



Produksi Bioetanol Pati Umbi Talas (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) dengan Variasi Konsentrasi Inokulum dan Waktu Fermentasi *Zymomonas mobilis*

Bioethanol Production From Taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) With Variations Of Inoculum Concentrations And Fermentation Times Of *Zymomonas mobilis*

Yunisha Febriani¹, Boy Rahardjo Sidharta^{1*}, Fransiskus Sinung Pranata¹

¹*Program Studi Biologi, Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta
Jln. Babarsari No.44, Depok, Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta, Indonesia
Email: brsidharta@gmail.com*

**Penulis korespondensi*

Abstract

Bioethanol can be produced from fermented ingredients that contain carbohydrates. Taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) has a fairly high carbohydrate of 23.7% so that it can be used as a bioethanol resource. *Zymomonas mobilis* is a microbe that can ferment glucose into ethanol. This study aims to determine the inoculum concentration and fermentation time to produce highest bioethanol concentration. Taro tuber is cut, dried and crushed and then sifted with mesh to form flour. Taro flour is hydrolyzed with HCl solution (1, 3, and 5 %) then the reducing sugar content is tested using Nelson-Somogyi method. The fermentation stage was carried out for 0, 2, 4, 6 and 8 days and using inoculum concentrations of 0, 5, 10, and 15 %. The fermentation results in the form of bioethanol were analyzed using gas chromatography. Reducing sugar levels showed the highest sugar content at 5 % HCl concentration. Bioethanol concentration measurement was 0.07 % which was reached at the 8th day of fermentation with 10 % inoculum concentration.

Keywords: Bioethanol, taro, *Zymomonas mobilis*, inoculum concentration, fermentation time

Abstrak

Bioetanol dapat diproduksi dari fermentasi suatu bahan yang mengandung karbohidrat. Umbi talas (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) memiliki karbohidrat sebesar 23,7% sehingga dapat dimanfaatkan sebagai penghasil bioetanol. *Zymomonas mobilis* merupakan mikrobia yang dapat mengubah glukosa menjadi etanol. Penelitian ini bertujuan mengetahui konsentrasi inokulum dan waktu fermentasi untuk menghasilkan kadar bioetanol tertinggi. Umbi talas dipotong, dikeringkan dan dihancurkan lalu diayak sampai berbentuk tepung. Tepung talas dihidrolisis dengan larutan HCl (1, 3, dan 5 %), diuji kadar gula reduksinya dengan metode Nelson-Somogyi. Tahap fermentasi dilakukan sesuai rancangan percobaan yakni 0, 2, 4, 6 dan 8 hari serta menggunakan konsentrasi inokulum 0, 5, 10, dan 15 %. Hasil fermentasi berupa bioetanol dianalisis menggunakan kromatografi gas. Kadar gula reduksi menunjukkan kadar gula tertinggi pada konsentrasi HCl 5 %. Kadar bioetanol sebesar 0,07 % diperoleh pada fermentasi hari ke-8 dan konsentrasi inokulum 10 %.

Kata kunci: Bioetanol, talas, *Zymomonas mobilis*, konsentrasi inokulum, waktu fermentasi

Diterima: 30 Desember 2019, disetujui: 12 Maret 2020

Pendahuluan

Bahan Bakar Nabati (BBN) adalah bahan bakar yang diambil serta berasal dari tumbuhan, contohnya bioetanol (Dien *et al.*, 2003; Jeffries, 2005; Rogers *et al.*, 2007). Bioetanol merupakan bahan bakar alternatif

yang mempunyai kelebihan dibandingkan bahan bakar minyak, yaitu emisi gas CO yang dihasilkan lebih rendah dibandingkan bahan bakar minyak yaitu sekitar 19-25% (Indriany *et al.*, 2013). Bioetanol dapat diproduksi dari bahan baku yang mengandung gula, yakni talas. Menurut Kong (2010), karbohidrat pada

talas dapat dikonversi menjadi bioetanol dan gas karbon dioksida melalui fermentasi.

