
PENENTUAN LAJU PEMBENTUKAN GULA REDUKSI ECENG GONDOK PADA PROSES HIDROLISIS KOMBINASI DENGAN BAKTERI SELULOLITIK

Rizka Novembrianto¹, Muslikha Nourma Rhomadhoni²

¹Program Studi Teknik Lingkungan, Universitas Pembangunan Nasional Veteran Jawa Timur

²Program Studi DIV-K3, Universitas Nahdlatul Ulama Surabaya

Email: rizka.tl@upnjatim.ac.id

ABSTRAK

Kehadiran eceng gondok dalam jumlah yang massif akan menjadi masalah untuk air permukaan. Namun eceng gondok juga memiliki kandungan selulosa yang bisa dikonversi menjadi gula reduksi sebagai bahan untuk pembuatan bioethanol. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan hasil gula reduksi tahap hidrolisis kombinasi dengan bakteri selulolitik dan laju reaksi maksimumnya. Kebutuhan eceng gondok yang digunakan adalah substrat pada variasi 0,025; 0,057; 0,100; 0,161 dan 0,232 % (b/v). Segmen *pretreatment* menggunakan kapang *Phanerochaete chrysosporium* dan dilanjutkan hidrolisis secara kimia dengan perlakuan 0,25 % dan 2 % H₂SO₄ dan variasi tetap panas 100 ± 3 °C dan kombinasi menggunakan *Cellvibrio* selama 24, 48, 72, 96 dan 120 jam. Penelitian dilakukan pada suhu ruang. Metode untuk pengukuran gula reduksi menggunakan Nelson-Somogyi. Gula reduksi yang telah dihasilkan pada proses *pretreatment* adalah dengan variasi jamur *P. chrysosporium*, hidrolisa 0,25 % H₂SO₄ dan pemanasan (didih) 100 ± 3°C selama 30 menit dan *Cellvibrio* dengan hasil terbanyak pada substrat eceng gondok 20 g dan waktu 96 jam. Laju pembentukan gula reduksi maksimum (V_{maks}) sebesar 0,762 mg/g.jam dan K_m senilai 0,03 %.

Kata Kunci: Eceng gondok, Bakteri Selulolitik, Gula reduksi, Hidrolisis dan Laju reaksi

ABSTRACT

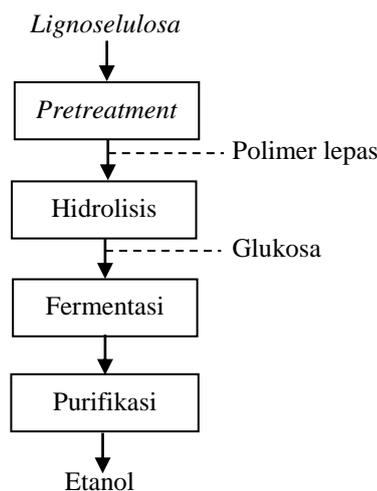
The presence of water hyacinth in massive numbers will be a problem for surface water. However, water hyacinth also contains cellulose which can be converted into reducing sugar as an ingredient for making bioethanol. This study aims to determine the yield of reducing sugar in the combined hydrolysis stage with cellulolytic bacteria and its maximum reaction rate. Water hyacinth needs that are used are the substrate at a variation of 0.025; 0.057; 0.100; 0.161 and 0.232% (w / v). Pretreatment segment used Phanerochaete chrysosporium mold and continued chemical hydrolysis with treatment of 0.25% and 2% H₂SO₄ and hot variations of 100 ± 3 °C and the combination using Cellvibrio for 24, 48, 72, 96 and 120 hours. The research was carried out at room temperature. The method for measuring reducing sugar using Nelson-Somogyi. Reduction sugar that has been produced in the pretreatment process is a variety of P. chrysosporium fungi, hydrolysis of 0.25% H₂SO₄ and heating (boiling) 100 + 3°C for 30 minutes and Cellvibrio with the highest yields on water hyacinth substrate 20 g and time 96 hours. The maximum reducing sugar formation rate (V_{max}) was 0.762 mg/g/hour and K_m was 0.03%.

