

PENGARUH PROSES DELIGNIFIKASI PADA PRODUKSI GLUKOSA DARI TONGKOL JAGUNG DENGAN HIDROLISIS ASAM EN CER

Primata Mardina^{*)}, Adelina I. Talalangi^{*)}, Jhon F. M. Sitingjak, Andri Nugroho^{*)}, M. Reza Fahrizal
Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Lambung Mangkurat,

*E-mail: dhiena_deena@yahoo.com; adelimelda@rocketmail.com; for_andr@ymail.com

Abstrak-Hidrolisis asam encer dari tongkol jagung untuk produksi glukosa mengalami hambatan karena adanya lignin. Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh dari proses perusakan lignin dengan proses menggunakan hidrolisis basa. Hidrolisis basa yang biasa disebut delignifikasi dilakukan pada suhu 55°C selama 4 jam dengan konsentrasi larutan basa, yaitu NaOH 5%, 10% dan 15% berat. Hasil menunjukkan bahwa konsentrasi NaOH yang optimal untuk pengurangan lignin adalah 15% berat dengan persentase pengurangan sebesar 89,3%. Tongkol jagung yang tidak dan telah didelignifikasi dengan NaOH kemudian dihidrolisis dengan menggunakan H₂SO₄ 0,75% berat dengan waktu dan suhu yang berbeda dan dianalisis kandungan glukosanya. Glukosa yang dihasilkan dari partikel tongkol jagung yang didelignifikasi dengan NaOH 15% wt lebih besar daripada tongkol jagung yang tidak didelignifikasi untuk semua variasi waktu dan suhu. Hal ini menunjukkan proses delignifikasi untuk merusak struktur lignin akan meningkatkan reaktivitas dari katalis asam pada proses hidrolisis asam encer.

Kata kunci: Tongkol jagung, lignin, delignifikasi, hidrolisis asam encer, glukosa

Abstract-The dilute acid hydrolysis of corn cob for glucose production has faced barrier because of lignin. In this research, an effective lignin destruction process by alkali hydrolysis which affects glucose production from corn cob as lignocellulose biomass was investigated. Alkali hydrolysis called delignification was performed at 55°C for 4 hr with various NaOH concentrations: 5%, 10% and 15%-wt. It was found that optimal NaOH concentration for lignin reduction was 15%-wt and the percentage of reduction was 89.3%. The untreated and NaOH 15%-wt treated solid fraction were hydrolyzed by 0.75%-wt H₂SO₄ with various times and temperatures. The glucose content of liquid fraction from hydrolysis was analyzed. The result showed that the yield of glucose for NaOH 15% -wt treated corn cob was higher than that of untreated corn cob for various temperatures and operation times. It implied the destruction of lignin structure would enhance the reactivity of acid catalyst for diluted acid hydrolysis process.

Keywords: Corn cob, lignin, delignification, acid dilute hydrolysis, and glucose

PENDAHULUAN

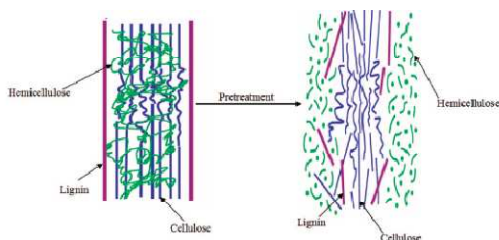
Materi dengan kandungan lignoselulosa telah diketahui sebagai bahan baku yang sangat potensial untuk menghasilkan bahan bakar alternatif ramah lingkungan serta senyawa-senyawa kimia. Limbah dari kegiatan pertanian adalah salah satu sumber materi ber-lignoselulosa. Berdasarkan kandungannya tersebut, limbah pertanian sangat berpotensi untuk menghasilkan senyawa gula sederhana yang dapat diproses lebih lanjut untuk menghasilkan bahan bakar alternatif (Zheng et al, 2009).

