

PRODUKSI BIOBUTANOL DARI FRUKTOSA FOOD GRADE

Kurnia Widyastuti, Muhammad Reza Maulana, Mu'tasim Billah*

Program Studi Teknik Kimia, Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Jawa Timur
Jalan Raya Rungkut Madya Gunung Anyar, Surabaya 60294, Indonesia

* Penulis Korespondensi: E-mail: tasimbillah60@gmail.com

Abstrak

Dunia kini menghadapi masalah pencemaran lingkungan karena penggunaan bahan bakar fosil yang ekstensif dalam industri atau transportasi. Oleh karena itu, sangat mendesak untuk menemukan sumber daya terbarukan alternatif untuk produksi bahan bakar cair dan bahan kimia. Energi alternatif dari senyawa alkohol yang telah dikembangkan di Indonesia adalah bioetanol. Biofuel dari senyawa alkohol lainnya yang telah dikembangkan adalah bio-butanol. Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan energi alternatif pengganti minyak bumi berupa bio-butanol. Bio-butanol adalah senyawa alkohol yang memiliki rumus molekul C_4H_9OH dan dihasilkan dari proses fermentasi bahan-bahan organik yang memiliki kandungan karbohidrat dengan menggunakan bakteri *Clostridium Acetobutylicum*. Fruktosa food grade diencerkan dengan air lalu difermentasi dengan penambahan bakteri *Clostridium acetobutylicum* selama 12 hari pada temperature ruang. Pelaksanaan penelitian dengan memfermentasi larutan fruktosa (6%v/v; 9%v/v; 12%v/v; 15%v/v; dan 18%v/v) dan jumlah bakteri *Clostridium acetobutylicum* (1; 2; 3; 4; 5 ml). Pengujian kadar biobutanol dianalisa menggunakan GC (Gas Chromatography). Kadar biobutanol yang relative baik dihasilkan dari fermentasi larutan fruktosa 15%v/v dan jumlah bakteri sebanyak 5 ml dengan hasil 0,9058%v/v.

Kata kunci: cangkang kupang; hydroxyapatite; komposisi hydroxyapatite

Abstract

The world is now facing the environmental pollution problems due to extensive use of fossil fuels in industry or transportation. Therefore, it becomes urgent to find the alternative renewable resources for liquid fuels and chemical production. Alternative energy created from alcohol compound that have been developed in Indonesia is bioethanol. Another biofuel made from alcohol compound that have been developed is bio-butanol. This study aims to develop alternative energy substitutes for petroleum in the form of bio-butanol. Bio-butanol is an alcohol compound with C_4H_9OH as the molecular formula and produced from the fermentation process of organic materials that contained carbohydrate by using bacteria named *Clostridium acetobutylicum*. Food grade fructose is diluted with water then fermented with addition of *Clostridium acetobutylicum* for 12 days at room temperature. The research carried out by fermenting fructose solution (6% v/v; 9% v/v; 12% v/v; 15% v/v; and 18% v/v) and the number of bacteria *Clostridium acetobutylicum* (1; 2; 3; 4; 5 ml). Bio-butanol levels were analyzed using GC (Gas Chromatography). Relatively good levels of bio-butanol are produced from fermentation of 15% v/v fructose solution and 5 ml of bacteria with a yield of 0.9058% v/v.

Key words: biobutanol; *clostridium acetobutylicum*; food grade fructose

PENDAHULUAN

Minyak bumi merupakan sumber energi yang paling ekonomis dan paling mudah untuk

dimanfaatkan. Minyak bumi pertama kali disedot dan dibor di Texas, Amerika Serikat. Terus berlanjut dengan eksplorasi besar-besaran di seluruh dunia. Kita tahu bahwa minyak bumi

adalah sumber daya yang tidak terbarukan, yang lama kelamaan akan habis. Hal ini dapat menimbulkan pelemahan ketahanan energi dan ketahanan nasional, salah satunya di bumi pertiwi kita ini yaitu Indonesia.

