

**BIOETANOL DARI NIRA NIPAH KENTAL SECARA NIR-SINAMBUNG
(BATCH) DENGAN PENAMBAHAN *Cordyceps mycelium*
POWDER DAN UREA**

**BIOETHANOL FERMENTATION FROM VERY HIGH GRAVITY NYPA
SAP IN BATCH FERMENTATION WITH THE ADDITION OF *Cordyceps*
mycelium POWDER AND UREA FERMENTASI**

Sastiana Sadzvirani¹, Fajar Restuhadi² dan Evy Rossi²

Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Jurusan Teknologi Pertanian,
Fakultas Pertanian, Universitas Riau, Kode Pos 28293, Pekanbaru
sastionot12122014@gmail.com

ABSTRACT

This research implemented to see the effect of combined treatment of urea and *Cordyceps mycelium powder* contain ergosterol with bioethanol fermentation from very high gravity Nypa sap in batch fermentation. This research implemented in an experimental method with two factors. The first factor is the levels of the source N as urea consist of four levels namely (U) (0.0; 0.2; 0.4; 0.6) gr/l and the second factor is the levels of the *Cordyceps mycelium powder* consist of three levels namely (C) (0.0; 0.5; 1.0) gr/l, so that obtained twelve combination of treatments without repetition. Analysis implemented every day including : levels of ethanol, levels of reduce sugar content, the number of microbial cells *Saccharomyces cerevisiae* and the degree of acidity (pH). Data were analyzed descriptively by use tabulations and charts. The best combination treatment was U₄C₂ (urea 0.6 gr/l and *Cordyceps mycelium powder* 0.5 gr/l) which produced ethanol 31.5%.

Keywords: Very high gravity nypa sap, Urea, Cordyceps mycelium powder, Bioethanol

PENDAHULUAN

Bahan bakar minyak berbasis fosil merupakan sumber energi yang tidak dapat diperbaharui. Pemakaian bahan bakar minyak berbasis fosil pada saat ini sangat tinggi, sementara persediaan bahan bakar minyak berbasis fosil sudah semakin menipis. Bahan bakar minyak berbasis fosil jika terus menerus digunakan tanpa adanya bahan bakar pengganti akan menyebabkan terjadinya kelangkaan bahan bakar.

Oleh sebab itu, diperlukan upaya untuk mengatasi kemungkinan terjadinya kesulitan energi di masa mendatang dengan menghimbau penggunaan bahan bakar nabati (BBN) sebagai substitusi dari bahan bakar minyak yang selama ini kita gunakan. bahan bakar nabati (BBN) diperkirakan dapat menurunkan kebutuhan bahan bakar minyak berbasis fosil sebanyak 20-40% pada

tahun 2050 mendatang (Azahari, 2008).

Vegetasi tanaman nipah (*Nypa fruticans*) sangat berpotensi untuk dikembangkan menjadi bahan baku industri bioenergi terbarukan yaitu bioetanol karena secara umum nira nipah memiliki kandungan gula sekitar 12-17%. Riau memiliki lahan cukup luas yang dapat ditumbuhi oleh tanaman nipah ini. Lahan yang dapat ditanami tanaman nipah di Riau salah satunya berada di Desa Lubuk Muda dan Desa Pambang, Kabupaten Bengkalis. Hasil kajian awal terhadap kawasan tersebut oleh Hadi (2012) mengindikasikan bahwa kerapatan tanaman nipah di kawasan tersebut adalah sekitar 4.400–6.066 individu/hektar yang didominasi relatif 99,9% tanaman nipah. Jika potensi kerapatan tandan yang dapat disadap adalah 2.966 hektar/tahun dan rata-rata produksi nira satu tandan adalah 53,31 L/tahun maka produktivitas nira nipah adalah 158.153,18 L/hektar per tahun.

Tanaman nipah pada umumnya tumbuh di daerah rawa yang menyebabkan pengumpulan nira nipah dari lokasi penyadapan menuju lokasi pengolahan cukup berat. Nira nipah yang telah dikumpulkan sebelum dilakukan pengolahan sering terfermentasi secara spontan yang disebabkan karena terkontaminasinya nira nipah oleh mikroba lain sehingga dapat menurunkan kualitas dan produktivitas nira nipah ketika difermentasi menjadi bioetanol. Perlu adanya suatu solusi untuk meningkatkan kualitas dan produktivitas nira nipah untuk produksi bioetanol dengan menggunakan teknik fermentasi media kental (*very high gravity fermentation*). Fermentasi media

kental (*very high gravity fermentation*) adalah proses fermentasi dengan menggunakan medium yang mengandung kadar gula tinggi mencapai sekitar 25%. Fermentasi media kental (*very high gravity/VHG fermentation*) memiliki beberapa keunggulan seperti meningkatkan konsentrasi etanol yang dihasilkan dan meningkatkan laju fermentasi sehingga mengurangi biaya produksi dan mengurangi resiko kontaminasi oleh mikroba lain (Chen dkk., 2005; F. W. Bai, 2007; F. W. Bai dkk., 2008; Liu dkk., 2011).

Penambahan lipid seperti ergosterol dan asam lemak tak jenuh memberikan efek yang signifikan terhadap pertumbuhan dan metabolisme sel ragi bebas. *Tween 80TM* dan *Cordyceps mycelium powder* (Tianshi) yang mengandung ergosterol dapat digunakan untuk meningkatkan kinerja sel ragi dalam memproduksi bioetanol. Kadar gula tinggi yang terkandung dalam nira nipah kental dapat menyebabkan *osmotic shock* pada sel *Saccharomyces cerevisiae* sehingga perlu ditambahkan *Tween 80TM* untuk mengurangi tegangan permukaan sel (Andika, 2015). Saat proses fermentasi, kadar etanol akan semakin meningkat sehingga dapat berpengaruh terhadap dinding membran sel yang sebagian besar disusun oleh lipid. Kadar etanol yang semakin meningkat menyebabkan lipid penyusun dinding membran sel menjadi larut. Hal ini dapat diatasi dengan penambahan *Cordyceps mycelium powder* (Tianshi) yang mengandung ergosterol.

