

**Bidang Unggulan: Ketahanan Energi  
Kode/Nama Rumpun Ilmu:162/THP**

**LAPORAN AKHIR  
PENELITIAN UNGGULAN PERGURUAN TINGGI (M)  
TAHUN ANGGARAN 2013**



**EKPLORASI POTENSI BAGAS TEBU  
(*Saccharum officinarum* L.) UNTUK PRODUKSI BIOETANOL GENERASI KEDUA SEBAGAI  
SALAH SATU UPAYA PENGEMBANGAN ENERGI ALTERNATIF  
Tahun ke I (Pertama) dari rencana II (Dua) tahun**

**Ketua/Anggota Tim**

Agustin Krisna Wardani, STP, MSi, PhD (0007086904)

Ir. Aji Sutrisno, MSc, PhD (0023026801)

Endrika Widyastuti, S.Pt, M.Sc, MP (0725098502)

Dibiayai oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi,  
Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan, Melalui DIPA Universitas Brawijaya  
Nomor : DIPA-023.04.2.414989/2013. Tanggal 5 Desember 2012,  
dan berdasarkan SK Rektor Universitas Brawijaya  
Nomor : 407/ SK/ 2013 Tanggal 2 September 2013

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
DESEMBER, 2013**

### HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Eklporasi Potensi Bagas Tebu (*Saccharum officinarum* L.) Untuk  
Peneliti / Pelaksana : Produksi Bioetanol Generasi Kedua Sebagai Salah Satu Upaya  
Pengembangan Energi Alternatif  
Nama Lengkap : Agustin Krisna Wardani, STP, MSi, PhD  
NIDN : 0007086904  
Jabatan Fungsional : Lektor  
Program Studi : Ilmu dan Teknologi Pangan  
Nomor HP : 081252533560  
Alamat surel (e-mail) : [agustinwardani@ub.ac.id](mailto:agustinwardani@ub.ac.id) atau [wardani8@yahoo.com](mailto:wardani8@yahoo.com)

#### **Anggota (1)**

Nama Lengkap : Ir. Aji Sutrisno, MSc, PhD  
NIDN : 0023026801  
Perguruan Tinggi : Universitas Brawijaya

#### **Anggota (2)**

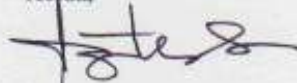
Nama Lengkap : Endrika Widyastuti, S.Pt, M.Sc, MP  
NIDN : 0725098502

Perguruan Tinggi : -  
Institusi Mitra (jika ada) : -  
Nama Institusi Mitra : -  
Alamat : -  
Penanggung Jawab : -  
Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 1 dari rencana 2 tahun  
Biaya Tahun Berjalan : Rp. 85.000.000,-  
Biaya Keseluruhan : Rp. 185.000.000,-

Malang, 20 Desember 2013

  
Mengesahkan  
Dekan Fakultas Teknologi Pertanian  
(Dr. Ir. Bambang Susilo, M.Sc.Agr)  
NIP. 196207191987011001

Ketua,



(Dr. Agustin K. Wardani, STP, MSi, P.hD)  
NIP 196908071997022001

Pjs. Ketua LPPM UB  
  
(Prof. Dr. Ir. Siti Chuzaemi, MS)  
NIP. 195305141980022001

## ABSTRAK

Bioetanol dari bahan lignoselulosa memiliki dampak lingkungan yang positif seperti emisi rendah karbon dioksida bersih, murah, tersedia dalam jumlah besar dan mengurangi potensi persaingan dengan penggunaan lahan untuk produksi pangan. Optimasi Bagas tebu dalam fermentasi bioetanol dianalisa menggunakan metode *Response Surface Methodology* (RSM) berdasarkan *Central Composite Design* (CCD). Variabel proses yang dioptimalkan yaitu ukuran inokulum (10-20% v/v), konsentrasi urea (0,1-0,3% b/v) dan waktu fermentasi (36-60 jam) oleh *flocculent Saccharomyces cerevisiae* NRRL Y - 265. Data yang diperoleh dari RSM pada fermentasi etanol menjadi sasaran Analisis Varians (ANOVA) dan dianalisis menggunakan persamaan polinomial menghasilkan parameter proses optimum pada konsentrasi inokulum sebesar 15% (v/v), konsentrasi urea 0,2% (b/v) dan waktu fermentasi 48 jam. Konsentrasi etanol optimum dari 1,609% (v/v) ditentukan. Hasil etanol adalah 0,49 g etanol / g glukosa. Hasil penelitian ini mengkonfirmasi bahwa ampas tebu dapat menjadi bahan baku yang potensial untuk produksi bioethanol.