Harga minyak di dunia sekarang meningkat, sementara di sisi lain, pasokan bahan bakar fosil yang tidak terbarukan terus menurun dari waktu ke waktu. Produksi minyak mentah global diperkirakan menurun dari 25 miliar barel menjadi sekitar 5 miliar barel pada tahun 2050. Selain itu, dunia kini juga menghadapi masalah pencemaran lingkungan karena penggunaan bahan bakar fosil yang ekstensif dalam industri atau transportasi. Oleh karena itu, sangat mendesak untuk menemukan sumber daya terbarukan alternatif untuk produksi bahan bakar cair dan bahan kimia. Namun, penggunaan tanaman pertanian yang dapat dimakan untuk produksi ABE, seperti jagung di AS atau tebu di Brasil, dapat menurunkan stok pangan dan menaikkan harga pangan. Untungnya, sejumlah besar sisa biomassa yang dianggap sebagai "limbah" berpotensi dapat dikonversi menjadi berbagai produk bernilai tambah termasuk biofuel, bahan kimia, dan sumber energi murah dari proses fermentasi, dll.

Untuk meningkatkan ketahanan energi dan ketahanan nasional ini kita harus mencari energi alternatif (bahan bakar alternatif). Energi alternatif dari senyawa alkohol yang telah dikembangkan di Indonesia adalah bioetanol. Bio-Etanol merupakan senyawa alkohol yang memiliki rumus molekul C_2H_5OH dan dihasilkan dari proses fermentasi bahan-bahan organik yang memiliki kandungan karbohidrat dengan menggunakan bakteri. Aplikasi bio-etanol yang telah dilakukan adalah sebagai pengganti minyak tanah dan bahan campuran ke dalam bensin (gasohol).

Biofuel dari senyawa alkohol lainnya yang telah dikembangkan adalah bio-butanol. Bio-butanol adalah senyawa alkohol yang memiliki rumus molekul C_4H_9OH dan dihasilkan dari proses fermentasi bahan-bahan organik yang memiliki kandungan karbohidrat dengan menggunakan bakteri *Clostridium Acetobutylicum*. *C. Acetobutylicum* mampu mengubah sumber karbon yang lebih luas seperti glukosa, fruktosa, galaktosa, selobiosa, manosa, xilosa, dan arabinosa, menjadi bahan bakar seperti butanol.

Bahan-bahan tersebut dapat dijadikan sebagai bahan baku produksi bio-butanol. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, ternyata bio-butanol lebih menguntungkan daripada bio-etanol karena biobutanol memiliki densitas energi yang lebih tinggi dan volatilitas yang lebih rendah dibanding bioetanol. Namun penelitian bio-butanol di Indonesia sendiri masih belum terlalu berkembang jika dibandingkan dengan bio-etanol. Selama ini pengembangan BBN (Bahan Bakar Nabati) sebagai pengganti bensin masih berfokus pada produksi etanol dengan bahan baku organik.

Fermentasi

Ahli biokimia mengartikan fermentasi sebagai proses pembangkitan energi dengan katabolisme senyawa-senyawa organik yang berfungsi sebagai *donor electron* dan *terminal electron acceptor*. Sedangkan kalangan *industrial microbiologist* mengartikan fermentasi sebagai proses produksi produk dengan menggunakan mikroorganisme sebagai biokatalis. Umumnya, fermentasi adalah suatu reaksi dengan menggunakan biokatalis untuk mengubah bahan baku menjadi produk. Biokatalis yang digunakan adalah bakteri, yeast atau jamur (*fungi*). Substrat utama pada fermentasi adalah sumber karbon yang digunakan oleh mikroorganisme untuk pertumbuhan dan produksi produk akhir. Sumber karbon yang umum adalah glukosa dan maltose. Mikroorganisme membutuhkan nutrient, seperti *sulfur*, *phosphor*, *potassium*, *magnesium*, *nitrogen* dan mineral lainnya untuk pertumbuhannya tergantung pada spesifik organisme. Produk samping yang umum termasuk biomassa, karbon dioksida dan hidrokarbon seperti etanol.

