

PENGARUH PH DAN SUHU FERMENTASI TERHADAP PRODUKSI ETANOL HASIL HIDROLISIS JERAMI PADI

Yusuf Hendrawan *, Sumardi Hadi Sumarlan, Citra Puspita Rani

Jurusan Keteknik Pertanian - Fakultas Teknologi Pertanian - Universitas Brawijaya
Jl. Veteran, Malang 65145

*Penulis Korespondensi, Email: yusuf_h@ub.ac.id

ABSTRAK

Bioetanol, salah satu bentuk energi alternatif terbarukan yang ramah lingkungan, merupakan etanol (C_2H_5OH) yang merupakan hasil dari proses fermentasi gula dari biomassa yang mengandung pati menggunakan bantuan mikroorganisme. Dalam proses konversi biomassa menjadi etanol, fermentasi berperan mengubah glukosa yang dihasilkan dari proses hidrolisis menjadi etanol. pH dan suhu merupakan faktor yang penting pada proses fermentasi karena menentukan kondisi pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae*. Pada penelitian ini, terdapat dua faktor dalam proses fermentasi yaitu pH dan suhu fermentasi. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktorial yang tersusun atas 2 faktor yaitu pH dan suhu fermentasi pada waterbath. Faktor I (pH) terdiri dari 3 level yaitu 4, 5, dan 6. Sedangkan faktor II (suhu fermentasi) terdiri dari 3 level yaitu suhu 30, 33, dan 36°C sehingga diperoleh 9 kombinasi dengan 3 kali ulangan. Setelah itu dilakukan uji ANOVA. Hasil uji etanol menggunakan metode Gas Chromatography (GC) menunjukkan bahwa hidrolisat dengan pH 4 dan suhu fermentasi 36°C menghasilkan kadar etanol yang lebih besar dibandingkan dengan perlakuan yang lain yaitu sebesar 0,1352%. Sementara untuk kadar etanol terendah yaitu pada perlakuan dengan pH 6 dan suhu fermentasi 30°C yaitu menghasilkan kadar etanol 0,0678%. Nilai kadar etanol cenderung menurun seiring dengan meningkatnya nilai pH. Sedangkan nilai kadar etanol cenderung meningkat seiring dengan meningkatnya suhu fermentasi.

Kata kunci: bioetanol, etanol, fermentasi, jerami padi

Effect of pH and Fermentation Temperature on Ethanol Production from Hydrolysis of Rice Straw

ABSTRACT

*One form of alternative renewable energy that environmentally friendly is bioethanol. Bioethanol is a ethanol (C_2H_5OH) which is the result of fermentation of sugars from biomass containing starch using microorganisms. In conversion process of biomass into ethanol, fermentation change glucose from result of hydrolysis process into ethanol. pH and temperature are important factors in the fermentation process because it determines the conditions of growth of *Saccharomyces cerevisiae*. In this study, there are two factors in the fermentation process, thats pH and temperature of fermentation. The experimental design used was a Randomized Block Design (RAK) factorial composed of two factors: the pH and temperature of fermentation in the waterbath. Factor I (pH) consists of three levels, namely pH 4, pH 5 and pH 6. While the*

second factor (temperature fermentation) consists of three levels, namely the temperature of 30°C, 33°C and 36°C to form 9 combinations and 3 replication. When the data is obtained, do the ANOVA test. The result of Gas Chromatography (GC) test showed that the hydrolyzate to pH 4 with a fermentation temperature of 36°C produces ethanol greater than the other treatments is 0.1352%. While ethanol is lowest at pH 6 with a temperature of 30°C resulted 0.0678% ethanol. The value of ethanol tends to decrease with increasing pH value. While the value of ethanol tends to increase with increasing temperature fermentation

Key words: bioethanol, ethanol, fermentation, rice straw

PENDAHULUAN

Konsumsi dunia akan energi semakin lama semakin meningkat sehingga memicu peningkatan konsumsi terhadap hasil olahan minyak bumi. Penyebabnya yaitu semakin meningkatnya populasi dunia, meningkatnya jumlah kendaraan bermotor, berkembangnya sektor industri, dan lain-lain. Pemerintah Indonesia berupaya mencari cara untuk menghemat penggunaan energi yang berasal dari minyak bumi, salah satunya dengan membuat kebijakan secara bertahap dengan mengurangi subsidi Bahan Bakar Minyak (BBM).

