

## **TEKNIK PERLAKUAN AWAL DAN SAKARIFIKASI TANDAN KOSONG KELAPA SAWIT MENJADI GULA REDUKSI SEBAGAI BAHAN BAKU PRODUKSI BIOETANOL**

*Sutikno<sup>1,2</sup>, Marniza<sup>1</sup>, Nawansih, O<sup>1</sup>, dan Feriandi<sup>3</sup>.*

1. Dosen Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
2. Alamat Email: sutikno@unila.ac.id; sutiknolampung@yahoo.com
3. Mahasiswa Pascasarjana Program Magister Teknologi Industri Pertanian Universitas Lampung

### **ABSTRAK**

Ketersediaan tandan kosong kelapa sawit (TKKS) di Indonesia sangat berlimah. TKKS mengandung lignoselulosa tinggi (42,3% selulosa, 28,6% hemiselulosa, dan 22,4% lignin) yang berpotensi sebagai bahan baku produksi bioetanol. Masalah pokok dalam produksi bioetanol dari TKKS adalah belum optimumnya teknik perlakuan awal untuk menghidrolisis lignoselulosa menjadi gula reduksi yang siap dikonversi menjadi bioetanol oleh mikroba *Saccharomyces*. Tujuan penelitian ini adalah untuk menemukan teknik hidrolisis lignoselulosa TKKS yang mampu menghasilkan kadar gula reduksi yang tinggi. Untuk mencapai tujuan tersebut, TKKS digiling sampai lembut (lolos saringan 40 mesh), direndam dalam larutan 0 – 1,0 M NaOH, kemudian dihidrolisis dengan enzim selulase pada konsentrasi 0 – 15 FPU. Perlakuan yang paling baik dalam penelitian ini adalah perendaman TKKS dalam 1 M NaOH pada suhu 121°C selama 15 menit untuk mendegradasi lignin dan holoselulosa yang dihasilkan dihidrolisis dengan menggunakan 10 FPU enzim selulase pada suhu 50°C, goyangan 100 rpm selama 18 jam. Gula reduksi yang dihasilkan dengan perlakuan tersebut adalah 16,4 g/L.

**Kata Kunci:** *Tandan kosong kelapa sawit (TKKS), gula reduksi, enzim selulase, perlakuan awal NaOH.*

### **ABSTRACT**

Palm oil empty fruit bunch (EFB) is abundantly available in Indonesia. EFB contains high lignocelluloses - 42,3% cellulose, 28,6% hemicelluloses, and 22,4% lignin – which potentially can be utilized as raw material of bioethanol production. Main problems in producing bioethanol from EFB are techniques of EFB pretreatment and saccharification. Objectives of this research were to find out the best pretreatments with NaOH solution at high temperatures and saccharification with cellulase on EFB for producing reduced sugar. To achieve the objective, EFB were ground up to 40 mesh, submerged into 0 – 1,0 M NaOH solution at 121°C for 30 minutes, and then saccharified with cellulase at a concentration of 0 – 15 FPU. The best pretreatment and saccharification was EFB submersion into 1,0 M NaOH solution at 121°C for 15 minutes and incubation of the EFB holocellulose with 10 FPU cellulase enzyme at 50°C, 100 rpm for 18 hours. The reduced sugar yielded with the pretreatment and saccharification was 16,4 g/L.

**Key Words:** *Palm empty fruit bunch, pretreatment, NaOH, cellulase enzyme, saccharification.*

## **PENDAHULUAN**

Kebutuhan bahan bakar untuk transportasi semakin lama semakin meningkat. Saat ini 98% kebutuhan bahan bakar untuk transportasi dipenuhi oleh bahan bakar minyak (BBM) (Gomez *et al.*, 2008). Kebutuhan BBM Indonesia pada tahun 2004 adalah 64.700.000 kilo liter (kL) (Hayun, 2008). Menurut Hayun (2008) perkiraan kebutuhan BBM pada tahun 2010 menjadi 97.100.000 kL, sedangkan pada tahun 2015 kebutuhan BBM menjadi 136.200.000.

