.

Hasil hidrolisis menggunakan sampel sodium alginat, dengan berbagai konsentrasi H_2SO_4 menunjukkan bahwa kadar gula reduksi berada diatas kontrol (0M). Kadar gula reduksi optimum berada pada konsentrasi H_2SO_4 0,1 M yaitu 1146,75mg/ml \pm 8,04 (Gambar 2).



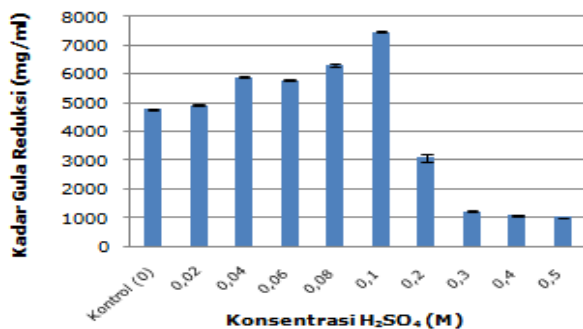
Gambar 2. Kadar Gula Reduksi Hasil Hidrolisis Sodium Alginat

Hidrolisis sampel serbuk halus *S. polycystum* menggunakan berbagai konsentrasi H_2SO_4 , menunjukkan konsentrasi optimum 0,1 M dengan kadar gula reduksi tertinggi yaitu 8662,54mg/ml \pm 206,02, sedangkan kadar gula reduksi terendah pada konsentrasi 0,5 M yaitu 1059,03mg/ml \pm 51,92.



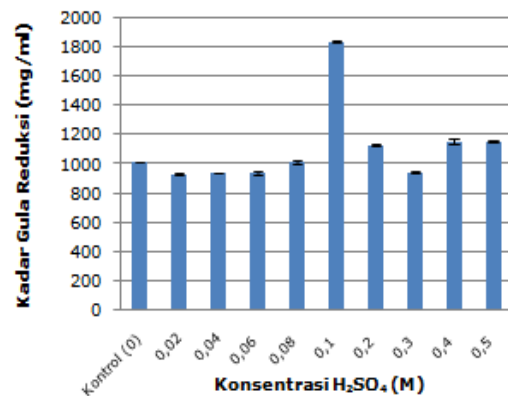
Gambar 3. Kadar Gula Reduksi Hasil Hidrolisis Serbuk Halus *S. polycystum*

Hidrolisis sampel serbuk kasar *S. polycystum* menggunakan berbagai konsentrasi H₂SO₄, menunjukkan konsentrasi optimum 0,1 M dengan kadar gula reduksi tertinggi yaitu 7478,33mg/ml±39,49, sedangkan kadar gula reduksi terendah pada konsentrasi 0,5 M yaitu 1009,91mg/ml±8,03.



Gambar 4. Kadar Gula Reduksi Hasil Hidrolisis Serbuk Kasar *S. polycystum*

Hidrolisis sampel Na Alginat *S. polycystum* menggunakan berbagai konsentrasi H₂SO₄, menunjukkan konsentrasi optimum 0,1 M dengan kadar gula reduksi tertinggi yaitu 1829,21mg/ml±5,26, sedangkan nilai gula reduksi terendah pada konsentrasi 0,02 M yaitu 927,45mg/ml±6,07.



Gambar 5. Kadar Gula Reduksi Hasil Hidrolisis Na Alginat *S. polycystum*

Fermentasi serbuk halus *S. polycystum* yang dihidrolisis dengan H₂SO₄ 0,1 M, karena memiliki kadar gula reduksi tertinggi diantara sampel lainnya. Proses fermentasi dilakukan menggunakan yeast *S. Cerevisiae*. Kadar etanol yang dihasilkan selama prses fermentasi dianalisis menggunakan *Gas Chromatography* (GC). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar etanol tertinggi dihasilkan pada waktu fermentasi 72 Jam yaitu (0,8167% v/v±0,1530).

