

Review: Hidrolisis Lignoselulosa dari Agricultural Waste Sebagai Optimasi Produksi Fermentable Sugar

Sutini^{1,a}, Yohanita Restu Widiastuty^{1,b}, Aida Nur Ramadhani^{1,c*}

¹Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Sebelas Maret, Jl. Ir. Sutami 36A Jebres, Surakarta 57126.

E-mail: ^ahitmeup.mbaktini@gmail.com, ^byohanitarestu@gmail.com, ^{c*}aidaramadhani@staff.uns.ac.id

Abstract. Agricultural waste are produced from the agricultural sector, such as straw waste, bagasse, and palm fronds. Agricultural waste contains lignocellulose. Lignocellulose is a component consisting of cellulose, hemicellulose, and lignin. The content of cellulose can be used in various products, but the content of lignin and hemicellulose can inhibit the hydrolysis of lignocellulose. Cellulose has many uses such as propellant or explosive raw materials, and derivatives of alpha-cellulose can be processed into the production of bioethanol, glutamic acid, and biosolvent alcohol. The lignocellulose hydrolysis method greatly affects the levels of fermentable sugar produced. Research have been made to increase the hydrolysis of lignocellulose. In this paper, several methods can be used to increase the yield of fermentable sugar through the hydrolysis of lignocellulose, including pretreatment, delignification, hydrolysis, and saccharification methods. Pretreatment using 2% alkaline, thermal delignification, hydrolysis using xylanase and cellulase enzymes together can significantly increase the ability of lignocellulose hydrolysis to obtain optimal fermentable sugar yield. Simultaneous saccharification and hydrolysis are effective in increasing yield and product formation rate.

Keywords: Agricultural Waste, Lignocellulose, Cellulose, Pretreatment, Delignification, Saccharification, Hydrolysis, Xylanase, Cellulase, Fermentable Sugar

EQUILIBRIUM Volume 3 No.2 December 2019

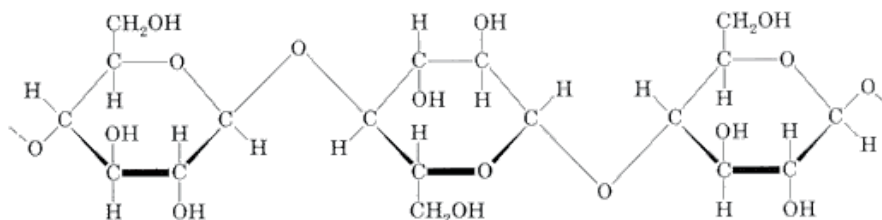
Online at <http://equilibrium.ft.uns.ac.id>

1. Pendahuluan

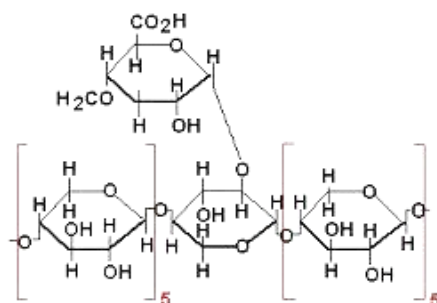
Indonesia merupakan negara agraris yang memiliki sumber daya alam yang melimpah dan berbasis pada sektor pertanian. Banyaknya lahan pertanian di Indonesia dan semakin berkembangnya sektor pertanian tentunya berdampak semakin banyak pula limbah yang dihasilkan dari sektor pertanian. Sampai saat ini masih banyak limbah buangan yang belum tertangani dengan baik dan tepat. Limbah padat masih terlihat terbengkalai dimana-mana dan menimbulkan bau yang tidak sedap serta merusak pandangan mata.

Limbah pertanian mengandung banyak bahan lignoselulosa yang bisa didegradasi oleh enzim secara bioproses. Bahan lignoselulosa dengan komponen terbesar adalah selulosa (35-50%), hemiselulosa (20-35%) dan lignin (10-25%)[1]. Komponen ini merupakan sumber utama untuk menghasilkan produk bernilai seperti gula dari hasil fermentasi, bahan kimia, bahan bakar cair, sumber karbon, dan energi.