Sementara itu, cadangan minyak bumi yang dimiliki oleh Indonesia terus menyusut. Pada tahun 1974, Indonesia memiliki cadangan minyak bumi 15.000 metrik barel (MB) dan menurun menjadi 5.123 MB pada tahun 2000, dan 4.301 MB pada tahun 2005. Penurunan produksi ini disebabkan oleh sumur-sumur yang sudah tua, teknologi yang digunakan sudah ketinggalan dan iklim investasi di sektor pertambangan minyak kurang kondusif sehingga tidak banyak perusahaan asing maupun nasional yang melakukan investasi di sektor perminyakan (Dartanto, 2005). Selain persediaannya terbatas (tidak terbarukan), penggunaan BBM mempunyai kelemahan dan salah satunya yaitu berdampak negatif terhadap lingkungan yang dikenal dengan efek rumah kaca (Brown *et al.*, 1998).

Untuk mengatasi kelemahan BBM tersebut, beberapa negara menggunakan bioetanol sebagai pengganti BBM. Amerika Serikat (USA) yang memproduksi bioetanol dari biji jagung telah lama menggunakan bioetanol sebagai substitusi BBM; sementara itu, Brasil menggunakan gula tebu atau molasses sebagai bahan baku bioetanol (Antoni *et al.*, 2007). Hal ini mengakibatkan harga gula dan jagung naik karena gula dan jagung juga digunakan sebagai bahan pangan dan pakan, sehingga akan menjadi konflik antar pangan dan energi. Untuk menghindari konflik antar pangan dan energi, bioetanol perlu diproduksi dari limbah agroindustri. Limbah agroindustri yang dapat digunakan sebagai bahan baku bioetanol adalah limbah yang mengandung lignoselulosa seperti tandan kosong kelapa sawit (TKKS), ampas tebu, dan jerami padi yang persediaannya berlimpah dan harganya murah (Sutikno *et al.*, 2010).

TKKS adalah salah satu produk samping pabrik kelapa sawit yang jumlahnya sangat melimpah. Produksi TKKS di Indonesia lebih dari 20.750.000 ton per tahun (Isroi, 2008). Produksi TKKS ini makin lama makin meningkat dengan meningkatnya luas

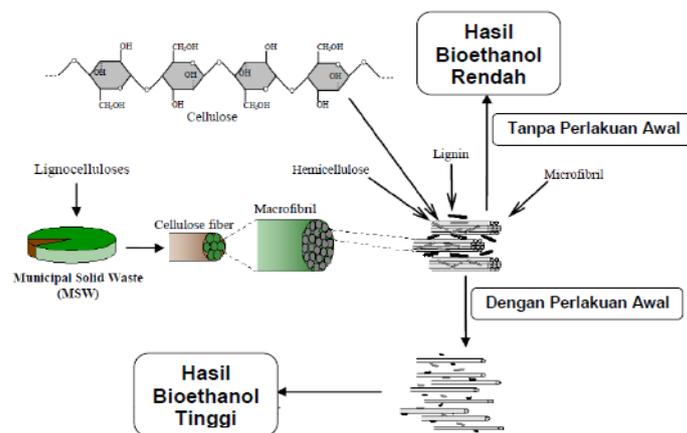
areal perkebunan sawit di Indonesia. TKKS mengandung lignoselulosa yang tinggi; yaitu 59,7% selulosa, 22,2 % hemiselulosa, dan 18,1% lignin (Misson *et al.* 2009). Jadi, TKKS sangat berpotensi sebagai bahan baku produksi bioetanol.

Seperti halnya biomasa limbah agroindustri yang lain, TKKS tidak dapat langsung difermentasi oleh mikroba menjadi bioetanol karena banyak mengandung selulosa, hemiselulosa, dan lignin yang membentuk makrofibril dan mikrofibril yang merupakan senyawa kompleks (Gambar 1).

