

Teknologi Produksi Bioetanol

N. Richana, E.R. Widjaja, dan Widjaja

PENDAHULUAN

Untuk mengantisipasi krisis energi, beberapa Negara di dunia berupaya mencari sumber energi alternatif terbarukan berupa bahan bakar nabati (BBN) atau bioenergi. Pemerintah Indonesia melalui Perpres No 5/2006 juga telah mengeluarkan kebijakan tentang energi nasional. Dalam hal ini BBN cair berupa biodiesel diupayakan untuk dapat mengganti solar dan bioetanol sebagai pengganti bensin.

Indonesia memiliki 60 jenis tanaman yang berpotensi menjadi sumber energi BBN. Biodiesel dapat diperoleh dari kelapa sawit, jarak, kelapa, kapuk dan tanaman lain yang mengandung minyak. Bioetanol dapat dihasilkan dari bahan bergula (molases, aren, dan nira lain), bahan berpati (ubikayu, ubijalar, jagung, sagu, dan aneka umbi lain), dan bahan berserat (lignoselulosa). Pada tahap awal Pemerintah memfokuskan pengembangan bioetanol dari ubikayu. Namun pengembangan selanjutnya tidak tertutup kemungkinan menggunakan bahan baku lainnya yang lebih murah dan mudah didapatkan tanpa bersaing dengan bahan pangan, pakan, maupun industri nonetanol.

Pada tahun 2010 target BBN berupa biodiesel 10% dari konsumsi solar (2,41 juta kilo liter), bioetanol 5-10% dari konsumsi premium untuk transportasi (1,48 juta kl), biokerosin 1 juta kl, dan pemanfaatan Pure Plant Oil (PPO) untuk pembangkit listrik 0,4 juta kl. Total pemanfaatan biofuel pada tahun 2010 ditargetkan ..% atau 5,29 juta kl.

Pada tahun 2025 target pemanfaatan biodiesel sebesar 20% (10,22 juta kl), bioetanol 15% (6,28 juta kl), biokerosin 4,07 juta kl, dan PPO 1,69 juta kl sehingga total pemanfaatan BBN sebesar 5% atau 22,26 juta kl. Untuk mencapai target tersebut, pemerintah mendorong membangun 1.000 desa mandiri energi. Target produksi bioetanol pada tahun 2025 untuk campuran premium 10% (E10) dan 20% (E20) masing-masing 5,8 juta kl dan 11,6 juta kl.

PROGRAM PENGGUNAAN BIOETANOL

Sejak akhir abad 20, para pencinta lingkungan menuntut penggunaan bahan bakar ramah lingkungan. Keinginan tersebut semakin menguat dengan

adanya kontaminasi udara perkotaan (emisi gas) yang semakin tinggi. Bahan bakar tersebut di antaranya adalah gasohol (gasoline + etanol). Namun etanol hanya layak diterapkan apabila harga *crude oil* 43 dolar AS per BBL. Pada tahun 2005 harga *crude oil* mencapai 64 dolar AS per BBL, bahkan pada akhir tahun 2007 mencapai 90-100 dolar AS per BBL. Keadaan ini makin mendorong penggunaan bahan bakar nabati.

Menyikapi hal tersebut Departemen Energi dan Sumber Daya Mineral meminta Pertamina untuk menggunakan etanol sebagai *octane booster* pengganti timbel (Pb), dengan pertimbangan harga pokok etanol jauh di bawah harga pokok *gasoline*. Hal ini akan mengurangi ketergantungan pada impor BBM, terbukanya peluang bisnis, dan lapangan kerja. Pada tahun 2006 dikeluarkan Perpres No. 5/2006 tentang kebijakan energi nasional.

Program bahan bakar nabati (BBN) bioetanol pada tahap awal menggunakan ubikayu. Program ini akan berdampak terhadap peningkatan nilai tambah komoditas tersebut yang selanjutnya akan meningkatkan keuntungan petani. Ubikayu selama ini dianggap sebagai komoditas inferior. Dengan adanya penggunaan ubikayu sebagai bahan bakar nabati maka peran ubikayu akan semakin penting. Program pengembangan industri bioetanol diarahkan ke wilayah beriklim basah di Sumatera dan Kalimantan.

KARAKTERISTIK BIOETANOL

Bioetanol adalah etanol yang diproduksi dengan cara fermentasi menggunakan bahan baku hayati. Sedangkan etanol atau ethyl alkohol (C_2H_5OH) adalah senyawa organik golongan alkohol yang mengandung gugus hidroksil (OH) dengan rumus kimia CH_3CH_2OH . Etanol dapat diklasifikasikan berdasarkan bahan baku yang digunakan, proses produksi, dan pemanfaatannya:

1. Klasifikasi berdasarkan bahan baku dan proses produksi
 - a. Secara mikrobiologis menggunakan bahan baku berpati (jagung, ubikayu, ubijalar, dan aneka umbi lain), dan bahan mengandung gula (molases, tebu, sweet sorghum, aren, dan jenis palm lainnya), dan bahan berserat.
 - b. Secara sintetis menggunakan bahan baku antara lain minyak mentah dan gas. Saat ini produksi etanol sintetis kurang dari 5% dari total produksi.
2. Klasifikasi berdasarkan kandungan air
 - a. Etanol 95-96% (alkohol prima super, prima I, dan alkohol prima II).
 - b. Etanol 99,5% (anhydrous etanol) dengan kandungan air 0,05%.

3. Klasifikasi menurut pemanfaatannya

- a. Untuk industri (*industrial grade*), sebagai pelarut dalam pembuatan vernis, minyak wangi, iodium tincture, dan spiritus; untuk laboratorium sebagai pelarut senyawa bersifat polar; untuk bidang kedokteran sebagai bahan baku kloroform; dan iodoform.
- b. Untuk minuman beralkohol (*portable grade*).
- c. Untuk bahan bakar (*ethanol grade fuel*).

Ciri khas etanol adalah berbentuk cairan yang tidak berwarna dengan bau khas, dapat melarutkan zat organik, mudah menguap, titik didih 78°C, berat molekul 46,07, panas penguapan 204 kJ/g, titik beku -144°C, panas pelarutan 24,9 kJ/g, dan panas jenis 0,7939 g/ml.

Pemerintah melalui Dewan Standardisasi Nasional telah menetapkan standar mutu nasional bioetanol. Ada dua SNI untuk etanol yaitu SNI-06-3565-1994 untuk alkohol teknis yang tergolong etanol prima I dan etanol prima II (Tabel 1) dan SNI DT 27-001-2006 untuk alkohol bahan bakar.

Standar Nasional Indonesia untuk alkohol bahan bakar (*ethanol grade fuel*) telah disusun oleh Panitia Teknis Energi Baru dan Terbarukan (PTEB) yaitu SNI bioetanol terdenaturasi yang disahkan dengan nomor SNI DT 27-0001-2006, tanggal 27 Desember 2006 (Tabel 2).

Tabel 1. Standar mutu etanol berdasarkan Standar Industri Indonesia.

Parameter	Satuan	Etanol Prima I	Etanol Prima II
Kadar etanol	%v/v	96,1	95,0
Uji barbet	Menit, min	20	8
Minyak fusel	mg/l, maks	14	15
Keasaman (asam asetat)	mg/l, maks	12	30
Sisa penguapan 105°C	mg/l, maks	50	50
Metanol	%v/v	0,1	0,1
Aldehid	mg/l, maks	4	150
Logam berat	mg/l	0	0

Sumber: BSN (2006).