Ruang lingkup proses fermentasi dapat dibagi menjadi empat, yaitu:

1. Fermentasi yang menghasilkan sel (biomass) sebagai produk
Contoh : yeast, Single cell protein
2. Fermentasi yang memproduksi enzim
Contoh : enzyme glucoamilase
3. Fermentasi yang menghasilkan hasil metabolisme mikroba
Primary metabolite products and secondary metabolite products
4. Fermentasi yang memodifikasi senyawa (proses transformasi)

Kondisi fermentasi dapat berupa kondisi aerob, mikroaerophilik, maupun anaerob. Kondisi aerob adalah kondisi fermentasi yang dijalankan dengan suplai oksigen yang cukup. Kondisi mikroaerophilik adalah kondisi fermentasi yang dijalankan dengan suplai oksigen yang terbatas, sedangkan kondisi anaerob adalah kondisi fermentasi yang dijalankan tanpa kehadiran oksigen [1].

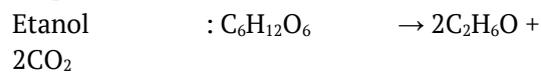
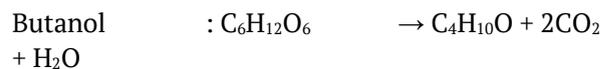
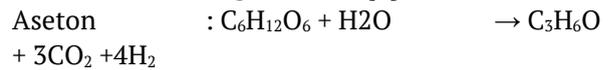
Fermentasi A.B.E

Proses fermentasi yang disebut proses A.B.E menjadi standar dalam industri hingga akhir 1940an, saat harga minyak yang rendah menyebabkan proses berbasis cracking hidrokarbon dan distilasi minyak bumi menjadi lebih efisien. Mekanisme fermentasi pembentukan aseton-butanol-etanol dari substrat gula secara garis besar dapat dibagi menjadi dua tahapan, yaitu tahap asidogenik dan tahap eksponensial. Tahap asidogenik terjadi pada fase pertumbuhan eksponensial yang menghasilkan asam asetat dan asam butirat. Pada tahap ini, gas CO₂ dan H₂ serta senyawa asam, yaitu asam asetat dan asam butirat dihasilkan dalam jumlah banyak sehingga menyebabkan suasana asam pada medium. Oleh karena itu, sebagai bentuk pertahanan sel, metabolisme bakteri masuk ke tahap kedua. Produk yang dihasilkan selama tahap ini peranan penting dalam produksi senyawa akhir (aseton-butanol-etanol) karena berfungsi sebagai precursor [2], [3]. Pada tahap berikutnya yaitu tahap solventogenik, asam asetat dan asam butirat dikonversi menjadi aseton dan butanol sebagai produk akhir fermentasi. Pada fase ini, bakteri mengkonsumsi sejumlah asam asetat dan asam butirat dalam jumlah tertentu yang dapat meningkatkan konsentrasi aseton-butanol-etanol [4]. Menurut Fond,dkk. (1985), karakteristik utama dari fermentasi gula oleh *C.acetobutylicum* adalah pada perpindahan metabolisme dari fase pembentukan asam (asidogenik) ke fase pembentukan pelarut ABE (solventogenik) [5].

Menurut Lee,dkk (2008) dan Tsai,dkk (2014), kondisi optimum untuk produksi biobutanol adalah pada pH 4,5-5 dan rentang temperature 33°C-37°C [6], [7]. Apabila pH medium berada di bawah 4,5 sebelum senyawa asam dari tahap asidogenik cukup diproduksi, maka akan menyebabkan tahap solventogenik

berlangsung sangat singkat dan tidak produktif. Pengaruh komponen nutrisi pada fermentasi biobutanol oleh bakteri *C. acetobutylicum* diketahui dengan cara melakukan pengurangan atau penambahan nutrisi dalam medium. Penambahan ion Fe, Mg, Mn, dan K dengan konsentrasi tertentu pada medium fermentasi dapat meningkatkan produksi biobutanol [8].

