

**DEGRADASI KOMPONEN SELULOSA, HEMISELULOSA, DAN PATI TEPUNG
KULIT UBI KAYU MENJADI GULA REDUKSI OLEH *Aspergillus niger*,
Trichoderma viride, DAN *Acremonium sp.* IMI 383068**

*Degradation of Cellulose, Hemicellulose, and Starch Component in Cassava Peels Flour into
Reducing Sugar by Aspergillus niger, Trichoderma viride, and Acremonium sp. IMI 383068*

Jay Jayus^{1)*}, Ahmad Nafi¹⁾, Anis Shabrina Hanifa¹⁾

¹⁾Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember
Jalan Kalimantan 37, Kampus Tegal Boto Jember 68121

*Korespondensi Penulis: jayus.ftp@unej.ac.id

ABSTRACT

*As the solid waste produced from cassava processing industry such as tapioca factory or its derivatives, the cassava peel is potential to be use as a source of reducing sugar through hydrolysis process, since the peels contains a high amount of starch and lignocellulose components. The more environmentally friendly enzymatic hydrolysis using several microorganisms will be introduced in this study as an alternative to avoid the unsafe acid hydrolysis. However, the hydrolysis process using a single microorganism is not efficient since the hydrolytic enzyme produced is limited to a single enzyme, while the component in the cassava peels to be hydrolyzed is diverse which include cellulose, lignin, hemicellulose and starch. Therefore, it is necessary to optimize the hydrolysis process by combining several microorganisms (*A. niger*, *T. viride* and *Acremonium sp.* IMI 383068) which produced different specificity of hydrolytic enzyme depending on the substrate available in the cassava peels. The aims of this research were to determine the effect of single and mixed culture on the amount of reducing sugar released during the simultaneous cultivation. The result showed that the use of simultaneous mixed cultures during hydrolysis process was able to produce higher reducing sugar compare to that of single culture. The hydrolysis of cassava flour using a single strain of *A. niger*, *T. viride* and *Acremonium sp.* IMI 383068 respectively produced 4.86 g/L, 4.02 g/L, and 1.68 g/L of reducing sugar, while the hydrolysis of it using simultaneous mixed cultures of *A. niger*, *T. viride*, and *Acremonium sp.* IMI 383068 produced 7.23 g/L of reducing sugar.*

Keywords: *cassava peels, hydrolysis, reducing sugar*

PENDAHULUAN

Sebagai salah satu negara penghasil biomassa yang cukup melimpah, Indonesia banyak menghasilkan produk samping hasil pertanian seperti kulit ubi kayu, limbah padat yang dihasilkan oleh agroindustri pengolahan seperti pada industri tapioka, pengolahan keripik, dan turunannya. Menurut Artiyanti dan Soedjono (2011) kulit ubi kayu mengandung 43,63% selulosa, 36,58% hemiselulosa, 7,65% lignin, dan 10,38% pati. Kandungan selulosa, hemiselulosa, dan pati yang cukup tinggi pada kulit ubi kayu berpotensi untuk dijadikan sumber gula reduksi melalui proses hidrolisis. Pada proses hidrolisis, rantai panjang

polisakarida akan dipecah menjadi rantai pendek atau karbohidrat sederhana melalui reaksi kimia menggunakan air (Zamora, 2005). Limbah biomassa kulit ubi kayu yang mengandung polisakarida berupa selulosa, hemiselulosa, dan pati akan dipecah menjadi karbohidrat yang lebih sederhana seperti gula reduksi.