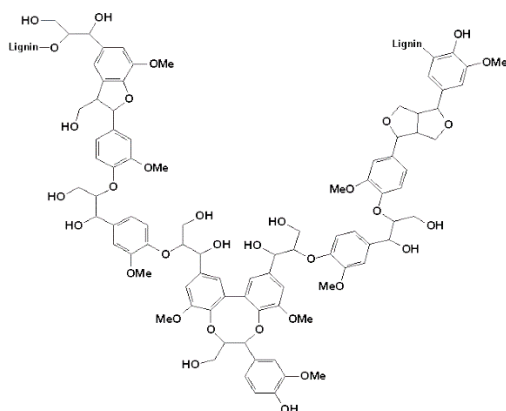
Lignoselulosa merupakan komponen polisakarida yang terdiri atas tiga tipe polimer yaitu selulosa, hemiselulosa, dan lignin. Selulosa merupakan salah satu polimer dengan pemanfaatan yang masih sangat terbatas. Selulosa hampir tidak pernah ditemui dalam keadaan murni di alam, melainkan selalu berikatan dengan bahan lain seperti lignin dan hemiselulosa. Adanya lignin serta hemiselulosa di sekeliling selulosa merupakan hambatan utama untuk menghidrolisis selulosa [2].



Gambar 1. Struktur Kimia Selulosa



Gambar 2. Struktur Kimia Hemiselulosa



Gambar 3. Struktur Kimia Lignin

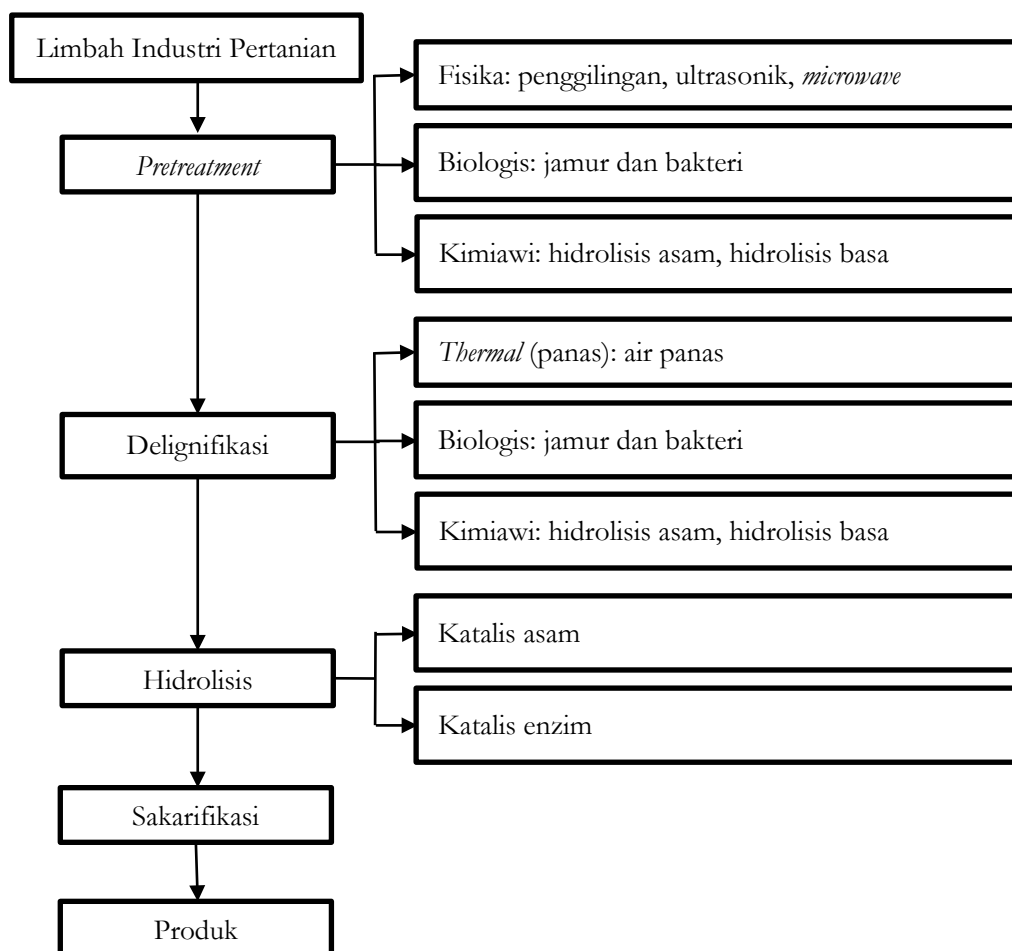
Selulosa merupakan polimer glukosa dengan ikatan β -1,4 glukosida dalam rantai lurus. Bangun dasar selulosa berupa suatu selobiosa yaitu dimer dari glukosa. Rantai panjang selulosa terhubung secara bersama melalui ikatan hidrogen dan gaya van der Waals [3]. Hidrolisis sempurna selulosa akan menghasilkan monomer selulosa yaitu glukosa, selanjutnya glukosa yang dihasilkan dapat difermentasi menjadi menjadi produk, sedangkan hidrolisis tidak sempurna akan menghasilkan disakarida dari selulosa yaitu selobiosa [4].