Selain dari sterol dan asam lemak tak jenuh, urea sebagai salah satu sumber nitrogen yang berguna

sebagai nutrisi untuk pemeliharaan sel, meningkatkan kinerja sel dan membantu dalam pembentukan asam nukleat dan asam-asam amino pada sel *Saccharomyces cerevisiae*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk melihat pengaruh kombinasi perlakuan urea dan *Cordyceps mycelium powder* yang mengandung ergosterol dengan proses fermentasi pembentukan bioetanol secara nir-sinambung (*batch*).

BAHAN DAN METODE

Tempat dan Waktu

Penelitian telah dilaksanakan di Laboratorium Pengolahan Hasil Pertanian, Laboratorium Analisis Hasil Pertanian Fakultas Pertanian dan Laboratorium Bioproses Fakultas Teknik Universitas Riau. Waktu penelitian berlangsung selama 6 bulan yaitu sekitar bulan Agustus hingga Januari 2016.

Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode percobaan (*Experimental Method*) dengan dua faktor untuk melihat fenomena pengaruh beberapa kadar *Cordyceps mycelium powder* dan kadar urea dengan proses fermentasi pembentukan bioetanol secara nir-sinambung (*batch*). Faktor pertama adalah kadar sumber N Urea yang terdiri dari 4 taraf yaitu (U) (0; 0,2; 0,4; 0,6) gr/l dan faktor kedua adalah kadar *Cordyceps mycelium powder* yang terdiri dari 3 taraf yaitu (C) (0; 0,5; 1) gr/l. Masing-masing kombinasi perlakuan tidak dilakukan pengulangan sehingga diperoleh 12 unit percobaan. Kombinasi perlakuan dapat dilihat pada Tabel 3. Analisis dilakukan setiap hari hingga hari kesembilan terhadap kadar etanol,

kadar gula reduksi, jumlah sel dan perubahan pH.

Pelaksanaan Penelitian

Tahap pelaksanaan penelitian ini meliputi sterilisasi peralatan, Penyiapan Media Fermentasi Nira Nipah Kental (25%), Aktivasi Sel *Saccharomyces cerevisiae*, Fermentasi Bioetanol secara Nir-Sinambung (*Batch*) dan *Rotary Evaporator*

Pengamatan

Pengamatan dalam penelitian ini meliputi kadar etanol (%), kadar gula pereduksi (%), Perhitungan Jumlah Sel (Sel/ml) dan derajat keasaman (pH)

Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan akan dianalisis secara deskriptif dengan menggunakan tabulasi dan grafik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

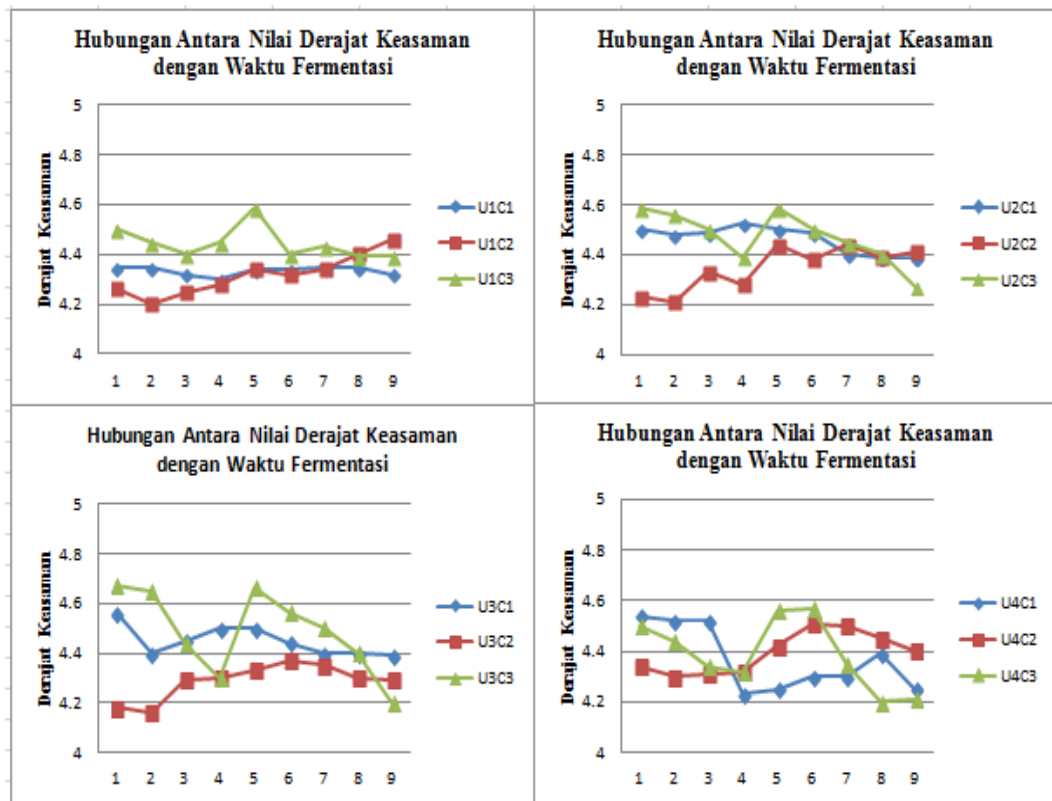
Derajat Keasaman (pH)

Kenaikan dan penurunan nilai derajat keasaman (pH) pada semua perlakuan disebabkan karena sel *Saccharomyces cerevisiae* tidak hanya mengubah gula pereduksi menjadi etanol dan mengonsumsi gula pereduksi sebagai nutrisi untuk pertumbuhan tetapi juga sebagai penghasil produk lain seperti asam-asam organik, sehingga dapat menaikkan dan menurunkan nilai derajat keasaman (pH) akibat sel *Saccharomyces cerevisiae* memproduksi etanol maupun asam-asam organik.