Reaksi pembentukan aseton, butanol, dan etanol adalah sebagai berikut [9]:



McCutchen dan Hickey (1954) melakukan fermentasi aseton-butanol-etanol pertama kali dilakukan pada tahun 1940 dengan substrat tetes tebu dimana produk yang dihasilkan terdiri dari 60% butanol, 30% aseton dan 5-10% etanol. Fermentasi dilakukan pada kultur curah dengan konsentrasi awal 45-50 g/l selama 40-45 jam. Fermentasi aseton – butanol – etanol menggunakan mikroorganisme *Clostridium acetobutylicum* yang memerlukan kondisi anaerobic dan kisaran suhu mesofilik pada pH awal substrat yang cukup rendah [10]. Fond et al. (1985) bekerja pada suhu 35°C untuk fermentasi aseton-butanol-etanol secara curah menggunakan kultur *Clostridium acetobutylicum* [5]. Selama fermentasi, pH medium dipertahankan pada kisaran 4,8 dengan penambahan larutan NaOH 6 N secara otomatis.

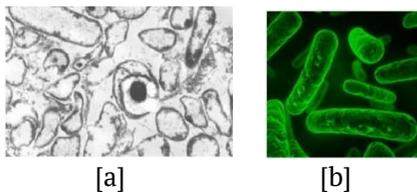
Pembuatan aseton-butanol-etanol dapat dilakukan dengan mengubah glukosa menjadi acetone dan butanol melalui acetoacetyl-CoA. Sumber karbon selain glukosa adalah sumber-sumber karbohidrat misalnya jagung dan molase. Sumber karbon lain yang sudah digunakan adalah wheat, nasi, kentang, dan beet molases. Karena butanol dapat mengakibatkan inhibisi metabolisme, sehingga untuk mendapatkan pemakaian pati, konsentrasi pati awal adalah 6-8% dari berat kering jagung. Jika molases yang digunakan, maka kandungan gula adalah 5,5-7,5% dengan pH medium dijaga pada 5,6-6,0. Untuk *C.acetobutylicum* dengan jus sugar-cane sebagai substrat, dihasilkan yield 73% dengan kandungan butanol 19-23%, sedangkan untuk *C.acetobutylicum* dengan larutan gula sebagai

substrat, dihasilkan yield 66 % dengan kandungan butanol 33% [1].

Bakteri *Clostridium acetobutylicum*

Mikroorganisme yang digunakan untuk memproduksi campuran acetone/butanol, adalah *Clostridium* species (e.g *C. butylicum*, *C. butyricum*, *C.toanum*, *Clostridium acetobutylicum*).

Clostridium acetobutylicum yang tergolong dalam genus *Clostridium*, memproduksi asam asetat (cuka), asam butirat, karbon dioksida dan hidrogen. Bakteri ini memerlukan kondisi anaerob untuk tumbuh dalam keadaan vegetatifnya dan hanya dapat bertahan hingga beberapa jam dalam kondisi aerobik, di mana ia akan membentuk endospora yang dapat berlangsung selama bertahun-tahun bahkan dalam kondisi aerobik. Ketika *C. acetobutylicum* berada dalam kondisi anaerobik, bakteri ini akan menguntungkan dan melanjutkan pertumbuhan vegetatifnya [11].



Gambar 1. Bakteri *Clostridium acetobutylicum* ([a]Sumber : Imanda, 2011 ; [b]Sumber : Noparat, et.al, 2011).

Penelitian yang dilakukan oleh Grinanda dan Restiawaty pada (2016) menggunakan RCM sebagai medium fermentasi dengan komposisi per liter nya adalah 10 g ekstrak daging sapi, 10 g pepton, 5 g glukosa, 5 g NaCl, 3 g ekstrak ragi, 3 g CH₃COOH, 1 g pati terlarut, dan 0,5 g Lsistein HCl (pH akhir medium: 6,8). Pada medium control, fase lag terjadi pada 4 jam pertama dan selanjutnya memasuki fase eksponensial hingga jam ke-10 sebelum mencapai fase deselerasi. Sedangkan pada medium modifikasi, fase lag terjadi lebih lama yakni mencapai 12 jam. Kemudian, dilanjutkan fase eksponensial sampai sekitar jam ke-18 hingga akhirnya mencapai fase deselerasi. Penelitian ini dilakukan pada temperature 37°C dengan waktu fermentasi 120 jam [12].