Tongkol jagung adalah salah satu limbah pertanian dengan kandungan lignoselulosa selain baggase, jerami padi, jerami gandum, sekam padi dan lain-lain (Sahare et al, 2012). Tongkol jagung didapatkan dari limbah industri pengolahan makanan dan tersedia dalam jumlah

yang sangat besar. Pada tahun 2012, tercatat jumlah tongkol jagung di Indonesia lebih kurang 18,95 jutan ton (Bustami, G., 2012). Tongkol jagung mengandung sekitar 36,4% selulosa, 34,9% hemiselulosa dan 14,8% lignin (Sahare et al, 2012).

Beberapa peneliti melaporkan bahwa materi dengan kandungan lignoselulosa dapat dikonversi menjadi gula fermentasi dengan cara hidrolisis asam encer (Jeevan et al, 2011; Lee et al, 2011; Wang et al, 2011; Yah et al, 2010). H₂SO₄ dan HCl adalah katalisator asam yang biasa digunakan untuk menghidrolisis tongkol jagung (Jevaan et al, 2011; Yah et al, 2010). Asam sebagai katalisator, akan merusak rantai polimer dari selulosa dan hemiselulosa untuk membentuk gula fermentasi. (Laopaiboon, 2010). Fraksi cair dari hasil hidrolisis materi dengan kandungan lignoselulosa utamanya

mengandung gula fermentasi seperti xilosa, glukosa dan arabinosa (Laopaiboon et al, 2010; Rodrigues-chong et al, 2004). Selulosa dapat dikonversi dengan proses hidrolisis asam menjadi glukosa, dan hemiselulosa menjadi xilosa, arabinosa, galaktosa, glukosa dan/atau manosa (Zheng et al, 2009). Yield dari gula fermentasi tergantung pada waktu, suhu dan kereaktifan katalisator asam (Jevaan et al, 2011). Beberapa penelitian menunjukkan kereaktifan katalisator asam dihambat oleh lignin (Jevaan et al, 2011; Kumar et al, 2009). Lignin adalah suatu molekul kompleks yang besar dengan struktur mengandung ikatan polimer dari monomer *phenolic* (Kumar et al, 2009). Lignin adalah dinding primer dari sel tanaman dan melindungi selulosa dan hemiselulosa, sehingga katalisator asam tidak mudah untuk terakses dalam proses hidrolisis selulosa dan hemiselulosa. Proses penghancuran struktur lignin diperlukan untuk peningkatan efisiensi proses hidrolisis asam encer. Proses penghancuran struktur lignin yang sering dilakukan adalah dengan penggunaan larutan basa dengan nama proses delignifikasi.



Gambar 1. Skematik dari proses perusakan struktur lignin (Kumar et al, 2009).

Pada proses delignifikasi, sejumlah lignin akan terlarutkan. Proses ini merupakan proses saponifikasi terhadap ikatan intermolekular ester yang mengelilingi xilan, hemiselulosa dan komponen-komponen lainnya, seperti lignin dan hemiselulosa lainnya. Proses delignifikasi menyebabkan kerusakan terhadap struktur lignin dan melepaskan senyawa karbohidrat. (Zheng et al, 2009). Proses perusakan struktur dari materi dengan kandungan lignoselulosa adalah salah satu langkah untuk meng-konversi lignoselulosa menjadi senyawa gula. Proses yang tepat dapat mengurangi biaya total konversi lignoselulosa

