



**OPTIMASI PREPARASI PREKURSOR BIOETANOL dari
LIMBAH MAHKOTA NANAS MENGGUNAKAN ENZIM
SELULASE JAMUR TIRAM**

skripsi
disusun sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains
Program Studi Kimia

oleh
Khayatun Nufus
4311413018



JURUSAN KIMIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

2017

PERNYATAAN

Saya menyatakan skripsi ini bebas plagiat, dan apabila dikemudian hari terbukti terdapat plagiat dalam skripsi ini, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai perundang-undangan.



Khayatun Nufus

4311413018

UNNES
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul

Optimasi Preparasi Prekursor Bioetanol dari Limbah Mahkota Nanas
Menggunakan Enzim Selulase Jamur Tiram

disusun oleh

Khayatun Nufus
4311413018

telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Skripsi FMIPA UNNES pada tanggal
29 Mei 2017.

Panitia:



Ketua
Prof. Dr. Zaenuri, S.E, M.Si, Akt
NIP. 196412231988031001

Sekretaris

Dr. Nanik Wijayati, M.Si
NIP. 196910231996032002

Ketua Penguji

Prof. Dr. Supartono, MS
NIP. 195412281983031003

Anggota Penguji/
Pembimbing I

Dr. Sri Mursiti, M.Si
NIP. 196709131999032001

Anggota Penguji/
Pembimbing II

Harjono, S.Pd, M.Si
NIP. 197711162005011001

Motto dan Persembahan

Motto :

Dan jangan (pula) engkau sembah Tuhan yang lain selain Allah. Tidak ada Tuhan (yang berhak disembah) selain Dia. Segala sesuatu pasti binasa, kecuali Allah. Segala keputusan menjadi wewenang-Nya, dan hanya kepada-Nya kamu dikembalikan (Qs 28 : 88).

Persembahan :

Untuk Bapak dan Ibu yang terlebih dahulu dipanggil oleh-Nya, Terima kasih untuk semua pelajaran dan kasih sayangnya.

UNNES
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Optimasi Preparasi Prekursor Bioetanol dari Limbah Mahkota Nanas Menggunakan Enzim Selulase Jamur Tiram”** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Semarang tepat pada waktunya.

Dalam penyusunan skripsi ini penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi tidak akan selesai dengan tanpa adanya dukungan, bantuan dan kerjasama dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Rektor Universitas Negeri Semarang yang telah memberikan fasilitas-fasilitas kepada penulis
2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam yang telah memberikan izin kepada penulis dalam penyusunan skripsi
3. Ketua Jurusan Kimia yang telah memberikan izin kepada penulis dalam penyusunan skripsi
4. Ketua Program Studi Kimia yang telah membantu dan membimbing dalam penyusunan skripsi
5. Dr. Sri Mursiti, M.Si. selaku dosen pembimbing I yang senantiasa memberikan bimbingan, ilmu dan pengarahan kepada penulis
6. Harjono, S.Pd., M.Si. selaku dosen pembimbing II yang dengan bijaksana memberikan bimbingan bimbingan, imu dan pengarahan kepada penulis

7. Prof. Dr. Supartono, M.S. selaku dosen penguji yang telah memberikan ilmu dan pengarahan kepada penulis
8. Mba Rizqoni, Mba Faza, Mba Ikha, Mba Ika, Mba Eva dan Mba Azmi yang telah bersedia kebersamai selama diperantauan
9. Ririn, Hana, Tiara, Farid, Eka, Deni, Hida, Nisa, Hikmah, dan Lina, saudari seperjuangan yang telah mengenapi segenap usroh yang sudah bersedia menjadi keluarga diperantauan ini
10. Yeyen, Tomah, Leni, Eka, Indah, dan Yatul sahabat yang selalu hadir untuk menguatkan.
11. Keluarga besar BEM FMIPA 2014, dan 2015; keluarga besar SKI 1435 H, 1436 H dan 1437 H; keluarga ikhwah rosul, dan keluarga AKB 48 yang telah menjadi ruh penulis dalam menyelesaikan skripsi
12. Kimia 2013 yang saling mendukung dan menguatkan.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih ada kekurangan, baik dari segi teknik penulisan, penyusunan tata bahasa yang digunakan. Oleh karena itu, penulis memohon maaf dan mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun demi sempurnanya skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat dan kontribusi dalam perkembangan ilmu pengetahuan.

Semarang, 29 Mei 2017

Penulis

ABSTRAK

Nufus, Khayatun. 2017. *Optimasi Preparasi Prekursor Bioetanol Limbah Mahkota Nanas Menggunakan Enzim Selulase Jamur Tiram*. Skripsi, Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang. Pembimbing Utama Dr. Sri Mursiti, M.Si. dan Pembimbing Pendamping Harjono, S.Pd., M.Si.

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui rasio enzim substrat dan waktu hidrolisis α –selulosa limbah mahkota nanas dalam menghasilkan kadar glukosa yang tinggi. Hasil penelitian menunjukkan kadar glukosa tertinggi yang diperoleh adalah 838 ppm yang dilakukan pada rasio enzim substrat (1 : 2 (v/v)) dengan waktu hidrolisis 8 jam. Aktivitas enzim selulase yang diperoleh dalam penelitian ini sebesar 0,00181 U/mL. Data hasil glukosa yang diperoleh dianalisis menggunakan Anava dua jalur dengan replikasi. Hasil analisis menunjukkan bahwa rasio enzim substrat, waktu hidrolisis dan interaksi rasio enzim substrat dengan waktu hidrolisis berpengaruh secara signifikan terhadap kadar glukosa yang diperoleh. Prekursor bioetanol dengan kadar glukosa tertinggi dilakukan pengujian apakah prekursor tersebut dapat menghasilkan etanol atau tidak. Berdasarkan hasil analisis kualitatif dengan $K_2Cr_2O_7$ dan secara kuantitatif menggunakan HPLC prekursor bioetanol dengan kandungan glukosa tertinggi dapat menghasilkan etanol.

Kata Kunci : hidrolisis, rasio enzim substrat dan waktu hidrolisis.



Nufus, Khayatun. 2017. *Optimization of Preparation Bioethanol Precursor from Pineapple Crown Waste using cellulase enzymes of Oyster Mushrooms*. Final Project, Chemistry Department Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Semarang State University. First advisor Dr. Sri Mursiti, M.Si. Second advisor Harjono, S.Pd., M.Si.

ABSTRACT

The aim of this study is to find out the substrate-enzyme ratio and hydrolysis time of α -cellulose crown pineapple waste to produce glucose with the highest level. Based on study, the highest glucose level was 838 ppm on enzyme substrate ratio (1: 2) with hydrolysis time 8 hours. The activity of cellulase enzyme in this study is 0,00181 U/mL. Glucose levels were then tabulated by 2 way *anova* with replication. Data results shows that the enzyme-substrate ratio, hydrolysis time and enzyme-substrate ratio relationship with hydrolysis time significantly affect glucose levels. Precursor bioethanol with the highest glucose level is tested whether the precursor can produce ethanol or not. Based on qualitative test using $K_2Cr_2O_7$ and quantitative test using HPLC, precursor bioethanol with highest level can produce ethanol.

Keywords : hydrolisys, ratio enzyme substrate and hydrolisys time.



