

HIDROLISIS ENZIMATIS KERTAS BEKAS DENGAN VARIASI PEMANASAN AWAL

AM Fuadi¹, Kun Harismah¹, Adi Setiawan²

¹Dosen Teknik Kimia UMS

²Mahasiswa Teknik Kimia UMS

Jurusan Teknik Kimia-Fakultas Teknik-UMS

Jl. A. Yani Tromol Pos 1 Pabelan, Surakarta, Jawa Tengah 57162

Email: fuadi60@yahoo.com

Abstrak

Enzymatic of cellulose hydrolysis is degradation process of polymer (cellulose) to be its monomer by using cellulase enzyme. Cellulose containing in the HVS paper is very high, almost 90 % of paper is cellulose. Hydrolysis of cellulose can be done by using acid, but this process has negative impact to the surrounding, so this research used enzymatic hydrolysis. The negative side of enzymatic hydrolysis is need very long time to degrade cellulose to be glucose. In this research, initial heating was done to decrease reaction time. Initial heating was done at 40°C for 30, 60, 120 and 240 minutes. The objective of initial heating is to increase the reaction rate without decreasing of enzyme activity as catalyze. The result show that initial heating for 30-60 minutes resulted the highest glucose, that was 481,1 – 482,4 mg of glucose from 5 gram of HVS paper.

Keywords: *paper, enzymatic hydrolysis, cellulose, initial heating.*

1. PENDAHULUAN

a. Latar Belakang

Tingginya pemanfaatan minyak bumi sebagai sumber bahan bakar utama di dunia memicu munculnya dua permasalahan besar yaitu semakin menipisnya persediaan minyak bumi (*non renewable*) dan terkait dengan hal tersebut, harga minyak bumi yang semakin tinggi. Di Indonesia sendiri pemanfaatan bahan bakar minyak (BBM) sangat besar, hal tersebut disebabkan karena peningkatan jumlah kendaraan bermotor yang sangat pesat. Oleh karena itu perlu dicari sumber energi alternatif lainnya yang berasal dari bahan baku yang dapat diperbaharui. Pemerintah telah mengeluarkan Peraturan Presiden Republik Indonesia Nomor 5 Tahun 2006 tentang Kebijakan Energi Nasional untuk mengembangkan sumber energi alternatif sebagai pengganti BBM (Prihandana, 2007). Dimana sumber energi alternatif tersebut dapat digunakan sebagai pengganti BBM yang jumlahnya sangat terbatas. Kebijakan energi nasional menargetkan pada tahun 2000-2025 sebesar

5% kebutuhan energi nasional harus dapat dipenuhi melalui pemanfaatan biofuel sebagai energi baru.

Salah satu sumber energi alternatif yang dapat digunakan adalah bioetanol yang dapat dihasilkan dari fermentasi bahan yang mengandung glukosa. Bahan yang mengandung selulosa dapat digunakan menjadi glukosa. setelah di hidrolisis terlebih dahulu. Salah satu bahan yang banyak mengandung selulosa adalah kertas bekas. Konsumsi kertas di Indonesia terus meningkat satu kilogram (kg) per kapita per tahun atau sekitar 220 ribu ton. Kertas yang telah digunakan, biasanya hanya akan dibuang dan menimbulkan masalah bagi lingkungan. Apabila kertas bekas dibakar akan menimbulkan polusi udara, sedangkan apabila kertas bekas dibuang sembarangan akan menimbulkan bau busuk dan akan mencemari lingkungan. Oleh sebab itu pemanfaatan kertas bekas sebagai bahan baku bioetanol bisa mengatasi berbagai masalah diatas. Baik masalah energi maupun masalah lingkungan.

Dalam penelitian ini kertas yang digunakan adalah kertas HVS bekas, penggunaan kertas HVS bekas sebagai bahan baku karena kandungan selulosa didalam kertas HVS yang cukup tinggi. Untuk menghasilkan glukosa kertas HVS bekas dihidrolisis secara enzimatis menggunakan enzim selulase. Kelebihan hidrolisis enzimatis adalah karena sifatnya yang ramah lingkungan dan kondisi proses yang mudah dilakukan.

