

Kajian awal fermentasi alkohol dengan variasi penambahan ammonium sulfat dan sukrosa dalam pembuatan vinegar nanas

Dwi Kameluh Agustina

Pendidikan Biologi, FKIP, Universitas Islam Balitar



Penulis koresponden

Dwi Kameluh Agustina,
Pendidikan Biologi, FKIP
Universitas Islam Balitar
Blitar

Email:
dkameluhagustina@gmail.com

Kata kunci:

Ammonium sulfat
Alkohol
Sukrosa
Vinegar

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hasil penambahan sukrosa dan ammonium sulfat dalam fermentasi alkohol sebagai tahap awal pembuatan vinegar nanas. Hal ini dilakukan dengan menentukan kadar alkohol yang dihasilkan oleh sari buah nanas dari varietas Quenn dan varietas Smooth Cayenne, oleh organisme *Saccharomyces cerevisiae* selama 12 hari dengan 3 kali pengulangan. Variasi ammonium sulfat yang ditambahkan adalah 0,1 gr, 0,2 gr, 0,3 gr, 0,4 gr, dan 0,5 gr, dengan sukrosa 5% (b/v), 10% (b/v), 15% (b/v), dan 20% (b/v). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada sari buah nanas varietas Quenn dengan penambahan 0,3 gram ammonium sulfat dan sukrosa 15% (b/v), didapatkan kadar alkohol tertinggi adalah 8,22% (b/v), sedangkan pada sari buah nanas varietas Smooth Cayenne kadar alkohol tertinggi adalah 6,91% (b/v).

Copyright © 2018 Universitas Muhammadiyah Malang

PENDAHULUAN

Banyak jenis tanaman yang dapat dimanfaatkan untuk jenis makanan tambahan salah satunya yaitu *adalah* Nanas. Nanas merupakan buah yang banyak digemari oleh masyarakat Indonesia, sehingga banyak dibudidayakan. Petani menjual buah nanas dalam bentuk segar dengan sangat melimpah pada saat panen raya. Hal tersebut memunculkan permasalahan yaitu harga nanas di pasaran rendah dan nanas banyak tidak terjual sehingga membusuk dikarenakan daya simpan berumur pendek. Permasalahan ini dapat merugikan petani, oleh karena itu diperlukan adanya pengolahan buah nanas sebagai produk samping dan bernilai jual yang

dapat meningkatkan pendapatan dan kesejahteraan petani.

Buah nanas dapat menghasilkan olahan makanan yang bernilai jual seperti selai nanas, keripik nanas, dan cuka nanas atau dengan nama lain *vinegar* nanas. Kata *vinegar* berasal dari bahasa Perancis, yaitu *vinaige*, yang artinya adalah anggur yang telah asam (Waluyo, 1984). Menurut Adams (1985) *vinegar* dapat digunakan sebagai bahan penimbul citarasa dan aroma pada makanan. Lee (1996) menambahkan bahwa vinegar dapat digunakan untuk pengawetan buah dan sayuran, dan digunakan sebagai bahan pengasam makanan ("acidulan").

Menurut Kunkee & Amerine (1970) produk fermentasi seperti *vinegar* mempunyai banyak keunggulan dibandingkan dengan asam cuka atau

asam asetat sintetik yaitu mempunyai senyawa-senyawa aseton, diasetil, etanol, dan beberapa macam ester asetat. Tjokroadikoesoemo (1993) menambahkan bahwa *vinegar* hasil fermentasi tidak mengandung zat yang berbahaya (logam berat), sebagaimana pada proses pembuatan asam asetat secara sintetis yang menggunakan logam berat sebagai katalis.