Limbah pertanian banyak mengandung lignoselulosa. Jerami, ampas tebu, pelepah sawit merupakan limbah lignoselulosa yang masih mempunyai nilai ekonomis bila dilakukan pengolahan lebih lanjut. Sejalan dengan perkembangan bioteknologi, pemanfaatan mikroba dalam proses biokonversi limbah dapat dilakukan guna mendapatkan nilai tambah dari bahan limbah tersebut menjadi produk lain seperti pupuk, bioetanol, pakan ternak dan sebagainya. Pada umumnya, limbah pertanian mengandung bahan lignoselulosa yang merupakan komponen utama dari tanaman. Penggunaan bahan lignoselulosa lebih menarik dibandingkan dengan bahan berpati karena tidak bersaing dalam penggunaan untuk kepentingan pangan [5].

Dalam paper ini akan dikaji beberapa metode yang dapat digunakan dalam proses hidrolisis lignoselulosa, diantaranya metode *pretreatment*, delignifikasi, hidrolisis dan sakarifikasi. Selanjutnya akan dijelaskan juga mengenai aplikasi gula reduksi hasil dari hidrolisis enzimatis secara detail.

2. Metodologi Penelitian

Metode sintesis lignoselulosa meliputi metode *pretreatment*, delignifikasi, hidrolisis, dan sakarifikasi. Adapun tulisan ini membahas tentang berbagai metode untuk produksi *fermentable sugar*.



Gambar 4. Metode Produksi *Fermentable Sugar*

2.1 Metode *Pretreatment*

Limbah pertanian mengandung banyak lignoselulosa dimana di dalamnya terdapat selulosa yang dapat dihidrolisis secara enzimatik menjadi gula reduksi atau *fermentable sugar*. Limbah pertanian tersebut contohnya:



Gambar 5 (a). Limbah jerami Gambar 5 (b). Limbah ampas tebu Gambar 5 (c). Limbah pelepah sawit

Tabel 1. Kandungan Selulosa, Hemiselulosa, dan Lignin dalam Berbagai *Agricultural Waste*

Limbah Pertanian	Kandungan			Referensi
	% Selulosa	% Hemiselulosa	% Lignin	
Jerami	37,71	21,99	16,62	[6]
	37,71	21,99	16,62	[7]
	35-50	20-35	10-25	[1]
Ampas tebu	52,7	20,00	24,20	[8]
	40-50	23-45	18-24	[9]
	40-50	25-35	15-35	[10]
	52,42	25,80	21,69	[11]
Pelepah sawit	34,89	27,14	19,87	[12]
	21,12	27,94	16,94	[13]
	50	19,60	16,00	[14]