Penelitian ini dimaksudkan untuk menghasilkan glukosa dengan konversi yang tinggi dengan berbagai perlakuan, sehingga bioetanol yang dihasilkan nantinya semakin banyak. Dengan melihat fenomena diatas, untuk mengatasi masalah energi dan lingkungan maka penelitian ini perlu dilakukan.

b. Perumusan Masalah

1. Bagaimana cara mendapatkan konversi glukosa yang maksimal dalam proses hidrolisis enzimatis kertas bekas ?
2. Bagaimana pengaruh pemanasan awal terhadap kinerja enzim selulase pada hidrolisis selulosa menjadi glukosa?

c. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui pengaruh pemanasan awal pada proses hidrolisis enzimatis selulosa menjadi glukosa
2. Mengkaji pengaruh suhu terhadap konversi glukosa yang dihasilkan dari proses hidrolisis enzimatis selulosa
3. Menentukan waktu optimum pemanasan awal untuk mengetahui konversi glukosa yang optimum

d. Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi mengenai proses hidrolisis enzimatis menggunakan kertas bekas serta pengaruh waktu pemanasan awal terhadap kinerja enzim selulase
2. Meningkatkan nilai guna limbah kertas HVS bekas
3. Sebagai rujukan dalam penelitian berkelanjutan mengenai pemanfaatan limbah kertas bekas sebagai sumber energi terbarukan

2. KAJIAN LITERATUR DAN PENGEMBANGAN HIPOTESIS

a. Klasifikasi Kertas

Komposisi kertas HVS sebagian besar terdiri dari selulosa dibandingkan dengan kandungan lignin atau hemiselulosa. Kandungan selulosa pada kertas HVS mampu mencapai 90% berat. Makin tinggi kandungan selulosa pada kertas maka jumlah glukosa yang dihasilkan pada proses hidrolisis enzimatis akan lebih besar. (Taruna, *dkk.* 2010).

Jika dibandingkan dengan kertas buram, maka glukosa yang dihasilkan akan semakin rendah dikarenakan jumlah lignin yang cukup besar yang dikandung oleh kertas buram. Lignin merupakan komponen fenolik yang tidak mengandung gugus glukosa, maka produk degradasi lignin tidak menghasilkan glukosa (Taruna, *dkk.* 2010).

b. Komponen Lignoselulosa

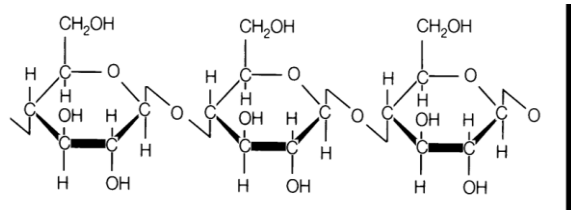
Secara umum material lignoselulosa terdiri dari selulosa (35- 50% berat), hemiselulosa (20-35% berat) dan lignin (10-25% berat) (Schacht et al., 2008). Kandungan selulosa dan hemiselulosa yang besar inilah yang membuat lignoselulosa sangat potensial dimanfaatkan untuk proses hidrolisis

Selulosa

Selulosa adalah senyawa organik yang paling melimpah di alam dan mudah diperbarui. Pemanfaatan selulosa telah dilakukan di berbagai bidang, diantaranya untuk produksi kertas, fiber, dan senyawa kimia turunannya untuk industri plastik, film fotografi, rayon, dan lainnya. Produk hidrolisis selulosa yaitu gula (glukosa) juga merupakan senyawa yang vital dalam industri bioproses.

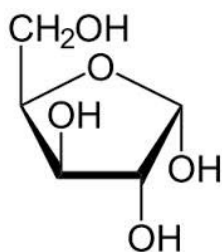
Saat ini banyak peneliti mengungkapkan bahwa limbah yang mengandung selulosa dapat digunakan sebagai sumber gula yang murah dan mudah didapat untuk menggantikan bahan pati dalam proses fermentasi (Graf & Koehler, 2000). Sumber selulosa yang dapat digunakan diantaranya adalah sisa-sisa produk pertanian dan hasil hutan, kertas bekas, dan limbah industri (White, 2000).

