

HIDROLISIS SERAT SELULOSA DALAM BUAH BINTARO SEBAGAI SUMBER BAHAN BAKU BIOETANOL

T. Handoko*, G. Suhandjaja, H. Muljana
Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri
Universitas Katolik Parahyangan
Jalan Ciumbuleuit 94, Bandung 40141
Email: tony.handoko@yahoo.com

Abstrak

Pohon bintaro (*Cerbera odollam*) merupakan tanaman yang sering digunakan sebagai tanaman peneduh. Tanaman ini dapat tumbuh di lingkungan ekstrim dan banyak tersebar di Indonesia. Buah bintaro yang telah dikupas akan mengalami perubahan warna menjadi coklat yang menunjukkan adanya kandungan glukosa, yang berarti memiliki potensi sebagai sumber bioetanol. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui waktu dan konsentrasi substrat optimum yang memberikan perolehan glukosa tertinggi dan banyaknya kandungan selulosa dan lignin dalam buah bintaro. Manfaat penelitian ini adalah mendapatkan data kandungan selulosa dan lignin buah bintaro dan menambah pengetahuan berkaitan dengan proses hidrolisis enzim buah bintaro, berupa waktu hidrolisis optimum enzim dan konsentrasi substrat optimum, serta memberikan alternatif pemanfaatan buah bintaro sebagai salah satu bahan baku yang berprospek dalam pembuatan bioetanol. Metode penelitian terdiri dari penentuan kandungan selulosa dan lignin, penentuan pengenceran larutan enzim, waktu optimum dan konsentrasi substrat optimum dalam hidrolisis enzim. Hidrolisis menggunakan enzim Cellusoft L dengan konsentrasi 5 g/L buffer sitrat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pengenceran larutan enzim saat hidrolisis enzim akan mengurangi perolehan glukosa. Waktu hidrolisis optimum enzim buah bintaro adalah 72 jam dan konsentrasi substrat optimum adalah 80 g/L. Kandungan selulosa dan lignin buah bintaro berturut-turut adalah 36,945% dan 38%.

Kata kunci: bioetanol, buah bintaro (*Cerbera odollam*), hidrolisis enzim, selulosa.

Abstract

Sea mango (*Cerbera odollam*) is commonly planted to provide shade on roadsides. It can grow in an extreme environment and is easily found throughout Indonesia. The fruit will change its color after being peeled which indicates glucose content. It shows that the fruit has a value as a source for bioethanol production. The purposes of this research were to determine the optimum hydrolysis time and substrate concentration and the contents of lignin and cellulose. The benefits of this research were information about cellulose and lignin contents, optimum time and substrate concentration in enzyme hydrolysis, and an alternative utilization of sea mango as a prospective source in bioethanol production. The research methods consists of analyzing cellulose and lignin contents, determining the dilution of enzyme solution, the optimum time and the optimum substrate concentration in enzyme hydrolysis. Cellusoft L was used in hydrolysis with 5 g/L buffer concentration. The result showed that diluting enzyme solution would reduce the yield of glucose. The optimum time for enzyme hydrolysis is 72 hours and the optimum substrate concentration is 80 g/L. Cellulose and lignin contents are 36.945% and 38% respectively.

Keywords: bioethanol, cellulose, enzyme hydrolysis, sea mango (*Cerbera odollam*).

*korespondensi

1. Pendahuluan

Tanaman bintaro merupakan salah satu tanaman mangrove yang dapat tumbuh di tanah yang kurang nutrisi dan tersebar hampir di seluruh wilayah Indonesia. Tanaman bintaro dapat tumbuh hingga 12 meter dengan buah bulat lonjong berwarna hijau yang berdiameter 5–10 cm. (Top Tropicals, 2010; Mekarsari, 2012). Buah bintaro merupakan buah drupa (berbiji) dengan serat lignoselulosa yang menyerupai buah kelapa. Selama ini masyarakat hanya memanfaatkan tanaman bintaro sebagai tanaman peneduh kota sehingga belum memiliki nilai ekonomis. Budidaya tanaman ini juga belum banyak padahal buah bintaro memiliki potensi sebagai salah satu bahan baku bioetanol. Adanya kandungan selulosa menjadikan buah bintaro berpotensi sebagai sumber bahan baku bioetanol melalui proses hidrolisis yang memecah selulosa menjadi glukosa. Glukosa ini merupakan bahan baku fermentasi bioetanol. Buah bintaro juga memiliki kandungan lignin yang dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan arang aktif maupun sebagai bahan bakar dalam pembuatan bioetanol. Penggunaan buah bintaro dalam pembuatan bioetanol skala besar tidak akan menimbulkan persaingan dengan pemenuhan kebutuhan pangan masyarakat. Tanaman bintaro dapat digolongkan sebagai tanaman non pangan karena adanya kandungan racun pada biji bintaro.