Senyawa kompleks ini harus diberi perlakuan awal terlebih dahulu sebelum difermentasi oleh mikroba agar bioetanol yang dihasilkan tinggi. Beberapa peneliti telah memberi perlakuan awal terhadap biomasa limbah agroindustri secara biologi (Lynd *et al.*, 2002), asam (Mujiati, 2010), dan basa (Putri, 2010). Namun hasilnya belum memuaskan.

Untuk mengatasi hal tersebut, perlakuan awal dengan menggunakan enzim telah diterapkan oleh beberapa peneliti (Taherzadeh and Karimi, 2007<sup>B</sup>; Sansuri *et al.*, 2009). Enzim selulase dan selubiase tidak dapat langsung mendegradasi selulosa dan hemiselulosa biomas limbah agroindustri karena terhalang oleh lignin yang mengelilinginya (Gambar 1). Oleh sebab itu, lignin tersebut perlu didegradasi sebelum menghidrolisis selulosa dan hemiselulosa (holoselulosa) dengan enzim.

Tujuan penelitian ini adalah untuk menemukan teknik perlakuan awal dan sakarifikasi lignoselulosa TKKS yang mampu menghasilkan kadar gula reduksi yang tinggi.



Gambar 1. Skematik makro dan mikrofibril dalam serat selulosa bahan lignoselulosa dan pengaruh perlakuan awal terhadap hasil bioethanol

Sumber: Taherzadeh and Karimi, 2008.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan dan Alat

Bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah TKKS yang diperoleh dari perkebunan kelapa sawit PTPN VII di Bekrie Lampung Tengah, enzim selulase (Celluclast 1,5 L) yang diperoleh dari Balai Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT) di Sulusuban Lampung Tengah, dan bahan kimia antara lain NaOH, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Nelson A, Nelson B dan arsenomolibdat yang didapatkan dari Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Sedangkan alat-alat yang digunakan antara lain mikropipet (Thermo Scientific, Finnpiette F3) 1000µL, oven (Philip Harris Ltd), timbangan 3 digit (Mettler M3000 Swiszerlan), grinder, ayakan (40 mesh), *shaker waterbath* (Polyscience), inkubator (Memmert), hot plate (Cimerec3), sentrifuge (Thermo Electron Corporation, Model IEC Centra CL2, made in China), autoklaf (Wiseclave<sup>TM</sup>), spektrophotometer DR 4000 (Shimadzu, USA).

### Prosedur Penelitian

#### Persiapan Bahan

TKKS dikeringkan sampai berat konstan menggunakan oven (Philip Harris Ltd) pada suhu 105°C. Selanjutnya TKKS digiling sampai berukuran 40 mesh, dianalisis kadar lignoselulosa (selulosa, hemiselulosa dan lignin)nya, dan disimpan dalam kondisi kering sebelum digunakan.

#### Perlakuan Awal dengan NaOH

Tujuan perlakuan awal ini adalah untuk membebaskan lignoselulosa TKKS dari lignin agar holoselulosa TKKS mudah dihidrolisis dengan enzim selulase. Perlakuan awal bahan baku menggunakan metode Sutikno *et al.*, (2010). Sampel TKKS dengan berat konstan dan ukuran 40 mesh ditimbang sebanyak 20 gram dimasukkan dalam erlenmayer ukuran 500mL, kemudian ditambahkan 300 mL larutan NaOH 0, 0.50, 0.75, dan 1.00 M. Setelah dihomogenisasi dengan *shaker* (Adolf Kuhner AG CH-4127) pada kecepatan goyangan 100 rpm selama 3 menit, sampel dipanaskan dalam *autoclave* (Wiseclave<sup>TM</sup>) pada suhu 121°C selama 0, 15, dan 30 menit. Setelah itu, sampel dicuci dengan 3200 mL aquades dan kemudian dibilas dengan 800 mL aquades. Setelah

dibilas, bagian padat dari sampel dikeringkan dalam oven (Philip Harris Ltd) pada suhu 105°C selama 24 jam. Perlakuan terbaik (konsentrasi larutan NaOH) digunakan untuk mempersiapkan lignoselulosa sebelum hidrolisis secara enzimatis.

