

TESIS
KINETIKA HIDROLISIS ENZIMATIK SELULOSA
BATANG PISANG YANG DIBERI PRA-PERLAKUAN
ALKALINE MICROWAVE-ASSISTED

Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mendapatkan
Gelar Magister Teknik (M.T.) Pada Fakultas Teknik
Universitas Sriwijaya



FARAS SASKIA SAMARA
03012622024005

PROGRAM STUDI MAGISTER TEKNIK KIMIA
JURUSAN TEKNIK KIMIA
FAKULTAS TEKNIK
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
TAHUN 2023

HALAMAN PENGESAHAN

KINETIKA HIDROLISIS ENZIMATIK SELULOSA BATANG PISANG YANG DIBERI PRA-PERLAKUAN *ALKALINE MICROWAVE-ASSISTED*

TESIS

Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mendapatkan
Gelar Magister Teknik (M.T.) Pada Fakultas Teknik
Universitas Sriwijaya

Palembang, Desember 2023

Menyetujui,
Pembimbing I



Prof. Novia, S.T., M.T., Ph.D.
NIP. 197311052000032003

Pembimbing II



Elda Melwita, S.T., M.T., Ph.D.
NIP. 197505112000122001

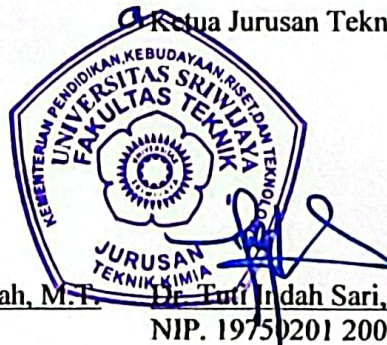
Mengetahui,

Dekan Fakultas Teknik
Universitas Sriwijaya,



Prof. Dr. Eng. Ir. H. Joni Arliansyah, M.T.
NIP. 19670615 199512 1002

Ketua Jurusan Teknik Kimia,



Dr. Eni Irdah Sari, S.T., M.T.
NIP. 19750201 200012 2001

HALAMAN PERSETUJUAN

Karya tulis ilmiah berupa Laporan Tesis ini dengan judul "Kinetika Hidrolisis Enzimatis Selulosa Batang Pisang yang diberi Pra-Perlakuan *Alkaline-Microwave*" telah dipertahankan di hadapan Tim Penguji Karya Tulis Ilmiah Program Studi Magister Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Sriwijaya pada tanggal 14 Desember 2023.

Palembang, 15 Desember 2023

Tim Penguji Karya Tulis Ilmiah berupa Laporan Tesis

Ketua :

1. Prof. Dr. Ir. Hj. Sri Haryati, DEA
NIP. 195610241981032001



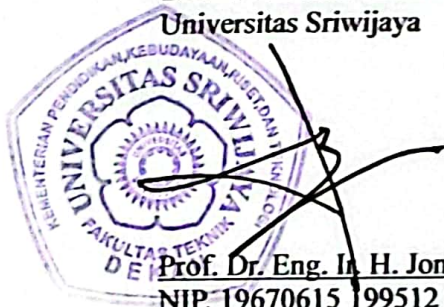
Anggota :

1. Prof. Dr. Hermansyah, M.Si., Ph.D.
NIP. 19711119199701
2. Dr. Fitri Hadiah, S.T., M.T
NIP. 197808222002122001
3. Dr. David Bahrin, ST, MT
NIP. 198110312005011003



Mengetahui,

Dekan Fakultas Teknik
Universitas Sriwijaya



Prof. Dr. Eng. Ir. H. Joni Arliansyah, M.T.
NIP. 19670615 199512 1002

Ketua Jurusan Teknik Kimia,



Dr. Tuti Irdah Sari, S.T., M.T.
NIP. 19750201 200012 2001

HALAMAN PERNYATAAN INTEGRITAS

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Faras Saskia Samara

NIM : 03012622024005

Judul : Kinetika Hidrolisis Enzimatik Selulosa Batang Pisang yang
diberi Pra-Perlakuan *Alkaline-Microwave*

Menyatakan bahwa Laporan Tesis saya merupakan hasil karya sendiri didampingi tim pembimbing dan bukan hasil penjiplakan/plagiat. Apabila ditemukan unsur penjiplakan/plagiat dalam Laporan Tesis ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik dari Universitas Sriwijaya sesuai aturan yang berlaku.

Demikian, pernyataan ini saya buat dalam keadaan sadar dan tanpa ada paksaan dari siapapun.



Palembang, Desember 2023

Yang Membuat Pernyataan,



Faras Saskia Samara

NIM. 03012622024005

RINGKASAN

KINETIKA HIDROLISIS ENZIMATIK SELULOSA BATANG PISANG YANG DIBERI PRA-PERLAKUAN ALKALINE MICROWAVE-ASSISTED

Karya tulis ilmiah berupa Tesis, Desember 2023

Faras Saskia Samara, Dibimbing oleh Prof. Novia, S.T., M.T., Ph.D dan Elda Melwita, S.T., M.T., Ph.D

Enzymatic Hydrolysis of Cellulose Banana Stem (Alkaline Microwave-Assisted Pre-treatment)

xv + 61 halaman, 10 Tabel, 18 Gambar, 5 lampiran

RINGKASAN

Limbah batang pohon pisang merupakan alternatif sumber biomassa lignoselulosa yang sangat potensial dan berlimpah dalam bidang pengolahan *biofuel* dan biokimia. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh waktu dan massa substrat pada hidrolisis enzimatik selulosa batang pisang yang telah diberi pra-perlakuan *alkaline microwave-assisted*. Proses pra-perlakuan melibatkan KOH 5% selama 30 menit dan radiasi *microwave* 300 Watt selama 5 menit untuk meningkatkan aksesibilitas selulosa. Hidrolisis enzimatik dilakukan menggunakan enzim selulase dari *Aspergillus niger* pada waktu yang bervariasi (10-35 jam) dan rasio enzim terhadap substrat (1:1, 1:3, 1:5, dan 1: 10). Hasil penelitian menunjukkan pra-perlakuan *alkaline microwave-assisted* dapat meningkatkan efisiensi hidrolisis secara signifikan, yang menunjukkan adanya peningkatan aksesibilitas selulosa. Konsentrasi gula pereduksi tertinggi ($1,3 \text{ g L}^{-1}$) dicapai pada rasio enzim-substrat 1:1 dan waktu hidrolisis 35 jam. Penelitian ini dapat berkontribusi untuk memahami konversi biomassa lignoselulosa dan menyoroti potensi penerapan proses pra-perlakuan yang sinergis untuk aplikasi *biorefinery* yang berkelanjutan.