Pembuatan bioetanol dengan cara fermentasi dari biomassa, khususnya tanaman nonpangan, banyak dikembangkan oleh negara-negara maju seperti Eropa, Amerika, dan Brazil. Negara-negara tersebut telah menggunakan bioetanol sebagai energi alternatif yang dapat diperbaharui dan ramah lingkungan untuk menggantikan Bahan Bakar Minyak (BBM). Kandungan bioetanol memiliki nilai oktan yang lebih tinggi sehingga penggunaan bioetanol pada kendaraan bermotor dapat mengurangi emisi gas rumah kaca (khususnya CO₂) sebesar 60-90% dibandingkan penggunaan bensin (KEI, 2010). Berbeda dengan negara lain, di Indonesia bioetanol lebih banyak dimanfaatkan sebagai pelarut dalam industri kosmetik, kimia-elektronika, dan farmasi. Produksi etanol di Indonesia sendiri diperkirakan akan terus meningkat dengan persentase kenaikan sebesar 5,6% seiring meningkatnya kebutuhan etanol untuk industri kimia dan farmasi (MRA, 2010). Rata-rata kebutuhan

bioetanol di Indonesia sebesar 1,4 juta kiloliter per tahun dengan produksi nasional rata-rata sekitar 240 juta liter per tahun (Unjianto, 2010).

Melihat peningkatan kebutuhan dari bioetanol di atas dan adanya potensi dari buah bintaro sebagai sumber bahan baku bioetanol maka perlu dilakukan penelitian yang berkaitan dengan pengolahan kandungan selulosa dan lignin dari buah bintaro. Terkait dengan hal tersebut, penelitian ini akan menentukan perlu tidaknya pengenceran enzim selulase, mencari waktu hidrolisis optimum enzim dan konsentrasi substrat optimum yang dibutuhkan untuk mencapai perolehan glukosa maksimum, serta menentukan kandungan selulosa dan lignin buah bintaro.

Buah bintaro merupakan buah drupa (buah biji) yang terdiri dari tiga lapisan yaitu epikarp atau eksokarp (kulit bagian terluar buah), mesokarp (lapisan tengah berupa serat seperti sabut kelapa), dan endokarp (biji yang dilapisi kulit biji atau testa). Secara fisik buah bintaro berserat serabut seperti kelapa. Serat pada buah bintaro dibentuk dari selulosa. Serat selulosa tersebut merupakan polimer glukosa yang memiliki ikatan β -1,4 glikosida yang terhubung secara bersama melalui ikatan hidrogen. Konfigurasi β inilah yang membuat selulosa bersifat keras, sukar larut dalam air, dan tidak manis. Ikatan β -1,4 glikosida pada serat selulosa dapat dipecah menjadi monomer glukosa dengan cara hidrolisis enzimatik. Ikatan glikosida yang dimiliki monomer glukosa dalam selulosa membuat struktur selulosa linier dan teratur. Keteraturan struktur tersebut menimbulkan ikatan hidrogen secara intra dan intermolekuler (Yun dkk., 2008). Selulosa secara alami diikat oleh hemiselulosa dan dilindungi oleh lignin. Adanya ikatan arilalkil dan ikatan eter senyawa pengikat lignin ini menyebabkan bahan-bahan lignoselulosa sulit untuk dihidrolisa (Iranmahboob dkk., 2002; Sun dkk. 2002). Lignin merupakan senyawa kompleks yang tersusun dari unit fenilpropana yang terikat di dalam struktur tiga dimensi dan merupakan material yang paling kuat di dalam biomassa. Lignin mengandung karbon yang relatif tinggi sehingga resisten terhadap degradasi. Oleh karena itu, lignin harus dipecah agar hemiselulosa dan selulosa dapat dihidrolisis.