Talas (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) adalah tumbuhan herba dengan umbi batang yang bonggolnya tumbuh di bawah tanah (Hidayat & Napitupulu, 2015). Menurut Albert *et al.* (2015), karbohidrat umbi talas cukup tinggi yaitu 23,7 % tiap 100 gram talas. Karbohidrat yang cukup tinggi dibanding tanaman lain seperti kentang (19,1 % tiap 100 gram) menjadikan talas berpotensi sebagai bahan baku bioetanol melalui fermentasi (Sadimo *et al.*, 2016).

Bakteri memfermentasi glukosa, fruktosa, sukrosa dan laktosa serta menghasilkan karbon dioksida, etil alkohol dan asam laktat (Dien *et al.*, 2003; Rogers *et al.*, 2007). *Zymomonas mobilis* merupakan bakteri yang mampu memfermentasi glukosa menjadi bioetanol. *Z. mobilis* dipilih karena memiliki keunggulan seperti tumbuh secara anaerob, produksi bioetanol lebih tinggi serta mampu melakukan fermentasi lebih spesifik (Seo dkk., 2005; Yang *et al.*, 2009; Agrawal *et al.*, 2011).

Salah satu jalur glikolisis dalam fermentasi yakni *Entner-Doudoroff* digunakan oleh *Z. mobilis*. Pada jalur ini, konversi glukosa menjadi dua molekul bioetanol dan satu molekul ATP (Galinina dkk., 2012). Hasil ATP yang sedikit ini menghasilkan massa sel rendah serta potensi bioetanol lebih tinggi (Jeffries, 2005; Kalnenieks *et al.*, 2008).

Talas jarang dimanfaatkan sebagai bahan makanan meskipun memiliki karbohidrat yang cukup tinggi (23,7 %) (Sadimo *et al.*, 2016). Hal ini memberi peluang untuk mengolah pati umbi talas menjadi bioetanol. Pemanfaatan pati umbi talas untuk memproduksi bioetanol melalui fermentasi oleh *Z. mobilis* perlu dilakukan.

Perlakuan hidrolisis pati dilakukan dengan variasi konsentrasi HCl (1, 3, dan 5 %) untuk mempercepat proses fermentasi oleh *Z. mobilis* (Irawan dan Arifin, 2012). Selanjutnya dilakukan fermentasi dengan variasi inokulum (0, 5, 10, dan 15 %) selama 8 hari (Gibbson & Westby, 1986). Penelitian ini bertujuan untuk menentukan produksi bioetanol tertinggi dari variasi perlakuan hidrolisis pati dan konsentrasi inokulum *Z. mobilis* (Sun & Cheng, 2002).

Metode Penelitian

Alat dan Bahan

Alat utama yang digunakan yaitu neraca analitik (*Mettler Toledo AL204*), vortex (*Thermo Scientific MaxiMix*), autoklaf (*Hirayama*), pH meter (*Lovibond*), spektrofotometer UV-Vis (*Genesys 10S UV-Vis*), mikroskop (*Olympus*), oven (*Memmert*), blender (*Philips*), *Laminar Air Flow* (*ESCO*), lemari asam (*Biobase*), *Rotary Evaporator* (*IKA RV 10 Digital V*), *hotplate* (*Cimarec 2*), dan Kromatografi Gas (*Buck Scientific Model 910 Gas Chromatograph*).

Bahan yang digunakan berupa umbi talas dari perkebunan talas di daerah Muntilan, akuabides, larutan HCl (*Merck*), larutan NaOH (*Merck*), *Nutrient Broth* (*Oxoid*), *Nutrient Agar* (*Oxoid*), urea (*Merck*), ammonium sulfat (*Merck*), padatan glukosa (*Merck*), *yeast extract* (*Oxoid*), padatan K₂HPO₄ (*Merck*), merah fenol (*Merck*), padatan sukrosa, laktosa (*Merck*), larutan buffer, padatan MgSO₄·7H₂O (*Merck*), cat Gram (A, B, C, D) (*Merck*), larutan Nelson A dan B (*Merck*), larutan etanol p.a (*Merck*), larutan Arsenomolybdat (*Merck*), biakan *Zymomonas mobilis* LMB01 dari Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada, larutan etanol 70% (*Merck*), dan akuades.