Upaya pencarian substrat untuk produksi etanol terus dilakukan, selain penggunaan limbah yang mengandung gula sederhana seperti molasses (Jayus *et al.*, 2016; Noorvita *et al.*, 2016), banyak penelitian yang mengarah pada pemanfaatan limbah biomassa menjadi gula reduksi sebagai substrat pembuatan bioetanol melalui proses hidrolisis, baik

hidrolisis asam maupun hidrolisis enzimatis. Menurut Taherzadeh dan Karimi (2007), hidrolisis enzimatis memiliki beberapa keuntungan dibandingkan dengan hidrolisis kimiawi, antara lain tidak terjadi degradasi gula hasil hidrolisis, kondisi proses yang lebih lunak (suhu rendah, pH netral), berpotensi memberikan hasil yang tinggi, dan biaya pemeliharaan yang relatif rendah karena tidak ada bahan yang korosif. Hidrolisis secara enzimatis dapat dilakukan menggunakan enzim atau mikroorganisme yang dapat menghidrolisis polisakarida menjadi monomer sederhana seperti gula reduksi. Jenis mikroorganisme yang dapat digunakan dalam proses hidrolisis enzimatis dari limbah biomassa menjadi gula reduksi adalah kapang. Faiqoh (2016) melaporkan bahwa penggunaan kapang *A. niger* dan *T. viride* secara bersamaan dalam menghidrolisis substrat tepung kulit ubi kayu dapat meningkatkan kadar gula reduksi. Penggunaan kultur campuran *A. niger* dan *T. viride* secara bersamaan juga mampu menghasilkan gula reduksi lebih tinggi sebagai substrat pembuatan bioetanol dari tepung kulit ubi kayu (Jayus *et al.*, 2017). *Acremonium* sp. IMI 383068 diduga dapat dijadikan sebagai pendegradasi tepung kulit ubi kayu karena kemampuannya memproduksi enzim (1,6)- β -glukanase (Jayus *et al.*, 2001) dan (1,3)- β -glukanase (Jayus *et al.*, 2004).

Kendala yang dihadapi dalam proses hidrolisis enzimatis menggunakan bantuan mikroorganisme adalah kemampuan mikroorganisme yang masih rendah dalam mendegradasi komponen selulosa, hemiselulosa, dan pati sehingga proses hidrolisisnya tidak efisien. Oleh karena itu perlu adanya kajian mengenai pengaruh kombinasi penggunaan kultur campuran pada proses hidrolisis untuk mengetahui apakah penggunaan kultur tunggal dan kultur campuran berpengaruh terhadap gula reduksi yang dihasilkan.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat penelitian yang digunakan yaitu *shaking incubator* (WIS-20R-Berlin), inkubator (Scientific Series 2000-Jerman), *laminar air flow* (Crumair Model 9005 FL-Espana), autoklav (SA 300VL-Japan), *refrigerated macrocentrifuge* (Model-2-16 kl-Jerman), spektrofotometer (Genesys 10 UV VIS-China), *colony counter* (Funke Gerber-UK), oven (Memmert-Jerman), Blender (National), ayakan Tyler 100 mesh, digital pH meter, dan *glassware* penelitian. Bahan baku dalam penelitian yaitu kulit ubi kayu yang diperoleh dari UKM pengolahan keripik singkong di Desa Baratan-Jember, NaOCl (CV. LUMADA bitha SUKSES), *mineral salt solution* (merck), *yeast extract* (merck), asam sitrat (merck), NaOH (merck), *Malt Extrat Agar* (merck), NaCl (merck), dietil eter (merck), alkohol (one med), HCl (merck), *reagen dinitrosalisilic acid* (DNS) (himedia), fenol (merck), H₂SO₄ (merck). Kultur mikroorganisme yang digunakan adalah kapang *A. niger*, *T. viride* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian, dan *Acremonium* sp. IMI 383068 yang diperoleh dari Laboratorium *Center for Development Advanced Science and Technology* (CDAST) Universitas Jember.