Produksi *vinegar* biasanya melibatkan fermentasi pertama di mana gula sederhana sebagai bahan baku diubah menjadi alkohol oleh khamir (Budak *et al.*, 2014). Fermentasi pertama tersebut adalah fermentasi alkohol yaitu proses biologi dalam mengubah bahan organik menjadi komponen sederhana (Lin dan Tanaka, 2005). Menurut Campbell (2002) proses fermentasi alkohol terdiri atas glikolisis dan reaksi yang menghasilkan NAD^+ melalui transfer elektron dari NADH ke piruvat. Piruvat dalam fermentasi alkohol dirubah menjadietanol (etil alkohol) dengan dua tahapan yaitu tahapan pertama pelepasan karbondioksida dari piruvat diubah menjadi asetaldehida berkarbon 2. Tahap kedua asetaldehida direduksi oleh NADH menjadi etanol.

Menurut Jhonprimen *et al.*, (2012), dalam keadaan anaerob pada fermentasi alkohol penguraian gula sederhana menjadi etanol dan CO_2 dihasilkan oleh khamir. Lin & Tanaka (2005) menambahkan bahwa mikroorganisme tersebut selama proses fermentasi memproduksi enzim untuk menghidrolisis substrat menjadi komponen sederhana (gula) selanjutnya mengubahnya menjadi etanol. Enzim yang dihasilkan oleh khamir adalah zimase, yang dapat mengubah gula menjadi etanol. Kerja enzim yang dihasilkan khamir spesifik pada gula artinya tidak semua karbohidrat dapat dikonversi menjadi etanol. Fermentasi alkohol yang terjadi pada disakarida seperti maltosa ataupun sukrosa ($\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_4$) dihidrolisis menjadi heksosa ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$) oleh enzim maltase ataupun invertase yang terdapat pada sel khamir. Heksosa yang dihasilkan diubah oleh enzim zimase menjadi etanol dan karbondioksida (Adams *et al.*, 1969).

Menurut Oura (1983), spesies khamir yang memiliki daya konversi gula menjadi etanol sangat tinggi adalah *Saccharomyces cerevisiae*. Khamir tersebut juga dikenal sebagai *baker's yeast* dengan metabolisme yang sudah dikenal dengan baik. *Saccharomyces cerevisiae* bersifat fakultatif anaerobik. Produk metaboit utama dari khamir tersebut adalah etanol, CO_2 dan air, sedangkan beberapa produk lain dihasilkan dalam jumlah sedikit. Media tumbuh *Saccharomyces cerevisiae* terdapat pada gula sederhana seperti glukosa, fruktosa dan mannose (Lin & Tanaka, 2005).

Saccharomyces cerevisiae membutuhkan nitrogen. Sumber N digunakan sebagai substrat pertumbuhan sel. Menurut Wang *et al.*, (2012) nitrogen mempunyai peranan yang sangat besar dalam penyusunan struktur sel dan fungsinya. Miranda *et al.*, (2012) menambahkan bahwa sumber nitrogen yang dapat digunakan untuk golongan yeast adalah amonium, asparagin, glutamin dan glutamat. Riani, *et al.*, (2015) berpendapat bahwa sumber nitrogen yang tersedia dengan konsentrasi yang tepat dalam media fermentasi diharapkan dapat mengoptimalkan alkohol yang dihasilkan oleh mikroorganisme.

Berdasarkan Paparan yang telah disampaikan Penambahan sukrosa sebagai sumber carbon dan ammonium sulfat sebagai sumber nitrogen dari mikroorganisme salah satunya yaitu khamir *Saccharomyces cerevisiae* dalam fermentasi alkohol, selain itu penambahan sukrosa dan ammonium sulfat dapat memengaruhi kadar alkohol yang dihasilkan. Kadar alkohol optimum yang dihasilkan akan digunakan dalam fermentasi asam asetat dalam proses menghasilkan *vinegar*. Berdasarkan hal tersebut dalam penelitian ini diperlukan kajian awal pada fermentasi alkohol dalam penambahan sukrosa dan ammonium sulfat dalam tahapan pembuatan *vinegar* nanas.