menjadi bahan bakar alternatif. Proses delignifikasi dipercaya sebagai proses yang potensial sebagai proses pendahuluan dalam tahap persiapan bahan baku (Sahare et al, 2012) untuk meningkatkan luas permukaan dan kereaktifan dari katalisator asam untuk proses hidrolisis. Larutan sodium hidroksida, kalsium hidroksida dan ammonium hidroksida adalah larutan basa yang sering digunakan dalam proses delignifikasi (Sahare et al, 2012; Laopaiboon et al, 2010; Zhang et al, 2009; Wang et al, 2010; Cheng et al, 2010; Kim and Holtzapple, 2005). Saharee et al. (2012) menggunakan 1%-berat NaOH untuk merusak struktur lignin pada tongkol jagung dan menghasilkan persentase pengurangan lignin sebesar 50% pada 50°C untuk 4 jam proses. Zheng et al. (2009) menggunakan NaOH untuk merusak lignin pada cattail dan menghasilkan persentase pengurangan lignin maksimum sebesar 32,85% pada suhu ruangan untuk waktu proses 24 jam dengan konsentrasi NaOH 4% berat. Laopaiboon et al. (2010) menggunakan 10%-v/v NH₄OH untuk merusak struktur lignin dari ampas tebu sebagai bahan baku pembuatan asam laktat, dan didapatkan persentase pengurangan lignin sebesar 12% pada suhu 25°C selama 24 jam. Pada tahun 2010, Cheng et al. juga menggunakan NaOH untuk merusak struktur lignin dari tongkol jagung pada industri pulp, serta Kim dan Holtzapple (2005) merusak struktur lignin dari tongkol jagung dengan Ca(OH)₂ untuk melarutkan lignin dan hemiselulosa.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh dari proses delignifikasi yang dilakukan sebelum proses hidrolisis asam encer terhadap tongkol jagung untuk menghasilkan gula dalam hal ini glukosa. Tongkol jagung yang tidak dan telah didelignifikasi dibandingkan yield glukosa yang dihasilkan untuk mengetahui keefektifan proses delignifikasi sebagai proses awal dari proses produksi gula dari materi dengan kandungan lignoselulosa.

METODOLOGI

Persiapan Bahan Baku

Tongkol jagung didapatkan dari pasar tradisional di Kabupaten Pelaihari, Kalimantan Selatan. Tongkol jagung dikeringkan dalam

oven pada suhu 105°C sampai beratnya konstan, kemudian dihancurkan untuk menghasilkan partikel kecil dengan diameter 0,29 mm. Kandungan lignin, holoselulosa dan α - selulosa dari tongkol jagung sebagai bahan baku dianalisis dengan menggunakan metode ASTM D 1106-56, ASTM D 1104-56, dan ASTM D 1103-60 secara berturut-turut.

Proses Delignifikasi

Sodium hidroksida (NaOH) dengan berbagai konsentrasi (5%, 10% dan 15%-berat) digunakan untuk proses delignifikasi partikel tongkol jagung. Proses dilakukan pada suhu 50°C selama 4 jam dengan perbandingan liquid terhadap solid (SLR) yaitu 100 ml liquid per gram berat kering dari partikel tongkol jagung. Setelah proses delignifikasi, fraksi padat dicuci dengan aquadest hangat, suhu 40°C kemudian fraksi padat tersebut dikeringkan dalam oven pada suhu 90°C sampai beratnya konstan. Partikel tongkol jagung yang telah didelignifikasi kemudian dianalisis kandungan lignin, holoselulosa dan α – selulosa dengan metode ASTM D 1106-56, ASTM D 1104-56, dan ASTM D 1103-60 secara berturut-turut.

Proses Hidrolisis Asam Encer

Partikel tongkol jagung yang telah didelignifikasi dengan persentase pengurangan lignin terbesar kemudian dihidrolisis dengan H₂SO₄ 0,75%-berat. Proses hidrolisis dilakukan pada tiga variasi suhu 125, 155 and 175°C, dengan menggunakan LSR 15 ml liquid per gram berat kering partikel tongkol jagung yang telah didelignifikasi. Sampel diambil pada waktu 0, 30, 45, 60, 120, 180 dan 240 menit. Setelah proses hidrolisis, kandungan glukosa