Tahapan Penelitian

Pembuatan tepung kulit ubi kayu

Kulit ubi kayu segar yang diperoleh dari UKM pengolahan keripik singkong di Desa Baratan-Jember dibersihkan kulit terluarnya yang berwarna coklat dan dilakukan pencucian hingga bersih. Kulit ubi kayu yang telah bersih kemudian dilakukan pengeringan menggunakan sinar matahari selama ± 2 hari. Selanjutnya kulit ubi kayu yang telah kering dilakukan pengecilan ukuran menggunakan blender dan dilakukan pengayakan menggunakan ayakan dengan ukuran 100 mesh.

Delignifikasi tepung kulit ubi kayu

Delignifikasi dilakukan secara kimia dengan menggunakan larutan NaOCl berdasarkan metode Assadam (2014) dengan merendam 1000 g tepung kulit ubi kayu dalam 10 L larutan NaOCl 1% selama 5 jam pada suhu 28°C. Setelah itu dilakukan pengendapan untuk diambil padatannya. Endapan yang terbentuk dicuci menggunakan aquades hingga netral (pH 7). Tepung kulit ubi kayu yang telah didelignifikasi kemudian dianalisis kadar air, kadar pati, dan kadar lignoselulosanya.

Proses hidrolisis

Kulit ubi kayu terdelignifikasi sebanyak 2% (w/v) ditambah nutrisi untuk mengkondisikan mikroorganisme tumbuh optimal yaitu berupa 0.3 g/L *yeast extract* dan 50 mL/L *mineral salts solution*, dan dilakukan pengaturan pH 5, kemudian disterilisasi pada 121°C selama 15 menit. Setelah itu media didinginkan dan diinokulasi dengan kultur tunggal kapang *A. niger*, *T. viride* dan *Acremonium* sp. IMI 383068 dan kultur campuran dari ke 3 kapang tersebut sebanyak 10% (v/v). Setelah itu diinkubasi dalam *shaking incubator* pada suhu 30°C dengan kecepatan 150 rpm selama 60 jam dan dilakukan pengamatan populasi mikroba dan kadar gula reduksi secara periodik setiap 12 jam sekali.

Metode Analisis

Parameter pengamatan dilakukan pada dua bagian, yaitu pada tepung kulit ubi kayu dan hidrolisat kulit ubi kayu.

Parameter pengamatan pada bahan baku tepung kulit ubi kayu meliputi kadar air (Sudarmadji *et al.*, 1997), kadar pati (Sudarmadji *et al.*, 1997), dan kadar lignoselulosa (Datta, 1981). Selanjutnya, pengamatan populasi mikroba (Ristiati, 2000) pada suspensi hasil hidrolisis. Suspensi yang dihasilkan kemudian dipisahkan menggunakan *refrigerated macrocentrifuge* untuk diambil filtratnya dan dilakukan analisis kadar total gula terlarut (Dubois *et al.*, 1956), dan gula reduksi (Miller, 1959). Perhitungan efisiensi hidrolisis (Thalagala *et al.*, 2009) dilakukan pada semua hidrolisat yang dihasilkan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Komposisi Kimia Tepung Kulit Ubi Kayu

Bahan baku utama tepung kulit ubi kayu yang akan dihidrolisis sebelumnya diberi perlakuan delignifikasi untuk mengurangi kandungan lignin. Karakteristik tepung kulit ubi kayu yang digunakan pada penelitian ini sebagai substrat hidrolisis untuk menghasilkan gula reduksi ditunjukkan pada **Tabel 1**.

Tepung kulit ubi kayu yang digunakan sebagai substrat hidrolisis untuk menghasilkan gula reduksi memiliki kadar air sebesar 10,88% (b/b) (**Tabel 1**). Menurut Loebis (2008) kadar air bahan baku dijaga agar tidak meningkat sehingga tidak terjadi penurunan porositas dan laju difusi oksigen yang dapat menyebabkan perpindahan panas dan massa berlangsung