Proses *pretreatment* perlu dilakukan untuk mengkondisikan bahan-bahan lignoselulosa baik dari segi struktur maupun

Tabel 1. Perbandingan Berbagai Metode Pretreatment (Sun dkk., 2002)

	Pretreatment fisik		Pretreatment kimia-fisik	
	Mechanical comminution	Uap tekanan tinggi	AFEX	CO ₂ tekanan tinggi
Lignin yang hilang	-	Sedang	Tinggi	-
Akses permukaan selulosa	Tinggi	Tinggi	Tinggi	Tinggi
Dekristalisasi selulosa	Tinggi	-	Tinggi	-
Kelarutan selulosa	-	Tinggi	Sedang	Tinggi

ukurannya. Rusaknya struktur kristal selulosa akan mempermudah terurainya selulosa menjadi glukosa. Berbagai macam metode fisik dan kimia-fisik telah banyak digunakan dalam proses *pretreatment* terhadap bahan baku lignoselulosa. Perbandingan berbagai metode tersebut dapat dilihat pada Tabel 1.

Dari Tabel 1 terlihat bahwa *pretreatment* fisik dengan *mechanical comminution* mampu meningkatkan akses enzim ke permukaan selulosa tanpa mengurangi kadar lignin. Oleh karena itu, *pretreatment* fisik akan digunakan dalam perlakuan awal buah bintaro. Proses *pretreatment* akan memecah lapisan pelindung lignin dan memperbesar luas permukaan kontak antara substrat buah bintaro dengan enzim selulase pada tahap hidrolisis. Hal tersebut membuat enzim selulase lebih efektif mengkonversi selulosa menjadi glukosa. Hidrolisis yang digunakan adalah hidrolisis enzim karena memiliki kemampuan untuk memproduksi glukosa dengan kadar tinggi (75-95%) dan tidak berlangsung pada temperatur tinggi. Hal ini tidak menyebabkan dekomposisi lignin lebih lanjut yang dapat mengurangi kandungan lignin pada padatan hidrolisat serta membentuk senyawa inhibitor seperti furfural dan hidroksimetil furfural (HMF) (Sun dkk., 2002; Taherzadeh dkk., 2008).

Enzim merupakan protein yang bersifat katalis sehingga sering disebut biokatalis. Enzim bekerja dengan cara menempel pada permukaan molekul zat-zat yang bereaksi dan mempercepat proses reaksi. Peningkatan laju reaksi tersebut terjadi karena enzim menurunkan energi aktivasi dan mempermudah terjadinya reaksi, namun tidak ikut bereaksi. Enzim bekerja secara spesifik sehingga enzim yang digunakan harus sesuai dengan polisakarida yang akan dihidrolisis (Saha, 2003). Enzim yang digunakan adalah enzim selulase berjenis - *Cellusoft L*. Enzim *Cellusoft L* terdiri dari campuran tiga jenis enzim, yaitu *endoselulase*, *eksoselulase* dan *selobiase*. Enzim ini bekerja spesifik untuk mengubah selulosa menjadi

glukosa melalui tiga tahap. Pada tahap pertama enzim *endoselulase* memecah ikatan kristal selulosa yang semula berupa ikatan silang menjadi ikatan selulosa rantai lurus. Pada tahap kedua, enzim *eksoselulase* memecah selulosa berantai lurus menjadi selobiose, yaitu senyawa yang terdiri dari dua molekul glukosa. Pada tahap terakhir, enzim *selobiase* mengubah selobiose menjadi molekul-molekul glukosa (Saha, 2003).

2. Metodologi

Penelitian ini menggunakan buah bintaro yang diperoleh dari tanaman peneduh jalan sejumlah 34 buah. Enzim yang digunakan dalam hidrolisis adalah enzim *Cellusoft L* dengan konsentrasi 5 g/L buffer sitrat. Penelitian dilakukan dalam dua tahap, yaitu tahap penelitian pendahuluan berupa perlakuan awal dan penentuan kandungan selulosa dan lignin, dan tahap penelitian utama berupa hidrolisis enzimatik buah bintaro.

Penelitian pendahuluan yang dilakukan adalah *pretreatment fisik* seluruh buah bintaro melalui pengeringan pada suhu 80 °C hingga kadar air mencapai 12-13%. Buah yang sudah kering kemudian digiling dan diayak hingga diperoleh serbuk buah bintaro berukuran 40-60 mesh. Serbuk kemudian dianalisis kandungan selulosa dan ligninnya di Balai Besar Pulp and Kertas, Kementerian Perindustrian RI di Bandung.