METODE PENELITIAN

Bahan kimia yang digunakan pada penelitian bermutu tinggi (pure analysis) buatan E. MerkDarmstadt dan Bacto, meliputi: pepton, ekstrak khamir, glukosa, agar-agar, CaCO₃, etanol, sukrosa, asam asetat glasial dan alkohol 70%, (NH₄)₂SO₄, KH₂PO₄, Mg₂SO₄, NaOH, HCl dan H₂SO₄.

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah nanas (kulit buah, bonggol dan daging buah sortiran) dengan 2 varietas nanas yang ditanam oleh petani Kecamatan Ngancar Kabupaten Kediri yaitu nanas varietas *Queen* dan nanas varietas *Smooth Cayenne*. Khamir yang digunakan adalah *Saccharomyces cereviceae* yang diperoleh dari Laboratorium Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Bahan analisis berupa Aquades, larutan NaOH 0,1 N, dan larutan pp 1%.

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini meliputi: autoklaf, oven, kompor, panci, erlenmeyer, tabung reaksi, cawan petri, timbangan, saringan, gelas ukur, stirrer magnetik, sentrifuge, lampu Bunsen dan seperangkat alat fermentasi anaerob.

Preparasi Media dan Inokulasi *Saccharomyces cerevisiae* (Bries, 2008)

Saccharomyces cerevisiae di *preculture* pada PGY 2%, agar (0,25 g), H₂O (50ml) dan diinkubasi selama 1-3 hari pada suhu 28°C, kemudian digunakan sebagai yeast pada proses SFS. *Saccharomyces cerevisiae* dari stock di-*preculture* pada 50 ml media (glukosa 10 g/l, yeast extract 1 g/l, KH₂PO₄ 0,1 g/l, MgSO₄·7H₂O 0,1 g/l, dan (NH₄)₂SO₄ 0,1g/l) dalam 200 ml erlenmeyer, kemudian diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam menggunakan orbital shaker dengan kecepatan 100 rpm.

Fermentasi Pembentukan Alkohol

500 gram buah nanas (bonggol, kulit dan daging buah sortiran) diblender dan diambil sarinya dengan cara disaring. Sari buah nanas diencerkan dengan aquadest sampai volume 1 L, kemudian dilakukan penambahan sukrosa pada

variasi 5% (b/v), 10% (b/v), 15% (b/v), dan 20% (b/v), dengan ammonium sulfat 0,33 gr, sedangkan pada variasi penambahan ammonium sulfat terdiri dari 0,1 gr, 0,2 gr, 0,3 gr, 0,4 gr, dan 0,5 gr menggunakan sukrosa 150 gr, dalam setiap perlakuan ammonium sulfat. untuk penambahan ammonium posphat ditetapkan 0,05 gram. pH larutan dipertahankan 4. Larutan dipanaskan pada suhu 75 °C selama 15 menit kemudian didinginkan hingga suhu 30 °C. Larutan dimasukkan ke dalam botol yang telah disterilkan dengan menambahkan starter yang telah berisi yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Botol ditutup rapat dengan tutup botol yang berisi selang yang dihubungkan ke botol lain yang berisi aquadest untuk jalan keluarnya CO₂. Fermentasi pembentukan alkohol ini dilakukan selama 12 hari dengan 3 kali pengulangan dalam setiap variasi penambahannya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar Alkohol pada Penambahan Amonium Sulfat

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rerata kadar alkohol dari variasi penambahan ammonium sulfat pada Nanas varietas *Queen* dan Nanas varietas *Smooth Cayenne* ditunjukkan pada Tabel 1.