Perlakuan awal (*pretreatment*) merupakan tahapan proses yang bertujuan untuk memecah struktur kristal lignin-selulosa dan membuang lignin sehingga enzim selulase dapat bersinggungan langsung dengan selulosa. *Pretreatment* merupakan salah satu proses terpenting dalam biokonversi substrat berlignoselulosa. Proses *pretreatment* dibutuhkan untuk memutuskan ikatan lignin dari struktur lignoselulosa serta mengurangi derajat polimerisasi dan sifat kristalin selulosa. Proses *pretreatment* akan meningkatkan efisiensi proses hidrolisis dengan cara memperluas permukaan kontak substrat dengan enzim [15]. Namun demikian, pemilihan metode pada proses *pretreatment* akan mempengaruhi proses selanjutnya seperti hidrolisis dan fermentasi. Kondisi yang tidak diinginkan selama proses *pretreatment* akan membuat terbentuknya produk parsial hemiselulosa dan lignin serta senyawa toksik atau inhibitor yang akan mengurangi kinerja enzim maupun mikroba. Metode *pretreatment* tersebut memiliki kelebihan dan kekurangan masing-masing dan aplikasinya juga akan bergantung pada bahan lignoselulosa yang digunakan. Oleh karena itu, metode *pretreatment* perlu dipertimbangkan terlebih dahulu supaya proses konversi dapat berjalan optimal. Jenis *pretreatment* bahan baku yang biasanya dilakukan meliputi cara mekanik, kimiawi, dan biologis.

Tabel 2 Metode *Pretreatment* Hidrolisis Lignoselulosa

Cara	Proses	Contoh	Suhu	Pengurangan Lignin	Referensi
Fisika	Pembakaran menjadi abu	Pembuatan ekstrak abu dari pembakaran Tandan Kosong Sawit (TKS)	*	*	[12]

		Pengecilan ukuran dengan penggilingan, pemotongan, penggerusan, dan <i>extruder</i>	Hidrolisis ubi kayu, ubi gadung	Dalam oven 50°C	*	[16]
			Hidrolisis pelepah sawit	Dalam oven 120°C	Pengurangan Lignin 0,53%	[17]
Kimia	Asam	Asam sulfat dan asam klorida encer, asam sulfat dan asam klorida pekat	Hidrolisis kulit pisang	Dalam <i>autoclave</i> 121°C	*	[18]
	Basa	Natrium hidroksida, amonia, hidrogen peroksida	Dengan KOH dan NaOH	*	*	[15]
		Pengoksidasian yaitu peroksida dan ozon	*	*	*	[18]
Kimia dan Fisika		<i>Steam explosion</i>	Penambahan katalis seperti SO ₂	*	*	[19] [20] [21]
		Autohidrolisis dan perkolasi <i>Supercritical CO₂</i>	Dengan amonia Menggunakan kayu keras dan kayu lunak	*	*	[22] [23]
		<i>Amonia fiber expansion</i>	*	Tinggi	Hasil 98% glukosa	[24]
Biologi		Mikroorganisme jamur	Hidrolisis dengan jamur pelapuk putih terutama <i>Ceriporiopsis subvermispora</i>	180°C dengan uap, 140–200°C dengan etanol	*	[25]–[32]

* Data tidak ditemukan

2.1.1. Cara mekanik

Caesari, dkk [12] melakukan percobaan menggunakan metode mekanik dengan pembakaran tandan kosong sawit dalam *incenerator* yang menghasilkan ekstrak abu kelapa sawit kemudian disaring, ditambahkan air, dan diaduk sebelum didiamkan. Larutan hasil ekstrak diperoleh dengan memisahkan endapan abu dari larutan, kemudian larutan tersebut disiapkan sebagai larutan pemasak dan dilakukan uji pH.