Hal ini sesuai dengan pernyataan Li dan Enrique (2007) bahwa nilai derajat keasaman (pH)

dipengaruhi oleh senyawa yang dihasilkan pada proses fermentasi, proses metabolisme gula selain menghasilkan etanol juga menghasilkan asam-asam organik sehingga dapat menurunkan nilai derajat keasaman (pH). Asam-asam organik hasil dari proses fermentasi

akan menurunkan nilai derajat keasaman (pH) media fermentasi, tetapi karena asam yang dihasilkan pada semua perlakuan tidak terlalu banyak maka penurunan nilai derajat keasaman (pH) tidak terlalu drastis. Grafik nilai derajat keasaman (pH) dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Grafik nilai derajat keasaman (pH)

Dapat dilihat pada Gambar 11 bahwa penambahan urea maupun *Cordyceps mycelium powder* pada beberapa perlakuan tidak langsung mempengaruhi perubahan nilai derajat keasaman (pH) selama proses fermentasi. Perubahan nilai derajat keasaman (pH) terjadi setelah sel *Saccharomyces cerevisiae* melakukan metabolisme. Hasil dari analisis nilai derajat keasaman (pH) ini sejalan dengan hasil penelitian Andika (2015) bahwa penambahan ergosterol murni pada perlakuan

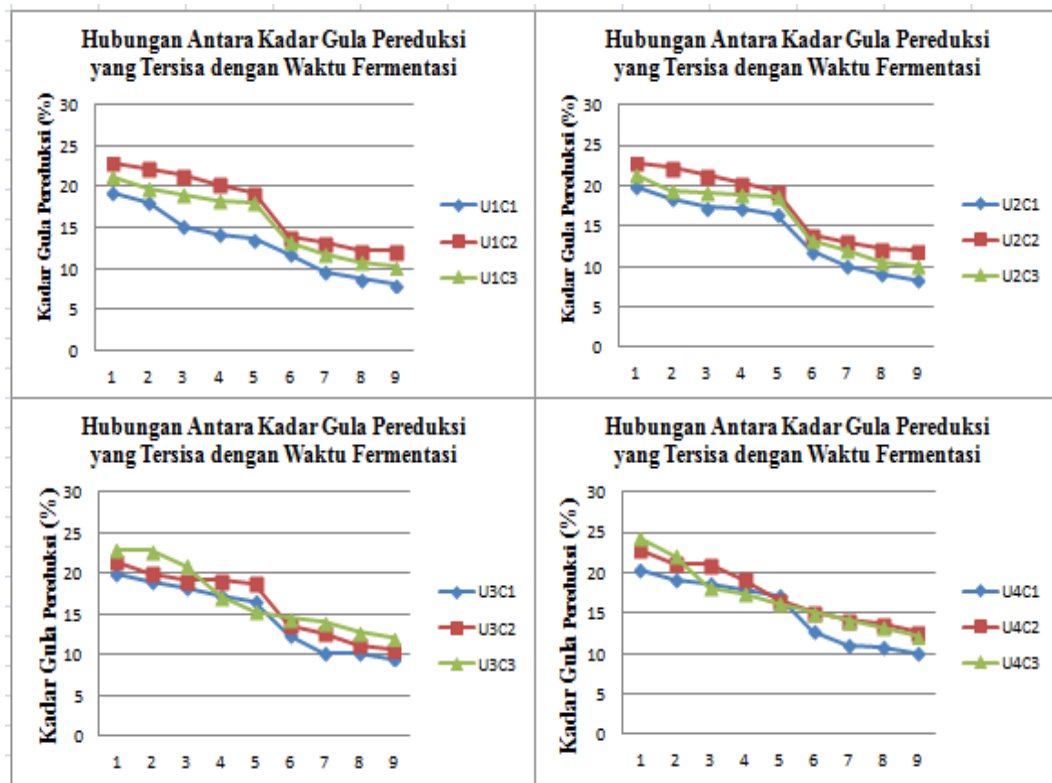
tidak memberikan pengaruh nyata terhadap nilai derajat keasaman (pH) media pada proses fermentasi hari pertama hingga hari terakhir proses fermentasi.

Kadar Gula Pereduksi (%)

Dapat dilihat grafik nilai sisa kadar gula pereduksi pada Gambar 12, perlakuan U_1C_1 tanpa penambahan urea dan *Cordyceps mycelium powder* memiliki nilai sisa kadar gula pereduksi yang paling rendah dari awal fermentasi hingga

akhir proses fermentasi dibandingkan perlakuan-perlakuan yang menggunakan penambahan urea maupun penambahan *Cordyceps*

mycelium powder. Grafik kadar gula pereduksi yang tersisa dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Grafik kadar gula pereduksi yang tersisa

Perlakuan U_1C_1 memiliki nilai sisa kadar gula pereduksi yaitu 8,1% diakhir proses fermentasi dan juga memiliki nilai kadar etanol terendah yaitu 17%. Hal ini disebabkan karena tidak adanya penambahan urea dan *Cordyceps mycelium powder* yang dapat mengatasi terjadinya *osmotic shock* pada sel *Saccharomyces cerevisiae*. Ketidakseimbangan konsentrasi cairan membuat sel berusaha untuk menyeimbangkan konsentrasi cairan antara di luar dan di dalam sel. Nilai sisa kadar gula pereduksi yang rendah pada perlakuan U_1C_1 disebabkan karena sel menyerap gula pereduksi lebih banyak yang

bertujuan untuk menyeimbangkan konsentrasi cairan dibandingkan merombak gula pereduksi yang bertujuan untuk menghasilkan etanol dan produk lainnya.