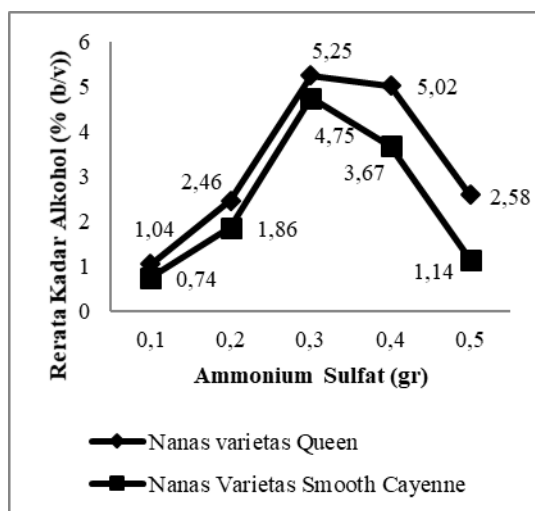
Tabel 1. Rerata kadar alkohol dari variasi penambahan ammonium sulfat pada nanas varietas *Queen* dan nanas varietas *Smooth Cayenne*

Konsentrasi Amonium Sulfat (gr)	Rerata Kadar Alkohol (%) (b/v))	
	Nanas varietas <i>Queen</i>	Nanas varietas <i>Smooth Cayenne</i>
0,1	1,04	0,74
0,2	2,46	1,86
0,3	5,25	4,75
0,4	5,02	3,67
0,5	2,58	1,14

Berdasarkan tabel 1 menunjukkan bahwa variasi penambahan ammonium sulfat sebagai sumber nitrogen pada proses fermentasi alkohol menghasilkan kadar alkohol yang beragam. Pada konsentrasi penambahan ammonium

sulfat 0,1 gr didapatkan rerata kadar alkohol Nanas varietas *Queen* sebesar 1,04% (b/v), sedangkan pada Nanas varietas *Smooth Cayenne* sebesar 0,74% (b/v). Konsentrasi ammonium sulfat 0,2 gr dengan rerata kadar alkohol Nanas varietas *Queen* sebesar 2,46% (b/v) dan pada Nanas varietas *Smooth Cayenne* sebesar 1,86% (b/v). Konsentrasi ammonium sulfat 0,3 gr dengan rerata kadar alkohol Nanas varietas *Queen* sebesar 5,25% (b/v) adapun Nanas varietas *Smooth Cayenne* sebesar 4,75% (b/v). Konsentrasi ammonium sulfat 0,4 gr didapatkan rerata kadar alkohol Nanas varietas *Queen* yaitu 5,02% (b/v), sedangkan pada Nanas varietas *Smooth Cayenne* yaitu 3,67% (b/v). Konsentrasi ammonium sulfat 0,5 gr didapatkan rerata kadar alkohol Nanas varietas *Queen* adalah 2,58% (b/v) dan pada Nanas varietas *Smooth Cayenne* sebesar 1,14% (b/v).

Ragam rerata dari kadar alkohol yang didapatkan dari penambahan ammonium sulfat pada Nanas varietas *Queen* dan Nanas varietas *Smooth Cayenne* ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Grafik rerata kadar alkohol yang dihasilkan dari penambahan ammonium sulfat pada nanas varietas *Queen* dan Nanas varietas *Smooth Cayenne*

Berdasarkan gambar 1 diketahui bahwa penambahan ammonium sulfat 0,1 gr yang dilakukan pada sari buah Nanas varietas *Queen* dan Nanas

varietas *Smooth Cayenne* adalah rerata kadar alkohol terendah yaitu Nanas varietas *Queen* sebesar 1,04% (b/v), sedangkan pada Nanas varietas *Smooth Cayenne* sebesar 0,74% (b/v). Hal tersebut disebabkan oleh sumber nitrogen yang dibutuhkan oleh mikroorganisme belum tercukupi sehingga perkembangbiakan sel mengalami keterhambatan dan mempengaruhi dalam produksi alkohol.

Konsentrasi ammonium sulfat 0,3 gr yang ditambahkan mendapatkan rerata kadar alkohol paling optimum sebagaimana yang ditunjukkan oleh gambar 1 rerata kadar alkohol yang dihasilkan adalah Nanas varietas *Queen* sebesar 5,25% (b/v) adapun Nanas varietas *Smooth Cayenne* sebesar 4,75% (b/v). Kondisi ini merupakan kondisi nutrisi terutama nitrogen untuk mikroorganisme tersedia dengan baik sehingga mikroorganisme dapat menghasilkan alkohol yang maksimal.

