

FERMENTASI ETANOL DARI SARI BUAH JAMBU METE (*Anacardium occidentale* L)  
OLEH *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* FNCC 3015 MENGGUNAKAN  
AMONIUM SULFAT DAN UREA SEBAGAI SUMBER NITROGEN

*ETHANOL FERMENTATION FROM CASHEW JUICE (Anacardium occidentale L) BY  
SACCHAROMYCES CEREVISIAE FNCC 3015 USING AMMONIUM SULPHATE  
AND UREA AS NITROGEN SOURCES*

D.R.W.A. Hermawan<sup>1)</sup>, T. Utami<sup>2)</sup>, M. N. Cahyanto,<sup>2)</sup>

**ABSTRACT**

The use of ammonium sulphate and urea as cheap nitrogen sources for ethanol fermentation from cashew juice by *Saccharomyces cerevisiae* FNCC 3015 was studied. Ethanol fermentation was carried out in batch system at room temperature for 24 hours. Fermentation media consisted of cashew juice (13-15% w/v soluble carbohydrate), 0.1% MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, and ammonium sulphate or urea in the ranges of 0.25-2.0 g/l and 0.1-1.0 g/l respectively. The use of ammonium sulphate or urea increased the consumption of soluble carbohydrate and biomass production. Ethanol production slightly increased with the increase of added nitrogen sources up to 1.5 g/l ammonium sulphate or 0.4 g/l urea. Addition of ammonium sulphate or urea did not significantly increase ethanol yield. The maximum ethanol yield obtained was only 70% when referring to the theoretical yield. Ammonium sulphate and urea could not control pH media. The decrease of pH media during the ethanol fermentation contributed to the decrease in ethanol production.

**Keywords:** ethanol fermentation, nitrogen sources, cashew juice

**PENDAHULUAN**

Etanol merupakan senyawa kimia yang dapat digunakan sebagai pelarut, antiseptik, bahan dasar sintesis senyawa kimia seperti vinyl asetat, asam asetat dan asetaldehida, dan juga sebagai bahan bakar (Wayman dan Parekh, 1990). Semakin terbatasnya persediaan sumber energi minyak bumi, sedang penggunaannya yang semakin meningkat mendorong banyak negara seperti Amerika dan Brasilia untuk mengembangkan sumber energi alternatif melalui produksi etanol secara fermentasi. Kelebihan etanol sebagai bahan bakar adalah lebih bersih dari bensin dan dapat diproduksi dari sumber-sumber yang dapat diperbaharui.

Etanol dapat dihasilkan dari fermentasi bahan-bahan berpati seperti jagung, kentang dan ketela pohon (Margaritis dan Bajpai, 1982; Wei Cua, 1984; Ueda, 1985), bahan-bahan bergula seperti tetes, nira tebu atau cairan buah-buahan (Boontanjai, 1987, dan Osho, 1995) atau dari hasil samping seperti whey dan bahan-bahan

berselulosa (Vienne dan von Stockar, 1985; Enari dan Suihko, 1984; Wayman, dkk, 1992).

Buah jambu mete yang merupakan buah semu, mengandung karbohidrat 15,8% serta beberapa vitamin dan mineral berpotensi untuk digunakan sebagai bahan dasar fermentasi etanol. Di Indonesia, tanaman jambu mete terutama ditujukan untuk produksi biji mete yang mempunyai nilai ekspor yang baik (Saragih dan Haryadi, 1992). Buah jambu mete ini belum banyak dimanfaatkan karena rasanya sepet, gatal dan mudah rusak.

Sebagian besar gula dalam sari buah jambu mete dapat difermentasi menjadi etanol oleh galur-galur *Saccharomyces cerevisiae* dan galur FNCC 3015 merupakan salah satu galur yang potensial (Utami, dkk., 1997). Kemampuan mikroorganisme dalam melakukan fermentasi etanol dipengaruhi oleh berbagai faktor, salah satunya adalah ketersediaan nutrisi dalam media fermentasi. Selain sumber karbon, mikroorganisme juga memerlukan nitrogen untuk pertumbuhan dan produksi metabolit. Sumber nitrogen yang digunakan dapat berupa nitrogen anorganik seperti garam amonium dan garam nitrat (Kole, dkk., 1985, Enari dan Suihko, 1984, Lakshmi dan Polasa, 1991, Pandey, dkk., 1994). Nitrogen organik seperti urea (Sedha, dkk., 1984), corn steep liquor (Bajpai dan Margaritis, 1982, Pandey, dkk., 1994), ekstrak yeast dan hidrolisat protein juga sering digunakan sebagai sumber nitrogen. Albert, dkk., (1996) menggunakan kombinasi berbagai macam asam amino dan asam glutamat sebagai sumber nitrogen. Konsentrasi dan sumber nitrogen yang digunakan mempengaruhi pH medium, pertumbuhan, dan aktivitas metabolisme *S. cerevisiae* (Kole, dkk., 1985 dan Ziffer, 1986).