Selulosa adalah biopolimer linear yang tersusun dari molekul-molekul anhidro D-glukosa yang berikatan dengan β -1,4 glukosidik dengan ikatan hydrogen



Hemiselulosa

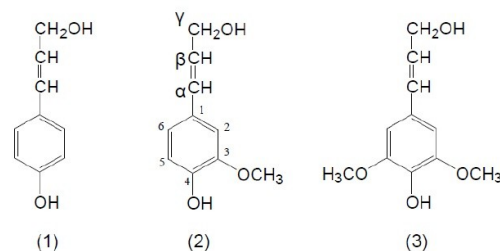
Hemiselulosa merupakan salah satu penyusun dinding sel tumbuhan selain selulosadan lignin, yang terdiri dari kumpulan beberapa unit gula atau disebut heteropolisakarida, dan dikelompokkan berdasarkan residu gula utama sebagai penyusunnya seperti xylan, mannan, galactan dan glucan. Hemiselulosa terikat dengan polisakarida, protein dan lignin dan lebih mudah larut dibandingkan dengan selulosa



Gambar 2.Struktur Hemiselulosa

Lignin

Lignin adalah bagian utama dari dinding sel tanaman yang merupakan polimer terbanyak setelah selulosa. Tidak seperti selulosa dan hemiselulosa, meskipun tersusun atas karbon, hydrogen dan oksigen, lignin bukanlah karbohidrat. Lignin adalah heteropolimer yang kompleks dengan berat molekul tinggi. Lignin tersusun dari tiga jenis unit fenilpropana yang berbeda yaitu *p*-kumaril, koniferil, dan sinapil alkohol (Girisuta, 2007).



Gambar 3.Struktur Lignin

c. Hidrolisis Selulosa Menjadi Glukosa

Hidrolisis merupakan proses pemecahan gula kompleks menjadi gula sederhana. Pada proses hidrolisis, selulosa diubah menjadi selobiosa atau sukrosa dan selanjutnya menjadi gula-gula sederhana seperti glukosa. Sementara itu hasil hidrolisis komponen hemiselulosa adalah campuran gula-gula sederhana seperti glukosa, galaktosa, xylosa, dan arabinosa (Schacht et al., 2008). Hidrolisis selulosa dapat dilakukan menggunakan larutan asam, larutan basa secara enzimatik, maupun termal, masing-masing dengan kelebihan dan kekurangannya (Pejo et al., 2008).

Hidrolisis dengan menggunakan asam

Proses hidrolisis secara asam dapat dilakukan dengan penambahan asam, seperti asam sulfat dan asam klorida. Hidrolisis asam adalah hidrolisis dengan menggunakan asam yang dapat mengubah polisakarida (pati, selulosa) menjadi gula. Asam akan bersifat sebagai katalisator yang dapat membantu dalam proses pemecahan karbohidrat menjadi gula. Rendemen glukosa yang tinggi dapat dihasilkan dari hidrolisis asam bila dicapai kondisi yang optimum (Girisuta, 2007).

Asam sulfat merupakan asam yang paling banyak diteliti dan dimanfaatkan untuk hidrolisis asam. Namun, kekurangan menggunakan metode ini adalah kurang ramah lingkungan. Terlebih lagi adalah bahaya zat asam yang digunakan terhadap kesehatan manusia. Di sisi lain, Hidrolisis asam pekat juga membutuhkan biaya investasi dan pemeliharaan yang tinggi, hal ini mengurangi ketertarikan untuk komersialisasi proses ini (Taherzadeh & Karimi, 2007).

Pada hidrolisis dengan menggunakan asam pada konsentrasi tinggi, gula yang dihasilkan akan diubah menjadi senyawa-senyawa furfural, 5-hydroxymethylfurfural (HMF), asam levulinik, asam asetat (acetic acid), asam format (formic acid), asam uronat (uronic acid), asam 4-hydroxybenzoic, asam vanilik (vanilic acid), vanillin, phenol, cinnamaldehyde, formaldehida (formaldehyde), dan beberapa senyawa lain (Pejo et al., 2008). Lama waktu hidrolisis mempengaruhi proses degradasi selulosa menjadi glukosa dan juga mempengaruhi degradasi glukosa sebagai produk. Waktu hidrolisis yang melebihi waktu optimum akan mendegradasi glukosa menjadi komponen-komponen yang lebih sederhana yang biasanya bersifat racun terhadap mikroorganisme (Grethlein, 1984).