Menurut Arifwan *et. al.*, (2016), nutrisi pada kondisi media dikonsumsi secara baik oleh mikroorganisme yang menghasilkan zat-zat metabolik secara maksimal, ditambahkan oleh Widayanti *et. al.*, (2013). Konsentrasi ammonium sulfat yang ditambahkan sebesar 0,3 gr dapat meningkatkan rerata kadar alkohol karena ion ammonium dalam media meningkat. Ion ammonium tersebut digunakan dalam pembentukan dalam pertumbuhan sel yaitu asam amino, asam nukleat dan protein sel yang akan mengoptimalkan metabolisme.

Konsentrasi penambahan ammonium sulfat 0,4 gr dan 0,5 gr menghasilkan penurunan kadar alkohol hasil penurunan kadar alkohol ditunjukkan melalui grafik *line* pada gambar 1. Menurut Sholikhah, *et al.*, (2018), ammonium sulfat merupakan sumber nutrisi untuk mempercepat pertumbuhan mikroba. Konsentrasi ammonium sulfat yang tinggi menyebabkan laju perkembangbiakan mikroorganisme pada tahap awal fermentasi, sehingga pada saat kondisi media dalam keadaan aerobik mikroorganisme masih melakukan respirasi biasa dan belum

menghasilkan alkohol, selain itu mikroorganisme yang berkembang cepat pada awal fermentasi menyebabkan konsumsi gula semakin cepat yang akhirnya mikroorganisme memasuki kondisi anaerobik untuk menghasilkan alkohol, ketersediaan glukosa dalam media sudah mulai berkurang (Riani, *et al.*, 2015).

Kadar Alkohol pada Penambahan Sukrosa

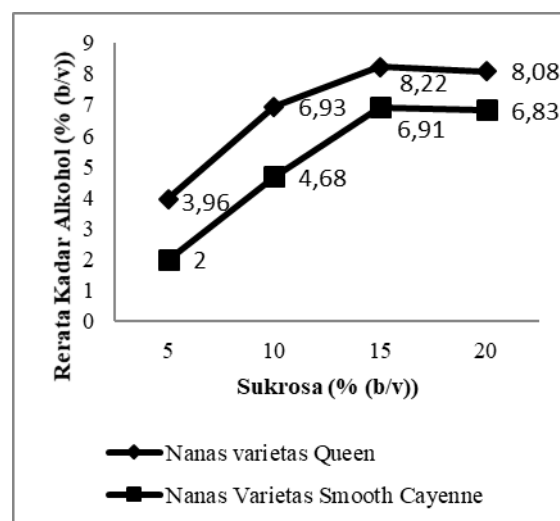
Hasil penelitian menunjukkan bahwa rerata kadar alkohol dari variasi penambahan sukrosa pada Nanas varietas *Queen* dan Nanas varietas *Smooth Cayenne* ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Rerata kadar alkohol dari variasi penambahan sukrosa pada nanas varietas *Queen* dan nanas varietas *Smooth Cayenne*

Konsentrasi Sukrosa % (b/v)	Rerata Kadar Alkohol (% (b/v))	
	Nanas varietas <i>Queen</i>	Nanas varietas <i>Smooth Cayenne</i>
5%	3,96	2,00
10%	6,93	4,68
15%	8,22	6,91
20%	8,08	6,83

