

PRODUKSI BIOETANOL DARI BAHAN BAKU SINGKONG, JAGUNG DAN ILES-ILES : PENGARUH SUHU FERMENTASI DAN BERAT YEAST *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Kusmiyati^{*)} dan Lukhi Mulia Shitophyta

Pusat Studi Energi Alternatif, Jurusan Teknik Kimia,
Fakultas Teknik, Universitas Muhammadiyah Surakarta
Jl. A. Yani Tromol Pos 1 Pabelan Kartasura 57102, Telp. (0271) 717417
^{*)}Penulis korespondensi: psea_ums2014@yahoo.com

Abstract

BIOETANOL PRODUCTION FROM CASSAVA, CORN AND ILES-ILES RAW MATERIALS : THE EFFECTS OF TEMPERATURE AND YEAST WEIGHT ON THE FERMENTATION USING *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*. A large increasing of fuel consumption presently lead to the impacts on the depletion of fuel sources and increasing of air pollution in the environment. It has encouraged the development of alternative energy. Bioethanol is one of the alternative energy which can be used either in the present or in the future. Ethanol raw materials used in this study were cassava, maize and iles-iles. Variabels study were temperature fermentation (30, 35, 40, 45, 50°C) and *Saccharomyces cerevisiae* yeast weight (2.5, 5, 10, 15, 20 g). The process of ethanol production consists of enzymatic liquefaction hydrolysis sing α -amylase 1,6% v/w ($t = 1$ hour; $T = 95\text{-}100^\circ\text{C}$; pH 6) and saccharification using β -amylase 3.2% v/w ($t = 4$ hours; $T = 60^\circ\text{C}$; pH 5) and fermentation using *Saccharomyces cerevisiae* ($t = 120$ hours; pH 4.5). The highest ethanol was produced when the fermentation was conducted at temperature of 30°C and a yeast weight of 15 g using cassava, corn and iles-iles raw materials which resulted a maximum ethanol content of 83.43 g/L for cassava, 80.77 g/L for corn, and 79.94 g/L for iles-iles.

Keywords : bioethanol; cassava; iles-iles; maize; *S. Cerevisiae*

Abstrak

Kebutuhan bahan bakar di masa sekarang semakin bertambah besar sehingga berdampak pada menipisnya sumber bahan bakar dan meningkatnya polusi udara di lingkungan. Hal ini mendorong pengembangan energi alternatif. Bioetanol merupakan salah satu energi alternatif yang dapat digunakan baik di masa sekarang ataupun di masa yang akan datang. Bahan baku etanol yang digunakan pada penelitian ini adalah singkong, jagung dan iles-iles. Variabel penelitian yang diamati temperatur fermentasi (30, 35, 40, 45, 50°C) dan berat yeast *Saccharomyces cerevisiae* (2,5, 5, 10, 15, 20 g). Proses pembuatan bioetanol terdiri dari hidrolisis enzim yaitu likuifikasi menggunakan α -amylase 1,6% v/w ($t = 1$ jam; $T = 95\text{-}100^\circ\text{C}$; pH 6) dan sakarifikasi menggunakan β -amylase 3,2% v/w ($t = 4$ jam; $T = 60^\circ\text{C}$; pH 5) serta proses fermentasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* ($t = 120$ jam; pH 4,5). Kadar etanol tertinggi dihasilkan pada temperatur fermentasi 30°C dan berat yeast 15 g untuk bahan baku singkong, jagung dan iles-iles dengan kadar etanol maksimal yang diperoleh yaitu 83,43 g/L untuk singkong, 80,77 g/L untuk jagung, dan 79,94 g/L untuk iles-iles.

Kata kunci : bioetanol; singkong; iles-iles; jagung; *S. Cerevisiae*

How to Cite This Article: Kusmiyati dan Shitophyta, L.M., (2014), Produksi Bioetanol dari Bahan Baku Singkong, Jagung dan Iles-Iles : Pengaruh Suhu Fermentasi dan Berat Yeast *Saccharomyces Cerevisiae*, Reaktor, 15(2), 97-103
<http://dx.doi.org/10.14710/reaktor.15.2.97-103>

PENDAHULUAN

Sebagian besar kebutuhan energi di dunia berasal dari minyak bumi, batubara dan gas alam. Sumber energi dari fosil tersebut semakin habis dan

telah menyebabkan akumulasi karbon dioksida di atmosfer dan efek rumah kaca yang memicu terjadinya perubahan iklim. Hal ini mendorong pengembangan sumber energi yang terbarukan dan ramah lingkungan.

Penggunaan bahan bakar non fosil yang ramah lingkungan terus dikembangkan oleh berbagai negara di dunia yang bertujuan untuk meminimalkan efek rumah kaca dan penurunan sumber daya energi (Galbe dkk., 2005).