Kata Kunci: Pra-perlakuan *alkaline microwave-assisted*, Batang pisang, Hidrolisis enzimatik, Gula pereduksi total

Kepustakaan: 75 (2006-2023)

SUMMARY

ENZYMATIC HYDROLYSIS OF CELLULOSE BANANA STEM (ALKALINE MICROWAVE-ASSISTED PRE-TREATMENT)

Karya tulis ilmiah berupa Tesis, Desember 2023

Faras Saskia Samara, Dibimbing oleh Prof. Novia, S.T., M.T., Ph.D dan Elda Melwita, S.T., M.T., Ph.D

Kinetika Hidrolisis Enzimatis Selulosa Batang Pisang Yang Diberi Pra-Perlakuan *Alkaline Microwave-Assisted*

xv + 61 halaman, 10 Tabel, 18 Gambar, 5 lampiran

SUMMARY

The banana stem waste holds immense promise as a readily available and abundant source of lignocellulosic biomass, making it a compelling alternative for biofuel and biochemical applications. Therefore, this study focuses on investigating the impact of both time and substrate loading on the enzymatic hydrolysis of banana stem cellulose that has undergone alkaline microwave-assisted pre-treatment. The pre-treatment method involves subjecting the biomass to 5% KOH for 30 min, followed by microwave exposure at 300 W for 5 min, a process aimed at enhancing the accessibility of cellulose. Enzymatic hydrolysis experiments were carried out utilizing cellulase enzymes derived from *Aspergillus niger*, with variations in hydrolysis times (ranging from 10 to 35 h) and enzyme-to-substrate ratios (ranging from 1:1 to 1:10). The results of this investigation revealed a substantial improvement in hydrolysis efficiency, owing to the synergistic effects of alkaline microwave-assisted pre-treatment, signifying enhanced cellulose accessibility. Notably, the highest concentration of reducing sugars ($1,3 \text{ mg mL}^{-1}$) was achieved at a substrate-to-enzyme ratio of 1:1 and a hydrolysis duration of 35 h. These findings provide valuable insights into the conversion of lignocellulosic biomass, emphasizing the potential of integrated pre-treatment strategies for sustainable biorefinery applications. This research contributes to advancing our understanding of lignocellulosic biomass utilization, offering a promising avenue for biofuel and biochemical production from banana stem waste.

Kata Kunci: Alkaline microwave-assisted pre-treatment, Banana stem, Enzymatic hydrolysis, Total reducing sugar

Kepustakaan: 75 (2006-2023)

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa, atas berkat dan karunia-Nya laporan akhir Tesis yang berjudul “Kinetika Hidrolisis Enzimatik Selulosa Batang Pisang yang diberi Pra-Perlakuan *Alkaline Microwave-Assisted*” dapat diselesaikan. Tesis ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat yang harus ditempuh oleh mahasiswa dalam memperoleh gelar Magister Teknik (M.T) pada Program Studi Magister Teknik Kimia BKU Teknologi Lingkungan Jurusan Teknik Kimia Program Pascasarjana Fakultas Teknik Universitas Sriwijaya.

Topik penelitian tesis ini bertujuan untuk menginvestigasi kinetika serta pengaruh waktu dan rasio enzim-substrat terhadap gula reduksi hasil hidrolisis enzimatik selulosa batang pisang yang telah mengalami pra-perlakuan alkali dengan bantuan *microwave*. Besar harapan isi tesis ini dapat bermanfaat bagi pembaca dan dapat menjadi referensi bagi peneliti dalam melakukan pengembangan limbah batang pisang sebagai bahan baku alternatif bioetanol.

Laporan akhir tesis ini tidak dapat diselesaikan tanpa adanya dukungan dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. Ir. H. Anis Saggaff, MSCE, IPU selaku Rektor Universitas Sriwijaya yang telah memberikan pendanaan penelitian melalui Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Sriwijaya sebagaimana Keputusan Rektor Nomor: 0188/UN9.3.1/SK/2023 pada tanggal 18 April 2023.
2. Prof. Dr. Eng. Ir. H. Joni Arliansyah, M.T., selaku Dekan Fakultas Teknik Universitas Sriwijaya yang telah menyusun kebijakan dan pedoman, serta menerapkan sistem dan pengawasan di lingkungan akademik.
3. Dr. David Bahrin, S.T., M.T., selaku Koordinator Program Studi Magister Teknik Kimia Universitas Sriwijaya yang telah memberikan masukan yang berharga dan membantu mengatasi berbagai hambatan yang muncul.
4. Prof. Novia, S.T., M.T., Ph.D. selaku Dosen Pembimbing I atas dedikasi dan kesabaran dalam membimbing setiap langkah saya, serta terima kasih atas semua dukungan, waktu, pengetahuan, dan wawasan yang telah

dicurahkan kepada saya sehingga tesis dan studi magister saya dapat terselesaikan dengan baik.

5. Elda Melwita, S.T., M.T., Ph.D. selaku Dosen Pembimbing II yang selalu memberikan dukungan, bimbingan, dan arahan hingga laporan tesis ini serta studi magister saya dapat terselesaikan dengan baik.
6. Prof. Dr. Ir. Hj. Sri Haryati, DEA., Prof. Dr. Hermansyah, M.Si., Ph.D., Dr. Fitri Hadiah, S.T., M.T., dan Dr. David Bahrin, S.T., M.T. selaku penguji tesis yang telah turut serta membantu, mengarahkan, dan memberikan ilmu dan wawasan agar tesis ini menjadi lebih baik lagi.
7. Mama, Yuk Mivta, Yuk Tiara, Yuk Wiwid untuk doa, dorongan semangat dan motivasi, serta selalu siaga memberikan bantuan materil maupun non materil sehingga tesis ini dapat selesai dengan baik. Semua itu memberikan nilai tambah yang tak ternilai pada tesis ini.
8. Teman-teman dan seluruh keluarga atas semua dukungan, perhatian, doa, serta dorongan semangat selama penyelesaian tesis ini.
9. Seluruh pimpinan dan pihak-pihak terkait yang telah turut berkontribusi dalam kelancaran penelitian, serta penyelesaian studi dan tesis ini.