Tahapan Penelitian

Penelitian dilakukan dengan menerapkan rancangan acak lengkap faktorial. Semua perlakuan diulang sebanyak lima kali dengan tahapan sebagai berikut.

a. Pembuatan Medium *Nutrient Agar* (NA) dan *Nutrient Broth* (NB)

Nutrient Agar (NA) diambil sebanyak 1,4 gram dan ditambahkan akuades sebanyak 120 ml. Larutan dipanaskan menggunakan *microwave* lalu dimasukkan dalam cawan petri sebanyak 15 ml dan tabung reaksi sebanyak 5 ml. Medium disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit (Kusumaningati *et al.*, 2013).

Nutrient Broth (NB) diambil sebanyak 1,56 gram dan ditambahkan dengan akuades sebanyak 120 ml. Larutan dipanaskan dalam *microwave*, kemudian dimasukkan dalam Erlenmeyer sebanyak 10 ml. Medium disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit (Kusumaningati *et al.*, 2013).

b. Pembuatan Kultur *Zymomonas mobilis*

Isolat *Z. mobilis* LMB01 disubkultur ke tabung reaksi berisi medium NB, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pengkayaan jumlah sel dilakukan dengan penambahan 20 g/L glukosa, 1 g/L yeast extract, 1 g/L (NH₄)₂SO₄, 1 g/L K₂HPO₄ dan 0,5 g/L MgSO₄·7H₂O pada medium (Kusumaningati *et al.*, 2013).

c. Persiapan Bahan Baku

Talas dikupas, dipotong, dicuci dan dikeringkan di bawah sinar matahari hingga kering selama lima hari. Sampel talas yang sudah kering dihaluskan dengan blender sampai berbentuk serbuk, kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 100°C selama 2 jam. Serbuk talas hasil ayakan 40 mesh sebanyak 400 gram digunakan untuk tahap penelitian berikutnya (Sadimo *et al.*, 2016).

d. Hidrolisis dengan Asam Klorida (HCl)

Hidrolisis HCl 1N 1, 3, dan 5 % pati umbi talas dengan nisbah 10:1 berdasar volume/berat (v/b). Serbuk talas sebanyak 120 gram ditambah larutan HCl sesuai dengan nisbah 10:1 yakni 32, 97, dan 162 ml. Serbuk talas dihidrolisis pada suhu 100°C selama 2 jam. Hidrolisat disaring dengan kertas saring dan didinginkan sampai mencapai suhu ruang (27°C) (Irawan & Arifin, 2012).

e. Pengukuran Kadar Gula Reduksi

Larutan standar dibuat dengan glukosa anhidrat sebanyak 100 mg untuk 100 ml akuades. Larutan diencerkan menjadi 0, 2, 4, 6, 8 dan 10 mg/100ml. Absorbansi larutan diukur pada spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 540 nm. Absorbansi yang diperoleh diplotkan dalam kurva regresi linier (Irawan & Arifin, 2012).

Gula reduksi ditentukan dengan metode Nelson-Somogyi. Tiap sampel hidrolisat (1, 3, dan 5 %) diambil sebanyak 1 ml dan ditambah akuades hingga volume akhirnya 10 ml. Campuran diambil 1 ml lalu ditambah 9 ml akuades. Sampel diambil 1 ml lalu dicampur 1 ml larutan Nelson A&B (25:1), dipanaskan pada 100°C selama 20 menit. Sampel didinginkan sampai mencapai suhu ruang

(27°C), lalu ditambah 1 ml Arsenomolybdat dan 7 ml akuades lalu digojog (Gusakov *et al.*, 2011).