dari fraksi liquid hasil reaksi dianalisa dengan SNI 01-2892-1992, sehingga didapatkan yield glukosa. Proses hidrolisis asam encer juga dilakukan pada partikel tongkol jagung tanpa didahului proses delignifikasi sebagai kontrol keberhasilan proses.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tongkol jagung adalah salah satu limbah pertanian yang mengandung selulosa dan hemiselulosa. Tongkol jagung dapat dikonversi menjadi senyawa gula sederhana, glukosa, dengan proses hidrolisis asam. Untuk mencegah kerusakan alat dan pencemaran lingkungan akibat penggunaan asam pekat, maka digunakanlah metode hidrolisis asam encer untuk merubah selulosa dan hemiselulosa menjadi senyawa gula. Namun penggunaan asam encer mengalami hambatan dalam merubah bahan atau limbah pertanian menjadi gula akibat adanya lignin yang melindungi selulosa dan hemiselulosa. Lignin mengurangi keefektifan hidrolisis asam encer. Untuk mengatasi hal tersebut, maka perlu dilakukan perlakuan pendahuluan terhadap tongkol jagung dengan tujuan merusak struktur lignin agar selulosa dan hemiselulosa bisa terlepas dan bereaksi sehingga bisa menghasilkan gula. Proses yang biasa dilakukan untuk merusak struktur lignin adalah proses hidrolisis basa atau disebut proses delignifikasi (Sahare et al., 2012; Laopaiboon et al, 2009).

Proses delignifikasi pada penelitian dilakukan dengan menggunakan variabel tetap berupa jenis larutan basa NaOH, suhu 50°C, waktu 4 jam dan SLR 1:100, dan variabel bebas berupa konsentrasi larutan NaOH yaitu 5%, 10% dan 15%-wt.

Tabel 1. Komposisi kimia dari tongkol jagung sebelum dan sesudah proses delignifikasi pada suhu 55°C selama 4 jam (% terhadap berat kering).

Kondisi sampel	Klason Lignin	Holoselulosa	α -selulosa	Pengurangan Lignin (%)
Tanpa delignifikasi	24,584	16,516	54,927	-
Delignifikasi NaOH 5%	8,274	15,935	56,081	66,34
Delignifikasi NaOH 10%	3,200	13,008	63,953	86,98
Delignifikasi NaOH 15%	2,630	12,573	67,762	89,30

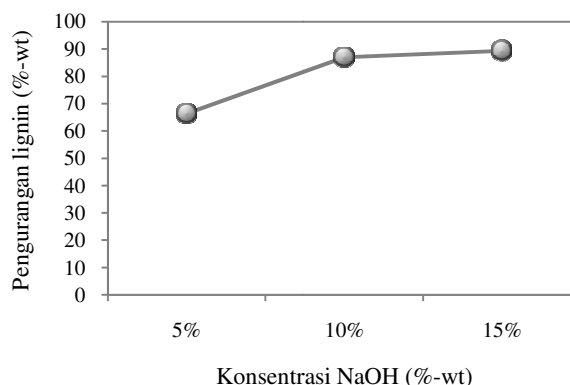
Untuk mengetahui berapa banyak lignin yang bisa dihilangkan, maka dilakukan analisis kandungan lignin, holoselulosa dan α -selulosa terhadap tongkol jagung sebelum dan sesudah proses delignifikasi dengan metode ASTM D 1106-56, ASTM D 1104-56, dan ASTM D 1103-60 secara berturut-turut.

Dalam metode ASTM ini, persentase untuk lignin dan holoselulosa didasarkan pada berat sampel analisis, sedangkan persentase α -selulosa didasarkan pada komposisi yang terdapat pada holoselulosa.

Tabel 1 menunjukkan kadar lignin, holoselulosa, dan α -selulosa dari tongkol jagung sebelum dan sesudah proses delignifikasi. Persentase pengurangan lignin semakin besar seiring dengan meningkatnya konsentrasi NaOH, hal ditunjukkan pada gambar 2. Persentase terbesar diperoleh pada konsentrasi NaOH 15%-wt, yaitu 89,30%. Menurut Sahare et al (2012) jika kandungan lignin berkurang sekitar 10%-15% dari kadar awal, maka selulosa akan lebih reaktif untuk proses selanjutnya. Untuk proses selanjutnya yaitu proses hidrolisis asam encer, dipilih tongkol jagung yang telah didelignifikasi dengan NaOH 15%-wt.

