

# Imobilisasi Khamir IS258 dalam Matriks Ca-Alginat pada Purwarupa Fermentor untuk Fermentasi Bioetanol dari Nira Kelapa

<sup>1</sup>I. M. Mahaputra Wijaya\*, <sup>1</sup>I. B. Wayan Gunam, <sup>1</sup>Indah S. R. Naibaho, <sup>1</sup>Desi N. I. Izzabillah

<sup>1</sup>Program Studi Teknologi Industri Pertanian, Universitas Udayana  
Jimbaran-Bali, Indonesia

\*e-mail: mahaputrawijaya@unud.ac.id

**Abstract**—Tantangan yang dihadapi dalam fermentasi bioetanol dengan metode *batch process* adalah tidak dapatnya dipergunakan kembali mikroorganisme agen fermentasi, karena turut serta dipanaskan dalam proses distilasi etanol sehingga menjadi musnah dan merupakan sebuah kerugian. Salah satu cara untuk mengumpulkan kembali (*recollection*) mikroorganisme agen fermentasi tersebut adalah dengan imobilisasi. Penelitian ini ditujukan untuk mengimobilisasi sel khamir unggul IS258 dengan menggunakan matriks Ca-alginat yang berbentuk *beads* (alginat-IS258) sebagai agen fermentasi gula yang diujikan dengan menggunakan analog nira kelapa. Matriks alginat-IS258 tersebut kemudian ditempatkan dalam purwarupa fermentor dirancang untuk dapat digunakan berulang kali memfermentasi analog nira kelapa menjadi etanol, dimana gas CO<sub>2</sub> murni sebagai hasil samping fermentasi etanol dapat dikumpulkan dan ditampung untuk nantinya dapat digunakan dalam industri yang lain. Fermentor dengan matriks alginat-IS258 yang dibangun ditujukan untuk menekan biaya produksi dan waktu fermentasi dibandingkan fermentasi sistem *batch process* yang biasa digunakan. Pada makalah ini dilaporkan purwarupa fermentor penggunaan berulang, hasil etanol dan CO<sub>2</sub> yang dihasilkan dari fermentasi analog nira menggunakan purwarupa fermentor *beads* matriks Alginat-IS258. Efisiensi fermentasi dekstrosa menjadi etanol sebesar 85% dari efisiensi teoritis maksimum didapat dengan menggunakan purwarupa fermentor yang dibuat. Metode fermentasi ini diharapkan dapat menurunkan harga keekonomian bioetanol dari nira kelapa di masa depan sehingga etanol yang dihasilkan dapat dikomersialkan menjadi biofuel yang lebih berkesinambungan di masa depan.

**Kata Kunci**— bioetanol, IS258, imobilisasi, fermentasi, arak bali.

## I. PENDAHULUAN

Seiring dengan bertambahnya jumlah penduduk, bertambah pula kebutuhan energi, karena energi telah menjadi kebutuhan mendasar dalam kehidupan manusia. Salah satu energi utama yang dibutuhkan yaitu energi fosil, namun energi fosil ini sudah mengalami penurunan [1]. Keterbatasan persediaan energi fosil tidak sebanding dengan tren kenaikan permintaan terhadap energi fosil oleh manusia khususnya di Indonesia. Ketergantungan terhadap energi fosil seperti bahan bakar minyak dan gas sangat tinggi untuk keperluan transportasi di Indonesia. Penggunaan energi fosil di Indonesia adalah sebesar 94% menurut Kementerian Energi dan Sumber Daya Mineral, Direktorat Jenderal Energi Baru Terbarukan dan Konservasi Energi 2016 (Anon, 2016).