METODE PENELITIAN

Bahan

Pada penelitian ini, bahan fruktosa food grade, bakteri *Clostridium acetobutylicum*, dan aquadest.

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah fermentor serta peralatan penunjang lainnya.

Prosedur

a. Tahap Pre-treatment

Pengenceran bahan (Fruktosa Food Grade)

Sirup fruktosa dengan konsentrasi fruktosa 63,24% diencerkan sesuai variabel dan dilarutkan dengan aquadest hingga 300 ml, lalu pH larutan dikondisikan menjadi 5. Apabila pH kurang dari 5, maka perlu ditambahkan NaOH 20%. Apabila pH lebih dari 5, maka perlu ditambahkan larutan asam sitrat 40%. Setelah itu larutan disterilisasi menggunakan autoclave selama 30 menit. Lalu didinginkan hingga menjadi temperatur ruangan.

Pembuatan Starter *Clostridium acetobutylicum*

Larutan fruktosa sebanyak 30 ml ditambah biakan bakteri *Clostridium acetobutylicum* sebanyak variabel yang ditentukan. Lalu didiamkan selama 24 jam pada temperatur ruangan secara anaerob.

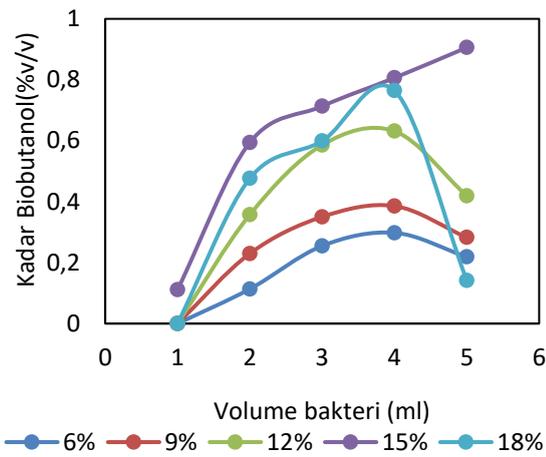
b. Tahap Fermentasi

Larutan fruktosa yang telah diencerkan ditambahkan larutan starter sebanyak 30 ml. Kemudian difermentasi selama 12 hari pada suhu sekitar dan keadaan pH larutan 5. Proses fermentasi dilakukan dengan kondisi anaerob menggunakan penutup. Setelah proses fermentasi selesai, penutup dilepas. Lalu hasil setelah fermentasi dianalisa kadar butanolnya dengan uji *Gas Chromatography* (GC).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Analisa Kadar Butanol (%)

Volume Bakteri (ml)	Kadar Biobutanol (%)				
	Konsentrasi Bahan (%v/v)				
	6	9	12	15	18
1	0	0	0	0,11	0
2	0,11	0,22	0,35	0,59	0,47
3	0,25	0,35	0,58	0,71	0,59
4	0,29	0,38	0,63	0,80	0,76
5	0,21	0,28	0,41	0,90	0,14

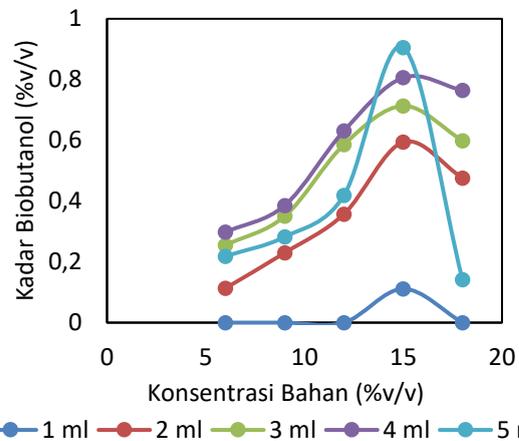


Gambar 2. Grafik hubungan antara volume bakteri (ml) terhadap kadar biobutanol (%v/v)