Tabel 1. Komposisi kimia tepung kulit ubi kayu

Komponen	Perlakuan (%)	
	Tepung kulit ubi kayu tanpa delignifikasi	Tepung kulit ubi kayu setelah delignifikasi
Kadar air	12,09 ± 0,15	10,88 ± 0,14
Kadar pati	20,92 ± 0,57	11,55 ± 0,66
Kadar lignin	8,47 ± 0,15	3,04 ± 0,12
Kadar selulosa	32,15 ± 0,57	51,19 ± 0,63
Kadar hemiselulosa	19,15 ± 0,83	16,93 ± 0,60

kurang baik. Kondisi tersebut akan mempengaruhi pertumbuhan miselium kapang dan aktivitas enzim. Sebelum digunakan untuk hidrolisis, tepung kulit ubi kayu terlebih dahulu diberi perlakuan *pretreatment* berupa delignifikasi menggunakan larutan NaOCl dengan konsentrasi 1%. Delignifikasi diperlukan untuk mengurangi kadar lignin, menurunkan tingkat kristalin selulosa dan meningkatkan porositas material (Sanchzes dan Cardona, 2008; Hsu *et al.*, 2010).

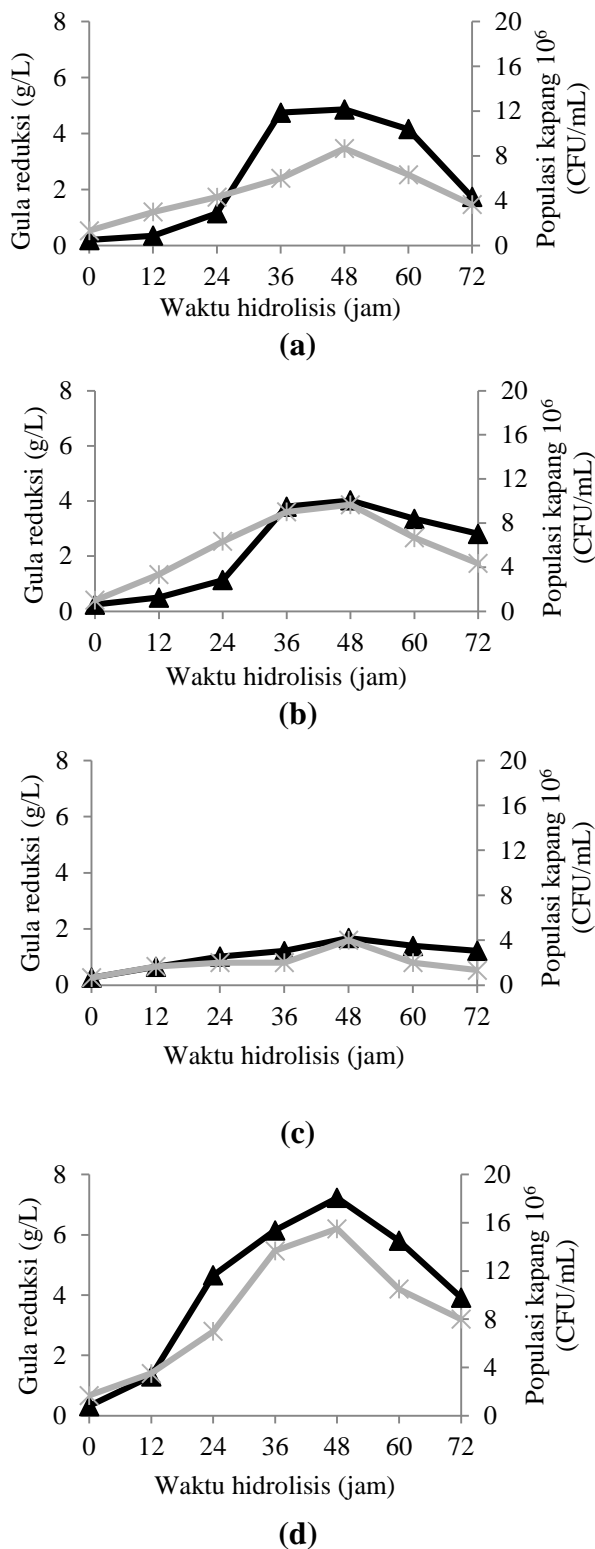
Delignifikasi tepung kulit ubi kayu menunjukkan telah terjadi penurunan kadar hemiselulosa dari 19,15% menjadi 16,93%, kadar lignin dari 8,47% menjadi 3,04%, dan penurunan kadar pati dari 20,19% menjadi 11,55%. Hilangnya hemiselulosa, lignin, dan pati mengakibatkan persentase selulosa tepung kulit ubi kayu meningkat dari 32,15% menjadi 51,19% (**Tabel 1**). Dari hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa adanya proses delignifikasi dapat mengurangi kadar lignin, kadar hemiselulosa, dan kadar pati sehingga meningkatkan kadar selulosa. Penelitian yang dilakukan oleh Assadam (2014) melaporkan bahwa struktur serat selulosa pada kulit kopi kering lebih berpori setelah delignifikasi menggunakan larutan NaOCl 1%.