Perlakuan U_4C_2 dengan penambahan urea dan *Cordyceps mycelium powder* memiliki nilai sisa kadar gula pereduksi yang paling tinggi dibandingkan perlakuan-perlakuan lainnya. Perlakuan U_4C_2 memiliki nilai sisa kadar gula pereduksi sebesar 12,65% diakhir proses fermentasi dan juga memiliki nilai kadar etanol tertinggi yaitu sebesar 31,5%. Hal ini menunjukkan

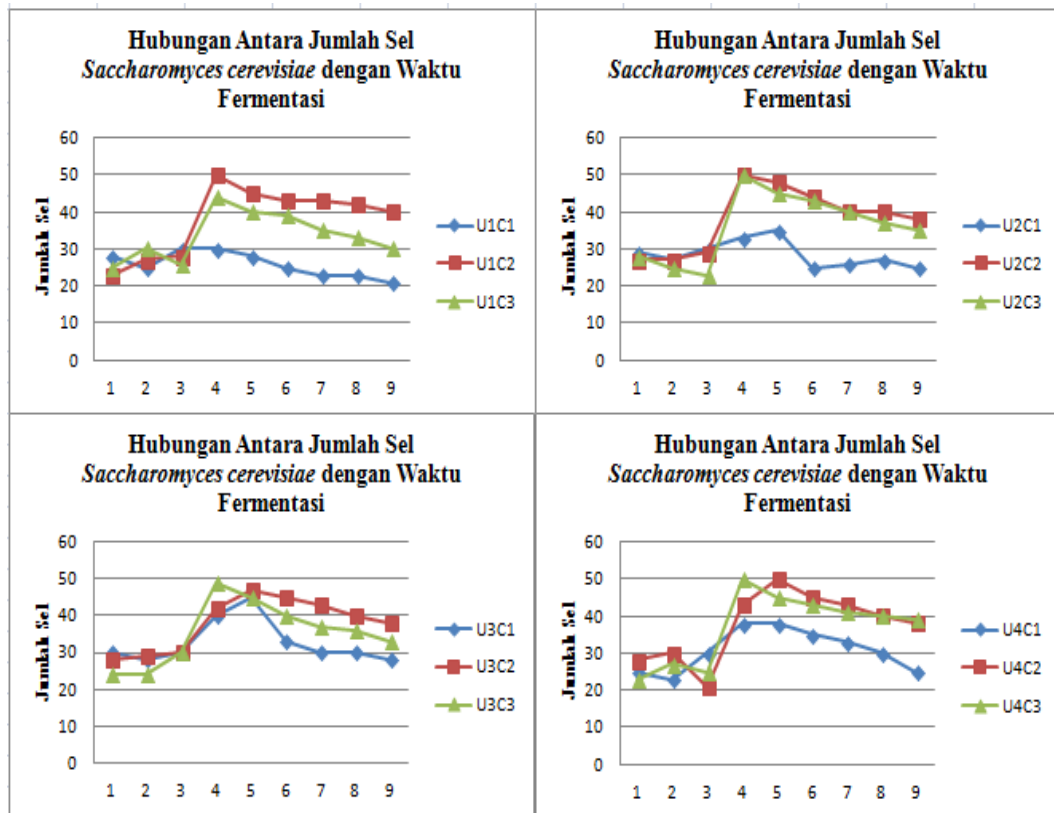
bahwa kombinasi perlakuan dengan penambahan urea sebesar 0,6 gr/l dan *Cordyceps mycelium powder* sebesar 0,5 gr/l efektif untuk menangani terjadinya *osmotic shock* pada sel *Saccharomyces cerevisiae*, sehingga sel tidak perlu menyerap gula pereduksi lebih banyak yang bertujuan untuk menyeimbangkan konsentrasi. Sesuai dengan pernyataan Andika (2015) bahwa ergosterol berperan sebagai pengganti pembentuk membran sel yang mengalami lisis sehingga sel tidak perlu menyerap gula dalam jumlah yang banyak guna untuk membentuk kondisi isotonik antara di luar dan di dalam sel. Sapariantin (2006) menyatakan bahwa urea sebagai sumber nitrogen juga dapat

berfungsi untuk pemeliharaan sel, memperbaiki sel yang rusak akibat *osmotic shock*, meningkatkan kinerja sel serta membantu dalam pembentukan asam amino dan asam nukleat pada sel.

Jumlah Sel Mikrob *Saccharomyces cerevisiae* (Jumlah Sel/ml)

Mikrob khususnya *Saccharomyces cerevisiae* sangat berperan dalam proses fermentasi secara nir-sinambung (*batch*) untuk menghasilkan etanol.

Grafik jumlah sel *Saccharomyces cerevisiae* dapat dilihat pada Gambar 13.



Gambar 13. Grafik jumlah sel *Saccharomyces cerevisiae* (jumlah sel x 10⁸/ml)

Pada Gambar 13, sel mikroba mengalami fase pertumbuhan yang cepat pada hari ketiga hingga hari keempat proses fermentasi. Hal ini disebabkan karena pada hari ketiga hingga hari keempat proses fermentasi, sel sudah memasuki fase pertumbuhan dan tidak lagi berada pada fase adaptasi untuk menyeimbangkan konsentrasi cairan yang berada di luar dan di dalam sel. Sumber makanan dan nutrisi yang ada pada substrat juga masih banyak tersedia dan waktu fermentasi belum berlangsung lama. Penurunan jumlah sel mikroba terjadi pada hari keenam proses fermentasi, hal ini terjadi disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya yaitu waktu fermentasi sudah berlangsung lama, berkurangnya sumber makanan dan nutrisi yang terdapat di dalam media fermentasi dan sel mikroba sudah mulai memasuki fase kematian karena keadaan lingkungan yang buruk disebabkan oleh semakin banyaknya hasil metabolit yang tidak berguna dan mengganggu pertumbuhan sel mikroba.

Perlakuan U_1C_1 tanpa penambahan urea dan *Cordyceps mycelium powder* memiliki jumlah sel mikroba yang terendah dari hari pertama hingga hari kesembilan proses fermentasi dibandingkan perlakuan-perlakuan lain yang menggunakan penambahan urea maupun *Cordyceps mycelium powder*. Hal ini disebabkan karena kadar etanol yang semakin meningkat menyebabkan sel lisis akibat larutnya fosfolipid penyusun

dinding membran sel *Saccharomyces cerevisiae* dan juga kurang tersedianya sumber nitrogen yang dibutuhkan sel untuk merombak gula yang berfungsi dalam pertumbuhan sel, perbaikan sel, menghasilkan produk seperti etanol dan asam-asam organik.