DAFTAR ISI

Isi	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PERNYATAAN.....	iii
PENGESAHAN	iv
MOTTO DAN PERSEMBAHAN.....	v
KATA PENGANTAR	vi
ABSTRAK.....	viii
ABSTRACT.....	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan	4
1.4 Manfaat	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6

2.1	Nanas (<i>Ananas comosus</i> (L.) Merr).....	6
2.1.1	Mahkota Nanas	8
2.2	Selulosa.....	9
2.3	Ekstraksi α -Selulosa	12
2.4	Jamur Tiram.....	14
2.5	Enzim Selulase.....	16
2.6	Hidrolisis	18
2.7	Metode <i>Miller</i>	19
2.8	Fermentasi.....	20
BAB III METODE PENELITIAN.....		22
3.1	Sampel	22
3.2	Tempat Penelitian	22
3.3	Variabel Penelitian.....	23
3.4	Prosedur Penelitian	24
3.4.1	Alat dan Bahan	24
3.4.2	Prosedur Kerja	24
3.4.2.1	Preparasi Limbah Mahkota Nanas	24
3.4.2.2	Preparasi Enzim Selulase dari Jamur Tiram	26
3.4.2.3	Hidrolisis α -Selulosa Limbah Selulosa Limbah Mahkota Nanas Menggunakan Enzim Selulase Jamur Tiram	29
3.4.2.4	Fermentasi Hidrolisat α -Selulosa Limbah Selulosa Limbah Mahkota Nanas.....	29
3.4.3	Rancangan Penelitian.....	31

3.4.4	Analisis Data Penelitian.....	31
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		32
4.1	Preparasi Limbah Mahkota Nanas	32
4.1.1	Preparasi Simplisia.....	33
4.1.2	Ekstraksi Senyawa Ekstraktif	34
4.1.3	Isolasi α –selulosa Limbah Mahkota Nanas.....	34
4.2	Preparasi Enzim Selulase Jamur Tiram	39
4.2.1	Pembuatan Kurva Standar Glukosa	39
4.2.2	Isolasi Enzim Selulase Jamur Tiram.....	41
4.3	Optimasi Hidrolisis α –selulosa Limbah Mahkota Nanas Menggunakan Enzim Selulase Jamur Tiram dengan Variasi Waktu Hidrolisis dan Rasio Enzim Substrat	44
4.3.1	Optimasi Waktu Hidrolisis Substrat α –selulosa Limbah Mahkota Nanas.....	47
4.3.2	Optimasi Rasio Enzim Substrat α –selulosa Limbah Mahkota Nanas.....	48
4.3.3	Analisis Data Penelitian.....	50
4.4	Fermentasi Hidrolisat α –selulosa Limbah Mahkota Nanas	51
BAB V PENUTUP.....		55
5.1	Simpulan.....	55
5.2	Saran.....	55
DAFTAR PUSTAKA		57
LAMPIRAN.....		62

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Produksi Nanas di Indonesia	7
2.2 Komposisi Kimia Mahkota Nanas.....	9
2.3 Komposisi dan Kandungan Nutrisi Jamur Tiram	15
3.1 Rancangan Penelitian.....	31
4.1 Pengurangan Massa Selama Proses Preparasi α –selulosa Limbah Mahkota Nanas	35
4.2 Hasil Absorbansi Larutan Glukosa Standar.....	39
4.3 Kadar Glukosa dengan Variasi Rasio Enzim Substrat dan Waktu Hidrolisis	46
4.4 Pengaruh Rasio Enzim Substrat dan Waktu Hidrolisis Terhadap Kadar Glukosa.....	50
4.5 Karakteristik Medium Fermentasi	52



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Tanaman Nanas (<i>Ananas comosus</i> (L.) Merr).....	6
2.2. Mahkota Nanas	8
2.3. Struktur Selulosa.....	10
2.4. Struktur Alfa Selulosa.....	11
2.5. Struktur Beta Selulosa	11
2.6. Reaksi Pemutusan Ikatan lignoselulosa Menggunakan NaOH	13
2.7. Mekanisme Hidrolisis Selulosa Menjadi Glukosa Menggunakan Enzim Selulase	17
2.8. Reaksi Antara Reagen DNS dengan Glukosa.....	19
2.9. Skema Fermentasi Bioetanol Menggunakan Ragi.....	21
4.1 Siklus Biotransformasi α –selulosa dari Limbah Mahkota Nanas Menjadi Prekursor Bioetanol	32
4.2 Filtrat dan Residu Selama Proses Preparasi Limbah Mahkota Nanas.....	36
4.3 Spektrum FTIR Simplisia dan α –selulosa dari Limbah Mahkota Nanas	38
4.4 Kurva Kalibrasi Larutan Standar Glukosa.....	40
4.5 Filtrat Hasil Hidrolisis α –selulosa Limbah Mahkota Nanas Menggunakan Enzim Selulase	47
4.6 Optimasi Waktu Hidrolisis Substrat α –Selulosa Limbah Mahkota Nanas	48
4.7 Optimasi Rasio Enzim Substrat α –Selulosa Limbah Mahkota Nanas.....	49
4.8 Medium Fermentasi	51
4.9 Uji Kualitatif Filtrat Fermentasi	52

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja Penelitian	62
2. Pembuatan Larutan	69
3. Data Pengamatan dan Analisis Data Penelitian	73
4. Dokumentasi Penelitian	83



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kebutuhan energi fosil seperti bensin atau solar semakin meningkat. Hal ini menjelaskan bahwa kebutuhan energi masih bergantung pada ketersediaan energi fosil, padahal ketersediaan energi fosil berbanding terbalik dengan kebutuhannya (Anuj *et al.*, 2007). Ketergantungan energi fosil dapat merugikan, karena tidak terbarukan (*non renewable*) dan menyebabkan pencemaran udara yang cukup tinggi, sehingga perlu dicari bahan bakar alternatif, salah satunya adalah bioetanol (Nurdyahastuti, 2006). Bioetanol merupakan energi terbarukan yang diproduksi dari proses fermentasi gula atau juga dapat diproduksi dengan mensintesis etilen pada reaksi kimia dengan penguapan uap panas (Anuj *et al.*, 2007).

Bahan baku untuk produksi bioetanol diklasifikasikan menjadi tiga kelompok, yaitu gula, pati dan selulosa. Sumber gula yang berasal dari gula tebu, gula bit dan molase dapat langsung dikonversi menjadi bioetanol. Sumber dari bahan berupa pati dan selulosa harus dihidrolisis terlebih dahulu menjadi gula (Lin *et al.*, 2006).

Salah satu sumber selulosa yang bisa dikonversi menjadi bioetanol adalah limbah mahkota nanas. Berdasarkan data yang diperoleh dari Badan Pusat Statistik (BPS) tahun 2014 menyebutkan bahwa produksi nanas di

Indonesia merupakan tiga terbesar setelah produksi pisang dan mangga. Rata-rata produksi nanas mencapai 1,5 juta ton pertahun hal tersebut menjadikan nanas sebagai salah satu buah yang jumlahnya melimpah di Indonesia. Mahkota Nanas sebagai limbah biomassa berlignoselulosa yang keberadaannya belum banyak dimanfaatkan.

Selulosa merupakan glukosa yang berbentuk rantai linier dan dihubungkan oleh ikatan $\beta - 1,4$ glikosidik. Berdasarkan derajat polimerisasi dan kelarutan dalam NaOH 17,5 % selulosa dapat dibedakan menjadi tiga jenis yaitu α, β , dan γ selulosa (Widodo *et al.*, 2013). Semakin tinggi kadar $\alpha -$ selulosa, maka semakin baik mutu bahannya (Nuringtyas, 2010). Melalui proses hidrolisis, selulosa dapat menghasilkan glukosa yang merupakan monomer gula penyusunnya.

Hidrolisis selulosa menjadi glukosa dapat dilakukan secara kimiawi dan enzimatik. Perbedaan mendasar dari hidrolisis kimiawi dan enzimatik terdapat pada spesifitas pemutusan rantai polimer selulosa (Setyawati *et al.*, 2011). Enzim yang dapat digunakan untuk menghidrolisis selulosa menjadi glukosa adalah enzim selulase.

Enzim selulase dapat diproduksi oleh tanaman, hewan, dan mikroorganisme. Enzim dari mikroorganisme lebih banyak digunakan dibandingkan dari tanaman atau hewan karena mikroorganisme dapat berkembang biak dengan cepat, pertumbuhan relatif mudah diatur, enzim yang dihasilkan tinggi sehingga ekonomis bila digunakan untuk industri serta

enzim yang dihasilkan lebih stabil (Yusak, 2004). Mikroorganisme penghasil enzim selulase dapat berupa jamur dan bakteri. Salah satu jamur yang dapat menghasilkan enzim selulase adalah jamur tiram. Jamur tiram merupakan jamur komersil yang paling banyak ditemukan dalam pembudidayaan jamur. Jamur tiram di alam dapat tumbuh dan berkembang secara saprofit pada substrat yang mengandung selulosa. Miselium tersebut dapat terinduksi menghasilkan enzim yang akan menghidrolisis substratnya menjadi senyawa yang sederhana dan mudah diserap untuk pertumbuhan (Imelda *et al.*, 2015). Saat ini enzim selulase digunakan sebagai pengganti bahan kimia pada proses pembuatan etanol dari bahan yang mengandung selulosa.