Tabel 2. Standar mutu bioetanol sebagai bahan bakar.

Parameter	Satuan	FGE
Kadar etanol	%-v, min	95,6 (sebelum denaturasi) 99,5 (setelah denaturasi)
Kadar metanol	mg/l, maks	300
Kadar air	%-v, maks	1
Kadar denaturan	%-v, min%-v, maks	25
Kadar tembaga (Cu)	mg/kg, maks	0,1
Keasaman (asam asetat)	mg/l, maks	30
Tampakan		Jemih dan terang, tidak ada endapan dan kotoran
Kadar ion klorida (Cl)	mg/l, maks	40
Kandungan belerang (S)	mg/l, maks	50
Kadar getah (gum)	mg/100 ml, maks	5,0
pH		6,5-9,0

Sumber: BSN (2006).

PROSPEK DAN POTENSI PENGEMBANGAN INDUSTRI BIOETANOL

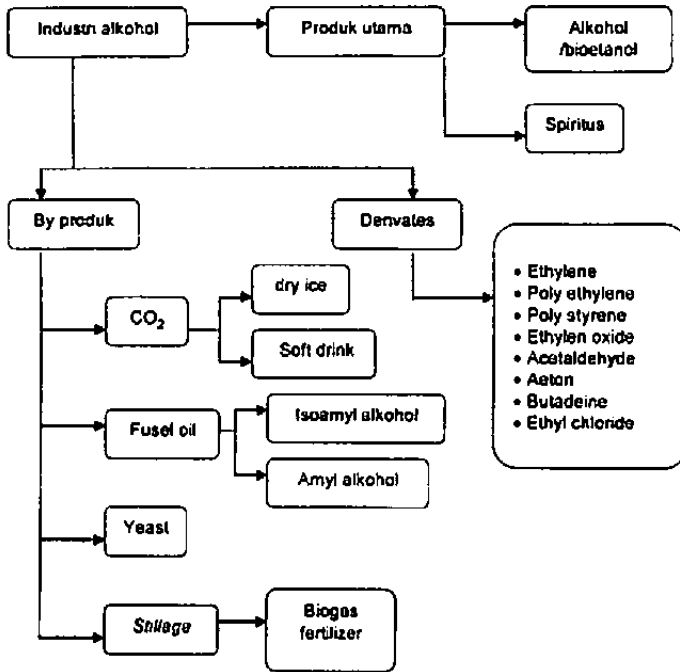
Manfaat Bioetanol

Industri bioetanol atau alkohol menghasilkan produk yang cukup banyak. Produk utama dari industri alkohol adalah alkohol atau bioetanol dan spiritus. Proses pengolahan bioetanol menghasilkan produk samping di antaranya CO₂, fusel oil, yeast, dan vinasse (Gambar 1).

Penggunaan bahan bakar minyak yang terus meningkat dibarengi oleh penurunan produksi BBM nasional 5,7%/tahun mengindikasikan ketersediaan minyak bumi semakin menipis. Kebutuhan yang terus meningkat yang diiringi oleh penyusutan suplai akan menyebabkan harga minyak bumi terus melambung yang akan mengganggu keseimbangan perekonomian dunia.

Bertolak dari kondisi tersebut, berbagai negara berupaya mencari sumber bahan bakar alternatif yang dapat mensubstitusi minyak bumi dalam pemakaian sehari-hari, terutama sebagai bahan bakar kendaraan bermotor dan industri. Salah satu alternatif yang potensial untuk dikembangkan adalah bioetanol (etanol yang dihasilkan dari proses fermentasi bahan berpati oleh mikroorganisme).

Konsumsi bioetanol dunia semakin meningkat karena banyak digunakan oleh industri maupun sebagai bahan bakar. Produksi bioetanol dunia untuk bahan bakar naik dari 19 juta kl pada tahun 2001 menjadi 31 juta kl pada tahun 2005, sehingga penggunaan BBM juga naik. Sebagai contoh



Gambar 1. Pohon industri etanol.

di Brasil, Kanada, dan Uni Eropa sekitar 63% dari produksi etanol digunakan sebagai bahan bakar. Di Asia, terutama Jepang dan Korea, sebagian besar etanol digunakan untuk bahan dasar industri turunannya dan bahan minuman. Di Cina, Thailand, dan India upaya peningkatan produksi etanol diarahkan untuk keperluan bahan bakar.

Penggunaan bioetanol sebagai substitusi minyak bumi untuk mesin pembakaran internal dapat dirunut sejak tahun 1890an. Penelitian penggunaan bioetanol sebagai bahan bakar menguat kembali sejak 1970-an dengan pertimbangan ketersediaan bahan bakar minyak/fosil yang semakin menipis dan harganya terus melambung, di samping dampak lingkungan dari penggunaan BBM yang semakin memprihatinkan. Pada tahun 1997 lebih dari 13 juta ton bioetanol telah diproduksi untuk substitusi BBM di seluruh dunia. Brazil dan Amerika Serikat merupakan produsen terbesar. Brazil pada tahun 2003 telah mempromosikan secara besar-besaran kendaraan bermotor berbahan bakar alkohol, setelah pemerintah memutuskan kendaraan berbahan bakar etanol dikenai pajak 14%, sementara dengan bahan bakar bensin murni 16%. Brazil mampu mengembangkan *flex-fuel car*, kendaraan yang mampu mengonsumsi alkohol murni, bensin murni, atau bahkan keduanya. Pada saat tangki bahan

bakar diisi, sebuah *chip komputer* menganalisis dan mengukur takaran etanol dan bensin. Pada tahun 2004 produk tersebut berhasil merebut 17% dari total pangsa pasar otomotif dan pada tahun 2005 meningkat menjadi 53,6% (Republika 17 Februari 2006).

Banyak keuntungan penggunaan bioetanol sebagai bahan bakar alternatif pengganti minyak bumi. Faktor utama yang menjadi pertimbangan adalah pati sebagai substrat produksi bioetanol yang merupakan sumber energi terbarukan (*renewable resources*) berupa premium mix E10-E20 yang mempunyai kadar oktan lebih tinggi dibanding premium murni. Penggunaan bahan bakar etanol tidak memberikan tambahan karbondioksida pada lingkungan karena CO₂ yang dihasilkan dari pembakaran etanol diserap kembali oleh tumbuhan dan dengan bantuan sinar matahari digunakan dalam proses fotosintesis. Bioetanol yang memiliki oktan tinggi dapat digunakan sebagai pengganti senyawa eter dan logam berat seperti Pb sebagai '*anti-knocking agent*' yang memiliki dampak buruk terhadap lingkungan. Penggunaan premium dengan oktan yang tinggi memperbaiki proses pembakaran menjadi lebih sempurna dan emisi gas buang dari hasil pembakaran dalam mesin kendaraan bermotor lebih baik. Keunggulan dari pemanfaatan bioetanol merupakan kekuatan internal yang dapat meningkatkan kinerja pengembangan industri bioetanol.