Dalam penelitian utama, serbuk buah bintaro yang sudah mengalami *pretreatment* fisik sebanyak 20 g dihidrolisis dengan variasi pengenceran larutan enzim, yaitu tanpa pengenceran dan dengan pengenceran 10 kali. Variabel yang diamati adalah konsentrasi glukosa hasil hidrolisis. Hidrolisis enzim dilakukan pada pH 4,8 dan suhu 50 °C karena enzim *Cellusoft L* bekerja optimum pada rentang suhu 40-55 °C dan pH 4,5-5,5. Larutan buffer sitrat ditambahkan untuk mempertahankan nilai pH pada 4,8. Hasil dari variasi pengenceran tersebut digunakan untuk menentukan waktu hidrolisis optimum. Penentuan waktu hidrolisis optimum

dilakukan dengan menganalisis kandungan glukosa hasil hidrolisis setiap jam pada 12 jam pertama dan selanjutnya setiap 24 jam hingga 192 jam. Penentuan konsentrasi substrat kemudian dilakukan dengan menganalisis glukosa pada variasi konsentrasi substrat 100, 80, 70, 50, 40, 20, 10, 5, dan 2,5 g/L menggunakan waktu hidrolisis optimum yang diperoleh dari tahap sebelumnya. Analisis glukosa dalam penelitian utama menggunakan metode Nelson-Somogyi.

3. Hasil dan Pembahasan

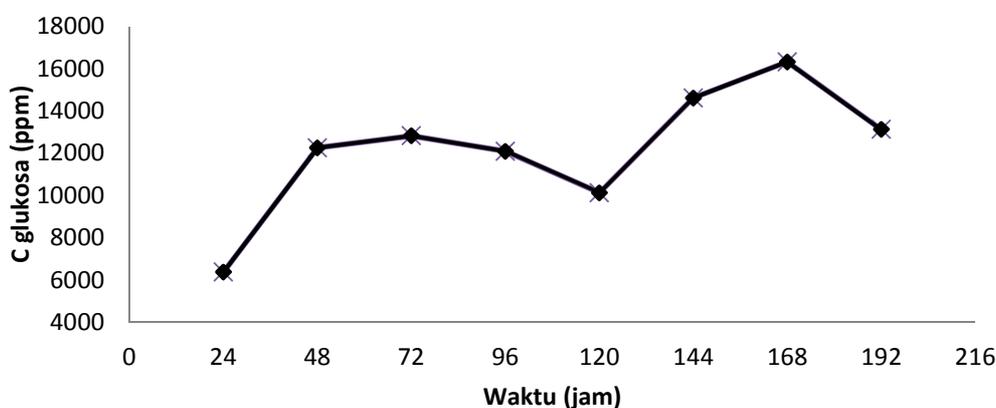
Pemecahan lignin pada buah bintaro dilakukan dengan *pretreatment* fisik berupa pengeringan pada 80 °C hingga mencapai kadar air 12–13%. Kadar air tersebut dibuat sama setiap tempuhan untuk mengurangi tingkat kesalahan percobaan dan memudahkan pengamatan. Kadar tersebut dipilih karena buah yang terlalu basah akan sulit dihancurkan dan dijadikan serbuk sehingga perolehan bahan baku menjadi sedikit. Kadar air yang terlalu kecil membuat buah menjadi sangat kering dan membuat banyak massa hilang saat ditumbuk dan digiling. Selama proses *pretreatment* terlihat perubahan warna buah bintaro dari warna putih menjadi kecoklatan. Hal ini disebabkan terjadinya proses oksidasi pada buah oleh oksigen yang ada di udara. Perubahan warna ini juga menunjukkan bahwa buah bintaro mengandung gugus aldehida. Buah yang sudah kering dihancurkan dan digiling hingga mencapai ukuran 40–60 mesh untuk memperbesar luas permukaan kontak antara buah dengan enzim. Serbuk buah bintaro kemudian dianalisis untuk mengetahui kandungan selulosa dan lignin. Hasil analisis penelitian pendahuluan dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kadar Selulosa dan Lignin Buah Bintaro