Kemampuan jamur tiram dalam menghasilkan enzim selulase dan aplikasinya sebagai biokatalisator dalam proses hidrolisis selulosa menjadi bioetanol telah dilaporkan oleh Pratomo *et al.* (2016); Setiawan *et al.* (2015); dan Habibah (2015). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya dapat diketahui bahwa enzim selulase dari jamur tiram dapat digunakan sebagai biokatalisator dalam proses hidrolisis selulosa menjadi gula reduksinya. Sehingga, dalam penelitian ini dilakukan hidrolisis α -selulosa limbah mahkota nanas menggunakan enzim selulase dari jamur tiram. Hidrolisat yang memiliki kadar glukosa tertinggi kemudian dilanjutkan dengan fermentasi selama 7 hari. Hasil fermentasi selanjutnya di analisis dengan HPLC.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Berapakah waktu hidrolisis optimum yang dibutuhkan enzim selulase jamur tiram untuk menghidrolisis substrat α –selulosa limbah mahkota nanas sehingga menghasilkan prekursor bioetanol dengan kandungan gula reduksi tinggi?
2. Berapakah rasio substrat α –selulosa dengan enzim selulase jamur tiram untuk menghidrolisis substrat limbah mahkota nanas sehingga menghasilkan prekursor bioetanol dengan kandungan gula reduksi tinggi?

1.3 Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka tujuan dalam penelitian ini adalah :

1. Mengetahui waktu hidrolisis optimum yang dibutuhkan enzim selulase jamur tiram untuk menghidrolisis substrat α –selulosa limbah mahkota nanas sehingga menghasilkan prekursor bioetanol dengan kandungan gula reduksi tinggi
2. Mengetahui rasio substrat α –selulosa dengan enzim selulase jamur tiram untuk menghidrolisis substrat limbah mahkota nanas sehingga menghasilkan prekursor bioetanol dengan kandungan gula reduksi tinggi.

1.4 Manfaat

Manfaat yang ingin dicapai pada penelitian ini adalah :

1. Bagi pengembangan IPTEKS
 - a. Memberikan informasi mengenai karakteristik enzim selulase jamur tiram meliputi waktu hidrolisis dan rasio enzim : substrat.
 - b. Memberikan informasi bahwa enzim akan bekerja secara optimum jika sudah diketahui karakteristiknya.
 - c. Memberikan informasi mengenai pemanfaatan α -selulosa sebagai prekursor bioetanol.
2. Bagi peneliti lain
 - a. Mendorong peneliti lain untuk melakukan pemurnian terhadap enzim selulase dari jamur tiram.
 - b. Mendorong peneliti lain untuk melakukan hidrolisis kimiawi terhadap α –selulosa limbah mahkota nanas.
 - c. Mendorong peneliti lain untuk melakukan pembuatan bioetanol dari α –selulosa limbah lignoselulosa lainnya.
3. Bagi Masyarakat
 - a. Memberikan informasi kepada masyarakat mengenai pengolahan limbah mahkota nanas.
 - b. Memberikan energi alternatif yang ramah lingkungan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr)

Menurut Deputi Menegristek Bidang Pendayagunaan dan Pemasyarakatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi, nanas merupakan tanaman buah berupa semak yang memiliki nama ilmiah *Ananas comosus*. Tanaman nanas dibedakan dari anggota genus yang lain berdasarkan tipe buah sinkarpus (buah majemuk) yang tidak ditemukan pada anggota genus yang lain. Nanas tergolong tanaman CAM (*Crassulacean Acid Metabolism*). Pada malam hari tanaman ini menggunakan enzim PEP karboksilase dan NADPH malat dehidrase untuk membentuk asam malat, dan mendekarboksilasi asam tersebut untuk menghasilkan CO₂. Pada siang hari CO₂ yang dihasilkan digunakan sebagai bahan siklus *Calvin* untuk menghasilkan karbohidrat (Swara, 2015). Tanaman nanas ditunjukkan pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Tanaman nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr)

Tanaman nanas merupakan famili *Bromeliaceae* atau *bromeliad*. Famili ini terdiri atas 45 genus dan 2000 spesies. Menurut Deputi Menegristek Bidang Pendayagunaan dan Pemasyarakatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi, secara sistematis tanaman nanas yang digunakan dalam penelitian ini diklasifikasikan sebagai berikut:

Divisio : Spermatophyta
 Sub Divisio : Angiospermae
 Class : Monocotyledoneae
 Ordo : Bromeliales
 Famili : Bromeliaceae
 Genus : *Ananas*
 Spesies : *Ananas comosus* (L.) Merr

(Swara, 2015)

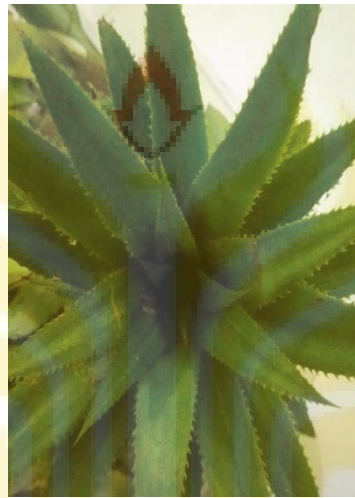
Produksi nanas di Indonesia merupakan tiga terbesar setelah pisang dan mangga. Hal ini mengindikasikan bahwa nanas termasuk buah yang melimpah di Indonesia dan memiliki potensi besar jika dimanfaatkan sebaik-baiknya. Produksi nanas di Indonesia dapat dilihat di Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Produksi nanas di Indonesia (Badan Pusat Statistik, 2014)

Tahun	Nanas (ton)
2007	1.395.566
2008	1.433.133
2009	1.558.196
2010	1.406.445
2011	1.540.626
2012	1.781.899
2013	1.837.159

2.1.1 Mahkota Nanas

Mahkota nanas merupakan bagian yang tumbuh di atas buah dan jarang dibicarakan dalam industri penanaman nanas. Mahkota nanas merupakan indikator kesuburan tanaman nanas. Mahkota buah nanas memiliki sifat fisik yang sama dengan daun nanas. Mahkota nanas ditunjukkan pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Mahkota nanas

Buah nanas yang diolah pada berbagai industri pengolahan nanas akan menghasilkan mahkota nanas sebagai limbah yang belum dimanfaatkan secara maksimal. Mahkota nanas biasanya dibuang sebagai limbah pertanian dan menjadi beban dari industri pengolahan nanas karena yang digunakan untuk *replanting* sedikit sekali. Salah satu cara untuk memanfaatkan mahkota nanas agar memberikan nilai tambah adalah dengan mempersiapkan sebagai bahan baku selulosa yang kemudian dapat disintesis menjadi *carboxymethylcellulose* (CMC), selulosa asetat, nitroselulosa, bioetanol, industri pengolahan kertas dan bioplastik (Susana, 2011). Kandungan kimia mahkota nanas dapat dilihat pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Komposisi kimia mahkota nanas (Aremu *et al.*, 2015)

Komponen	Persentase (%)
<i>Pulp yield</i>	15
Abu	1,2
Selulosa	65
Lignin	11,5
Kelembaban	81,6

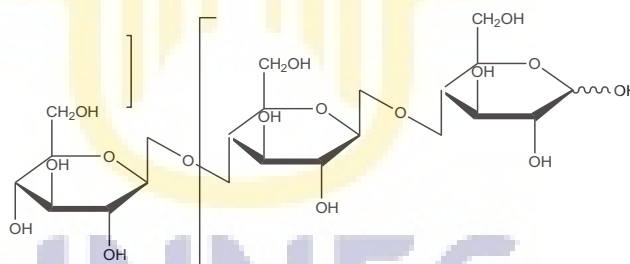
Aremu *et al.* (2015) mengekstraksi selulosa mahkota nanas menggunakan larutan NaOH 7 % selama 180 menit dan menggunakan H₂O₂ sebagai *bleaching agent*, dari penelitian tersebut diperoleh kadar selulosa mahkota nanas sebesar 65 %. Riama *et al.* (2012) menyebutkan penggunaan larutan NaOH 10 % dengan waktu pemasakan 60 menit menghasilkan % *yield* selulosa sebesar 46,55 %. Susana (2011) kadar selulosa dari limbah mahkota nanas yang diisolasi menggunakan larutan NaOH 12 % dengan temperatur 100 °C selama 3,5 jam dan direndam menggunakan NaOCl 5 % selama 3 jam dengan temperatur 30 °C adalah 95,8760 %.