Akhir kata penulis berterima kasih atas segala bimbingan dan dukungan. Semoga tesis ini dapat memberikan manfaat dan kontribusi yang berarti, serta dapat menambah wawasan dan pengetahuan.

Palembang, Desember 2023

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN INTEGRITAS	iv
RINGKASAN	v
SUMMARY	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR LAMPIRAN	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR SIMBOL	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.4. Hipotesa	3
1.5. Ruang Lingkup Penelitian	4
1.6. Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Biomassa Lignoselulosa	5
2.1.1 Selulosa	6
2.1.2 Hemiselulosa	8
2.1.3 Lignin	9
2.1.4 Glukosa	10
2.2 Batang pisang	11
2.3 Pengolahan Biomassa menjadi Glukosa	12
2.3.1 Pra-perlakuan Bahan Baku	12
2.3.2 <i>Microwave</i>	15
2.3.3 Hidrolisis Enzimatik	18

2.4	Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Hidrolisis Enzimatik	21
2.4.1	Massa Substrat	21
2.4.2	Waktu Hidrolisis	22
2.4.3	Konsentrasi Enzim	22
2.4.4	Temperatur	23
2.5	Kinetika Reaksi Hidrolisis Enzimatik	24
2.6	Penelitian Terkait	27
BAB III METODOLOGI PENELITIAN		30
3.1	Waktu dan Tempat Penelitian	30
3.2	Bahan dan Peralatan Penelitian	30
3.2.1	Bahan Penelitian	30
3.2.2	Peralatan Penelitian	31
3.3	Rancangan Penelitian	32
3.3.1	Variabel Penelitian	32
3.3.2	Prosedur Penelitian	32
3.3.3	Diagram Alir Penelitian	38
3.4	Metode Pengolahan dan Analisis Data	42
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		43
4.1	Pengaruh Proses Pra-perlakuan pada Komposisi Batang Pisang...	43
4.2	Karakterisasi Fisis Batang Pisang Setelah Pra-Perlakuan	46
4.3	Karakterisasi Ekstrak Enzim Selulase	49
4.4	Pengaruh Waktu Hidrolisis dan Rasio Enzim-Substrat terhadap Konsentrasi Gula Pereduksi	51
4.5	Karakterisasi Perubahan Morfologi dan Komposisi Batang Pisang.....	55
4.6	Kinetika Reaksi Hidrolisis Enzimatis	56
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		62
5.1	Kesimpulan	62
5.2	Saran	62
DAFTAR PUSTAKA		

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran A	Perhitungan Komposisi Lignoselulosa	70
Lampiran B	Perhitungan Larutan Standar	73
Lampiran C	Karakterisasi Enzim	76
Lampiran D	Perhitungan Gula Pereduksi	78
Lampiran E	Perhitungan Kinetika Reaksi	79

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Keuntungan dan Kelemahan dari Berbagai Proses Pra-perlakuan	13
Tabel 4.1	Komposisi Batang Pisang Sebelum dan Setelah Pra-Perlakuan	44
Tabel 4.2	Indikasi Gugus Fungsional berdasarkan Puncak Absorbansi pada berbagai <i>Wavenumber</i> dari Hasil Uji FTIR Biomassa.....	46
Tabel 4.3	Data Absorbansi Tertinggi pada sampel Batang Pisang sesudah pra-perlakuan dibandingkan dengan Data Referensi.....	48
Tabel 4.4	Data Aktivitas Enzim Selulase.....	50
Tabel 4.5	Rasio Enzim-Substrat dalam Persen Massa.	50
Tabel 4.6	Perbandingan hasil gula pereduksi pada penelitian sebelumnya untuk berbagai kondisi biomassa pra-perlakuan dengan penelitian saat ini.	54
Tabel 4.7	Hasil Uji EDS Komposisi Unsur Batang Pisang Sebelum dan Setelah Pra-Perlakuan dan Hidrolisis	56
Tabel 4.8	Parameter Kinetika pada Semua Variasi Rasio Enzim-Substrat.....	60
Tabel 4.9	Perbandingan kinetika pada penelitian sebelumnya untuk berbagai kondisi dengan penelitian saat ini.	61

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Struktur Kimia Selulosa	5
Gambar 2.2	Struktur Kimia Selulosa	7
Gambar 2.3	Struktur α Selulosa dan β Selulosa	8
Gambar 2.4	Struktur Kimia Hemiselulosa	9
Gambar 2.5	Struktur Kimia Glukosa	11
Gambar 3.1	Diagram Alir Persiapan Bahan Baku	38
Gambar 3.2	Diagram Alir Praperlakuan KOH – <i>Microwave</i>	39
Gambar 3.3	Diagram Alir Pembuatan Enzim Selulase	40
Gambar 3.4	Diagram Alir Hidrolisis Enzimatik	41
Gambar 3.5	Diagram Alir Prosedur Penelitian	41
Gambar 4.1	Batang Pisang (a) Sebelum Pra-perlakuan (b) Setelah Pra-perlakuan.....	46
Gambar 4.2	Hasil Uji FTIR Batang Pisang Sesudah Pra-perlakuan	47
Gambar 4.3	Konsentrasi Gula Pereduksi pada Berbagai Variasi Waktu Hidrolisis dan Rasio Enzim-Substrat.....	51
Gambar 4.4	Morfologi Batang Pisang dari Hasil Uji SEM-EDS perbesaran 400x hingga ukuran 671 μm pada saat (a) Sebelum Pra-perlakuan (b) Setelah Pra-perlakuan KOH (c) Setelah Pra-perlakuan KOH- <i>Microwave</i> (d) Setelah Hidrolisis	55
Gambar 4.5	Hubungan $E_0 \frac{t}{\frac{[P]_\infty}{\ln \frac{[P]_\infty}{[P]_\infty - [P]}}}$ vs $\frac{[P]}{\ln \frac{[P]_\infty}{[P]_\infty - [P]}}$ pada Rasio Enzim Substrat 1:10.....	58
Gambar 4.6	Hubungan $E_0 \frac{t}{\frac{[P]_\infty}{\ln \frac{[P]_\infty}{[P]_\infty - [P]}}}$ vs $\frac{[P]}{\ln \frac{[P]_\infty}{[P]_\infty - [P]}}$ pada Rasio Enzim Substrat 1:10.....	58