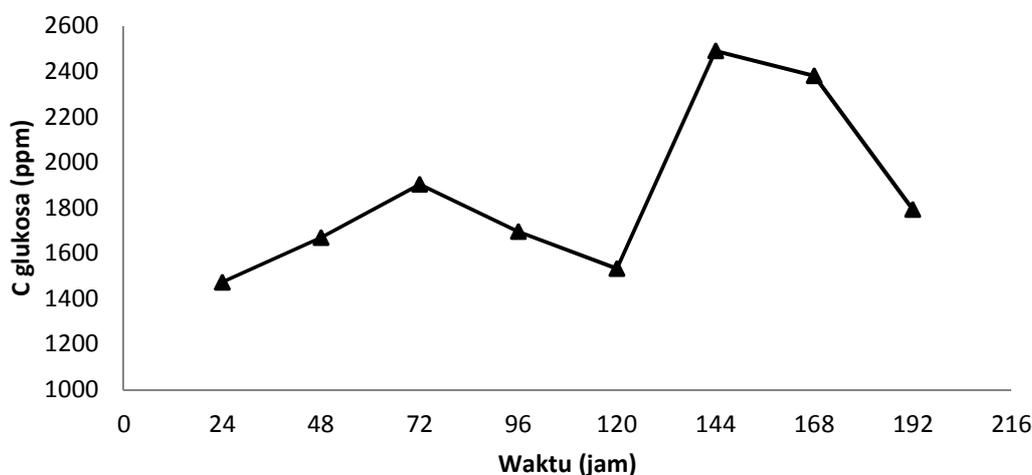
Kadar	Sebelum hidrolisis
Selulosa (%)	36,945
Lignin (%)	38,000

Hasil analisis menunjukkan bahwa serbuk buah bintaro memiliki kadar selulosa yang tidak berbeda jauh dengan kadar selulosa dalam jerami, 33–40%, dan kadar lignin yang lebih tinggi, 16–20% (McKean dan Jacobs, 1997). Kandungan tersebut dapat dikatakan cukup tinggi dan berpotensi menghasilkan glukosa melalui hidrolisis enzim.

Hasil tersebut kemudian dilanjutkan ke tahap penelitian utama, yaitu hidrolisis. Cairan hidrolisat hasil hidrolisis enzim membentuk campuran homogen yang mengandung glukosa, enzim dan larutan buffer sitrat. Enzim selulase tersebut tidak dapat digunakan kembali karena sulit dipisahkan dari campuran yang homogen, padahal harga enzim ini cukup mahal. Salah satu solusi untuk mengoptimalkan proses hidrolisis ini adalah meminimalkan penggunaan larutan enzim tanpa mengurangi kinerja enzim dalam memecah selulosa menjadi glukosa. Bila kadar enzim yang dipilih terlalu kecil maka efek penambahan enzim dalam mempercepat pemecahan selulosa menjadi glukosa akan sulit diamati dan perolehan glukosa terlalu sedikit. Oleh karena itu, tahap awal yang dilakukan adalah variasi pengenceran larutan enzim. Enzim yang digunakan sebanyak 5 g/L dengan variasi larutan enzim tanpa pengenceran dan pengenceran 10 kali. Perolehan glukosa pada kedua variasi dapat dilihat pada Gambar 1a dan 1b.



Gambar 1a. Perolehan glukosa dari hidrolisis serbuk buah bintaro tanpa pengenceran enzim



Gambar 1b. Perolehan glukosa dari hidrolisis serbuk buah bintaro dengan pengenceran enzim sejumlah 10 kali

Dari Gambar 1a dan 1b dapat disimpulkan bahwa perolehan glukosa dari hidrolisis tanpa pengenceran larutan enzim lebih banyak daripada hidrolisis dengan 10 kali pengenceran larutan enzim. Adanya pengenceran menyebabkan glukosa terlarut dalam ruang yang lebih luas sehingga pengamatan pada 1 mL sampel terlihat lebih sedikit dibandingkan tanpa pengenceran.