Sampel diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 540 nm. Hasil absorbansi yang didapat lalu dibandingkan dengan kurva regresi linier larutan standar. Sampel dengan kadar gula tertinggi digunakan untuk analisis selanjutnya (Irawan & Arifin, 2012).

f. Fermentasi Bioetanol

Filtrat steril dari hidrolisat dengan kadar gula tertinggi ditambahkan NaOH 6M hingga pH 5. Starter *Z. mobilis* ditambahkan masing-masing sebanyak 0, 5, 10 dan 15 % ke dalam botol fermentor yang telah diisi dengan 20 ml hidrolisat. Larutan diinkubasi dengan variasi waktu, yakni 0, 2, 4, 6, dan 8 hari pada suhu ruang (27°C) (Sadimo *et al.*, 2016).

Bioetanol dipisahkan dengan memasukkan hasil fermentasi dalam labu pada rotary evaporator. Proses ini dilakukan pada suhu 78°C. Kadar bioetanol dianalisis menggunakan kromatografi gas (Osvaldo *et al.*, 2012).

g. Pengukuran Kadar Bioetanol dengan Kromatografi Gas

Larutan standar etanol 2, 6, 8, 10, dan 12 % dibuat melalui pengenceran. Larutan etanol p.a diambil sebanyak 2, 6, 8, 10, dan 12 ml lalu dimasukkan dalam labu ukur 100 ml dan ditambahkan akuabides steril. Masing-masing larutan diambil sebanyak 0,2 µl dan diinjeksikan ke kolom kromatografi gas. Kurva baku dibuat dengan memplotkan rasio luas puncak etanol dan kadar etanol hingga mendapatkan regresi linier (Sukowati *et al.*, 2014).

Sampel etanol sebanyak 0,2 µl diinjeksikan ke kolom kromatografi gas. Puncak kromatogram akan muncul di layar komputer dengan aplikasi *Peaksimple*, selanjutnya luas area dianalisis dan dibandingkan dengan standar untuk mendapatkan konsentrasi etanol sampel (Sukowati *et al.*, 2014). Kurva standar etanol akan menghasilkan nilai y (*slope*), lalu konsentrasi etanol sampel dihitung dengan cara:

$$\text{Konsentrasi(\%)} = \frac{\text{Luas area sampel}}{\text{Slope}}$$

h. Analisis Data

Data dianalisis dengan ANOVA (*Analysis of Variance*) untuk mengetahui pengaruh faktor konsentrasi inokulum *Z. mobilis* dan waktu fermentasi terhadap kadar bioetanol. Analisis dilanjutkan dengan Uji Tukey pada taraf kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$) untuk mengetahui perbedaan nyata antara kombinasi perlakuan konsentrasi inokulum *Z. mobilis* dengan lama waktu fermentasi (Kusumaningati *et al.*, 2013).

Hasil dan Pembahasan

Pengukuran Kadar Gula Reduksi

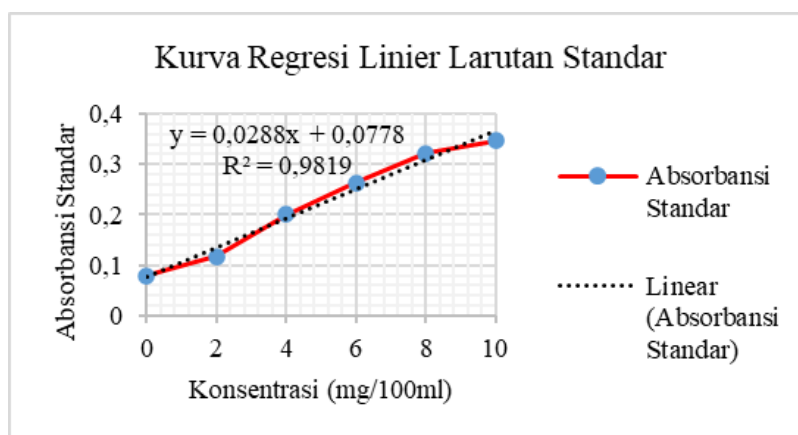
Hasil absorbansi untuk konsentrasi HCl 1 % sebesar 0,166 Å, konsentrasi 3 % sebesar 0,295 Å dan konsentrasi 5 % sebesar 0,417 Å.