Kebutuhan Nasional

Laju pertumbuhan konsumsi bahan bakar nasional saat ini sangat tinggi, sekitar 6-7% per tahun, sedangkan laju konsumsi dunia hanya sekitar 2%. Cadangan minyak mentah nasional makin kecil, hanya sekitar 0,5% dari cadangan minyak mentah dunia. Pada akhir tahun 2004 konsumsi BBM nasional mencapai 1,35 juta barel/hari, sedangkan produksi hanya 1,0 juta barel/hari, sehingga 40% kebutuhan BBM harus diimpor. Tantangan ke depan adalah mengurangi impor BBM dan meningkatkan penggunaan sumber energi terbarukan, di antaranya bahan bakar hayati (bioetanol). Target substitusi bioetanol untuk premium dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Perkiraan konsumsi BBM, target volume substitusi bioetanol, dan perkiraan ketersediaan bahan baku.

	2005	2006	2007	2008	2009	2010
Kebutuhan premium (ribu KI)*	16.050	17.170	18.370	19.660	21.036	21.500
Volume bioetanol (ribu KI)		172 (1%)	735 (4%)	1.376 (7%)	2.100 (10%)	2.251 (10%)
Bahan baku ubikayu (ribu ton)		1.200	4.800	8.900	13.650	14.600

* Laju peningkatan konsumsi 7%/tahun.
Sumber: ESDM (2006).

Ketersediaan Bahan Baku

Substrat yang umum digunakan untuk fermentasi adalah sumber pati yang berasal dari jagung, gandum, ubikayu, aneka umbi, sagu, dan gula tebu (*molase*). Di Brasil, bahan baku yang digunakan adalah tebu, sedangkan di Amerika Serikat banyak digunakan jagung. Harga substrat yang cukup mahal menyebabkan harga etanol sebagai bahan bakar pengganti minyak masih cukup tinggi mengingat 60% dari biaya yang digunakan dalam sistem produksi etanol adalah biaya substrat.

Oleh karena itu, perlu dicari substrat alternatif yang murah dengan ketersediaan yang merata sepanjang tahun. Produk pertanian yang memenuhi kriteria tersebut di Indonesia adalah ubikayu yang siap dipanen harian sepanjang tahun, bila waktu tanamnya diatur. Ubikayu merupakan bahan berpati yang cukup tersedia di Indonesia. Selain produktivitasnya yang tinggi, ubikayu juga termasuk tanaman yang tidak terlalu membutuhkan tanah yang subur untuk dapat tumbuh dan berproduksi optimal. Pada lahan marginal dengan tingkat hara yang rendah, ubikayu masih dapat tumbuh dan menghasilkan pati dalam jumlah besar.

Produksi ubikayu di Indonesia cenderung meningkat dengan laju 3,5%/tahun. Lampung, Jawa Timur, Jawa Tengah, dan Jawa Barat adalah sentra utama ubikayu. Pada tahun 2000, produksi ubikayu di empat provinsi tersebut mencapai 70% dari produksi nasional (11,5 juta ton), sedangkan pada tahun 2004 meningkat menjadi 75% dari produksi nasional (14,5 juta ton). Dari keempat provinsi tersebut hanya Lampung yang agroekologinya sesuai untuk pengembangan industri. Berdasarkan keberhasilan Lampung sebagai sentra industri tapioka, maka tipologi wilayah Lampung dapat digunakan sebagai dasar pertimbangan dalam pengembangan industri berbahan baku ubi segar, di antaranya bioetanol. Produksi ubikayu di empat provinsi tersebut telah digunakan sebagai pangan dan bahan bakar industri nonetanol. Dengan demikian pengembangan industri bioetanol diarahkan ke daerah lain yang tipe agroekologinya sama dengan Lampung, yaitu

Tabel 4. Perkiraan hasil etanol dari sumber pati tanaman pangan.

Tanaman pangan	Etanol ^{a)} (l/l)	Produktivitas (t/ha)	Umur panen (bulan)	Etanol (l/ha/tahun)
Ubikayu	180	40	9-11	7200
Jagung	385	6	3,5	4620
Ubijalar	142	20	4	5680
Sweet sorgum	76,7	6	4	920,4
Biji sorgum	389	4	3,5	3112
Talas	142	20	10	2840

^{a)}Perhitungan berdasarkan konversi rasio etanol: 1,67 kg pati/ liter etanol (Wang 1983)

Kalimantan yang beriklim basah dan didukung oleh ketersediaan lahan yang cukup luas.

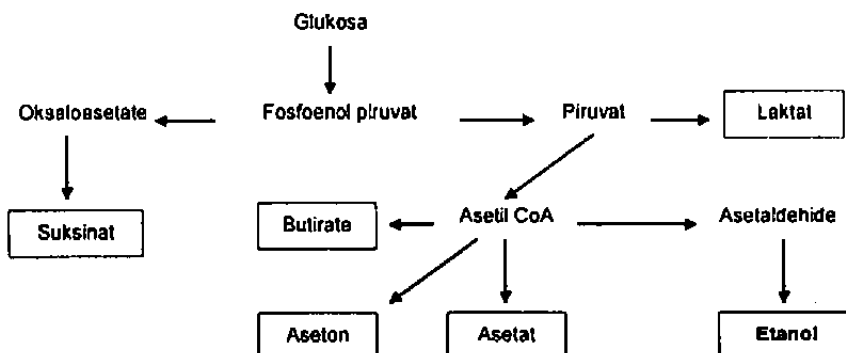
PROSES PRODUKSI

Etanol dapat dibuat dengan cara sintesis etilen atau melalui proses fermentasi. Memproduksi etanol dengan cara sintesis senyawa etilen (C_2H_4) dibantu dengan katalis asam sulfat dan pemanasan pada temperatur $70^\circ C$ pada tekanan 10 atm. Etanol juga dapat disintesis dari aldehid melalui proses reduksi.

Proses produksi etanol melalui fermentasi gula menggunakan ragi *Saccharomyces cerevisiae* atau *Saccharomyces elipsoides*. Beberapa bakteri seperti *Zymomonas mobilis* diketahui memiliki kemampuan melakukan untuk fermentasi dalam memproduksi etanol.

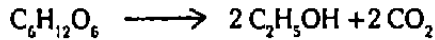
Teknik fermentasi untuk memproduksi bioetanol sampai saat ini nampaknya belum efisien dengan produktivitas yang masih rendah dan membutuhkan modal yang besar. Produksi biomassa yang rendah selama proses fermentasi dan pembentukan produk samping selain etanol menyebabkan efisiensi yang rendah. Piruvat sebagai produk hidrolisis glukosa terpecah ke dalam beberapa jalur biosintesis multiproduk (Gambar 2).

Untuk meningkatkan produktivitas etanol, perlu dilakukan optimasi kondisi yang dapat mengarahkan penggunaan piruvat menjadi etanol. Pendekatan yang dapat dilakukan antara lain mutagenesis, pemilihan substrat dan kondisi fermentasi yang optimum.



Gambar 2. Jalur biosintesis etanol dari glukosa.
(Sumber: Gokam *et al.* 1997).

Secara teoritis, hidrolisis glukosa akan menghasilkan etanol dan karbondioksida. Perbandingan mol antara glukosa dan etanol dapat dilihat reaksi berikut ini:



Satu mol glukosa menghasilkan 2 mol etanol dan 2 mol karbondioksida, atau dengan perbandingan bobot tiap 180 g glukosa akan menghasilkan 90 g etanol. Oleh karena itu perlu diupayakan penggunaan substrat yang murah untuk dapat menekan biaya produksi etanol agar harga produknya bisa lebih murah.