Bioetanol (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH) merupakan etanol yang biasanya dihasilkan dari fermentasi bahan yang mengandung glukosa (gula) dengan bantuan mikroorganisme kemudian dengan diekstraksi dengan menggunakan metode distilasi. Di Bali nira kelapa yang tinggi kadar glukosa biasanya difermentasi menjadi tuak yang mengandung etanol sebesar 5-6%. Di mana kemudian tuak tersebut dapat didistilasi menjadi Arak Bali yang biasanya digunakan sebagai minuman beralkohol. Bioetanol berupa Arak Bali dari nira kelapa tersebut selain sebagai minuman yang memabukkan, juga berpotensi digunakan menjadi sumber bahan baku energi terbarukan berupa biofuel E5 yang langsung dapat digunakan pada kendaraan bermotor [2]. Bali dan daerah lainnya di Indonesia memiliki banyak sumber gula lokal yang banyak tersedia dan dapat digunakan pada pembuatan bioetanol antara lain adalah nira kelapa, nira siwalan, nira aren, nira nipah, dan nira sari tebu.

Sebelumnya telah ditemukan dan dikarakterisasi isolat khamir (*yeast*) unggulan yang diberi nama IS258, dimana isolat khamir ini diisolasi dari sisa fermentasi Arak Bali. Khamir IS258 memiliki karakter kurva pertumbuhan yang cepat dan dapat menghasilkan etanol sebesar 11,54%, dengan media yang telah dioptimasi, pada suhu dan pH media yang optimal [3]. Berdasarkan jumlah etanol yang dihasilkan dan karakter fermentasi optimal pada suhu 28 °C serta kemampuan fermentasi optimal pada rentang pH yang luas (pH 4,0-7,0) [4], isolat IS258 ini sangat potensial dan telah dikembangkan dan dikomersialisasikan menjadi starter komersial fermentasi bioetanol dari nira kelapa bernama AlkoTEB [5].

Fermentasi bioetanol tradisional dalam bentuk Arak Bali biasanya dilakukan dengan sistem *batch process* dan memerlukan starter mikroorganisme tradisional (*lau*) secara terus menerus yang dikarenakan dalam proses distilasi untuk mengekstraksi etanol, mikroorganisme agen fermentasi tersebut tidak dapat dipisahkan dari media fermentasi. Mikroorganisme agen fermentasi terpaksa turut didistilasi karena pemisahan mikroorganisme agen fermentasi tidak mudah dilakukan di tingkat pemakai seperti petani Arak Bali. Penumbuhan starter mikroorganisme baru secara terus menerus saat mengulangi proses fermentasi metode *batch process* akan mengonsumsi sebagian gula yang terkandung dalam nira sehingga mengurangi efisiensi dan memperpanjang waktu fermentasi. Mikroorganisme agen fermentasi etanol sebenarnya dapat diperangkap (*entrapment*) di dalam suatu matriks, sehingga nantinya matriks berisi mikroorganisme agen fermentasi tersebut dapat dengan mudah dipisahkan dari cairan fermentasi yang kemudian didistilasi untuk diperoleh bioetanolnya, dan mikroorganisme yang diimobilisasi di dalam matriks dapat digunakan kembali. Salah satu bahan yang biasa dan mudah digunakan adalah matriks berbasis dasar Na-alginat yang dapat dibentuk dengan mudah menggunakan ion kalsium (*inotropic gelation*) [6].