Gambar 2 menunjukkan kadar biobutanol dari proses fermentasi anaerob dengan volume bakteri antara 1 ml sampai 5 ml. Pada kondisi fermentasi dengan volume bakteri sebesar 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml, dan 5 ml didapatkan kadar biobutanol tertinggi sebesar 0,9058 %v/v dengan konsentrasi fruktosa sebesar 15%. Jumlah bakteri yang digunakan dalam proses fermentasi akan memengaruhi jumlah biobutanol yang dihasilkan. Semakin banyak bakteri yang digunakan, maka semakin banyak pula biobutanol yang dapat dihasilkan. Namun hal tersebut juga tergantung dari kondisi operasi proses fermentasi, seperti temperatur. Penelitian ini menggunakan temperatur ruangan sebagai kondisi fermentasi, dimana temperatur dapat berubah-ubah karena pengaruh lingkungan sekitar. Tidak stabilnya temperatur akan mempengaruhi pertumbuhan bakteri dan butanol yang dihasilkan.

Gambar 3 menunjukkan kadar biobutanol dari proses fermentasi dengan konsentrasi fruktosa antara 6% sampai 18%. Berdasarkan grafik diatas, konsentrasi fruktosa yang terbaik untuk proses fermentasi biobutanol adalah sebesar 15 %v/v dengan kadar biobutanol sebesar 0,9058 %v/v. Kondisi tersebut dikarenakan konsentrasi bahan (fruktosa) mempengaruhi jumlah biobutanol yang akan dihasilkan. Dari grafik dapat dilihat bahwa dari konsentrasi 6% hingga konsentrasi 15%, kadar biobutanol yang dihasilkan semakin besar. Tetapi pada konsentrasi 18%, kadar biobutanol yang

dihasilkan menurun. Hal tersebut dikarenakan setiap proses fermentasi memiliki kadar gula tertentu yang dapat dikonversi oleh bakteri.



Gambar 3. Grafik hubungan antara konsentrasi bahan (%v/v) terhadap kadar biobutanol (%v/v)

Gambar 3 menunjukkan kadar biobutanol dari proses fermentasi dengan konsentrasi fruktosa antara 6% sampai 18%. Berdasarkan grafik diatas, konsentrasi fruktosa yang terbaik untuk proses fermentasi biobutanol adalah sebesar 15 %v/v dengan kadar biobutanol sebesar 0,9058 %v/v. Kondisi tersebut dikarenakan konsentrasi bahan (fruktosa) mempengaruhi jumlah biobutanol yang akan dihasilkan. Dari grafik dapat dilihat bahwa dari konsentrasi 6% hingga konsentrasi 15%, kadar biobutanol yang dihasilkan semakin besar. Tetapi pada konsentrasi 18%, kadar biobutanol yang dihasilkan menurun. Hal tersebut dikarenakan setiap proses fermentasi memiliki kadar gula tertentu yang dapat dikonversi oleh bakteri.

Hasil biobutanol yang dihasilkan dari fermentasi pada penelitian ini memiliki kadar yang rendah dikarenakan kendala-kendala yang ada. Kendala dari terbentuknya alcohol oleh bakteri ini adalah kondisi fermentasi yang harus anaerobic. Kondisi ini sangat sulit diperoleh karena keterbatasan alat yang digunakan. Sifat bakteri *Clostridium acetobutylicum* yaitu anaerobik obligat, dimana ketika bakteri terkena udara dengan kadar yang sangat rendah, maka bakteri akan mati. Hal tersebut yang menyebabkan pengerjaan fermentasi harus dalam keadaan vakum dan kondisi ini sulit diperoleh. Diperlukan alat yang dapat menjaga proses fermentasi

anaerob tidak terkontaminasi udara, sehingga biobutanol yang dihasilkan dapat lebih maksimal.