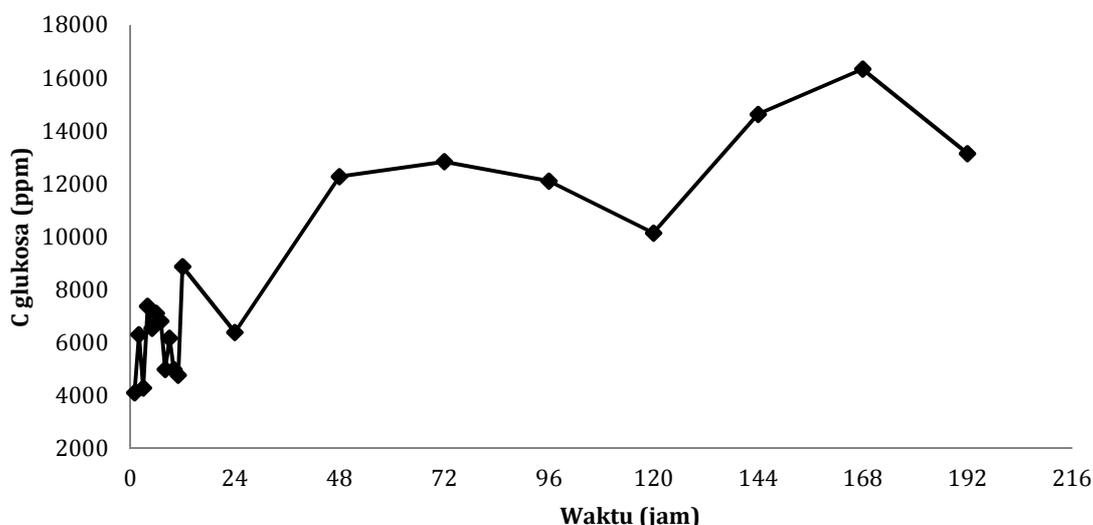
Kinerja enzim *Cellusoft L* pada hidrolisis dengan 10x pengenceran larutan enzim mengalami kenaikan dan penurunan glukosa yang tidak berbeda jauh dibandingkan hidrolisis tanpa pengenceran larutan enzim. Hal ini disebabkan larutan enzim yang lebih encer membuat enzim tersebar lebih merata, memiliki luas permukaan kontak antara enzim dengan substrat lebih besar, dan kinerja enzim lebih stabil. Walaupun kinerja enzim pada hidrolisis dengan 10 kali pengenceran larutan enzim lebih stabil, perolehan glukosanya jauh lebih kecil dibandingkan tanpa pengenceran. Konsentrasi produk glukosa pada hidrolisis dengan 10 kali pengenceran enzim berkisar pada 1.400–2.400 ppm. Sementara itu, konsentrasi produk glukosa pada hidrolisis tanpa pengenceran berkisar pada 6.300–16.000 ppm.

Konsentrasi glukosa maksimum hidrolisis dengan 10x pengenceran larutan enzim tercapai pada jam ke-144, yaitu sebesar 2.490 ppm. Sementara itu, perolehan glukosa hidrolisis tanpa pengenceran larutan enzim pada jam yang sama sebesar 14.625 ppm dan mencapai perolehan glukosa maksimum sebesar 16.332 ppm pada jam ke-168. Dari

data tersebut terlihat bahwa semakin luas kontak enzim dengan substrat dalam cairan, semakin cepat proses hidrolisis enzim untuk mencapai perolehan glukosa yang maksimum. Namun, perolehan glukosa hidrolisis dengan 10x pengenceran pada jam ke-144 masih 6 kali lebih kecil daripada tanpa pengenceran. Pada akhirnya, proses hidrolisis tanpa pengenceran enzim dipilih untuk percobaan selanjutnya karena menghasilkan konsentrasi glukosa rata-rata jauh lebih tinggi. Selain itu, penggunaan larutan buffer sitrat yang lebih sedikit membuat proses hidrolisis lebih ekonomis karena tidak membutuhkan reaktor dengan volume besar.

Penentuan waktu optimum dilakukan dengan pengamatan kadar glukosa setiap 1 jam pada 12 jam pertama dan selanjutnya setiap 24 jam. Tahap ini menggunakan larutan enzim yang tidak diencerkan. Hasil pengamatan penentuan waktu hidrolisis optimum dapat dilihat pada Gambar 2.