Gambar 4.7	Hubungan $E_0 \frac{t}{\ln \frac{[P]_\infty}{[P]_\infty - [P]}}$ vs $\frac{[P]}{\ln \frac{[P]_\infty}{[P]_\infty - [P]}}$ pada Rasio Enzim Substrat 1:10.....	59
Gambar 4.8	Hubungan $E_0 \frac{t}{\ln \frac{[P]_\infty}{[P]_\infty - [P]}}$ vs $\frac{[P]}{\ln \frac{[P]_\infty}{[P]_\infty - [P]}}$ pada Rasio Enzim Substrat 1:10.....	59

DAFTAR SIMBOL

[P]	Konsentrasi produk pada waktu t	Mol/L
[P] _∞	Konsentrasi produk akhir	Mol/L
[S] ₀	Konsentrasi substrat awal	Mol/L
[S]	Konsentrasi substrat pada waktu t	Mol/L
V _{MAX}	Kecepatan maksimum	Mol/L.s
K _M	Konstanta Michaelis – Menten	Mol/L
t	Waktu hidrolisis	s
[E] ₀	Konsentrasi enzim	Mol/L
k ₂	Konstanta kecepatan reaksi	1 / s
v	Kecepatan reaksi	Mol/L.s
BM	Berat molekul	gram/Mol

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Energi terbarukan yang berasal dari sumber-sumber alamiah seperti panas bumi, matahari, angin, biomassa dan tenaga air semakin banyak digunakan di berbagai negara, karena sumber energi tak terbarukan telah dieksploitasi secara berlebihan seiring dengan peningkatan emisinya (Amjith dan Bavanish, 2022). Energi terbarukan di Indonesia sendiri sangat prospektif karena memiliki lahan hayati yang merupakan potensi biomassa yang sangat besar untuk dimanfaatkan dan dikembangkan sebagai sumber energi seperti bioetanol. Bioetanol dapat diproduksi dari biomassa generasi pertama yang berasal dari *food crops* namun, biomassa generasi kedua seperti lignoselulosa lebih berpotensi dikembangkan karena tidak mengancam ketahanan pangan (Zoghlami and Paës, 2019).

Limbah batang pisang merupakan salah satu alternatif sumber biomassa lignoselulosa yang berlimpah. Menurut Badan Pusat Statistik tahun 2022, dalam Sadya, (2023) produksi pisang di Indonesia mencapai 9,597 juta ton yang apabila diperhitungkan berdasarkan proporsi batang, daun, dan buah pisang berturut-turut adalah 63%, 14%, dan 23% (Nopriantina dan Astuti, 2013), maka akan diperoleh batang segar sebanyak 41,726 juta ton pada tahun yang sama dimana berpotensi menjadi limbah perkebunan karena pemanfaatan yang belum optimal.

Lignoselulosa dari batang pisang sangat potensial sebagai sumber bahan baku bioetanol karena mengandung α -selulosa yang tinggi, yaitu 60-65% (Supraptiningsih, 2012). Namun, susunan kompleks lignoselulosa sulit diputus secara alami. Sehingga, diperlukan proses pra-perlakuan untuk membuat selulosa lebih mudah diakses dan memfasilitasi konversi selulosa menjadi gula dengan lebih baik dalam hidrolisis (Zoghlami dan Paës, 2019). Proses pra-perlakuan kimia dapat dilakukan untuk melarutkan lignoselulosa agar meningkatkan biodegradasi selulosa dengan mengurangi jumlah lignin. Dibandingkan dengan pra-perlakuan biologis dengan tingkat konversi yang lambat dan biaya enzim yang mahal, pra-perlakuan kimia lebih cepat dan murah (Sasmal dan Mohanty, 2018). Penambahan energi *microwave* juga dapat menjadi sumber panas yang sangat

efektif dalam reaksi kimia, karena peningkatan suhu yang sangat cepat dan gelombang mikro pada *microwave* efektif memecah struktur lignin yang kompleks menjadi struktur penyusun yang lebih sederhana (Hargono dkk., 2021).

Hidrolisis lignoselulosa secara enzimatik dengan enzim selulase lebih ramah lingkungan dibandingkan dengan proses hidrolisis lainnya (Hasanin dkk., 2019). *Aspergillus niger* (*A. niger*) memiliki kinerja yang sangat baik untuk produksi enzim selulase, sekresi protein yang sangat baik, dan biaya fermentasi yang rendah (Li dkk., 2020). Dalam Efrinalia dkk. (2022), preparasi jamur *A. Niger* menghasilkan aktivitas CMC_{Case} 548.940 U m/L dan Fpase 314.892 U m/L yang lebih tinggi dibandingkan penelitian-penelitian sebelumnya.

Hidrolisis enzimatik bahan lignoselulosa memiliki mekanisme yang sangat kompleks, rasio biomassa terhadap enzim disorot sebagai salah satu faktor kunci dalam hidrolisis biomassa, diikuti oleh waktu hidrolisis. Perubahan variabel proses sering mengakibatkan perbedaan hasil reaksi. Pengaruh variabel proses yang berbeda dapat dianalisis secara mendalam menggunakan hasil eksperimen serta prediksi model untuk memaksimalkan produksi gula dengan biaya dan waktu yang efisien. Model kinetik Michaelis-Menten telah digunakan untuk menjelaskan reaksi hidrolisis enzimatik dengan mempertimbangkan kondisi reaksi dan efek penghambatan produk (Aliyah dkk., 2017; Efrinalia dkk., 2022).