Kata kunci: Bagas Tebu, Optimasi Fermentasi, Bioetanol, *flocculent Saccharomyces cerevisiae*

## ABSTRACT

Bioethanol from lignocellulosic materials has positive environmental effects such as low net carbon dioxide emissions, cheap, available in large quantities and reduces the potential conflict with land uses for food production. The potential uses of sugarcane bagasse in bioethanol fermentation was evaluated by using Response Surface Methodology (RSM) based on central composite design (CCD). Optimized process variables were namely inoculum size (10-20%, v/v), urea concentration (0.1-0.3%, w/v) and fermentation time (36-60 h) by *flocculent Saccharomyces cerevisiae* NRRL Y-265. Data obtained from RSM on ethanol fermentation were subjected to the Analysis of Variances (ANOVA) and analyzed using a second order polynomial equation resulted in the optimized process parameters of 15% (v/v) as inoculum size, 0.2% (w/v) as urea concentration and fermentation time 48 h. Optimum ethanol concentration of 1.609% (v/v) was determined. The ethanol yield is 0.49 g ethanol/g glucose. The results of this study confirm that sugarcane bagasse can be a potential feedstock for bioethanol production

*Keywords:* sugarcane bagasse, fermentation optimization, bioethanol, flocculent *Saccharomyces cerevisiae*

## RINGKASAN

Meningkatnya kebutuhan energi yang tidak diimbangi dengan ketersediaan energi dari sumber daya alam yang tidak dapat diperbarui seperti minyak bumi dan batu bara menyebabkan cadangan minyak mentah di Indonesia terus mengalami penurunan. Untuk mengatasi masalah tersebut perlu dicari sumber energi alternatif terutama dari bahan yang dapat diperbarui seperti tanaman. Bioetanol merupakan salah satu sumber energi alternatif yang banyak dikembangkan saat ini karena memiliki beberapa keunggulan yaitu selain dapat diperbarui, juga memiliki efisiensi pembakaran yang lebih tinggi serta emisi gas rumah kaca yang lebih rendah. Pengembangan bioetanol generasi kedua dari bahan berlignoselulosa merupakan bahan yang berpotensi untuk dikembangkan karena ketersediaannya yang melimpah serta tidak mengganggu ketersediaan pangan atau pengolahan lahan pertanian. Diantara bahan berlignoselulosa, bagas tebu merupakan bahan yang berpotensi untuk dijadikan bahan baku bioetanol karena ketersediaannya yang melimpah serta mengandung liginoselulosa yang cukup tinggi. Namun demikian, bagas tebu tidak siap untuk dapat digunakan secara langsung menjadi bioetanol karena memiliki *biomass recalcitrance* yang tinggi akibat struktur kompleks liginoselulosa yang dimilikinya sehingga sulit untuk didegradasi oleh enzim atau mikroba.