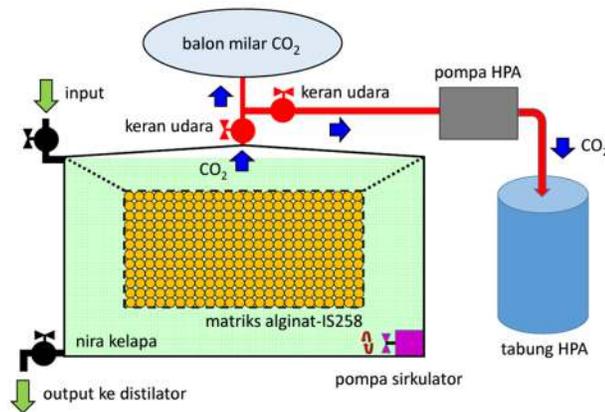
Penggunaan kembali stater yang diimobilisasi dalam matriks alginat akan menghemat waktu fermentasi dan etanol hasil fermentasi dapat menjadi lebih banyak karena fermentasi nira kelapa dapat berlangsung lebih efisien, di mana proses perbanyakan starter tidak lagi diperlukan sehingga gula yang terkandung dalam nira dapat sepenuhnya dikonversi menjadi etanol. Bioetanol yang dihasilkan diharapkan dapat diturunkan harganya untuk dijadikan biofuel yang keekonomiannya kompetitif di masa depan. Selain bioetanol, gas yang diasumsikan CO<sub>2</sub> yang dihasilkan sebagai hasil sampingan proses fermentasi berkadar cukup murni yang dapat dikomersialkan untuk keperluan industri di masa depan. Dari seluruh permasalahan dan potensi yang dipaparkan di atas pada makalah ini dilaporkan desain konsep dan purwarupa fermentor bioetanol menggunakan matriks alginat-IS258 yang diimobilisasi, hasil etanol yang dihasilkan dari fermentasi analog nira menggunakan purwarupa fermentor, serta efisiensi fermentasi yang dihasilkan oleh purwarupa fermentor tersebut dan jika purwarupa fermentor yang dibuat mampu menghasilkan etanol dengan efisien. Ke depannya, dipadukan dengan penggunaan tablet AlkoTEB yang dilaporkan sebelumnya, efisiensi produksi dan keekonomian bioetanol dapat ditingkatkan untuk membantu mewujudkan kemandirian Indonesia pada bidang energi di masa depan dalam hal penyediaan energi alternatif bioetanol dari sumber-sumber gula lokal yang banyak terdapat di Indonesia.

## II. METODE DAN PROSEDUR

Sel khamir IS258 diperbanyak dengan menumbuhkan 1 ose stok starter selama 24 jam pada suhu ruang dalam 100 mL media *peptone* (Merck) 7,5g/L, *yeast extract* (Himedia) 4,5 g/L, dan glukosa 5% (PYG) yang dalam penelitian ini digunakan dekstrosa [3], dan telah ditindalisasi untuk kemudian dipindahkan pada media 900 mL untuk perbanyakan sel selama 24 jam berikutnya. Sel khamir hasil perbanyakan sel kemudian dikumpulkan dengan disentrifugasi (Daihan Scientific) (2-3.000 rpm) selama 5 menit. Pelet sel IS258 yang terkumpul kemudian dicuci dengan larutan NaCl 0.85% sebanyak 2-3 kali pengulangan. Sel khamir hasil pencucian kemudian disamakan (*adjust*) jumlah selnya dengan menyamakan tingkat kekeruhannya (*optical density*) menggunakan spektrofotometer (Libra) pada 660 nm ( $OD_{660}$ ) = 5 [7]. Matriks alginat-IS258 dibuat dengan menambahkan 2% (v/v) sel khamir IS258  $OD_{660}=5$  pada larutan PYG ditambah Na-alginat (Himedia) 3% (b/v) yang sebelumnya telah diautoklaf selama 15 menit pada suhu 121 °C dan telah de-aerasi pada suhu 4 °C. Untuk membentuk matriks alginat-IS258, suspensi sel khamir IS258 yang dicampur PYG-Na-alginat yang sebelumnya telah de-aerasi diteteskan secara perlahan ke dalam larutan CaCl<sub>2</sub> 1,5 % (b/v) (*gravity drop*) menggunakan *nozzle* ukuran 2 mm menjadi bentuk *beads* (bulatan), dan dibiarkan mengeras selama 1 jam pada suhu 4 °C dengan pengadukan perlahan menggunakan *stirrer*. Sebagai bahan baku uji coba purwarupa fermentor digunakan analog nira yang kandungan gula dan proteinnya sama dengan nira kelapa, dan dibuat dengan komposisi *peptone* 3,6 g/L, *yeast extract* 2 g/L, dan dekstrosa 14% (v/v) dimana unsur mikro diasumsikan sama dengan nira kelapa [4].