Pada penelitian terdahulu, fermentasi etanol dari sari buah jambu mete dengan ekstrak yeast sebagai sumber nitrogen, menghasilkan pertumbuhan sel yang baik, pH medium relatif stabil dan yield etanol sebesar 90,97% teoritis (Utami, dkk., 1997). Pada penelitian ini digunakan urea dan amonium sulfat dalam bentuk pupuk urea dan pupuk ZA sebagai sumber nitrogen yang murah dan dipelajari pengaruhnya pada fermentasi etanol dari sari buah jambu mete oleh *S. cerevisiae* FNCC 3015.

<sup>1)</sup> Alumni Jurusan Teknologi Pengolahan Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, UGM, Yogyakarta

<sup>2)</sup> Staf pengajar Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

## METODE PENELITIAN

### Bahan

Buah jambu mete (*Anacardium occidentale L*) diperoleh dari pasar Beringharjo, Yogyakarta, dipilih yang utuh, tidak luka dan tidak busuk. Bahan kimia untuk media fermentasi adalah  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  (BDH). Sebagai sumber nitrogen digunakan pupuk urea dan pupuk ZA (amonium sulfat) yang dibeli di toko pertanian, yang selanjutnya disebut sebagai urea dan amonium sulfat. Biakan murni *Saccharomyces cerevisiae* FNCC 3015 diperoleh dari Food and Nutrition Culture Collection (FNCC), Pusat Antar Universitas (PAU) Pangan dan Gizi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Biakan murni tersebut disimpan dalam media Malt Extract Agar miring pada suhu 4-8°C, dan dimudakan setiap dua minggu. Bahan-bahan kimia untuk analisis meliputi glukosa anhidrat, Pb asetat, Na oksalat, K Na tartarat, asam 3,5 dinitrosalisilat, phenol, Na bisulfit, NaOH, asam sulfat dan etanol diperoleh dari Sigma, BDH dan Merck.

### Penyiapan Sari Buah Jambu Mete

Buah jambu mete dikukus selama 5 menit, diparut dengan ekstruder (Sirman), diekstrak dengan pulper (Armfield), dan diperas menggunakan kain, kemudian cairannya dipisahkan dari padatan terlarutnya menggunakan cream separator (Armfield). Sari buah jambu mete selanjutnya dipekatkan menggunakan rotary evaporator (Buchii) pada suhu 60°C sampai kadar karbohidrat terlarutnya mencapai  $\pm 15\%$ . Sari buah jambu mete tersebut disimpan pada suhu beku (-20°C) sampai dengan digunakan. Analisis sari buah jambu mete meliputi kadar karbohidrat terlarut, N total (Mikro Kjeldahl), kadar P dan K (metoda AAS).

### Fermentasi Etanol

Komposisi media fermentasi terdiri dari sari buah jambu mete dengan kadar karbohidrat terlarut 13-15% (b/v),  $MgSO_4$  0,1% (b/v). Kadar gula dalam medium fermentasi dinyatakan sebagai karbohidrat terlarut karena kadar gula reduksi dalam sari buah jambu mete lebih rendah dari pada karbohidrat terlarut dan konsumsi karbohidrat terlarut juga lebih besar dari pada gula reduksinya (Utami, dkk., 1997). Sebagai sumber nitrogen digunakan pupuk urea (0,1 - 1,0 g/l) atau pupuk ZA (0,25-2,0 g/l). Konsentrasi urea dan amonium sulfat yang ditambahkan ke dalam media fermentasi tersebut didasarkan pada kandungan nitrogen pada masing-masing sumber nitrogen. pH awal media diatur pH 5 menggunakan NaOH. Sebagai pembanding digunakan media fermentasi tanpa tambahan sumber nitrogen. Sterilisasi media dilakukan pada suhu 121°C selama 10 menit (Hiramaya). Inokulum yang berumur 18 jam dimasukkan ke dalam media fermentasi dalam erlenmeyer 100 ml. Fermentasi

berlangsung dalam sistem batch pada suhu kamar dengan kondisi semi aerob, skala goyangan 5, selama 24 jam. Pada awal dan akhir fermentasi diukur kadar karbohidrat terlarut (Dubois, dkk., 1956), kadar etanol (AOAC, 1990) dan kadar biomasa berdasarkan berat kering sel (Vienne dan von Stockar, 1985) serta pHnya.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Analisis bahan dasar dan komposisi media fermentasi