Hasil absorbansi tertinggi pada konsentrasi HCl 5 % yakni 0,417 Å. Penelitian Sandi *et al.* (2016) didapatkan absorbansi berbanding lurus dengan konsentrasi HCl. Hasil penelitian ini sudah sesuai penelitian

tersebut karena semakin tinggi gula reduksi, maka molekul yang menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu juga semakin banyak sehingga absorbansi semakin tinggi (Neldawati *et al.*, 2013).

Kurva regresi linier larutan standar dapat diamati pada Gambar 1.

Berdasarkan persamaan $y = mx+c$ pada Gambar 1, didapatkan kadar gula reduksi untuk konsentrasi HCl 1 % sebesar 0,32 mg/100 ml, konsentrasi 3 % sebesar 4,80 mg/100 ml dan konsentrasi 5 % sebesar 9,03 mg/100ml. Kadar gula reduksi tertinggi ada pada konsentrasi HCl tertinggi pula (5 %), yakni 9,03 mg/100 ml larutan. Menurut Sandi *et al.* (2016), konsentrasi HCl tertinggi (17 %) menghasilkan kadar gula paling tinggi (16,50 %), sehingga penelitian ini sudah selaras yakni konsentrasi 5 % menghasilkan kadar gula 9,03 mg/100ml. Konsentrasi asam yang tinggi dan waktu yang lama pada proses hidrolisis membuat selulosa dan hemiselulosa lebih mudah terdegradasi menjadi glukosa (Sun & Cheng, 2002; Gusakov *et al.*, 2011).



Gambar 1. Kurva Regresi Linier. Regresi linier (garis titik-titik) didapatkan dari hubungan antara absorbansi larutan standar (garis merah) dengan konsentrasi larutan standar. Nilai $R^2 = 0,9819$. Persamaan $y = mx+c$ yang didapat yaitu $y = 0,0288x+0,0778$.

Pengukuran Kadar Bioetanol dengan Kromatografi Gas

Hasil analisis kadar bioetanol dengan Uji Tukey pada tingkat kepercayaan 95 % pada Tabel 1. Konsentrasi inokulum 0 % sebagai kontrol tidak berbeda nyata setelah dianalisis, artinya tidak ada bioetanol yang dihasilkan karena tidak ada kultur *Z. mobilis* yang ditambahkan.

Pada konsentrasi inokulum 5 %, bioetanol terbentuk di hari ke-4 yakni 0,06 %, lalu hari ke-6 tidak terdeteksi dan hari ke-8 kadar bioetanol turun menjadi 0,05 %. Penurunan kadar bioetanol saat fermentasi disebabkan adanya produk samping hasil metabolisme seperti asam organik (asam asetat) yang memengaruhi kadar total bioetanol (Patrascu *et al.*, 2009; Ohimain, 2016).

Tabel 1. Rerata Kadar Etanol (%) Hasil Fermentasi

Konsentrasi Inokulum	Waktu Fermentasi (Hari)				
	0	2	4	6	8
K1 (0%)	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a
K2 (5%)	0,00 ^a	0,00 ^a	0,06 ^d	0,00 ^a	0,05 ^{cd}
K3 (10%)	0,00 ^a	0,05 ^c	0,00 ^a	0,00 ^a	0,07 ^e
K4 (15%)	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,04 ^b	0,04 ^b

Keterangan: angka yang diikuti oleh huruf sama pada setiap kolom dan baris menunjukkan tidak berbeda nyata menurut uji Tukey pada selang kepercayaan 95%.