*Beads* matriks alginat-IS258 yang terbentuk kemudian ditempatkan ke dalam wadah jaring persegi dan digantung (*suspend*) di dalam purwarupa fermentor translusen kedap udara kapasitas 15 L yang dibuat dan dilengkapi

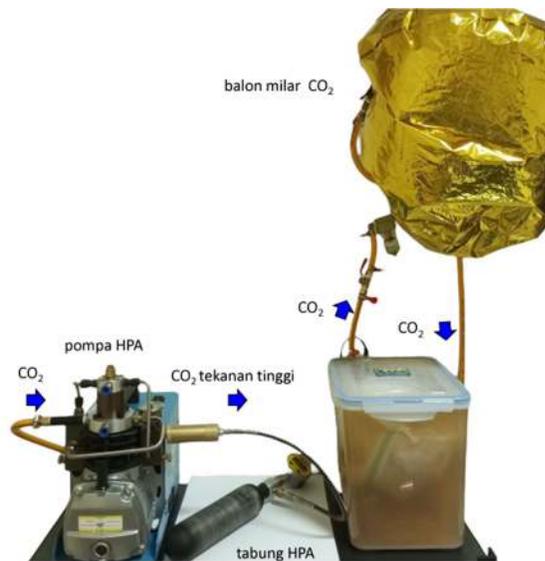
dengan pompa pengaduk untuk homogenisasi dan mencegah pengendapan sel khamir IS258 yang tumbuh bertunas ke luar dari matriks yang dibuat. Analog nira yang telah disterilisasi dan bead matriks Alginat-IS258 ditambahkan dengan perbandingan 80:20 % (v/v) dengan menyisakan udara yang tersisa (*headspace*) seminimal mungkin untuk meminimalisir oksigen di dalam fermentor. Fermentasi dilakukan pada optimal suhu 28 °C [4], dan gas CO<sub>2</sub> yang dihasilkan dari fermentasi glukosa ditampung dalam kantong plastik milar untuk kemudian dipompa menggunakan pompa tekanan tinggi (*high pressure air/HPA pump*) ke dalam tabung karbon HPA. Gas CO<sub>2</sub> yang dihasilkan diukur dengan menimbang selisih berat tabung HPA sebelum dan sesudah dipompa diisi gas CO<sub>2</sub> hasil fermentasi. Fermentasi dilakukan sampai dengan gas CO<sub>2</sub> tidak lagi dihasilkan untuk kemudian cairan fermentasi dialirkan ke luar fermentor dan didistilasi menggunakan distilator reflux. Media fermentasi baru berupa analog nira akan dialirkan ke dalam fermentor untuk fermentasi lanjutan sehingga metode fermentasi menggunakan purwarupa fermentor yang dibuat dapat disebut dengan metode *batch continuous*, di mana media fermentasi analog nira dialirkan secara *batch*, dan khamir IS258 agen fermentasi yang diimobilisasi dalam matriks Ca-alginat digunakan secara terus menerus dan berulang (*continuous*). Hasil etanol yang dihasilkan diukur dengan menggunakan *alcoholmeter* yang telah dikalibrasi sebelumnya, dan akan dibandingkan dengan hasil etanol maksimal secara teoritis yang dapat dihasilkan dari fermentasi dekstrosa yang terkandung di dalam analog nira. Skema konseptual purwarupa fermentor yang dibuat dapat dilihat pada Gambar 1 berikut:



GAMBAR 1. SKEMA PURWARUPA FERMENTOR NIRA KELAPA DENGAN KHAMIR IS258 TERIMOBILISASI

### III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Purwarupa fermentor dibuat dari bahan-bahan yang terdapat di pasaran umum seperti: kotak fermentor dibuat dari kotak penyimpanan 15 L kedap udara (*Lion Star*), penampung gas CO<sub>2</sub> yang dihasilkan dari proses fermentasi dibuat dari balon milar ukuran 50 L, pompa penghomogen cairan fermentasi (*Atman*), pompa udara tekanan tinggi (*Yong Heng Pump*), tabung HPA (*Inocom/DWM*), selang udara generik, serta konektor dan adapter penghubung udara tekanan tinggi dibuat sesuai spesifikasi tekanan udara tinggi yang diperlukan. Gambar purwarupa fermentor yang dibangun dapat dilihat pada Gambar 2 berikut:



GAMBAR 2. PURWARUPA FERMENTOR NIRA KELAPA DENGAN KHAMIR IS258 TERIMOBILISASI

Untuk memulai proses fermentasi, sebanyak 12 L (80% volumetrik) analog nira yang telah ditindalisasi dialirkan ke dalam fermentor berkapasitas 15 L yang di dalamnya telah terisi 3 L *beads* matriks alginat-IS258 yang sebelumnya telah dibuat. Fermentor kemudian ditutup (*sealed*) untuk memulai proses fermentasi, di mana pada tahap fermentasi pertama yang dilakukan selama 8 hari sampai hasil samping gas CO<sub>2</sub> tidak lagi terbentuk, dan gas CO<sub>2</sub> ditimbang beratnya. Setelah cairan fermentasi dialirkan ke luar kemudian didistilasi dan menghasilkan sebanyak 837 mL total etanol murni. Fermentasi dilanjutkan dengan mengalirkan ulang 12 L analog nira baru pada *batch* berikutnya dan dengan cara serupa fermentasi dilanjutkan sampai gas CO<sub>2</sub> tidak dihasilkan lagi, dan gas CO<sub>2</sub> ditimbang beratnya. Analog nira yang telah difermentasi dialirkan keluar untuk didistilasi dan menghasilkan sebanyak 869 mL total etanol murni. Proses fermentasi berikutnya dilakukan dengan cara yang sama dan berturut-turut menghasilkan 924 dan 911 mL total etanol, selama 8, 7, 6 dan 6 hari. Proses fermentasi media analog nira yang dilakukan berjalan dengan baik, ditandai dengan mengembangnya wadah dari milar berwarna kuning sebagai penampung gas CO<sub>2</sub> yang dihasilkan. Setiap hari gas CO<sub>2</sub> yang dihasilkan dari fermentasi analog nira dipompa ke dalam tabung HPA di mana pada suhu ruang, gas CO<sub>2</sub> akan berubah menjadi cairan pada tekanan tinggi, sehingga berat CO<sub>2</sub> yang dihasilkan oleh tiap *batch* analog nira dapat diukur tiap kali fermentasi dihentikan. Gas CO<sub>2</sub> yang dikumpulkan dan dimampatkan menggunakan pompa HPA memberikan hasil berturut-turut sebanyak 26, 32, 35 dan 39 gram. Ringkasan hasil etanol yang dihasilkan dari fermentasi menggunakan purwarupa fermentor yang dibuat dapat dilihat dalam Tabel 1 berikut:

TABEL 1. HASIL ETANOL DAN GAS CO<sub>2</sub> DARI FERMENTASI ANALOG NIRA MENGGUNAKAN FERMENTOR KHAMIR IS258 TERIMOBILISASI

Fermentasi ke ( <i>batch</i> ke)	Konsentrasi etanol (%)	Total etanol (mL)	Total CO <sub>2</sub> (gram)	Lama (hari)	Efisiensi/ $\eta$ (%)
1	6,98	837	26	8	77
2	7,27	869	32	7	80
3	7,70	924	35	6	85
4	7,59	911	39	6	84

Dari empat *batch* fermentasi media analog nira sebanyak 12 L yang dilakukan, dapat dilihat dari Tabel 1 bahwa konsentrasi etanol yang dihasilkan dari proses fermentasi terus menerus meningkat seiring digunakannya kembali *beads* matriks secara *continuous*. Hal ini kemungkinan dikarenakan populasi khamir IS258 dalam matriks yang terus berpropagasi (*budding*) dan bertambah banyak seiring penggunaan *beads* matriks tersebut [8]. Konsentrasi etanol yang dihasilkan kemudian mengalami stagnansi yang menandakan jumlah etanol tertinggi yang dapat dikonversi dari 12 L nira kelapa dengan 14% dekstrosa. Analog nira sebanyak 12 L mempunyai kandungan dekstrosa sebanyak 1.680 gram, sehingga konversi stoikiometrik ideal fermentasi gula menjadi etanol dan CO<sub>2</sub> akan menghasilkan sekitar 1.086 mL etanol murni [9]. Hal ini memberikan efisiensi awal fermentasi etanol menggunakan