2.2 Selulosa

Biomassa berligniselulosa menjadi salah satu bahan baku terbarukan untuk produksi bioenergi dan biokimia hal ini dikarenakan kesediaan biomassa berligniselulosa di alam yang melimpah dan ramah lingkungan (Timung *et al.*, 2016). Biomassa berligniselulosa mengandung komponen hemiselulosa (20-40 %), selulosa (40-50 %) dan lignin (15-30 %). Komponen utama dalam biomassa adalah selulosa. Selulosa merupakan komponen utama penyusun dinding sel tanaman dan hampir tidak pernah ditemukan dalam keadaan murni di alam

melainkan berikatan dengan lignin dan hemiselulosa membentuk lignoselulosa (Lynd *et al.*, 2002).

Selulosa merupakan polisakarida yang terdiri atas satuan glukosa yang terikat dengan ikatan β -1,4 glikosidik dengan rumus $(C_6H_{10}O_5)_n$ dengan n adalah derajat polimerisasinya. Struktur kimia inilah yang membuat selulosa bersifat kristalin dan tidak mudah larut, sehingga tidak mudah didegradasi secara kimia atau mekanis. Molekul glukosa disambung menjadi molekul besar, panjang, dan berbentuk rantai dalam susunan menjadi selulosa. Semakin panjang suatu rangkaian selulosa, maka rangkaian selulosa tersebut memiliki serat yang lebih kuat, lebih tahan terhadap pengaruh bahan kimia, cahaya, dan mikroorganisme (Putera, 2012). Struktur selulosa di tunjukkan pada Gambar 2.3.

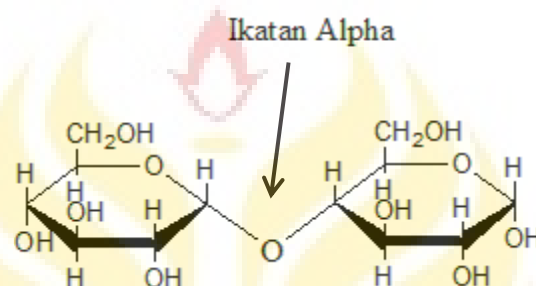


Gambar 2.3. Struktur selulosa (Gautam *et al.*, 2010)

Berdasarkan derajat polimerisasi (DP) dan kelarutan alam senyawa natrium hidroksida (NaOH) 17,5 %, selulosa dapat di bagi atas tiga jenis, yaitu :

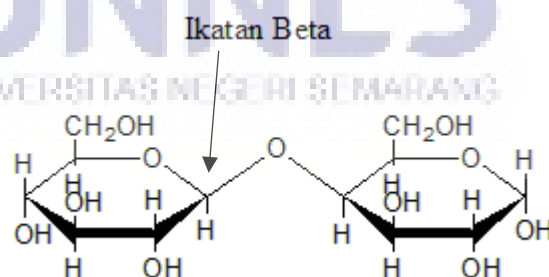
- a. Selulosa α (*Alpha Cellulose*) adalah selulosa berantai panjang, tidak larut dalam larutan NaOH 17,5 % atau larutan basa kuat dengan DP (Derajat Polimerisasi) 600 – 15000. Alfa selulosa digunakan sebagai penduga tingkat kemurnian selulosa. Selulosa dengan derajat kemurnian $\alpha > 92$ % memenuhi

syarat untuk bahan baku utama pembuatan propelan atau bahan peledak. Sedangkan selulosa dengan kualitas dibawahnya digunakan sebagai bahan baku pada industri kertas dan industri kain (serat rayon). Semakin tinggi kadar α –selulosa, maka semakin baik mutu bahannya.(Nuringtyas, 2010). Struktur α –selulosa dapat dilihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Struktur α –selulosa (Nuringtyas, 2010)

- b. Selulosa β (*Betha Cellulose*) adalah selulosa berantai pendek, larut dalam larutan NaOH 17,5 % atau basa kuat dengan DP (Derajat Polimerisasi) 15 – 90, dapat mengendap bila dinetralkan dan standar kadarnya adalah sekitar 2,95 % (Syahputra *et al.*, 2011). Struktur β –selulosa dapat dilihat pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Struktur beta selulosa

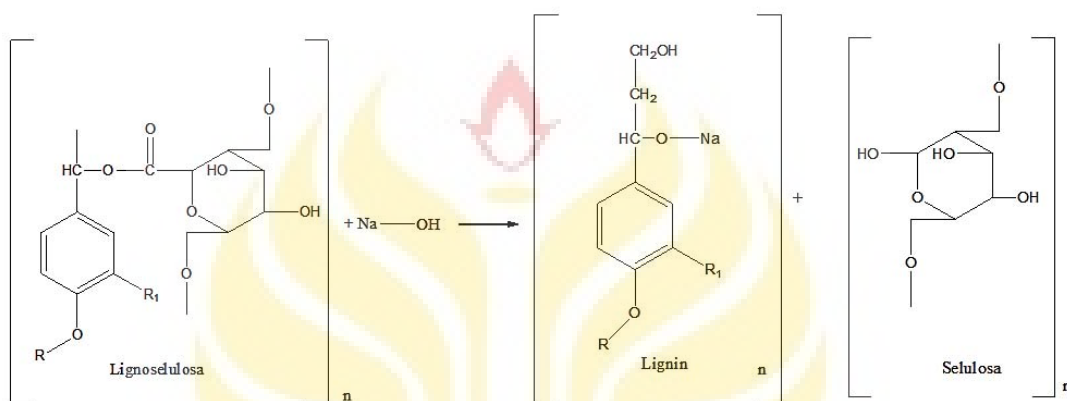
- c. Selulosa γ (*Gamma Cellulose*) adalah selulosa berantai pendek, larut dalam larutan NaOH 17,5 % atau basa kuat dengan DP (Derajat Polimerisasi) kurang dari 15, kandungan utamanya adalah hemiselulosa.

2.3 Ekstraksi α –selulosa

Selulosa pada struktur lignoselulosa terikat (diselubungi) oleh lignin. Struktur lignin sendiri sangat rapat dan kuat sehingga menyulitkan bagi enzim pemecah selulosa untuk bisa masuk ke dalam dan bekerja memecah selulosa menjadi gula sederhana. Untuk membantu kerja enzim, maka terlebih dahulu harus dilakukan *pretreatment* atau perlakuan pendahuluan untuk memecah atau melonggarkan struktur lignin sehingga enzim dapat masuk ke dalam untuk memecah selulosa. *Pretreatment* Lignoselulosa dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu secara kimiawi, fisis, dan mikrobiologis (Sun *et al.*, 2002).

Perlakuan pendahuluan menggunakan larutan basa relatif ringan. Kondisi yang ringan ini bertujuan untuk mencegah kondensasi pada lignin sehingga menghasilkan kandungan lignin terlarut yang tinggi. Metode ini cocok digunakan pada biomassa dengan kandungan lignin yang rendah seperti rumput-rumputan dan daun-daunan. *Alkaline pretreatment* dapat meningkatkan efektifitas enzim pada proses hidrolisis enzimatis. Kandungan lignin pada biomassa akan mengalami proses penguraian dengan proses *alkaline pretreatment*, tetapi tidak terjadi pada kandungan selulosanya. *Alkaline pretreatment* dapat meningkatkan kandungan selulosa dan efektif untuk menghilangkan lignin (Kristina *et al.*, 2012). Larutan NaOH merupakan alkali yang paling kuat dalam mendegradasi struktur dinding sel. Setiawan *et al.* (2014) melaporkan penggunaan NaOH 0,01 M pada proses *pretreatment* jerami padi dilakukan untuk melepas selulosa yang terikat dengan lignin sehingga akan mempermudah konversi selulosa menjadi glukosa. Ion hidroksida (OH⁻) dari NaOH akan memutus ikatan-ikatan dari

struktur dasar lignin sedangkan ion natrium (Na^+) akan berikatan dengan lignin membentuk natrium fenolat. Garam natrium fenolat ini bersifat mudah larut. Lignin yang terlarut ditandai dengan warna hitam pada larutan yang disebut lindi hitam (*black liquor*) (Safaria *et al.*, 2013). Reaksi pemutusan ikatan lignoselulosa dengan NaOH dapat dilihat pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6 Reaksi pemutusan ikatan lignoselulosa menggunakan NaOH (Azhari, 2014)