Penelitian-penelitian terdahulu masih terbatas pada proses perolehan selulosa dari batang pisang, sehingga perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengembangkan metode proses untuk menghasilkan gula dengan hidrolisis selulosa dari batang pisang. Sehingga pada penelitian fokus pada analisis kinetika proses hidrolisis enzimatik dengan menggunakan enzim *A. niger* pada variasi rasio enzim-substrat dan lama waktu hidrolisis. Untuk mendapatkan gula tertinggi, batang pisang diberikan pra-perlakuan menggunakan KOH-*microwave*.

Melalui penelitian ini, diharapkan limbah batang pisang dapat dimanfaatkan secara lebih optimal sebagai upaya untuk mengatasi masalah lingkungan akibat limbah batang pisang yang tidak termanfaatkan sepenuhnya, serta sekaligus diharapkan dapat berkontribusi pada pengembangan sumber bahan baku bioetanol sebagai alternatif sumber bahan bakar berbasis terbarukan untuk meningkatkan keberlanjutan energi dan mendukung lingkungan.

1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini yaitu:

- a. Bagaimana meningkatkan konsentrasi gula yang dipengaruhi oleh variasi rasio enzim-substrat dan waktu hidrolisis yang digunakan dalam proses hidrolisis enzimatis batang pisang yang diberi pra-perlakuan KOH-*Microwave*?
- b. Bagaimana kinetika proses hidrolisis enzimatis selulosa batang pisang yang diberi pra-perlakuan KOH-*Microwave*?

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu:

- a. Menganalisis pengaruh variasi rasio enzim-substrat dan waktu pada hidrolisis enzimatis batang pisang untuk meningkatkan konsentrasi gula hasil hidrolisis.
- b. Menganalisis kinetika proses hidrolisis enzimatis selulosa batang pisang yang diberi pra-perlakuan KOH-*Microwave* untuk mengetahui bagaimana berbagai variasi rasio enzim-substrat mempengaruhi hidrolisis enzimatis seiring berjalannya waktu.

1.4. Hipotesa

Hipotesa dari penelitian ini yaitu:

- a. Semakin lama waktu hidrolisis enzimatis, maka konsentrasi gula yang dihasilkan semakin banyak hingga tercapai kesetimbangan pada waktu optimum (Efrinalia dkk., 2022).
- b. Semakin banyak proporsi substrat dalam rasio yang digunakan pada proses hidrolisis enzimatis, semakin banyak jumlah enzim yang dibutuhkan untuk menghasilkan konsentrasi gula yang lebih tinggi hingga tercapai kesetimbangan pada massa substrat optimum (Olkiewicz dkk., 2020).
- c. Kinetika proses hidrolisis enzimatis adalah orde satu (Nashiruddin, 2022).

1.5. Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup penelitian ini adalah:

- a. Proses delignifikasi menggunakan KOH 5% (b/v) pada 80°C selama 30 menit, dan pemanasan dengan *microwave* menggunakan daya sebesar 300 Hz selama 5 menit.
- b. Perbandingan massa batang pisang dan larutan KOH adalah 1:10 (b/v).
- c. Proses hidrolisis menggunakan ekstrak kasar enzim selulase (*crude enzyme*) dari *Aspergillus niger* dengan total volume 6 mL pada suhu 50°C.
- d. Media cair pada proses hidrolisis adalah 1:10 (b/v) terhadap massa substrat yang digunakan.
- e. Variasi rasio antara volume *crude enzyme Aspergillus niger* dengan massa substrat batang pisang yang telah diberi pra-perlakuan untuk hidrolisis yaitu 1:1, 1:3, 1:5, dan 1:10 (v/b).
- f. Variasi waktu hidrolisis adalah 10, 15, 25, 30, dan 35 jam.

1.6. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah:

- a. Memberi informasi mengenai analisis pengaruh variasi rasio enzim-substrat dan waktu hidrolisis enzimatik untuk menghasilkan produk gula dari lignoselulosa batang pisang.
- b. Pengembangan proses pemanfaatan limbah batang pisang sebagai bahan baku untuk sumber alternatif bioetanol.
- c. Memberikan nilai tambah pada limbah batang pisang.
- d. Memberikan pengetahuan yang mendalam dan meningkatkan kemampuan prediksi untuk desain dan optimasi proses dari informasi mengenai kinetika konversi batang pisang secara enzimatik melalui model kinetika.

DAFTAR PUSTAKA

- Agu, O.S., Tabil, L.G., dan Dumonceaux, T., 2017. Microwave-Assisted Alkali Pre-Treatment, Densification and Enzymatic Saccharification of Canola Straw and Oat Hull. *Bioengineering*, 4 (25): 1–32.
- Amjith, L.R., dan Bavanish, B., 2022. A Review on Biomass and Wind as Renewable Energy for Sustainable Environment. *Chemosphere*, 293: 133–579.
- Aliyah, A., Alamsyah, G., Ramadhani, R., dan Hermansyah, H., 2017. Production of α -Amylase and β -Glucosidase from *Aspergillus niger* by Solid State Fermentation Method on Biomass Waste Substrates from Rice Husk, Bagasse and Corn Cob. *Energy Procedia*, 136: 418–423.
- Bichot, A., Delgenès, J.P., Mechin, V.H.C., Bernet, N., dan Garcia-Bernet, D., 2018. Understanding Biomass Recalcitrance in Grasses for their Efficient Utilization as Biorefinery Feedstock. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 17: 707–748.
- Budiyati, E. dan Bandi, U., 2015. The Effects of Hydrolysis Temperature and Catalyst Concentration on Bio-ethanol Production from Banana Weevil. *Proceeding of The 9 th Joint Conference on Chemistry*. Diponegoro University, 161–166.
- Darwesh, O.M., El-Maraghy, S.H., Abdel-Rahman, H.M., dan Zaghoul, R.A., 2020. Improvement of Paper Wastes Conversion to Bioethanol Using Novel Cellulose Degrading Fungal Isolate. *Fuel*, 262: 1–8.
- Datta, R., 1981. Acidogenic fermentation of lignocellulose-acid and conversion of components. *Biotechnology and Bioengineering*, 23(9): 2167–2170.
- Efrinalia, W., Novia, dan Melwita, E., 2022. Kinetic Model for Enzymatic Hydrolysis of Cellulose from Pre-Treated Rice Husks. *Fermentation*, 8 (417): 1–14.
- Ethaib, S., Omar, R., Kamal, S.M.M., Radiah, D., 2015. Microwave Assisted Pretreatment of Lignocellulosic Biomass: A Review. *Journal of Engineering Science and Technology*, 10: 97–109.
- Fernando, R., Chisholm, J., dan Foist, L., 2022. Perbandingan Gula Pereduksi vs. Gula Bukan Pereduksi. <https://study.com/academy/lesson/reducing-vs-non-reducing-sugars-definition-comparison.html#:~:text=A%20reducing%20sugar%20is%20a,act%20as%20a%20reducing%20agent>, di unduh pada Tanggal 25 Januari 2023.
- Fhariza, P.S., Azhari, Ginting, Z., Hakim, L., dan Meriatna, 2023. Kinetika Hidrolisa Kulit Pisang Awak (*Musa Paradisiaca* Var. Awak) Menjadi