Pada konsentrasi inokulum 10 %, produksi bioetanol terlihat di hari ke-2 yakni 0,05 % namun pada hari ke-4 dan ke-6 tidak terdeteksi. Pada hari ke-8, konsentrasi bioetanol meningkat menjadi 0,07 %. Pada konsentrasi inokulum 15 %, produksi bioetanol terlihat di hari ke-6 dan ke-8 yakni 0,04 %. Produksi bioetanol tidak meningkat semenjak hari ke-6.

Menurut Popek (2008), tidak terdeteksinya suatu senyawa disebabkan senyawa organik yang memiliki karakteristik sama cenderung memiliki waktu retensi yang hampir sama. Senyawa dalam sampel terkadang tidak terpisah secara sempurna dan dideteksi karena adanya senyawa lain dengan konsentrasi lebih tinggi dan waktu retensi yang hampir sama. Contoh senyawa ini adalah golongan alkohol, metanol, propanol dan sebagainya (Ohimain, 2016).

Secara keseluruhan sampel memiliki perbedaan nyata ketika dianalisis Tukey karena terdapat 5 notasi (a, b, c, d, e). Waktu dan konsentrasi inokulum paling optimal untuk menghasilkan bioetanol berada pada sampel W5K3 (hari ke-8 dengan konsentrasi inokulum 10 %) yakni sebesar 0,07 %. Penelitian Kusumaningati *et al.* (2013) konsentrasi inokulum 0 % digunakan sebagai kontrol. Konsentrasi inokulum 5 % menghasilkan bioetanol tertinggi pada hari ke-8 yakni 6,60 % sedangkan konsentrasi inokulum 10 % menghasilkan bioetanol tertinggi pada hari ke-6 yakni 9,50 %. Konsentrasi inokulum 15 % menghasilkan bioetanol tertinggi pada hari ke-6 yakni 9,40 %.

Konsentrasi bioetanol penelitian ini relatif kecil dibandingkan dengan penelitian Kusumaningati *et al.* (2013), karena perbedaan proses hidrolisis. Kusumaningati *et al.* (2013) menggunakan enzim dari *Aspergillus* sp. untuk menghidrolisis sampah buah dan gula reduksi tertinggi yang diukur mencapai 49,80 % sedangkan penelitian ini, gula reduksi tertinggi

hanya sebesar 9,03 mg/100ml atau setara dengan 9,03 %. Menurut Taherzadeh dan Karimi (2007), hidrolisis dengan enzim mengkonversi gula lebih baik dibandingkan dengan asam, sehingga kadar bioetanol yang dihasilkan lebih tinggi.

Menurut Yang *et al.* (2016), *Z. mobilis* mampu memfermentasi selulosa, hemiselulosa dan pektin. Umbi talas memiliki kadar pektin yang tinggi yakni 43,7 % (Nurdjanah & Elfira, 2009). Hal ini menyebabkan produksi senyawa lain seperti asam asetat, furfural, aldehyd fenolik selain bioetanol selama fermentasi (Yang *et al.*, 2016).

Perlakuan konsentrasi 10 % menghasilkan bioetanol lebih tinggi dibanding konsentrasi 15 % sehingga tidak diperlukan konsentrasi yang lebih tinggi lagi. Menurut Gibbson dan Westby (1986), penggunaan konsentrasi inokulum terlalu tinggi (>15 %) dapat menyebabkan penurunan viabilitas sel disebabkan kadar bioetanol terlalu tinggi (>15 %) dari hasil fermentasi bersifat toksik bagi sel sehingga sel mengalami kematian dan menurun viabilitasnya.

Ketidaksesuaian waktu fermentasi menurut Hanum *et al.* (2013) dan Kalnenieks (2006) dapat disebabkan oleh jumlah inokulum dan jenis mikrobia, penggunaan enzim pengkatalisis fermentasi serta jumlah dan jenis substrat yang terkandung dalam suatu bahan. Saat ini sedang dilakukan pengembangan galur *Z. mobilis* melalui rekayasa genetika yang diharapkan dapat menghasilkan bioetanol lebih tinggi (Seo *et al.*, 2005; Yang *et al.*, 2009; Linger *et al.*, 2010).