Bioetanol merupakan bahan bakar cair yang dapat diproduksi dari gula, karbohidrat, dan biomassa yang mengandung lignoselulosa (Demirbas dan Demirbas, 2007). Bioetanol dapat digunakan sebagai bahan bakar alternatif untuk transportasi, *liquid natural gas* (LNG), *compressed natural gas* (CNG), dan *liquefied petroleum gas* (LPG) (Balat dan Balat, 2009). Bioetanol dapat digunakan untuk bahan bakar campuran di mesin bensin karena memiliki angka oktan tinggi, mudah diuapkan, kecepatan nyala lebih tinggi dibanding bensin. Campuran bioetanol dan bensin paling populer dikenal sebagai E85 yang mengandung 85% bioetanol dan 15% bensin. Diantara negara yang sudah menggunakan bioetanol yaitu Brazil (menggunakan campuran 24% etanol dan 76% bensin). Di Amerika Serikat, bioetanol (10% volume) ditambahkan ke bensin, yang dikenal sebagai gasohol E10 (Balat dan Balat, 2009).

Diantara berbagai hasil pertanian yang telah digunakan untuk produksi bioetanol komersial yaitu jagung, tebu, gandum, kentang, molases (Pervez dkk., 2014). Bahan baku bioetanol dari karbohidrat yang sering digunakan antara lain singkong dan jagung. Hal ini dikarenakan singkong memiliki kandungan pati yang tinggi (Srinorakutara dkk., 2006) dan harga bahan baku singkong lebih murah dibandingkan dengan jenis bahan baku lainnya seperti sorgum dan molases (Rañola dkk., 2009). Sebaliknya, penggunaan jagung sebagai bahan baku bioetanol menimbulkan berbagai persoalan karena masih banyak masyarakat di dunia yang kekurangan nutrisi, sehingga perlu adanya pertimbangan lebih lanjut sebelum mengubah jagung menjadi etanol (Pimentel dan Patzek, 2005). Iles-iles dapat digunakan sebagai bahan baku bioetanol karena terdapat kandungan karbohidrat yang dapat dirubah menjadi gula berupa manosa dan glukosa (Sumarwoto, 2007).

Pengembangan produksi bioetanol yang efisien dari bahan baku pati-patiannya terus dilakukan diantaranya metode degradasi pati enzimatik secara ganda dengan jamur *Aspergillus fumigatus* pada pati singkong (Pervez dkk., 2014). *Saccharomyces cerevisiae* adalah enzim yang paling sering digunakan untuk produksi etanol. Noor dkk. (2012) menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* dari strain yang berbeda dari ragi roti dan kawasan industri untuk melihat pengaruhnya terhadap produksi bioetanol. Rath dkk. (2014) menggunakan campuran *cocultures Aspergillus niger* and *Saccharomyces cerevisiae* pada fermentasi limbah kentang menghasilkan bioetanol.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi suhu fermentasi dan komposisi *Saccharomyces cerevisiae* terhadap perbandingan

kadar bioetanol yang dihasilkan dari bahan baku iles-iles dibandingkan dengan singkong dan jagung.

METODE PENELITIAN

Persiapan Bahan Baku

Langkah pertama iles-iles dikupas kemudian dicuci dan dipotong dengan ukuran ± 5 cm dan tebal 0,1 cm. Selanjutnya potongan iles-iles dikeringkan dan digiling menjadi tepung. Bahan baku jagung dan singkong diperoleh di pasar Kleco, Solo dalam bentuk tepung.

Hidrolisis Enzim

Hidrolisis enzim dilakukan dalam dua tahap yaitu liquifikasi dan sarkarifikasi. Tahap liquifikasi dilakukan dengan melarutkan tepung dalam aquades dengan perbandingan 1:4 selanjutnya dikondisikan pada pH 6, ditambah α -amilase (Spectra Genencor USA) 1,6% v/w dengan suhu operasi 95-100°C selama 1 jam. Tahap selanjutnya, hasil hidrolisis enzim α -amylase dikondisikan pada pH 5, ditambah β -amylase (Spectra Genencor USA) 3,2% v/w, dipanaskan pada suhu 60°C selama 4 jam.

Fermentasi

Hasil hidrolisis dengan enzim β -amylase difermentasi selama 120 jam dengan pH 4,5. Untuk memperoleh kadar etanol optimal maka diamati berbagai variasi suhu fermentasi dan berat *Saccharomyces cerevisiae* dalam starter. 10% (v/v) starter ditambahkan dalam medium fermentasi.

Variasi Berat *Saccharomyces cerevisiae*

Variasi berat *Saccharomyces cerevisiae* yang digunakan adalah 2,5 g; 5 g; 10 g; 15 g dan 20 g pada starter. Pada tahap ini, dilakukan penambahan 0,2 g urea, 0,1 g DAP, untuk tiap sampel dengan pH 4,5.