Ruriani *et al.* (2012) juga mengindikasikan bahwa delignifikasi menggunakan NaOCl 1% selama 5 jam mampu mengubah struktur selulosa menjadi lebih amorf. Selain menurunkan kadar lignin dan pati, proses delignifikasi juga mampu menurunkan kadar hemiselulosa pada tepung kulit ubi kayu. Menurut Ibrahim (1998) hemiselulosa mempunyai rantai polimer yang pendek dan tak berbentuk sehingga sebagian besar dapat larut dalam air.

Profil Hidrolisis Kultur Tunggal dan Kultur Campuran Kapang *A. niger*, *T. viride*, dan *Acremonium* sp. IMI 383068

Penggunaan kultur campuran dapat meningkatkan hasil gula reduksi lebih tinggi dibandingkan dengan penggunaan kultur tunggal. Hidrolisis oleh kultur kapang *A. niger*, *T. viride*, dan *Acremonium* sp. IMI 383068 dengan perlakuan perbedaan penggunaan kultur tunggal dan kultur campuran ditunjukkan pada **Gambar 1**.

Gambar 1 menunjukkan bahwa hasil pengamatan populasi kapang pada 0 jam rata-rata sebanyak 1×10^6 CFU/mL menghasilkan gula reduksi sebesar 0,26 g/L. Populasi maksimum kapang dan gula reduksi berada pada waktu hidrolisis 48 jam pada semua perlakuan. Populasi maksimum hidrolisis menggunakan kultur tunggal *A. niger* sebesar 9×10^6 CFU/mL menghasilkan gula reduksi sebesar 4,86 g/L (**Gambar 1a**), hidrolisis menggunakan kultur tunggal *T. viride* sebesar 10×10^6 CFU/mL menghasilkan gula reduksi sebesar 4,02 g/L (**Gambar 1b**), hidrolisis menggunakan kultur tunggal *Acremonium* sp. IMI 383068 sebesar 4×10^6 CFU/mL menghasilkan gula reduksi sebesar 1,68 g/L (**Gambar 1c**), sedangkan hidrolisis menggunakan kultur campuran *A. niger*, *T. viride*, dan *Acremonium* sp. IMI 383068 sebesar 16×10^6 CFU/mL menghasilkan gula reduksi sebesar 7,23 g/L (**Gambar 1d**).