### **Sakarifikasi Secara Enzimatis**

Tujuan sakarifikasi secara enzimatis adalah untuk menghidrolisis sebanyak mungkin holoselulosa TKKS dengan enzim selulase menjadi gula reduksi. Hidrolisis secara enzimatis dilakukan menurut metode Samsuri *et al.*, (2007) yang telah dimodifikasi. Sebanyak 2 gram holoselulosa TKKS dimasukkan ke dalam erlenmeyer 100 mL dan ditambahkan buffer sitrat 33.6 mL pH 4,8. Sample kemudian ditambah enzim selulase (Celluclast 1.5 L) sebanyak 6,4 mL dengan konsentrasi 0 FPU, 5FPU, 10 FPU dan 15 FPU, kemudian sampel tersebut diinkubasi pada suhu 50°C dalam *shaker waterbath* (Polyscience) dengan kecepatan 100 rpm selama 0, 6, 12, 18 dan 24 jam.

### **Analisis lignoselulosa, degradasi lignin, dan Gula Reduksi**

TKKS sebelum digunakan dalam penelitian ini dianalisis kadar lignoselulosa (selulosa, hemiselulosa dan lignin)-nya menurut Metode Chesson (Datta, 1981). Derajat degradasi lignin TKKS dilakukan menurut Metode Misson *et al.* (2009). Sedangkan analisis gula reduksi hasil hidrolisis holoselulosa TKKS dengan enzim selulase dilakukan menurut Metode Nelson – Somogyi (Sudarmadji, dkk, 1984).

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Kadar Lignoselulosa**

Setelah dikeringkan dan ditepungkan, TKKS dianalisis kadar lignoselulosa. Hasil analisis menunjukkan bahwa TKKS yang digunakan dalam penelitian ini mengandung 42,3% selulosa, 28,6% hemiselulosa, dan 22,4% lignin. Putri (2010) juga menyatakan bahwa TKKS mengandung 42,2% selulosa, 28,3% hemiselulosa, dan 22,3% lignin; Sementara itu, Misson *et al.* (2009) melaporkan bahwa TKKS mengandung 59,7% selulosa, 22,2% hemiselulosa, dan 18,1% lignin. Jadi hasil analisis lignoselulosa TKKS dalam penelitian ini tidak jauh berbeda dengan hasil yang dilaporkan oleh peneliti lain. Kandungan lignoselulosa ini akan berpengaruh terhadap jumlah gula reduksi yang dihasilkan selama hidrolisis.

### **Perlakuan Awal dengan NaOH**

Untuk mendegradasi lignin dalam perlakuan awal, tepung TKKS kering berukuran 40 mesh direndam dalam 0 – 1.0 M larutan NaOH pada suhu 121°C selama 0 – 30 menit. Setelah itu, derajat degradasi lignin TKKS ditentukan dan hasilnya berkisar antara 0 – 93% (Gambar 2). Derajat degradasi terendah terdapat pada perlakuan perendaman dalam air (0 M larutan NaOH) pada suhu 121°C). Ini menunjukkan bahwa perendaman TKKS dalam air pada tidak mampu mendegradasi ligninnya.

Sementara itu, derajat degradasi lignin tertinggi (>90%) terdapat pada perlakuan perendaman TKKS dalam larutan 1.0 M NaOH yang dipanaskan pada suhu 121°C selama 15 dan 30 menit (Gambar 2). NaOH mampu mendegradasi lignin dan derajat degradasinya semakin tinggi pada suhu tinggi (Misson *et al.*, 2009; Putri, 2010). Larutan alkali mampu melarutkan lignin dan sebagian hemiselulosa. NaOH secara teoritis dapat mendegradasi lignin dengan cara memecah ikatan silang ester pada lignin dan meningkatkan porositas biomasa limbah agroindustri (Rebeca *et al.* 2007).

Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Sutikno dkk (2010) yang menggunakan larutan 1.0 M NaOH untuk merendam bagas pada suhu 121°C selama 15 menit dan tingkat degradasi lignin yang dihasilkan adalah 99%. Misson *et al* (2009) melaporkan tingkat degradasi lignin TKKS yang direndam dalam larutan NaOH dan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sebesar 72%. Hal ini menunjukkan bahwa perendaman limbah agroindustri dalam larutan NaOH merupakan teknik yang sangat potensial untuk mendegradasi lignin.

Pada penelitian ini, tingkat degradasi lignin TKKS yang direndam dalam larutan 1.0 M NaOH pada suhu 121°C selama 15 menit relatif sama (lebih dari 90%) dengan degradasi lignin TKKS yang direndam dalam larutan 1.0 M NaOH pada suhu 121°C selama 30 menit. Oleh sebab itu, perlakuan perendaman TKKS dalam larutan 1.0 M NaOH pada suhu 121°C selama 15 merupakan perlakuan terbaik dalam mendegradasi lignin TKKS. Dan perlakuan ini digunakan untuk mempersiapkan holoselulosa TKKS sebelum proses sakarifikasi secara enzimatis dilaksanakan.

### **Hidrolisis Holoselulosa Secara Enzimatis**

Holoselulosa TKKS hasil perendaman dalam larutan NaOH kemudian dihidrolisis menggunakan enzim selulase (Celluclast 1.5 L) dengan konsentrasi 0 - 15 FPU untuk menemukan konsentrasi enzim terbaik. Setelah ditambahkan enzim, sampel diinkubasi

pada suhu 50°C, pH 4,8, dan kecepatan goyangan 100 rpm selama 0 - 24 jam. Setelah diinkubasi, sample dipusingkan untuk mendapatkan filtratnya yang kemudian dianalisis kadar gula reduksinya. Hasil analisis menunjukkan bahwa kadar gula reduksi berkisar antara 0,1 sampai 16,4 g/L (Gambar 3)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin lama inkubasi dan semakin tinggi konsentrasi enzim selulase menghasilkan gula reduksi yang semakin tinggi (Gambar 3). Tanpa adanya enzim (0 FPU), gula reduksi yang dihasilkan sangat sedikit (kurang dari 0,12 g/L). Ini menunjukkan bahwa hampir tidak ada holoselulosa TKKS yang dapat dihidrolisis menjadi gula reduksi. Sementara itu, adanya enzim dengan konsentrasi tinggi (10 dan 15 FPU), gula reduksi yang dihasilkan sangat tinggi (lebihkurang 16 g/L). Ini menunjukkan jumlah holoselulosa TKKS yang dihidrolisis menjadi gula reduksi juga tinggi. Enzim berfungsi sebagai katalisator yaitu mempercepat reaksi tanpa ikut breaksi. Makin tinggi konsentrasi enzim dan makin lama waktu inkubasi berarti makin banyak jumlah holoselulosa TKKS yang bersinggungan dengan enzim untuk dihidrolisis menjadi gula reduksi sehingga jumlah gula reduksi yang dihasilkan juga tinggi.