Salah satu bentuk energi alternatif terbarukan yang ramah lingkungan adalah bioetanol. Bioetanol merupakan etanol (C_2H_5OH) yang merupakan hasil fermentasi gula dari biomassa yang mengandung pati menggunakan bantuan mikroorganisme. Hasil akhirnya dicampur dengan bensin untuk mengurangi polutan gas buang kendaraan. Saat ini peneliti diberbagai dunia sedang gencar mencari dan mengembangkan bioetanol dari biomassa lignoselulosa. Namun salah satu masalah yang ditemui para peneliti yaitu bahan baku yang terbatas. Negara Indonesia memiliki keunggulan dalam hal biomassa lignoselulosa yang melimpah dan murah, salah satunya adalah jerami.

Bioetanol berasal dari berbagai macam bahan baku yaitu bahan bergula, bahan berpati, atau bahan berserat. Bahan baku berpati dan berserat dapat diolah dengan hidrolisis asam encer, hidrolisis enzimatis, atau menggabungkan keduanya. Hidrolisis enzimatis memiliki kelebihan yaitu lebih ramah lingkungan dan tidak menghasilkan senyawa penghambat untuk proses fermentasi.

Produksi etanol dari biomassa lignoselulosa limbah pertanian meliputi tahap *pretreatment*, hidrolisis, fermentasi, dan tahap pemurnian etanol (Sukumaran, 2008). *Pretreatment* dengan menambahkan NaOH 0,5 N kemudian *microwave* selama 40 menit dilakukan untuk membuka struktur lignoselulosa. Sehingga dapat meningkatkan selulosa sebesar 42,32%, penurunan lignin dan hemiselulosa sebesar 4,27% dan 1,56% (Dehani dkk, 2013). Hidrolisis gula menggunakan enzim selulase dari *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* dengan perbandingan 2:1 (v/v) selama 72 jam sehingga dapat menghasilkan glukosa sebesar 12,89 g/L (Winarsih, 2013).

Proses fermentasi dalam penelitian ini menggunakan bantuan *Saccharomyces cerevisiae*. Dalam proses konversi biomassa menjadi etanol, fermentasi berperan mengubah glukosa yang dihasilkan dari proses hidrolisis menjadi etanol. Mikroorganisme seperti *Saccharomyces cerevisiae* telah banyak digunakan dalam mengkonversi glukosa menjadi etanol. Sehingga dari penelitian ini diharapkan didapatkan kondisi fermentasi yang baik untuk menghasilkan etanol dari jerami padi.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Ayakan 100 mesh, *microwave* Panasonic 950 Watt, oven, timbangan Precisa XT 120 A, *waterbath shaker* Max Q 7000, jarum ose, Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah jerami padi varietas Ciherang yang diperoleh dari daerah sekitaran Karangploso Malang, Larutan Nutrisi dengan derajat kemurnian pro analisis yang terdiri dari: Aquadest, yeast ekstrak, malt ekstrak, glukosa, pepton, KH_2PO_4 , (*Pottasium dihydrogen phospate*), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (*Ferroun sulfate heptahydrate*), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (*Ammonium Sulfate*), larutan CMC (*Carboxyl methyl cellulose*) 1%, PDA.

Metode Penelitian

1. Proses Pretreatment

Batang jerami varietas Ciherang dikumpulkan dari kecamatan karangploso Kabupaten Malang dibersihkan dari kotoran dan sisa daun kemudian dijemur dibawah sinar matahari selama 12 jam kemudian dipotong-potong (± 2 cm) dan dikeringkan dalam oven ($T = 100^\circ\text{C}$, selama 4 jam). Setelah jerami kering digiling menggunakan *disk mill* dan diayak dengan ayakan 100 mesh. Sebanyak 10 gram bubuk jerami yang lolos ayakan 100 mesh ditempatkan dalam erlenmeyer 250 ml kemudian ditambah larutan NaOH 0,5 N dengan perbandingan 1 : 10. Menutup erlenmeyer menggunakan aluminium foil kemudian dimasukkan dalam oven microwave selama 40 menit. Jerami yang telah di pretreatment dinetralkan menggunakan aquades, kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C selama + 12 jam.