Pedoman dalam formulasi media adalah imbangannya unsur-unsur dalam sel dan media. Berdasarkan persamaan stoichiometri fermentasi etanol, satu mol glukosa akan menghasilkan dua mol etanol, dua mol  $CO_2$  dan sel. *Saccharomyces cerevisiae* mengandung 8,5% nitrogen; 1,1% phosphor, dan 2,1 % kalium (Bu'lock dan Kristiansen, 1987; dan Chen dan Chiger, 1985). Fermentasi etanol dari sari buah jambu mete menggunakan ekstrak yeast sebagai sumber nitrogen memberikan yield biomasa sebesar 0,03 (Utami, dkk., 1997). Berdasarkan data tersebut, secara teoritis dalam satu liter media fermentasi yang mengandung 150 g gula akan menghasilkan 4,5 g sel yang mengandung 0,38 g N; 0,05 g P dan 0,09 g K. Bahan dasar yang digunakan dalam penelitian ini adalah sari buah jambu mete yang mengandung 150 g/l gula yang dinyatakan sebagai karbohidrat terlarut.

Kandungan N, P, dan K pada sari buah jambu mete sebelum dan sesudah dipekatkan dapat dilihat pada Tabel 1. Setelah dipekatkan ketiga unsur tersebut secara teoritis telah melebihi kebutuhan mikroorganisme. Namun nitrogen pada sari buah jambu mete ini merupakan nitrogen total sehingga meskipun kadarnya sudah melebihi kebutuhan, namun belum tentu nitrogen yang ada dalam sari buah jambu mete tersebut semuanya dalam bentuk yang dapat digunakan oleh mikroorganisme. Oleh karenanya ditambahkan sumber nitrogen berupa pupuk urea dan pupuk ZA dalam media fermentasinya. Variasi konsentrasi urea dan pupuk ZA yang ditambahkan didasarkan pada kandungan nitrogen pada masing-masing sumber nitrogen tersebut dan kebutuhan nitrogen minimum seandainya nitrogen dalam sari buah jambu mete tersebut tidak dapat digunakan oleh *S. cerevisiae* (Tabel. 2).

Table 1. Concentrations of natrium, phosphate, and potassium in cashew juice

	Concentration in the cashew juice (g/l)	
	Before concentration	After concentration
Nitrogen	0.30	0.75
Phosphate	0.08	0.21
Potassium	0.24	0.60

**Table 2. Concentration of nitrogen source added to fermentation media**

Nitrogen source	Urea or ammonium sulphate added (g/l)	Nitrogen concentration (g/l)
Urea (46 % N)	0.1	0.05
	0.2	0.09
	0.4	0.18
	0.6	0.28
	0.8	0.37
	1.0	0.46
Ammonium sulphate (20% N)	0.25	0.05
	0.50	0.10
	0.75	0.15
	1.00	0.20
	1.50	0.30
	2.00	0.40

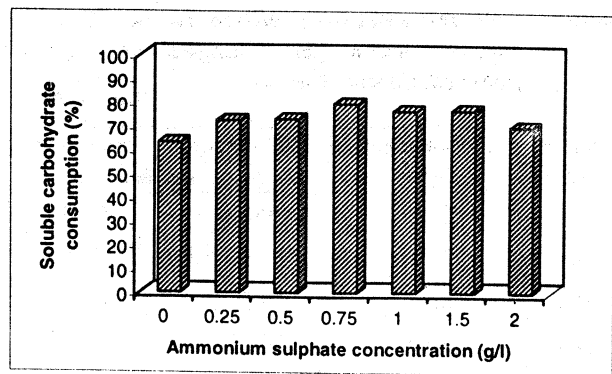
## B. Penggunaan Amonium Sulfat dan Urea sebagai sumber nitrogen pada fermentasi etanol