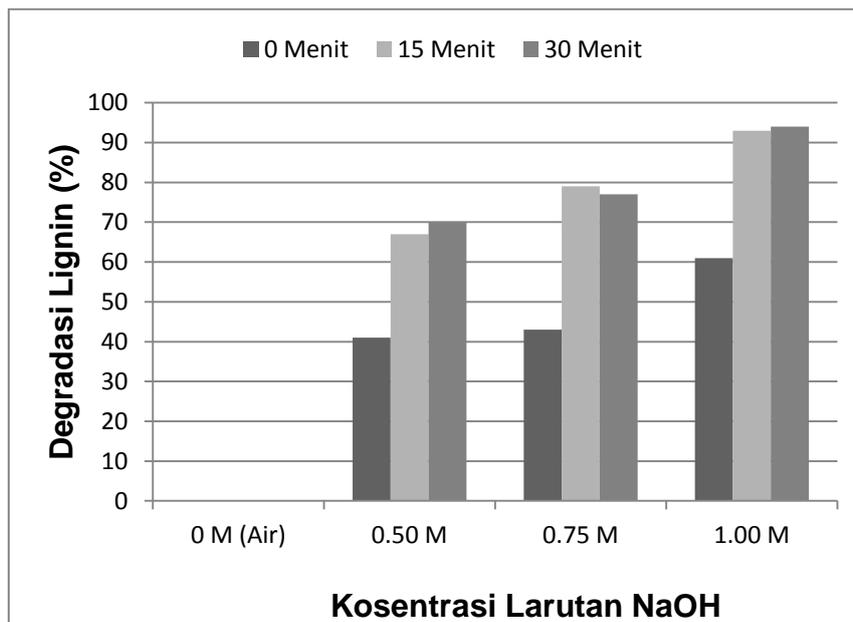
Enzim selulase merupakan kompleks enzim yang terdiri dari tiga jenis enzim yang masing-masing jenis memiliki fungsi sinergis untuk menghidrolisis selulosa dan hemiselulosa TKKS menjadi gula-gula reduksi. Tiga jenis enzim selulase tersebut adalah (1) endoglucanase atau 1,4-β-D-glucan-4-glucanohydrolase, (2) exoglucanase (cellodextrinase dan 1,4-β-D-glucancellobiohydrolase), dan (3) β-glucosidase (β-glucosideglucohydro-lase). Endoglucanase memotong rantai amorf pada gugus selulosa; sedangkan exoglucanase memutus gugus reduksi ataupun nonreduksi rantai selulosa dan menghasilkan glukosa atau selobiosa sebagai produk utama (Gambar 3) (Anonim 2013). Exoglucanase juga diasumsikan dapat mengelupaskan struktur selulosa sedangkan β-glucosidase dapat memecahkan selodextrin dan selobiosa menjadi glukosa (Lynd *et.al.* 2002 dalam Qin, 2010).

Setelah 18 jam inkubasi, kadar gula reduksi relatif sama. Ini diasumsikan telah terjadi keseimbangan antara jumlah holoselulosa yang dihidrolisis dengan jumlah gula reduksi yang bergabung lagi ke holoselulosa. Selama hidrolisis, enzim bergabung dengan substrat membentuk kompleks enzim-substrat yang kemudian pecah menjadi suatu produk seperti glukosa dan enzim bebas. Jumlah glukosa yang dihasilkan ini

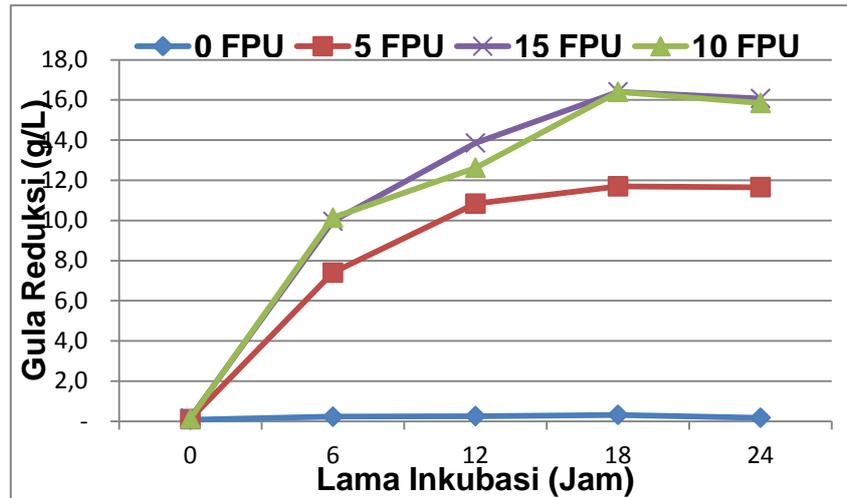
pada konsentrasi tertentu dapat menghambat reaksi hidrolisis dan akibatnya jumlah gula reduksi relatif sama walaupun waktu inkubasi ditambah. Berdasarkan hasil penelitian ini (Gambar 3) menunjukkan bahwa konsentrasi enzim 10 FPU dan waktu inkubasi selama 18 jam merupakan perlakuan yang lebih baik karena hasil gula reduksinya relatif sama dengan perlakuan konsentrasi yang lebih tinggi dan waktu inkubasi yang lebih lama (15 FPU dan waktu inkubasi 24 jam).