2. Produksi enzim kasar dari *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger*

Isolat *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* diperlihara pada media PDA (*Potato Dekstrose Agar*) dan dilakukan subkultur setiap bulan. Persiapan inokulum yang digunakan untuk produksi enzim menurut Mahamud dan Gomes (2012) adalah sebagai berikut : konidia dari kapang (*Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger*) pada media padat PDA dipanen dengan menggunakan ose kemudian disuspensikan dalam 10 ml larutan garam fisiologi (NaCl 0,85%). Produksi enzim menggunakan metode *solid state fermentation* (SSF). Media fermentasi dibuat dengan cara : 5 gram serbuk jerami yang lolos ayakan 100 mesh ditambahkan 25 ml larutan nutrisi yang telah ditetapkan pHnya 5,5 (menggunakan HCl 0,1N). Komposisi larutan nutrisi per liter menurut Ahamed dan Vermette (2008) adalah ke dalam 1 liter larutan buffer 5,5 dilarutkan 1,0 gram yeast ekstrak, 1,5 gram pepton, 1,4 gram $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 2,0 gram KH_2PO_4 , 0,005gram $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 5 ml larutan CMC 1%. Media fermentasi disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah media dingin, diinokulasi dengan dengan inokulum yang telah disiapkan sebelumnya sebanyak 2% (v/w) (kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 6 hari (*Trichoderma reesei*) dan 8 hari (*Aspergillus niger*). Pemanenan enzim menggunakan larutan Tween 80;1%. Pemanenan dilakukan dengan cara menambahkan larutan Tween 80;1% sebanyak 100 ml ke dalam media fermentasi, kemudian dilakukan shaking dengan kecepatan 120 rpm selama 1 jam. Kemudian dilakukan sentrifuse menggunakan kecepatan 4000 rpm selama 30 menit pada suhu 4°C . Supernatan yang diperoleh merupakan enzim kasar yang akan digunakan untuk proses hidrolisis jerami padi.

3. Proses Hidrolisis

Proses hidrolisis dilakukan dengan menggunakan enzim selulase dari *T. reesei*, *A. niger* dan campuran *T. reesei* : *A. niger*. Sebanyak 5 gram jerami padi dimasukkan dalam beker gelas dan ditambah dengan larutan buffer sitrat dan volume enzim dengan perbandingan enzim *T. resei* dan *A. niger* adalah 2:1. Larutan kemudian diinkubasi dengan *waterbath shaker* dengan kecepatan 75 rpm selama 72 jam.

4. Proses Fermentasi

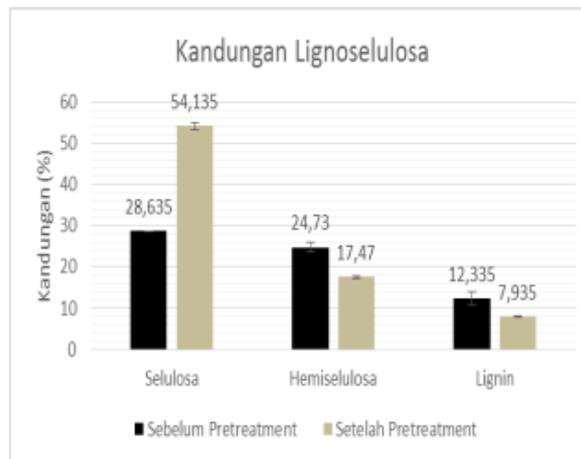
Penelitian yang dilakukan menggunakan analisis pengaruh pH dan suhu inkubasi terhadap kualitas bioetanol yang dihasilkan. Sebanyak 50 ml hasil hidrolisis selulosa jerami padi (hidrolisat) dikondisikan pada pH 4, 5 dan 6 dengan menambahkan NaOH 0,1N kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan didinginkan hingga mencapai suhu ruang. Hidrolisat steril diinokulasi dengan *Saccharomyces cerevisiae* sebanyak 0,5% (w/v) (Rani dan Rana, 2010), kemudian diinkubasi dalam waterbath pada variasi suhu pengamatan 30, 33, dan 36 °C pada variasi waktu pengamatan 2 hari. *Saccharomyces cerevisiae* dipisahkan dari hidrolisat dengan cara sentrifugasi dengan kecepatan 10000 rpm pada suhu 40°C selama 10 menit. Hidrolisat terfermentasi diuji kandungan etanolnya menggunakan kromatografi gas. Kombinasi kedua variabel (pH dan suhu fermentasi pengambilan sampel) diulang 3 kali. Analisis data yang diperoleh kemudian diuji statistik menggunakan Anova.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan Lignoselulosa Sebelum dan Sesudah Pretreatment