Hartiarti [16] melakukan percobaan dengan pengecilan ukuran melalui diparut/digerus/digiling dan dihancurkan dengan blender dan ditambahkan air.. Bubur pati kemudian disaring dengan menggunakan kain saring guna memisahkan ampasnya. Filtrat hasil penyaringan kemudian diendapkan. Endapan yang terbentuk kemudian dipisahkan dengan cara membuang airnya dan di oven. Pati yang diperoleh selanjutnya dikarakterisasi dengan analisa proksimat.

2.1.2. Cara biologis

Hermiati [33] melakukan percobaan dengan menggunakan perlakuan secara biologis menggunakan mikroorganisme jamur pelapuk coklat, jamur pelapuk putih, dan jamur pelunak untuk mendegradasi lignin dan hemiselulosa yang ada dalam bahan lignoselulosa. Di antara ketiga jamur tersebut, yang paling efektif untuk perlakuan pendahuluan pada bahan lignoselulosa adalah jamur pelapuk putih (*white-rot fungi*).

2.1.3. Cara kimiawi

Seftian [18] melakukan percobaan dengan menggunakan bahan kimia seperti asam, alkali, dan pengoksidasian yaitu peroksida dan ozon. Diantara metode ini, *pretreatment* asam encer menggunakan H_2SO_4 adalah metode yang paling banyak digunakan. Tergantung pada jenis bahan kimia yang digunakan, *pretreatment* bisa memiliki dampak yang berbeda pada komponen struktural lignoselulosa. *Alkaline pretreatment*, *ozonolysis*, peroksida dan oksidasi *pretreatment* lebih bisa efektif dalam penghapusan lignin sedangkan *pretreatment* asam encer lebih efisien dalam solubilisasi hemiselulosa [34].

Ramly et al [15] menunjukkan bahwa metode *pretreatment* menggunakan basa akan meningkatkan efektifitas proses hidrolisis enzimatis dengan cara meningkatkan aksesibilitas enzim pada permukaan selulosa. Hasil penelitian tersebut diketahui bahwa *pretreatment* secara basa menggunakan 2% (b/v) KOH atau NaOH dan dikombinasikan dengan perlakuan panas pada suhu 121°C dan 15 psi akan meningkatkan 58,5-64,5% laju konversi terbentuknya gula reduksi dibandingkan dengan jerami padi tanpa *pretreatment*. Hal ini menunjukkan bahwa *pretreatment* secara basa dapat efektif digunakan untuk proses biokonversi jerami padi.

Metode lain dilaporkan seperti *steam explosion pretreatment* terhadap komponen kayu yang keras [21] serta metoda *autohydrolysis* dan perkolasi dengan amonia untuk menghilangkan lignin dan mendapatkan hemiselulosa [22]. Selain itu, metode dengan menggunakan *supercritical CO₂* dapat membantu proses hidrolisis dari selulosa sehingga dapat meningkatkan gula pereduksi dari 14,5 menjadi 84,7% terhadap kayu keras dan 12,8 menjadi 27,3% terhadap kayu lunak [23]. Metoda *ammonia fiber expansion* (AFEX) merupakan gabungan antara proses fisika (temperatur tinggi dan tekanan) serta proses kimia (amonia) untuk mendapatkan hasil yang efektif dan dari perlakuan ini dapat diperoleh kurang lebih 98% glukosa [24].

2.2. Metode Delignifikasi

Delignifikasi adalah suatu proses mengubah struktur kimia biomassa berlignoselulosa dengan tujuan mendegradasi lignin secara selektif sehingga menguraikan ikatan kimianya baik secara ikatan kovalen, ikatan hidrogen maupun ikatan van der Waals, dengan komponen kimia lain pada bahan berlignoselulosa [35]. Proses delignifikasi akan melarutkan kandungan lignin di dalam bahan sehingga mempermudah proses pemisahan lignin dengan serat. Delignifikasi dapat dilakukan melalui proses fisika (*thermal*), kimia, maupun biologi.