Penyediaan Bahan Baku

Ubi Segar

Bahan baku yang digunakan adalah ubi segar atau pati ubi. Pati ubi tersusun sebagian besar oleh amilosa (pati) yang bisa difermentasi oleh bakteri atau *yeast* yang selama ini digunakan dalam proses produksi etanol. Pada fermentasi secara konvensional, pati diubah dulu menjadi glukosa melalui hidrolisis asam atau enzimatis untuk menghasilkan glukosa yang dapat digunakan oleh bakteri atau *S. cerevisiae* sebagai substrat untuk menghasilkan etanol. Pada sistem ini proses produksi etanol dipecah menjadi dua tahap yang berbeda pada tempat dan kondisi yang berbeda pula, yaitu hidrolisis pati menjadi glukosa dan fermentasi glukosa menjadi etanol.

Enzim (Alfa Amilase dan Amiloglukosidase)

Bioetanol dibuat dengan cara reaksi enzimatis bertingkat dari pati. Proses hidrolisis ubi segar menjadi glukosa terdiri atas dua tahap, yaitu likuifikasi dengan katalis enzim alfa amilase, dan sakarifikasi dengan katalis enzim amiloglukosidase.

Enzim alfa amilase merupakan enzim yang aktif dalam proses likuifikasi. Enzim ini diproduksi oleh NOVO. Aktivitas enzim sangat dipengaruhi oleh suhu dan pH lingkungan dan setiap enzim umumnya mempunyai kisaran suhu dan pH optimum yang berbeda. Enzim liquizyme produksi NOVO mempunyai suhu optimum berturut-turut 103° dan 105°C dengan pH aktivitas 5-6,5 dan pH optimum 6,0 dan enzim akan stabil pada pH 5,5-9,5.

Cara kerja alfa amilase melalui dua taha. Tahap pertama, degradasi amilosa menjadi maltosa dan maltotriosa yang terjadi secara acak. Degradasi ini terjadi sangat cepat dan diikuti menurunnya viskositas dengan cepat.

Tahap kedua relatif lambat, yaitu pembentukan glukosa dan maltosa sebagai hasil akhir secara tidak acak. Keduanya merupakan kerja enzim alfa amilase pada molekul amilosa saja. Kerja alfa amilase pada molekul amilopektin akan menghasilkan glukosa, maltosa, dan berbagai jenis limit dekstrin, yaitu oligosakarida yang terdiri atas empat atau lebih residu gula yang semuanya mengandung ikatan alfa 1,6.

Enzim amiloglukosidase berperan dalam proses sakanifikasi dengan nama merk dagang *Dextrozyme*. Aktivitas enzim ini juga dipengaruhi oleh pH dan suhu, di mana pH dan suhu optimumnya masing-masing pada kisaran 4,5–5,0 dan 60°C. Enzim ini menghidrolisis ikatan 1,4 glikosida dari pati dan oligosakarida menjadi unit-unit glukosa. Kecepatan hidrolisis bergantung pada panjang rantai molekul, misalnya maltodekstroza dan oligosakarida dengan bobot molekul lebih tinggi akan dihidrolisis lebih cepat dari maltosa. Amiloglukosidase juga dapat menghidrolisis ikatan 1,6 glikosida.

Enzim yang akan digunakan dalam proses produksi sebaiknya ditampung terlebih dahulu pada tangki enzim, untuk memudahkan pengaturan dosis enzim.

Khamir

Khamir adalah mikroorganisme bersel tunggal dengan bentuk oval tidak beraturan, ukuran 5-20 mm (Paturau 1982), berbentuk bola (*spherical*), telur (*ogival*), silinder (*cylindrical*), segitiga (*triangular*), botol (*flask shaped*), dan apikulat (*apiculate*). Bentuk-bentuk tersebut sangat dipengaruhi oleh pembelahan selnya. Sel khamir sering dijumpai secara tunggal, tetapi bila tidak terlepas dari induknya setelah terjadi pembelahan sehingga akan terjadi bentuk *pseudomisetium*. Khamir tidak bergerak karena tidak mempunyai struktur tambahan di bagian luarnya seperti flagella. Khamir tumbuh pada media cair atau padat. Pembelahan selnya terjadi secara aseksual dengan pembentukan tunas (*budding*). Mula-mula tunas tumbuh kecil dari permukaan sel induk, kemudian secara bertahap membesar dan mencapai ukuran yang sama dengan induknya. Dengan terjadinya pengerutan sel induk maka tunas akan terlepas, sel baru terbentuk, dan selanjutnya memasuki tahap pertunasan.

Khamir tumbuh optimum pada suhu 25-30°C dan maksimum pada 35-47°C, pH 4-5. Batas minimal a_w untuk khamir biasa adalah 0,88-0,94, sedangkan untuk khamir osmofilik lebih rendah yaitu 0,62-0,65, namun banyak juga khamir osmofilik terhenti pertumbuhannya pada a_w 0,78 seperti pada larutan garam atau sirup gula. Paturau (1982) menyatakan bahwa fermentasi etanol membutuhkan waktu 30-72 jam, sementara menurut Prescott dan Dunn (1981) 3-7 hari.

Khamir memerlukan media dan lingkungan yang sesuai untuk pertumbuhan dan perkembangannya. Unsur dasar yang dibutuhkan adalah karbon, hidrogen, oksigen, fosfor, potasium, zat besi, dan magnesium. Unsur mikro juga memegang peranan penting untuk pertumbuhan khamir. Karbon banyak diperoleh dari gula, sebagai sumber nitrogen dapat digunakan amonia, garam amonium, asam amino, peptida, pepton, nitrat atau urea, bergantung pada jenis khamir (Prescott dan Dunn 1981).

Maiorella (1982) menyebutkan bahwa seleksi khamir didasarkan kepada kemampuan menghasilkan etanol, waktu fermentasi, pertumbuhan khamir yang tinggi, toleransi terhadap tekanan osmosis, optimum pada kondisi pH rendah, suhu tinggi, tahan terhadap pengaruh perubahan kimia dan fisika. Pertumbuhan yang tinggi dan waktu fermentasi yang cepat menjadikan proses fermentasi dapat dilakukan dengan peralatan yang lebih sederhana. Toleransi terhadap konsentrasi etanol dan glukosa yang tinggi memberikan kemudahan dalam mengurangi energi dan penanganan *stillage*. Toleransi terhadap tekanan nilai pH yang rendah menghambat kontaminasi dari mikroorganisme lain. Toleransi terhadap suhu tinggi memudahkan teknik pendingin fermentor.

Dalam produksi etanol secara komersial masih digunakan jenis khamir *Sacharomyces* dan umumnya dari galur *S. cerevisiae* dan *S. ovarum* (Higgins *et al.* 1984), *Schizosaccharomyces pombe* dan *Kluyveromyces* sp. (Kosaric *et al.* 1982), *S. elipsoideus*, dan *S. fragilis* (Maiorella 1982).