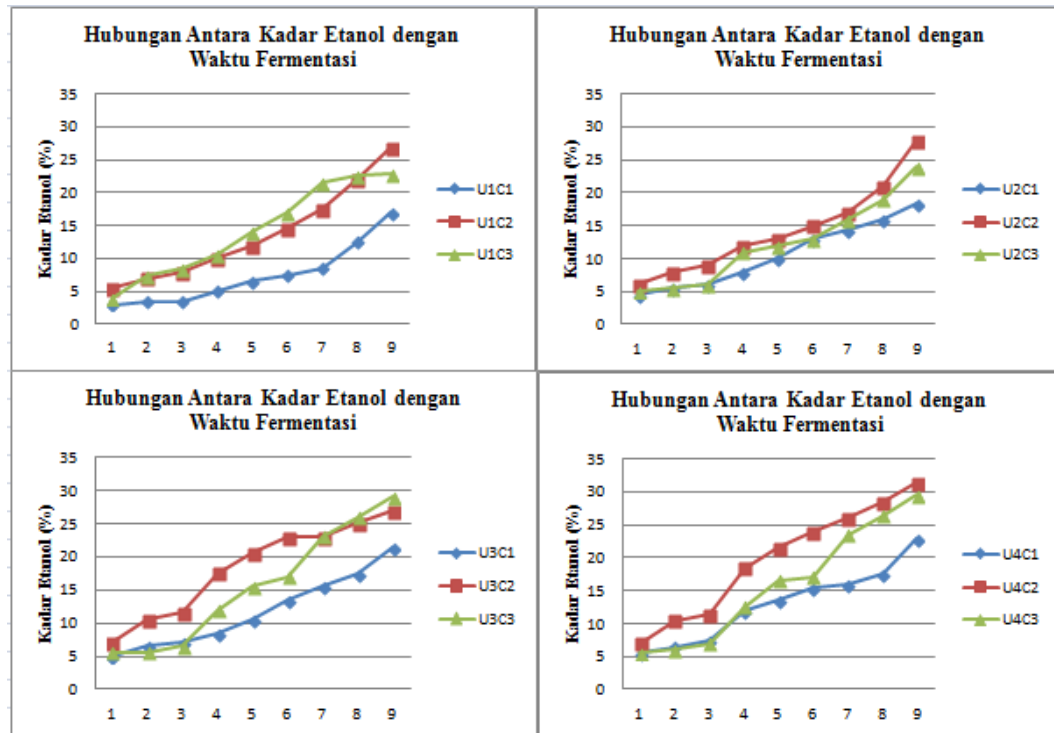
Tidak adanya penambahan *Cordyceps mycelium powder* mengakibatkan sel kurang mampu untuk melakukan biosintesis dinding membran sel atau mengganti fosfolipid penyusun dinding membran sel yang sudah larut di dalam etanol, sehingga sel mikroba mengalami kerusakan dan akhirnya banyak sel yang mengalami kematian (Boulton dan Quain, 2001). Begitu juga dengan tidak adanya penambahan urea, dapat mengganggu pertumbuhan sel *Saccharomyces cerevisiae* karena tidak adanya sumber nitrogen untuk membentuk asam nukleat dan asam amino yang berguna dalam pertumbuhan sel. Hal ini diperkuat dengan pernyataan Sapariantini (2006) bahwa nitrogen merupakan salah satu sumber nutrisi yang sangat penting untuk pertumbuhan sel *Saccharomyces cerevisiae* dalam pembentukan asam nukleat dan asam amino.

Perlakuan-perlakuan dengan penambahan urea maupun *Cordyceps mycelium powder* memiliki jumlah sel mikroba yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan tanpa penambahan urea maupun *Cordyceps mycelium powder*. Hal ini menunjukkan bahwa urea dan

Cordyceps mycelium powder merupakan kombinasi yang baik sebagai penunjang pertumbuhan maupun perbaikan sel yang rusak.

Kadar Etanol (%)

Grafik kadar etanol dapat dilihat pada Gambar 14.



Gambar 14. Grafik kadar etanol

Dapat dilihat pada Gambar 14, pada perlakuan U_1C_1 tanpa penambahan urea dan *Cordyceps mycelium powder* memiliki nilai kadar etanol yang paling rendah dibandingkan perlakuan-perlakuan yang menggunakan penambahan urea dan *Cordyceps mycelium powder*, yaitu memiliki nilai kadar etanol sebesar 17% diakhir proses fermentasi. Hal ini disebabkan karena kadar etanol yang semakin meningkat menyebabkan sel lisis akibat larutnya fosfolipid penyusun dinding membran sel *Saccharomyces cerevisiae* sehingga sel banyak mengalami kerusakan dan kurang

mampu untuk memproduksi etanol karena tidak adanya pengganti pembentuk membran sel dan juga kurang tersedianya sumber nitrogen yang dibutuhkan sel untuk merombak gula yang berfungsi dalam pertumbuhan sel, perbaikan sel, menghasilkan produk seperti etanol dan asam-asam organik.

Tidak adanya penambahan *Cordyceps mycelium powder* mengakibatkan sel kurang mampu untuk melakukan biosintesis dinding membran sel atau mengganti fosfolipid penyusun dinding membran sel yang sudah larut di dalam etanol, sehingga dapat

menurunkan kinerja sel dalam memproduksi etanol. Begitu juga dengan tidak adanya penambahan urea, dapat mengganggu pertumbuhan sel *Saccharomyces cerevisiae* karena tidak adanya sumber nitrogen untuk membentuk asam nukleat dan asam amino yang berguna dalam pertumbuhan sel dan meningkatkan kinerja sel dalam memproduksi etanol.

