

PEMANFAATAN LIMBAH ALGINAT MENJADI GULA REDUKSI MELALUI HIDROLISIS MENGGUNAKAN ENZIM SELULASE

Octovianus SR Pasanda¹⁾, Abdul Azis¹⁾, Zulmanwardi¹⁾, Sakius Ruso¹⁾
¹⁾ Dosen Jurusan Teknik Kimia, Politeknik Negeri Ujung Pandang, Makassar

ABSTRACT

The use of brown seaweed for the industry is mainly based on the chemical content contained in seaweed such as alginate, jelly, and carrageenan. The main component of seaweed is carbohydrates. Hydrolysis is a process carried out to make polysaccharide molecules into simple sugars such as glucose and galactose. This study aims to look at the effect of enzyme concentration and incubation time on the hydrolysis of alginate waste substrates using cellulase enzymes. The process of hydrolysis of alginate waste flour produces sugar content, which was previously carried out by ultrasonic pretreatment. The hydrolysis process uses cellulase enzymes with various enzyme concentrations (8, 10, 12, 14 and 16 U/mg) in a 7% substrate and variations in incubation time (84, 96 and 108 hours). Analysis of reducing sugar content using a UV-Visible Spectrophotometer with a wavelength of 575 nm. The highest reducing sugar content was obtained at 96 hours with an additional concentration of 12 U/mg enzyme (6.55%).

Keywords: *Alginate waste; Hydrolysis; Reduction sugar; Cellulase enzyme; Spectrophotometer*

1. PENDAHULUAN

Produksi biomassa lignoselulosa dari tanaman di dunia mencapai jumlah sekitar 200×10^9 ton per tahun. Sebanyak $8-20 \times 10^9$ ton dari biomassa tersebut berpotensi untuk diolah lebih lanjut (Lin dan Tanaka, 2006 dalam Amelia, A, 2012). Indonesia merupakan negara penghasil biomassa yang cukup melimpah, baik yang berasal dari bahan kayu, jerami, rumput-rumputan, limbah pertanian, hutan, limbah industri (kayu, kertas) dan bahan berserat lainnya, sehingga sangat memungkinkan untuk pemanfaatan biomassa lignoselulosa yang sampai saat ini belum dikembangkan secara optimal (Octavia et al, 2011). Proses biokonversi polisakarida menjadi komponen gula dinamakan sakarifikasi (Karmakar dan Ray, 2011). Glukosa merupakan produk utama dari pemecahan selulosa (Kristensen, 2009).

Rumput laut merupakan salah satu jenis bahan yang memiliki kandungan selulosa yang tinggi. Produktivitas rumput laut setiap tahunnya dapat menghasilkan 19.000 liter bioetanol per hektar. Produktivitas tersebut lima kali lebih besar jika dibandingkan dengan jagung dan dua kali lebih besar dibandingkan dengan tebu. Rumput laut hanya membutuhkan kurang dari 3% dari perairan pesisir dunia untuk menghasilkan rumput laut yang cukup untuk menggantikan 60 miliar galon bahan bakar fosil (Sanglap, 2012 dalam Adini, S, dkk, 2015). Dalam pemanfaatan rumput laut coklat sebagai bahan baku, masalah utamanya adalah bahan baku ini tidak dapat difermentasi langsung, tetapi harus dihidrolisis terlebih dahulu untuk mengubah pati menjadi gula reduksi. Untuk tujuan tersebut, dewasa ini telah dikembangkan berbagai metode hidrolisis polisakarida, meliputi hidrolisis asam (Zamora et al., 2010), dan enzimatik. Meskipun metode di atas mampu menghasilkan gula reduksi namun gula reduksi yang dihasilkan belum optimal, sehingga diperlukan upaya pretreatment untuk meningkatkan kemudahan pati untuk dihidrolisis.