Variasi Suhu Fermentasi

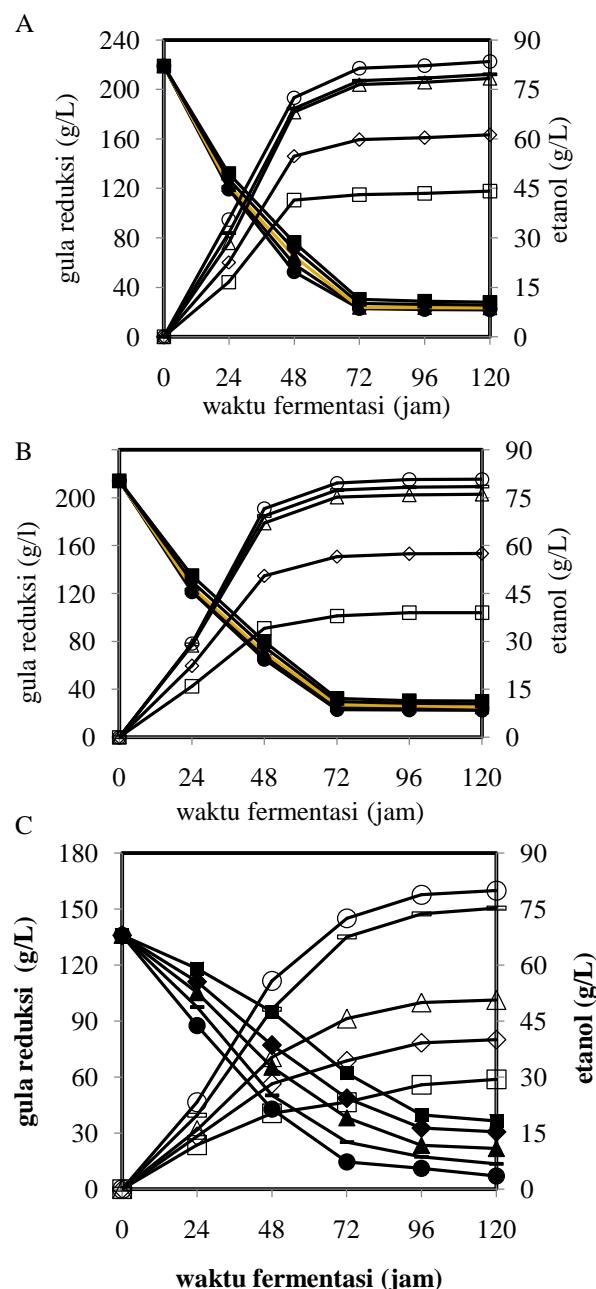
Variasi suhu fermentasi dilakukan pada suhu 30, 35, 40, 45, dan 50°C. Pada tahap ini dilakukan dengan penambahan 0,5 g DAP, 1 g urea pada starter untuk masing-masing sampel dan fermentasi pada pH 4,5.

Analisis

Kadar glukosa reduksi ditentukan menggunakan metode fotometri, dengan memasukkan sampel sebanyak 0,01 mL (10 mikron) ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan reagen warna glukosa 1000 mikron/mL. Proses berikutnya dilakukan inkubasi selama 10 menit pada *water bath* dengan suhu 37°C dan dilakukan pembacaan glukosa pada Spectrofotometer Boehringer 1040. Analisis kadar etanol yang dilakukan dengan GC (agilent 6890 N).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Suhu Fermentasi Terhadap Kadar Etanol dari Bahan Baku Singkong, Jagung dan Iles-Iles



Gambar 1. Pengaruh variasi suhu fermentasi terhadap kadar etanol [A] singkong, [B] jagung, [C] iles-iles dengan *S.cerevisiae* 15 g, pH 4,5 ; etanol [○]30°C;[▽]; 35°C; [△] 40°C; [◇] 45°C ; [□] 50°C . Gula reduksi [●] 30°C ; [■] 35°C; [▲] 40°C; [◆]45°C; [■■] 50°C .

Pada Gambar 1 terlihat bahwa semakin tinggi suhu fermentasi maka kadar etanol yang dihasilkan semakin rendah. Kadar etanol tertinggi pada singkong, jagung dan iles-iles diperoleh pada suhu 30°C dengan kadar etanol maksimal sebesar 83,43 g/L untuk singkong, 80,77 g/L untuk jagung, dan 79,94 g/L,