Berdasarkan tabel 2 menunjukkan bahwa variasi penambahan sukrosa sebagai sumber karbon pada proses fermentasi alkohol menghasilkan kadar alkohol yang beragam. Pada konsentrasi penambahan sukrosa 5% didapatkan rerata kadar alkohol Nanas varietas *Queen* sebesar 3,96% (b/v), sedangkan pada Nanas varietas *Smooth Cayenne* sebesar 2,00% (b/v). Konsentrasi sukrosa 10% dengan rerata kadar alkohol Nanas varietas *Queen* sebesar 6,93% (b/v) dan pada Nanas varietas *Smooth Cayenne* sebesar 4,68% (b/v). Konsentrasi sukrosa 15% dengan rerata kadar alkohol Nanas varietas *Queen* sebesar 8,22% (b/v) adapun Nanas varietas *Smooth Cayenne* sebesar 6,91% (b/v). Konsentrasi sukrosa 20% didapatkan rerata kadar alkohol Nanas varietas *Queen* yaitu 8,08% (b/v), sedangkan pada Nanas varietas *Smooth Cayenne* yaitu 6,83% (b/v).

Ragam rerata dari kadar alkohol yang didapatkan dari penambahan sukrosa pada Nanas varietas *Queen* dan Nanas varietas *Smooth Cayenne* ditunjukkan pada Gambar 2. Berdasarkan gambar 2 diketahui bahwa penambahan sukrosa 5 % (b/v) yang dilakukan pada sari buah Nanas varietas *Queen* dan Nanas varietas *Smooth Cayenne* adalah rerata kadar alkohol terendah yaitu 3,96% (b/v) pada Nanas varietas *Queen*, sedangkan pada Nanas varietas *Smooth Cayenne* sebesar 2% (b/v). Menurut Ariyanto, *et al.*, (2013) konsentrasi sukrosa yang rendah menyebabkan pertumbuhan mikroorganisme penghasil alkohol lebih lambat, selain itu sumber karbon yang diperlukan mikroorganisme masih belum mencukupi dalam membuat alkohol.



Gambar 2. Grafik rerata kadar alkohol yang dihasilkan dari penambahan sukrosa pada nanas varietas *Queen* dan nanas varietas *Smooth Cayenne*

Konsentrasi sukrosa 10 % (b/v) yang ditambahkan berdasarkan gambar 2 mengalami peningkatan kadar alkohol dan mencapai kondisi optimum pada konsentrasi sukrosa 15% (b/v) dengan rerata kadar alkohol yang dihasilkan oleh Nanas varietas *Queen* adalah 8,22% (b/v) adapun Nanas varietas *Smooth Cayenne* sebesar 6,91% (b/v). Senyawa sukrosa yang digunakan oleh katabolis mikroorganisme pada konsentrasi tersebut banyak, sehingga semakin

besar senyawa disakarida yang dirombak menjadi monosakarida (glukosa). Aktivitas katabolis dilakukan oleh mikroorganisme dari fermentasi alkohol dengan proses enzimatik yang melibatkan enzim *invertase* dan *zimase*. Enzim yang berperan dalam proses pemecahan disakarida menjadi monosakarida adalah enzim *invertase* (Rochani, *et. al.*, 2015).

Enzim *invertase* yang dihasilkan oleh sel-sel ragi memecah sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa kemudian menjadi CO₂ dan alkohol. Abdillah *et al.*, (2014) menambahkan bahwa khamir dapat mengubah gula menjadi alkohol dan senyawa lain, sehingga dalam keadaan anaerobik, khamir lebih cenderung memfermentasi karbohidrat yang didapatkan dari sukrosa untuk menghasilkan alkohol. Tingginya kadar alkohol yang dihasilkan disebabkan oleh terpenuhinya kebutuhan nutrisi ragi oleh sukrosa sebagai gula untuk pembentukan alkohol (Priasty, *et. al.*, 2013).

Optimasi penambahan sukrosa yang didapatkan pada penelitian adalah 15% (b/v), hal ini ditunjukkan dengan produksi alkohol yang maksimal. Pada produksi alkohol dan mengkonversi substrat menjadi alkohol tanpa adanya inhibisi substrat. Inhibisi substrat mengakibatkan sel mengalami stress dan metabolisme pada mikroorganisme tersebut mengalami penurunan. Penambahan sukrosa yang tepat dapat memproduksi alkohol dengan kadar tinggi (Wardani, *et al.*, 2013). Fermentasi terus berlangsung karena masih ada sukrosa dan akan berhenti apabila sukrosa telah habis.