Gambar 1. Perubahan kadar gula reduksi (—▲) dan populasi mikroba (---*) pada kultur tunggal *A. niger* (a), *T. viride* (b), *Acremonium* sp. IMI 383068 (c), dan kultur campuran *A. niger*, *T. viride*, *Acremonium* sp. IMI 383068 (d)

Kapang *A. niger* mampu menghasilkan enzim amilolitik berupa amilase (Fowler, 1988) yang dapat mendegradasi pati dan selulase (Fowler, 1988) yang dapat mendegradasi selulosa, serta menghasilkan xylanase (Villena *et al.*, 2007) yang dapat mendegradasi xylan (hemiselulosa). Kapang *T. viride* menghasilkan selulase berupa endo- β -1,4-glukanase, ekso- β -1,4-glukanase, dan β -1,4-glukosidase (Crueger dan Crueger, 1982) yang dapat mendegradasi komponen selulosa; dan menghasilkan endo- β -1,4-xylanase (Ujii *et al.*, 1991) yang mampu mendegradasi xylan (hemiselulosa). Kapang *Acremonium* sp. IMI 383068 menghasilkan enzim β -1,3-glukanase dan β -1,6-glukanase (Jayus *et al.*, 2001 & 2004) dan sebagian besar *Acremonium* sp. dapat menghasilkan enzim selulase (Astutik *et al.*, 2007). Enzim-enzim inilah yang bersinergi menghidrolisis komponen polisakarida dalam tepung kulit ubi kayu. **Gambar 1** menunjukkan adanya kecenderungan kadar gula reduksi yang meningkat dengan penggunaan kultur campuran dari tiga jenis kapang dibandingkan dengan penggunaan kultur tunggal. Penggunaan kultur campuran dalam proses hidrolisis mampu menghasilkan enzim yang lebih kompleks dibandingkan dengan hidrolisis menggunakan kultur tunggal.

Campuran enzim yang dihasilkan dari beberapa kapang mampu memperbaiki kerja endo- dan ekso-glukanase, serta glukosidase menjadi lebih seimbang untuk mendegradasi selulosa (Anwar, 2010). Demikian juga xylanase dapat mendegradasi xylan (hemiselulosa) serta enzim amilolitik berupa amilase mampu mendegradasi pati sehingga gula reduksi yang dihasilkan jauh lebih tinggi dibandingkan dengan penggunaan kultur tunggal dalam proses hidrolisis.

Tabel 2. Efisiensi hidrolisis pada pengamatan ke-48 jam

Perlakuan	Kadar gula reduksi (g/L)	Kadar selulosa + hemiselulosa + pati (g)	Efisiensi hidrolisis (%)
Kultur <i>A. niger</i>	4,86	15,93	30,51
Kultur <i>T. viride</i>	4,02	15,93	25,24
Kultur <i>Acremonium</i> sp. IMI 383068	1,68	15,93	10,55
Kultur campuran <i>A. niger</i> , <i>T. viride</i> , dan <i>Acremonium</i> sp. IMI 383068	7,23	15,93	45,39

Efisiensi Hidrolisis oleh *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride*, dan *Acremonium* sp. IMI 353068

Efisiensi hidrolisis diperoleh dengan cara membagi total gula terlarut dan gula reduksi yang dihasilkan selama proses hidrolisis dengan berat total selulosa, hemiselulosa, dan pati yang terkandung di dalam bahan tepung kulit ubi kayu. Efisiensi hidrolisis ditunjukkan pada **Tabel 2**.

Penggunaan kultur tunggal dan kultur campuran pada proses hidrolisis dari 3 jenis kapang memberikan hasil efisiensi hidrolisis yang berbeda. Hidrolisis oleh *A. niger*, *T. viride*, dan *Acremonium* sp. IMI 383068 selama 48 jam menghasilkan gula reduksi optimum (**Tabel 2**). Efisiensi hidrolisis tertinggi diperoleh dari perlakuan penggunaan kultur campuran dari 3 jenis kapang dalam satu waktu proses hidrolisis yaitu sebesar 45,39%. Penggunaan kultur tunggal *A. niger*, *T. viride*, dan *Acremonium* sp. IMI 383068 masing-masing menghasilkan efisiensi hidrolisis secara berurutan sebesar 30,51%; 25,24%; dan 10,55%.