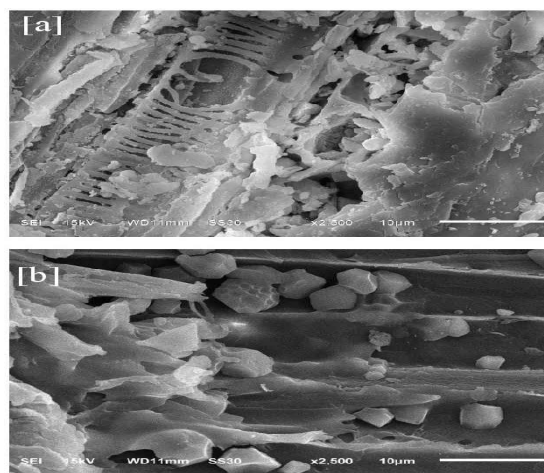
Perubahan kandungan lignin dari tongkol jagung dapat juga dilihat bentuk fisik partikel. Sebelum dilakukan delignifikasi, partikel tongkol jagung berwarna coklat muda cerah dan permukaannya terasa halus, sedangkan setelah dilakukan proses delignifikasi partikel tongkol jagung berwarna coklat kehitaman dengan permukaan kasar. Hal ini menandakan, lignin pada partikel tongkol jagung telah rusak. Untuk membuktikan hal tersebut, partikel tongkol jagung sebelum dan sesudah delignifikasi dengan NaOH 15%-wt dianalisis *scanning electron microscopy* (SEM).

Hasil analisis SEM terhadap partikel tongkol jagung sebelum dan sesudah delignifikasi NaOH 15%-wt ditunjukkan pada gambar 3. Setelah dilakukan delignifikasi, luas permukaan dari partikel tongkol jagung bertambah. Hal ini merupakan faktor penting untuk *accessibility* dari katalis asam dalam proses merubah selulosa menjadi gula.



Gambar 2. Persentase pengurangan lignin dari tongkol jagung dengan konsentrasi NaOH yang berbeda 5%, 10% dan 15%-berat pada suhu 50°C selama 4 jam.

Proses hidrolisis asam encer terhadap tongkol jagung menggunakan variabel tetap berupa jenis dan konsentrasi asam yaitu H₂SO₄ 0,75% dan SLR 1:15, sedangkan variabel berubah kondisi tongkol jagung, sebelum dan sesudah delignifikasi NaOH 15%-wt, suhu dan waktu proses. Proses hidrolisis asam encer terhadap tongkol jagung ini diharapkan menghasilkan gula, dalam hal ini glukosa.



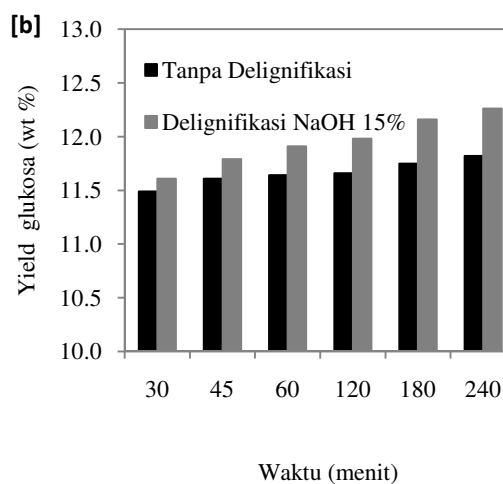
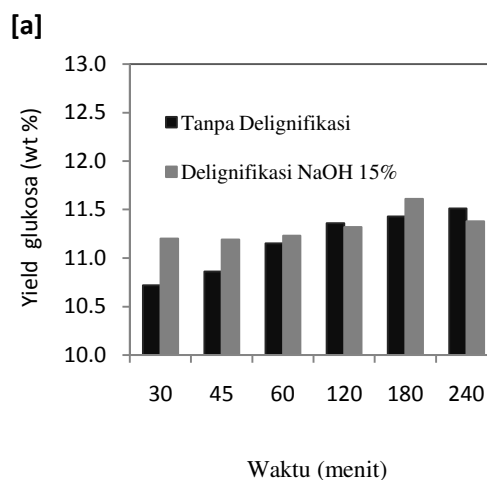
Gambar 3. Hasil analisis SEM dari tongkol jagung [a] sebelum delignifikasi, [b] sesudah delignifikasi dengan NaOH 15%-wt pada suhu 50°C selama 4 jam.