Glukosa Menggunakan Katalis Asam Sulfat. *Chemical Engineering Journal Storage*, 3 (1): 107–117.

Fogler, S.H., 2006. *Elements of Chemical Reaction Engineering, 4th Edition*. Prentice Hall Professional Technical Reference: New York.

González, M.A., Salto, A.V., Vélez, V.P., 2023. Kinetic Study of Acid Hydrolysis of the Glucose Obtained from Banana Plant. *ChemEngineering*, 7 (39): 1–13.

Grous, W.R., Converse, A.O., dan Grethlein, H.F., 1986. Effect of Steam Explosion Pretreatment On Pre-Size and Enzymatic Hydrolysis of Poplar. *Enzyme Microbial.Technology*, 8: 274–280.

Hallac, B. B., and Ragauskas, A. J., 2011. Analyzing Cellulose Degree of Polymerization and its Relevancy to Cellulosic Ethanol. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 5 (2), 215–225.

Hargono, Nurcahyaningih, I., dan Candra, P.D., 2021. Pengaruh Proses Delignifikasi Basa dan Hidrolisis Asam dengan Penambahan FeSO₄ pada Produksi Glukosa dari Spirodela Polyrhiza. *Inovasi Teknik Kimia*, 6 (2): 55–59.

Hasanin, M.S., Darwesh, O.M., Matter, I.A., dan El-Saied, H., 2019. Isolation and characterization of non-cellulolytic *Aspergillus flavus* EGYPTA5 exhibiting selective ligninolytic potential. *Biocat Agric Biotechnol*, 17: 160–7.

Heinze, T., 2015. *Cellulose: Structure and Properties*. Springer International Publishing, Switzerland.

Hermiati, E., Magunwidjaja, D., Sunarti, T.C., Suparno, O., dan Prasetya, B., 2010. Application of *Microwave* Heating in Biomass Hydrolysis and Pretreatment for Ethanol Production. *Annales Bogorienses*, 14 (1): 1–9.

Hernández-Beltrán, J.U., Hernández-De Lira, I.O., Cruz-Santos, M.M., Saucedo-Luevanos, A., Hernández-Terán, F., Balagurusamy, dan Nagamani, 2019. Insight into Pretreatment Methods of Lignocellulosic Biomass to Increase Biogas Yield: Current State, Challenges, and Opportunities. *Applied Sciences*, 9 (18): 1–29.

Junaini, Elvinawati, dan Sumpono, 2019. Pengaruh Kadar *Aspergillus Niger* terhadap Produksi Bioetanol dari Bonggol Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* L). *ALOTROP, Jurnal Pendidikan Dan Ilmu Kimia*, 3 (2): 176-184.

Kim, E.K., 2013. *Marine Protein and Peptides, Biological Activities*. John Wiley and Sons, Oxford (UK).

- Kodri, Argo, B.D., dan Yulianingsih, R., 2013. Pemanfaatan Enzim Selulase dari *Trichoderma Reesei* dan *Aspergillus Niger* sebagai Katalisator Hidrolisis Enzimatik Jerami Padi dengan Pretreatment Microwave. *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis*, 1 (1): 36–43.
- Li, Z., Jiang, Z., Fei, B., Yu, Y., dan Cai, Z., 2012. Effective of Microwave-KOH Pretreatment on Enzymatic Hydrolysis of Bamboo. *Journal of Sustainable Bioenergy Systems*, 2: 104–107.
- Li, C., Zhou, J., Du, G., Chen, J., Takahashi, S., dan Liu, S., 2020. Developing *Aspergillus niger* as a Cell Factory for Food Enzyme Production. *Biotechnol. Adv.*, 44: 107–630.
- Lübeck, M., dan Lübeck, P.S., 2022. Fungal Cell Factories for Efficient and Sustainable Production of Proteins and Peptides. *Microorganisms*, 10 (753): 1–24.
- Maharani, D.M. dan Rosyidin, K., 2018. Efek Pretreatment *Microwave*-NaOH Pada Tepung Gedebog Pisang Kepok terhadap Yield Selulosa. *Jurnal Agritech*, 38 (2): 133–139.
- Nashiruddin, N.I., Rahman, N.H.A., Rahman, R.A., Illias, R.M., Ghazali, N.F., Abomoelak, B., dan Enshasy, H.A.E., 2022. Improved Sugar Recovery of Alkaline Pre-Treated Pineapple Leaf Fibres via Enzymatic Hydrolysis and Its Enzymatic Kinetics. *Fermentation*, 8 (640): 1–13.
- Nnaemeka, I.C., Samuel, E.O., Maxwell, O., Christain, A.O., Chinelo, O., 2021. Optimization and Kinetic Studies for Enzymatic Hydrolysis and Fermentation of *Colocynthis Vulgaris* Shrad Seeds Shell for Bioethanol Production. *Journal of Bioresources and Bioproducts*, 6 (1): 45–64.
- Novia, N., Said, M., Jannah, A.M., Pebriantoni, P., dan Bayu, M., 2020. Aqueous Ammonia Soaking-Dilute Acid Pretreatment to Produce Bioethanol from Rice Husk. *Technology Reports of Kansai University*, 62 (3): 891–900.
- Novia, N., Hasanudin, H., Hermansyah, H., dan Fudholi, A., 2022. Kinetics of Lignin Removal from Rice Husk Using Hydrogen Peroxide and Combined Hydrogen Peroxide–Aqueous Ammonia Pretreatments. *Fermentation*, 8: 157.
- Nopriantina, N., dan Astuti, 2013. Pengaruh Ketebalan Serat Batang Pisang Kepok (*Musa paradisiaca*) terhadap Sifat Mekanik Material Komposit Poliester Serat Alam. *Jurnal Fisika UNAND*, 2 (3): 195–203.