### Konsumsi karbohidrat terlarut

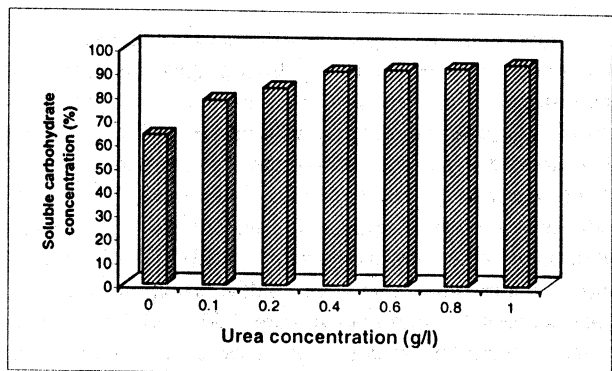
Kemampuan sel menggunakan sumber karbon yang tersedia ditunjukkan dengan persentase konsumsi karbohidrat terlarut yaitu perbandingan antara karbohidrat pada akhir dan awal fermentasi. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa tanpa adanya penambahan sumber nitrogen *S. cerevisiae* hanya mampu mengkonsumsi 60% dari karbohidrat terlarut yang tersedia dalam sari buah jambu mete. Banyaknya karbohidrat terlarut yang dapat dikonsumsi antara lain dipengaruhi oleh kesesuaian antara mikroorganisme dan sumber gula yang digunakan. Konsumsi karbohidrat terlarut pada fermentasi etanol dengan penambahan amonium sulfat dan urea menunjukkan pola yang berbeda. Pada Gambar 1 terlihat kenaikan konsumsi karbohidrat terlarut pada fermentasi etanol dengan naiknya konsentrasi amonium sulfat namun selanjutnya terjadi penurunan. Pengaruh urea terhadap konsumsi karbohidrat terlarut nampak lebih besar dari pada amonium sulfat (Gambar 2). Konsumsi karbohidrat terlarut meningkat dengan meningkatnya kadar urea dalam media sampai konsentrasi urea 0,4 g/l dan selanjutnya relatif tetap. Karbohidrat terlarut yang dapat dikonsumsi mencapai 90%.

### Produksi biomasa, produksi etanol dan perubahan pH media

Pada Tabel 3 dan 4 terlihat bahwa penambahan amonium sulfat dan urea mempengaruhi produksi sel, produksi etanol dan pH media. Semakin besar kadar amonium sulfat atau urea yang ditambahkan, produksi sel cenderung meningkat. Produksi sel meningkat 1,5 kalinya mulai dengan penambahan 1,5 g/l amonium sulfat atau 0,4 g/l urea.



**Figure 1. Soluble carbohydrate consumption during ethanol fermentation in cashew juice at various ammonium sulphate concentrations**



**Figure 2. Soluble carbohydrate consumption during ethanol fermentation in cashew juice at various urea concentrations**

Peningkatan konsentrasi amonium sulfat akan meningkatkan ion amonium dalam media. Urea juga akan didegradasi oleh *S. cerevisiae* menjadi amonia dan CO<sub>2</sub> (Cooper dan Sumrada, 1975). Selanjutnya ion amonium digunakan dalam pembentukan asam amino, asam nukleat dan protein sel (Egbosimba dan Slaughter, 1987). Hasil penelitian yang dilakukan Sedha, dkk., (1984) menunjukkan bahwa penambahan urea meningkatkan jumlah sel yang hidup.

**Table 3. Cell and ethanol productions and fermentation media pH changed at various concentrations of ammonium sulphate**

Amonium sulphate (g/l)	Cell production (g/l)	Ethanol production (g/l)	The decreased of pH
0	2.43	20.12	0.33
0.25	2.44	21.20	0.40
0.50	3.12	21.75	0.58
0.75	3.42	23.09	0.63
1.00	3.44	23.83	0.68
1.50	3.63	24.36	0.70
2.00	3.86	21.37	0.68

**Table 4. Cell and ethanol productions and fermentation media pH changed at various concentrations of urea**

Urea (g/l)	Produksi sel (g/l)	Produksi etanol (g/l)	Penurunan pH media
0	2.43	20.12	0.33
0.1	2.38	23.85	0.45
0.2	2.92	25.24	0.48
0.4	3.85	28.67	0.63
0.6	3.99	26.80	0.60
0.8	3.82	24.97	0.60
1.0	3.92	25.07	0.68

