

The Influence of Nutrient Types and Starter Concentration of *Clostridium acetobutylicum* in Fermentation of Pineapple Peel into Bioethanol

Nabilla Putri Sania, Silvy Indah Safitri, Sintha Soraya Santi ✉

Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik & Sains, Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Jawa Timur, Jl.Raya Rungkut Madya, Gunung Anyar, Surabaya Telp : +62 (031) 870 6369 Surabaya 60294

Info Artikel

Diterima : 29-04-2024

Disetujui : 20-06-2024

Dipublikasikan : 26-08-2024

Keywords:

Clostridium acetobutylicum

Bioetanol

Kulit nanas

Fermentasi

Pre-treatment

Abstrak

Bioetanol adalah sumber energi alternatif yang dapat digunakan untuk mengurangi ketergantungan pada bahan bakar fosil. Penelitian ini bertujuan untuk menghasilkan bioetanol dari limbah kulit nanas menggunakan bakteri *Clostridium acetobutylicum* dengan pre-treatment awal untuk memisahkan selulosa dan lignin. Metode penelitian meliputi persiapan bahan baku, delignifikasi, hidrolisis, dan fermentasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pre-treatment dengan larutan NaOH berhasil mengurangi kadar lignin dalam kulit nanas, sementara hidrolisis menggunakan larutan HCl meningkatkan kadar glukosa. Fermentasi dengan variasi konsentrasi starter dan jenis nutrisi menghasilkan kadar bioetanol tertinggi sebesar 4% dengan penggunaan nutrisi urea dan konsentrasi starter 7%. Analisis GC-FID menunjukkan bahwa selain etanol, juga terdeteksi adanya metanol sebagai produk samping. Kesimpulannya, bakteri *Clostridium acetobutylicum* dapat digunakan untuk menghasilkan bioetanol dari limbah kulit nanas, konsentrasi starter dan jenis nutrisi mempengaruhi kadar etanol yang dihasilkan.

Abstract

Bioethanol is an alternative energy source that can be used to reduce dependence on fossil fuels. This study aims to produce bioethanol from pineapple peel waste using *Clostridium acetobutylicum* bacteria with initial pre-treatment to separate cellulose and lignin. The research methods include raw material preparation, delignification, hydrolysis, and fermentation. The results show that pre-treatment with NaOH solution successfully reduces lignin content in pineapple peels, while hydrolysis using HCl solution increases glucose content. Fermentation with variations in starter concentration and nutrient type resulted in the highest bioethanol content of 4% with the use of urea nutrient and 7% starter concentration. GC-FID analysis indicates that besides ethanol, methanol is also detected as a by-product. In conclusion, *Clostridium acetobutylicum* bacteria can be used to produce bioethanol from pineapple peel waste, the concentration of starter and nutrient type influencing the ethanol content produced.

Pendahuluan

Bioetanol, memiliki bilangan oktan yang relative tinggi (106-110) dibandingkan *Gasoline* (91-96), biasa digunakan sebagai campuran untuk meningkatkan kinerja *Gasoline*. Di Indonesia, bioetanol biasanya dibuat dari pati, singkong, atau bahan-bahan yang mengandung glukosa, dikenal sebagai bioetanol generasi satu (G1). Namun, karena keterbatasan bahan baku dan persaingan dengan harga pangan, produksi bioetanol G1 mengalami penurunan sejak tahun 2010. Untuk mengatasi hal ini, bahan yang mengandung selulosa atau hemiselulosa dapat diubah menjadi bioetanol, yang disebut sebagai bioetanol generasi dua (G2). Kandungan selulosa yang relatif tinggi memungkinkan kulit nanas terkonversi menjadi glukosa dan dapat difermentasi menghasilkan bioetanol (Sudiyani *et al.*, 2013). Selain itu, proses *pre-treatment* memungkinkan terbentuknya zat inhibitor atau toksik yang akan berpengaruh terhadap perolehan bioetanol. Berdasarkan, analisis proksimat kulit nanas mengandung 24,16 % Selulosa, 20,4% Hemiselulosa, Lignin 6,5% dan Ash 11.8 % (Rahmi *et al.*, 2023). Kulit nanas, dengan kandungan selulosa tinggi, dapat diubah menjadi glukosa dan difermentasi menjadi bioetanol. Namun, kandungan lignin dalam kulit nanas dapat menghambat proses fermentasi, sehingga diperlukan proses delignifikasi untuk mengurangi kandungan lignin (Yoricya *et al.*, 2016).