Untuk itu, penelitian ini dilaksanakan menggunakan proses pretreatment metode ultrasonikasi. Liu et al. (2010), menyatakan bahwa kavitasasi (rongga) ultrasonik menghasilkan daya patah yang akan memecah dinding sel secara mekanis dan meningkatkan transfer materi. Beberapa keunggulan pada penggunaan teknologi ultrasonik dalam aplikasinya pada berbagai macam pati dan polisakarida adalah (Lida, 2002 dalam Adhiksana, A, dkk, 2017): 1) proses ultrasonik tidak membutuhkan penambahan bahan kimia dan bahan tambahan lain, 2) prosesnya cepat dan mudah, yang berarti prosesnya tidak memerlukan biaya tinggi, 3) prosesnya tidak mengakibatkan perubahan yang signifikan pada struktur kimia, partikel, dan senyawa-senyawa bahan yang digunakan. Setelah dilakukan pretreatment metode ultrasonikasi, dilakukan proses hidrolisis untuk memperoleh kadar gula reduksi. Setelah hidrolisis, kadar gula reduksi dalam filtrat ditentukan dengan metode UV-Vis menggunakan reagen

¹ Korespondensi penulis: Octovianus SR Pasanda, Telp 081242826202, octopasanda@poliupg.ac.id

dinitrosalisilat (DNS). Kadar gula reduksi dihitung berdasarkan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 575 nm, dengan bantuan kurva standar yang dihasilkan dari pengukuran absorbansi larutan glukosa. Untuk mengevaluasi kemungkinan pembentukan gula reduksi selama proses ultrasonikasi.

Metoda biologi atau secara enzimatik memiliki keuntungan yaitu menghasilkan produk dengan kualitas yang baik karena reaksi spesifik dari enzim-substrat. Struktur kristal dan porositas selulosa pun tidak mengalami degradasi sehingga produk biokonversi yang dihasilkan berkualitas lebih baik (Thakur dan Nakagoshi, 2011). Metode yang digunakan untuk menghidrolisis selulosa adalah dengan menggunakan enzim, contohnya selulase (Galbe dan Zacchi, 2002). Menurut Thakur dan Nakagoshi (2011), terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi hasil dan laju hidrolisis enzim yaitu konsentrasi substrat, aktivitas selulase, dan kondisi reaksi seperti pH dan temperatur.

2. METODE PENELITIAN

Desain Penelitian

Metode penelitian yang digunakan pada penelitian ini, yaitu metode ultrasonik. Metode ultrasonik dilakukan untuk mengekstrak rumput laut coklat (*Sargassum Sp.*). Dari hasil ekstraksi, diperoleh limbah alginat yang kemudian dikeringkan dan dihaluskan hingga menjadi bubuk limbah alginat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan enzim dan waktu inkubasi pada proses hidrolisis. Hasil hidrolisis dilakukan analisa kadar gula pereduksi yang terkandung dalam limbah alginat tersebut. Variabel penelitian untuk penelitian ini disajikan sebagai berikut:

- 1) Variabel berubah: penambahan enzim selulase (8, 10, 12, 14 dan 16 U/mg), waktu inkubasi (84, 96 dan 108 jam).
- 2) Variabel tetap: untuk metode ultrasonik volume Na_2CO_3 2% (1:10 b/v), suhu ultrasonik 60°C dan waktu ultrasonik 30 menit. Untuk analisa selulosa suhu waterbath 90°C dan waktu waterbath 1 jam, oven dengan suhu 105°C. Untuk proses hidrolisis bubur rumput laut coklat 7%, volume reagent DNS 3 ml, panjang gelombang spektrofotometer 575 nm.

Prosedur Kerja

Penelitian ini terdiri atas preparasi rumput laut coklat, ekstraksi rumput laut coklat menggunakan metode ultrasonik, analisa kadar air bubuk limbah alginat dan analisa selulosa bubuk limbah alginat, hidrolisis bubuk limbah alginat rumput laut coklat (*Sargassum Sp.*), dan analisa gula pereduksi hasil hidrolisis.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk melihat pengaruh variasi konsentrasi enzim dan waktu inkubasi pada saat hidrolisis substrat limbah alginat untuk memperoleh hasil optimum dengan menggunakan enzim selulase. Enzim selulase yang digunakan memiliki aktivitas spesifik 20.000 unit/g. Konsentrasi enzim dan substrat berpengaruh terhadap produk yang dihasilkan.