Produksi etanol juga mengalami peningkatan dengan penambahan kedua sumber nitrogen tersebut meskipun pengaruhnya tidak sebesar pada produksi sel. Produksi etanol meningkat sampai kadar amonium sulfat 1,5 g/l dan kadar urea 0,4 g/l, dan selanjutnya cenderung menurun. Hal ini nampak berkaitan dengan pH media fermentasi cenderung menurun selama fermentasi 24 jam dengan bertambahnya konsentrasi amonium sulfat maupun urea. Tanpa penambahan amonium sulfat maupun urea, pH media hanya mengalami penurunan 0,33 setelah fermentasi 24 jam. Semakin banyak ion amonium dalam media menyebabkan pH media menurun. Penurunan pH media dapat menghambat proses fermentasi (Ziffer, 1986). Penurunan produksi etanol juga terjadi pada fermentasi etanol oleh *Kluyveromyces marxianus* pada pH media 5,63 (Vienne dan von Stockar, 1985). Nilai pH yang tinggi dapat menyebabkan perubahan ke arah produksi gliserol. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa amonium sulfat dan urea tidak dapat menjaga pH media fermentasi, sehingga meskipun produksi selnya meningkat namun produksi etanolnya menurun. Hal ini berbeda pada penggunaan 0,1% ekstrak yeast pada fermentasi sari buah jambu mete tidak menunjukkan perubahan pH yang berarti selama fermentasi 24 jam (Utami, dkk., 1997).

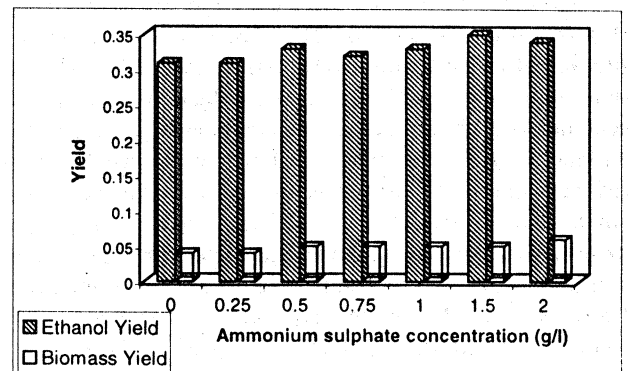
#### Yield biomasa dan yield etanol

Dalam fermentasi etanol, *S. cerevisiae* mengkonsumsi substrat terutama untuk pembentukan biomasa dan etanol. Efisiensi penggunaan substrat untuk pembentukan biomasa dan etanol dinyatakan dalam yield biomasa dan yield etanol. Pada Gambar 3. dan 4 terlihat bahwa penambahan amonium sulfat dan urea tidak mempengaruhi yield biomasa meskipun produksi biomasanya meningkat. Kenaikan kadar amonium sulfat dan urea dalam media fermentasi meningkatkan produksi sel dan juga konsumsi karbohidrat terlarutnya sehingga meskipun produksi selnya meningkat, namun yield biomasanya tidak banyak berubah.

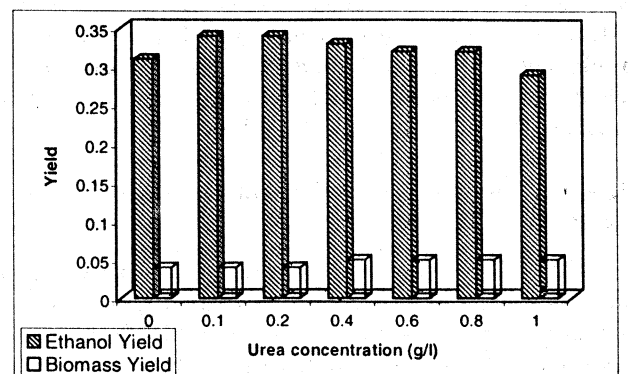
Yield etanol tidak menunjukkan peningkatan yang berarti dengan naiknya kadar amonium sulfat. Penambahan urea hanya sedikit menaikkan yield etanol sampai dengan

konstraksi 0,2 g/l, namun selanjutnya cenderung menurun. Berarti efisiensi penggunaan substrat untuk pembentukan etanol menurun dengan naiknya kadar urea. Tampaknya urea lebih berperan pada peningkatan konsumsi substrat dan produksi sel. Disamping itu pH media yang cenderung menurun juga memberikan kontribusi menurunnya efisiensi penggunaan substrat untuk produksi etanol.