Pada penelitian ini digunakan bahan baku jerami padi varietas Ciherang. Hasil pengujian lignoselulosa sebelum *pretreatment* diperoleh nilai selulosa sebesar 28,63%, hemiselulosa sebesar 24,73%, dan lignin sebesar 12,33%. Sedangkan setelah *pretreatment*, jerami memiliki kandungan selulosa sebesar 54,13%, hemiselulosa sebesar 17,47%, dan lignin sebesar 7,935%.

Perubahan kandungan lignoselulosa sebelum dan setelah *pretreatment* ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1 Kandungan lignoselulosa jerami padi sebelum dan setelah *pretreatment*

Dari hasil penelitian, terdapat penurunan lignin dari 12,33% menjadi 7,35% atau sekitar 41%. Jumlah selulosa meningkat dari 28,63% menjadi 54,14% atau sekitar 25%. Nilai lignoselulosa sebelum pre-treatment sudah sesuai dengan penelitian Sun dan Cheng (2002), yang menyatakan bahwa jerami padi tersusun atas 25–45% selulosa, 20-30% hemiselulosa, dan 10-15% lignin. Dehani dkk (2013) melaporkan bahwa *pretreatment* dengan kombinasi basa dan microwave dapat menurunkan lignin sebesar 70% dan juga meningkatkan selulosa sebesar 42,32%.

Radiasi *microwave* menyebabkan efek ledakan fisik pada mikrofiber yang menyebabkan disintegrasi struktur yang sulit terdegradasi, seperti lignin yang mengandung selulosa. Medan elektromagnetik pada *microwave* dapat memproduksi efek fisiko-kimia yang juga mempercepat perusakan struktur kristal. Perbedaan nilai lignoselulosa dengan literatur diakibatkan perbedaan kandungan awal bahan, karena jerami tersebut diambil di lahan sawah yang berbeda meskipun varietas yang digunakan sama. Kristensen *et al.*, (2007) menyatakan bahwa kandungan pada jerami berbeda-beda tergantung dari varietas, umur, nutrisi, dan kondisi

pertumbuhan tanaman. Selain itu, bisa juga diakibatkan banyaknya lignin yang menghambat proses delignifikasi sehingga selulosa yang diperoleh pasca *pretreatment* hanya sedikit.

Perubahan pH setelah fermentasi

pH menjadi salah satu factor penting dalam fermentasi karena pH mempengaruhi kondisi pertumbuhan mikroba. Pada penelitian ini divariasikan pH awal 4, 5, dan 6 karena pH optimum *Saccharomyces cerevisiae* adalah 4–6. Perubahan pH setelah fermentasi dapat dilihat pada Gambar 2.