Perlakuan U₄C₂ dengan penambahan urea dan *Cordyceps mycelium powder* memiliki nilai kadar etanol yang paling tinggi dibandingkan perlakuan-perlakuan lain, yaitu memiliki nilai kadar etanol sebesar 31,5%. Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan dengan penambahan urea sebesar 0,6 gr/l dan *Cordyceps mycelium powder* sebesar 0,5 gr/l merupakan kombinasi terbaik bagi sel untuk memproduksi etanol.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Altawanova (2015) bahwa kadar optimum penambahan *Cordyceps mycelium powder* adalah sebesar 0,5 gr/l dari substrat yang digunakan dengan konsentrasi bioetanol sebesar 17,574% (v/v) pada waktu fermentasi selama 96 jam. Menurut Sapariantin (2006), kadar urea optimum yang digunakan sebagai sumber nutrisi untuk pembentukan asam nukleat dan asam amino pada sel *Saccharomyces cerevisiae* adalah sebanyak 0,6 gr/l. Penggunaan kadar urea yang terlalu tinggi dapat menyebabkan pertumbuhan sel *Saccharomyces cerevisiae* menjadi terhambat, sehingga nilai kadar

etanol yang dihasilkan semakin menurun. Jika kadar urea dikonsumsi dalam jumlah yang besar dan dalam waktu yang singkat akan membentuk NH₃-N yang bersifat racun dan dapat menghambat pertumbuhan sel *Saccharomyces cerevisiae* dan menurunkan kinerja sel dalam memproduksi etanol.

Nilai kadar etanol dari semua perlakuan yang dihasilkan pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan penelitian terdahulu oleh Andika (2015) yang memiliki nilai kadar etanol tertinggi sebesar 16,95% dengan perlakuan penambahan Tween 80™ 0,2% dari media fermentasi yang digunakan dan ergosterol murni sebanyak 18 mg/l. Hal ini menunjukkan bahwa sangat pentingnya penambahan nutrisi seperti urea dan *Cordyceps mycelium powder* yang mengandung ergosterol karena sel *Saccharomyces cerevisiae* juga memerlukan sumber nitrogen dan asam lemak tidak jenuh dalam pertumbuhan dan meningkatkan kinerjanya dalam memproduksi etanol.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Penambahan kadar urea 0,6 gr/l dan kadar *Cordyceps mycelium powder* yang mengandung ergosterol 0,5 gr/l merupakan kombinasi perlakuan terbaik bagi sel untuk memproduksi etanol karena dapat menghasilkan kadar etanol tertinggi pada akhir fermentasi hari kesembilan yaitu sebesar 31,5 %.

Saran

Perlunya penelitian lanjutan serupa dengan mengkombinasikan *Tween 80TM*, urea dan *Cordyceps mycelium powder* yang mengandung ergosterol sebagai sumber nutrisi bagi mikroba yang digunakan dalam proses fermentasi dengan waktu fermentasi yang lebih lama dengan menggunakan sistem fermentasi secara semi-sinambung (*fed batch*) agar bioetanol yang dihasilkan jauh lebih maksimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, A. S., S. Hamdan, N. Annaluru, S. Watanabe, M. R. Rahman, T. Kodaki dan K. Makino. 2010. **Conversion of waste agriculture biomass to bioethanol by recombinant *Saccharomyces cerevisiae***. Journal Science Research, volume 2(2): 351-361.
- Akbar, A. R. M., J. Purnomo, S. Peran dan O. Susanto. 2015. **Teknologi Pengolahan Gula Merah Nipah**. Nipahcenterindonesia.com/?p=772. Diakses pada Tanggal 23 Maret 2016.
- Almodares, A. dan M. R. Hadi. 2009. **Production of bioethanol from sweet sorghum: A Review**. African Journal of Agricultural Research, volume 4 (9): 772 – 780.
- Altawanova, E. 2015. **Fermentasi nira nipah menjadi bioetanol menggunakan teknologi immobilisasi sel *Saccharomyces cerevisiae***. Skripsi Fakultas Teknik Universitas Riau. Pekanbaru.
- Ambarjaya, B. S. 2007. **Mari Mengenal Bumi**. Bandung: Grafindo Media Pratama.
- Andika, D. 2015. **Penambahan tween 80TM dan ergosterol untuk mengatasi osmotic shock dan kerusakan membran sel dalam proses fermentasi bioetanol dari nira nipah kental**. Skripsi Fakultas Pertanian Universitas Riau. Pekanbaru.
- Anonim. 2007. **What Is Osmosis**. Edvotek The Biotechnology Education Company.
- Azahari, D. H. 2008. **Optimalisasi Potensi Indonesia sebagai Raja Bahan Bakar Nabati (BBN) Dunia**. Djarumbeasiswaplus.org/artikel/content/31. Diakses pada tanggal 23 Maret 2016.
- Azizah, R. 2014. **Kajian penggunaan Tween80TM pada pelbagai konsentrasi nira nipah kental dalam proses fermentasi bioetanol**. Skripsi Fakultas Pertanian Universitas Riau. Pekanbaru.
- Badan Pusat Statistik. 2012. **Pemakaian Bahan Bakar Minyak**. Badan Pusat Statistik Indonesia.
- Bai, F. W., W. A. Anderson dan M. Moo-Young. 2008. **Ethanol fermentation technologies from sugar and starch feedstocks**. Biotechnology