Hasil Uji Kadar Air

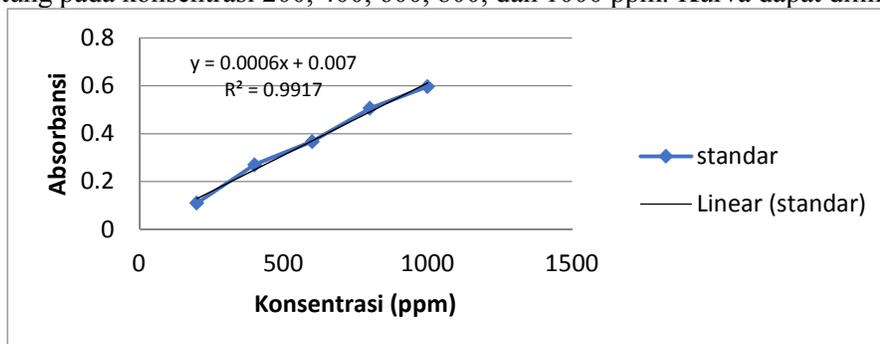
Penelitian ini dilakukan analisa kadar air dari tepung limbah alginat yang diperoleh dari hasil ekstraksi menggunakan gelombang ultrasonik. Rata-rata nilai kadar air alginat yang dihasilkan adalah 10,73%. Menurut Yani (1988) dalam Mas'ud. F, dkk (2016), kadar susut pengeringan sebenarnya tidak dipengaruhi oleh proses isolasi alginat, melainkan oleh kadar air yang terkandung selama penyimpanan. Diharapkan alginat yang dihasilkan memiliki kadar susut pengeringan lebih rendah dari 15%. Kadar air menjadi salah satu persyaratan mutu alginat, karena akan memengaruhi daya simpan produk. Dari hasil tersebut tampak bahwa kadar air yang dihasilkan tidak berbeda dengan dengan kadar air bahan baku yang digunakan untuk produksi bioetanol yang digunakan peneliti lain yaitu berkisar antara 7,04–11,16% (Subekti, 2006; Shofiyanto, 2008; Borines et al., 2013 dalam Sari, R.N, dkk, 2013). Kadar air tersebut dijaga agar tidak tinggi (maksimal 14–15%) karena menurut Loebis (2008) kadar air bahan baku akan berpengaruh pada pertumbuhan kapang, aktivitas enzim, penurunan porositas, dan laju difusi oksigen.

Hasil Analisa Selulosa

Selulosa merupakan substansi organik yang paling melimpah di alam. Selulosa mendominasi karbohidrat yang berasal dari tumbuh-tumbuhan hampir mencapai 50% karena selulosa merupakan bagian yang terpenting dari dinding sel tumbuh-tumbuhan. Selulosa ditemukan dalam tanaman yang dikenal sebagai microfibril dengan diameter 2-20 nm dan panjang 100-40000 nm (Wiratmaja, I Gede, dkk, 2011). Penelitian ini dianalisa pula kadar selulosa yang terkandung pada tepung limbah alginat yang telah diekstraksi menggunakan metode ultrasonik. Tepung limbah alginat yang telah diekstraksi memiliki rata-rata kadar selulosa yaitu 12,95%. Berdasarkan penelitian (Horn, 2000; Harvey, 2008; Siddhanta et al., 2011; Santi et al., 2012; Borines et al., 2013 dalam Sari, R.N, dkk, 2013), kadar selulosa yang dihasilkan tidak berbeda dengan kadar selulosa bahan baku yang digunakan untuk produksi bioetanol dalam penelitian-penelitian sebelumnya yaitu 3,5– 25,50%. Kadar selulosa yang dihasilkan juga tidak jauh beda dengan selulosa dari penelitian Sari (2010), dimana dinyatakan bahwa rumput laut coklat jenis *Sargassum* sp. yang telah dibuat menjadi tepung memiliki kadar selulosa sebesar $15,80 \pm 0,79\%$. Kadar selulosa ini dapat mempengaruhi potensi bahan baku yang digunakan untuk memproduksi bioetanol. Kadar selulosa yang tinggi menunjukkan bahwa bahan tersebut mempunyai potensi untuk diolah lebih lanjut menjadi gula. Kadar selulosa yang lebih rendah juga dapat menggambarkan besarnya kandungan senyawa lain yang dapat menghambat proses depolimerisasi dan dekrystalisasi selulosa. Hal ini dapat mengakibatkan enzim yang digunakan dalam proses hidrolisis akan kesulitan dalam mengakses selulosa dan mengubah selulosa menjadi glukosa.