Bahmid (2014) melaporkan bahwa ekstraksi α -selulosa tandan kosong kelapa sawit dilakukan melalui lima tahap, yaitu : preparasi, hidrolisis menggunakan HNO_3 3,5 % pada temperatur 90 °C selama 2 jam, delignifikasi menggunakan NaOH 2 % dan Na_2SO_3 2 % pada temperatur 50 °C selama 1 jam, *pulping* dilakukan menggunakan NaOH 17,5 % pada temperatur 80 °C selama 30 menit, dan terakhir *bleaching* (pemutihan) menggunakan H_2O_2 10 % pada temperatur 60 °C selama 15 menit. Berdasarkan hasil analisis menggunakan metode *Goering* dan *Van Soest* 1970 diperoleh kadar α -selulosa tandan kosong kelapa sawit sebesar 94,8 %. Widodo *et al.* (2013) mengekstraksi α -selulosa dari limbah batang ubi kayu yang dilakukan menggunakan dua tahap, yaitu

prehidrolisis dan delignifikasi. Proses prehidrolisis dilakukan menggunakan air dengan perbandingan 1 : 20 (limbah batang ubi : air) pada temperatur 100 °C selama 2,5 jam. Delignifikasi menggunakan NaOH (15 %, 20 %, 25 %, dan 30 % w/v) dengan perbandingan limbah batang ubi terhadap NaOH 1 : 20 pada temperatur 128 °C selama 30, 60, 90, dan 120 menit. Berdasarkan hasil penelitian dapat diketahui bahwa kadar selulosa tertinggi adalah 97,69 % yang dilakukan dengan larutan NaOH 25 % selama 60 menit. Syahputra *et al.* (2011) menyebutkan proses ekstraksi α -selulosa dari limbah batang tanaman *Plectranthus rotundifolis* meliputi proses prehidrolisis, delignifikasi dan *bleaching*. Prehidrolisis menggunakan aquades, dengan rasio bahan terhadap cairan pemasak 1 : 6 pada temperatur 100 °C selama 1 jam. Proses delignifikasi dilakukan menggunakan variasi pelarut NaOH, Na₂SO₃, dan Na₂SO₄, dengan variasi konsentrasi yaitu masing-masing 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 % dengan perbandingan berat serat dan volume larutan 1:8, diproses selama 2 jam pada suhu 105 °C dan terakhir *bleaching* (pemutih). Tahap *Bleaching* dilakukan menggunakan H₂O₂ 2 % maupun NaOCl 5 % selama 2 jam pada suhu 60 °C. Berdasarkan hasil analisis yang dilakukan diketahui kadar α –selulosa maksimum adalah 90,41 % dengan menggunakan Na₂SO₃ 20 % pada proses delignifikasi dan 2 % H₂O₂ pada proses *bleaching*.

2.4 Jamur Tiram

Jamur tiram merupakan jamur komersil yang paling banyak ditemukan dalam pembudidayaan jamur. Jamur tiram di alam dapat tumbuh dan berkembang

secara sprofit pada substrat yang mengandung selulosa (Imelda *et al.*, 2015). Jamur tiram dapat tumbuh secara alami maupun secara buatan (*artificial*). Kandungan dan komposisi nutrisi jamur tiramm disajikan pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3 Komposisi dan kandungan nutrisi jamur tiram (Mufarrihah, 2009)

Zat gizi	Kandungan
Kalori	367 kal
Protein	10,5-30,4 %
Karbohidrat	56,6 %
Lemak	1,72-2,2 %
Thiamin	0,2 %
Riboflavin	4,7-1,9 mg
Niacin	72,2 mg
Kalsium	14 mg
Kalium	3,793 mg
Phospor	717 mg
Natrium	837 mg
Besi	3,4-18,2 mg

Aktivitas enzim selulase jamur tiram telah dilaporkan oleh Sherief *et al.* (2010); Iandolo *et al.* (2011); dan Habibah (2015). Sherief *et al.* (2010), melaporkan aktivitas enzim lignoselulitik (exoglucanase, endoglucanase, CMCcase, xilanase, dan pectinase) secara berturut-turut adalah 3,87 IU g⁻¹; 6,01 IU g⁻¹; 13,2 IU g⁻¹; 20,64 IU g⁻¹; dan 21,42 IU g⁻¹. Iandolo *et al.* (2011) menguji aktivitas enzim laktase, xilanase dan protease jamur tiram, dari hasil pengujian aktivitas enzim didapatkan aktivitas enzim laktase, xilanase dan protease secara berturut-turut adalah 15 IU g⁻¹; 9 IU g⁻¹; dan 13 IU g⁻¹. Habibah (2015) melaporkan aktivitas enzim selulosa dari jamur tiram putih sebesar 0,02746 U/mL pada temperatur 30 °C dan pH 6.

2.5 Enzim Selulase

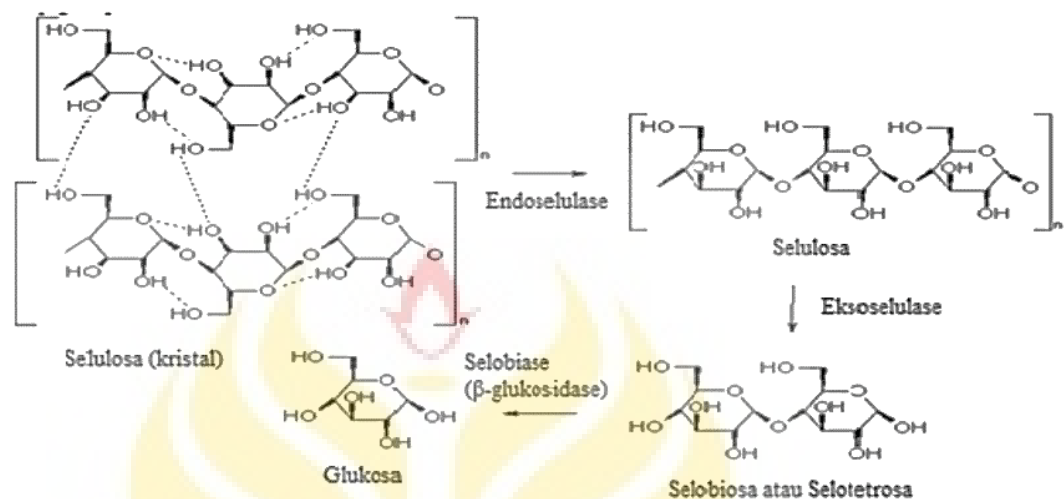
Enzim merupakan biokatalisator yang mampu meningkatkan kecepatan reaksi secara spesifik tanpa ikut bereaksi dan tidak menghasilkan produk samping, bersifat jauh lebih efisien dibandingkan katalis lain, hal ini disebabkan karena molekul enzim memiliki spesifikasi yang tinggi terhadap substratnya (Lechninger, 1997). Enzim selulase merupakan sistem enzim yang terdiri dari beberapa komponen enzim yang bekerja secara bertahap untuk menguraikan selulosa menjadi glukosa. Enzim selulase dapat memutuskan ikatan β -1,4-glukosida dalam selulosa, selodekstrin, selobiosa serta turunan selulosa yang lain (Anggarawati, 2012). Untuk menghidrolisis selulosa yang tidak larut atau selulosa kristal diperlukan kerja sinergistik dari ketiga komponen enzim tersebut. Adapun ketiga komponen enzim tersebut yaitu:

1. Ekso- β -(1,4)-glukanase, berfungsi untuk menghidrolisis selulosa dalam bentuk kristal menjadi selulosa amorf.
2. Endo- β -(1,4)-glukanase berfungsi untuk menghidrolisis ikatan β -(1,4)-glukosida pada selulosa amorf menjadi selobiosa.
3. β -(1,4)-glukosidase menghidrolisis selobiosa menjadi glukosa

(Ikram *et al.*, 2005).

Mekanisme hidrolisis selulosa menjadi glukosa dapat dilihat pada Gambar

2.7.