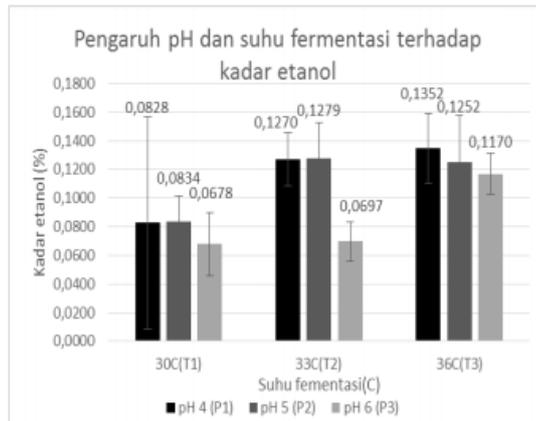
Gambar 2 Perubahan pH setelah fermentasi selama 2 hari

Pada Gambar 2 terlihat pada setiap perlakuan terjadi perubahan pH dari kondisi pH awal. Pada $t=0$ pH dikondisikan sesuai perlakuan yaitu pH 4, pH 5, dan pH 6. Namun setelah $t=2$ hari pH mengalami penurunan. Kecenderungan penurunan pH disebabkan proses fermentasi tidak hanya menghasilkan etanol. Menurut Said (1987) perubahan pH disebabkan oleh adanya asam-asam organik seperti asam laktat, asetat dan piruvat yang terbentuk selama proses fermentasi. Selain itu pendapat ini juga didukung oleh pernyataan Palmqvist (1998) yaitu proses fermentasi tidak hanya menghasilkan etanol tetapi juga menghasilkan senyawa – senyawa lain seperti asam asetat, asam levulonat dan asam formiat.

Penurunan pH setelah fermentasi selama 2 hari tidak terlalu signifikan dan penurunan pada masing-masing suhu fermentasi juga tidak terlalu berbeda jauh. Pada pH 4, penurunan pH paling banyak terjadi pada suhu 33 °C, sedangkan pada pH 5 dan pH 6 penurun pH paling banyak yaitu pada suhu 36 °C. Berdasarkan data perubahan pH setelah fermentasi tersebut, dapat diketahui bahwa pH setelah fermentasi selama 2 hari masih berada pada kondisi *Saccaromyces cerevisiae* dapat tumbuh.

Kadar etanol

Pada penelitian ini menggunakan variasi suhu fermentasi 30 °C, 33 °C, dan 36 °C. Pengukuran kadar etanol dalam penelitian ini menggunakan metode *Gas Chromatography* (GC). Data hasil pengujian kadar etanol dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3 Pengaruh pH dan suhu fermentasi terhadap kadar etanol

Nilai kadar etanol tertinggi terdapat pada perlakuan fermentasi dengan pH 4 dan suhu 36°C yaitu sebesar 0,1352% dan nilai terkecil terdapat pada perlakuan fermentasi dengan pH 6 dan suhu 30°C sebesar 0,0678%. Kadar etanol tertinggi sebesar 0,1352% merupakan kadar etanol dalam 1 ml larutan hasil fermentasi atau dalam 0,066 gr jerami padi.

Jika dilihat nilai kadar etanol pada masing-masing pH, rata-rata kadar etanol yang dihasilkan pada fermentasi dengan pH 4 tertinggi berada pada suhu fermentasi 36°C yaitu sebesar 0,1352%, sedangkan pada suhu fermentasi 30 dan 33°C sebesar 0,0828% dan 0,01270%. Pada suhu 30°C terlihat error yang cukup besar, karena hasil kadar etanolnya tidak dapat terbaca oleh detektor gas kromatografi karena berada di bawah *Limit Order Detection* (LOD).

Rata-rata kadar etanol yang dihasilkan pada fermentasi dengan pH 5 yaitu sebesar 0,0834% pada suhu 30°C, kemudian naik menjadi 0,1279% pada suhu 33°C dan mengalami sedikit penurunan pada suhu 36°C menjadi 0,1252%. Pada grafik tersebut, hasil yang didapat tidak berbeda jauh dengan rata-rata kadar etanol yang dihasilkan pada fermentasi dengan pH 4. Namun nilai standar deviasi yang muncul lebih sedikit dibandingkan pada pH 4, yang berarti bahwa *Saccharomyces cerevisiae* masih bisa bertahan hidup dan masih bisa mengkonversi gula menjadi etanol dalam kondisi pH 5.