### KESIMPULAN DAN SARAN

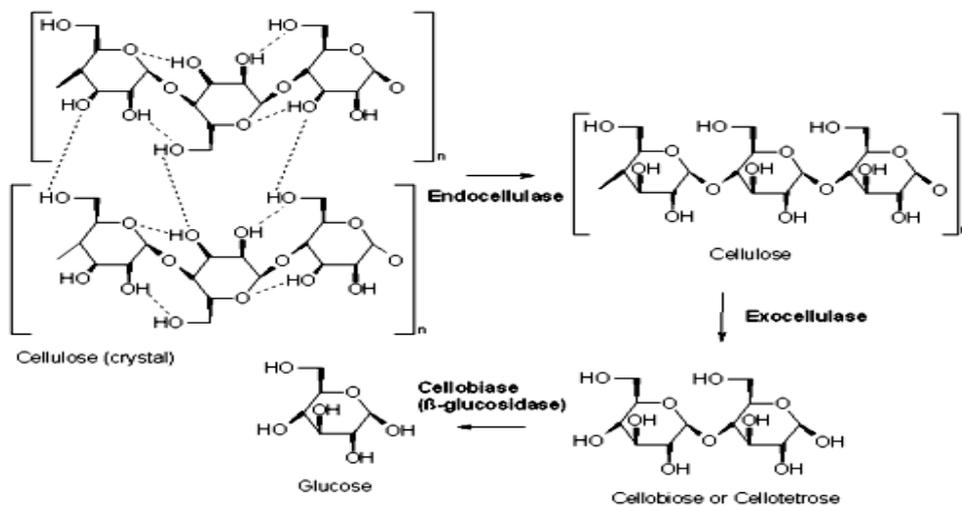
Perlakuan terbaik untuk perlakuan awal dan sakarifikasi TKKS menjadi gula reduksi adalah perendaman TKKS dalam larutan 1,0 M NaOH pada suhu 121°C selama 15 menit untuk mendegradasi lignin dan kemudian sakarifikasi 5% holoselulosa TKKS dengan 10 FPU enzim selulase yang diinkubasi pada suhu 50°C dan goyangan 100 rpm selama 18 jam.



Gambar 2. Derajat degradasi lignin TKKS setelah direndam dalam larutan 0 – 1.0 M NaOH 1M pada suhu 121° C selama 0 - 30 menit



Gambar 3. Kandungan gula reduksi hasil hidrolisis holoselulosaTKKS dengan 0-15 FPU enzim selulase yang diinkubasi pada suhu 50°C dengan kecepatan goyangan 100 rpm selama 0 - 24 jam



Gambar 3. Mekanisme hidrolisis menggunakan enzim selulase (Anonim, 2013).

### DAFTAR PUSTAKA

Anonim, 2013. Mechanism of cellulolysis. [http:// en.wikipedia.org/wiki/Cellulase# Mechanism\\_of\\_cellulolysis](http://en.wikipedia.org/wiki/Cellulase#Mechanism_of_cellulolysis); Diakses pada tanggal 5 Desember 2013.

Antoni, D., Zverlov, V.V., Schwarz, W.H. 2007. Biofuels from microbe. *ApplMicrobiolBiotechnol* (2007) 77 : 23-35.

Brown, M.A., Levine, M.D., Romm, J.P.P., Koomey, J.H. 1998. Engineering-economic studies of energy technologies to reduce green house gas emissions : opportunities and challenges. *Annual review of energy environment* (1998), 23 : 31-39.