Gambar 2.7 Mekanisme hidrolisis selulosa menjadi glukosa menggunakan enzim selulase

Enzim selulase biasanya diproduksi oleh mikroba contohnya jamur, bakteri dan juga protozoa selain itu juga diproduksi oleh tanaman dan hewan. Putri, (2016) berhasil mengisolasi enzim selulase dari *Lactobacillus platarum*. Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa enzim selulase dari *Lactobacillus platarum* akan bekerja optimum pada suhu, pH dan konsentrasi substrat secara berturut-turut adalah 65 °C, 7 dan 1,5 %. Irawati, (2016) juga mengisolasi enzim selulase dari bakteri yaitu *Bacillus circulans*. Ekstrak kasar enzim selulase yang diproduksi oleh *Bacillus circulans* memiliki pH optimum 8 dengan aktivitas sebesar $2,17 \times 10^{-2}$ U/mL. Suhu optimum yang diperoleh adalah 37 °C. Kaur *et al.* (2015) melakukan optimasi enzim selulase yang diproduksi dari jamur yang diisolasi dari air, dari hasil penelitian tersebut didapatkan 2 jamur yang berhasil diidentifikasi yaitu *P. chrysogenum* dan *T. reesei*. Optimasi yang dilakukan dalam

penelitian ini meliputi temperatur, pH dan waktu inkubasi sehingga diperoleh optimasi *P. chrysogenum* dan *T. reesei* secara berturut-turut adalah 30 °C, pH 5, 144 jam dan 30 °C, pH 4 dan 120 jam.

2.6 Hidrolisis

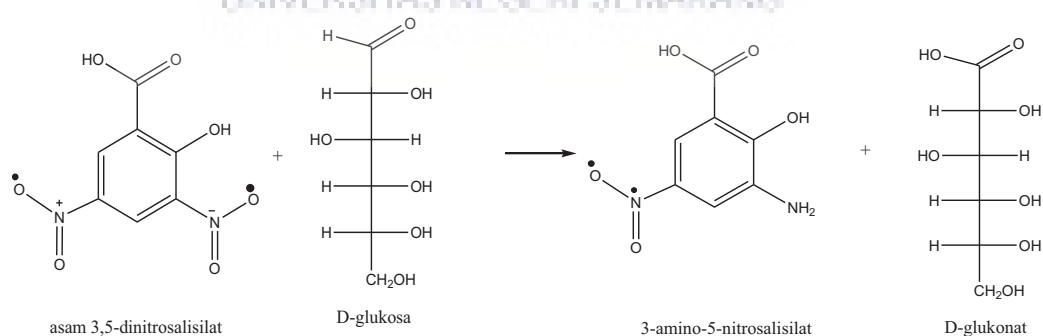
Hidrolisis merupakan proses perombakan rantai selulosa, protein dan molekul lainnya menjadi asam amino, gula sederhana atau glukosa. Hidrolisis selulosa dapat dilakukan secara kimiawi maupun enzimatik. Hidrolisis secara enzimatik memiliki perbedaan mendasar dengan hidrolisis secara kimiawi perbedaan tersebut yaitu dalam hal spesifitas pemutusan rantai polimer pati dan selulosa. Hidrolisis secara kimiawi (asam) akan memutus rantai polimer secara acak, sedangkan hidrolisis enzimatik akan memutus rantai polimer secara spesifik pada percabangan tertentu (Setyawati *et al.*, 2011). Hidrolisis enzimatik lebih diutamakan karena memiliki beberapa keuntungan dibandingkan hidrolisis kimiawi, antara lain: tidak terjadi degradasi gula hasil hidrolisis, kondisi proses yang lebih lunak (suhu dan tekanan rendah), serta proses enzimatik merupakan proses yang ramah lingkungan (Gunam *et al.*, 2011).

Efektifitas enzim selulase jamur tiram dalam menghidrolisis selulosa telah banyak dilakukan. Habibah (2015) melakukan hidrolisis alga merah *Gracilaria verrucosa* menggunakan enzim selulase yang diisolasi dari jamur tiram diperoleh kadar glukosa paling tinggi 3566,67 ppm yang dilakukan pada pH 6 dan temperatur hidrolisis 30 °C. Kodri *et al.* (2013) melakukan hidrolisis terhadap selulosa dari jerami pada menggunakan enzim selulase dari *Aspergillus niger* dan

Trichoderma reesei dengan perbandingan (1 : 2) diperoleh kadar glukosa tertinggi yaitu 16,884 % dengan lama hidrolisis yaitu 64 jam. Setiawan *et al.* (2015) melakukan pembuatan bioetanol dari jerami pada dengan enzim selulase sebagai agen penghidrolisis enzim selulase jamur tiram diperoleh kadar glukosa optimum 0,2738 mg/20 g substrat.

2.7 Metode Miller

Metode *Miller* digunakan untuk mengukur gula pereduksi dengan teknik kolorimetri. Teknik ini hanya dapat mendeteksi satu gula pereduksi, misalnya glukosa. Glukosa memiliki gugus aldehyd, sehingga dapat dioksidasi oleh asam 3,5-dinitrosalisilat menjadi gugus karboksil dan menghasilkan senyawa asam, 3-amino-5-salisilat pada kondisi basa (Pratomo *et al.*, 2016). Adanya NaOH dalam reagen DNS menyebabkan larutan bersifat basa, dalam larutan basa inilah glukosa dapat teroksidasi menjadi asam glukonat, sehingga asam 3,5-dinitrosalisilat akan tereduksi menjadi asam 3-amino-5-nitrosalisilat yang berwarna jingga dan menyerap cahaya pada $\lambda > 500$ nm. Reaksi antara DNS dan glukosa dapat dilihat pada Gambar 2.8.



Gambar 2.8 Reaksi antara reagen DNS dengan glukosa (Pratomo *et al.*, 2016)

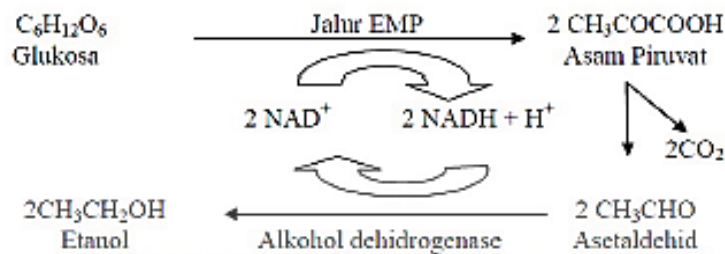
Reagen DNS terdiri dari asam 3,5-dinitrosalisilat, K-Na Tartat Tetrahidrat, fenol, natrium metabisulfit. Penambahan K-Na Tartat Tetrahidrat dilakukan untuk melindungi reagen dari hilangnya oksigen, penambahan fenol dilakukan untuk menguatkan warna, penambahan natrium metabisulfit untuk menjaga warna tetap stabil dan penambahan NaOH untuk mereduksi glukosa (Miller, 1959). Namun, reagen DNS akan mengalami ketidakstabilan apabila terjadi kontak langsung dengan cahaya. Hal ini bisa diatasi dengan menjaga penyimpanan reagen DNS dalam botol gelap dan suhu rendah agar terhindar dari kontak langsung dengan cahaya (Kodri *et al.*, 2013).

2.8 Fermentasi

Fermentasi adalah suatu proses perubahan kimia pada substrat organik, baik karbohidrat, protein, lemak atau lainnya, melalui kegiatan katalis biokimia yang dikenal sebagai enzim dan dihasilkan oleh jenis mikroba spesifik. Secara biokimia fermentasi juga dapat diartikan sebagai pembentukan energi melalui senyawa organik (Habibah, 2015).

Proses fermentasi anaerob mula-mula dimulai dengan pemecahan molekul glukosa menjadi asam piruvat melalui lintas EMP (*Embden Meyerhaf-Paruas*). Setelah itu terjadi dekarboksilasi asam piruvat menjadi asetaldehida. Asetaldehida tereduksi menjadi etanol yaitu menerima elektron hasil oksidasi asam gliseraldehida 3-phosphat. Asetaldehida bertindak sebagai penerima hidrogen dalam fermentasi dengan hasil reduksinya oleh NADH₂ menghasilkan etanol, dan NAD yang teroksidasi kemudian dapat digunakan lagi untuk menangkap hidrogen. Melalui proses fermentasi anaerob, glukosa akan diubah menjadi etanol

dan CO_2 (Ariyani, 2013). Skema fermentasi menggunakan ragi dapat dilihat pada Gambar 2.9.