Sedangkan rata-rata kadar etanol yang dihasilkan pada fermentasi dengan pH 6 merupakan yang paling rendah, yakni pada suhu 30°C dan suhu 33°C hanya menghasilkan kadar etanol sebesar 0,0678% dan 0,0697%. Sedangkan pada suhu fermentasi 36°C rata-rata kadar etanol dengan pH 6 merupakan yang tertinggi yaitu 0,1170%. Kadar etanol pada PH 6 ini lebih rendah daripada pH 4 dan pH 5, kemungkinan karena kondisi media yang cenderung mengarah ke pH netral.

Nilai kadar etanol cenderung menurun seiring dengan meningkatnya nilai pH. Hal ini kemungkinan dikarenakan kondisi media yang mengarah ke pH netral. Menurut Frazier dan Westhoff (1978) pH akan mempengaruhi kecepatan fermentasi, pH optimal untuk pertumbuhan khamir adalah 4,0–4,5. Pada kondisi pH 4 dan pH 5 pun kadar etanol yang dihasilkan juga sangat sedikit. Sehingga dengan pH yang tinggi mengakibatkan *Saccharomyces cerevisiae* tidak dapat memproduksi etanol lagi, dan etanol yang sudah terbentuk pun kemudian berkurang akibat mengalami fermentasi lanjutan menjadi asam-asam organik.

Sedangkan nilai kadar etanol cenderung meningkat seiring dengan meningkatnya suhu fermentasi. Suhu optimum bagi pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* dan aktivitasnya adalah pada suhu 25 – 35°C. Suhu memegang peranan penting, karena secara langsung dapat mempengaruhi aktivitas *Saccharomyces cerevisiae* dan secara tidak langsung akan mempengaruhi kadar etanol yang dihasilkan.

Data yang didapat selanjutnya dilakukan analisis ragam (ANOVA). Berdasarkan hasil analisis ragam (ANOVA) dapat dilihat bahwa faktor P (pH) berbeda nyata dan T (suhu

fermentasi) tidak berbeda nyata terhadap nilai kadar etanol jerami padi. Perbandingan hasil penelitian ini dengan penelitian terdahulu ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1 Perbandingan hasil dengan penelitian terdahulu

Perlakuan	Kadar Alkohol	Referensi
Fermentasi hidrolisat jerami padi dengan suhu 30°C selama 48 jam. Konsentrasi <i>S. cerevisiae</i> 0,5% (w/v)	0,15%	(Winarsih, 2013)
Fermentasi hidrolisat jerami padi dengan penambahan <i>S. cerevisiae</i> menggunakan suhu 37°C selama 72 jam	0,1503%	(Aditiya et al., 2014)
Fermentasi hidrolisat jerami padi dengan suhu 30°C selama 48 jam. Konsentrasi <i>S. cerevisiae</i> 0,5% (w/v)	0,1242%	(Saputra, 2015)
Fermentasi hidrolisat jerami padi dengan suhu 36°C selama 48 jam. Konsentrasi <i>S. cerevisiae</i> 0,5% (w/v)	0,1352% dalam $\pm 0,066$ gr jerami padi	(Puspita, 2015)

Pada penelitian ini, hasil fermentasi etanol yang didapatkan tergolong kecil. Kadar etanol yang kecil tersebut diduga diakibatkan jumlah gula hasil hidrolisis yang dihasilkan hanya sedikit, hal ini bertentangan dengan hasil jerami yang telah mengalami proses pretreatment alkali yang mampu menghasilkan selulosa sebesar 54,13%. Kemungkinan rendahnya aktivitas enzim selulase kasar yang digunakan untuk proses hidrolis diduga tidak dapat mengkonversi selulosa dalam jerami menjadi glukosa secara keseluruhan. Kemungkinan lain adalah konsentrasi *Saccharomyces cerevisiae* yang masih bisa ditingkatkan lagi. Jika dilakukan perhitungan, pada 1 liter bahan terdapat etanol sebesar +1,521 ml. Hasil tersebut didapatkan dari etanol terhitung dibagi dengan berat etanol dan dikali 1000 ml. Kadar etanol tertinggi yaitu pada sebesar 0,0015 ml. Selanjutnya dibagi dengan berat etanol 0,9861 ml dan dikali 1000 ml, didapatkan etanol sebesar +1,521 ml.