Bakteri seperti *Clostridium acetobutylicum* dapat menghasilkan enzim selulosa yang diperlukan untuk menghidrolisis selulosa menjadi glukosa. Selain itu, fermentasi menggunakan bakteri ini dapat menghasilkan aseton-butan-1-ol (ABE) dari limbah kulit nanas (Sari, Muria dan Yenie, 2018). *Clostridium acetobutylicum* memiliki kelebihan toleransi terhadap oksigen dari pada genus *Clostridium* sp lainnya, sehingga mampu menghasilkan etanol dalam kadar yang tinggi. Pada proses fermentasi, bakteri membutuhkan nutrisi untuk menjadi sumber energi bagi pertumbuhan bakteri. Nutrisi yang diberikan harus mengandung nitrogen dan vitamin untuk penyedia asam nukleat dan asam amino serta untuk mempercepat proses pertumbuhan mikroba sehingga pemilihan nutrisi harus diperhatikan kandungannya (Gafiera, Swetachattrat dan Kimia, 2019). Selain itu, penambahan inokulum perlu diperhatikan konsentrasinya karena peningkatan jumlah konsentrasinya dapat meningkatkan kadar bioetanol yang dihasilkan. Hal ini disebabkan, penggunaan gula reduksi yang melimpah pada mikroorganisme dalam medium fermentasi.

Beberapa peneliti terdahulu sudah melakukan penelitian tentang bioetanol. Pada penelitian (Sari, Muria dan Yenie, 2018) bioetanol dari limbah kulit nanas menggunakan bakteri *Clostridium acetobutylicum* dengan variasi konsentrasi inokulum dan penambahan nutrisi diperoleh konsentrasi bioetanol sebesar 9% v/v pada variabel konsentrasi inokulum 14% dan waktu fermentasi 8 hari. Selain itu, pada penelitian (Pangaribuan *et al.*, 2021) bioetanol diperoleh dari berbagai limbah perkebunan yang berligniselulosa, seperti pada fermentasi kulit pisang diperoleh kadar bioetanol sebesar 2,154 % v/v pada variabel pH 6 dan konsentrasi inokulum 6% dengan menggunakan bakteri *S.Cerevisiae*. Pada fermentasi kulit cempedak diperoleh kadar bioetanol sebesar 0,731%v/v pada variabel pH 4,5 dengan menggunakan bakteri *S.Cerevisiae*. Pada beberapa penelitian terdahulu penggunaan bakteri *Clostridium acetobutylicum* menghasilkan kadar bioetanol yang relative lebih tinggi dibanding dengan penggunaan bakteri *S.Cerevisiae*. Oleh karena itu, dilakukan penelitian fermentasi kulit nanas menjadi bioetanol menggunakan bakteri *Clostridium acetobutylicum* dengan pre-treatment awal untuk memisahkan selulosa dan ligninnya. Pada penelitian ini, pre-treatment awal yaitu kulit nanas direbus terlebih dahulu kemudian dilakukan proses delignifikasi dengan menggunakan natrium hidroksida (NaOH). Penggunaan larutan basa atau alkali pre-treatment seperti NaOH, dapat digunakan untuk membantu pemisahan lignin dari serat selulosa. Perlakuan alkali ini dapat meningkatkan kandungan selulosa dan efektif dalam menghilangkan lignin. (Kurniaty, 2017). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan bioetanol dari limbah kulit nanas dengan proses fermentasi menggunakan bakteri *Clostridium acetobutylicum* serta mengetahui pengaruh jenis nutrisi dan konsentrasi starter *Clostridium acetobutylicum* pada fermentasi kulit nanas terhadap kadar bioetanol yang dihasilkan.