Sukrosa sebesar 20 % (b/v) yang ditambahkan pada media fermentasi alkohol menghasilkan penurunan kadar alkohol, sebagaimana yang ditunjukkan pada gambar 2. Penambahan sukrosa pada proses fermentasi meningkat sampai pada 15% (b/v) dan pada penambahan sukrosa 20% (b/v) menunjukkan penurunan kadar alkohol. Menurut Simanjuntak, *et. al.*, (2016) khamir yang digunakan mempunyai kapasitas produksi alkohol paling tinggi pada konsentrasi sukrosa optimum

tertentu. apabila terjadi konsentrasi sukrosa berlebih dapat menghambat aktivitas khamir.

Ariyanto, *et al.*, (2013) berpendapat bahwa semakin besar rasio glukosa substrat mengakibatkan tumbukan antar molekul-molekul reaktan dengan mikroba meningkat sehingga penyusupan molekul mikroba ke dalam substrat lebih sering terjadi. Wardani, *et al.*, (2013) menambahkan bahwa konsentrasi substrat yang semakin tinggi dapat meningkatkan tekanan osmotik sehingga mengganggu metabolisme di dalam sel dan efisiensi dari proses fermentasi. Putri, *et al.*, (2016) menambahkan bahwa kadar sukrosa yang tinggi mengakibatkan *osmotic shock* pada sel. Hal tersebut menyebabkan kerusakan pada dinding sel, sehingga pertumbuhan sel menjadi terhambat, dengan demikian sel tidak mampu memanfaatkan sukrosa di media secara optimal yang mengakibatkan alkohol tidak terbentuk. Kondisi tersebut menurut Putri, *et al.*, (2016) kadar sukrosa yang tidak terkonversi dikarenakan konsentrasi sukrosa yang berada di luar sel terlalu tinggi sehingga terjadilah perbedaan konsentrasi dan tekanan osmosis yang besar yang menyebabkan plasmolisis karena lingkungan dan cairan sel khamir tidak seimbang.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan pada sari buah nanas varietas *Quenn* dengan penambahan 0,3 gram ammonium sulfat dan sukrosa 15% (b/v), didapatkan kadar alcohol optimum tertinggi adalah 8,22% (b/v). Adapun pada sari buah nanas varietas *Smooth Cayenne* dengan penambahan 0,3 gram ammonium sulfat dan sukrosa 15% (b/v) kadar alcohol tertinggi adalah 6,91% (b/v).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Riset dan Pengembangan Kementerian Riset, Teknologi, Dan Perguruan Tinggi