Zulfieni [36] melakukan proses delignifikasi pelepah sawit untuk mendapatkan selulosa yang memiliki kadar lignin rendah melalui proses *thermal*. Proses delignifikasi dilakukan setelah proses hidrolisis. Hasil hidrolisis disaring dan dicuci dengan air panas untuk menghilangkan lindi hitam. Residu ditambahkan dengan larutan pemasak ekstrak abu TKS yang baru dengan nisbah padatan larutan 1:5, kondisi delignifikasi pada temperatur 100°C dan waktu 30 menit. Selanjutnya residu dicuci hingga pH netral.

Kurniati [37] melakukan proses secara kimia dengan penambahan basa NaOH 6% dengan perbandingan sebesar 1:5. Sampel yang telah direndam selama 90 menit kemudian disaring dan diambil padatnya saja, setelah itu di cuci menggunakan akuades hingga pH mencapai netral. Sampel yang sudah dicuci, dikeringkan menggunakan oven dan diayak dengan ukuran sekitar 80 mesh. Penurunan lignin dalam bahan melalui proses *thermal* mampu mencapai 6% dari persen kandungan lignin mula-mula yang terkandung dalam bahan. Selain dengan basa proses delignifikasi secara kimia dapat dilakukan dengan larutan asam yaitu H₂SO₄ 0,5% dengan waktu pemanasan 30 menit terjadi penurunan kadar lignin sebesar 8%.

2.3. Metode Hidrolisis dan Sakarifikasi

Hidrolisis merupakan suatu reaksi pemecahan molekul besar menjadi bagian-bagian yang lebih kecil yang merupakan komponen monomer dari senyawa itu sendiri melalui adisi oleh air. Pemutusan rantai polimer tersebut dapat dilakukan dengan dua metode, yaitu secara enzimatik dan kimiawi. Hidrolisis kimiawi biasanya menggunakan asam sulfat (H₂SO₄) atau asam klorida (HCl), sedangkan hidrolisis enzimatik adalah hidrolisis dengan menggunakan enzim. [38]

Tabel 3. Hidrolisis dengan Katalis Asam

Bahan	Waktu	Tekanan (atm)	Suhu (°C)	pH	% Glukosa	Referensi
Jerami Padi	2 hari	1	30	3	40,33	[39]
Ampas tebu	15 menit	1	121	1	4,2	[40]
Pelepah sawit	100 menit	1	121	1	19,49	[17]

Tabel 4. Hidrolisis dengan Katalis Enzim

Bahan	Waktu	Tekanan (atm)	Suhu (°C)	pH	% Glukosa	Referensi
Jerami padi	64 jam	1	50	5	17,35	[41]
Ampas tebu	15 hari	1	50	5	13,442	[42]
Pelepah sawit	124 jam	1	60	5-6	18,7	[43]

Sakarifikasi adalah proses lanjutan dari hidrolisis untuk menghasilkan glukosa yang nantinya siap untuk dikonversi menjadi produk dengan fermentasi menggunakan yeast/ragi/khamir. Monosakarida hasil sakarifikasi bergantung pada seberapa maksimal dari proses-proses sebelumnya, yang artinya proses-proses tersebut akan menentukan besarnya produk akhir fermentasi.

Salah satu potensi dari fermentable sugar adalah dengan mengubahnya menjadi bioenergi contohnya bioetanol. Khamir yang digunakan adalah *Saccharomyces cerevisiae*, spesies khamir yang memiliki daya konversi gula menjadi etanol sangat tinggi. *Saccharomyces cerevisiae* memerlukan suhu 30°C dan pH 4,0-5,5 agar dapat tumbuh dengan baik. (15)

Tabel 5. Proses Fermentasi Beberapa *Agricultural Waste*

Bahan	Waktu	Tekanan (atm)	Suhu (°C)	pH	% Etanol	% Yield	Referensi
Jerami Padi	7 hari	1	30	4,5	12,89	*	[39]
Ampas Tebu	72 jam	1	38	4,5	22,64	29,18	[44]
	3 hari	1	28-30	5	39,571	*	[43]
Pelepah sawit	48 jam	1	32	4	4	9,6	[17]
	24 jam	1	32	4	4,3699	*	[45]