*Pretreatment* baik secara fisik, kimiawi maupun biologis merupakan strategi untuk menurunkan *biomass recalcitrance* bahan dengan mekanisme mendegradasi struktur kompleks liginoselulosa sehingga dapat dihidrolisis secara enzimatik. Biokonversi dari bahan berlignoselulosa menjadi etanol memerlukan beberapa tahap yaitu proses *pretreatment*, hidrolisis enzimatik dan fermentasi etanol. Pada penelitian ini digunakan bagas tebu hasil *pretreatment* menggunakan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 5% yang merupakan metode terbaik hasil penelitian terdahulu. Selulosa hasil *pretreatment* akan dihidrolisis menjadi glukosa secara enzimatik dan selanjutnya glukosa dikonversi menjadi etanol melalui proses fermentasi menggunakan mikroba. Tujuan dari penelitian ini adalah mengembangkan teknologi bioproses dalam memanfaatkan bagas tebu untuk menghasilkan bioetanol melalui proses fermentasi yang efisien dan ekonomis. Pada penelitian ini dilakukan studi tentang optimasi fermentasi yang merupakan tahapan terpenting dalam mencapai *yield* optimal. Strategi optimasi dilakukan melalui pemanfaatan mikroba unggul yaitu yeast flocculant *Saccharomyces cerevisiae* dan optimasi kondisi fermentasi (konsentrasi inokulum, urea dan waktu fermentasi). Optimasi fermentasi dilakukan dengan tujuan untuk meningkatkan produktifitas produksi etanol. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kondisi fermentasi optimum adalah konsentrasi inokulum 15% (v/v), konsentrasi urea 0.2% (b/v) dan lama fermentasi 48 jam dengan kadar etanol yang dihasilkan 1.609% (v/v). Persamaan polinomial yang diperoleh  $Y = 0.21 + 0.022X_1 + 1.194X_2 + 0.0457X_3 + 0.07075X_1X_2 + 0.0001229X_1X_3 - 0.008646X_2X_3 - 0.00153X_1^2 - 4.396X_2^2 - 0.000461X_3^2$ . Hasil penelitian (1.609% (v/v)) menunjukkan hasil yang tidak berbeda jauh dengan hasil prediksi etanol dengan software (1.614% (v/v)). Hal ini mengindikasikan keakuratan metode *Response Surface Methodology* (RSM) sehingga dapat digunakan untuk mengoptimasi kondisi fermentasi etanol dari bagas tebu. *Yield* etanol yang diperoleh adalah 0.49 g etanol/g glukosa sedangkan efisiensi fermentasinya adalah 96.3%. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa proses fermentasi etanol dari bagas tebu dapat dijadikan pilihan sebagai sumber energi alternatif.

## SUMMARY

Sugarcane bagasse like other lignocellulosic materials is composed of cellulose, hemicellulose and lignin. The presence of lignin protects the polysaccharides from enzymatic degradation because it forms a protective shield around cellulose and hemicelluloses. Therefore, pretreatment is required to degrade the lignin in the sugarcane residue by decreasing cellulose crystallinity, and increasing the surface area for enzymatic activity. Generally, bioconversion of lignocellulosic materials into ethanol involves three steps: pretreatment, to render cellulose accessible; enzymatic hydrolysis, to release the monomeric sugars; and fermentation, to convert sugars into ethanol. Pretreatment using hydrogen peroxide has been shown to be an excellent choice for pretreatment of sugarcane bagasse, leading to almost 100% recovery of the cellulose as the glucose after enzymatic hydrolysis. *Saccharomyces cerevisiae* is the preferred yeast for most ethanol fermentation due to their high ethanol yield, high productivity and high ethanol tolerance. *Saccharomyces cerevisiae* NRRL Y-265 is a flocculent strain with constant flocculation capacity during all growth phases. The ability of yeast cells to flocculate is of considerable importance for the fuel ethanol industry, as it provides an effective, environment-friendly, simple, increases the efficiency and reduces the energy consumption associated with cell separation.

In this study, optimization of fermentation using response surface methodology (RSM) was performed. This optimization process involves three major steps ; performing the statistically designed experiments, estimating the coefficient in a mathematical model and predicting the response and checking the adequacy of the model. Optimization of fermentation in this present study included inoculum size, urea concentration and fermentation time, since these parameters play a key role in the enhancement of ethanol yield.