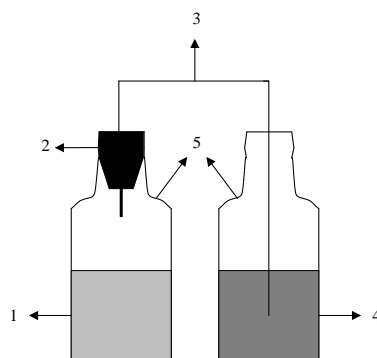
Metode

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain oven, beaker glass, autoclave, hot plate, labu ukur, erlenmeyer, magnetic stirrer, gelas ukur, kertas saring, pH meter, neraca analitik, batang pengaduk, pipet tetes, kaca arloji dan corong kaca yang digunakan pada proses pre-treatment, delignifikasi, dan hidrolisis. Selanjutnya, dilakukan analisis bahan baku yaitu analisis glukosa, selulosa, dan lignin. Sedangkan pada proses fermentasi menggunakan alat yaitu botol fermentor, plastisin, selang, dan bunsen. Untuk mengukur kadar bioethanol yang dihasilkan adalah menggunakan analisis refraktometer dan analisis *Gas Chromatography* (GC-FID).

Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain kulit nanas yang didapatkan dari Blitar, bakteri *Clostridium acetobutylicum* didapatkan dari nanobio laboratory, Jakarta Selatan, aquadest, natrium hidroksida (NaOH), asam klorida (HCl), urea ($\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$), ammonium sulfat ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$), magnesium sulfat (MgSO_4), monopotasium fosfat (KH_2PO_4), besi (II) sulfat (FeSO_4), dan alkohol yang didapatkan dari toko Nirwana

Abadi UD yang beralamat di Jl. Wonorejo Permai Timur V No. 95, Surabaya, sedangkan asam sitrat didapatkan dari Toko Phoenix Surabaya yang beralamat di Rungkut Mejoyo Selatan 2 No. 7 Blok K-37, Surabaya.



Gambar 1 .Rangkaian Alat Fermentasi

Keterangan :

1. Botol fermentor berisi bahan yang akan difermentasi
2. Plastisin
3. Selang penghubung
4. Botol fermentor yang diisi aquadest
5. Botol fermentor

Prosedur Penelitian

Persiapan Bahan Baku

Kulit nenas dianalisis terlebih dahulu kadar glukosa, lignin, dan selulosa. Selanjutnya kulit nenas dimasak dengan air selama 5 menit dengan suhu 90°C. Kulit nenas yang sudah dimasak, ditiriskan hingga kadar airnya berkurang untuk dilakukan proses delignifikasi.

Delignifikasi

Kulit nenas sebanyak 50 gr didelignifikasi pada 300 ml larutan NaOH 1,5% selama 90 menit disertai pemanasan 121°C. Kulit nenas yang sudah didelignifikasi dicuci dengan aquadest hingga pHnya netral (pH = 7) dan dikeringkan pada suhu 100°C selama 4 jam. Selanjutnya kulit nenas kering dianalisis kadar lignin dan selulosanya.

Hidrolisis

Kulit nenas kering hasil dari delignifikasi dihidrolisis menggunakan larutan HCl 7% sebanyak 100 ml selama 1 jam disertai pemanasan pada suhu 100°C dan pengadukan dengan kecepatan 450 rpm. Setelah dihidrolisis, didinginkan hingga suhu 25-30°C kemudian disaring hingga menghasilkan filtrat dan dianalisis kadar glukosanya.

Fermentasi

Filtrat yang dihasilkan dari hidrolisis diatur pH-nya hingga mencapai rentang pH 4,5 - 5. Jika pH kurang dari 4,5 perlu ditambahkan larutan NaOH, sementara jika pH lebih dari 5 perlu ditambahkan larutan asam sitrat. Selanjutnya filtrat tersebut disterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Fermentasi dilakukan dengan menambahkan starter *Clostridium acetobutylicum* dengan konsentrasi starter sebesar 7%, 8%, 9%, 10%, 11% pada suhu kamar dan jenis nutrisi yaitu FeSO₄, MgSO₄, CH₄N₂O, KH₂PO₄, (NH₄)₂SO₄ dengan komposisi 1,3% terhadap volume media. Proses fermentasi dilakukan selama 8 hari. Setelah proses fermentasi selesai, dilakukan penyaringan dan didapatkan filtrat hasil fermentasi yang akan dianalisis kadar alkoholnya menggunakan analisa refraktometer dan analisa gas kromatografi (GC-FID).