- Nufus, K., dan Mursiti, S., 2017. Optimasi Preparasi Prekursor Bioetanol Limbah Mahkota Nanas Menggunakan Enzim Selulase Jamur Tiram. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 6 (3): 230–235.
- Nuringtyas, T.R., 2010. *Karbohidrat*. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Olesen, P., dan Plackett, D., 1999. Perspectives on the Performance of Natural Plant Fibres. In: Natural Fibres Performance Forum, Copenhagen. p. Copenhagen 27th-28th May 1999.
- Olkiewicz, M., Tylkowski, B., Montornés, J. M., Garcia-Valls, R., & Gulaczyk, I., 2020. Modelling of Enzyme Kinetics: Cellulose Enzymatic Hydrolysis Case. *Physical Sciences Reviews*, 0 (0): 1–21.
- Oswaldo, Z.S., Putra, S., dan Faizal, M., 2012. Pengaruh Konsentrasi Asam dan Waktu pada Proses Hidrolisis dan Fermentasi pembuatan Bioetanol dari Alangalang. *Teknik Kimia*, 18: 56–57.
- Pabon, A.M.A., Felissia, F.E., Mendieta, C.M., Chamorro, E., dan Area, M.C., 2020. Improvement of Bioethanol Production From Rice Husks. *Cellulose Chem. Technol Journal*, 54 (7–8): 689–698.
- Padang, Tanuwiria, U.H., dan Heriyadi, D., 2013. Komponen Serat Kulit Buah Kakao Fermentasi setelah melalui Perendaman dan Tanpa Perendaman dalam Larutan Kalium Hidroksida. *Seminar Nasional Fakultas Peternakan "Pengembangan Sistem Produksi dan Pemanfaatan Sumberdaya Lokal untuk Kemandirian Pangan Asal Hewan"*, Universitas Padjadjaran, 399–404.
- Passos, D.F., Pereira, N., dan Castro, A.M., 2018. A Comparative Review of Recent Advances in Cellulases Production by *Aspergillus*, *Penicillium* and *Trichoderma* Strains and their Use for Lignocellulose Deconstruction. *Curr. Opin. Green Sustain. Chem.*, 14: 60–66.
- Putri, N.P., Ningrum, D. W., Prahana, N. E., dan Oktavia, F. D. 2018. Pemanfaatan Batang Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* L.) sebagai Bioetanol. *Jurnal Integrasi Proses*, 7 (1): 01–06.
- Tilak Raj, T., Dharela, R., dan Chauhan, G.S., 2023. Novel Method for Extraction of Lignin Cellulose & Hemicellulose from *Pinus roxburghii* Needles. *American Journal of Innovation in Science and Engineering (AJISE)*, 2 (1): 57–68.
- Ramadhanti, N., Putri, N.P.A., dan Irdawati, D.W., 2021. Pemanfaatan Ampas Tebu Menggunakan Enzim Selulase dari *Aspergillus niger* untuk Pembuatan Bioetanol-Mini Review. *Prosiding SEMNAS BIO Inovasi Riset Biologi dalam Pendidikan dan Pengembangan Sumber Daya Lokal*, Universitas Negeri Padang, 294-301.

- Reis, C.E.R., Junior, N.L., Bento, H.B.S., Carvalho, A.K.F., Vandenberghe, L.P.S., Soccol, C.R., Aminabhavi, T.M., dan Chandel, A.K., 2022. Process Strategies to Reduce Cellulase Enzyme Loading for Renewable Sugar Production in Biorefineries. *Chemical Engineering Journal*, 451: 138690–138690.
- Remli, N.A.M., Shah, U.K.M., Mohamad, R., dan Abd-Aziz, S., 2013. Effects of Chemical and Thermal Pretreatments on The Enzymatic Saccharification of Rice Straw for Sugars Production. *Bioresources*, 9 (1): 510–522.
- Robak, K. dan Balcerek, M., 2018. Review of Second-Generation Bioethanol Production from Residual Biomass. *Food Technology and Biotechnology*, 56 (2): 174–187.
- Rosalina, M.P., Apriyani, N.A., dan Kurniawan, R., 2022. Pengaruh Waktu Hidrolisis dan Konsentrasi Larutan Asam Pada Hidrolisis Kulit Pisang Tanduk. *Prosiding Diseminasi FTI Genap 2021/2022*, Institut Teknologi Nasional (Itenas) Bandung.
- Rosario, Javier-Astete., Jorge, Jimenez-Davalos., Gaston, dan Zolla., 2021. Determination of Cellulose, Hemicellulose, Holocellulose and Lignin Content Using FTIR in *Callycophyllum spruceanum* and *Guazuma crinita*. *PLoS ONE*, 16 (10): 1–12.
- Rosyidin, K., Khaharudin, Y., Amin, R., Andriani, N.K., dan Maharani, D.M., 2015. Assisted Pretreatment with *Microwave Heating* untuk Peningkatan Kadar Selulosa Batang Pisang pada Produksi Bioetanol. *Prosiding Simposium Nasional Inovasi dan Pembelajaran Sains (SNIPS)*, Brawijaya University, 33–36.
- Sadya, S., 2023. Produksi Pisang Indonesia Capai 9,60 Juta Ton pada 2022. <https://dataindonesia.id/agribisnis-kehutanan/detail/produksi-pisang-indonesia-capai-960-juta-ton-pada-2022>, diunduh pada Tanggal 13 Juni 2023.
- Saharudi, W., 2010. *Kajian Pembuatan α -selulosa dari Batang Pisang Sebagai Bahan Baku Alternatif Pembuatan Kertas dengan Proses Delignifikasi*. Undergraduate Thesis, Pembangunan Nasional “Veteran” Jawa Timur University.
- Sari, A.R., Kusdiyantini, E., dan Rukmi, M.I., 2017. Produksi Selulase oleh Kapang *Aspergillus sp.* Hasil Isolasi dari Limbah Pengolahan Sagu (*Metroxylon sp.*) dengan Variasi Konsentrasi Inokulum pada Fermentasi Terendam Statis. *Jurnal Akademika Biologi*, 6 (1): 11–20.
- Sasmal, S. dan Mohanty, K., 2018. *Pretreatment of Lignocellulosic Biomass toward Biofuel Production, Biofuel and Biorefinery Technologies*. Springer International Publishing AG, India.