Keywords: water hyacinth, cellulolytic bacteria, reducing sugar, hydrolysis and reaction rate

PENDAHULUAN

Dalam permasalahan pada perairan yang berada di sungai, kolam danau salah satunya disebabkan adanya kehadiran eceng gondok (Gunnarsson *et al.*, 2007). Sedangkan eceng gondok mempunyai kandungan *lignoselulosa* yang terdiri dari lignin, hemiselulosa dan selulosa (Ganguly *et al.*, 2012).

Produksi etanol dari bahan *lignoselulosa* melalui proses membuka ikatan terlebih dahulu menjadi polimer selulosa dan hemiselulosa. Tahapan proses tersebut dinamakan sebagai *pretreatment*. Hasil dari proses tersebut melalui proses hidrolisis polimer diubah menjadi glukosa. Selanjutnya mengubah glukosa menjadi etanol yang dilakukan oleh mikroorganisme serta proses distilasi dan dehidrasi (Taherzadeh dan Karimi, 2007). Skema secara umum dapat dilihat pada **Gambar-1** dibawah ini :



Gambar-1: Produksi etanol dari bahan *lignoselulosa* (Taherzadeh dan Karimi, 2007).

Proses penelitian ini dimulai dari *lignoselulosa* sampai terbentuknya hasil gula reduksi hasil proses hidrolisis.

Bakteri selulolitik yang digunakan adalah bakteri yang mampu mendegradasi selulosa seperti *Cellvibrio sp* (Ekawati, 2012). *Cellvibrio sp* dapat mendegradasi selulosa pada serat tanaman dalam keadaan *in vitro* dengan cepat, dari 77 isolat bakteri diantaranya 34 strain mendeskripsikan fenotipik dari genus *Cellvibrio sp* (Mergaert *et al.*, 2003). *Cellvibrio* merupakan bakteri selulolitik yang berada di

rumen (Lamid *et al.*, 2011). Bakteri yang berada di rumen merupakan bakteri selulolitik yang baik dalam mendegradasi tanaman (Wilson, 2011). Selain itu juga bakteri ini juga terdapat di pengolahan air limbah dengan pertumbuhan secara *attached system* (Cordero, 2012).

Penelitian dilakukan pada proses hidrolisis untuk menentukan laju reaksi. Gula reduksi tiap-tiap proses akan diukur dengan membandingkan kemampuan variasi *pretreatment* penambahan asam.

METODE PENELITIAN

Persiapan

Pengambilan eceng gondok disekitar sungai ITS Sukolilo Surabaya. Bahan baku eceng gondok dilakukan pemisahan antara batang, daun dan akarnya. Selanjutnya batang dicuci sampai bersih dan dipotong pada ukuran 2-2,5 mm (Ganguly *et al.*, 2012), selanjutnya direndam dalam air selama 6 jam kemudian sampel dikeringkan dengan oven $60 \pm 30^\circ\text{C}$ selama 2 – 3 hari hingga kering (Harun *et al.*, 2011). Bahan yang telah menjadi bubuk dibuat variasi substrat (1; 2,5; 5; 10 dan 20 g) ditambahkan 12 mL air suling steril dengan pada substrat 5 g (Ma *et al.*, (2010); Handayani, 2014) sebagai acuan (12:5) dimasukkan dalam reaktor steril berukuran 140 mL (substrat 1; 2,5; dan 5 g) dan 250 mL (substrat 10 dan 20 g).

Pretreatment

Substrat diinkubasi inokulan *P. chrysosporium* selama 10 hari suhu ruang dengan perbandingan 1 mL inokulan untuk 1 g substrat.

Hidrolisis

Hidrolisis dengan menggunakan 3 kombinasi secara kimia 0,25 % H_2SO_4 (Ma *et al.*, 2010) dan 2% H_2SO_4 (Mood *et al.*, 2013; Singh *et al.*, 2013; Stavrinides *et al.*, 2010 dan Corredor, 2008 dan), secara fisik/ panas 100°C selama 30 menit (Harun *et al.*, 2011), dan secara biologi menggunakan mikroorganisme *cellvibrio* (Saropah *et al.*, 2012; Schafer dan King, 1965; Kitaoka *et al.*, 1992). Pengecekan hasil gula reduksi dilakukan setiap 24 jam selama 5 hari.