KESIMPULAN

Dalam penelitian ini, Ph berpengaruh nyata terhadap nilai kadar etanol. pH 4 merupakan yang paling optimum dalam proses fermentasi etanol dari hidrolisat jerami padi karena menghasilkan kadar etanol yang paling tinggi dibandingkan dengan pH 5 dan pH 6. Ini menunjukkan bahwa pH 4 merupakan kondisi dimana *Saccharomyces cerevisiae* dapat bekerja lebih optimal. Suhu fermentasi tidak berpengaruh nyata terhadap nilai kadar etanol. Setelah dilakukan uji *Gas Chromatography* (GC) didapatkan suhu fermentasi terbaik yang menghasilkan kadar etanol tertinggi adalah pada suhu 36°C. Sehingga pada penelitian ini didapatkan hasil etanol tertinggi pada pH 4 dan suhu fermentasi 36°C sebesar 0,1352%.

DAFTAR PUSTAKA

- Aditiya, H.B., Sing, K.P., Hanif, M., dan T.M.I. Mahlia. 2014. **Effect of Acid Pretreatment of Enzymatic Hydrolysis in Bioethanol Production from Rice Straw**. *International Journal of Technology* (1):3-10.
- Ahamed, A. P., Vermette. 2008. **Culturebased Strategies to Enhance Cellulase Enzyme Production from *Trichoderma reesei* RUT-C30 in Bioreactor Culture Conditions**. *Biochemical Engineering Journal* 40: 399-407.
- Dehani, F.R, B. D. Argo., Yulianingsih, R. 2013. **Pemanfaatan Iradiasi Gelombang Mikro Untuk Memaksimalkan Untuk Proses Pretreatment Degradasi Lignin Jerami Padi (Pada Produksi Bioetanol)**. *J. Bioproses Komoditas Tropis*, 1(1): 13-20.
- Frazier,W.C., D.C. Westhoff 1978. **Food Microbiology 4th Edition**.New York Hill Book. Publishing,Co.Ltdrani
- Kristensen, J.B., Borjersson, B., Bruun, M.H., Tjerneld, F., Jorgensen H. 2007. **Use of Surface Active Additives in Enzymatic Hydrolysis of Wheat Straw Lignocelluloses**. *Enzyme and Microbial Technology Journal*. 40(4) : 888-895.
- Palmqvist, E. 1998. **Fermentations of Lignocellulose Hydrolysate : inhibitions and Detoxification**. Doctoral Thesis . Lund University. Lund Sweden Prescott, S.C and G Dunn. 1959. **Industrial Microbiology**. The AVI Publishing, Company Inc, Westport. Connecticut.
- Rani, S., J.S Rana, 2010. **In Vitro Propogation of *Tylophora Indica* – Influence of Explantiing Season,Growth Regulator Synergy**. Culture passage and Planting, Substrate. *J.Amm.Sci* 6(2) :385-392
- Said, 1987. **Bioindustri Penerapan Teknologi Fermentasi**. Mediyatama Sarana Perkasa, Jakarta.
- Saputra, B. 2015. **Analisis Pengaruh pH dan Lama Fermentasi Terhadap Kadar Etanol Hasil Hidrolisis Jerami Padi**. Skripsi. UB. Malang.
- Sukumaran, R. K. 2008. **Cellulase Production Using Biomassa Feed Stock and Its Application in Lignocellulosa Saccharification for Bioethanol Production**. *Renewable Energy* Vol.30, hal.1-4.
- Sun, Y., Cheng. 2002. **Hydrolysis of Lignocellulosic Material for Ethanol Production: A Review**. *Bioresource Technol* 83: 1-11.
- Winarsih, S. 2013. **Pemanfaatan Jerami Padi untuk Produksi Bioetanol Dengan Pretreatment Microwave – Alkali dan Hidrolisis Menggunakan Enzim Kasar dari *Trichderma reesei* dan *Aspergillus niger***. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya