

Pengaruh Ukuran Partikel dan Metode Hidrolisis pada Pembuatan Bioetanol dari Limbah Kulit Kopi Arabika

Anindita Dyah Palupi¹, Herry Purnama^{2*}

^{1,2}Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Muhammadiyah Surakarta
Jl. A. Yani Pabelan Kartasura, Surakarta, Indonesia 57162

*E-mail: hp269@ums.ac.id

Abstrak

Keywords:
Bioetanol;
Fermentasi;
Hidrolisis; Limbah
Kulit Kopi;
Zymomonas mobilis

Bioetanol merupakan bahan bakar alternatif dari sumber daya alam yang ramah lingkungan. Salah satu limbah pertanian di Indonesia yang jarang dimanfaatkan adalah limbah kulit kopi. Limbah kulit kopi memiliki potensi sebagai bahan baku pembuatan bioetanol karena mengandung selulosa. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh besar kecilnya ukuran bahan baku kulit kopi serta metode hidrolisis yang digunakan dalam pembuatan bioetanol. Variabel ukuran yang digunakan adalah 20, 40, dan 60 *mesh*. Sedangkan variabel metode hidrolisis yang digunakan adalah hidrolisis asam menggunakan HCl dan enzimatis menggunakan enzim α -amylase dan glucoamylase. Pada tahap fermentasi dilakukan pada suhu ruang selama 7 hari menggunakan *Zymomonas mobilis*. Cairan hasil fermentasi kemudian didistilasi. Distilasi dilakukan dua kali, yaitu distilasi sederhana dan distilasi ekstraktif menggunakan *solven* dietilen glikol. Hasil distilat diuji kadar etanolnya menggunakan *Gas Chromatography* (GC). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kulit kopi dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan bioetanol dengan proses hidrolisis dan fermentasi, dengan kondisi terbaik pada ukuran kulit kopi 60 *mesh*, metode hidrolisis enzimatis, dengan rendemen sebesar 24,90% dan kadar etanol mencapai 64,32%.

1. PENDAHULUAN

Energi merupakan salah satu kebutuhan makhluk hidup yang terus meningkat seiring dengan meningkatnya jumlah penduduk. Kebutuhan energi saat ini banyak disuplai oleh bahan bakar yang berasal dari fosil. Adanya isu lingkungan dan fakta akan terbatasnya sumber bahan bakar fosil yang berakibat pada krisis energi yang akan menyebabkan terganggunya pertumbuhan perekonomian dunia telah menstimulasi upaya penggunaan dan pengembangan bahan bakar yang *renewable* dan ramah lingkungan. Penggunaan *biofuel* di Indonesia dengan menggunakan bioetanol sebagai campuran bahan bakar premium

10% untuk transportasi terdapat dalam Perpres No. 5 tahun 2006 dan Inpres No. 1 tahun 2006 [1].

Bioetanol merupakan etanol yang berasal dari sumber biologis. Etanol diuraikan oleh bakteri menjadi karbondioksida dan air dan dapat diproduksi dari etena yang diperoleh dari penyulingan minyak fosil atau biomassa, sehingga menjadi bioetanol [2]. Salah satu limbah pertanian di Indonesia yang jarang dimanfaatkan adalah limbah tanaman kopi (kulit kopi). Kulit kopi adalah tanaman kopi yang telah diambil buahnya, sehingga tinggal kulitnya yang merupakan limbah pertanian terbesar serta belum sepenuhnya dimanfaatkan. Pada sebagian petani

menggunakan kulit kopi sebagai pakan ternak alternatif di musim kemarau ketika kesulitan mendapatkan pakan ternak [3]. Menurut Napolitano et al. (2007), kulit kopi mengandung 56,4 – 65,9 g/100g kandungan total *dietary fiber* untuk arabika, dan 53,4 – 69,2 g/100g untuk robusta [4]. Secara umum, serat *dietary* terdiri dari hemiselulosa, selulosa, lignin, oligosakarida, polisakarida, pektin, dan *waxes* [5].

Bahan lignoselulosa, terutama terdiri dari selulosa, hemiselulosa, dan lignin, perlu dihidrolisis menjadi gula monomer sebelum digunakan dengan memfermentasi mikroorganismenya. Langkah hidrolisis sebelumnya dapat dilakukan melalui asam atau katalis enzimatis [6].

Meskipun pada dasarnya fermentasi dapat langsung menggunakan enzim tetapi saat ini industri fermentasi masih memanfaatkan bakteri karena cara ini jauh lebih mudah dan murah. Bakteri yang dapat digunakan dalam proses fermentasi adalah seperti *Zymomonas mobilis*, yang merupakan bakteri gram negatif. Bakteri ini bersifat anaerob fakultatif dan merupakan organisme fermentatif yang memanfaatkan sukrosa, glukosa dan fruktosa dengan mengikuti jalur *Entner Doudoroff Pathway* untuk menghasilkan etanol [7]. *Zymomonas mobilis* mampu memproduksi etanol per mol glukosa yang difermentasi, hal ini menunjukkan toleransi etanol yang lebih tinggi, toleransi glukosa yang lebih tinggi dan fermentasi lebih cepat daripada *Saccharomyces Cerevisiae* [8]. Menurut Sprenger, 1996; Gunasekaran dan Raj, 1999; Glazer dan Nikaido, 2007, *Zymomonas mobilis* memiliki kelebihan dibandingkan *Saccharomyces cerevisiae*, diantaranya produktivitas etanol 3-5 kali lebih tinggi dengan yield etanol secara teoritis sebesar 97%, toleran terhadap kadar gula tinggi, dan waktu fermentasi yang lebih cepat karena konsumsi gula yang lebih cepat dibandingkan *Saccharomyces cereviceae* [9].

Sehubungan dengan hal tersebut, maka dilakukan penelitian pemanfaatan limbah kulit kopi sebagai substrat untuk produksi bioetanol. Diharapkan dengan

menggunakan *Zymomonas mobilis* untuk konversi gula menjadi etanol, dapat memperoleh hasil bioetanol dengan baik.

2. METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 01 September – 10 November 2019 di Laboratorium Teknik Kimia, Universitas Muhammadiyah Surakarta. Bahan yang digunakan adalah kulit kopi arabika, aquadest, enzim α -amylase, enzim *glucoamylase*, HCl, H₂SO₄, Glukosa, reagen Nelson, reagen *arsenomolybdate*, MgSO₄.7H₂O, (NH₄)₂SO₄, KH₂PO₄, Isolat *Zymomonas mobilis*, dan Dietilen Glikol. Alat yang digunakan adalah oven, blender, ayakan *mesh*, neraca analitik, desikator, seperangkat alat hidrolisis, spektrofotometer, *autoclave*, inkubator, fermentor, dan seperangkat alat distilasi.

Prosedur Penelitian yang dilakukan meliputi :

a. Persiapan Bahan Baku (*Pre-treatment*)

Membersihkan kulit kopi yang selanjutnya dimasukkan ke dalam oven pada suhu 100°C selama 2 jam. Kemudian kulit kopi dihancurkan dengan cara diblender hingga berbentuk serbuk dan diayak pada ayakan 20, 40, 60 *mesh* dan dianalisa kandungan air serta kadar selulosa menggunakan metode FTIR dan *Chesson*.

b. Proses Hidrolisis

Hidrolisis asam dilakukan dengan cara menimbang serbuk kulit kopi dan ditambahkan aquadest. Kemudian ditambahkan HCl 20%. Larutan kemudian dihidrolisis pada suhu 100°C selama 4 jam. Larutan selanjutnya disaring. Sedangkan untuk hidrolisis enzimatis dengan cara menimbang serbuk kulit kopi 50 gr dan ditambahkan aquadest. Kemudian ditambahkan aquadest dan enzim α -amilase 20 mL (hingga larutan 500 mL). Larutan dipanaskan pada suhu 95°C selama 1 jam dengan agitasi. Kemudian larutan ditambah dengan enzim *glukoamilase* 1 gr. Larutan dihidrolisis pada suhu 55°C selama 4 jam dengan agitasi. Larutan kemudian

disaring dan dianalisa kadar glukosa dengan metode *Nelson*.

c. Proses Fermentasi

Mengambil filtrat dari proses hidrolisis dan ditambahkan NaOH hingga pH 6 kemudian disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 120°C selama 15 menit. Selanjutnya, mendinginkan hingga suhu ruang. Memasukkan starter *Zymomonas mobilis* dan dikocok. Menutup botol fermentasi hingga rapat dan gas dialirkan ke dalam botol lain yang berisi air. Fermentasi dilakukan selama 7 hari pada suhu ruang.

d. Proses Distilasi

Filtrat hasil fermentasi dimasukkan ke dalam labu leher 3 dan dipasang pada rangkaian alat distilasi. Proses distilasi dilakukan dengan pemanasan pada suhu 80°C. Hasil distilasi akan menghasilkan *crude* bioetanol. *Crude* bioetanol kemudian ditambahkan dietilen glikol dan dilakukan proses distilasi ekstraktif sampai titik didih etanol.

e. Pengujian Bioetanol

Cairan hasil distilasi ditampung dan dianalisis rendemen dan kadar etanolnya dengan menggunakan GC

f. Analisis Kadar Selulosa Metode Chesson

Menimbang 1 gram serbuk kulit kopi (a) dan ditambahkan dengan 150 mL aquades kemudian dipanaskan di water batch pada temperatur 90-100°C selama 1 jam. Campuran di filter dan residu di cuci dengan air hangat 300 mL. Residu dikeringkan di oven dan timbang sampai berat konstan. Residu dicampur dengan 150 mL 1N H₂SO₄ dan dipanaskan di water batch pada temperatur 90-100°C selama 1 jam. Campuran di filter dan residu di cuci dengan aquades 300 mL lalu di oven, berat residu ditimbang sampai konstan (c). Residu kering direndam dengan H₂SO₄ 72% sebanyak 10 mL pada temperatur ruangan selama 4 jam. 150 mL 1 N H₂SO₄ ditambahkan pada campuran dan direfluks selama 1 jam. Residu dicuci dengan 400 mL aquades,

di oven pada temperatur 105°C dan ditimbang hingga konstan (d).

$$\% \text{ Kadar selulosa} = \frac{(c - d)}{a} \times 100\%$$

g. Analisis Kadar Glukosa Metode Nelson

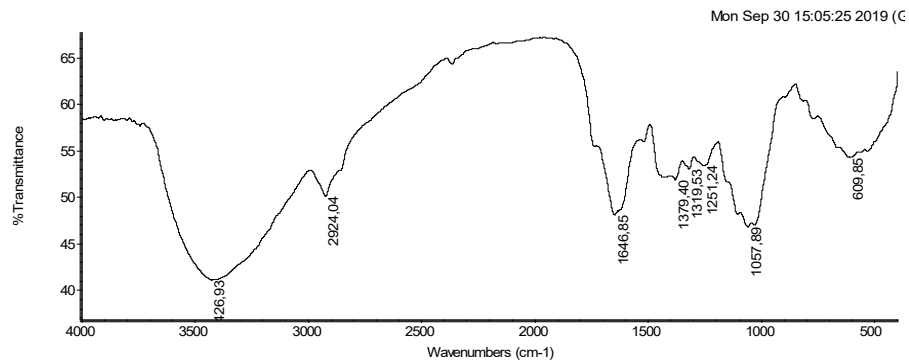
Memasukkan 1 mL sample glukosa murni ke dalam tabung reaksi, kemudian menambahkan 1 mL reagen Nelson (campuran Nelson A dan B dengan perbandingan 25 : 1). Setelah itu, memanaskan pada air mendidih selama 20 menit. Kemudian setelah larutan didinginkan, menambahkan 1 mL reagen *arsenomolybdate* dan 7 mL aquadest, kemudian dikocok dan menguji menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Bioetanol merupakan etanol yang diproduksi menggunakan biomassa, yang dapat dianggap sebagai bahan bakar masa depan yang berpotensi menggantikan bahan bakar fosil [10]. Berdasarkan hasil penelitian, yaitu pembuatan bioetanol dari limbah kulit kopi menggunakan variasi ukuran partikel bahan baku dan metode hidrolisis diperoleh data analisis kadar air kulit kopi, analisis selulosa, dan kadar glukosa. Produk bioetanol yang didapatkan kemudian dianalisis rendemen, dan kadar etanol.

Tabel 1. Analisis Selulosa Metode FTIR

Struktur	Literatur (cm ⁻¹) [11]	Serapan Hasil Uji (cm ⁻¹)
O - H	3600 - 3100	3426,93
C - H	2800 - 3000	2924,04
CH ₂	1410	-
C - C	1310 - 1360	1379,40
C - O	1200	1251,24
C - O	1170	-
C-OH	1110	-
C - O - C	1080	-
C - O	1030	1057,89
C - O	990	-
C = C	1620 & 1700	1646,85
C = O		



Collection time: Mon Sep 30 09:59:09 2019 (GMT+0)

Mon Sep 30 15:05:22 2019 (GMT+07:00)

FIND PEAKS:

Spectrum: *3083-1 (A) 2 Jam 60 Mesh

Region: 4000,00 400,00

Absolute Threshold: 67,822

Sensitivity: 55

Peak list:

Position: 3426,93 Intensity: 40,919

Position: 1057,89 Intensity: 46,691

Position: 1646,85 Intensity: 48,003

Position: 2924,04 Intensity: 50,004

Position: 1379,40 Intensity: 51,761

Position: 1319,53 Intensity: 52,967

Position: 1251,24 Intensity: 53,311

Position: 609,85 Intensity: 54,193

Gambar 1. Spektrum FTIR Kulit Kopi Arabika

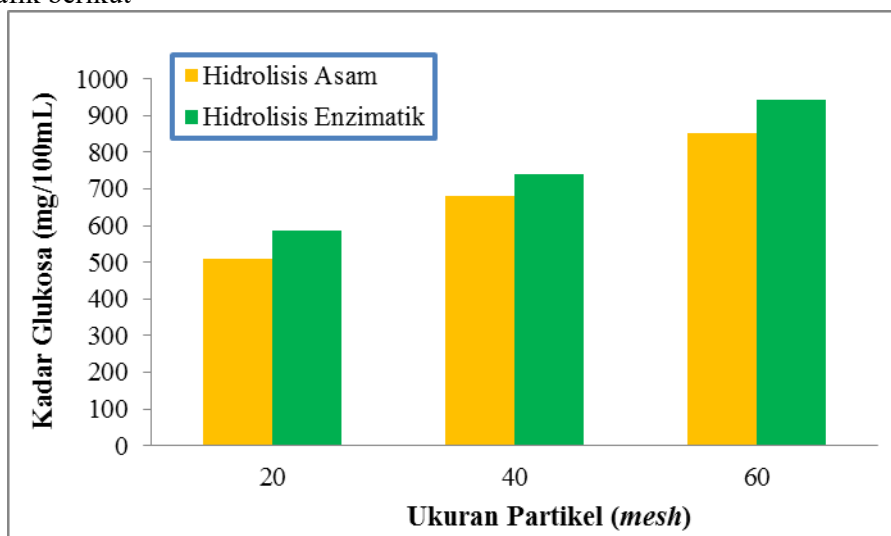
Tabel 2. Analisis Kadar Glukosa (mg/100mL)

Metode Hidrolisis	Ukuran Partikel (mesh)	Absorbansi	Kadar Glukosa (mg/100mL)
Enzim	60	3,770	942,64
	40	3,355	739,02
	20	3,042	585,45
Asam	60	3,586	852,36
	40	3,234	679,65
	20	2,890	510,87

Tabel 3. Analisis Rendemen dan Kadar Etanol dari Bioetanol (%)

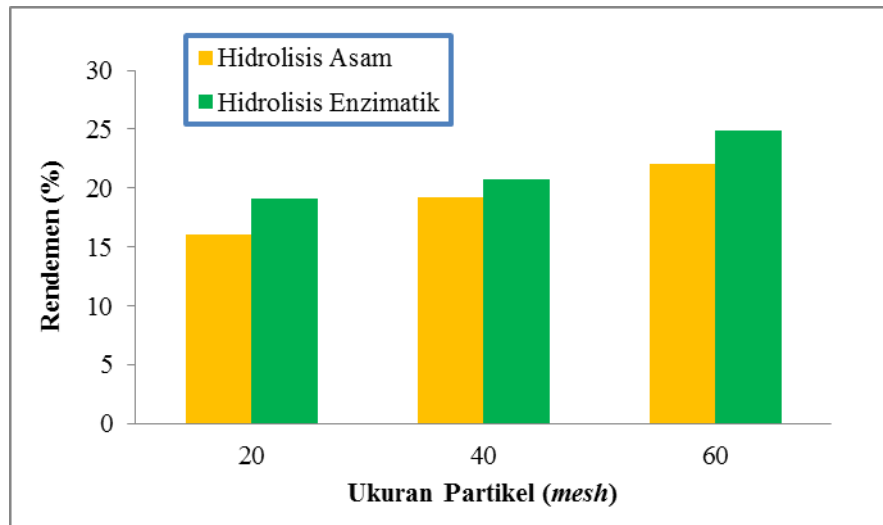
Metode Hidrolisis	Ukuran Partikel (mesh)	Rendemen (%)	Kadar Etanol (%)
Enzim	60	24,90	64,32
	40	20,72	57,45
	20	19,08	52,88
Asam	60	22,05	59,48
	40	19,23	55,67
	20	16,08	49,88

Hubungan antara ukuran partikel terhadap kadar glukosa yang dihasilkan ditunjukkan pada grafik berikut



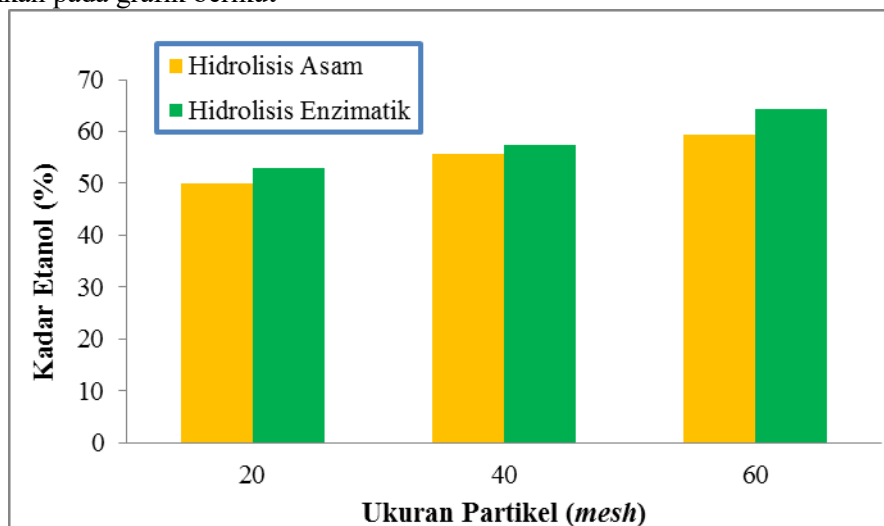
Gambar 2. Grafik Hubungan Ukuran Partikel Terhadap Kadar Glukosa

Hubungan antara ukuran partikel terhadap rendemen yang dihasilkan ditunjukkan pada grafik berikut



Gambar 3. Grafik Hubungan Ukuran Partikel Terhadap Rendemen

Sedangkan hubungan antara ukuran partikel terhadap kadar etanol yang dihasilkan ditunjukkan pada grafik berikut



Gambar 4. Grafik Hubungan Ukuran Partikel Terhadap Kadar Etanol

3.1 Penentuan Kadar Air dan Analisis Selulosa pada *Pretreatment* Kulit Kopi Arabika

Pembuatan bioetanol diawali dengan proses *pretreatment* bahan baku seperti pengeringan, analisis selulosa baik kualitatif dan kuantitatif, serta pengecilan ukuran. Proses pengeringan dilakukan pada oven dengan suhu 100°C selama 2 jam, guna mengurangi kadar air yang tersisa dalam bahan baku akibat proses pencucian, sehingga proses konversi menjadi glukosa akan lebih optimal. Kulit kopi yang telah melalui proses

pengeringan dan pengecilan ukuran, kemudian dianalisa selulosanya secara kualitatif dengan metode FTIR dan kuantitatif dengan metode *Chesson*. Bahan baku kulit kopi arabika yang digunakan mengandung kadar air sebesar 8,50%. Analisis kualitatif selulosa menggunakan metode FTIR dengan hasil seperti pada tabel 1 dan gambar 1, dimana menunjukkan bahwa kulit kopi arabika diyakini mempunyai komponen penyusun selulosa, terlihat pada hasil serapan ulur yang sebagian besar gugus fungsi mendekati bahkan masuk dalam rentang

serapan ulur literatur yang digunakan. Sesuai dengan pernyataan Kinney (2012), gugus fungsi C–H ialah kerangka selulosa yang tampak pada bilangan gelombang 2800 – 3000 cm^{-1} [12]. Selain itu, serapan ulur pada 3426,93 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus hidroksil (O–H) dari selulosa sebagaimana dilaporkan juga oleh Fatriasari (2016) dengan hasil serapan ulur gugus O–H pada 3467,97 cm^{-1} [13]. Analisis selulosa secara kuantitatif, dilakukan dengan metode *Chesson*, yang merupakan metode gravimetri setiap komponen setelah dihidrolisis atau dilarutkan. Kadar selulosa yang terkandung dalam bahan baku kulit kopi arabika menggunakan metode *Chesson* sebesar 38,51%.

3.2 Penentuan Kadar Glukosa Hasil Hidrolisis

Proses hidrolisis yang dilakukan adalah hidrolisis asam menggunakan HCl dan enzimatis menggunakan enzim α -*amylase* dan *glucoamylase*. Penggunaan kedua metode hidrolisis ini adalah untuk mengetahui kemampuan masing – masing metode dalam memecah selulosa menjadi glukosa terhadap bahan baku kulit kopi dengan perbedaan ukuran partikel. Untuk mengetahui perbedaan keduanya, dilakukan pengujian kadar glukosa hasil hidrolisis menggunakan metode *Nelson*. Berdasarkan data pada tabel 2 dan gambar 2 di atas, hidrolisis asam maupun enzimatis sama – sama mengalami peningkatan seiring dengan semakin besarnya *mesh* bahan baku. Hal tersebut dikarenakan apabila *mesh* semakin besar (semakin kecil ukuran), maka semakin besar luas permukaan kontak dengan larutan HCl maupun enzim yang digunakan sehingga gula pereduksi yang dihasilkan semakin banyak [14]. Kadar glukosa hasil hidrolisis juga dipengaruhi oleh metode yang dilakukan. Dari grafik di atas, hidrolisis secara enzimatis menunjukkan hasil lebih besar dibanding hidrolisis asam. Menurut Judoamidjojo (1989), hidrolisis asam terjadi secara acak, sedangkan hidrolisis dengan enzim reaksi hidrolisis yang terjadi dapat beragam, tingkat konversi lebih tinggi, dan reaksi yang spesifik [15]. Selain itu,

hidrolisis asam membutuhkan suhu operasi yang tinggi untuk memecah struktur kristalin selulosa. Suhu 100 – 150°C tidak akan memecah selulosa, tetapi hanya menghilangkan hemiselulosa sebagai gula terlarut sehingga perlu suhu yang lebih tinggi untuk menghidrolisis selulosa sisanya [16]. Proses hidrolisis lignoselulosa dengan asam encer pernah dicobakan pada proses *Scholler* dalam reaktor tangki berpengaduk dengan kondisi operasi konsentrasi asam sulfat 0,5%; tekanan 11-12 bar selama 45 menit. Hemiselulosa sebanyak 80% w/w dapat terhidrolisis pada suhu di bawah 200°C, tetapi konversi maksimal dicapai pada suhu di atas 220°C [17]. Hidrolisis enzimatis lebih efisien memecah selulosa pada suhu kamar tanpa menghasilkan limbah yang berbahaya [18].

3.3 Penentuan Rendemen dan Kadar Etanol dari Bioetanol

Rendemen dan kadar etanol ditentukan setelah melalui proses fermentasi dan distilasi. Distilasi yang dilakukan sebanyak dua kali, yaitu distilasi sederhana dan distilasi ekstraktif. Distilasi ekstraktif dilakukan dengan mencampurkan *solven* dimana titik didihnya tinggi dan tidak membentuk azeotrop dengan komponen umpan, tetapi dapat mengubah fase cair dan volatilitas relatif dari komponen kunci [19]. *Solven* yang digunakan adalah dietilen glikol, dimana bertugas untuk mengikat air yang terkandung dalam distilat hasil distilasi sederhana sehingga distilat yang dihasilkan pada distilasi ekstraktif ini adalah etanol yang mengandung sedikit kandungan air.

Kondisi yang menghasilkan rendemen paling tinggi adalah pada kondisi ukuran bahan baku kulit kopi sebesar 60 *mesh* yang dihidrolisis menggunakan metode enzimatis, yaitu sebesar 24,90%. Apabila dilihat pada tabel 3 dan gambar 3 di atas, baik metode hidrolisis asam maupun enzimatis, rendemen yang dihasilkan sama – sama meningkat seiring dengan kecilnya ukuran bahan baku. Namun, nilai rendemen yang diperoleh masih relatif kecil. Hal tersebut dapat dimungkinkan

karena bahan baku kulit kopi yang digunakan mengandung selulosa, namun tidak banyak mengandung karbohidrat. Bahan baku atau biomassa pembuat bioetanol akan memiliki nilai rendemen tinggi apabila biomassa tersebut berkarbohidrat tinggi. Selulosa dan hemiselulosa dapat dikonversi menjadi gula, namun prosesnya akan lebih sulit jika dibandingkan dengan pati [20].

Hasil akhir dari penelitian ini menghasilkan bioetanol dengan kenampakan jernih, terang, tidak ada endapan dan kotoran, yang kemudian dianalisa kadar etanolnya menggunakan *Gas Chromatography* (GC). Pengujian kadar etanol menggunakan GC menggunakan larutan standart berupa propanol yang digunakan sebagai pembanding ketika proses analisa GC. Dari tabel 3 dan gambar 4, kadar etanol menunjukkan peningkatan seiring dengan besarnya *mesh* yang digunakan, baik pada hidrolisis asam maupun secara enzimatik. Kadar etanol tertinggi sebesar 64,32% pada kondisi ukuran partikel bahan baku sebesar 60 *mesh* dengan hidrolisis metode enzimatik. Hal tersebut sejalan dengan hasil glukosa yang diperoleh setelah proses hidrolisis dan rendemen yang dihasilkan, dimana menunjukkan bahwa ukuran 60 *mesh* hidrolisis enzimatik memiliki kadar gula dan rendemen tertinggi dibandingkan kondisi yang lain. Hasil yang diperoleh dari penelitian ini lebih besar jika dibandingkan dengan yang pernah dilakukan oleh Luluk Edahwati dkk pada 2016, dimana kadar etanol yang diperoleh sebesar 38,78% dengan fermentasi menggunakan *Zymomonas mobilis* [21]. Penelitian bioetanol berbahan dasar kulit kopi juga dilakukan oleh Mussatto dkk pada 2012 dengan kadar etanol yang diperoleh sebesar 0,49 g/L h, namun dilakukan dengan fermentasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* [22].

4. KESIMPULAN

Bioetanol adalah salah satu bahan bakar alternatif yang terbuat dari biomassa, salah satunya adalah limbah kulit kopi. Berdasarkan hasil penelitian yang telah

dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa ukuran partikel bahan baku kulit kopi arabika serta metode hidrolisis yang berbeda dapat mempengaruhi bioetanol yang dihasilkan. Kondisi terbaik yang menghasilkan konversi (rendemen) dan kadar etanol tertinggi adalah ukuran kulit kopi 60 *mesh* yang dihidrolisis dengan metode enzimatik, dengan rendemen sebesar 24,90% dan kadar etanol mencapai 64,32%.

REFERENSI

- [1] Junaidi AB. Kajian Produksi Biodiesel dan Bioetanol. Banjarbaru; 2012.
- [2] Arshadi M, Grundberg H. Biochemical Production of Bioethanol. In: *Handbook of Biofuels Production: Processes and Technologies* [Internet]. 2nd ed. Hongkong: Woodhead Publishing Limited; 2010. p. 199–220. Available from: <http://dx.doi.org/10.1533/9780857090492.2.199>
- [3] Murni, Arifan F, Abidin Z. Optimasi Proses Bioetanol dari Kulit Kopi dengan Menggunakan Proses Hidrolisis Vibrous Bed Bioreaktor. *Traksi*. 2015;15(1):1–9.
- [4] Narita Y, Inouye K. Review on Utilization and Composition of Coffee Silverskin. *Food Res Int* [Internet]. 2014;61:16–22. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2014.01.023>
- [5] Harris PJ, Smith BG. Plant Cell Walls and Cell-Wall Polysaccharides: Structures, Properties and Uses in Food Products. *Int J Food Sci Technol*. 2006;41(SUPPL. 2):129–43.
- [6] Tomás-Pejó E, Alvira P, Ballesteros M, Negro MJ. Pretreatment Technologies for Lignocellulose-to-Bioethanol Conversion. In: *Biofuels: Alternative Feedstocks and Conversion Processes*. USA: Academic Press, Inc.; 2011. p. 149–76.
- [7] Baratti JC, Lockt JDBU, Chimie L De, Cedex M. *Zymomonas Mobilis*: a Bacterium for Ethanol Production. *Biotech*. 1986;4:95–115.
- [8] Carey VC, Ingram LO. Lipid composition of *Zymomonas mobilis*: Effects of

- ethanol and glucose. *Journal of Bacteriol.* 1983;154(3):1291–300.
- [9] Ernes A, Ratnawati L, Wardani AK, Kusnadi J. Optimasi Fermentasi Bagas Tebu oleh *Zymomonas mobilis* CP4 (NRRL B-14023) Untuk Produksi Bioetanol. *Agritech.* 2014;34(3):247–56.
- [10] Shah N, Rehan T. Bioethanol Production from Biomass Bioethanol Production from Biomass. *Journal Chem Biochem.* 2015;2(August):161–7.
- [11] Pastorova I, Botto RE, Arisz PW. Cellulose char structure: a combined analytical Py-GC-MS, FTIR, and NMR study. 1994;262:27–47.
- [12] Kinney TJ, Masiello CA, Dugan B, Hockaday WC, Dean MR, Zygourakis K, et al. Hydrologic properties of biochars produced at different temperatures. *Biomass and Bioenergy* [Internet]. 2012;41:34–43. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biombioe.2012.01.033>
- [13] Fatriasari W, Syafii W, Wistara N, Syamsu K, Prasetya B. Lignin and Cellulose Changes of Betung Bamboo (*Dendrocalamus asper*) Pretreated Microwave Heating. 2016;6(2):186–95.
- [14] Agustian H, Redjeki AS. Pengaruh Ukuran Partikel Pelepah Pisang dan Konsentrasi Katalis H₂SO₄ pada Proses Hidrolisa terhadap Konversi Selulosa menjadi Bioetanol. *KONVERSI.* 2014;3(2):2252–7311.
- [15] Nasrulloh. Hidrolisis Asam Dan Enzimatis Pati Ubi Jalar (*Ipomoea batatas L.*) Menjadi Glukosa Sebagai Substrat Fermentasi Etanol. Jakarta; 2009.
- [16] Grethlein HE. Comparison of the Economics of Acid and Enzymatic Hydrolysis of Newsprint. *Bioetchnology Bioeng.* 1978;XX:503–25.
- [17] Taherzadeh MJ, Niklasson C. Ethanol from Lignocellulosic Materials: Pretreatment, Acid and Enzymatic Hydrolyses, and Fermentation Pretreatment. In: *Lignocellulose Biodegradation.* American Chemical Society; 2004. p. 49–68.
- [18] Limousy L, Jeguirim M, Labaki M. Energy Applications of Coffee Processing by-Products. In: *Handbook of Coffee Processing By-Products: Sustainable Applications* [Internet]. Elsevier Inc.; 2017. p. 323–67. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-811290-8/00011-6>
- [19] Errico M, Rong B. Synthesis of New Separation Processes for Bioethanol Production by Extractive Distillation. *Sep Purif Technol* [Internet]. 2012;96:58–67. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.seppur.2012.05.022>
- [20] Rutz D, Janssen R. Biofuel Technology Handbook. 2nd Vers. Germany: WIP Renewable Energies; 2008. 40-71 p.
- [21] Luluk E, Suci D, Dyah N, Tri W, Ali A, Domas C, et al. Bioethanol Quality Improvement Of Coffee Fruit Leather. *BISSTECH.* 2016;01004:2015–7.
- [22] Mussatto SI, Machado EMS, Carneiro LM, Teixeira JA. Sugars Metabolism and Ethanol Production by Different Yeast Strains from Coffee Industry Wastes Hydrolysates. *Appl Energy* [Internet]. 2012;92:763–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apenergy.2011.08.020>