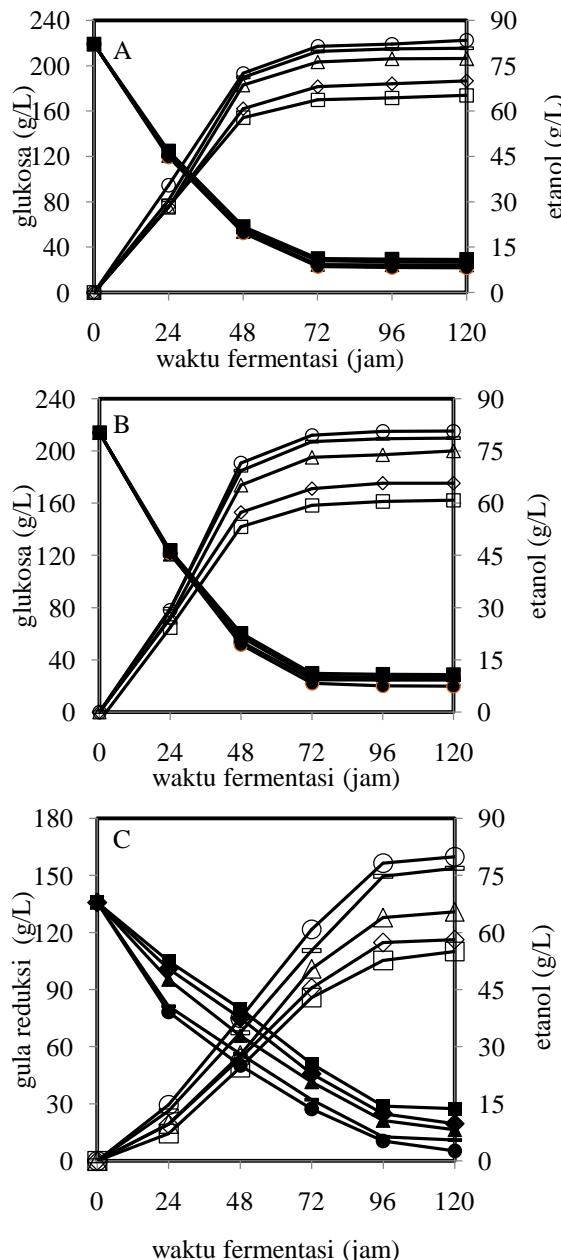
kemudian kadar etanol mulai berkurang pada temperatur 35°C, dan mengalami penurunan cukup drastis pada suhu 45°C baik untuk singkong, jagung maupun iles-iles. Pada temperatur 35°C, kadar etanol berturut-turut sebesar 78,37; 76,03; 75,27 g/L untuk singkong, jagung, iles-iles. Pada suhu 50°C, terlihat kadar etanol terendah berturut-turut sebesar 44,12; 38,95; 29,40 g/L untuk singkong, jagung dan iles-iles. Kadar etanol akan mengalami penurunan pada suhu yang semakin tinggi karena adanya denaturasi yeast (Periyasamy dkk., 2009). Hasil penelitian serupa pernah dilakukan oleh Afifi dkk. (2011) dengan variasi suhu fermentasi 20, 25, 30, 35, 40, 45, dan 50°C menggunakan bahan baku limbah kentang, dimana kadar etanol tertinggi terjadi pada temperatur 25°C, kemudian kadar etanol semakin berkurang pada temperatur yang semakin tinggi dan turun drastis pada temperatur 40 sampai 50°C. Sebaliknya dengan semakin meningkatnya kadar etanol kadar gula reduksi semakin kecil. Hal ini terlihat pada suhu 30°C kadar gula reduksi terendah dicapai berturut-turut 21,82; 25,15 dan 7,05 g/L untuk singkong, jagung dan iles-iles. Pengaruh waktu fermentasi menunjukkan semakin lama waktu fermentasi kadar etanol mengalami kenaikan tajam sampai waktu 96 menit kemudian konstan sampai 120 menit, sebaliknya gula reduksi mengalami penurunan yang tajam kemudian konstan.

Pengaruh Variasi Berat Yeast *Saccharomyces Cerevisiae* Terhadap Kadar Etanol dari Singkong, Jagung dan Iles-Iles

Pada Gambar 2 menunjukkan bahwa kadar etanol tertinggi pada bahan baku singkong, jagung, dan iles-iles diperoleh pada berat yeast dalam starter 15 g dengan kadar etanol maksimal sebesar 83,43 g/L untuk singkong, 80,77 g/L untuk jagung, dan 79,94 g/L untuk iles-iles, kemudian menurun pada berat yeast dalam starter 20 g; 10 g, 5 g, dan 2,5 g, dan penurunan secara drastis terjadi pada berat yeast 5 g dan 2,5 g. Pada berat yeast 2,5 g terlihat kadar etanol minimum berturut-turut 65,27; 60,91 dan 55,03 g/L untuk singkong, jagung, dan iles-iles. Semakin lama waktu fermentasi terlihat kenaikan etanol sebagai fungsi waktu yang diikuti dengan penurunan gula reduksi, kenaikan etanol yang tajam terjadi pada waktu sampai 96 jam kemudian hampir konstan sampai waktu 120 menit. Kadar gula reduksi minimum terjadi pada berat yeast pada starter 15 g yaitu 21,82; 20,03; 5,21 g/L untuk singkong, jagung dan iles-iles.

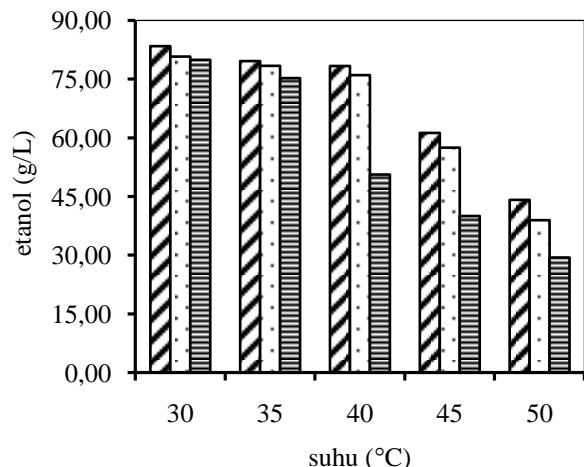
Penelitian serupa pernah dilakukan oleh Togarepi dkk. (2012) dengan variasi yeast 0,6; 1,8; 2,1; 2,7; 5; 8; dan 10 g menggunakan bahan baku *fruit pulp* (*Z.mauritiana* fruit) dimana kadar etanol maksimal diperoleh pada komposisi yeast 8 g, sebaliknya saat komposisi yeast lebih dari 8 g kadar etanol yang dihasilkan tidak mengalami peningkatan. Kadar etanol optimum diperoleh pada waktu fermentasi selama 120 jam. Kadar etanol akan

mengalami peningkatan seiring dengan semakin lamanya waktu fermentasi dan diikuti dengan menurunnya gula reduksi. Pengaruh konsentrasi inokulum (5, 10, 15 and 20%) telah diteliti pada substrat dari kentang (100 g/l), pH (6.0), waktu okulasi kultur (17 jam) dan pengadukan (120 rpm), waktu fermentasi 24, 36 dan 48 jam dimana dihasilkan etanol maksimal pada konsentrasi inokulan *S. cerevisiae* MTCC-170 10% hal ini disebabkan oleh perkembangan sel kultur yang sangat cepat (Kumar dkk., 2014; Duhan dkk., 2013).



Gambar 2. Pengaruh variasi berat yeast *Saccharomyces cerevisiae* terhadap kadar etanol [A] singkong, [B] jagung, [C] iles-iles pada suhu fermentasi 30°C, pH 4,5 ; etanol [□] 2,5 g ; [◇] 5 g ; [△] 10 g ; [○] 15 g ; [■] 20 . Gula reduksi [■] 2,5 g; [◆] 5 g; [▲] 10 g; [●] 15 g; [■] 20 g.

Pengaruh Bahan Baku Singkong, Jagung dan Iles-Iles dan Variasi Suhu Fermentasi Terhadap Kadar Etanol Maksimal



Gambar 3. Perbandingan kadar etanol maksimal dari singkong [], jagung [] dan iles-iles [] pada variasi suhu fermentasi

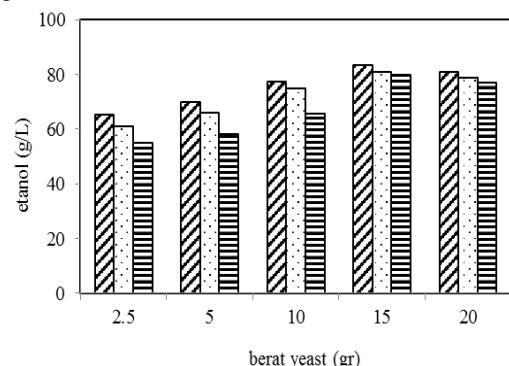
Pada Gambar 3 di atas terlihat bahwa kadar etanol tertinggi diperoleh pada suhu 30°C untuk bahan baku singkong, jagung, iles-iles. Penurunan kadar etanol terjadi pada suhu 35°C dan mengalami penurunan yang cukup drastis pada suhu 45°C. Kadar etanol terendah terjadi pada suhu 50°C.