Penggunaan kultur campuran kapang diduga mampu melengkapi enzim yang bekerja selama hidrolisis, sehingga komponen selulosa, hemiselulosa, dan pati yang didegradasi lebih banyak, sedangkan penggunaan kultur tunggal hanya mampu mendegradasi beberapa komponen karena enzim yang dihasilkan tidak beragam seperti pada penggunaan kultur campuran, Kenyataan ini sesuai dengan **Tabel 2**, yang

menunjukkan apabila gula reduksi yang dihasilkan tinggi, maka efisiensi hidrolisisnya juga tinggi. Faiqoh (2016) juga melaporkan hal yang sama bahwa efisiensi hidrolisis meningkat seiring dengan meningkatnya gula reduksi yang dihasilkan.

KESIMPULAN

Hidrolisis menggunakan kultur campuran dari 3 jenis kapang *A. niger*, *T. viride*, dan *Acremonium* sp. IMI 383068 secara simultan mampu menghasilkan gula reduksi lebih tinggi dibandingkan dengan penggunaan kultur tunggal dari ketiganya. Hidrolisis menggunakan kultur tunggal *A. niger*, *T. viride*, dan *Acremonium* sp. IMI 383068 masing-masing secara berurutan menghasilkan gula reduksi sebesar 4,83; 4,02; dan 1,68 g/L, sedangkan hidrolisis menggunakan kultur campuran *A. niger*, *T. viride*, dan *Acremonium* sp. IMI 383068 secara simultan mampu menghasilkan gula reduksi sebesar 7,23 g/L. Efisiensi hidrolisis tertinggi diperoleh pada perlakuan penggunaan kultur campuran dari 3 jenis kapang yaitu sebesar 45,39%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh PT. Indofood Sukses Makmur, Tbk. melalui bantuan dana penelitian tugas akhir program Indofood Riset Nugraha tahun 2017/2018.

DAFTAR PUSTAKA

- Anwar, N. 2010. Peningkatan unjuk kerja hidrolisis enzimatis jerami padi menggunakan campuran selulase kasar dari *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger*. *Makara Sains*, 14 (2): 113-116.
- Artiyani, A., dan Soedjono, E.S. 2011. Bioetanol dari limbah kulit singkong melalui proses hidrolisis dan fermentasi dengan *Saccharomyces cerevisiae*. "Prosiding Seminar Nasional Manajemen Teknologi XIII" Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya.
- Assadam, A. 2014. "Delignifikasi Secara Kimia Kopi Robusta Hasil Samping Pengolahan Kopi Metode Kering Sebagai Substrat Bioetanol". Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember, Jember.
- Astutik, R. P., Kuswytasari, N.D., dan Shovitri, M. 2007. Uji Aktivitas Enzim Selulase dan Xylanase Isolate Kapang Tanah Wonorejo, Surabaya. *Paper*. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, ITS, Surabaya.
- Crueger, W, dan Crueger, A. 1982. *Biotechnology*. Madison: Science Tech, Inc., Madison.
- Datta, R. 1981. Acidogenic fermentation of lignocellulose acid yield and conversion of components. *Biotechnology and Bioengineering*, 23: 2167-2170.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rabers, P.A., dan Smith, F. 1956. Colometric method for determination of sugar and related substances. *Analytical Chemistry*, 28 (3): 350-356.
- Faiqoh, H. 2016. "Efisiensi Hidrolisis Tepung Kulit Ubi Kayu Menggunakan *Aspergillus niger* dan *Trichoderma viride*". Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember, Jember.
- Fowler, M.W. 1988. "Enzyme Technology" in *Biotechnology for Engineers, Biological System in Technological Processes*, Edited: Scragg, A. H., John Wiley & Sons, New York.
- Hsu, T.C., Guo, G.L., Chen, W.H., dan Hwang, W.S. 2010. Effect of dilute acid pretreatment of rice straw on structural properties and enzymatic hydrolysis. *Bioresource Technology*, 101: 4907-4913.
- Ibrahim, M. 1998. Clean fractionation of biomass – steam explosion and extraction. Faculty of The Virginia Polytechnic Institute and State University.
- Jayus, J., McDougall, B.M., and Seviour, R.J. 2001. Purification and properties of a (1 →6)-β-glucanase from *Acremonium* sp. IMI 383068. *Enzyme and Microbial Technology*, 29: 194-200.
- Jayus, J., McDougall, B.M., and Seviour, R.J. 2004. Purification and characterization of the (1 →3)-β-glucanases from *Acremonium* sp. IMI 383068. *FEMS Microbiology Letters*, 230: 259-264.
- Jayus, J., Nurhayati., Mayzuhroh, A., Arindhani, S., dan CaroENCHAI, C. 2016. Studies on bioethanol production of commercial baker's and alcohol yeast under aerated culture using sugarcane molasses as the media. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 9: 493-499.
- Jayus, J., Suwasono, S., dan Wijayanti, I. 2017. Produksi bioetanol secara SHF dan SSF menggunakan *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride*, dan *new aule instant dry yeast* pada media kulit ubi kayu. *Jurnal Agroteknologi*, 11 (01): 61-68.
- Loebis, E.H. 2008. "Optimasi Proses Hidrolisis Kimiawi dan Enzimatis Tandan Kosong Kelapa Sawit Menjadi Glukosa untuk Produksi Etanol". Tesis. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Miller, G. L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analysis Chemical*, (31): 426-428.