Analisa Pengujian

Kandungan lignoselulosa menggunakan metode Chesson (Datta, 1981). Pengukuran gula reduksi menggunakan metode Nelson Somogy. Semua pengujian dilakukan secara duplo.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pertumbuhan Biakan Bakteri Selulolitik

Pada laporan Sanito dkk., 2015 menyebutkan bahwa jumlah *Cellvibrio* dengan pertumbuhan tanpa *shaker* untuk mencapai pertumbuhan maksimum memerlukan waktu inkubasi hingga 144 jam dan waktu setengah laju pertumbuhan antara 72 hingga 96 jam. Pertumbuhan *Cellvibrio* dengan *shaker* memerlukan waktu hingga 36 jam dan waktu setengah laju pertumbuhan ($1/2 v_{maks}$) adalah 10 jam. Kedua perlakuan tersebut didapatkan bahwa pertumbuhan yang cepat menggunakan *shaker*. Pada penelitian ini menggunakan pertumbuhan bakteri *Cellvibrio* menggunakan *shaker*. Hal ini dimaksudkan untuk mempercepat waktu *seeding* sehingga dapat digunakan untuk proses enzimatik hidrolisis lebih cepat dari pertumbuhan yang tanpa menggunakan *shaker*.

Komponen Lignoselulosa

Sebelum melangkah melakukan penelitian pada tahap *pretreatment* dan hidrolisis, dilakukan dengan uji awal kandungan *lignoselulosa* terlebih dahulu dengan hasil seperti **Tabel-1** dibawah ini

Tabel-1: Perbandingan kandungan *lignoselulosa* eceng gondok terhadap penelitian lainnya

Kandungan <i>lignoselulosa</i> (%)			Literatur
Hemiselulosa	Selulosa	Lignin	
33,40	19,50	9,27	Gunnarson, 2007
33,95	12,38	8,76	Hasil penelitian

Pada **Tabel-1** hasil penelitian dengan kandungan hemiselulosa, selulosa dan lignin berturut-turut adalah 33,95%, 12,38 dan 8,76 % jika dibandingkan dengan penelitian Gunnarson, 2007 ada sedikit perbedaan. Kandungan umumnya hemiselulosa lebih tinggi dari pada kandungan lignin dan selulosa hal demikian juga disampaikan oleh Ma *et al.* (2010). Dinding sel tersusun rangka molekul selulosa dan lignin. Bagian tersebut yang

menyebabkan ikatan menjadi kuat. Hasil Analisa awal ini terjadi perbedaan karena likasi dan perlakuan terhadap sampel juga berbeda. Selain itu juga mempengaruhi hasil gula reduksi yang telah dihasilkan yang ditampilkan pada **Tabel-2**.

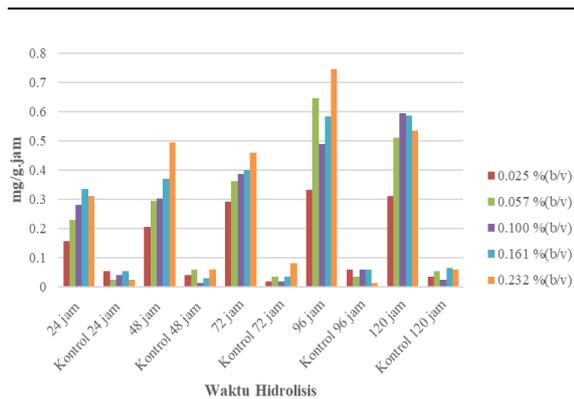
Tabel-2: Perlakuan pada substrat 5 g (0,1% b/v) setelah 5 hari dalam menguji Kandungan *lignoselulosa*

Perlakuan <i>lignoselulosa</i> dari berbagai treatment dan hasil gula reduksi (dalam mg/g)	Hidrolisa			
	Awal	JPP		
Kandungan	Setelah oven	10 hari	Hidrolisa 0,25 % H ₂ SO ₄ Panas dan <i>Cellvibrio</i>	Hidrolisa 2 % H ₂ SO ₄ panas dan <i>Cellvibrio</i>
Hemiselulosa	33,95	24,15	8,22	6,17
Selulosa	12,38	9,72	3,84	3,15
Lignin	8,76	6,55	4,26	3,45
Gula Reduksi	12,29	21,20	51,60	56,36
pH	7,43	6,89	7,52	7,12