Gambar 2.9 Skema fermentasi bioetanol

Fermentasi etanol yang juga biasa disebut fermentasi alkohol adalah proses biologi dimana gula seperti glukosa, fruktosa dan sukrosa diubah menjadi energi selular dan menghasilkan etanol dan karbondioksida sebagai metabolit samping (Roukas, 1996). Secara sederhana proses fermentasi alkohol dari bahan baku yang mengandung gula atau glukosa terlihat pada reaksi berikut :



Berdasarkan reaksi diatas, 70 % energi bebas yang dihasilkan dibebaskan sebagai panas dan secara teoritis 100% karbohidrat diubah menjadi 51,1 % etanol dan 48,9 % menjadi CO_2 . Ragi roti digunakan dalam proses fermentasi karena dapat memproduksi etanol dalam jumlah besar serta memiliki toleransi yang tinggi terhadap kondisi yang ekstrim. Penggunaan ragi roti dalam proses fermentasi bioetanol telah dilaporkan oleh Nasrun *et al.* (2015) dan Lathifa (2017).

BAB V

PENUTUP

5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian dan pembahasan yang telah diuraikan dapat disimpulkan bahwa :

1. Waktu hidrolisis optimum yang dibutuhkan enzim selulase jamur tiram untuk menghidrolisis substrat α -selulosa limbah mahkota nanas sehingga menghasilkan prekursor bioetanol dengan kandungan gula reduksi tinggi adalah 8 jam.
2. Rasio substrat α -selulosa dengan enzim selulase jamur tiram untuk menghidrolisis substrat limbah mahkota nanas sehingga menghasilkan prekursor bioetanol dengan kandungan gula reduksi tinggi adalah 2 : 1.
3. Filtrat hasil fermentasi positif mengandung etanol, hal tersebut dibuktikan dengan uji $K_2Cr_2O_7$ yang menghasilkan warna biru dan karakterisasi menggunakan HPLC, kadar etanol yang diperoleh adalah 0,094 %.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian dan pembahasan yang telah diuraikan maka disarankan untuk :

1. Dilakukan penelitian terkait kadar substrat terhadap kadar glukosa yang dihasilkan menggunakan hidrolisis enzimatik.

2. Dilakukan pemurnian dan penentuan kadar terhadap enzim lignoselulitik yang ada dalam jamur tiram.
3. Dilakukan hidrolisis kimiawi terhadap substrat α -selulosa limbah mahkota nanas
4. Dilakukan fermentasi menggunakan ragi tape
5. Dilakukan proses destilasi terhadap filtrat hasil fermentasi dan karakterisasi menggunakan GC-MS.



DAFTAR PUSTAKA

- Abraham, E., B. Deepa., L.A. Pothan., M. Jacob., S. Thomas., U. Cvelbar., R. Anadjiwala. 2011. Extraction of Nanocellulose Fibrils From Lignocellulosic Fibres : A Novel Approach. *Carbohydrate Polymers*.
- Anuj, K.C., Rundravarana, R., Narasu, M.L., Rao, L.R., dan Ravinda, P. 2007. Economic and Environmental Impact of Bioethanol Production Technology. *Biotechnol. Mol. Biol. Rev.* 2 (1) : 14-32.
- Ariyani, E. 2013. Produksi Bioetanol dari Jerami Padi (*Oryza sativa* L). *Skripsi*. Semarang : FMIPA Universitas Negeri Semarang.
- Aremu, M.O., M.A, Rafiu dan K.K, Adedeji. 2015. Pulp and Paper Production From Nigerian Pineapple Leaves and Corn Straw as Substitute to Wood Source. *International Research Journal of Engineering and Technology (IRJET)*, 2(4) : 1180-1188.
- Anggarawati, D. 2012. Aktivitas Enzim Selulase Isolat SGS 2609 BBP4B-KP Menggunakan Substrat Limbah Pengolahan Rumput Laut yang Dipretreatment dengan Asam. *Skripsi*. Depok : Fakultas Teknik Universitas Indonesia.
- Azhari, A., S, Falah., L, Nurjannah., Suryani., dan M, B intang. 2014. Delignifikasi Batang Kayu Sengon oleh *Trametes versicolor*. *Current Biochemistry*, 1 (1) : 1-10.
- Aziz, M., F, Husson., dan S, Kermasha. 2015. Optimization of the Hydrolysis of Safflower Oil for the Production of Linoleic Acid, Used as Flavor Precursor. *International Journal of Food Science*.
- Badan Pusat Statistik. 2014. Produksi Buah-Buahan dan Sayuran Tahunan di Indonesia, 1995-2013. Badan Pusat Statistik, Jakarta, Indonesia
- Baharuddin, M., Sappewali, Karisma. dan J, Fitriyani. 2016. Produksi Bioetanol dari Jerami Padi (*Oryza sativa* L.) dan Kulit Dao (*Dracontamelon*) Melalui Proses Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak (SFS). *Chimica et Natura Acta*, 4 (1) : 1-6.
- Bahmid, N.A. 2014. Pengembangan Nanofiber Selulosa Asetat dari Selulosa Tandan Kosong Kelapa Sawit Untuk Pembuatan Bioplastik. *Tesis*. Bogor : Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Balat, M., H, Balat., dan C, Oz. 2008. Progress in Bioethanol Processing. *Progress in Energy and Combustion Science*.
- Chandel, K.A., E.S, Chan., R, Rudravaram., M.L, Narasu., L.V, Rao., dan P, Ravindra. 2007. Economics and Environmental Impact of Bioethanol Production Technologies : An Appraisal. *Biotechnology and Molecular Biology Review*. 2 (1) : 14-32

- Damanik, A. T., L.I.M, Yulianti., dan A, Wibowo. 2016. Kemampuan Alfa Selulosa dari Sabut Kelapa Hijau (*Cocos nucifera L.*) Sebagai Bioadsorben Logam Berat Cadmium (Cd). *Jurnal Biologi Lingkungan*.
- Gautam, P.S., P.S, Bundela., A.K, Pandey., Jamaluddin., M.K, Awasthi dan S, Sarsaiya. 2010. A Review on Systematic Study of Cellulose. *Journal of Applied and Natural Science*, 2 (2) : 330-343.
- Gunam, W. I. B., Wayan R.A., Ida B.N., dan Surya D. 2011. Produksi Selulase Kasar dari Kapang *Tricoderma viride* dengan Perlakuan konsentrasi Substrat Ampas Tebu dan Lama Fermentasi. *Jurnal Biologi*, XV (2) : 29-33.
- Habibah, F. 2015. Produksi Substrat Fermentasi Bioetanol Dari Alga Merah *Gracilaria verrucosa* Melalui Hidrolisis Enzimatis dan Kimiawi. *Skripsi*. Semarang : Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Semarang.
- Habibah, R., D.Y, Nasution., dan Y, Muis. 2013. Penentuan Berat Molekul dan Derajat Polimerisasi α -selulosa yang Berasal dari Alang-Alang (*Imperata cylindrica*) dengan Metode Viskositas. *Jurnal Sintia Kimia*, 1 (2) : 1-6.
- Iandolo, D., A, Piscitelli., G, Sannia., dan V, Faraco. 2011. Enzyme Production by Solid Substrate Fermentation of *Pleurotus ostreatus* and *Trametes versicolor* on Tomato Pomace. *Appl Biochem Biotechnol*.
- Haq, U. I., M.M, Javed., T.S,khan dan Z, Siddiq. 2005. Cotton Saccharifying Activity of Cellulases Produced by Co-culture of *Aspergillus niger* and *Trichoderma viride*. *Reserch Journal of Agriculture and Biological Science*, 1(3) : 241-245
- Imelda., Nurmiati., dan Periadnadi. 2015. Pengaruh Pencucian Media Serbuk Gergaji Terhadap Keberadaan dan Aktivitas Beberapa Enzim Media dan Tubuh Buah Jamur Tiram. *Online Journal of Natural Science*, 4(3) : 310-321.
- Irawati, R. 2016. Karakterisasi pH, Suhu dan Konsentrasi Substrat Pada Enzim Selulase Kasar Yang Di Produksi Oleh *Bacillus circulans*. *Skripsi*. Malang : Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim.
- Kaur, P.H., dan D, Joshi. 2015. Optimization of Celululase Produced by Fungus Isolated From Water. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(2) : 521-534.
- Kodri., B.D, Argo dan R. Yulianingsih. 2013. Pemanfaatan Enzim Selulase Dari *Tricoderma resei* dan *Aspergillus niger* Sebagai Katalisator Hidrolisis Enzimatis Jerami Padi Dengan *Pretreatment Microwave*. *Bioproses Komodutas Tropis*, 1(1) : 37-43.