Hidrolisis Tepung Limbah Alginat

Tahapan ini dilakukan proses hidrolisis dengan memvariasikan jumlah penambahan enzim selulase dan waktu inkubasi. Hasil dari penelitian yang telah dilakukan, dilakukan analisa untuk memperoleh kurva standar. Kurva standar dihitung pada konsentrasi 200, 400, 600, 800, dan 1000 ppm. Kurva dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Kurva standar

Hasil hidrolisis yang diperoleh setelah pengujian menggunakan alat spektrofotometer dihitung konsentrasi (ppm) sampel menggunakan persamaan yang diperoleh dari kurva standar pada Gambar 1. hal ini dapat dilihat pada Tabel 1, Tabel 2, Tabel 3. Persamaan yang diperoleh pada kurva standar yaitu $y = 0.0006x + 0.007$

Tabel 1. Hidrolisis dengan variasi waktu 84 jam

Penambahan Enzim	Absorbansi	Konsentrasi (ppm)
8 U/mg	0,265	430
10 U/mg	0,274	445
12 U/mg	0,363	593,33
14 U/mg	0,334	545
16 U/mg	0,284	461,67

Hasil hidrolisis berdasarkan Tabel 1. di atas, diperoleh hasil tertinggi pada 12 U (0,363). Dapat dilihat mulai dari penambahan enzim 8 U hingga 12 U, absorbansi mengalami peningkatan. Namun peningkatan terhenti di 12 U, absorbansi kembali mengalami penurunan pada 14 U dan 16 U. Semakin tinggi konsentrasi enzim maka substrat yang berikatan dengan lokasi aktif enzim akan semakin banyak sehingga jumlah produk yang dihasilkan

akan semakin banyak (Mauliana, 2015 dalam Zelvi. M, dkk, 2017). Namun jika konsentrasi enzim berlebih, dapat mengakibatkan penurunan hasil yang diperoleh. Setelah titik optimum, hasil yang diperoleh mengalami penurunan. Hal ini karena reaksi pada awal meningkat hingga mencapai maksimum dan akhirnya mengalami penurunan.

Tabel 2. Hidrolisis dengan variasi waktu 96 jam

Penambahan Enzim	Absorbansi	Konsentrasi (ppm)
8 U/mg	0,258	418,33
10 U/mg	0,256	415
12 U/mg	0,557	916,67
14 U/mg	0,236	381,67
16 U/mg	0,253	410

Berdasarkan Tabel 2. di atas, dilihat pula hasil tertinggi yang diperoleh yaitu pada 12 U (0,557). Pada waktu inkubasi 96 jam ini, berbeda dengan waktu inkubasi 84 jam. Pada waktu inkubasi 96 jam, terjadi ketidakstabilan hasil yang diperoleh. Dimana pada 8 U dan 10 U mengalami penurunan dan di 12 U mengalami peningkatan, kemudian pada 14 U mengalami penurunan kembali dan pada 16 U mengalami peningkatan. Hal ini disebabkan semakin tinggi konsentrasi enzim yang diberikan maka sisi aktif enzim yang berkontak dengan substrat juga semakin banyak, sehingga semakin banyak pula selulosa yang dihidrolisis menjadi glukosa, akan tetapi kandungan glukosa yang terlalu banyak menyebabkan inhibisi produk glukosa karena glukosa tersebut akan menempel pada sisi aktif enzim sehingga luas permukaan enzim yang kontak dengan substrat menjadi lebih sedikit (Arif A.B, dkk, 2016).