Tabel-2 juga menunjukkan bahwa proses hidrolisa mampu menghasilkan gula reduksi hingga mencapai lebih dari 2 kali lipat. Pada proses awal setelah oven hingga JPP 10 hari pernah dilakukan oleh Novembrianto, (2014) sebagai *pretreatment*. Proses pengeringan menggunakan oven dengan temperatur 60°C selama dua hari. Saat analisa awal yakni setelah melalui proses oven 60°C selama dua hari, eceng gondok didapatkan hasil gula reduksi sebesar 12,29 mg/g. Penelitian Harun *et al.* (2011) dengan cara pemanasan (oven kering) mampu menghasilkan gula reduksi sebesar 111,45 mg/g dan dengan menggunakan pemanasan 100±3°C (mendidih) sebesar 33,55 mg/g. Perbedaan nilai gula reduksi dipengaruhi oleh perlakuan saat proses persiapan bahan baku substrat. Nilai holoselulosa (hemiselulosa dan selulosa).

Laju pembentukan gula reduksi pada variasi 0,25 % H₂SO₄ dan *Cellvibrio*

Pembentukan gula reduksi pada dengan kombinasi 0,25 % H₂SO₄ dan *Cellvibrio* menghasilkan 0,155 mg/g.jam sampai dengan 0,744 mg/g.jam. Gula reduksi yang dihasilkan memiliki laju pembentukan dibuat variasi waktu 24, 48, 72, 96 dan 120 jam serta variasi substrat 0,025; 0,057; 0,1; 0,161 dan 0,232 % (b/v).



Gambar-2: Laju pembentukan gula reduksi saat pretreatment 0,25 % H₂SO₄ dan hidrolisis dengan *Cellvibrio*

Gambar-2 memperlihatkan *Cellvibrio* dalam pembentukan gula reduksi menunjukkan peningkatan sampai mencapai optimum secara keseluruhan pada 96 jam dengan perolehan substrat 0,232 % (b/v) sebesar 0,744 mg/g.jam.

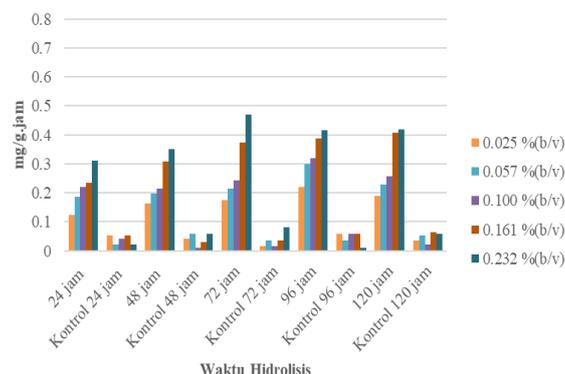
Pada jam ke-120 pembentukan gula reduksi terlihat mulai mengalami penurunan. Hal ini dapat dianalogikan karakter pertumbuhan mikroorganisme seperti penelitian Sanito dkk, (2015) *Cellvibrio* dalam media *broth* tanpa *shaker* yakni pada hari keempat laju pertumbuhan mulai tidak mengalami kenaikan signifikan. Selain itu juga menurut Fontes *et al.* (2000) pertumbuhan *Cellvibrio* pada fase eksponensial terjadi antara 30 jam dan 60 jam, *Cellvibrio mixtus* melokalisasi xilanase dengan kehadiran protein periplasmik.

pH yang diukur saat setelah proses hidrolisis berkisar antara 7-7,98. Pada kisaran pH tersebut masih dapat hidup, karena pH *Cellvibrio* untuk hidup berkisar antara 6,4 hingga 8,2 (Kitaoka *et al.*, 1992). Pertumbuhan *Cellvibrio* ditandai dengan adanya pembentukan biofilm. Menurut Khairiah *et al.* (2013) genus *Cellvibrio* menghasilkan enzim katalase yang mampu mendegradasi selulosa dan mengubah menjadi glukosa. Kemampuan bakteri pendegradasi selulosa diindikasikan terbentuknya daerah bening disekitar koloni (Perez *et al.*, 2002).