Perolehan glukosa pada 12 jam pertama mengalami kenaikan dan penurunan karena pemecahan glukosa dengan bantuan enzim belum stabil. Jika ditinjau secara keseluruhan, hidrolisis memiliki kecenderungan meningkat hingga mencapai perolehan glukosa tertinggi pada jam ke-168. Hidrolisis 72 jam menghasilkan glukosa dengan konsentrasi 12.835 ppm dengan kenaikan sebesar 213% dari jam ke-1. Proses hidrolisis enzim selama 168 jam menghasilkan glukosa dengan konsentrasi 16.333 ppm, mengalami kenaikan sebesar 27,25% dari hidrolisis selama 72 jam.



Gambar 2. Kurva perolehan glukosa terhadap waktu untuk penentuan waktu hidrolisis optimum

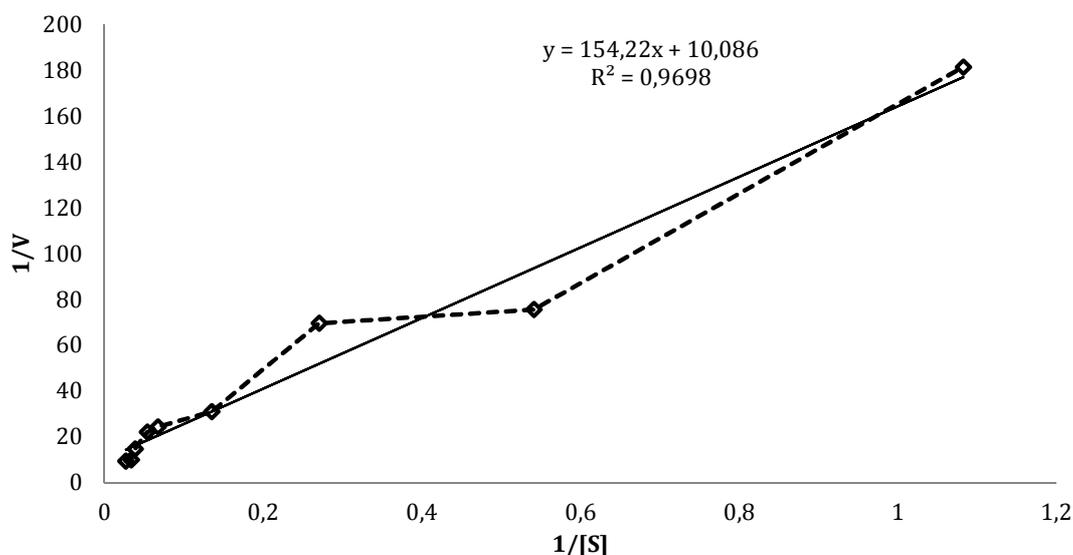
Hidrolisis 168 jam tersebut kurang ekonomis untuk skala industri karena terlalu lama. Hal ini membutuhkan biaya inkubasi dan pengadukan yang lebih besar. Selain itu, perolehan cairan hidrolisat yang sedikit membuat cairan harus dipisahkan dengan corong buchner dan menyebabkan adanya sebagian glukosa yang menempel di kertas saring. Waktu hidrolisis optimum yang dipilih adalah 72 jam dengan pertimbangan ekonomis dan perolehan cairan hidrolisat yang lebih banyak.

Waktu hidrolisis optimum 72 jam digunakan dalam penentuan konsentrasi substrat optimum. Konsentrasi substrat divariasikan dari 2,5 g/L hingga 100 g/L. Hasil pengamatan perolehan glukosa pada setiap konsentrasi substrat dapat dilihat pada Tabel 3, sedangkan kurva *Lineweaver-Burk* dari variasi konsentrasi substrat dapat dilihat pada Gambar 3.

Dari persamaan *Lineweaver-Burk* diperoleh afinitas enzim untuk mengikat substrat buah bintaro, yang ditunjukkan oleh konstanta laju (K_m), sebesar 15,29 g/L. Laju pembentukan glukosa maksimum berdasarkan persamaan *Lineweaver-Burk* sebesar $9,91 \cdot 10^{-2}$ g/L.jam. Pada Tabel 3 dapat dilihat bahwa perolehan glukosa maksimum sebesar 51,591% diperoleh pada saat konsentrasi substrat sebanding dengan konsentrasi larutan enzim. Laju pembentukan glukosa maksimum dicapai pada konsentrasi substrat 100 g/L, yaitu sebesar 0,107 g/L.jam, dengan konsentrasi glukosa maksimum sebesar 7,69 g/L dan perolehan sebesar 20,822%. Rasio konsentrasi larutan enzim terhadap konsentrasi substrat 1:20 memberikan perolehan 40% dari perolehan maksimum. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi substrat akan memberikan konsentrasi glukosa yang makin