Hasil dan Pembahasan

Persiapan Bahan Baku dan Delignifikasi

Penelitian ini menggunakan bahan baku kulit nenas. Kulit nenas mengandung 9,76% lignin, 86,49% selulosa, dan 5% glukosa. Selain itu, kulit nenas juga memiliki banyak pengotor seperti kotoran padat dan pasir. Pengotor tersebut mengakibatkan proses lainnya tidak berjalan secara maksimal. Perlakuan fisik seperti perebusan dilakukan dengan tujuan menghilangkan pengotor dan membuka struktur lignoselulosa pada kulit nenas. Menurut (Saputri, Hafiz dan Fadli, 2023) perebusan menentukan proses lanjutan untuk pengolahan bahan yang mengandung selulosa.

Delignifikasi merupakan proses yang sangat penting dilakukan pada pembuatan bioetanol berbahan baku biomassa. Lignin memiliki struktur yang sangat kompleks dan tidak berpola sehingga proses konversi bioetanol dengan proses hidrolisis dan fermentasi sulit dicapai. Delignifikasi dibutuhkan untuk merusak struktur lignin. Penelitian ini menggunakan larutan NaOH. Delignifikasi mengakibatkan larutan NaOH berubah warna menjadi cokelat kehitaman (*black liquor*) karena mengandung natrium fenolat. *Black liquor* tersebut menandakan bahwa lignin telah terlepas. Menurut (Mayangsari, Apriani and Dwi, 2019) natrium fenolat dibentuk oleh ion Na^+ yang berikatan dengan lignin, sedangkan ion OH^- memutus ikatan lignin. Setelah dilakukan delignifikasi, kadar lignin dan selulosa dalam kulit nanas menurun menjadi 3,67% dan 56,31%.

Hidrolisis

Hidrolisis diperlukan untuk mengonversi selulosa menjadi glukosa yang dapat difermentasi. Penelitian ini menggunakan larutan HCl sebagai aktivator yang berjalan pada suhu 100°C . Menurut (Devi, A. dan Bambang, 2018) HCl pada suhu tinggi memberikan peningkatan pada kadar glukosa kulit nanas karena tingkat degradasi tinggi. Setelah dilakukan hidrolisis, kulit nanas yang awalnya memiliki kadar glukosa 5% mengalami kenaikan menjadi 11,2%.

Pengukuran Kadar Etanol Hasil Fermentasi

Fermentasi dilakukan menggunakan bantuan bakteri *Clostridium acetobutylicum* dengan rentang konsentrasi penambahan starter 7%; 8%; 9%; 10%; 11% dan jenis nutrisi yang beragam yaitu FeSO_4 , MgSO_4 , $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$, KH_2PO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Secara keseluruhan hasil analisis kadar etanol menggunakan refraktometer disajikan pada Tabel 1.

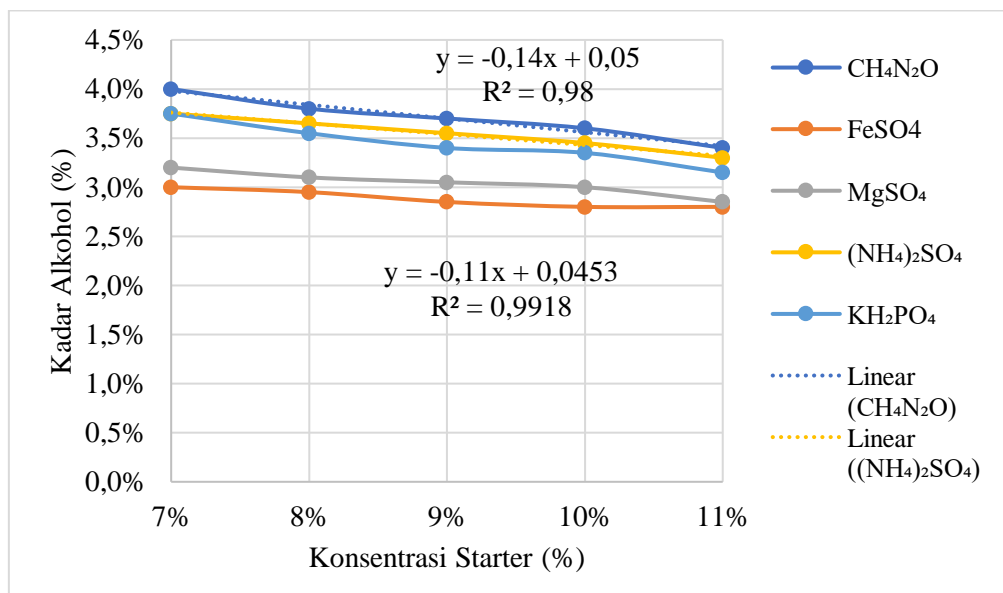
Tabel 1. Hasil Pengukuran Kadar Etanol Menggunakan Refraktometer