The potential uses of sugarcane bagasse in bioethanol fermentation was evaluated by using Response Surface Methodology (RSM) based on central composite design (CCD). Optimized process variables were namely inoculum size (10-20%, v/v), urea concentration (0.1-0.3%, w/v) and fermentation time (36-60 h) by flocculent *Saccharomyces cerevisiae* NRRL Y-265. Data obtained from RSM on ethanol fermentation were subjected to the Analysis of Variances (ANOVA) and analyzed using a second order polynomial equation resulted in the optimized process parameters of 15% (v/v) as inoculum size, 0.2% (w/v) as urea concentration and fermentation time 48 h. Optimum ethanol concentration of 1.609% (v/v) was determined. The ethanol yield is 0.49 g ethanol/g glucose with 96,3% fermentation efficiency. The results of this study confirm that sugarcane bagasse can be a potential feedstock for bioethanol production

## DAFTAR PUSTAKA

- Agbogbo, F.K., G.C. Kelly, M.T. Smith, K. Wenger, T.W. Jeffries. 2007. The Effect of Initial Cell Concentration on Xylose Fermentation by *Pichia stipitis*. *Appl. Biochem. and Biotechnol.* Vol. 136-140. 2007
- Ambati, P. dan C. Ayyanna. 2001. Optimize Medium Constituents and Fermentation Conditions for Citric Acid Production From Palmyra Jaggery Using RSM. *W. J.of Microbiol. and Biotechnol.*17, 331-335.
- Anindyawati, T. 2009. Prospek Enzim dan Limbah Lignoselulosa Untuk Produksi Bioetanol. *BS (44):* 49-56.
- Aristidou, A.A. 2007. 'Application of Metabolic Engineering to the Conversion of Renewable Resources to Fuels and Fine Chemicals: Current Advances and Future Prospects'. Dalam El-Mansi, EMT, Bryce, CFA, Demain, AL and Allman, AR. *Fermentation Microbiology and Biotechnology 2<sup>nd</sup> edition*. CRS Press, New York
- Ayu, R. 2010. Karakterisasi, Isolasi dan Skrining Bakteri Selulolitik Penghasil Enzim Selulase. Skripsi. Jurusan Ilmu dan Teknologi Pangan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Bandaru, V.V.R., S.R. Somalanka. 2006. Optimize of Fermentation Conditions For The Production of Etanol From Sago Starch by Co-Immobilized *Amyloglucosidase* and Cell of *Zymomonas mobilis* Using RSM. *Enzyme and Microbial Technology* 38: 209-214.
- Bhernadetta, E. 2011. *Pretreatment* Limbah Tongkol Jagung sebagai Bahan Baku Pembuatan Etanol. Skripsi. Jurusan Ilmu dan Teknologi Pangan. FTP UB.Malang
- Byung-Hwan Um, 2007. Optimization Production Ethanol from Concentrated Substrate. Dissertation. Auburn University, Alabama.
- Conway, T. 1992. The Entner Doudoroff Pathway: History, Physiology and Molecular Biology. *FEMS Microbiol Rev.* 103:1-28.
- Dawson, L, and Boopathy, R. 2008. Cellulosic ethanol production from sugarcane bagasse without enzymatic saccharification. *Bioresources* 3(2): 452-460.
- David Ly and K. Pogliano. 2007. *Zymomonas mobilis*. [http://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Zymomonas\\_mobilis](http://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Zymomonas_mobilis).
- Demers, A, Doane, R, Guzman, S and Pagano, R. 2009. Enzymatic Hydrolysis of Cellulosic Biomass for the Production of Second Generation Biofuels. A

Major Qualifying Project Report Submitted to the faculty of Worcester Polytechnic Institute

Dence, C.W and Reeve , D.W. 1996. *Pulp Bleaching Principle and Practice*.TAPPI Press. Atlanta. San Diego. California

Dengis, P.B., L. R. Ne Lissen, and Paul G. R. 1995. Mechanisms of Yeast Flocculation: Comparison of Top and Bottom Fermenting Strains. *Appl and Environ. Microbiol. Vol. 61, No. 2*

Dharmadhikari, M. 2005. *Nitrogen Metabolism During Fermentation*. Vineyard and Vintage View, Mountain Grove, MO

Dias, Marina O.S., Ensinas, A.V., Nebra, S.A., Filho, R.M, Rossell, C.E.V, Maciel, M.R.W. 2009. Production of bioethanol and other bio-based materials from sugarcane bagasse: Integration to conventional bioethanol production process. *Chemical Engineering Research and Design* 87:1206-1216

Domingues, Antonio A. Vicente, Nelson Lima, and Jose A. Teixeira. 2000. Application of Yeast in Biotechnological Processes. *Biotechnol. Bioprocess. Eng.* 2000.,5:288-305.