- Noorvita, I.V., Jayus, J., dan Nurhayati, N. 2016. Produksi bioetanol oleh *Saccharomyces cerevisiae* FNCC 3210 pada media molases dengan kecepatan agitasi dan aerasi yang berbeda. *Jurnal Agroteknologi*, 10 (02): 184-192.
- Ristiati, N. P. 2000. *Pengantar Mikrobiologi Umum*. Proyek Pengembangan Guru Sekolah Menengah IBRD Loan No. 3979, Jakarta.
- Ruriani, E., Meryandini, A., dan Sunarti, T.C. 2012. Enzymatic hydrolysis of delignified corncob using combined enzyme. *International Journal of Food Nutrition and Public Health*, 5: 107-127.
- Sanchzes, O.O., dan Candona, C.A. 2008. Review: Trends of biotechnological production of fuel ethanol from different feedstock. *Bioresource Technology*, 99 (13): 5270-5295.
- Sudarmadji, S., Haryono, B., dan Suhardi. 1997. *Prosedur Analisa Untuk bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty, Yogyakarta.
- Taherzadeh, M.J., dan Karimi, K. 2007. Acid-Based Hydrolysis Processes for Ethanol from Lignocellulosic Materials. Isfahan University of Technology: Departement of Chemical Engineering.
- Thalagala, T.A.T.P., Kodama, S., Mishima, T., Isono, N., Furujo, A., Kawasaki, Y., dan Hisamatsu, M. 2009. Study on a new preparation of D-Glucose rich fractions from various lignocelluloses through a two-step extraction with sulphuric acid. *The Japanese Society of Applied Glycoscience*, 56: 1-6.
- Ujiie, M., Roy, C., dan M. Yaguchi, M. 1991. Low-molecular-weight xylanase from *Trichoderma viride*. *Applied and Environmental Microbiology*, 57 (6): 1860-1862.
- Villena, Gretta, K., dan Correa, P.W. 2007. Production of lignocellulolytic enzyme by *Aspergillus niger* biofilms at variable water activities. *Electronic Journal of Biotechnology Chile*, 10 (1): 124-140.
- Zamora, A. 2005. *Carbohydrate - Chemical Structure*.
<http://www.scientificpsychic.com/fitness/carbohydrates>. [Diakses tanggal 25 Desember 2016].