- Advances, volume 26(1): 89–105.
- Biopact. 2007. **Nipah Ethanol Project Receives Major Investment.** [Http://news.mongabay.com/bioenergy/2007/01](http://news.mongabay.com/bioenergy/2007/01). Diakses pada tanggal 6 November 2015.
- Bon, E. P. S. dan M. A. Ferrara. 2007. **Bioethanol Production Via Enzymatic Hydrolysis of Cellulosic Biomass.** Prosiding. The Role of Agricultural Biotechnologies for Production of Bioenergy in Developing Countries. Roma.
- Boulton, C. dan D. Quain. 2001. **In Biochemistry of Fermentation. Brewing Yeast and Fermentation** (pp. 69-142). Blackwell Science. London.
- Carter, B. 1988. **Improving ethanol production and viability of *Saccharomyces cerevisiae* by a vitamin feeding strategy during fed-batch process.** Apply Microbiology Biotechnol 60: 67-72.
- Crueger, W. dan C. Ammeliese. 1984. **Biotechnology a Text Book of Industrial Microbiology.** Science Tech, Inc. Madison.
- Chen, L.-J., Y. -L Xu, F. -W Bai, W. A Anderson, dan M. Moo-Young. 2005. **Observed Quasi-Steady Kinetics of Yeast Cell Growth and Ethanol Formation Under Very High Gravity Fermentation Condition.** Biotechnology and Bioprocess Engineering 10(2), 115–121.
- Choi, W.Y., J. G. Han., C. G. Lee., C. H. Song., J. S. Kim., Y. C. Seo., S. E. Lee, K. H. Jung., D. H. Kang., S. J. Heo., J. S. Cho. dan H. Y. Leea. 2012. **Bioethanol production from ulva pertusa kjellman by high-temperature liquefaction.** Chemical Biochemical Engineering 26(1): 15-21.
- Dijk, A. dan N. Eck. 1995. **Ammonium Toxicity and Nitrate Response of Axenically Grown Dactylorhiza Incarnate Seedlings.** Laboratory of Plant Ecology, Department of Plant Biology, Biological Centre, University of Groningen, P.O. Box 14, 9750 AA Haren, The Netherland. New Phytot 131, 361-367.
- Draphco, C.M., N.P. Nhuan. dan T.H. Walker. 2008. **Biofuels Engineering Process Technology.** The McGraw-Hill Companies, Inc. USA.
- Dziugan, P., M. Balcerek, K. Pielech-Przybylska dan P. Patelski. 2013. **Evaluation of the Fermentation of High Gravity Thick Sugar Beet Juice Worts for Efficient Bioethanol Production.** Biotechnology for biofuels 6(1), 158.

- Emjey. 2012. **Manfaat *Cordyceps mycelium* untuk Kesehatan Tubuh.** <https://produkherbal.wordpress.com>. Diakses pada tanggal 3 Juni 2015.
- Fan, Q.W., J. G. Cui., Y.Y. Chun. dan P. Xu. 2007. **Optimization of an ethanol production medium in very high gravity fermentation.** *Biotechnol Lett* 29: 233-236.
- Fardiaz, P.A. 1992. **Produksi Etanol Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* yang Diamobilisasi.** *Akta Kimindo* 1 (2): 105-114.
- Feng, J., Y. Zeng., C. Ma., X. Cai., Q. Zhang., M. Tong., B. Yu. dan P. Xu. 2006. **The surfactant tween 80 enhances biodesulfurization.** *Applied and Environmental Microbiology*, volume 72(11) : 7390-7393.
- Freudenberger, R. 2009. **Alkohol Fuel : A Guide to Making and Using Ethanol as A Renewable.** Friesens. Canada.
- Ganong, W. F. 2005. **Review of Medical Physiology.** 22nd ed. Singapore : Mc Graw Hill. p. 192-201.
- Guimaraes, P. M. R., H. Virtanen dan J. Londesborough. 2006. **Direct evidence that maltose transport activity is affected by lipid composition of brewer's yeast.** *Journal of the Institute of Brewing*, volume 112(3) : 203–209.
- Hadi, S. 2012. **Potensi Mangrove Nipah (*Nypa fruticans* Wurmb) Sebagai Sumber Energi Hijau Bioetanol dan Biopremium yang Berkelanjutan.** Universitas Riau.
- Haikalmoch. 2011. **Transport Membran Sel dan Hubungannya.** <http://www.scribd.com/doc/43465151/3-Transport-Membran>. Diakses pada tanggal 26 November 2015.
- Hambali E, Mujdalipah S, Tambunan A. H, Pattiwiri A. W dan Hendroko R. 2007. **Teknologi Bioenergi.** Jakarta : PT Agromedia Pustaka.
- Harrison, J.S. dan J.G.J. Graham. 1970. **Yeast in Destilery Practice.** Academic Press, New York.
- Iman, R. 2008. **Sistem Operasi Fermentasi.** Departemen Biologi FMIPA Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Jeon, B. Y. 2007. **Development of a serial bioreactor system for direct ethanol production from starch using *Aspergillus niger* and *Saccharomyces cerevisiae*.** *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, volume 12 : 566-573.
- Ji, H., Yu, J., X. Zhang dan T. Tan. 2011. **Characteristics of an immobilized yeast cell system using very high**

- gravity for the fermentation of ethanol.** *Applied Biochemistry And Biotechnology*.doi:10.1007/s12010-011-9280-5.
- Jumpowati, M.D.B. 2003. **Molekuler Membran Plasma Pada Sistem Transpor Bakteri.** Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma Yogyakarta.
- Juwita, R. 2012. **Studi produksi alkohol dari tetes tebu (*Saccharum officinarum* L) selama proses fermentasi.** Skripsi Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin Makassar.
- Karmana, O. 2008. **Cerdas Belajar Biologi.** Jakarta : Grafindo Media Pratama.
- Li, X., dan I. Enrique. 2007. **Selective oxidation of ethanol to acetic acid on dispersed mo-v-nb mixed oxides.** *Chemistry European Journal*. 10.13.9324-9330.
- Liu, C.-G., Y.-H. Lin, dan F.-W. Bai. 2011. **Ageing Vessel Configuration for Continuous Redox Potential-Controlled Very-High-Gravity Fermentation.** *Journal of Bioscience and Bioengineering* 111(1), 61–66. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20921044>.
- Lodder. 2000. **Biological pretreatment of sugarcane trash for its conversion to fermentable sugars.** *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 24 (5): pp. 667-673.
- Madigan, M.T., J.M. Martinko, D.A.Stahl, dan D.P.Clark. 2012. **Brock Biology of Microorganism.** 13th edition. Benjamin Cummings. San Fransisco.
- Mahreni dan S. Suhenry. 2011. **Kinetika pertumbuhan sel *Saccharomyces cerevisiae* dalam media tepung kulit pisang.** Prodi Teknik Kimia. Fakultas Teknologi Industri, Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Yogyakarta. Seminar Rekayasa Kimia dan Proses. ISSN : 1411-4216.
- Marx. 2001. **Nitrogen levels and yeast viability during ethanol fermentation of grain sorghum containing condensed tannins.** *Biomass*. 1988;16:77.
- Miner, M. dan G. Goma. 1982. **Ethanol Production by Extractive Fermentation.** *Biotechnology and Bioengineering*, 24, 1565.
- Muchtadi, T. R., Sugino, dan F. Ayustaningwarno. 2010. **Ilmu Pengetahuan Bahan Pangan.** Alfabeta. Bandung.
- Mushlihah, S., dan W. Herumurti. 2011. **Pengaruh pH dan konsentrasi *Zymomonas mobilis* untuk produksi etanol dari sampah buah jeruk.** Skripsi. Fakultas