Kadar etanol yang diperoleh dari bahan baku singkong lebih besar dibandingkan dengan jagung dan iles-iles pada suhu 30, 35, 40, 45 dan 50°C, dengan masing-masing kadar etanol sebesar 83,44; 79,62; 78,37; 61,25; dan 44,14 g/L untuk singkong. Kadar etanol 80,77; 78,41; 76,04; 57,49; dan 38,95 g/L untuk jagung, dan kadar etanol 79,94; 75,27; 50,62; 40,01; dan 29,40 g/L untuk iles-iles. Berdasarkan data di atas dapat dikatakan bahwa kadar etanol optimal diperoleh pada suhu 30°C untuk bahan baku singkong, jagung, dan iles-iles. Pengaruh temperatur fermentasi dengan *yeast S. cerevisiae* MTCC-170 (suhu 30, 35, 40°C) terhadap kadar etanol telah diteliti dimana hasilnya menunjukkan suhu optimum 35°C menghasilkan kadar etanol tertinggi 7,99 % (v/v) semakin tinggi suhu kadar etanol semakin rendah (Kumar dkk., 2014). Pengaruh temperatur (25, 28, 31, 34, 37, 40°C) pada fermentasi kentang menjadi bioetanol memperlihatkan bahwa temperatur optimum tercapai pada suhu 31°C (Azad dkk., 2014).

Pengaruh Bahan Baku (Singkong, Jagung, dan Iles-Iles) dan Variasi Berat Yeast *Saccharomyces cerevisiae* pada Starter pada Kadar Etanol Maksimal

Pada Gambar 4 terlihat bahwa baik pada singkong, jagung, dan iles-iles kadar etanol tertinggi diperoleh pada saat berat *Saccharomyces cerevisiae* sebesar 15 g, kemudian menurun pada berat yeast *Saccharomyces cerevisiae* 20, 10, 5 dan 2,5 g. Etanol yang dihasilkan pada bahan baku singkong lebih besar dibandingkan dengan bahan baku jagung dan iles-iles.

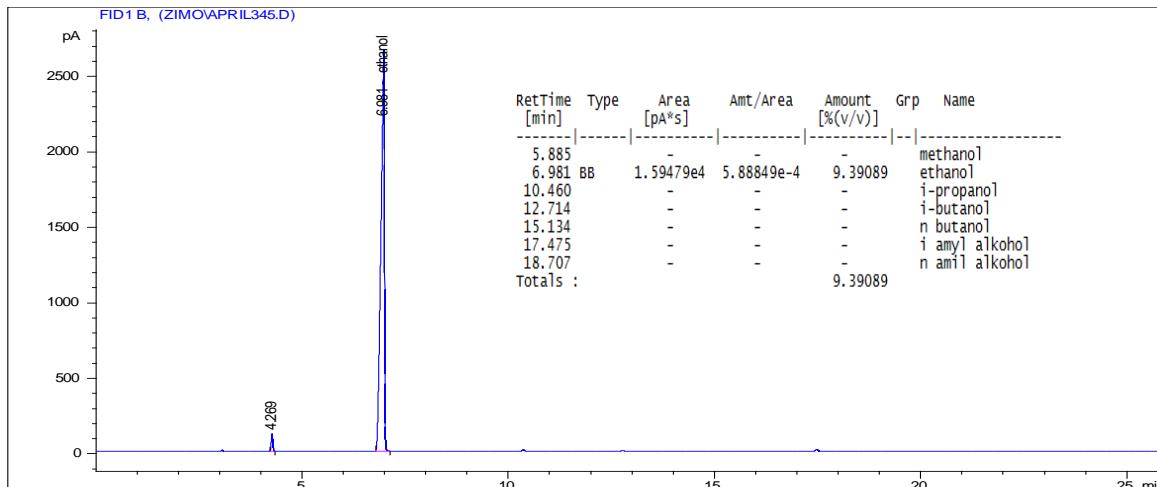
Pada berat *Saccharomyces cerevisiae* 15 g kadar etanol singkong sebesar 83,44 g/L sedangkan pada jagung sebesar 80,77 g/L, dan iles-iles sebesar 79,94 g/L.



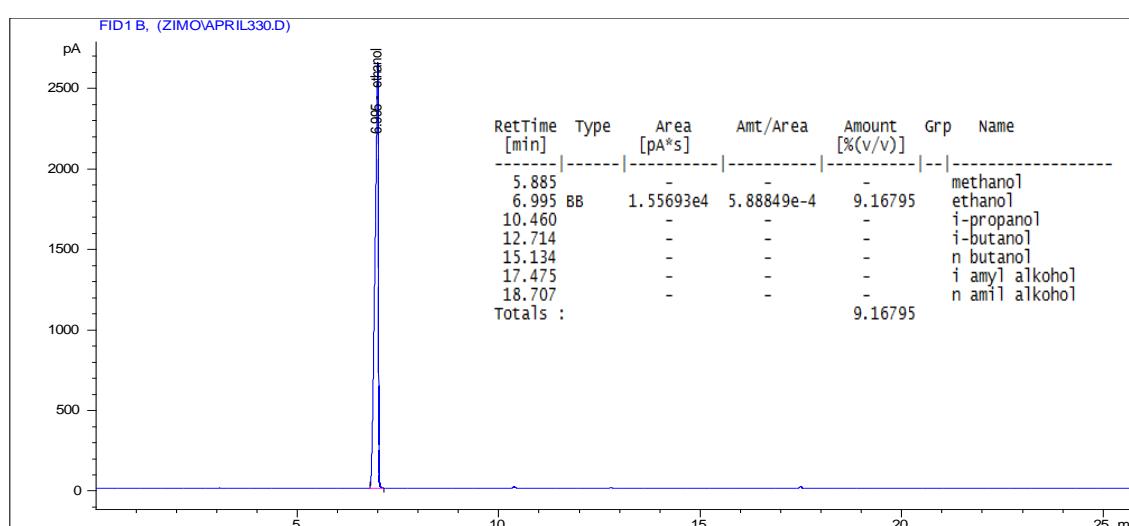
Gambar 4. Perbandingan kadar etanol maksimal dari singkong [■], jagung [□] dan iles-iles [▨] dengan variasi berat *yeast Saccharomyces cerevisiae*