Laju pembentukan gula reduksi pada variasi 2 % H₂SO₄ dan *Cellvibrio*

Hasil penelitian menerangkan bahwa laju pembentukan gula reduksi dengan variasi 2 % H₂SO₄ *Cellvibrio* berselang antara 0,125 hingga

0,469 mg/g.jam. Hasil tersebut lebih rendah daripada variasi 0,25 % H₂SO₄ *Cellvibrio*.



Gambar-3: Peningkatan gula reduksi saat pretreatment 2 % H₂SO₄ dan hidrolisis dengan *Cellvibrio*

Gambar-3 menjelaskan laju pembentukan gula reduksi yang tinggi berada pada substrat 0,232 % (b/v) untuk waktu 24 jam menghasilkan laju 0,312 mg/g.jam dan meningkat sedikit pada 48 jam dengan laju 0,350 mg/g.jam dan terus meningkat pada jam ke 72 yakni 0,469 mg/g.jam. Laju menjadi menurun pada jam ke 96 menjadi 0,415 mg/g.jam. Laju meningkat kembali pada jam ke 120 jam dengan laju 0,418 mg/g.jam. Pada 72 jam terjadi peningkatan yang paling besar dari perubahan waktu lainnya dari 0,350 mg/g.jam ke 0,469 mg/g.jam. Hal itu juga sesuai dengan karakter pertumbuhan mikroorganisme dengan $\frac{1}{2} V_{maks}$ *Cellvibrio* yakni 72 jam seperti yang pernah dilaporkan oleh Sanito, dkk., (2015).

Hasil laju pembentukan gula reduksi oleh *Cellvibrio* seperti yang ditunjukkan pada Gambar-3 menjelaskan peningkatan sangat kecil sekali dibandingkan dengan variasi sebelumnya. Kecenderungan peningkatan terbesar pada waktu 96 jam. Peningkatan laju pembentukan gula reduksi yang kecil dikarenakan suasana asam yang pada layer bagian tengah reaktor (ketinggiannya), kemungkinan masih terjadi pembentukan gula reduksi dikarenakan masih terdapat substrat dengan suasana netral antara 6,87 hingga 7,81 sedangkan menurut Kitaoka *et al.* (1992) *cellvibrio* dapat hidup pada pH 6,4 hingga 8,2 sehingga bakteri masih hidup. Hal ini dapat dibuktikan dengan terbentuknya biofilm pada layer bagian atas pada substrat eceng gondok.

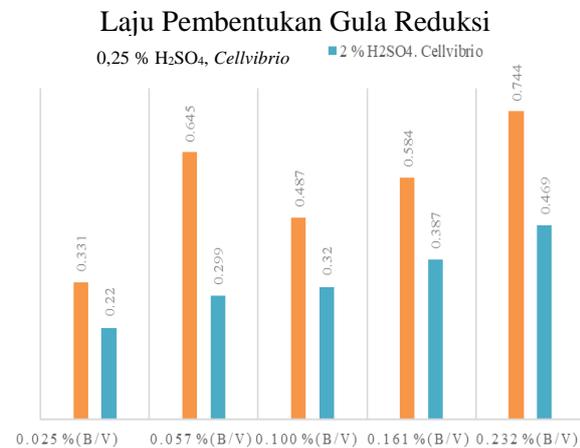
Perbandingan Laju Pembentukan Optimum dari berbagai variasi

Laju pembentukan gula reduksi dari berbagai variasi dapat diambil yang paling optimum. Selanjutnya membandingkan untuk mengetahui laju yang optimum seperti pada Tabel 3.