Tabel 3. Hidrolisis dengan variasi waktu 108 jam

Penambahan Enzim	Absorbansi	Konsentrasi (ppm)
8 U/mg	0,207	333,33
10 U/mg	0,260	421,67
12 U/mg	0,258	418,33
14 U/mg	0,259	420
16 U/mg	0,294	478,33

Berdasarkan Tabel 3. di atas, dilihat pula hasil tertinggi diperoleh pada 16 U (0,294). Pada waktu inkubasi 108 jam ini, sangat berbeda dengan waktu inkubasi 84 dan 96 jam. Dimana pada waktu inkubasi 84 dan 96 jam diperoleh hasil tertinggi pada 12 U, sedangkan pada waktu inkubasi 108 jam ini diperoleh hasil tertinggi pada 16 U. Hal ini disebabkan oleh waktu hidrolisis yang terlalu lama, maka akan mengakibatkan gula reduksi terdegradasi, sehingga menyebabkan konsentrasi gula reduksi menurun dalam proses hidrolisis (Idral et al., 2012 dalam Zelvi. M, dkk, 2017).

Berdasarkan ketiga tabel di atas, dapat dilihat bahwa absorbansi dan konsentrasi (ppm) tertinggi dihasilkan pada 12 U dengan waktu inkubasi 96 jam. Dari ketiga tabel di atas terlihat penambahan waktu inkubasi mengakibatkan penurunan hasil yang diperoleh, hal ini disebabkan karena kemungkinan gula yang dihasilkan bisa berubah menjadi produk lain dikarenakan enzim selulase yang digunakan dalam proses hidrolisis belum murni, sehingga dapat terjadi reaksi lain yang tidak diketahui.

Setelah hidrolisis, kemudian dilakukan analisa kadar gula reduksi menggunakan metode DNS. Konsentrasi yang diperoleh, kemudian diubah ke persen dan dikalikan dengan factor pengenceran agar diperoleh % gula reduksi. Kadar gula reduksi yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Kadar gula reduksi dengan variasi waktu inkubasi

Penambahan Enzim Selulase	Kadar Gula Reduksi (%)		
	84 Jam	96 Jam	108 Jam
8 U/mg	3,07	2,99	2,38
10 U/mg	3,18	2,96	3,01

12 U/mg	4,24	6,55	2,99
14 U/mg	3,89	2,73	3,00
16 U/mg	3,30	2,93	3,42

Berdasarkan Tabel 4. dapat dilihat bahwa kadar gula yang dihasilkan paling tinggi yaitu pada 12 U dengan waktu inkubasi 96 jam. Hubungan antara absorbansi dengan kadar gula reduksi (%) berbanding lurus. Semakin tinggi absorbansi yang diperoleh, maka gula reduksi yang dihasilkan juga akan tinggi. Hasil dari penelitian ini diperoleh waktu inkubasi pada proses hidrolisis dan kadar gula reduksi optimum yaitu 12 U penambahan enzim selulase pada waktu inkubasi 96 jam, dihasilkan kadar gula reduksi 6,55 %.