Esser, K. and U. Kues. 1983. Flocculation and Its Implication for Biotechnology. *Process Biochemistry*. December 1983: 21—23.

Gasperz, 1992 Gasperz, V. 1992. *Teknis Analisis dalam Penelitian Percobaan*. Tarsito: Bandung

Gibson and Westby (1986 Gibson, WR, Westby, CA. 1986. Effects of inoculum size on solid-phase fermentation of fodder beets for fuel ethanol production. *Applied and Environmental Microbiology* Vol 52:960-962.

Gould, J.M. 1984. Alkaline Peroxide Delignification of Agricultures Residues to Enhance Enzymatic Saccharification. *Biotechnology and Bioengineering* 26, 46-52

Gozart M., Samsuri M., H. Fani Siti, P. Bambang, Nasikin M. 2007. Sakarifikasi dan Fermentasi Bagas menjadi Ethanol Menggunakan Enzim Selulase dan Enzim Sellobiase. *Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI*. Jakarta.

Gusakov *et al.* (2006 Gusakov, A.V., Tatyana N. Salanovich, Alexey I. Antonov, Boris B. Ustinov, Oleg N. Okunev, Richard Burlingame, Mark Emalfarb, Marco Baez, Arkady P. Sinitsyn. 2006. Design of Highly Efficient Cellulase Mixtures for Enzymatic Hydrolysis of Cellulose. *Biofuels and Environmental Biotechnology*. Wiley Periodicals, Inc.

Hambali, E., S. Mujdalipah, A.H. Tambunan, A.W. Pattiwiri, dan R. Hendroko. 2007. *Teknologi Bioenergi*. Agromedia Pustaka:Jakarta



Hagerdal *et al.*, 2006 Hagerdal, B.H., M. Galbe, M.F. Gorwa-Graunslund, G. Liden, and G. Zacchi. 2006. Bioethanol the Fuel of Tomorrow from The Residues of Today. <http://www.sciencedirect.com>. Diakses tanggal 12 Januari 2013

Hermiati, E., Djumali M., Titi C. S., Ono S., dan Bambang P. 2010. Pemanfaatan Biomassa Lignoselulosa Ampas Tebu untuk Produksi Bioetanol. *Jurnal Litbang Pertanian*, 29(4), 2010

Hendriks, A.T.W.M, and G. Zeeman, 2009. Pretreatment to Enhance The Digestibility of Lignocellulosic Biomass. Wageningen University, [www.chc.ncsu.edu](http://www.chc.ncsu.edu). Diakses tanggal 12 Oktober 2012.

Holt, John G., N. R. Krieg, H. A Peter Sneath, James T. Staley, S. T. Williams. 2000. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology Ninth Edition*. Lippincott Williams and Wilkins. Philadelphia, USA.

Iranmahboob, J., Nadim, F., and Monemi, S., 2002. Optimizing Acid-Hydrlysis: A Critical Step for Production If Ethanol from Mixed Wood Chips. *Biomass and Bioenergy*, 22: 401-404

Jeffries, T.W. 2005. Ethanol Fermentation on The Move. *Nature Biotechnology* 23:40-41.

Karuppaiya, M, Sasikumar, E, Viruthagiri, T, and Vijayagopal, V. 2010. Optimization of process variable using response surface methodology (RSM) for ethanol production from cashew apple juice by *Saccharomyces cerevisiae*. *Asian Journal of Food and Agro-Industry*. 3(04): 462-473.

Kavanagh, K. 2005, *Fungi Biology and Applications*, John Willey & Sons Ltd, England.

Khairani, Rini. 2007. Tanaman Jagung Sebagai Bahan Bio-fuel. <http://www.macklintmip-unpad.net>. Diakses tanggal 12 Januari 2013

Kim S, Holtzapple MT. 2005. Lime pretreatment and enzymatic hydrolysis of corn stover. *Bioresour. Technol.* 96: 1994-2006.