* Data tidak ditemukan

3. Aplikasi

Fermentable sugar dapat diolah lebih lanjut menjadi produk baru melalui fermentasi dengan menggunakan berbagai macam mikroorganisme. Berikut contoh aplikasi pemanfaatan dari *fermentable sugar*:

Review: Hidrolisis Lignoselulosa dari *Agricultural Waste* Sebagai Optimasi Produksi

Fermentable Sugar

Sutini, Yohanita Restu Widibastuty, Aida Nur Ramadhani

Tabel 6. Aplikasi Pemanfaatan *Fermentable Sugar*

Produk	Mikroorganisme yang digunakan	Residu	Referensi
Bioproduk	Enzim Inulinase <i>max activity</i> 0,088 U/gds	K. marxianus NRRL 7571	[46]
	Enzim Inulinase <i>max activity</i> 1,77 U/gds	A. parasiticus	
	Enzim alkaline protease <i>max activity</i> 510 U/mL	B. alcalophilus LW8	
	Enzim endoglukanase <i>max activity</i> 9,3 U/mL	A. Niger 38	
Biopolimer	Poly-3- hydroxybutyrate	Cupriavidus necator	Kelapa sawit
Biosolven	ABE butanol	C. acetobutylicum B5313	Ampas tebu
	ABE etanol	C. acetobutylicum B5313	
Biosurfaktan	Rhamnolipids	Pseudomonas aeruginosa PAO1	Kelapa sawit
Asam organik	Asam laktat	Lactococcus lactis IO-1	Ampas tebu
	Asam oksalat	B. coagulans C106 Phanerochaete chrysosporium	

4. Kesimpulan dan Saran

Banyak limbah agrikultural yang dapat diolah menjadi gula pereduksi. Gula pereduksi (*fermentable sugar*) jika diteruskan lebih lanjut akan menghasilkan produk-produk yang berguna seperti *bioproduct*, *biosolvent*, asam organik, biosurfaktan dan biopolimer.

Pemilihan metode pada proses *pretreatment* akan mempengaruhi proses selanjutnya seperti hidrolisis dan fermentasi. Kondisi yang tidak diinginkan selama proses *pretreatment* akan membuat terbentuknya produk parsial hemiselulosa dan lignin serta senyawa toksik atau inhibitor yang akan mengurangi kinerja enzim maupun mikroba.

Perlu penelitian lebih lanjut untuk limbah agrikultural lain seperti bonggol jagung, kulit jagung, daun nanas, dan sebagainya.

Referensi

- [1] B. C. Saha, "Lignocellulose Biodegradation and Application in Biotechnology," *US Gov. Work. Am. Chem. Soc.*, vol. 2, no. 14, 2004.
- [2] E. Sjostrom, *Kimia Kayu: Dasar-dasar dan Penggunaan*, 2nd ed. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- [3] J. M. Perez, J., J. M. Dorado, T. Rubia, "Biodegradation and Biological treatments of Cellulose, Hemicellulose and Lignin: An Overview," *Int. Microbiol.*, vol. 5, pp. 53–63, 2002.
- [4] L. T. Fan, Y. H. Lee, M. M. Gharpuray, "The Nature of Lignocellulosic and Their Pretreatment for Enzymatic Hydrolysis," *Adv. Biochem. Eng.*, vol. 23, pp. 158–187, 1982.
- [5] R.R. Singhania, "Cellulolytic Enzymes. Biotechnology for Agro-Industrial Residues Utilization," vol.