Hidrolisis Termal

Hidrolisis termal dilakukan dengan menggunakan hot compressed water (HCW) sebagai media cair untuk proses hidrolisis. Hidrolisis termal menggunakan tekanan dan temperatur yang tinggi untuk memisahkan komponen organiknya, menghidrolisis hemiselulosa dan mengubah sifat-sifat selulosa dan lignin. Hidrolisis ini mempunyai beberapa keuntungan, seperti ramah lingkungan dan tidak memerlukan proses pemurnian. Larutan gula hasil hidrolisis mendapat perlakuan detoksifikasi untuk menghilangkan racun yang mungkin terkandung dalam bahan baku. Kerugian dari hidrolisis secara termal adalah adanya kemungkinan reaksi dekomposisi gula menjadi produk seperti 5-hydroxymethyl furfural dan asam levulinat. Selain itu dibutuhkan energi yang besar untuk mencapai temperatur reaksi (di atas 100°C) (Schacht et al., 2008).

Hidrolisis enzimatis

Proses menggunakan enzim biasanya lebih disukai daripada proses menggunakan asam karena enzim bekerja lebih spesifik sehingga tidak menghasilkan produk yang tidak diharapkan, dapat digunakan pada kondisi proses yang lebih ringan, dan lebih ramah lingkungan.

Pada proses hidrolisis secara enzimatis dapat digunakan enzim selulase atau enzim lainnya yang dapat memecah selulosa menjadi monomer-monomernya. Aplikasi hidrolisis menggunakan enzim secara sederhana dilakukan dengan mengganti tahap hidrolisis asam dengan tahap hidrolisis enzim. Hidrolisis enzimatis memiliki beberapa keuntungan dibandingkan hidrolisis asam, antara lain tidak terjadi degradasi gula hasil hidrolisis, kondisi proses yang lebih lunak (pH sekitar 4,70-4,80 dan suhu 45–50°C), tidak terjadi reaksi samping, lebih ramah lingkungan, dan tidak melibatkan bahan-bahan yang bersifat korosif (Cheng & Timilsina, 2011; Schacht et al., 2008). Beberapa kelemahan dari hidrolisis enzimatis antara lain adalah membutuhkan waktu yang lebih lama, dan kerja enzim dihambat oleh produk. Selain itu, enzim bekerja secara spesifik dan tidak bisa menembus lignin yang mengikat selulosa dan hemiselulosa. Sehingga sebelum dihidrolisis secara enzimatis, limbah lignoselulosa harus mengalami proses penghilangan lignin atau biasa disebut delignifikasi. Harga enzim yang relatif lebih mahal dibandingkan asam juga menjadi kerugian penggunaan hidrolisis enzimatis (Cheng & Timilsina, 2011; Schacht et al., 2008).

Selulosa dapat dihidrolisis secara enzimatis dengan menggunakan enzim selulase. Enzim selulase biasanya merupakan campuran dari beberapa enzim, sedikitnya ada tiga kelompok enzim yang terlibat dalam proses hidrolisis selulosa, yaitu endoglukanase (endo- β -1,4 glukukanase) yang bekerja pada wilayah serat selulosa yang mempunyai kristalinitas rendah untuk memecah selulosa, secara acak dan membentuk ujung rantai yang bebas, eksoglukanase (ekso- β -1,4 glukukanase) atau selobiohidrolase yang mendegradasi lebih lanjut molekul tersebut dengan memindahkan unit-unit selobiosa dari ujung-ujung rantai yang bebas, dan β -1,4 glukosidase atau selobiase yang menghidrolisis selobiosa menjadi glukosa. Hidrolisis selulosa juga dapat dilakukan dengan menggunakan mikroba yang menghasilkan enzim selulase,

seperti *Trichoderma reesei*, *Trichoderma viride*, dan *Aspergillus niger* (Cheng & Timilsina, 2011).

d. Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Hidrolisa

Suhu

Pada umumnya semakin tinggi suhu, semakin naik laju reaksi kimia, baik yang tidak dikatalis maupun yang dikatalis dengan enzim. Pengaruh suhu terhadap enzim ternyata agak komplek, misalnya suhu terlalu tinggi dapat mempercepat pemecahan atau pemisahan enzim, sebaliknya menurut Muchtadi, dkk (1992), suhu liquifikasi yang tinggi, akan mengakibatkan terjadi kerusakan enzim, tetapi apabila terlalu rendah akan mengakibatkan gelatinisasi tidak sempurna.

pH

Menurut Girinda (1998), pH sangat berpengaruh terhadap aktivitas enzim karena sifat ionik gugus karboksil dan asam amino mudah dipengaruhi pH. Hal ini menyebabkan konformasi enzim dan fungsi katalik enzim berubah, sehingga enzim bisa terdenaturasi dan kehilangan aktivitasnya. Aktivitas enzim tertinggi yang dapat dicapai umumnya disebut pH optimum. Enzim selulase pada umumnya stabil pada pH optimal yaitu 5,1-5,6.