Dartanto, T. 2005. BBM, Kebijakan energi, subsidi, dan kemiskinan di Indonesia: Inovasi online Vol 5/XVII November 2005. <http://io.ppi.jepang.org/article.php?id=102>. Diakses Tanggal 8 Januari 2010.

- Datta, R. 1981. Acidogenic fermentation of lignocellulose acid yield and conversion of components. *Biotechnology*. Dioeng 23. Hlm 2167-2170.
- Gomez, L.D., Steel-King, C.G., Mc Queen-Mason, J. 2008. Sustainable liquid biofuels from biomass : the writing's on the wall. *New Phytologist* (2008) 178 : 473-485.
- Hayun, A. 2008. Prioritas Pengembangan Energy Alternative Biofuel di Indonesia. <http://mmt.its.ac.id/library/wp-content/uploads/2008/12/4-anggara-hayun-a.pdf>. Diakses Tanggal 8 Januari 2010.
- Isroi. 2008. Pengolahan TKKS (Tandan Kosong Kelapa Sawit). File://F:/Pengolahan%20TKKS%20(Tandan%20Kosong%20Kelapa%20Sawit)%20C2%AB%20Berbagi%20Tak%20Pernah%20Rugi.htm. Diakses Tanggal 10 Januari 2010.
- Lynd, L.R., Weimer, P.J., Van-Zyl, W.H., and Pretorius, I.S. 2002. Microbial cellulose utilization: Fundamentals and biotechnology. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* (2002) 66(3): 506-577.
- Misson, M., haron, R., Fadhzir, M., Kamaoddin, A., and Amin, N.A.S. 2009. Pretreatment of Empty Palm Fruit Bunch for Lignin Degradation. *JurnalTechnology* 50 (F) Jun 2009:89-98.
- Mujiati, A. 2010. Pengaruh Konsentrasi HCL dan Lama Perendaman TKKS (*Elaeis guinensis* JACQ) Terhadap Kadar Gula Sederhana Untuk Produksi Biobutanol. Skripsi. Teknologi Hasil Pertanian. Universitas Lampung. 78 hlm.
- Putri, F. Y. 2010. Pengaruh Konsentrasi NaOH dan Lama Perendaman TKKS (*Elaeis guinensis* JACQ) Terhadap Kadar Hemiselulosa, Selulosa dan Lignin Untuk Produksi Biobutanol. Skripsi. Teknologi Hasil Pertanian. Universitas Lampung. 96 hlm.
- Rebeca, A.S., Ye, C., Ratna, R.S.S., Michael, D.B., and Jason, O., 2007. A comparison of chemical pretreatment methods for improving saccharification of cotton stalks; *Bioresources Technology* 98:3000-3011
- Samsuri, M., Gozan, M., Mardias, R., Baiquni, M., Hermansyah, H., Wijanarko, A., Prasetya, B., dan Nasikin, M. 2007. Pemanfaatan selulosa sebagai sumber untuk produksi ethanol melalui sakarifikasi dan fermentasi dengan enzim xilanase. *Makara, Teknologi*, Vol. 11, No. 1, APRIL 2007: 17-24.
- Sudarmadji, S., Bambang, H., dan Suhardi. 1984. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian edisi ketiga*. Liberty. Yogyakarta.
- Sutikno., Hidayati, S., Nawansih, O., Nurainy, F., Rizal, S., Marniza., dan Arion, R. 2010. Tingkat Degradasi Lignin Bagas Tebu Akibat Perlakuan Basa Pada Berbagai Kondisi. <http://blog.unila.ac.id/sutiknounila/category/research-activities>. Diakses pada tanggal 26 Juni. 2010.
- Taherzadeh, M.J., and Karimi, K. 2007. Acid-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials : A review. *BioResources* 2 (3) : 472-499.
- Qin, Wenjuan. 2010. High Consistency Enzymatic Hydrolysis Of Lignocellulose. The Faculty Of Graduate Studies. The University Of British Columbia. 140 hlm.