Jenis Nutrisi	Konsentrasi Starter	Kadar Alkohol
$\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$	7%	4,0%
	8%	3,8%
	9%	3,7%
	10%	3,6%
	11%	3,4%
FeSO_4	7%	3%
	8%	2,95%
	9%	2,85%
	10%	2,8%
	11%	2,8%
MgSO_4	7%	3,2%
	8%	3,1%
	9%	3,05%
	10%	3,0%
	11%	2,85%
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	7%	3,75%
	8%	3,7%
	9%	3,6%
	10%	3,5%
	11%	3,3%
KH_2PO_4	7%	3,75%
	8%	3,6%
	9%	3,4%
	10%	3,35%
	11%	3,15%

Berdasarkan tabel pengukuran kadar alkohol dengan menggunakan refraktometer didapatkan kadar etanol tertinggi 4% sedangkan terendah 2,8%. Kadar etanol tertinggi diperoleh pada jenis nutrisi urea dengan konsentrasi starter 7% dan kadar etanol terendah diperoleh pada jenis nutrisi FeSO₄ dengan konsentrasi starter 11%.

Pengaruh Konsentrasi Starter Terhadap Kadar Etanol

Salah satu faktor yang mempengaruhi fermentasi dari bioetanol adalah konsentrasi starter. Analisis regresi linier pada data Tabel 1, dilakukan untuk memahami pengaruh konsentrasi starter terhadap kadar etanol. Hasilnya disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2 . Hubungan Antara Konsentrasi Starter terhadap Kadar Etanol pada Hasil Fermentasi Kulit Nanas

Berdasarkan Gambar 2 diketahui bahwa pada konsentrasi starter 7% kadar etanol yang dihasilkan relative tinggi yaitu 4% dengan jenis nutrisi CH₄N₂O atau urea, sedangkan pada konsentrasi starter 11% kadar etanol yang dihasilkan relative rendah yaitu 2,8% dengan jenis nutrisi FeSO₄. Kadar etanol pada hasil fermentasi kulit nanas menunjukkan bahwa semakin meningkat konsentrasi starter menyebabkan penurunan kadar etanol. Dugaan kondisi ini disebabkan oleh penggunaan konsentrasi starter yang terlalu tinggi. Hal ini juga diperkuat oleh penelitian yang dilakukan oleh (Zhang *et al.*, 2016) yang menyatakan bahwa penggunaan starter dalam jumlah berlebihan dapat menghambat proses fermentasi atau menyebabkan fase pertumbuhan yang lambat.