Konsentrasi Enzim

Semakin banyak jumlah enzim yang ditambahkan pada selulosa, akan menghasilkan glukosa yang semakin banyak pula. Keadaan ini juga semakin mempercepat reaksi hidrolisa (Fitroyah, 2007).

Waktu Reaksi

Lama hidrolis adalah waktu reaksi yang dibutuhkan oleh suatu enzim untuk merombak bahan menjadi lebih sederhana. Lama hidrolisis dipengaruhi oleh konsentrasi substrat, enzim yang digunakan dan juga suhu hidrolisis. Waktu yang diperlukan tergantung dari dosis enzim yang diberikan (Tjokroadikoesoemo, 1986).

3. METODE PENELITIAN

a. Variabel

Variabel Terikat

Dalam penelitian ini yang menjadi variabel terikat yaitu:

- Konsentrasi Substrat (5 gram kertas kering)
- pH reaksi 5
- Suhu pemanasan 40 °C

Variabel Bebas

Dalam penelitian ini yang menjadi variabel bebas:

- Waktu hidrolisis (4, 20, 24, 28, 44, 48, 52, dan 66 jam)
- Waktu pemanasan awal (30, 60, 120 dan 240 menit)

b. Rancangan Penelitian

Dalam penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), dengan perlakuan sebagai berikut:

Faktor 1 : Waktu hidrolisis (4 Jam, 20 Jam, 24 Jam, 28 Jam, 44 Jam, 48 Jam, 52 Jam dan 64 Jam)

Faktor 2 : Pemanasan awal (30, 60, 120 dan 240 menit)

c. Alat Dan Bahan

Alat

No	Nama Alat	Ukuran	Jumlah
1	Blender	-	1
2	Botol Timbang	-	1
3	Kertas PH	-	7 lembar
4	Kertas Saring	-	-
5	Kompor Stirer	-	5
6	Penangas Air	-	1
7	Spektrofotometer	-	1
8	Vacum	-	1
9	Berbagai peralatan gelas	-	-

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi kertas bekas, aquades, asam

sulfat, enzim selulase, arsenomolybdate, Nelson A dan Nelson B.

Cara Kerja

Dalam penelitian ini menggunakan metode eksperimen. Penelitian ini terdiri dari dua tahap, yaitu tahap hidrolisis dan tahap uji kandungan glukosa:

a. Hidrolisis Kertas Bekas

Menyiapkan 4 erlenmeyer yang masing-masing berisi 5 gram kertas kering kemudian dicampur dengan 200 ml aquadest, setelah itu ditambahkan 0,7 gram enzim. Setelah semua bahan dicampur kemudian mengatur pH larutan dengan menambahkan H_2SO_4 2 N sebanyak 55 tetes agar pH larutan menjadi 5. Setelah pH diatur selanjutnya meletakkan erlenmeyer yang sudah berisi larutan diatas kompor penangas yang sebelumnya sudah di set suhunya. Suhu yang di kehendaki pada penelitian ini adalah $40^{\circ}C$ dengan variasi waktu pemanasan awal (30, 60, 120 dan 240 menit). Nyalakan stirrer kemudian larutan diambil sebanyak 5 ml sesuai dengan variasi waktu yang sudah di tentukan yaitu setiap (4 Jam, 20 Jam, 24 Jam, 28 Jam, 44 Jam, 48 Jam, 52 Jam dan 66 Jam).

b. Penentuan Kadar Glukosa

Sampel yang sudah diambil sesuai suhu dan waktunya kemudian diuji kandungan

glukosanya dengan menggunakan sinar spektrofotometer. Sampel sebelumnya di senrifuge dengan kecepatan 2500 rpm selama 10 menit, kemudian diambil 1 ml sampel, ditambahkan 1 ml larutan nelson, selanjutnya dipanaskan selama 20 menit pada suhu $100^{\circ}C$. Setelah itu didinginkan dan ditambah larutan arsenomolybdate 1 ml sambil dikocok, setelah itu ditambahkan 7 ml aquadest. Larutan diuji adsorbansinya menggunakan spektrofotometer untuk mengetahui kandungan glukosanya.