Kemampuan mikroorganisme dalam menghasilkan etanol dalam satuan waktu tertentu dinyatakan sebagai produktivitas etanol spesifik. Pada Tabel 5 terlihat bahwa penambahan amonium sulfat dan urea mempengaruhi produktivitas etanol spesifiknya. Penambahan amonium sulfat lebih dari 0,25 g/l cenderung menurunkan produktivitas etanolnya. Hal ini disebabkan karena peningkatan produksi biomasa pada penambahan amonium sulfat tidak sejalan dengan kenaikan produksi etanol. Amonium sulfat sebagai sumber nitrogen cenderung digunakan untuk pembentukan biomasa. Semakin tinggi kadar urea yang ditambahkan, semakin rendah produktivitas etanol spesifiknya, bahkan pada kadar urea lebih dari 0,4 g/l, produktivitas etanol spesifik lebih rendah dari pada fermentasi tanpa penambahan sumber nitrogen.



**Figure 3. Effect of ammonium sulphate concentration on ethanol yield and biomass yield**



**Figure 4. Effect of urea concentration on ethanol yield and biomass yield**

**Table 5. Specific ethanol productivity in ethanol fermentation using cashew juice at various nitrogen source concentration**

Ammonium sulphate (g/l)	Specific ethanol productivity (g ethanol/g biomass/ 24 h)	Urea (g/l)	Specific ethanol productivity (g ethanol/g biomass/ 24 h)
0	8,40	0	8.40
0.25	8,88	0.1	10.08
0.50	6.96	0.2	8.64
0.75	6.72	0.4	7.44
1.00	6.96	0.6	6.72
1.50	6.72	0.8	6.72
2.00	5.52	1.0	6.72

Pada penambahan amonium sulfat, produksi etanol tertinggi diperoleh pada media fermentasi yang mengandung amonium sulfat 1,5 g/l yaitu 24,36 g/l dengan yield etanol 0,35. Sedangkan penambahan urea 0,4 g/l juga memberikan hasil tertinggi yaitu 28,67 g/l etanol dengan yield etanol 0,33. Namun yield etanol yang dihasilkan tersebut hanya sekitar 70% dari yield etanol teoritis. Penggunaan 1,0 g/l ekstrak yeast sebagai sumber nitrogen pada fermentasi etanol dari sari buah jambu mete dapat menghasilkan 62,49 g/l etanol dengan yield etanol 90% dari teoritis (Utami, dkk., 1997). Ekstrak yeast merupakan senyawa kompleks yang mengandung berbagai asam amino dan juga karbohidrat dan senyawa lain yang diperlukan oleh mikroorganisme (Crueger dan Crueger, 1989). Penggunaan asam amino juga dapat menurunkan produksi gliserol dan meningkatkan produksi etanol. Disamping itu adanya asam amino sebagai sumber nitrogen juga dapat memperpendek waktu fermentasi, jika dibandingkan dengan penggunaan amonium sulfat (Albert, dkk., 1990). Oleh karenanya dengan waktu fermentasi yang sama, maka penggunaan ekstrak yeast akan menghasilkan etanol yang lebih tinggi.

## KESIMPULAN

Penambahan amonium sulfat dan urea dalam fermentasi etanol dari sari buah jambu mete oleh *S. cerevisiae* meningkatkan konsumsi karbohidrat terlarut, dan produksi biomasanya, namun tidak mempengaruhi yield biomasa. Terjadi sedikit kenaikan produksi etanol pada penambahan amonium sulfat dan urea masing-masing sampai dengan konsentrasi 1,5 g/l dan 0,4 g/l, namun tidak terjadi kenaikan yield etanol yang nyata. Penambahan amonium sulfat 1,5 g/l menghasilkan 24,36 g/l etanol dengan yield etanol 0,35, sedang penambahan urea 0,4 g/l menghasilkan 28,67 g/l etanol dengan yield etanol 0,33. Yield etanol yang dihasilkan tersebut hanya sekitar 70 % dari yield etanol teoritis. Amonium sulfat dan urea sebagai sumber nitrogen tidak dapat menjaga pH media dan cenderung menyebabkan penurunan pH selama fermentasi. Hal ini berpengaruh terhadap produksi etanolnya.