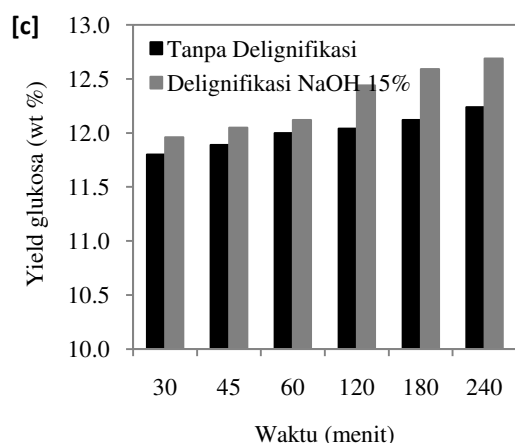
Tabel 2. Glukosa yang dihasilkan (gram) setelah hidrolisis asam encer (H_2SO_4 0.75%) untuk tongkol jagung tanpa dan dengan delignifikasi.

Waktu (menit)	Tongkol jagung tanpa delignifikasi			Tongkol jagung delignifikasi NaOH 15%-wt		
	125°C	155°C	175°C	125°C	155°C	175°C
30	3.00	3.22	3.30	3.14	3.25	3.35
45	3.04	3.25	3.33	3.13	3.30	3.37
60	3.12	3.26	3.36	3.15	3.33	3.39
120	3.18	3.27	3.37	3.17	3.35	3.48
180	3.20	3.29	3.39	3.25	3.41	3.53
240	3.22	3.31	3.43	3.19	3.43	3.55

Glukosa yang dihasilkan kemudian dianalisis dengan metode dari SNI 01-2892-1992. Data yang didapat digunakan untuk membandingkan hasil hidrolisis dari tongkol jagung tanpa delignifikasi dan dengan delignifikasi NaOH 15%-wt, seberapa efektifkah perlakuan awal bahan baku terhadap keberhasilan proses hidrolisis asam encer dilihat dari yield produk yang dihasilkan.

Glukosa yang dihasilkan untuk masing-masing variasi waktu dan suhu memiliki kecenderungan yang sama, yaitu mengalami peningkatan baik untuk tongkol jagung tanpa dan dengan delignifikasi NaOH 15%-wt. Hal ini dikarenakan semakin lama waktu reaksi hidrolisis, frekuensi molekul zat pereaksi yang bertumbukan semakin banyak, sehingga tongkol jagung yang terhidrolisis juga semakin meningkat. Bertambahnya waktu reaksi mengakibatkan glukosa yang terbentuk semakin banyak tetapi pada waktu tertentu akan menunjukkan keadaan yang konstan dimana kadar glukosa yang dihasilkan tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan dan diperoleh kadar glukosa antara 10-12%-wt. Yield tertinggi didapatkan sebesar 12,69% pada suhu 175oC waktu 240 menit dengan H_2SO_4 0,75% v/v untuk tongkol jagung yang didelignifikasi NaOH 15%-wt, sedangkan untuk tongkol jagung tanpa delignifikasi dengan kondisi yang sama, yield yang didapat sebesar 12,24%. Hal ini ditunjukkan pada gambar 4, keadaan yang hampir konstan berada dalam range waktu 120-240 menit, rata-rata peningkatan hanya sebesar 0,74% untuk tongkol jagung tanpa delignifikasi dan 0,99% untuk tongkol jagung delignifikasi NaOH 15%.-wt.