Pengaruh Jenis Nutrisi Terhadap Kadar Etanol

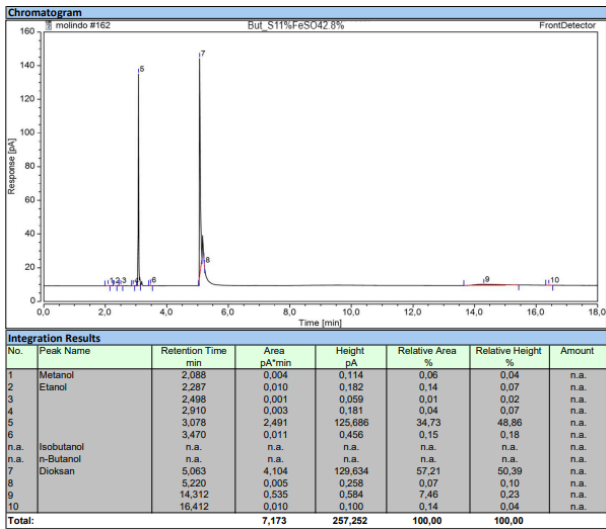
Faktor lain yang mempengaruhi fermentasi adalah jenis nutrisi. Mikroorganisme membutuhkan nutrisi untuk pertumbuhan. Dari Tabel 1 diketahui bahwa kadar etanol tertinggi diperoleh dari nutrisi urea atau CH₄N₂O dengan perolehan kadar etanol 4%. Hal ini dikarenakan urea mengandung 46% unsur nitrogen (Yuliani *et al.*, 2023). Urea akan terhidrolisis dalam air menjadi ammonium dan karbondioksida lalu ammonium diambil unsur nitrogennya oleh mikroorganisme untuk pertumbuhan dan meningkatkan aktivitas mikroorganisme. Selain itu, urea penting untuk pembentukan asam amino dan asam nukleat. Kadar etanol terkecil diperoleh pada penambahan nutrisi FeSO₄ dan MgSO₄. Hal ini sesuai dengan pernyataan (Nuraini dan Ratni J.A.R, 2021) bahwa ion Mg akan berubah menjadi racun pada konsentrasi tertentu sehingga mikroorganisme tidak dapat tumbuh.

Analisis Kandungan Senyawa Hasil Fermentasi Kulit Nanas Menggunakan GC-FID

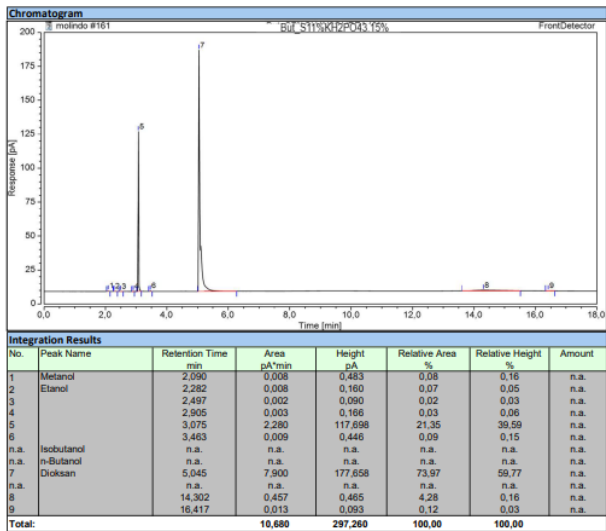
Salah satu metode yang digunakan dalam analisis kandungan senyawa hasil fermentasi adalah GC-FID. Pada penelitian ini diperoleh etanol sebagai produk utama dan metanol sebagai produk samping. Hasil analisis GC-FID dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Analisa GC-FID Kandungan Hasil Fermentasi Kulit Nanas

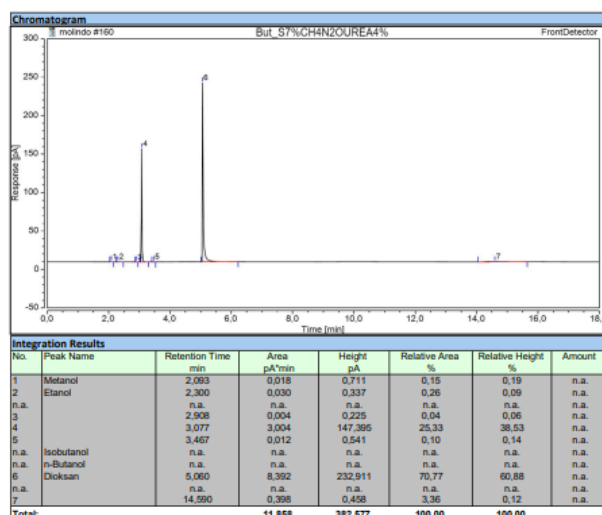
No	Nama Sampel	Kadar (% Berat)	
		Metanol	Etanol
1	KH ₂ PO ₄ 11%	0,006	0,003
2	CH ₄ N ₂ O 7%	0,012	0,012
3	FeSO ₄ 11%	0,005	0,008