- Teknik Sipil dan Perencanaan Institut Teknologi Sepuluh Nopember. Surabaya.
- Nelson, D.L. dan M.M Cox. 2008. **Lehning Principles of Biochemistry. 5th.** W.H. Freeman and Company. New York.
- Pham T. N. L., N. H. D. Doan dan V. V. M, Le. 2010. **Using fed-batch fermentation in very high gravity brewing: effects of Tween 80™ and ergosterol supplementation on fermentation performance of immobilized yeast in calcium alginate gel.** International Food Research Journal, volume 17: 995-1002.
- Popov, S., J. Rankovi, J. Dodic, S. Dodic, dan A. Jokic. 2010. **Bioethanol production from raw juice as intermediate of sugar beet processing: a response surface methodology approach.** Food Technology Biotechnol, volume 48(3) : 376–383.
- Prescott, L. M., J. P. Harley, dan D.A. Klein. 1999. **Microbiology.** The McGraw Hill Companies Inc. Boston.
- Puspita, E dan H. Silviana. 2010. **Fermentasi etanol dari molasses pada k-karaginan.** Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknologi Industri Institut Teknologi Sepuluh Nopember. Surabaya Jawa Timur.
- Reed, N. 2001. **Enhancing Stress Resistance and Production Phenotypes Through Transcriptome Engineering.** Methods Enzymol 470:509–532. doi:10.1016/S0076-6879(10)70020-3.
- Riyadi, A. 2010. **Nipah Membawa Berkah.** [http://jurnalenergi.com/news/55-nipahmembawa-berkah.](http://jurnalenergi.com/news/55-nipahmembawa-berkah) Diakses pada tanggal 19 Januari 2016.
- Roger, S., E. Alderberg, dan J. Ingraham. 1982. **Dunia Mikroba 1.** Bharata Karya Aksara. Jakarta.
- Rusmana, I. 2008. **Sistem Operasi Fermentasi.** Departemen Biologi FMIPA IPB, Bogor Jawa Barat.
- Samejima, M. 2008. **Scenario of Technical Innovation for Production of Ethanol as Automobile Fuel from Cellulosic Biomass in Japan.** Proceedings International Symposium on Wood Science and Technology. Harbin, China, 27-29 September 2008. Harbin : International Association of Wood Products Societies.
- Sapariantin, E., T. Purwoko., R. Setyaningsih. 2006. **Fermentasi Etanol Sari Buah Semu Jambu Mete (*Anacardium occidentale* L.) oleh *Zymomonas mobilis* dengan**

- Penambahan Urea.** Jurnal Bioteknologi. 3 (2): 50-55.
- Satiwihardja, B., B. Wibisono, dan M. Untung. 2010. **Proses Fermentasi Fed-Batch untuk Produksi Dekstranase dengan Streptococcus sp. B7.** Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi Foleta Institut Pertanian Bogor. Bogor Jawa Barat.
- Sendelius, J. 2005. **Steam pretreatment optimisation for sugarcane bagasse in bioethanol production.** Thesis. Department of Chemical Engineering Lund University Sweden.
- Situmorang, B. 2015. **Bioetanol dari Nira Nipah Kental Secara Semi Sinambung dengan Penambahan Tween80TM dan Ergosterol.** Skripsi Fakultas Pertanian Universitas Riau, Pekanbaru.
- Sudarmadji, S., B. Haryono, dan Suhardi. 1997. **Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian.** Liberty. Yogyakarta.
- Symes, M. 2007. **Osmosis.** Science: X-ray Magazine 20th edition.
- Tao, X., D. Zheng, T. Liu, P. Wang, W. Zhao, M. Zhu, X. Jiang, Y. Zhao, and X. Wu. 2012. **A novel strategy to construct yeast Saccharomyces cerevisiae strains for very high gravity fermentation.** Journal Plos One 7 (2): 1-10.
- Tim Nasional Pengembangan BBN. 2008. **Bahan Bakar Nabati Bahan Bakar Alternatif dari Tumbuhan Sebagai Pengganti Minyak Bumi dan Gas.** Eka Tjipta Foundation. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Vernandos, A. dan N. Huda. 2008. **Fermentasi nira nipah menjadi etanol menggunakan Saccharomyces cerevisiae.** Skripsi Fakultas Pertanian Universitas Riau. Pekanbaru.
- Waites, M.J., N.L. Morgan, J.S. Rockey, dan G. Highton. 2001. **Industrial Microbiology : An Introduction.** London: Blackwell Science Ltd.
- Xiao, L. P., Z. J. Sun, Z. J. Shi, F. Xu, dan R. C. Sun. 2011. **Impact of Hot Compressed Water Pretreatment On the Structural Changes of Woody Biomass For Bioethanol Production.** Reviewed Article Bioresources of China.