purwarupa fermentor yang dibuat sebesar 77%, dan terus meningkat sampai mencapai stagnansi efisiensi sebesar 85% pada *batch* ke tiga menandakan 15% gula yang tersedia tetap digunakan untuk proses propagasi sel khamir IS258 walaupun diperkirakan jumlah sel khamir IS258 yang diimobilisasi dan kemudian bertambah banyak dalam *beads* matriks yang dibuat dianggap telah mencukupi. Propagasi sel khamir IS258 tersebut dapat dilihat dari banyaknya sel hidup pada cairan fermentasi dan sel yang mengendap di dasar fermentor [8], walaupun dalam penelitian ini cairan fermentasi telah diaduk secara terus-menerus dengan menggunakan pompa. Efisiensi sebesar 85% tersebut dapat dianggap cukup tinggi, dikarenakan *Saccharomyces cerevisiae* yang digunakan pada level industri biasanya maksimum mencapai efisiensi konversi gula sebesar 90% [10]. Selisih efisiensi sebesar 5% dengan *Saccharomyces cerevisiae* yang biasa digunakan pada level industri dapat dikatakan cukup rendah, mengingat purwarupa fermentor dibuat dalam skala kecil 15 L, jika dibuat dalam volume yang lebih besar maka efisiensi kemungkinan dapat meningkat walaupun nilai efisiensi fermentasi sebesar 85% adalah dapat diterima mengingat khamir IS258 adalah khamir individu tipe liar (*wild type*) yang baru didapat dari alam [3].

Sementara itu gas CO<sub>2</sub> yang dihasilkan selama proses fermentasi gula menjadi etanol oleh IS258 terimobilisasi dalam purwarupa fermentor yang dibuat, secara persentase, tidak linear dengan etanol yang dihasilkan. Gas CO<sub>2</sub> yang dihasilkan dari *batch* pertama sampai dengan ke empat tidak menunjukkan perbandingan stoikiometrik yang linear dengan etanol yang dihasilkan oleh fermentasi menggunakan khamir IS258 terimobilisasi. Hal ini kemungkinan dikarenakan khamir IS258 memang tidak menghasilkan gas CO<sub>2</sub> yang besar, cenderung hanya menghasilkan etanol ketika memfermentasi gula dari analog nira. Hal lain yang tidak dapat diabaikan adalah kemungkinan gas CO<sub>2</sub> yang dihasilkan mayoritas terperangkap dalam *beads* matriks yang digunakan untuk memerangkap khamir IS258, tidak dapat berdifusi keluar dan membentuk gelembung di dalam *beads* matriks yang dibuat. Hal ini diindikasikan secara visual oleh berubahnya warna matriks menjadi lebih opak/buram (*opaque*) dan membesarnya *beads* matriks seiring penggunaan untuk fermentasi serta menurunnya massa jenis *beads* matriks ditandai oleh *beads* matriks yang menjadi mengapung dari sebelumnya tenggelam ketika baru dibuat. Permasalahan ini kemungkinan bisa diatasi dengan memperkecil ukuran *beads* yang dibuat sehingga difusi gas CO<sub>2</sub> yang dihasilkan di dalam *beads* matriks menjadi lebih mudah ke luar *beads* matriks. Hal lain yang tidak dapat dikesampingkan adalah belum sempurnanya sistem penampung gas CO<sub>2</sub> yang dibuat. Sistem penampung Gas CO<sub>2</sub> yang didesain kemungkinan mengalami kebocoran halus yang sulit dideteksi serta pompa *HPA* yang digunakan kemungkinan memiliki efisiensi yang rendah walaupun kemungkinan-kemungkinan penyebab ini harus diuji lebih lanjut di masa depan.