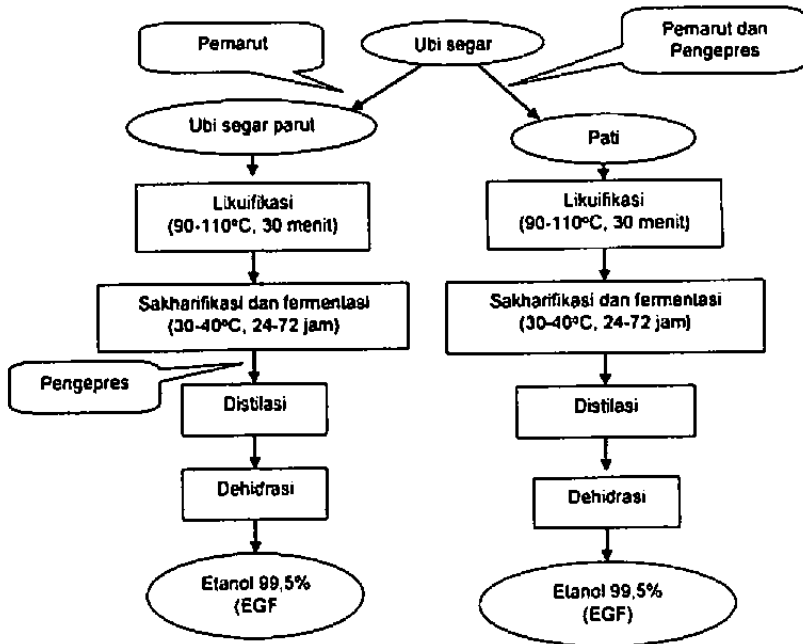
Fungsi utama dari khamir menghidrolisis glukosa menjadi etanol, karbon dioksida, dan energi. Glukosa dihasilkan dari tahapan likuifikasi dan sakarifikasi. Isolat khamir yang digunakan perlu diremajakan setiap saat dan lebih ekonomis kalau kultur mikrobial ini diproduksi sendiri. Dengan demikian perlu bahan pembantu untuk media pertumbuhan isolat tersebut.

Proses Produksi

Bioetanol dapat dibuat melalui beberapa tahap yaitu ekstraksi pati, likuifikasi, sakarifikasi, dan kultivasi menggunakan *Sacharomeces cerevisiae*. Ekstraksi pati dilakukan dengan pamarutan, kemudian pengepresan.

Etanol dapat diproduksi dengan dua cara, yaitu dengan bahan baku ubi segar parut dan bahan baku pati ubi. Gambar 3 menunjukkan dua macam proses berdasarkan perbedaan bahan baku.

Proses produksi menggunakan alat yang sama yaitu pamarut dan pengepres, dengan kebutuhan fermentor dan destilator yang sama. Namun dari kedua proses tersebut ternyata volume kerja dan hasil per unit proses



Gambar 3. Proses produksi bioetanol dengan bahan baku ubi parut dan pati ubikayu.

tidak sama. Untuk bahan baku ubi segar parut, pada reaktor volume 1.000 l, hanya mampu memproses 400 kg ubi segar, yang menghasilkan etanol 80 l. Dari bahan baku pati dapat diproses 300 kg pati setara dengan 900-1200 kg ubi, yang menghasilkan 240 l etanol. Berdasarkan kemampuan tersebut, maka untuk skala besar (lebih dari 10.000 l per hari) lebih menguntungkan dengan memproses lebih dahulu ubi segar menjadi pati, namun memerlukan tambahan biaya untuk pengolahan ubi segar menjadi pati.

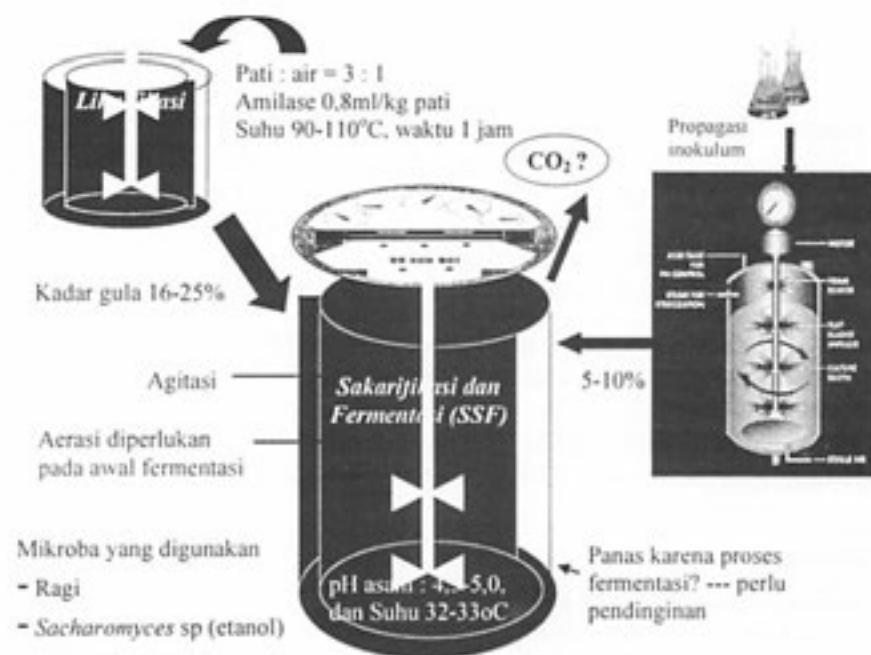
Proses likuifikasi dan sakarifikasi untuk mendapatkan glukosa dapat dilakukan dengan dua teknik yaitu teknik secara asam dan enzimatis. Hidrolisis secara asam menghasilkan derajat konversi pati menjadi glukosa yang lebih tinggi dibandingkan dengan hidrolisis secara enzimatis, namun hidrolisis enzimatis dapat dilakukan secara simultan dengan fermentasi.

Likuifikasi

Pembuatan suspensi ubi parutan dilakukan pada tangki pencampuran. Caranya dengan mencampurkan ubi parutan sebanyak dua kali jumlah air dan diaduk sampai homogen. Perbandingan jumlah ubi parutan dan air adalah 10 ton ubi parutan segar dan 5.000 l untuk tiap *batch*.

Dari tangki tersebut, suspensi ubi parutan dialirkan ke tangki penampungan (*service tank*), di mana suspensi ubi parutan dalam tangki diaduk lagi untuk mencapai kehomogenan yang maksimal. Selanjutnya, ke dalam tangki dimasukkan sejumlah enzim alfa amilase dengan takaran 0,8-1 ml/kg pati tapioka (Richana *et al.* 2007). Enzim berfungsi untuk menghidrolisis pati secara acak, memutus atom C agar tidak terjadi gumpalan pada saat pemanasan. Terhadap suspensi dalam tangki penampungan dilakukan pengaturan pH menjadi 6,2-6,4 dengan penambahan NaOH 21% dan CaCl₂ 1% sebagai stabilisator pH. Kandungan Ca²⁺ dalam larutan tersebut berkisar antara 60–150 ppm.

Pemasakan suspensi ubi parutan dilakukan pada suhu 105°C. Pada proses pemasakan tersebut sudah terjadi proses dekstrinasi. Sumber pemanasan berasal dari *jet cooker*. Suspensi akan ditampung dalam tangki retensi dan pada saat itu dilakukan uji iod untuk mengetahui apakah pati yang terkandung sudah atau belum terdegradasi dengan sempurna. Pati yang masih mengandung amilosa akan berwarna biru, sedangkan pati yang telah terdegradasi menjadi dekstrin akan berwarna coklat kemerahan. Selain uji iod juga dilakukan uji terhadap pH dan nilai DE (*dextrose equivalent*), nilai pH yang diharapkan 4,0–4,6 dan nilai DE 8,0–14,0.