Republik Indonesia sebagai pemberi hibah penelitian dosen Pemula. Dian Puspita Anggraini, S.Si., M.Si sebagai patner peneliti dan semua pihak yang telah membantu untuk terlaksananya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdillah, J., Widyawati, N., & Suprihati. (2014). Pengaruh dosis ragi dan penambahan gula terhadap kualitas gizi dan organoleptik tape biji gandum. *AGRIC*, 26 (1), 75-84.
- Adams, M.R. (1985). *Vinegar. In wood, B.J.B. (editor): Microbiology of fermented food, Volume 1*. New York: Elsevier Applied Science Publishers Ltd.
- Adams, R., Jhonson, R., Charles, F. & Wilcox, J.R. (1969). *Laboratory experiment in organic chemistry. fifth edition*. London: The Macmillan Company.
- Arifwan, Erwin, Kartika R. (2016). Pembuatan bioetanol dari singkong karet (*manihot glaziovii muell*) dengan hidrolisis enzimatik dan difermentasi menggunakan *saccharomyces cerevisiae*. *Jurnal Atomik*, 1 (1), 10-12.
- Budak, N. H., Elif, A., Atif C. S., Annel, K. G., & Zeynep B. G.S. (2014). Functional properties of vinegar. *Journal of Food Science*, 79(5), 757-764.
- Campbell, N.A., Jane, B.R. dan Lawrence, G.M. (2002). *Biologi, jilid 1*. Jakarta: Erlangga.
- Jhonprimen, H.S., A. Turnip, & M. H. Dahlan. (2012). Pengaruh massa ragi, jenis ragi dan waktu fermentasi pada bioetanol dari biji durian. *Jurnal Teknik Kimia*, 18(2): 43-51.
- Kunkee, R.E. & M.A. Amerine. (1970). Yeast technology: Yeasts in wine-making. In Rose. A.H and J.S. Harrison (editors). *The yeasts*. London: Academic Press.
- Lin, Y. dan Tanaka, S. (2005). Ethanol fermentation from biomass resource: current state and prospects. *Appl Microbiol Biotechnol*, 69, 627-642.
- Miranda M.J., Oliveira J. E., Batistote M., & Ernandes J.R. (2012). Evaluation of Brazilian ethanol production yeasts for maltose fermentation in media containing structurally complex nitrogen sources. *J Inst Brew*, 118, 82-88.
- Oura E. (1983). Reaction product of yeast fermentation. H. Dellweg (ed). *Biotechnology*. Volume III. New York: Academic Press.
- Putri, S. A., Restuhadi, F., & Rahmayuni. (2016). Hubungan antara kadar gula reduksi, jumlah sel mikroba dan etanol dalam produksi bioetanol dari fermentasi air kelapa dengan penambahan urea. *Jom FAPERTA*, 3(2), 1-8.
- Priasty, E. W., Hasanuddin, & Dewi, K.H. 2013. Kualitas asam cuka kelapa (*Cocos nucifera L.*) dengan Metode lambat (slow methods). *Jurnal Agroindustri*, 3(1), 1-13.
- Riani, Y. A., Chairul, Wisrayetti. (2015). Pengaruh konsentrasi ammonium sulfat dan waktu pada fermentasi pulp kakao menjadi bioetanol menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*. *JOM F TEKNIK*, 2(1), 1-5.
- Rochani, A., Yuniningsih, S., Ma'sum Z. (2015). Pengaruh konsentrasi gula larutan molases terhadap kadar etanol pada proses fermentasi. *Jurnal Reka Buana*, 1(1), 43-48.
- Simanjuntak, M., Karo-Karo, T., & Ginting, T. (2017). Pengaruh penambahan gula pasir dan lama fermentasi terhadap mutu minuman ferbeet (fermented beetroot). *Jurnal Rekayasa Pangan dan Pertanian*, 5(1), 96-101.
- Tjokroadikoesoemo, P.S. (1993). *HFS (High Fructose Syrup) dan industri ubi kayu lainnya*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Waluyo, S. (1984). *Beberapa aspek tentang pengolahan vinegar*. Dewaruci Press. Jakarta.
- Wang K., Mao Z., Zhang C., Zhang J., Zhang H., & Tang, L. (2012). Influence of nitrogen sources on ethanol fermentation in an integrated ethanol-methane fermentation system. *Bioresour Technol*, 120, 206-11.
- Wardani, A. K., Nurtyastuti, F., & Pertiwi, E. (2013). produksi etanol dari tetes tebu oleh *saccharomyces cerevisiae* pembentuk flok (NRRL - Y 265). *AGRITECH*, 3(2), 131-139.
- Widayanti, N. P., Rita, W. S., & Ciawi, Y. (2013). Pengaruh Konsentrasi Ammonium sulfat ((nh_4) 2so_4) sebagai sumber nitrogen terhadap produksi bioetanol berbahan baku *Glacilaria Sp.* *Jurnal Kimia*, 7(1), 1-10.