## DAFTAR PUSTAKA

- Albert, E., Larsson, C., Liden, G., Niklasson, C., Gustafsson, L., 1996. Influence of the nitrogen source on *Saccharomyces cerevisiae*, anaerobic growth and product formation. *J. Applied and Env. Microb.* 62:3187-3195.
- Boontanjai, C., 1987. Continuous fermentation of cane molasses to ethanol using tower fermenter. *Annual reports of IC Biotech.* 10:16-23
- Bu'lock, J., dan Kristiansen, B., 1987. Basic Biotechnology. Academic Press. Toronto
- Chen, S.L., dan Chiger, M., 1985. Production of Baker's Yeast. dalam *Comprehensive Biotechnology*. Moo Young, M (ed.). vol 3:429-455. Pergamon Press. Oxford.
- Cooper, T.G., dan Sumrada, R., 1975. Urea transport in *Saccharomyces cerevisiae*. *J.Bacteriology.*121:571-576.
- Crueger, W., dan Crueger, A., 1989. Biotechnology: A Textbook of Industrial Microbiology. 2nd ed., Sinauer Assc. Inc., Sunderland.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebes, P.A., dan Smith, F., 1956. Colorimetric Method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chem.*28.
- Egbosimba, E. E., dan Slaughter, J.C., 1987. The influence of ammonium permease activity and carbon source on the uptake of ammonium from simple defined media by *Saccharomyces cerevisiae*. *J. General Microbiology.* 133:375-379.
- Enari, T.M., dan Suihko, M.L., 1984. Ethanol production by fermentation of pentoses and hexoses from cellulosic materials. *CRC Critical Reviews in Biotech.* 1:229-240.
- Kohle, M.M., Thompaon, B.G., dan Gerson, D.F., 1985. Ammonium concentration control in fed-batch fermentations of *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Ferment. Technol.* 63:121-125.
- Lakshmi, R., dan Polasa, H., 1991. Influence of nitrogen source on hydrogen generation by photosynthetic bacterium. *World Journal of Microbiology and Biotechnology.* 7:619-621.
- Margaritis, A., dan Bajpai, P., 1982. Ethanol production from jerusalem artichoke tubers (*Helianthus tuberosus*) using *Kluyveromyces marxianus* and *Saccharomyces rosei*. *Biotechnol. Bioeng.* 24:941-953.
- Osho, A., 1995. Evaluation of cashew apple juice for single cell protein and wine production. *Nahrung-Food.* 39:521-529.
- Pandey, A., Selvakumar, P., dan Ashakumary, L., 1994. Glucoamylase production by *Aspergillus niger* on rice bran is improved by adding nitrogen sources. *World Journal of Microbiology and Biotechnology.*10:348-349.

- Saragih, Y.P., dan Haryadi, Y., 1992. Jambu mete dan teknologi pengolahannya (*Anacardium occidentale*. L) Liberty. Yogyakarta.
- Sedha, R.K., Verma, G., Gupta, R.P., dan Tewari, H.K., 1984. Ethanol production from molasses using cell recycling of *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Ferment. Technol.* 62:471-476.
- Ueda, S., 1985. Energy saving alcohol fermentation of starchy materials without precooking. *Microbial Utilization of Renewable Resources.* 4:58-69.
- Utami, T., Cahyanto, M.N, Kusumawati, I., 1997. Selection of yeast strains for ethanol production from cashew juice. *Indonesian Biotechnology Conference.* Jakarta.
- Vienne, P., dan von Stockar, U., 1985. Metabolic, physiological and kinetic aspects of the alcoholic fermentation of whey permeate by *Kluyveromyces fragilis* NRRL 665 dan *Kluyveromyces lactis* NCYC 571. *Enzyme Microb. Technol.* 7:287-294.
- Wayman., M dan Parekh, S.R. 1990. *Biotechnology of Biomass Conversion.* Open University Press, Milton Keynes.
- Wayman, M., Chen, S., dan Doan, K., 1992. Bioconversion of waste paper to ethanol. *Process Biochem.* 27:147-192.
- Wei Cua, J., Fukui, N., Wakabayashi, Y., Yoshida, T., dan Taguchi, H., 1984. Enzymatic hydrolysis of sweet potato for energy saving production of ethanol. *J. Ferment. Technol.* 62:123-130.
- Ziffer, J., 1986. Ammonium acceleration of glycolysis in the ethanol fermentation in a high corn system. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 32:499-504.