Gambar 4. Proses likuififikasi, sakarifikasi, dan fermentasi pati.

Sakarifikasi

Proses dengan cara tidak simultan berlangsung secara bertahap, yaitu sakarifikasi sampai menghasilkan glukosa, kemudian dilanjutkan dengan fermentasi. Pada proses sakarifikasi, larutan likuifikasi pati yang telah terdegradasi menjadi dekstrin diturunkan suhunya dari 105°C menjadi 60 °C dengan cara melewatkannya pada penukar panas (*heat exchanger*). Selanjutnya dimasukkan ke dalam tangki sakarifikasi dengan penambahan enzim amiloglukosidase. Enzim ini memecah rantai dekstrin menjadi glukosa. Kerja enzim dikondisikan pada pH 4,0–6,0, jika pH yang terjadi pada proses sakarifikasi lebih besar daripada nilai yang diharapkan maka ditambahkan HCl 18%.

Proses sakarifikasi membutuhkan waktu 48-76 jam, tetapi masih dapat dipersingkat sesuai target dengan penambahan lebih banyak enzim ke dalam suspensi sampai nilai Dx minimal 90,5%, DE minimal 98,0%, Cv (*color value*) minimal 60%, dan transmitten dan Bx 30-35. Selama proses berlangsung dilakukan agitasi untuk menghomogenkan enzim. Semakin rendah kandungan glukosa semakin tinggi dekstrin dan maltosena.

Sakarifikasi dan Fermentasi secara Simultan

Proses sakarifikasi dan fermentasi secara simultan dimulai dengan mengubah dekstrin menjadi gula dengan bantuan enzim glucoamilase, gula yang terbentuk secara simultan difermentasi menjadi etanol dan CO₂ dengan bantuan khamir. Proses tersebut sering disebut *Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF)*.

Fermentasi

Fermentasi merupakan proses biokimia dan tahap paling kritis dalam produksi etanol, di mana mikroorganisme yang berperan dalam fermentasi akan menghasilkan enzim yang mampu mengkonversi substrat menjadi etanol. Substrat yang digunakan adalah bahan bergula dengan enam atom C. Faktor utama yang berpengaruh terhadap *yield* produk dan efisiensi fermentasi meliputi kondisi fisik inokulum, faktor lingkungan selama fermentasi, dan mutu substrat. Kondisi fisik inokulum sesuai dengan kondisi pertumbuhan optimal mikroba spesifik yang digunakan. Kondisi lingkungan yang banyak berpengaruh adalah pH, suhu, kapasitas buffer, kontaminan, konsentrasi substrat, kandungan alkohol, jenis khamir, suplai oksigen, dan agitasi.

Penggunaan substrat yang berlebihan dapat menghambat kinerja khamir. *Saccharomyces* sp. mampu tumbuh dengan optimal dan mengkonsumsi semua gula pada substrat dengan konsentrasi 16-24% dan akan diperoleh etanol 8-12% (Stark 1954).

Proses fermentasi diawali dengan proses pembiakan khamir (*seeding*). Khamir dalam kultur stok dipindahkan ke medium *yeast malt* padat (agar miring) dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 30°C. Setelah itu ditumbuhkan pada medium *yeast malt* cair dengan volume 100 ml selama 24 jam. Tahap berikutnya adalah inokulasi *yeast* ke dalam fermentor 2 liter selama 24 jam. Starter tersebut selanjutnya diinkubasi pada tangki *seeding*.

Pada tangki *seeding* digunakan substrat glukosa sebanyak 5-7%, dengan nutrisi pupuk NPK (0,04%) dan 0,15% ZA (amonium sulfat). Paturau (1982) menyatakan bahwa urea yang ditambahkan sebagai sumber nitrogen berkisar antara 70-400 g/100 l media. Menurut Maiorella (1983), penambahan urea berkisar antara 60-400 g/1000 l media.

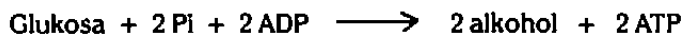
Proses *seeding* berlangsung selama 24 jam dengan kondisi 32°C, agitasi 100 rpm dan diberikan aerasi 0,4 vvm, sampai jumlah sel diperkirakan $1,0 \times 10^8$ sel/ml. Khamir akan mengkonsumsi substrat dan nutrisi dengan mengkonversi glukosa sebagai sumber karbon. Pada pembentukan atau pertumbuhan sel ini, fermentasi berlangsung secara aerobik, yaitu adanya oksigen yang disuplai dengan aerasi. Selain itu juga diberikan agitasi supaya khamir dapat tersuspensi secara homogen dalam media. Konsumsi oksigen bergantung pada sumber karbon yang diberikan dan efisiensi penggunaan oleh khamir. Biasanya agitasi dilakukan dengan pengaduk jenis *flat blade propeller*, sedangkan aerasi disuplai dengan *sparger* udara.

Selanjutnya *seeding* yang telah difermentasi selama 24 jam dituang ke dalam substrat hasil sakarifikasi. Pada awal pencampuran dilakukan agitasi dengan *off-center turbin* pada 60 rpm dan aerasi dengan *sparger* udara berlaju alir 1 vvm. Perlakuan agitasi dan aerasi bertujuan untuk homogenisasi dan mensuplai oksigen bagi khamir, sehingga menunjang proses fermentasi aerobik yang mengkonversi glukosa menjadi energi untuk pertumbuhan mikroba.

Setelah fermentasi aerobik selesai, dilanjutkan dengan fermentasi anaerobik, tanpa suplai oksigen dan tanpa agitasi. Fermentasi ini merupakan proses konversi glukosa menjadi etanol dengan bantuan enzim *zymase* yang terbentuk selama proses berlangsung. Kondisi fermentasi dipertahankan pada pH 5-5,5, suhu 32°C, dan berlangsung selama 48-56 jam. Selama proses fermentasi berlangsung akan dihasilkan gas karbondioksida. Menurut Rose (1987), fermentasi glukosa ini berjalan lebih cepat dan spontan karena sifatnya yang fermentatif. Hal ini akan menimbulkan panas yang menyebabkan suhu fermentor terus meningkat.

Fermentasi anaerobik berjalan sesuai biosintetis *Embden-Meyerhof Pathway (EMP)*, yaitu reaksi konversi glukosa menjadi asam piruvat yang kemudian dapat diubah menjadi berbagai produk (etanol, asam laktat, asam

format, asam asetat, asam propionat, isopropanol, asam butirat, butanol, dan sebagainya). Selama proses berlangsung, dua molekul ATP diubah menjadi ADP. Selanjutnya ATP diregenerasi menjadi ADP, sehingga pada akhir proses fermentasi dihasilkan dua mol ATP.



Senyawa ATP yang dihasilkan dari jalur anaerobik ini membutuhkan dua mol senyawa fosfat sebagai nutrisi untuk setiap mol glukosa yang mengalami metabolisme. Sumber senyawa fosfat bebas ini berasal dari reaksi-reaksi yang mengkonsumsi ATP dan mengeluarkan senyawa monophosphat. Senyawa ATP yang dihasilkan merupakan energi tinggi yang melepaskan panas ke lingkungan, sehingga suhu fermentasi berangsur-angsur meningkat.