Simpulan

Konsentrasi inokulum *Zymomonas mobilis* 10% menghasilkan bioetanol tertinggi sebesar 0,07% pada hari ke-8 fermentasi.

Beberapa penelitian lanjutan dapat dilakukan yaitu melakukan proses hidrolisis menggunakan enzim agar menghasilkan kadar gula yang lebih tinggi untuk fermentasi bioetanol talas, penambahan bahan pengkaya sel bakteri untuk memperbanyak jumlah sel *Z. mobilis* dalam kultur agar fermentasi bioetanol lebih maksimal, dan optimasi waktu fermentasi menggunakan enzim pada medium agar fermentasi bioetanol lebih cepat dan maksimal.

Daftar Pustaka

- Agrawal, M., Mao, Z., dan Chen, R. R. 2011. Adaptation yields a highly efficient xylose-fermenting *Zymomonas mobilis*, *Biotechnology and Bioengineering*, 108: 777-785.
- Albert, Idiawati, N. dan Rudyansyah. 2015. Pembuatan bioetanol menggunakan *Zymomonas mobilis* dari limbah tongkol jagung. *Jurnal Kimia Khatulistiwa* 4(2): 72-75.
- Dien, B. S., Cotta, M. A., dan Jeffries, T.W. 2003. Bacteria engineered for fuel ethanol production: current status, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 63(3): 258-266.
- Galinina, N., Lasa, Z., Strazdina, I., Rutkis, R., dan Kalnenieks, U. 2012. Effect of ADH II Deficiency on the Intracellular Redox Homeostasis in *Zymomonas mobilis*. *The ScientificWorld Journal*, Volume 2012, Article ID 742610, 6 pages, doi:10.1100/2012/742610
- Gibbson, W. R. dan Westby, C. A. 1986. Effect of inoculum size on solid-phase fermentation of fodder beets for fuel ethanol production. *Journal Applied and Environmental Microbiology* 52(1): 960-962.
- Gusakov, A. V., Kondratyeva, E. G., dan Sinitsyn, A. P. 2011. Comparison of two methods for assaying reducing sugars in the determination of carbohydrase activities. *International Journal of Analytical Chemistry* 10(1): 1-4.
- Hanum, F., Pohan, N., Rambe, M., Primadony, R. dan Ulyana, M. 2013. Pengaruh massa ragi dan waktu fermentasi terhadap bioetanol dari biji durian. *Jurnal Teknik Kimia USU* 2(4): 49-54.
- Hidayat, R. S. dan Napitupulu, R. M. 2015. *Kitab Tumbuhan Obat*. Agriflo, Jakarta. Halaman 385.
- Indriany, D., Mappiratu dan Nurhaeni. 2013. Pemanfaatan limbah tongkol jagung (*Zea mays*) untuk produksi bioetanol menggunakan sel ragi amobil secara berulang. *Jurnal of Natural Science* 2(3): 54-65.
- Irawan, D. dan Arifin, Z. 2012. Proses hidrolisis sampah organik menjadi gula dengan katalis asam klorida. *Jurnal Teknik Kimia* 6(2): 36-40.
- Jeffries, T. W. 2005. Ethanol fermentation on the move. *Nature Biotechnology* 23(1): 40-41.
- Kalnenieks, U. 2006. Physiology of *Zymomonas mobilis*: some unanswered questions, *Advances in Microbial Physiology*, 51: 73-117.
- Kalnenieks, U., Galinina, N., Strazdina, I., et al. 2008. NADH dehydrogenase deficiency results in low respiration rate and improved aerobic growth of *Zymomonas mobilis*, *Microbiology*, 154(3): 989-994.
- Kong, G. T. 2010. *Peran Biomassa Bagi Energi Terbarukan*. PT Elex Media Komputindo, Jakarta. Halaman 10-11.
- Kusumaningati, M. A., Nurhatika, S. dan Muhibuddin, A. 2013. Pengaruh konsentrasi inokulum bakteri *Zymomonas mobilis* dan lama fermentasi pada produksi etanol dari sampah sayur dan buah Pasar Wonokromo Surabaya. *Jurnal Sains dan Seni Pomits* 2(2): 218-223.
- Linger, J. G., Adney, W. S., dan Darzins, A. 2010. Heterologous expression and extracellular secretion of cellulolytic enzymes by *Zymomonas mobilis*, *Applied and Environmental Microbiology*, 76(19): 6360-6369.
- Neldawati, Ratnawulan dan Gusnedi. 2013. Analisis nilai absorbansi dalam penentuan kadar flavonoid untuk berbagai jenis daun tanaman obat. *Pillar of Physics* 2(1): 76-83.
- Nurdjanah, S. dan Elfira, W. 2009. Profil komposisi dan sifat fungsional serat pangan dari ampas ekstraksi pati beberapa jenis umbi. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian* 14(1): 12-23.
- Ohimain, E. I. 2016. Methanol contamination in traditionally fermented alcoholic beverages: the microbial dimension. *Springer Plus* 1(5):1607-1617.
- Osvaldo, Z. S., Panca, P. S. dan Faisal, M. 2012. Pengaruh konsentrasi asam dan waktu pada proses hidrolisis dan fermentasi pembuatan bioetanol dari alang-alang. *Jurnal Teknik Kimia* 2(18): 52-62.
- Patrascu, E., Rapeanu, G. dan Hopulele, T. 2009. Current approaches to efficient biotechnological production of ethanol. *Innovative Romanian Food Biotechnology* 4(1): 1-11.