Gambar 3. Hasil GC-FID Bioethanol FeSO₄ 2.8%



Gambar 4 . Hasil GC-FID Bioethanol KH₂PO₄ 3.15%



Gambar 5. Hasil GC-FID Bioethanol Urea 4%

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada Tabel 2, perolehan kadar etanol dan metanol relative kecil. Hal ini dikarenakan beberapa faktor seperti proses fermentasi yang tidak dihentikan akan menyebabkan over fermentasi (Widyantari, 2023) sehingga alkohol yang terkandung terkonversi menjadi asam-asam organik seperti asam asetat dan zat pengotor (Purwoko, 2007). Proses fermentasi dapat dihentikan dengan cara merendam media fermentasi di dalam bak berisi air selama 2 jam atau dengan memanaskan media fermentasi selama 15 menit (Silalahi, Suharman dan Adelina, 2022). Tidak hanya itu, perolehan kadar etanol yang relatif kecil juga disebabkan oleh kondisi fermentasi berjalan secara anaerob. Menurut (Maulana, Widyastuti dan Billah, 2021) *Clostridium acetobutylicum* bersifat anaerob obligat sehingga bakteri akan mudah mati ketika terpapar udara dan kondisi fermentasi harus dalam keadaan vakum. Hasil lainnya yaitu terdapat senyawa yang tidak terdeteksi pada puncak retensi waktu 3,463 hingga 3,470 menit. Hal ini disebabkan belum adanya standar yang dipakai. Namun, diduga senyawa tersebut adalah pengotor (*impurities*) yang menunjukkan adanya reaksi enzimatik baik pada proses hidrolisis maupun proses fermentasi.

Simpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa bakteri *Clostridium acetobutylicum* dapat digunakan dalam proses fermentasi menggunakan kulit nanas yang dapat menghasilkan produk utama berupa etanol dan methanol sebagai produk samping. Perbedaan jenis nutrisi dan konsentrasi starter memiliki pengaruh terhadap kadar etanol yang dihasilkan. Kondisi fermentasi yang cukup optimum diperoleh pada penambahan jenis nutrisi urea dengan konsentrasi starter sebesar 7% menghasilkan kadar etanol sebesar 4% melalui analisis refraktometer dan 0,012% melalui analisis GC-FID. Penggunaan jenis nutrisi urea menghasilkan kadar etanol yang lebih tinggi dibandingkan dengan jenis nutrisi lainnya. Banyaknya nitrogen yang dikandung urea akan mempengaruhi pertumbuhan dari mikroorganisme. Semakin banyak konsentrasi starter yang digunakan, maka dapat menghambat proses fermentasi atau terjadi fase pertumbuhan lambat.

Daftar Referensi

- Devi, N.K.A., A., H. and Bambang, A.H. (2018) 'Pengaruh Suhu Dan Jenis Asam Pada Hidrolisis Pati Ubi Talas (*Colocasia Esculenta* L. Schott) Terhadap Karakteristik Glukosa The', *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 6(4), pp. 307–315.
- Gafiera, I.N., Swetachattr, F.P. and Kimia, J.T. (2019) 'Pengaruh Penambahan Nutrisi Urea Dalam Pembuatan Bioetanol Dari Kulit Pisang Kepok Dengan Proses Fermentasi', *Distilat: Jurnal Teknologi Separasi*, 5(2), pp. 195–199. Available at: <https://doi.org/10.33795/distilat.v5i2.31>.
- Kurniaty, I. (2017) 'Proses Delignifikasi Menggunakan NaOH Dan Amonia (NH₃) Pada Tempurung Kelapa', *Jurnal Integrasi Proses*, 6(4), p. 197–201. Available at: <https://doi.org/10.36055/jip.v6i4.2546>.
- Maulana, M.R., Widyastuti, K. and Billah, M. (2021) 'Produksi Biobutanol dari Fruktosa Food Grade', *ChemPro*, 2(03), pp. 38–43. Available at: <https://doi.org/10.33005/chempro.v2i03.108>.