Penurunan kadar etanol terlihat secara drastis pada saat berat *Saccharomyces cerevisiae* 5 dan 2,5 g baik pada singkong, jagung maupun iles-iles dengan kadar etanol yang dihasilkan masing-masing 70,04 g/L; 65,72 g/L untuk singkong, 65,75 g/L; 60,92 g/L untuk jagung, dan 58,14 g/L; 55,04 g/L untuk iles-iles. Dari hasil di atas dapat dikatakan bahwa kadar etanol optimal untuk bahan baku singkong, jagung, dan iles-iles diperoleh saat berat *yeast Saccharomyces cerevisiae* 15 g. Pengaruh konsentrasi *yeast* (5, 15, 20%) telah dipelajari oleh Ocloo dan Ayernor (2010) pada *cassava flour hydrolyzate* dimana etanol maksimal (8,31%) diperoleh pada konsentrasi *yeast* 20%.

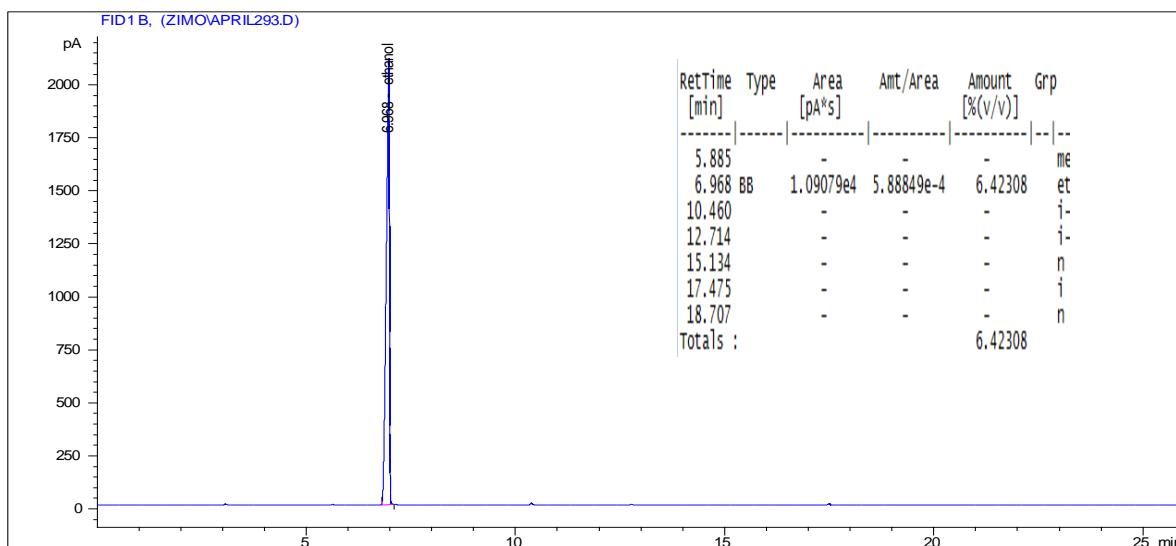
Berdasarkan analisis *Gas Chromatography* diperoleh kadar etanol dengan bahan baku singkong sebesar 9,39% (v/v) atau 83,44 g/L, bahan baku jagung sebesar 9,16% (v/v) atau 80,77 g/L dan kadar etanol iles-iles sebesar 6,42 % atau 76,91 (v/v)



Gambar 5. Hasil *Gas Chromatography* kadar etanol singkong



Gambar 6. Hasil *Gas Chromatography* kadar etanol jagung



Gambar 7. Hasil Gas Chromatography kadar etanol iles-iles

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa kadar etanol maksimal diperoleh pada suhu fermentasi 30°C dan berat yeast *Saccharomyces cerevisiae* 15 g dengan kadar etanol 83,44 g/L untuk singkong, 80,77 g/L untuk jagung, dan 79,94 g/L untuk iles-iles. Dari data hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin tinggi suhu fermentasi maka kadar etanol yang dihasilkan semakin rendah, sedangkan pengaruh berat yeast *Saccharomyces cerevisiae* terhadap kadar etanol yaitu semakin banyak berat yeast *Saccharomyces cerevisiae* maka kadar etanol yang dihasilkan juga semakin tinggi namun setelah mencapai berat yeast maksimal penambahan yeast selanjutnya tidak menaikkan kadar etanol.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada DP2M Dikti yang telah mendanai penelitian ini melalui program RAPID (Nomor kontrak 007/006.2/PP/SP/2012)