- Popek, E. 2008. *Sampling and Analysis of Environmental Chemical Pollutants*. Elsevier, New York. Halaman 214.
- Rogers, P. L., Jeon, Y. J., Lee, K. J., dan Lawford, H. G. 2007. *Zymomonas mobilis* for fuel ethanol and higher value products, *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 108: 263–288.
- Sadimo, M. M., Said, I. dan Mustapa, K. 2016. Pembuatan bioetanol dari pati umbi talas (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) melalui hidrolisis asam dan fermentasi. *J. Akad. Kim.* 5(2): 79-84.
- Sandi, Y. A., Rita, W. S. dan Ciawi, Y. 2016. Hidrolisis rumput laut (*Glacilaria* sp.) menggunakan katalis enzim dan asam untuk pembuatan bioetanol. *Jurnal Kimia* 10(1): 7-14.
- Seo, J. S., Chong, H., Park, H. S., et al. 2005. The genome sequence of the ethanologenic bacterium *Zymomonas mobilis* ZM4, *Nature Biotechnology*, 23(1): 63–68.
- Sukowati, A., Sutikno dan Rizal, S. 2014. Produksi bioetanol dari kulit pisang melalui hidrolisis asam sulfat. *Jurnal Teknologi dan Industri Hasil Pertanian* 19(3): 274-288.
- Sun, Y. dan Cheng, J. 2002. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource Technology* 83(2): 1-11.
- Taherzadeh, M. J. dan Karimi, K. 2007. Enzymatic-based hydrolysis processes for ethanol. *BioResources* 2(4): 707-738.
- Yang, S., Tschaplinski, T. J., Engle, N. L., et al. 2009. Transcriptomic and metabolomic profiling of *Zymomonas mobilis* during aerobic and anaerobic fermentations, *BMC Genomics*, 10, article no. 34.
- Yang, S., Fei, Q., Zhang, Y., Contreras, L. M., Utturkar, S. M., Brown, S. D., Himmel, M. E. dan Zhang, M. 2016. *Zymomonas mobilis* as a model system for production of biofuels and biochemicals. *Microb. Biotechnol.* 9(6): 699-717.