PEMBAHASAN

Secara umum kandungan gula reduksi cenderung meningkat seiring dengan semakin tinggi konsentrasi H₂SO₄. Pola tersebut terlihat pada hasil hidrolisis semua sampel penelitian dimana terjadi peningkatan kadar gula reduksi pada konsentrasi H₂SO₄ 0,1 M dan pada konsentrasi tinggi kadar gula reduksi semakin menurun. Hal ini diduga karena peningkatan konsentrasi asam yang terlalu tinggi akan menurunkan glukosa yang dihasilkan, karena glukosa yang terbentuk akan terdegradasi lebih lanjut. Menurut Somaatmadja (1973), bila larutan glukosa dipanaskan dalam lingkungan asam, maka akan terbentuk senyawa furfural dan 5-hidroksi metil furfural (HMF) akibat terjadinya penguraian glukosa, HMF ini akan terus bereaksi membentuk asam-asam organik seperti asam levulinat dan asam format.

Hal ini juga sesuai dengan pernyataan Tsao *et al.* (1978) bahwa asam kuat menyebabkan degradasi glukosa hasil hidrolisis.

Hasil penelitian menunjukkan hasil hidrolisis dari serbuk halus *S. polycystum* memiliki kadar gula reduksi terbaik. Perbedaan hasil tersebut diduga karena pengaruh perbedaan jenis bahan dan komposisi kimia bahan, dimana pada Na alginat dan Sodium alginat, kandungan selulosa pada rumput laut telah terpisah saat proses ekstraksi alginat. Sehingga kadar gula reduksinya lebih kecil dibanding *S. polycystum*.

Menurut Syamsudin dan taufik (2008), selulosa didefinisikan sebagai karbohidrat yang dalam jumlah besar terkandung dalam lapisan dinding sel tumbuhan. Selulosa terdiri atas monomer glukosa yang dihubungkan dengan ikatan β -1,4-glikosida, sehingga ikatan glikosida dapat terhidrolisis menjadi glukosa, yang kemudian dapat digunakan untuk berbagai tujuan, seperti produksi bioetanol (Kamara *et al.*, 2006).

Menurut (Sai'd, 1987 dalam Sari, 2009) hasil hidrolisis secara asam berwarna agak kecoklatan, pembentukan warna tersebut tergantung pada beberapa faktor, antara lain konsentrasi prekursor warna seperti hidrosimetilfurfural dan senyawa-senyawa amino yang ada serta kadar gula reduksi terhidrolisis pati. Lebih lanjut (Winarno, 1997 dalam Sari, 2009) menambahkan bahwa pada reaksi dengan suhu tinggi, gula reduksi menghasilkan warna kecoklatan akibat terjadinya reaksi Maillard. Reaksi ini terjadi antara gula reduksi dengan gugus amina primer dan menghasilkan bahan berwarna coklat yang dapat menurunkan mutu produk. Mula-mula gugus aldosa bereaksi bolak-balik dengan amina menghasilkan basa Schiff, lalu terjadi reaksi lanjut membentuk glukosamin. Glukosamin kemudian

mengalami reaksi amadori membentuk amino ketosa, yang selanjutnya terdehidrasi membentuk turunan-turunan furfuraldehid seperti hidrosimetilfurfural. Proses dehidrasi lebih lanjut menghasilkan zat antara metil- α -dikarbonil yang kemudian terurai menghasilkan reduktor-reduktor dan α -dikarboksil seperti metilglioksal, aseton dan diasetil. Gugus-gugus aldehid aktif dalam larutan selanjutnya terpolimerisasi dengan gugus amino membentuk senyawa berwarna coklat yaitu melanoidin.

Kadar gula reduksi serbuk halus *S. polycystum* lebih tinggi dibanding serbuk kasar *S. polycystum*, hal ini diduga karena ukuran partikel yang lebih halus lebih mudah terhidrolisis serta ukuran partikel dapat mempengaruhi produksi etanol (Saputra, 2013). Hasil analisis statistika menggunakan uji one way ANOVA menunjukkan faktor taraf konsentrasi terhadap nilai gula reduksi menunjukkan perbedaan nyata tiap taraf perlakuan ($p < 0,05$).