- Mayangsari, N.E., Apriani, M. and Dwi, E. (2019) 'Pemanfaatan Limbah Daun Nanas (Ananas Cosmosus) sebagai Adsorben Logam Berat Cu', *J. Res. Technol.*, 5(2), pp. 129–138.
- Nuraini, A.I. and Ratni J.A.R, N. (2021) 'Pengaruh Waktu Dan Nutrien Pada Proses Fermentasi Sampah Organik Menjadi Bioetanol Dengan Metode Ssf', *EnviroUS*, 1(2), pp. 76–82. Available at: <https://doi.org/10.33005/enviroUS.v1i2.40>.
- Pangaribuan, R.N. *et al.* (2021) 'Kajian Pustaka : Potensi Kulit Buah Untuk Menghasilkan Bioetanol Dengan Kajian Pustaka : Potensi Kulit Buah Untuk Menghasilkan Bioetanol Dengan Mengkaji Kondisi , Substrat , Dan Metode Fermentasi', *Journal of Applied Technology and Informatics Indonesia*, 1(1), pp. 1–14. Available at: <https://doi.org/10.54074/jati.v1i1.7>.
- Rahmi, D. *et al.* (2023) 'Pemanfaatan Limbah Kulit Nanas Menjadi Bioetanol Dengan Menggunakan Ragi (Saccharomyces Cerevisiae)', *Chemical Engineering Journal Storage (CEJS)*, 2(5), p. 147. Available at: <https://doi.org/10.29103/cejs.v2i5.9796>.
- Saputri, L.H., Hafiz, M. and Fadli, M. (2023) 'Comparison of Fiber Characteristics of Empty Fruit Bunches (EFB) after Steaming and Boiling Treatment in Pulp Synthesis Perbandingan Karakteristik Serat Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS) setelah Treatment Pengukusan dan Perebusan dalam Sintesis Pulp', *Formosa Journal of Applied Sciences*, 2(1), pp. 43–56.
- Sari, N.M., Muria, S.R. and Yenier, W. (2018) 'Produksi Bioetanol Dari Limbah Kulit Nanas Menggunakan Bakteri Clostridium Acetobutylicum Dengan Variasi Konsentrasi Inokulum Dan Penambahan Nutrisi', *Jom FTEKNIK*, 5(1), pp. 1–6.
- Silalahi, M.A., Suharman, I. and Adelina, A. (2022) 'Pemanfaatan Fermentasi Tepung Daun Pepaya (Carica papaya) Menggunakan Rhizopus sp. dalam Pakan terhadap Pertumbuhan Benih Ikan Patin Siam (Pangasianodon hypophthalmus)', *Ilmu Perairan (Aquatic Science)*, 10(1), p. 48. Available at: <https://doi.org/10.31258/jipas.10.1.p.48-55>.
- Sudiyani, Y. *et al.* (2013) 'Utilization of biomass waste empty fruit bunch fiber of palm oil for bioethanol production using pilot - Scale unit', *Energy Procedia*, 32(December), pp. 31–38. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2013.05.005>.
- Widyantari, A.A.A.S.S. (2023) 'Proses Fermentasi Terhadap Pengolahan Kakao Menjadi Produk Bahan Pangan', *Jurnal Widya Biologi*, 13, pp. 83–90. Available at: <https://doi.org/10.32795/widyabiologi.v13i02.3567>.
- Yoricya, G. *et al.* (2016) 'Hidrolisis Hasil Delignifikasi Tandan Kosong Kelapa Sawit Dalam Sistem Cairan Ionik Choline Chloride', *Jurnal Teknik Kimia*, 5(1), pp. 27–33.
- Yuliani, H.E. *et al.* (2023) 'Utilization of Pineapple Waste As a Raw Material for Bioethanol', *International Journal of Humanities, Social Sciences and Business (INJOSS)*, 2(2), pp. 250–261.
- Zhang, Q. *et al.* (2016) 'Optimization of bioethanol production using whole plant of water hyacinth as substrate in simultaneous saccharification and fermentation process', *Frontiers in Microbiology*, 6(JAN), pp. 1–9. Available at: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01411>.