Gambar 4. Yield dari glukosa (%-wt) setelah hidrolisis asam encer dengan 0,75% H₂SO₄ untuk tongkol jagung tanpa dan dengan delignifikasi NaOH 15%-wt [a] Suhu: 125°C, [b] Suhu: 155°C, [c] Suhu: 175°C.

Menurut Budiyo et al (2003) kadar glukosa yang optimum untuk menghasilkan kadar etanol adalah 14-28%. Rendahnya kadar glukosa yang dihasilkan, disebabkan adanya pembentukan senyawa lain selain glukosa seperti furfural dan levulinat. Pembentukan senyawa furfural dan levulinat diakibatkan katalis asam pada proses hidrolisis hanya dapat memecah molekul karbohidrat secara acak dan menghasilkan glukosa dengan dextrose sehingga menyebabkan molekul gula yang dihasilkan pada kondisi tertentu bergabung kembali dan membentuk senyawa furfural dan levulinat.

KESIMPULAN

Proses penghancuran struktur lignin dengan larutan basa atau delignifikasi digunakan sebagai proses awal dalam produksi bioetanol dari limbah biomassa dengan kandungan lignoselulosa. Untuk tongkol jagung dengan waktu proses 4 jam, semakin tinggi konsentrasi pelarut basa; NaOH maka semakin banyak lignin terurai. Hasil maksimum didapatkan pada suhu 50°C dengan konsentrasi 15%-wt dan persentase pengurangan lignin yang dicapai adalah 89,30%. Tongkol jagung yang didahului proses delignifikasi lebih mudah dikonversi menjadi glukosa dibandingkan tanpa proses delignifikasi. Hal ini ditunjukkan yield glukosa yang dihasilkan. Yield glukosa tertinggi

untuk tongkol jagung yang telah didelignifikasi NaOH 15%-wt adalah 12,69% pada suhu 175°C waktu 240 menit dengan H₂SO₄ 0,75% v/v, untuk kondisi yang sama yield glukosa dari tongkol jagung tanpa delignifikasi adalah 12,24%. Dapat dikatakan proses delignifikasi sebagai perlakuan awal sebelum hidrolisis asam encer akan meningkatkan reaktivitas katalisator asam dalam merubah selulosa menjadi glukosa.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Laboratorium Operasi Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Laboratorium Dasar, Fakultas MIPA, Universitas Lambung Mangkurat, yang telah memberikan fasilitas untuk kelancaran penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Budiyo, M.A.K., 2003. Mikrobiologi terapan. UMM Press. Malang.
- Bustami, G., 2012. Upaya meningkatkan produksi dan pemasaran luar negeri. *Warta Ekspor-Ditjen PEN-Kementerian Perdagangan RI*.
- Cheng, H., Zhan, H., Fu, S., dan Lucia, L.A., 2010. Alkali extraction of hemicelluloses from depithed corn stover and effects on soda-aq pulping. *BioResources*. 11(1), pp. 196-206.
- Chong, A.R., Ramirez, J.A., Garrote, G., dan Vazquez, M. 2004. Hydrolysis of sugar cane bagasse using nitric acid: a kinetic assessment. *Journal of Food Engineering*. 61, pp. 143-152.
- Iranmahboob, J., Nadim, F., dan Monemi, S., 2002. Optimizing acid-hydrolysis: a critical step for production of ethanol from mixed wood chips. *Biomass and Bioenergy*. 22, 401-404.
- Jeevan, P., Nelson, R., dan Rena, A.E., 2011. Optimization studies on acid hydrolysis of corn cob hemicellulosic hydrolysate for microbial production of xylitol. *J. Microbiol. Biotech. Res.* 1(4), pp.114-123.
- Kalman, G., Varga, E., dan Reczey, K., 2002. Dilute sulphuric acid pretreatment of corn stover at long residence times. *Chem. Biochem. Eng.* 16(4), 151-157
- Kim, S dan Holtzaple M. T. (2005) Lime pretreatment and enzymatic hydrolysis of corn stover. *Bioresource Technology*. 96. pp. 1994-2006.
- Kumar, P., Barret, D. M., Delwiche, M. J., dan Stroeve, P. (2009) Methods for pretreatment of lignocellulosic biomass