- Schülein, M., 1988. Cellulases of *Trichoderma reesei*. *Methods in Enzymology*, 160: 234–242.
- Sharma, H.K., Xu, C., dan Qin, W., 2017. Biological Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for *Biofuels* and Bioproducts: an Overview. *Waste Biomass Valorization*, 10: 235–251.
- Shendurse, A. dan Chandraprakash, D. K., 2016. *Glucose: Properties and Analysis, First Chapter, The Encyclopedia of Food and Health*. Academic Press, Oxford.
- Siddhu, M.A.H., Li, J., Zhang, J., Huang, Y., Wang, W., Chen, C., dan Liu, G., 2016. Improve the Anaerobic Biodegradability by Copretreatment of Thermal Alkali and Steam Explosion of Lignocellulosic Waste. *BioMed Research International*, 2016: 1–10.
- Sigma-Aldrich, 2022. Product Specification. https://www.sigmaaldrich.com/specification-sheets/357/673/C2605-BULK____SIGMA____.pdf, diunduh pada Tanggal 10 Desember 2023.
- Singh, A., Bajar, S., Devi, A., dan Pant, D., 2021. An Overview on the Recent Developments in Fungal Cellulase Production and their Industrial Applications. *Bioresource Technology Reports*, 14: 1–13.
- Smart-Lab Indonesia, 2006. Lembar Data Keselamatan Bahan, Potassium Hydroxide Pellets. [https://smartlab.co.id/assets/pdf/MSDS_POTASSIUM_HYDROXIDE_PELLETS_\(INDO\).pdf](https://smartlab.co.id/assets/pdf/MSDS_POTASSIUM_HYDROXIDE_PELLETS_(INDO).pdf), diunduh pada Tanggal 21 Juli 2023.
- Sjostrom, E., 1995. *Kimia Kayu Dasar-Dasar dan Penggunaan: Edisi Kedua*. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Supraptiningsih, 2012. Pengaruh Serbuk Serat Batang Pisang Sebagai Filter Terhadap Sifat Mekanis Komposit PVC-CaCO₃. *Majalah Kulit, Karet, dan Plastik*, 28 (2): 79–87.
- Sutini, Widiastuty, Y.R., Murdowo, M.R., dan Ramadhani, A.N., 2021. Optimasi Produksi Fermentable Sugar dengan Hidrolisis Enzimatik Limbah Daun Nanas (*Ananas comosus* [L] Merr) Sebagai Bahan Baku Biofuel Ramah Lingkungan. *National Conference PKM Center*. Sebelas Maret University, 119–123.
- Ude, M.U., Oluka, I., dan Eze, P.C., 2020. Optimization and Kinetics of Glucose Production via Enzymatic Hydrolysis of Mixed Peels. *Journal of Bioresources and Bioproducts*, 5: 283–290.
- Veluchamy, C., dan Kalamdhad, A. S., 2017. Enhancement of Hydrolysis of Lignocellulose Waste Pulp and Paper Mill Sludge Through Different Heating Processes on Thermal Pretreatment. *J. Clean. Prod.*, 168: 219–226.

- Van, D. J. S. dan Pletschke, B. I., 2012. A Review of Lignocellulose Bioconversion Using Enzymatic Hydrolysis and Synergistic Cooperation Between Enzymes-Factors Affecting Enzymes, Conversion and Synergy. *Biotechnology Advances*, 30 (6): 1458–1480.
- Van, N.T.T., Gaspillo, P., Thanh, H.G.T., Nhi, N.H.T., Long, H.N., Tri, N., Van, N.T.T., Nguyen, T.T., dan Ha, H.K.P., 2022. Cellulose from the Banana Stem: Optimization of Extraction by Response Surface Methodology (RSM) and Characterization. *Heliyon*, 8 (12): 1–10.
- Vishakha, K., Butte, K., dan Rathod, S., 2012. Natural Polymers – A Comprehensive Review. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 3 (4): 1597–1613.
- Warsa, I.W., Septiyani, F., dan Lisna, C., 2013. Bioetanol dari Bonggol Pisang. *Jurnal Teknik Kimia*, 8 (1): 37–41.
- Waters, C. L., Janupala, R.R., Mallinson, R.G., dan Lobban, L.L., 2017. Staged Thermal Fractionation for Segregation of Lignin and Cellulose Pyrolysis Products: An Experimental Study of Residence Time and Temperature Effects. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 126: 380-389.
- Xiao, W., Yin, W., Xia, S., dan Ma, P., 2012. The Study of Factors Affecting the Enzymatic Hydrolysis of Cellulose After Ionic Liquid Pretreatment. *Carbohydrate Polymers*, 87 (3): 2019–2023.
- Yuliyanti, 2020. *Pisang: si Pohon Serbaguna*. Media Karya Putra, Jakarta.
- Zabed, H, J.N Sahu, A. Suely, A.N. Boyce, dan G. Faruq. 2016. Bioethanol Production from Renewable Sources: Current Perspectives and Technological Progress. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 71: 475–501.
- Zoghلامي, A., dan Paës, G., 2019. Lignocellulosic Biomass: Understanding Recalcitrance and Predicting Hydrolysis. *Frontiers in Chemistry*, 7 (874): 1–12.
- Zwan, T.V.D., Chandra, R.P., dan Saddler, J.N., 2019. Laccase-Mediated Hydrophilization of Lignin Decreases Unproductive Enzyme Binding but Limits Subsequent Enzymatic Hydrolysis At High Substrate Concentrations. *Bioresource Technology*, 292: 1–7.