Destilasi

Destilasi merupakan proses pemisahan dan pemurnian produk dari hasil fermentasi etanol. Hasil fermentasi selanjutnya didestilasi untuk memisahkan etanol dengan larutan lainnya. Maiorella (1982) menyatakan bahwa pemurnian etanol merupakan bagian yang banyak memerlukan energi. Sekitar 50% energi total fermentasi digunakan untuk proses destilasi.

Cairan hasil fermentasi mengandung 6,5-12% (v/v) etanol. Untuk mendapatkan etanol 95% v/v perlu dilakukan pemekatan pada kolom konsentrasi dalam unit destilasi. Destilasi merupakan proses pemisahan campuran antara dua atau lebih cairan berdasarkan perbedaan fase antardua cairan, yaitu volatilitas relatif dan perbedaan titik didih. Menurut Geankoplis (1983), proses destilasi yang dilakukan pada beberapa industri dapat melibatkan dua komponen. Prinsip umum distilasi kolom adalah multikomponen, masing-masing komponen dalam campuran dalam satu keseimbangan massa.

Proses destilasi dapat berjalan sempurna jika digunakan sistem destilasi bertingkat dengan refluks (fraksionasi/rektifikasi), yang terdiri atas dua atau lebih kolom destilasi. Masing-masing kolom memurnikan etanol secara bertahap. Hasil fermentasi didestilasi dalam kolom penyuling dan alkohol diproduksi dalam kolom *rectifying*. Baik pada kolom penyuling maupun kolom *rectifying*, biasanya digunakan *bubble plate type* (Paturau 1982).

Etanol merupakan cairan yang bersifat *azeotropik* dengan air. Menurut Winston (1980), untuk memperoleh alkohol (etanol) yang bebas air (99,5%), azeotrop harus dipisahkan. Metode yang biasa digunakan dalam pemisahan ini adalah destilasi azeotrop, desiccant kimiawi, dan filtrasi molekuler.

Destilasi azeotrop dapat dilakukan pada kolom destilasi berefluks dengan penambahan bahan pelarut, seperti benzene atau n-heksana. Dengan penambahan bahan pelarut tersebut, azeotrop dapat dipisahkan dalam campuran dengan pemanasan pada proses destilasi sampai diperoleh etanol yang lebih murni (Hawley dan Gessner 1981).

Penggunaan *desiccant* bahan kimia bertujuan untuk memudahkan pemisahan etanol dengan kandungan air yang bersifat azeotrop. Bahan kimia ini bereaksi dengan air dan tidak bereaksi (inert) terhadap alkohol. Menurut Winston (1980), bahan yang biasa digunakan adalah kalsium oksida (CaO), yang bereaksi dengan air dan menghasilkan panas yang dipertahankan pada sistem.

Pemisahan azeotrop air-etanol juga dapat dilakukan menggunakan metode filtrasi molekuler dengan bahan filter kristal aluminium silika. Kristal tersebut mempunyai susunan kompak yang dapat mengabsorpsi air karena mempunyai pori-pori yang lebih besar dari molekul air dan lebih kecil dari molekul alkohol. Dengan demikian molekul air terikat dengan kristal sampai mencapai tingkat jenuh (tidak dapat menyerap lagi). Etanol yang telah dipisahkan kemudian dimampatkan pada kolom konsentrasi dan air yang terikat pada kristal dapat dihilangkan melalui evaporasi, sehingga kristal aluminium silika tersebut dapat dimanfaatkan kembali.

Produk Samping

Selama proses fermentasi dan destilasi terdapat sejumlah produk samping. Proses bioetanol menggunakan bahan dasar ubikayu mempunyai hasil samping dan limbah yang lebih sederhana dibanding bahan baku molasses. Hasil samping yang dihasilkan di antaranya adalah:

Karbon Dioksida (CO₂)

Karbon dioksida diproduksi selama proses fermentasi sebanyak 46,6 kg CO₂ per 100 kg gula terfermentasi. Dari jumlah itu hanya 80-85% berhasil dimanfaatkan. Hal yang harus dilakukan dalam pemanfaatannya pertama kali adalah mencuci CO₂, menghilangkan bau yang ada, mengeringkannya sebelum ditekan dengan tekanan 70.000 Kpa, dan dikondensasikan menjadi CO₂ cair (Paturau 1982).

Dari setiap satu meter kubik (1.000 l) etanol yang dibentuk, 760 kg di antaranya berupa CO₂ yang dilepaskan dari fermentasi. Dari hasil tersebut sekitar 70-80% dapat diambil dengan sistem tertutup. Gas CO₂ digunakan dalam minuman soda karbonat, liquid CO₂, dan *dry ice* (Kosarić *et al.* 1983). Gas CO₂ dapat dipadatkan menjadi es kering dan digunakan untuk refrigeran pada mesin pendinginan.

Stillage

Stillage terdiri atas bahan volatile yang diperoleh setelah proses destilasi, berkisar antara 7-10% padatan. Tingginya nilai *biological oxygen demand* (BOD) menjadi masalah yang cukup serius dalam penanganannya. Stillage mempunyai nilai BOD yang tinggi, antara 40.000-50.000 ppm pada 12 -13°C dan mempunyai kandungan bahan organik yang tinggi (7,5 g/ml).

Menurut Paturau (1982) terdapat tiga metode yang sudah banyak dilakukan dalam penanganan stillage, yaitu:

- a. Penanganan aerobik konvensional menggunakan lumpur
- b. Penanganan dengan sistem anaerobik untuk produk metan dan pupuk
- c. Penggunaan metode evaporasi, sehingga stillage dapat digunakan sebagai pakan dan pupuk

Stillage terdiri atas bahan nonvolatile yang diperoleh setelah proses destilasi. Sampai saat ini stillage yang dihasilkan dari produksi etanol dengan bahan baku molasses digunakan langsung sebagai pupuk dan irigasi atau produksi biomassa mikrobial untuk pakan ternak dengan *Candida utilis* atau untuk pembuatan pupuk dan metan melalui proses degradasi anaerobic (Kosaric *et al.* 1983).

Menurut Maiorella (1982), stillage dapat dikeringkan untuk dimanfaatkan sebagai pakan ternak, pembuatan PST (Protein Sel Tunggal) dengan menggunakan *Candida utilis*, untuk pembuatan metan dan irigasi pertanian, pupuk, dan pembakaran.

Perlengkapan Teknis Produksi

Peralatan untuk Pembuatan Pati dari Ubi Segar

Sebelum masuk ke produksi etanol maka dilakukan ekstraksi pati dari ubi (pembuatan tapioka). Alat yang diperlukan adalah pengupas ubikayu, pamarut, dan pengepres. Hasil pengepresan berupa larutan pati biasanya dialirkan ke dalam parit pengendapan untuk dekantasi, sehingga pati mengendap. Setelah semalam, air bening dibuang dan pati basah diambil untuk dikeringkan. Apabila dalam pembuatan pati dilakukan produser bioetanol maka pati basah langsung dimasukkan ke dalam tangki likuifikasi dan sakarifikasi.