#### IV. KESIMPULAN

Pada penelitian ini dapat disimpulkan purwarupa fermentor yang dibuat dapat menghasilkan etanol dari analog nira dengan efisiensi yang tinggi, dengan nilai tertinggi yang dicapai sekitar 85% dari efisiensi teoritis maksimum yang mungkin dicapai, walaupun gas CO<sub>2</sub> yang dapat diperoleh amat rendah. Ini menandakan bahwa khamir IS248 yang digunakan sebagai agen fermentasi adalah khamir yang bersifat bertolak belakang dengan khamir yang digunakan pada proses pembuatan roti dan hanya menghasilkan etanol yang tinggi sehingga cocok dijadikan agen fermentasi bioetanol sebagai bahan baku pembuatan biofuel di masa depan. Purwarupa fermentor yang dibuat nantinya dapat dikembangkan dan ditingkatkan kapasitas volumetriknya dengan modifikasi yang mudah, serta dikembangkan untuk nira yang lain selain nira kelapa serta dikomersialkan untuk dapat diaplikasikan di tingkat petani nira kelapa maupun nira-nira lainnya, sehingga dapat diharapkan bioetanol bahan baku biofuel dapat diproduksi dengan tingkat keekonomian yang tinggi dari berbagai nira-nira lokal yang tersedia di Indonesia.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Seluruh penulis mengucapkan terima kasih kepada LPPM Universitas Udayana atas dukungan finansial yang diberikan melalui skema PUU (B/1.294/UN14.4.A/PT.01.03/2023) sehingga dapat terlaksananya penelitian dan penulisan makalah ini.

#### DAFTAR PUSTAKA

- [1] Senam, Prospek bioetanol sebagai bahan bakar yang terbarukan dan ramah lingkungan. Prosiding Seminar Nasional Penelitian. Pendidikan dan Penerapan MIPA, 2009.
- [2] T. L. Anh, "Impacts of Gasohol E5 and E10 on Performance and Exhaust Emissions of In-used Motorcycle and Car: A Case Study in Vietnam", Journal of Science and Technology Technical University, no. 73B, pp. 98-104, 2009.
- [3] N. C. Simbolon, I M. Mahaputra Wijaya, I. B. Wayan Gunam, "Isolasi Dan Karakterisasi Khamir Potensial Penghasil Bioetanol Dari Industri Arak Di Karangasem Bali", Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri, vol. 6 no. 4, 2018. <https://doi.org/10.24843/jrma.2018.v06.i04.p06>.
- [4] J. Prameshwari, I M. Mahaputra Wijaya, I. B. Wayan Gunam, "Produksi Etanol pada Media PYG Dengan Variasi Suhu dan Perbandingan Media Fermentasi Menggunakan Isolat IS258", vol. 18 no. 2, *in press*, 2004.

- [5] I M. Mahaputra Wijaya, N. P. Suwariani, G. B. Rahanatha, "Tablet Starter AlkoTEB untuk Meningkatkan Keekonomian Bioetanol (Arak Bali) Hasil Fermentasi Nira Tradisional", in *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi (Senastek)* vol. 7 no. 1, 2022.
- [6] S. Pedroso-Santana, N. Fleitas-Salazar, "Ionotropic gelation method in the synthesis of nano/microparticles for biomedical purposes", *Polymer International*, vol. 69 no. 5, 2020.
- [7] S. Malghani, N. Chatterjee, X. Hu, L. Zejiao, "Isolation and characterization of a profenofos degrading bacterium", *Journal of Environmental Science*, vol 21 no. 11 pp: 1591-1597, 2009.
- [8] I. S. R. Naibaho, I M. Mahaputra Wijaya, I. B W. Gunam. I W. Arnata, "Structural and Microbiology Analysis of Entrapped IS258 in Na-Alginate Matrix Upon Repetitive Batch Bio-Ethanol Fermentation", 5<sup>th</sup> International Conference on Bioscience and Medical Engineering, 30-31 Agustus 2023, Bali, *tidak dipublikasikan*, 2023.
- [9] A. K. Gombert, A. J. van Maris, "Improving conversion yield of fermentable sugars into fuel ethanol in 1st generation yeast-based production processes." *Curr Opin Biotechnol*, vol. 33 pp 81–86, 2015. doi: 10.1016/j.copbio.2014.12.012.
- [10] B. E. Della-Bianca, T. O. Basso, B. U. Stambuk, L. C. Basso, A. K. Gombert, "What do we know about the yeast strains from the Brazilian fuel ethanol industry?", *Appl Micro Biotechnol*, vol. 97 pp. 979–991, 2019. doi: 10.1007/s00253-012-4631-x.