Pada penelitian ini fermentasi dilakukan dengan waktu inkubasi 72 jam, hal ini sesuai dengan pernyataan Retno dan Nuri (2011), bahwa waktu fermentasi etanol optimal sekitar 30-72 jam. Jika waktu inkubasi terlalu cepat yeast masih dalam masa pertumbuhan sehingga etanol yang dihasilkan dalam jumlah sedikit, dan jika inkubasi terlalu lama maka yeast akan mati sehingga etanol yang dihasilkan tidak maksimal.

Fermentasi menggunakan sampel rumput laut serbuk halus dengan konsentrasi H_2SO_4 0,1 M dan menggunakan yeast *S. cerevisiae*, yang sebelumnya telah dilakukan pengaturan pH. Pada penelitian ini menggunakan pH yang telah ditetapkan yaitu pH 4,5. Hal ini sesuai pernyataan Retno dan Nuri, (2011) bahwa kebanyakan yeast lebih menyukai tumbuh pada keadaan asam yaitu sekitar pH 4-5.

Hasil analisa menunjukkan bahwa kadar gula reduksi selama proses fermentasi cenderung menurun, hal ini diduga karena gula yang terdapat pada media digunakan sebagai sumber karbon oleh yeast untuk mensintesis energi melalui proses fermentasi alkohol (Putri dan Sukandar, 2008).

Hasil uji General Linear Model (GLM) Repeat Measures menunjukkan nilai sig. 0,00 ($p < 0,05$) yaitu terdapat pengaruh nyata terhadap kadar etanol yang dihasilkan selama proses fermentasi menggunakan perlakuan yeast yang berbeda. Kadar etanol terendah dihasilkan dari fermentasi media dengan waktu fermentasi 24 jam. Hal ini diduga yeast belum bekerja secara optimal karena masih beradaptasi dengan lingkungannya, sedangkan kadar optimum dihasilkan dari fermentasi media dengan waktu fermentasi 72 jam.

Fermentasi menggunakan *S. Cerevisiae*, pada waktu fermentasi 72 jam menghasilkan kadar etanol ($0,8167\% \text{ v/v} \pm 0,1530$). Hal ini diduga *S. cerevisiae* sangat tahan dan toleran terhadap kadar etanol yang tinggi ($12-18\% \text{ v/v}$), tahan pada kadar gula yang cukup tinggi dan tetap aktif melakukan fermentasi pada suhu $4-32\text{ }^\circ\text{C}$. *S. cereviceae* mempunyai aktivitas optimum pada suhu $30-34\text{ }^\circ\text{C}$ dan tidak aktif pada suhu lebih dari $40\text{ }^\circ\text{C}$. *S. cereviceae* dapat memfermentasi glukosa, sukrosa, galaktosa serta rafinosa (Kunkee dan Mardon, 1970 dalam Manurung, 2011). Biakan *S. Cerevisiae* mempunyai kecepatan fermentasi optimum pada pH 4,48 (Harrison dan Graham, 1970 dalam Manurung, 2011) dimana hal ini sesuai dengan kondisi pH pada saat penelitian.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa konsentrasi optimum H_2SO_4 pada proses hidrolisis adalah $0,1\text{ M}$. Serbuk halus rumput laut *S. polycystum*

menghasilkan gula reduksi tertinggi dibandingkan dengan sampel lainnya. Yeast *S. cerevisiae* pada saat fermentasi memberikan pengaruh terhadap kadar bioetanol yang dihasilkan. Bioetanol optimum dicapai pada lama fermentasi 72 jam dengan sampel serbuk halus rumput laut *S. polycystum* menghasilkan kadar bioetanol optimum yaitu ($0,8167\% \text{ v/v} \pm 0,1530$).

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Biro Perencanaan dan Kerjasama Luar Negeri Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia atas bantuan pendanaan melalui Program Beasiswa Unggulan yang telah membiayai penelitian ini dari awal sampai akhir. Terima kasih kepada seluruh staf Laboratorium Biokimia Mikroba, Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi LIPI Cibinong.