Tangki Likuifikasi dan Sakarifikasi

Tangki pada Gambar 5 digunakan untuk mencampur bahan baku berupa tapioka dan air. Tangki dilengkapi dengan alat pengaduk yang digerakkan



Gambar 5. Tangki likuifikasi dan sakarifikasi skala *pilot plant* (A. 80 l dan B 250 l). Peralatan di Balai Besar Litbang Pascapanen Pertanian.

oleh motor. Pengendalian proses pencampuran dilakukan agar larutan tersebut benar-benar homogen dan memperkecil kerusakan motor akibat beban yang berlebihan. Pada tangki tersebut enzim *alfa amilase* dimasukkan dan dilakukan penyesuaian pH. Tangki dilengkapi dengan pengatur suhu. Pemanasan dilakukan dengan bahan bakar gas, minyak tanah, atau bahan bakar lainnya.

Tangki reaktor ini berfungsi sebagai pencampur bahan baku, likuifikasi (*alfa amilase*), proses sakarifikasi, dan fermentasi. Pencampuran bahan baku dan likuifikasi dilakukan pada suhu 100°C, kemudian dilanjutkan sakarifikasi dan fermentasi pada suhu 60°C selama 5 jam, dan seterusnya pada suhu kamar.

Tangki sakarifikasi dan likuifikasi untuk skala *pilot plant* 80 l mempunyai desain terbuka sehingga kenaikan suhu karena proses fermentasi tidak banyak berpengaruh. Untuk skala 250 l kenaikan suhu fermentasi harus selalu diperiksa, dan apabila suhu naik lebih dari 35°C maka dilakukan penambahan air pendingin pada bagian luarnya. Reaktor tertutup ini dapat digunakan untuk memproduksi CO₂. Selama berlangsungnya fermentasi, CO₂ yang dihasilkan dalam reaktor tertutup akan keluar melalui slang kecil yang kemudian dapat ditampung. Sedangkan untuk reaktor yang terbuka CO₂ akan keluar ke udara.

Alat Destilasi

Proses destilasi dilakukan dengan cara mendidihkan campuran etanol dan air. Etanol mempunyai titik didih yang lebih rendah (78°C) dibandingkan dengan air (100°C), sehingga etanol akan menguap terlebih dahulu dibandingkan dengan air, dan selanjutnya uap etanol dikondensasi.

Secara umum terdapat dua tipe destiler, yaitu pot destiller dan kolom destiler. Pot destiller digunakan untuk pembuatan minuman keras di mana aroma sangat dipentingkan. Kolom destiler lebih banyak digunakan pada industri kecil sampai besar, baik pada proses tipe kontinu maupun tipe *batch*.

Pot destiller terdiri atas boiler, kondenser, dan lengan penghubung boiler dan kondenser. Kelemahan pot destiler adalah output kurang murni. Destiler tipe ini biasa digunakan untuk memisahkan kandungan bahan-bahan yang titik didihnya berbeda 100°C. Untuk mendapatkan campuran yang lebih murni, diperlukan beberapa kali proses destilasi. Proses re-destilasi memerlukan *set-up* peralatan, dengan demikian proses destilasi dengan cara ini kurang efisien.

Cara kerja destiler tipe kolom memperhatikan prinsip termodinamika. Destiller terdiri atas boiler, kolom penguapan, dan kondenser. Kolom penguapan merupakan sebuah tabung di mana di dalamnya terdapat satu atau beberapa lempengan yang berfungsi untuk memperluas area permukaan kontak campuran uap-cairan. Uap yang dihasilkan oleh pemanasan akan menyentuh area kolom di mana tekanan dan suhu akan membantu terbentuknya penguapan etanol. Uap kemudian dikondensasi dan sebagian fase cair yang tertekan akan kembali ke boiler. Pemanasan pada boiler mengakibatkan suhu meningkat, sehingga cairan mendidih kembali dan fraksi uap-cairan kembali menyentuh kolom, dan selanjutnya fraksi uap terkondensasi. Karena proses ini terjadi secara kontinu, campuran terdestilasi berulang pada kolom, berarti proses ini lebih efektif.

Packing bed distiller merupakan pengembangan dari destiler tipe kolom. Pada kolom destiler diberi bahan pengisi (*scrubber*) yang berfungsi seperti lempengan pada distiler tipe kolom. Fungsinya untuk memperluas area permukaan kontak campuran uap cairan dan memperbesar tekanan uap campuran, tanpa harus memperpanjang ukuran kolom. Bahan pengisi atau *scrubber* sebaiknya dari materi lahan karat mengingat bahan tersebut kontak dengan uap air. Bahan-bahan *scrubber* dapat dibeli di pasaran seperti *raschig ring*, *stainless steel wool*, dan *marble*.

Tipe destiler hasil rekayasa BBP Mekanisasi Pertanian untuk skala *pilot plant* mengadopsi tipe *packing bed destiller*, di mana bahan pengisinya menggunakan *stainless steel wool scrubber* (Gambar 6). Prinsip kerjanya



Gambar 6. Destiler tipe packing bed (Alat di Balai Besar Pengembangan Mekanisasi Pertanian).

adalah pemanasan campuran air etanol yang mengakibatkan uap campuran melewati scrubber, yang selain berfungsi memperbesar tekanan uap campuran juga memperluas area permukaan kontak uap campuran. Uap melewati scrubber, kemudian melewati pipa kondensor, sehingga uap terkondensasi.

DAFTAR PUSTAKA

- BPS. 1986-2005. Produksi ubikayu nasional. BPS. Jakarta.
BSN. 2006. SNI ethanol grade fuel. BSN. Jakarta.

- ESDM. 2006. Produksi dan permintaan BBM. Dep. ESDM. Jakarta.
- Geankoplis, C.J. 1983. Transport process and unit operation. 2nd ed. Allyn Bacon Inc., Boston.
- Gokarn, R.R., M.A. Ellman, and J. Sridhar. 1997. Production of succinate by anaerobic microorganisms in fuels and chemicals from biomass. B.C. Saha and J. Woodward (*eds.*) American Chemical Society. Washington-DC. p:237-263.
- Hawley and G. Gessner. 1981. The condensed chemical dictionary. Reinhold Co., New York.
- Higgins, I.J., D.J. Best, and J. Jones. 1984. Biotechnology principle and applications. Blackwell Scientific Publication, London.
- Kosaric, N., A Wieczorek, G.P. Cosentino, R.J. Magee, and J.E. Prenosil. 1982. Etanol fermentation. *In: Rehm and Reed (Eds.)*. Biotechnology. Vol 3. Verlag Chemie, Weinheim.
- Maiorella, B.L. 1982. Etanol. *In: Blach et al. (Eds.)*. Comprehensive biotechnology. Pergamon Press, New York.
- Paturau, J.M. 1982. By product of the sugar cane industry. Elsevier Publ. Co. Amsterdam.
- Presscot, S.C. and C.G. Dunn. 1981. Industrial microbiology. Mc Graw-Hill Book Company, New York.
- Richana, N., M. Pujoyuwono, dan A. Budiyanto. 2007. Proses produksi tepung gula kasava dari pati ubikayu. Prosiding seminar. Peningkatan produksi kacang-kacangan dan umbi-umbian mendukung kemandirian pangan.
- Rose, A.H. 1987. Microbial technology. Reinhold, New York.
- Stark, W.H. 1954. Alcoholic fermentation of grain. *In: Industrial fermentation. Underkofler*. Vol. 1. Chemical Publ. Co. Inc., New York.
- Wang, J. 1983. Taro-a review of colocasia esculenta and its potentials. University of Hawaian Press. Honolulu.
- Winston, S.J. 1980. Ethanol fuel: Use, production principles and economic. Solar Energy Research Institute, Idaho Falls.