4. KESIMPULAN

Kadar gula tertinggi diperoleh pada jumlah penambahan enzim 12 U/mg. Semakin tinggi konsentrasi enzim yang diberikan maka sisi aktif enzim yang berkontak dengan substrat juga semakin banyak, sehingga semakin banyak pula selulosa yang dihidrolisis menjadi glukosa, akan tetapi kandungan glukosa yang terlalu banyak menyebabkan inhibisi produk glukosa karena glukosa tersebut akan menempel pada sisi aktif enzim sehingga luas permukaan enzim yang kontak dengan substrat menjadi lebih sedikit. Waktu hidrolisis tertinggi diperoleh pada waktu 96 jam. Waktu hidrolisis yang terlalu lama akan mengakibatkan gula reduksi terdegradasi, sehingga menyebabkan konsentrasi gula reduksi menurun dalam proses hidrolisis.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Adhiksana, A, dkk. 2017. *Pemanfaatan Ultrasonik dalam Proses Ekstraksi Pektin dari Kulit Buah Pisang dengan Pelarut Asam Klorida*. Politeknik Negeri Samarinda. ISBN:978-602-51450-0-1.
- Adini, S, dkk. 2015. *Produksi Bioetanol Dari Rumput Laut dan Limbah Agar Gracilaria sp. dengan Metode Sakarifikasi Yang Berbeda*. Journal of BIOMA, ISSN: 1410-8801, Vol. 16, No. 2, Hal. 65 – 75.
- Akhtar, MS. 1998. *Bioconversion of Cellulosic Materials by the Action of Microbial Cellulases*. Thesis. Institute of Chemistry University of the Punjab.
- Alfianto, Lutfi, dkk. 2015. *BIO-PROBMAC (Bioethanol Production From Brown Macroalgae): Pemanfaatan Sargassum crassifolium Sebagai Penghasil Bioetanol untuk Mewujudkan Diversifikasi Energi yang Terbarukan*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Amelia, A. 2012. *Pengaruh Variasi Konsentrasi Enzim dan Substrat Terhadap Sakarifikasi Limbah Pengolahan Kertas Menggunakan Enzim Selulase dari Bacillus sp. BPPT CC RK2*. [Skripsi]. Jakarta: Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Arif, AB, dkk. 2016. *Pengaruh Konsentrasi NaOH dan Enzim Selulase: Xilanase Terhadap Produksi Bioetanol dari Tongkol Jagung*. Jurnal Penelitian Pascapanen Pertanian. Volume 13 No.3 Desember 2016 : 107 – 114.
- Asmoro, NW, dkk. 2017. *Ekstraksi Selulosa Batang Tanaman Jagung (Zea Mays) Metode Basa*. Universitas Veteran Bangun Nusantara, Sukoharjo.
- Dela, SDI, 2016. *Studi Pembuatan Natrium Alginat dari Sargassum sp Menggunakan Metode Ekstraksi Modifikasi dengan Penambahan Natrium Karbonat dan Karakterisasinya*. Skripsi. Universitas Lampung.
- Dini, Isna Rahma dan Ifah Munifah. 2014. *Produksi dan karakterisasi Enzim Selulase Ekstrak Kasar dari Bakteri yang Diisolasi dari Limbah Rumput Laut*. Vol. 06, No. 3.
- Galbe, M and Zacchi, G. 2002. *A Review of the Production of Ethanol from Softwood*. Appl Microbiol Biotechnol (2002) 59:618–628.
- Habibah, Firstyarikha. 2015. *Produksi Substrat Fermentasi Bioetanol Dari Alga Merah Gracilaria verrucosa Melalui Hidrolisis Enzimatik Dan Kimiawi*. Skripsi. Semarang: Universitas Negeri Semarang.
- Karmakar, M and Ray, R.R. 2011. *Saccharification of agro wastes by the Endoglucanase of Rhizopus oryzae*. Annals of Biological Research, 2011, 2 (1) : P 201-208.
- Keil, F. J. 2007. *Modeling of Process Intensification*. In Alupului. A., Ioan Calinescu, and Vasile Lavric. 2009. Ultrasonic Vs. Microwave Extraction Intensification of Active Principles from Medicinal Plants. AIDIC Conference Series, Vol. 9 2009 page 1-8.