Tabel-3: Perbandingan laju pembentukan gula reduksi dari berbagai variasi optimum

Substrat % (b/v)	0,25 % H ₂ SO ₄ , <i>Cellvibrio</i> (mg/g.jam)	2 % H ₂ SO ₄ , <i>Cellvibrio</i> (mg/g.jam)
0,025	0,331	0,220
0,057	0,645	0,299
0,100	0,487	0,320
0,161	0,584	0,387
0,232	0,744	0,469

Tabel-3 Perbandingan laju pembentukan gula reduksi dari berbagai variasi menunjukkan bahwa substrat 0,232 % (b/v) dan untuk variasi 0,25 % H₂SO₄, *Cellvibrio* memiliki 0,744 mg/g.jam. Untuk variasi 2 % H₂SO₄, *Cellvibrio* yakni 0,469 mg/g.jam.



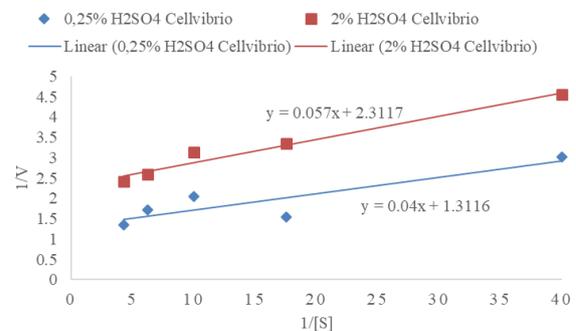
Gambar-4: Perbandingan laju pembentukan gula reduksi pada masing – masing variasi optimum.

Gambar-4 dapat dilihat perbandingan laju pembentukan gula reduksi pada dari berbagai variasi yang optimum didapatkan hasil yang terbaik adalah kombinasi dengan 0,25 % H₂SO₄ *Cellvibrio* dengan substrat 0,232 % (b/v). Hal ini disebabkan bakteri mempunyai ukuran lebih kecil sehingga dapat melakukan penetrasi atau berdifusi lebih mudah ke substrat

yang mengandung selulosa (Li dan Gao dalam Saropah *et al.*, 2012).

Laju Reaksi pada hidrolisis 96 jam

Nilai V_{maks} untuk mengetahui kecenderungan laju pembentukan gula reduksi terbesar. Nilai K_m berfungsi untuk mengetahui afinitas enzim terhadap substrat. Semakin nilai K_m rendah maka afinitas enzim terhadap substrat semakin baik (Putra, 2009). Untuk plot grafik antara substrat [S] dan aktivitas enzim (V) diubah menjadi berbanding terbalik terhadap (1/[S]) dan (1/V). Nilai Vmaks dan Km dapat ditetapkan melalui Kurva Lineweaver-Burk dengan cara : 1/V = 1/V_{maks} + K_m/V_{maks}.1/[S] , bila 1/V = Y dan 1/S = X, sehingga rumusnya menjadi : Y = a + bX sehingga a = 1/ V_{maks} dan b = K_m/V_{maks}.



Gambar-3: Grafik hubungan antara 1/[S] dan 1/V

Kurva pada Gambar 3, menjelaskan hubungan antara 1/[S] dan 1/V berdasarkan persamaan regresi linier Y= 0,04x + 1,3116 untuk 0,25 % H₂SO₄ *Cellvibrio*, didapatkan V_{maks} dan K_m sebesar 0,762 mg/g.jam dan 0,03%; serta V_{maks} dan K_m berdasarkan persamaan regresi linier Y= 0,057x + 2,3117 untuk 2 % H₂SO₄ sebesar Vmaks sebesar 0,432 mg/g.jam dan K_m senilai 0,025 %.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian diatas, kesimpulan yang didapatkan laju pembentukan gula reduksi tertinggi pada substrat eceng gondok 20 gram menggunakan kombinasi pretreatment jamur *P. chrysosporium*, dan hidrolisis kombinasi 0,25 % H₂SO₄; pemanasan (didih) 100 ± 3°C selama 30 menit Serta penambahan *Cellvibrio* dan hidrolisis selama 96 jam. Laju pembentukan gula reduksi maksimum dalam hidrolisis (V_{maks}) adalah 0,762 mg/g.jam dan K_m senilai 0,03%.