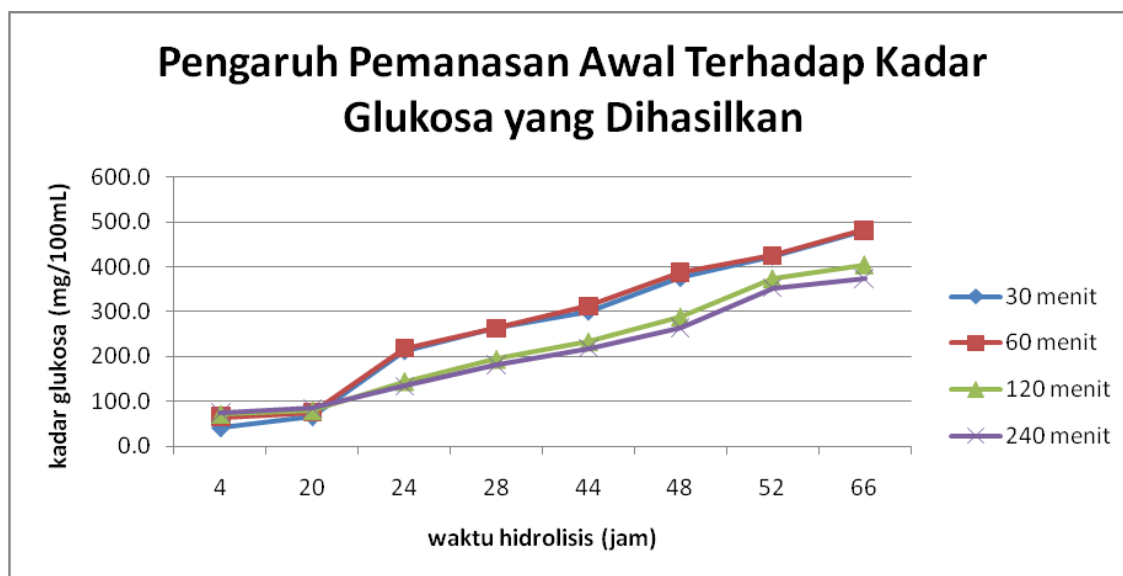
4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hidrolisis enzimatis dengan variasi pemanasan awal ini dilakukan dengan menambahkan larutan H_2SO_4 sebanyak 55 tetes untuk mencapai ph 5 dan pada suhu $40^{\circ}C$ dengan variasi pemanasan awal (30, 60, 120 dan 240 menit). Untuk mengetahui kadar glukosa yang dihasilkan, maka dilakukan pengambilan sample sebanyak 5 ml pada setiap waktu (4 Jam, 20 Jam, 24 Jam, 28 Jam, 44 Jam, 48 Jam, 52 Jam dan 66 Jam). Setelah mendapatkan sample, dilakukan pengujian glukosa dengan metode nelson menggunakan alat spektrofotometer. Dari pengujian didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel 1. Kadar glukosa.

KADAR ENZIM 07 dengan Pemanasan Awal	KADAR GLUKOSA PADA WAKTU (mg/100ml)							
	4	20	24	28	44	48	52	66
1/2 jam	40,6	65,2	212,5	262,5	300,3	375,2	423,4	481,1
1 jam	64,7	75,6	217,8	262,6	311,9	388,1	425,3	482,4
2 jam	71,6	79,5	144,2	193,7	232,3	287,9	372,6	403,4
4 jam	73,3	84,0	133,0	180,2	217,7	264,1	353,0	373,7