Tabel 3. Perolehan Glukosa pada Setiap Konsentrasi Substrat untuk Penentuan Konsentrasi Optimum

Konsentrasi Substrat (g/L)	Berat substrat (g)	Laju g/L.jam	Konsentrasi glukosa (g/L)	Perolehan (%)
100	1,000	0,107	7,69	20,822
80	0,800	0,101	7,29	24,665
70	0,700	0,068	4,90	18,947
50	0,500	0,045	3,27	17,702
40	0,400	0,041	2,96	20,027
20	0,200	0,032	2,32	31,401
10	0,100	0,014	1,03	28,005
5	0,050	0,013	0,95	51,591
2,5	0,025	0,006	0,40	42,939



Gambar 3. Kurva *Lineweaver-Burk* dengan variasi konsentrasi substrat

tinggi dengan perolehan yang lumayan tinggi. Pada konsentrasi substrat 80 g/L, diperoleh perolehan sebesar 47,8% dari perolehan maksimum dengan konsentrasi glukosa 7,29 g/L. Konsentrasi substrat 80 g/L merupakan konsentrasi optimum dalam hidrolisis buah bintaro menjadi glukosa.

4. Kesimpulan

Buah bintaro memiliki kandungan selulosa yang sama dengan jerami dan kandungan lignin yang lebih tinggi dari jerami. Hal ini menunjukkan bahwa buah bintaro memiliki potensi sebagai sumber bahan baku bioetanol. Penggunaan enzim *Cellusoft L 5* g/L tanpa pengenceran dapat mengkonversi selulosa pada buah bintaro menjadi glukosa dengan konsentrasi tertinggi 7,69 g/L dan perolehan 20,822% untuk substrat 100 g/L. Perolehan maksimum diperoleh sebesar 51,591% untuk jumlah substrat yang sama dengan jumlah enzimnya. Konsentrasi substrat yang optimum adalah 80 g/L atau memiliki perbandingan konsentrasi larutan enzim terhadap substrat 1:16 dengan waktu hidrolisis optimum adalah 72 jam.

Daftar Pustaka

Cagnon, B.; Py, X.; Guillot, A.; Stoeckli, F.; Chambat, G., Contributions of hemicellulose, cellulose and lignin to the mass and the porous properties of chars and steam activated carbons from various lignocellulosic precursors, *Bioresource Technology*, **2009**, 100(1), 292-298.

Iranmahboob, J.; Nadim, F.; Monemi, S., Optimizing acid-hydrolysis: A critical step for production of ethanol from mixed wood chips. *Biomass and Bioenergy*, **2002**, 22(5), 401-404.

Market Research Analyst (MRA): Produksi Etanol. <http://www.marketresearchanalyst.com> (akses 3 Maret 2010).

McKean, W. T.; Jacobs, R. S., *Wheat Straw as a Paper Fiber Source*, Report for Recycling Technology Assistance Partnership (ReTAP), The Clean Washington Center: Seattle, WA, Juni 1997.

Mekarsari: Bintaro <http://www.mekarsari.com> (akses 22 Maret 2012).

PT. Kreatif Energi Indonesia (KEI): Penggunaan Gasohol. <http://www.indobiofuel.com> (akses 5 Maret 2010).

Saha, B. C., Hemicellulose bioconversion, *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, **2003**, 30(5), 279-291.

Sun, Y.; Cheng, J., Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review, *Bioresource Technology*, **2002**, 83(1), 1-11.

Taherzadeh, M. J.; Karimi, K., Enzyme-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials: A review, *BioResources*, **2007**, 2(4), 707-738.

Top Tropicals. *Cerbera odollam*.
<http://www.toptropicals.com> (akses 3 Januari 2010).

Unjianto, B., Kebutuhan Bioetanol Indonesia Capai 1,4 juta kiloliter/tahun. *Suara Merdeka* [Online] 12 Oktober 2010. <http://www.Suaramerdeka.com> (akses 26 Maret 2012).

Yu, Y.; Lou, X.; Wu, H., Some recent advances in hydrolysis of biomass in hot-compressed water and its comparisons with other hydrolysis methods. *Energy & Fuels*. **2008**, 22(1), 46-60.