DAFTAR PUSTAKA

- Cordero, O. X., 2012. Enriching spatially structured communities of cellulose degraders. Massachusetts Institute of Technology.
- Ekawati, E. R., Matuzahroh, N. dan Supriyanto., A., 2012. Eksplorasi dan Identifikasi Bakteri Selulolitik pada Limbah Daduk Tebu (Saccharum Officinarum L). Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga Surabaya. Berk. Penel. Hayati 18 : 31–34.
- Fontes, C. M. G. A., Gilbert, H. J., Hazlewood G. P. dan Clarke, J. H., 2000. A novel Cellvibrio mixtus family 10 xylanase that is both intracellular and expressed under non-inducing conditions. Microbiology 146 : 1959–1967
- Ganguly, A., Chatterjee P.K., Dey A., (2012) Studies on ethanol production from water hyacinth—A review. Renewable and Sustainable Energy Reviews 16 : 966–972.
- Gunnarsson, C. C., Petersen, C. M. (2007). Water hyacinths as a resource in agriculture and energy production: A literature review. Waste Management 27 : 117–129
- Handayani, A. G. dan Pandebesie, E. S. (2014). Hidrolisis Eichhornia crassipes menggunakan proses fisika, kimia, dan biologis. Prosiding Seminar Nasional Waste Management II. ISBN 978-602-95595-7-6
- Harun, M. Y., Radiah A. B., Abidin Z. Z. dan Yunus, R. (2011). Effect of physical *pretreatment* on dilute acid hydrolysis of water hyacinth (Eichhornia crassipes). Bioresource Technology 102 : 5193–5199
- Khairiah E., Khotimah S., Mulyadi A., 2013. Karakterisasi dan Kepadatan Bakteri Pendegradasi Selulosa pada Tanah Gambut di Desa Parit Banjar Kabupaten Pontianak. Jurnal Protobiont vol. 2 (2) : 87- 92
- Kitaoka, M., Sasaki, T., Taniguchi, H., 1992. Phosphorolytic Reaction of Cellvibrio gilvus cellobiose phosphorylase. Biosci. Biotech. Biochem., 56 (4) : 652-655.
- Ma, F., Yang, N., Xu, C., Yu, H., Wu, Y. dan Zhang. (2010). Combination of biological *pretreatment* or enzymatic hydrolysis and ethanol production from water hyacinth. Bioresource Technology 101 : 9600-9604
- Mergaert, J., Lednicka D., Goris J., Cnockaert M. C, Vos P. D. and Swings J., 2003. Taxonomic study of Cellvibrio strains and description of Cellvibrio ostraviensis sp. nov., Cellvibrio fibrivorans sp. nov. and Cellvibrio gandavensis sp. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 53 : 465–471.
- Mood, S. H., Golfeshan A. H., Tabatabaei M., Jouzani G. S., Najafi G. H., Gholami M., Ardjman M. (2013). Lignocellulosic biomass to bioethanol, a comprehensive review with a focus on *pretreatment*. Renewable and Sustainable Energy Reviews 27 : 77–93.
- Putra, G. P. G. 2009. Determination of enzyme kinetics of endogenous polygalacturonase (pg) from cocoa pulp. Jurnal Biologi XIII (1) : 21 -24
- Perez, J., Dorado, J. M., Rubia, T. R. dan Martinez, J., 2002. Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin : an overview. Int. microbial 5 : 53-63.
- Schafer, M. L dan King. K., 1965. Utilization of cellulose oligosaccharides by Cellvibrio gilvus. Bacteriology, vol. 89 No 1.
- Sanito R. C., Novembrianto, R., Pandebesie, E. S., (2015). Kajian Penentuan Fase Pertumbuhan Kapang dan Bakteri Selulolitik pada Media Pertumbuhan, Prosiding Seminar Nasional Manajemen Teknologi XII.
- Saropah, D. A., Jannah A., dan Maunatin A. (2012). Kinetika reaksi enzimatik ekstrak kasar enzim selulase bakteri selulolitik hasil isolasi dari bekatul. Alchemy, Vol. 2 No. 1. hal 34-45.
- Singh, A. dan Bishnoi, N. R. (2013). Comparative study of various *pretreatment* techniques for ethanol production from water hyacinth Industrial Crops and Products 44 (2013) 283– 289.
- Taherzadeh, M. dan Karimi K. (2007). Enzyme-Based Hydrolysis Processes for Ethanol From Lignocellulosic Materials : Review. Bioresources 2(4), 707-738.