DAFTAR PUSTAKA

- Aizawa, M., K. Asaoka, M. Atsumi, and T. Sakou. 2007. *Seaweed Bioethanol Production in Japan-The Ocean Sunrise Project*. Assoc. of Quality Assurance, Tokyo 5 hlm.
- Ishibashi, M dan T. Yamamoto. 1960. In *Organic Constituents in Seaweeds. Record of Oceanographic Work in Japan*. 5 (2) : 55 hlm.
- Ishom, F., Wahyudin, D., B. Julius dan R. Hendroko. 2007. *Bahan Bakar Alternatif dari Tumbuhan Sebagai Pengganti Minyak dan Gas*. Timnas Pengembangan Bahan Bakar Nabati (BBN). Penebar Swadaya. Jakarta. 164 hlm.
- Kamara DS, Saada DR, Shabarni G. 2006. *Degradasi Enzimatik Selulosa dari Batang Pohon Pisang Untuk Produksi Glukosa Dengan bantuan Aktifitas selulolitik Trichoderma viride*.



- Laporan Penelitian. Penelitian Dasar (LITSAR) Universitas Padjajaran.
- Kementerian Energi dan Sumber daya Mineral. 2006. Produksi Bioenergi. Jakarta : KESDM.
- Manurung, M. 2011. Sakarifikasi dan Fermentasi Simultan (SFS) dari Limbah Ekstraksi Alginat untuk Pembuatan Bioetanol. (Skripsi). Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Bogor, 42 hlm.
- Miller, G. L. 1959. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry*. 31: 426-428 hlm.
- Prahastha, I. 2010. Produksi Etanol dari Rumput Laut *Sargassum* Sp. dan Limbah Agar *Gracilaria* Sp. (Skripsi). Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Bogor, 41 hlm
- Putri, E., L. Surayya dan D. Sukandar. 2008. Konversi Pati Ganyong (*Canna edulis* Ker.) Menjadi Bioetanol Melalui Hidrolisis Asam dan Fermentasi. Jurusan Biologi, FMIPA, UNS Surakarta, *Biodiversitas* ISSN:1412-033x Volume 9 (2):112-116.
- Retno, T.D. dan W. Nuri. 2011. Pembuatan Bioetanol dari Kulit Pisang. Jurusan Teknik Kimia, FTI UPN"Veteran" Yogyakarta, Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan" ISSN 1693-4393 Pengembangan Teknologi Kimia untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia, pp. E1.1-1-7 hlm.
- Sari, F.A. 2009. Pengaruh Jenis Asam pada Hidrolisis Pati Sagu (*Metroxylon* sp.) untuk pembuatan etanol. (Skripsi). Institut Pertanian Bogor, Bogor. 98 hlm.
- Samsuri, M., M. gozan, R. Mardis, M. Baiquni, H. Hermansyah, A. Wijanarko, B. Prasetya, dan M. Nasikin. 2007. Pemanfaatan Sellulosa Bagas Untuk Produksi Ethanol Melalui Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak Dengan Enzim xilanase. *Makara Teknologi*, 11(1):17-24 hlm.
- Somaatmadja, D. 1973. Sirup Pati Ubi Kayu. Balai Penelitian Kimia. Bogor.
- Syamsudin, P.S. dan A.R. Taufik. 2008. Efektifitas Aplikasi Enzim dalam Sistem Lumpur Aktif pada Pengolahan Limbah Pulp dan Kertas. *Berita Selulosa* Vol 43(2):83-92 hlm.
- Tsao, G.T., M. Ladisch, T.A. Hsu, B. Dale, C. Ladisch dan T. Chou. 1978. Fermentation Substrates from Cellulosic Materials : Production of Fermentable Sugars from Cellulosic Materials. Di dalam. D. Perlman (ed). *Annual Reports on Fermentation Processes* Volume 2. Academic Press, New York.
- Yulianto, K., S. Wouthuyzen., Sulistijo dan D. Hindarti. 2010. Percobaan Produksi Alginat dengan Teknologi 'Meshsize Filtration' dan Potensi Bahan Baku *Sargassum duplicatum* J. Agardh Serta Usaha Budidayanya. UPT Loka Pengembangan Kompetensi SDM Oseanografi Pulau Pari, LIPI, Jakarta, 60 hlm.