Grafik 1. Pengaruh pemanasan awal terhadap kadar glukosa yang dihasilkan



Pada Grafik 1 pemanasan awal untuk menentukan hasil yang optimum didapatkan kecenderungan grafik yang selalu naik setiap waktu pengambilan sample pada waktu pemanasan awal, hal ini menunjukkan bahwa semakin lama waktu hidrolisis maka glukosa yang dihasilkan semakin banyak. Pada Grafik 1 juga menunjukkan bahwa pemanasan awal 120 dan 240 menit pada awalnya memiliki kadar glukosa yang lebih tinggi dari pemanasan awal 30 dan 60 menit, yaitu pada waktu 4 jam sampai 20 jam, namun setelah 20 jam menunjukkan pemanasan awal 30-60 menit mengalami peningkatan kadar glukosa yang cukup tinggi dari waktu hidrolisis 20 jam ke 24 jam yaitu 75,6 mg menjadi 217,8 mg peningkatan ini merupakan peningkatan kadar glukosa yang tertinggi dari pemanasan awal 60 menit. Namun hasil ini tidak diperoleh dari pemanasan awal 120 menit dan 240 menit, meskipun hasilnya selalu naik tapi tidak mengalami peningkatan yang signifikan.

Dari Grafik juga diperoleh bahwa pemanasan awal yang paling tinggi yaitu dengan pemanasan awal 60 menit dengan kadar glukosa yang dihasilkan sebanyak 482,4 mg dan kadar glukosa yang paling rendah didapatkan pada pemanasan awal 240 menit dengan hasil sebanyak 373,7 mg. Dari

hasil yang diperoleh menunjukkan pemanasan awal mempengaruhi kadar glukosa yang dihasilkan. Semakin lama waktu pemanasan awal hasil glukosa yang dihasilkan semakin rendah dan waktu optimum pemanasan awal 60 menit.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari penelitian yang dilakukan dan hasil yang didapatkan maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Variasi pemanasan awal berpengaruh terhadap tingginya kandungan glukosa yang dihasilkan dalam proses hidrolisis enzimatis.
2. Semakin lama waktu pemanasan awal maka hasil yang didapatkan semakin rendah.
3. Waktu pemanasan awal optimum yaitu 60 menit pemanasan, dengan hasil glukosa mencapai 482,4 mg

Saran

Untuk melengkapi penelitian ini perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dalam skala laboratorium dengan variasi yang berbeda untuk mendapatkan kadar glukosa yang paling banyak sehingga dapat menghasilkan bioetanol yang semakin banyak pula.

6. DAFTAR PUSTAKA

- Cheng, J. J., & Timilsina, G. R. (2011). Status and barriers of advanced biofuel technologies: A review. *Renewable Energy*, 36, 3541-3549
- Fitroyah, D.F 2007. *Pembuatan Sirup Fruktosa dari Umbi Gembili secara Hidrolisis Enzimatis*, Skripsi. Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, UPN "Veteran" Jawa Timur.Surabaya
- Girisuta, B., Janssen, L., & Heeres, H. J. (2007). Kinetic study on the acid-catalyzed hydrolysis of cellulose to levulinic acid. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 46, 1696-1708
- Graf, A. & Koehler, T. 2000. *Oregon Cellulose-Ethanol study. An Evaluation of the potential for ethanol production in Oregon using cellulose-based feedstock*. Oregon Office of Energy. Oregon
- Grethlein, H. E. 1984. Pretreatment for enhanced hydrolysis of cellulosic biomass. *Biotechnology Advances*, 2, 43-62
- Muchtadi, D., palupi, D., Astwan, N.S. 1992. *Enzim Dalam Industri Pangan*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Pejo, E. T., Oliva, J. M., & Ballesteros, M. 2008. Realistic approach for full scale bioethanol production from lignocellulose : A review. *Journal of Scientific and Industrial Research*, 67, 874 - 884
- Prihandana. 2007. *Bioetanol Ubi kayu Bahan Bakar Masa Depan*. Agromedia. Jakarta.
- Schacht, C., Zetzl, C., & Brunner, G. (2008). From plant materials to ethanol by means of supercritical fluid technology. *The Journal of Supercritical Fluids*, 46, 299-321
- Taherzadeh, M.J. and Karimi, K. 2007. *Acid-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials: a review.*, *Bioresources* 2(3), pp. 472-499
- Taruna, H., Rita A., Tania S., Sri A. 2010. *Studi Awal Pemanfaatan Limbah Kertas HVS sebagai Bahan Baku Dalam Proses Pembuatan Etanol*. Universitas Indonesia
- Tjokroadikoesomo, s. 1986. *HFS dan Industri Kayu Lainnya*. Gramedia. Jakarta
- White, J.G. 2000. *Oregon perspective on cellulose-to-ethanol*. Oregon Office of Energy. Oregon