Kompas. 2011. Data Produksi, Konsumsi dan Cadangan Minyak. <http://www.kompas.com>. Diakses tanggal 12 Februari 2013

Kojima, S. 1998. Fermentation Industry. *Syst. Appl. Microbiol.* 21, 121-127.

Wardani, AK dan Kusumawardini, I. 2013. Pretreatment Ampas Tebu (*Saccharum officinarum*) sebagai Bahan Baku Bioetanol Generasi Kedua. *Jurnal Pangan dan Agroindustri, Teknologi Hasil Pertanian, Universitas Brawijaya*

Lynd, L.R., P.J. Weimer, W.H. Van Zyl, and I.S. Pretorius. 2002. Microbial Cellulose Utilization: Fundamental and Biotechnology. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 66(3):506-577.

Mosier *et al.*, 2005; Mosier, N., Wyman, C., Dale, B., Elander, R., Lee, Y.Y., Holtzapple, M., Ladisch, M. 2005. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technol.* 96:673-686.

Montgomery, 2001 Montgomery, D.C. 2001. *Design and Analysis of Experiment 5<sup>th</sup> Edition*. John Willey and Sons, Inc: New York

Mussatto *et al.* (2010) Mussatto, S.J., Giuliano D., Pedro M.R. Guimaraes, Joao P. A., Silva, Livia M. C., Ines C. R., Antonio V., Lucilia D., Jose A. T. 2010. Technological Trends, Global Market, and Challenges of Bio-Ethanol Production. *Biotechnology Advances* 28 (2010) 817-830

Nofemele, Z, Pratyosh Shukla, Arthur Trussler, Kugen Permaul, and Suren Singh. 2012. Improvement of Ethanol Production from Sugarcane Molasses through enhanced nutrient Supplementation using *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Brewing and Distillatilling* 3(2): 29-35.

Nurtyastuti (2011) Nurtyastuti, F.E.P. 2011. Produksi Etanol dari Tetes Tebu oleh Flocculant *Saccharomyces cerevisiae* (NRRL- Y265). Skripsi. Jurusan Ilmu dan Teknologi Pangan. Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya: Malang

Osman, M.E., Khattab O.H., Hammad I.A., El-Hussieny N.I. 2011. Optimization of Bio-Fuel Production by *Saccharomyces cerevisiae* Isolated from Sugar Cane Bagasse. *Journal of American Science*, 2011;7(5)

Perez J., J. Munoz-Dorado, T. de la Rubia and J. Martinez. 2002. Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: an overview. *Int. Microbiol.* 5:53-63

Pereira, F.B., Pedro M.R.G., Jose A.T, Lucilia D. 2010. Optimization of Low-cost Medium for Very High Gravity Fermentations by *Saccharomyces cerevisiae* Using Statistical Experimental Designs. *Bioresource Technology* 101 (2010) 7856-7863

Piskur, J., F. Rozpedowska, S. Polakova, A. Merico, and C. Compagno. 2006. How did *Saccharomyces* Evolve to Become A Good Brewer ?. *Trends in Genetics* 22:183-186.

Quintero, J. A., M. I. Montoya, O. J. Sanchez, O. H. Giraldo, C. A. Cardona. 2006. Fuel Ethanol Production from Sugarcane and Corn: Comparative Analysis for Colombian Case. *Energy* 33(3):385-399.

Rabelo, S.C., Carrere, H., Filho, R.M., Costa, A.C. 2011. Production of bioethanol, methane and heat from sugarcane bagasse in a biorefinery concept. *Bioresource Technology* 102:7887-7895.

Ratnam, B.V.V. 2001. Studies on Physico-chemical and Nutritional parameters for the Production of Ethanol from Palmyra jaggery by Submerged Fermentation Using *Saccharomyces cerevisiae*. PhD thesis, Andhra University, Visakhapatnam, AP, India.

Ratnam, B.V.V, S. Subba Rao, M. Damodar Rao, M. Narasimha Rao, C. Ayyanna. 2005. Optimization of Medium Constituents and Fermentation Conditions for The Productions of Ethanol from Palmyra jaggery Using Respons Methodology. *W.J. of Microbiol. and Biotechnol.* 21:399-404.