- Kristina., E.R, Sari., Novia. 2012. *Alkaline Pretreatment* dan Proses Simultan Sakarifikasi-Fermentasi untuk Produksi Etanol dari Tandan Kosong Kelapa Sawit. *Jurnal Teknik Kimia*. 18 (3) : 34-43.
- Jhonprimren, H.S., A. Turnip., dan M.H. Dahlan. 2012. Pengaruh Massa Ragi, Jenis Ragi, dan Waktu Fermentasi pada Bioetanol dari Biji Durian. *Jurnal Teknik Kimia*, 2(18) : 43-51.
- Lin, Y., dan S. Tanaka. 2006. Ethanol Fermentation From Biomass Resources : Current State and Prospect. *Appl. Microbiol Biotechnol*, 69 : 627-642.
- Lynd, L. R., P.J, Weimer., Willem, H., V, Zyl dan Iska, S. 2002. Microbial Cellulose Utilization : Fundamentals and Biotechnology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 66(4): 506-577.
- Mandal, A., dan D, Chakrabarty. 2011. Isolation of Nanocellulose From Waste Sugarcane Bagasse (SCB) and its Characterization. *Carbohydrate Polymers*.
- Mufarrihan, L. 2009. Pengaruh Penambahan Bekatul dan Ampas Tahu Pada Media Terhadap Pertumbuhan dan Produksi Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*). *Skripsi*. Malang : Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi. UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Nasrun, Jalaluddin dan Mahfuddhah. 2015. Pengaruh Jumlah Ragi dan Waktu Fermentasi terhadap Kadat Bioetanol yang Dihasilkan dari Fermentasi Kulit Pepaya. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*, 4 (2) : 1-10.
- Nurdyastuti, I. 2006. Teknologi Proses Produksi Bioetanol. Jakarta : Agromedia Pustaka.
- Nuringtyas, T.R. 2010. *Karbohidrat*. Yogyakarta : Gadjah Mada University Press.
- Oktavia. I. F., B.D., Argo., dan M, Lutfi. 2014. Hidrolisis Enzimatis Ampas Tebu (Bagasse) Memanfaatkan Enzim Selulase dari Mikrofungi *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* Sebagai Katalisator dengan Pretreatment Microwave. *Jurnal Keteknik Perikanan dan Biosistem*, 2 (3) : 256-262.
- Poedjiaji, A., dan Supriyanti, F.M. 2006. *Dasar-dasar Biokimia*. Jakarta : UI Press.
- Pratomo, J., Supartono., E, Cahyono. 2015. Pengaruh Selulase Berbagai Jamur Pada Hidrolisis Enzimatis Kulit Pisang Dalam Pembuatan Bioetanol. *Indonesian Journal Of Chemical Science*, 5(1) : 78-80.
- Purba. H. E. D., I.E, Suprihatin dan A.A.I.A.M. Laksmiwati. 2016. Pembuatan Bioetanol dari Kupasan Kentang (*Solanum tuberosum L.*) dengan Proses Fermentasi. *Jurnal Kimia*, 10 (1) : 155-160.
- Putera, R.D.H. 2012. Ekstraksi Serat Selulosa dari Tanaman Eceng Gondok (*Eichornia crassiper*) dengan Variasi Pelarut. *Skripsi* : Program Studi Teknik Kimia Jurusan Tekni Universitas Indonesia, Depok.

- Putri, S. 2016. Karakterisasi Enzim Selulase yang Dihasilkan Oleh *Lactobacillus olantarum* pada Variasi Suhu, pH dan Konsentrasi Substrat. *Skripsi*. Malang : Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Riama, G., Austrin, V., dan Prasetyowati. 2012. Pengaruh H₂O₂, Konsentrasi NaOH dan Waktu terhadap Derajat Putih Pulp Dari Mahkota Nanas. *Jurnal Teknik Kimia*, 3 (18) : 24-34.
- Rosa, M.L.S., N, Rehman., Maria, I.G., De, M., Sonia, M.B.N., Nachtigall., Clara, I.D., dan Bica. 2012. Chlorinr-Free Extraction of Cellulose From Rice Husk and Whisker Isolation. *Carbohydrate Polymers*, 87 : 1131-1138.
- Safaria, S., N, Idiawati., dan T.A, Zaharah. 2013. Efektivitas Campuran Enzim Selulase dari *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei* Dalam Menghidrolisis Substrat Sabut Kelapa. *JKK*, 2(1): 46-51.
- Samsal, S., V.V,Goud., K, Mohanty. 2012. Characterization of Biomasses Aavailable in the region of North-East India For Production Biofuels. *Biomass Bioenergy*, 45 : 212-220.
- Setiawan, H., dan E, Kusumo. 2015. Pembuatan Bioetanol dari Jerami Padai dengan Bantuan Enzim Selulase Dari Jamur Tiram. *Indonesian Journal Of Chemical Science*, 4(2) : 132-137.
- Setyawati, H., dan N.A.,Rahman. 2011. Pemanfaatan Kulit Pisang Bahan Baku Bioetanol dengan Proses Hidrolisis Enzimatik. *Jurusan Teknik Kimia*, 5(2) : 105-111.
- Sherief, A.A., A.B.El-Tanash., A.M. Temraz. 2010. Lignocellulolytic Enzyme and Substrat Utization Buring Growt and Fruiting of *Pleurotus ostreatus* on Some Solid Wastes. *Journal of Environmental Science and Technology*, 3(1) : 18-34.
- Sonia, O.N.M., dan J, Kusnadi. 2015. Isolasi dan Karakterisasi Parsial Enzim Selulase dari Isolat Bakteri OS-16 Asal Padang Pasir Tengger-Bromo. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 3 (4) : 11-19.
- Sun, Y., dan Jiayang, C. 2002. Hydroysis of lignocellulosic materials for ethanol production : a review. *Bioresource Technology*.
- Susana. 2011. Ekstraksi Selulosa Limbah Mahkota nanas. *Jurnal Vokasi* 7 (1) : 87-94.
- Swara, D.E. 2015. Pemanfaatan Limbah Mahkota Nenas Sebagai Karbon Aktif dengan Menggunakan Aktivator HCl. *Laporan Akhir* : Politeknik Negeri Sriwijaya, Palembang.

- Syahputra M., P.S,Purnama., dan F,Kumala. 2011. Kajian Proses Isolasi α –selulosa dari Limbah Batang Tanaman *Plectranthus rotundifolius* yang Efisien. *Jurnal Teknik Kimia*, 5 (2) : 434 – 438.
- Timung, R., N.N, Deshavath., V.V, Goud dan V.V, Dasu. 2016. Effect of Subsequent Dilute Acid and Enzymatic Hydrolysis on Reducing Sugar Production From Sugarcane Bagasse and Spent Citronella Biomass. *Journal of Energy*.
- Wicaksono. R., K, Syamsu., I. Yuliasih., dan M, Nasir. 2013. Karakteristik Nanoserat Selulosa dari Ampas Tapioka dan Aplikasinya Sebagai Penguat Film Tapioka. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*, 23 (1) : 38-45.
- Widodo, U, L., K, Sumada., C, Pujiastuti., dan N, Karaman. 2013. Pemisahan Alpha-Selulosa dari Limbah Batang Ubi Kayu Menggunakan Larutan Natrium Hidroksida. *Jurnal Teknik Kimia*, 7(2) : 43-47.
- Yusak, Y. 2004. Pengaruh Suhu dan Buffer Asetat terhadap Hidrolisis CMC oleh Enzim Selulase dari Ekstrak *Aspergillus niger* dalam Media Campuran Onggok dan Dedak. *Jurnal Sains Kimia*, 8(2) : 35-36.
- Zely,D.F. 2016. Pengaruh Waktu dan Kadar *Saccharomyces cerevisiae* Terhadap Produksi Etanol dari Serabut Kelapa Pada Proses Sakarifikasi dan Fermentasi Simultan dengan Enzim Selulase. *Skripsi*. Bengkulu : Universitas Bengkulu.