- Kristensen, JB. 2009. *Enzymatic hydrolysis of lignocellulose Substrate interactions and high solids loadings*. Forest and Landscape Research.
- Kuldiloke, J. 2002. *Effect of Ultrasound, Temperature and Pressure Treatments on Enzyme Activity and Quality Indicators of Fruit and Vegetable Juices*. Dissertationder Technischen Universität Berlin. Berlin.
- Lehninger, A. L. 1982. *Dasar-Dasar Biokimia Jilid 1*. Suhartono MT, penerjemah. Jakarta: Erlangga.
- Loebis, E. H. 2008. *Optimasi Proses Hidrolisis Kimiawi dan Enzimatis Tandan Kosong Kelapa sawit menjadi Glukosa untuk Produksi Etanol* [Tesis]. Bogor: Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Lone M. A., Wani M. R., Bhat N. A., Sheikh S. A., and Reshi M. A. 2012. *Evaluation of Cellulase Enzyme Secreted by Some Common and Stirring Rhizosphere Fungi of Juglans Regia L. by DNS Method*. Journal of Enzyme Research, 3(1): 18-22.
- Maharani, M.A. dan R.Widayanti . 2010. *Pembuatan Alginat Dari Rumput Laut Untuk Menghasilkan Produk Dengan Rendemen Dan Viskositas Tinggi*. Jurusan Teknik Kimia. Fakultas Teknik Universitas Diponegoro. 5 hal.
- Mahyati. 2014. *Biokonversi Lignoselulosa dari Tongkol Jagung (Zea Mays.L) Menjadi Bioetanol Sebagai Bahan Bakar Alternatif Terbarukan*. Makassar: Universitas Hasanuddin.
- Mas'ud, Fajriyati, Zulmanwardi, Leny Irawati. 2016. *Optimalisasi Konsentrasi Bahan Kimia untuk Ekstraksi Alginat dari Sargassum siliquosum*. Jurnal Rumput Laut Indonesia (2016) 1(1):34-39. ISSN2548-4494.
- Octavia, S. Soerawidjaja, T.H., Purwadi, R., Putrawan, I.D.G Arsa. 2011. *Pengolahan Awal Lignoselulosa Menggunakan Amoniak untuk Meningkatkan Perolehan Gula Fermentasi*. Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia, "Pengembangan Teknologi Kimia untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia". Yogyakarta. ISSN 1693-4393.
- Sa'adah Zulfatus, dkk. *Produksi Enzim Selulase oleh Aspergillus niger Menggunakan Substrat Jerami dengan Sistem Fermentasi Padat*. Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik UNDIP Semarang.
- Sari, JR. 2013. *Optimalisasi Produksi Gula Reduksi dari Onggok Sebagai Bahan Baku Bioetanol dengan Praperlakuan Ultrasonikasi*. Skripsi. Bandar Lampung: Universitas Lampung.
- Sari, RN. 2010. *Kajian Proses Produksi Bioetanol dari Rumput Laut Coklat (Sargassum duplicatum)*. [Tesis]. Bogor: Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Sari, RN, dkk. 2013. *Kondisi Optimum Produksi Bioetanol dari Rumput Laut Coklat (Sargassum duplicatum) Menggunakan Trichoderma viride dan Pichia angophorae*. JPB Perikanan Vol. 9 No. 2 Tahun 2014: 121-132.
- Thakur, I.S. and Nakagoshi, N. 2011. *Production of Biofuels from Lignocellulosic Biomass in Pulp and Paper Mill Effluent for Low Carbon Society*. Journal of International Development and Cooperation, Vol 18, No. 1.P 1-12.
- Williams, A.R. 1983. *Ultrasound: Biological Effects and Potential Hazards*. Academic Press.
- Wiratmaja, I Gede, I Gusti Bagus Wijaya Kusuma, I Nyoman Suprpta Winaya/Jurnal Ilmiah Teknik Mesin Vol. 5 No.1. April 2011 (75-84)
- Woiciechowski, A. L., Nitsche Saul., Pandey Ashok., and Soccol C. R. 2002. *Acid and Enzymatic Hydrolysis to Recover Reducing Sugar from Cassava Baggase: An Economic Study*. Brazilian Archieves of Biology and Technology, An International Journal, 45(3): 393-400.
- Zamora, L L., Calderón José Amir González., Vázquez Evangelina Trujillo., and Reynoso Eusebio Bolaños. 2010. *Optimization of Ethanol Production Process from Cassava Starch by Surface Response*. Journal of the Mexican Chemical Society, 54(4): 198-203.
- Zelvi, M, dkk. 2017. *Hidrolisis Eucheuma cottonii dengan Enzim K-Karagenase dalam Menghasilkan Gula Reduksi untuk Produksi Bioetanol*. Jurnal Teknologi Industri Pertanian 27 (1):33-42 (2017).

6. UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi selaku penyandang dana, dan kepada seluruh staf Jurusan Teknik Kimia Politeknik Negeri Ujung Pandang serta adik-adik mahasiswa atas semua bantuannya dilaboratorium.