Riyanti, E.I. 2009. Biomassa Sebagai Bahan Baku Bioetanol. *Jurnal Litbang Pertanian*, 28(3), 2009

Ruanglek, V., D. Maneewatthana, S. Tripechkul. 2006. Evaluation of Thai Agroindustrial Waste for Bio-ethanol production by *Zymomonas mobilis*. *Process Biochemistry*. 41:1423-1437.

Saha, B.C.; Cotta, M.A. Enzymatic Saccharification and Fermentation of Alkaline Peroxide Pretreated Rice Hulls to Ethanol. *Enzyme Microb. Tech.* 2007, 41, 528-532.

Samsuri, M., M. Gozan, R. Mardias, M. Baiquni., H. Hermansyah, A. Wijanarko, B. Prasetya, M. Nasikin. 2007. Pemanfatan Sellulosa Bagas Untuk Produksi Ethanol Melalui Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak dengan Enzim Xylanase. *Makara Teknologi* Vol. 11 No. 1.2007-17-24. LIPI. Bogor.

Santoso, B.E. 2011. Limbah Pabrik Gula: Penanganan, Pencegahan dan Pemanfaatannya dalam Upaya Program Langit Biru dan Bumi Hijau. P3GI. Pasuruan.

Schuler, Michael L. and Korgi, F. 1992. *Bioprocess Engineering Basic Concepts*. Prentice Hall, USA.

Smith, G., Marika H.S., Ben J.J.L. and Jan W.K. 1992. Flocculence of *Saccharomyces cerevisiae* Cells is Induced by Nutrient Limitation, with Cell

- Surface Hydrophobicity as A Major Determinant. *Appl. and Environ. Microbiol.* Vol. 58, No. 11
- Sun, Y, and Cheng, J. 2002. Hydrolysis of Lignocellulosic Materials for Ethanol Production: A Review. *Bioresource Technology* 83(1): 1-11.
- Swings, J. and J. De Ley. 1984. *The Biology of Zymomonas*. *Bacteriol. Rev.*41, p. 1-46.
- Taherzadeh, M. J. 1999. Ethanol from Lignocellulose: Physiological Effects of Inhibitors and Fermentation Strategies. *Chemical Reaction Engineering*, Chalmers University of Technology, Göteborg, Sweden.
- Taherzadeh, M. J. and K. Karimi. 2007. Enzymed-Based Hydrolysis Processes for Ethanol from Lignocellulosic Materials: A Review. *Bioresources* 2(4): 707-738.
- Tu MB, Zhang X, Paice M, McFarlane P, Saddler JN. 2009. Effect of surfactants on separate hydrolysis fermentation and simultaneous saccharification fermentation of pretreated lodge pole pine. *Biotechnol. Prog.* 25: 1122-1129.
- Velmurugan, R, Muthukumar, K. 2012. Sono-assisted enzymatic saccharification of sugarcane bagasse for bioethanol production. *Biochemical Engineering Journal* 63:1-9.
- Waites, MJ, Morgan, NL, John, SR, Gary, H. 2001. *Industrial Microbiology an Introduction*. Blackwell Publishing Company, Victoria Australia.
- Wahyudi. 1997. Produksi Alkohol oleh *Saccharomyces ellipsoideus* dengan Tetes Tebu (Molase) sebagai Bahan Baku Utama. <http://iirc.ipb.ac.id>. Diakses 3 Januari 2013
- Wang, F.Z., W. Shen, Z.M. Rao, H.Y. Fang, X.B. Zhan, J. Zhuge. 2008. Construction of A Flocculating Yeast for Fuel Ethanol Production. *Biotechnol. Lett.* (2008) 30:97-102
- Wyman, C.E. 2002. Biomass Ethanol: Technological Progress, Opportunities, and Commercial Challenges. *Annu. Rev. Energy Environ.*
- Zaldivar, J., J. Nielsen, and L. Olsson. 2001. Fuel Ethanol Production from Lignocellulose: A Challenge for Metabolic Engineering and Process Integration. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 56: 17-34.