SIMPULAN

1. Fruktosa food grade memiliki kandungan monosakarida, sehingga dapat diolah menjadi produk biobutanol dengan proses fermentasi.
2. Konsentrasi bahan baku atau fructose mempengaruhi kadar butanol yang dihasilkan, begitu pula jumlah bakteri *Clostridium acetobutylicum* yang digunakan juga mempengaruhi kadar butanol yang dihasilkan.
3. Kadar biobutanol tertinggi yang dihasilkan dari fructose food grade didapatkan pada konsentrasi 15 %v/v dan volume bakteri 5 ml sebesar 0,9058 %v/v.

SARAN

1. Sebaiknya perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang proses fermentasi biobutanol dengan kondisi operasional industri.
2. Sebaiknya perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan mikroorganisme atau bakteri jenis lainnya yang dapat menghasilkan biobutanol dalam waktu yang lebih singkat dan lebih optimal.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] L. Riadi, *Teknologi Fermentasi*, 2nd ed. Yogyakarta: Graha Ilmu, 2013.
- [2] T. Lütke-Eversloh and H. Bahl, "Metabolic engineering of *Clostridium acetobutylicum*: recent advances to improve butanol production," *Curr. Opin. Biotechnol.*, vol. 22, no. 5, pp. 634–647, 2011.
- [3] J. Yu-Sin *et al.*, "Enhanced Butanol Production Obtained by Reinforcing the Direct Butanol-Forming Route in *Clostridium acetobutylicum*," *MBio*, vol. 3, no. 5, pp. e00314–12, Nov. 2021.
- [4] U. Hadikusuma, "Kajian Awal Fermentasi Aseton-Butanol-Etanol dari Hidrolisat Tandan Kosong Kelapa Sawit pada Kultur Curah," Institut Pertanian Bogor, 1994.
- [5] O. Fond, G. Matta-Ammouri, H. Petitdemange, and J. Engasser, "The Role of Acid on Production Acetone and Butanol by *Clostridium acetobutylicum*," *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 22, no. 3, pp. 195–200, 1985.
- [6] S. Y. Lee, J. H. Park, S. H. Jang, L. K. Nielsen, J. Kim, and K. S. Jung, "Fermentative butanol production by *Clostridia*," *Biotechnol. Bioeng.*, vol. 101, no. 2, pp. 209–228, Oct. 2008.
- [7] T.-Y. Tsai, Y.-C. Lo, and J.-S. Chang, "Effect of Medium Composition and pH Control Strategies on Butanol Fermentation with *Clostridium Acetobutylicum*," *Energy Procedia*, vol. 61, pp. 1691–1694, 2014.
- [8] F. Monot, J. R. Martin, H. Petitdemange, and R. Gay, "Acetone and Butanol Production by *Clostridium acetobutylicum* in a Synthetic Medium," *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 44, no. 6, pp. 1318–1324, Dec. 1982.
- [9] A. Rahma, D. Junita, and L. Wuri, "Pabrik Biobutanol dari Ubi Kayu," Institut Teknologi Bandung, 2011.
- [10] P. Coniwati, M. N. P. Anka, and C. Sanders, "Pengaruh Konsentrasi, Waktu dan Temperatur terhadap Kandungan Lignin pada Proses Pemutihan Bubur Kertas Bekas," *J. Tek. Kim.*, vol. 21, no. 3, pp. 47–55, 2015.
- [11] L. A. Imanda, "Peranan Bakteri *Clostridium acetobutylicum* dalam Pembuatan Aseton dengan Pendekatan Rekayasa Genetika," Universitas Muhammadiyah Malang, 2011.
- [12] D. Grinanda and E. Restiawaty, "Pengaruh Komposisi Medium pada Tahap Solventogenik dalam Produksi Biobutanol dari Fermentasi Glukosa menggunakan *Clostridium acetobutylicum* B530," *Pros. Snips 2016*, pp. 261–267, 2016.