- for efficient hydrolysis and biofuel production. *Ind. Eng. Chem. Res.* 48. pp. 3713-3729.
- Laopaiboon, P., Thani, A., Leelavatcharamas, V., dan Laopaiboon, L., 2009. Acid hydrolysis of sugarcane bagasse for lactic acid production. *Bioresource Technology.* 101(3), 1036-1043.
- Lee, J.W., Zhu, J.Y., Scordia, D., dan Jeffries, T.W., 2011. Evaluation of ethanol production from corn cob using *Scheffersomyces (Pichia) stipitis* CBS 6054 by Volumetric Scale-up. *Appl Biochem Biotechnol.* 165, pp. 814-822.
- Putri, L.S.E. dan Sukandar, D., 2008. Konversi pati Ganyong (*Canna edulis Ker.*) menjadi bioetanol melalui hidrolisis asam dan fermentasi. *Biodiversitas.* 9(2), 112-116.
- Saha, B.C. dan Cotta, M.A., 2007. Enzymatic hydrolysis and fermentation of lime pretreated wheat straw to ethanol. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology.* 82, 913-919.
- Saha, B.C., Iten, L.B., Cotta, M.A., dan Wu, Y.V., 2005. Dilute acid pretreatment, enzymatic saccharification and fermentation of wheat straw to ethanol. *Process Biochemistry.* 40, 3693-3700.
- Sahare, P., Singh, R., Laxman, S., dan Rao, M., 2012. Effect of alkali pretreatment on the structural properties and enzymatic hydrolysis of corn cob. *Applied biochemistry and biotechnology.* 168(7), 1806-1819.
- Sun, Y., dan Cheng, J., 2002. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource Technology.* 83, 1-11.
- Wahyudi, J., Wibowo, W.A., Rais, Y.A., dan Kusumawardhani, A., 2011. Pengaruh suhu terhadap kadar glukosa terbentuk dan konstanta kecepatan reaksi pada hidrolisa kulit pisang. Prosiding Seminar nasional Teknik Kimia "Kejuangan" Pengembangan Teknologi Kimia untuk Pengolahan Sumber daya Alam Indonesia. Yogyakarta.
- Wang, G.S., Lee, J.W., Zhu, J.Y., dan Jeffries, T.W., 2011. Dilute Acid Pretreatment of corn cob for efficient sugar production. *Appl Biochem Biotechnol.* 163. pp. 658-668.
- Wang, Z., Keshwani, D.R., Redding, A.P., dan Cheng, J.J., 2010. Sodium hydroxide pretreatment and enzymatic hydrolysis of coastal Bermuda grass. *Bioresource Technology.* 101, pp.3583-3585.
- Wiratmaja, I Gede, 2011. Proses fermentasi limbah rumput laut *Eucheuma cottonii* sebagai tahap awal pembuatan etanol generasi kedua. Laporan Tesis. Program Studi Teknik Mesin. Universitas Udayana. Denpasar.
- Yah, C.S., Iyuke, S.E., Unuabonah, E.I., Pillay, O., Vishanta, C., dan Tessa, S.M., 2010. Temperature optimization for bioethanol production from corn cobs using mixed yeast strains. *Online Journal of Biological Sciences.* 10(2). pp. 103-108.
- Zhang, Bo, Shahbazi, A., dan Wang, L., 2010. Alkali pretreatment and enzymatic hydrolysis of cattails from constructed wetlands. *American J. of Engineering and Applied Sciences.* 3(2), 328-332.
- Zheng, Y., Pan, Z., dan Zhang, R., 2009. Overview of biomass pretreatment for cellulosic ethanol production. *Int J Agric & Biol Eng.* 2(3), pp. 51-68