DAFTAR PUSTAKA

- Afifi, M.M., T.M., Abd El-Ghany, Al Abboud, A., Taha, T.M., and Ghaleb, K.E., (2011), Biorefinery of Industrial Potato Wastes to ethanol by Solid State Fermentation, *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 7(1), pp. 126-134.
- Azad, A.K., Yesmin, N., Sarker, S.K., Sattar, A., and Karim, R., (2014), Optimum Conditions for Bioethanol Production from Potato of Bangladesh, *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 5, pp.501-507.
- Ballat, M. and Balat, H., (2009), Recent trends in global production and utilization of bioe-ethanol fuel, *Applied Energy*, 86, pp. 2273-2282.
- Duhan, J.S., Kumar, A., and Tanwar, S.K., (2013), Bioethanol Production From Starchy Part Of Tuberous Plant (Potato) using *Saccharomyces cerevisiae* MTCC-170, *African Journal of Microbiology Research*, 7(46), pp. 5253-5260.
- Galbe, M., Liden, G., and Zacchi, G., (2005), Production of ethanol from biomass-Research in Sweden, *Journal of Scientific & Industrial Research*, 64, pp.905-919.
- Kumar, A., Duhan, J.S., Surekha, and Gahlawat, S.K., (2014), Production of Ethanol From Tuberous Plant (Sweet Potato) Using *Saccharomyces cerevisiae* MTCC-170, *African Journal of Bioethnology*, 13(28), pp. 2874-2883,
- Ocloo, F.C.K. and Ayernor, G.S., (2010), Production of Alcohol From Cassava Flour. *Hydrolysate Journal of Brewing and Distilling*, 1(2), pp.15-21.
- Demirbas, A.H. and Demirbas, I., (2007), Importance of Rural Bioenergy for Developing Countries Energy Conversion and Management, *Energy Conversion and Management*, 48, pp. 2386–2398.
- Noor, A.A., Hameed, A., and Dahot, M.U., (2012), Yeast Feed (II) For Enhanced Growth For Ethanol Production. *Sindh University Research Journal*, 44 (1), pp. 97-104.
- Periyasamy, S., Venkatachalam, S., and Ramasamy, S., (2009), Production of Bio-ethanol from Sugar Molasses Using *Saccharomyces Cerevisiae*, *Modern Applied Science*, 3(8), pp. 32-37.
- Pervez, S., Aman, A., Iqbal, S., Siddiqui, N.N and Qader, S.A., (2014), Saccharification and Liquefaction of Cassava Starch: An Alternative Source for the Production of Bioethanol Using Amylolytic Enzymes by Double Fermentation Process, *BMC Biotechnology*, 14(49), pp.1-10.

- Pimentel, D. and Patzek, T.W., (2005), Ethanol Production Using Corn, Switchgrass, and Wood, *Natural Resources Research*, 14(1), pp. 65-76.
- Rañola, R.F., Demafelis, R.B., Rosario, E.D., and Bataller, B.G., (2009), Enhancing the Viability of Casava Feedstock for Bioethanol in the Philippines, *J. ISSAAS*, 15(2), pp. 147-158.
- Rath, S., Singh, A.K., Masih, H., Kumar, Y., and Peter, J.K., and Mishra, P.S.S.K., (2014), Bioethanol Production From Waste Potatoes as an Environmental Waste Management and Sustainable Energy by Using Cocultures *Aspergillus niger* and *Saccharomyces cerevisiae*, *International Journal of Advanced Research*, 2(4), pp.553-563.
- Srinorakutara, T., Kaewvimol, L., and Saengow, L., (2006), Approach of Cassava Waste Pretreatments for Fuel Ethanol Production in Thailand, *J. Sci. Res.Chula. Univ*, 31(1), pp. 77-84.
- Sumarwoto, (2007), Review: Kandungan Mannan pada Tanaman Iles-iles (*Amorphophallus muelleri Blume.*), *Bioteknologi*, 4(1), pp. 28-32.
- Togarepi, E., Mapiye, C., Muchanyereyi, and Dzomba, P., (2012), Ethanol Production from *Ziziphus mauritiana* Fruit Pulp Using *Saccharomyces cerevisiae* (NA33), *International Journal of Biochemistry Research & Review*, 2(2), pp. 60-69.