- 20, pp. 371–381, 2009.
- [6] K. H. Dewi, and A. Agrosia “Hidrolisis Limbah Hasil Pertanian Secara Enzimatik,” *Akta Agrar.*, vol. 5, no. 2, pp. 67–71, 2002.
- [7] R. Pratiwi, D. Rahayu, and M. I. Barliana, “Pemanfaatan Selulosa dari Limbah Jerami Padi (*Oryza sativa*) Sebagai Bahan Bioplastik,” *IJPST*, vol. 3, no. 3, pp. 83–91, 2016.
- [8] M. Samsuri *et al.*, “Pemanfaatan Selulosa Bagas untuk Produksi Ethanol Melalui Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak dengan Enzim Xylanase,” *Makara Teknol.*, vol. 11, no. 1, pp. 17–24, 2007.
- [9] A. Mandal and D. Chakrabarty, “Isolation of Nanocellulose from Waste Sugarcane Bagasse (SCB) and Its Characterization,” *Carbohydr. Polym.*, vol. 86, pp. 1291–1299, 2011.
- [10] Jufrinaldi, “Isolasi Selulosa dari Bagas Tebu Melalui Pemanasan Iradiasi Gelombang Mikro,” *J. Ilm. Tek. Kim. UNPAM*, vol. 2, no. 2, pp. 36–46, 2018.
- [11] M. Tewari, P. C. Singh, V.K., Gope, and A. K. Chaudhary, “Evaluation of Mechanical Properties of Bagasse-Glass Fiber Reinforced Composite,” *J. Mater. Environ. Sci.*, vol. 3, no. 1, pp. 187–194, 2012.
- [12] Caesari, Padil, and Yelmida, “Pemurnian Selulosa Alfa Pelepah Sawit Menggunakan Enzim Xylanase,” *J. Tek. Kim. UR*, vol. 1, no. 1, pp. 1-8, 2014
- [13] A. Imsya and P. R, “Perubahan Kandungan Lignin, NDF, dan ADF Pelepah Sawit Melalui Proses Biodegumming sebagai Sumber Bahan Pakan Serat Ternak Ruminansia,” *J.I. Ternak dan Vet.*, vol. 14, no. 4, pp. 284–288, 2009.
- [14] K. W. Law, W. Daud, and W.R, “Oil Palm Fibers as Papermaking Material: Potentials and Challenges,” *Bioresources*, vol. 6, no. 1, pp. 901–917, 2011.
- [15] N. A. M. Remli, U. K. M. Shah, R. Mohamad, and S. Abd-Aziz, “Effects of Chemical and Thermal Pretreatments on The Enzymatic Saccharification of Rice Straw for Sugars Production,” *Bioresources*, vol. 9, no. 1, pp. 510–522, 2013.
- [16] A. Hartiati, I. W. Gede, and S. Yoga, “Pemanfaatan Umbi Minor Gadung sebagai Bahan Baku Produksi Gula Cair Menggunakan Proses Likuidifikasi dan Sakarifikasi Secara Enzimatis,” in *Seminar Agroindustri dan Lokakarya Nasional FKPT-TPI*, 2015, pp. 147–154.
- [17] N. M. Rilek, N. Hidayat, and Y. Sugiarto, “Hidrolisis Lignoselulosa Hasil Pretreatment Pelepah Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq) menggunakan H₂SO₄ pada Produksi Bioetanol,” *J. Teknol. dan Manaj. Agroindustri*, vol. 6, no. 2, pp. 76–82, 2017.
- [18] D. Seftian, F. Antonius, and M. Faizal, “Pembuatan Etanol dari Kulit Pisang Menggunakan Metode Hidrolisis Enzimatik dan Fermentasi,” *J. Tek. Kim.*, vol. 18, no. 1, pp. 10–16, 2012.
- [19] Hahn-Hagerdal, B. Galbe, G. M.F.M. Gorwa-Grauslund. Liden, and G. Zacchi, “Bio-ethanol-the Fuel of Tomorrow from the Residues of Today,” *Sci. Direct, Elsevier*, 2006.
- [20] Hamelinck, V. Hooijdonk, and Faaij, “Ethanol from lignocellulosic biomass: Techno-economic performance in short-, middle- and long-term,” *Biomass and Bioenergy*, vol. 28, pp. 384–410, 2005.
- [21] K. Shimizu, K. Sudo, H. Ono, M. Ishihara, T. Fujii, and S. Hishiyama, “Integrated Process for Total Utilization of Wood Component by Steam Explosion Pretreatment,” *Biomass and Bioenergy*, vol. 14, no. 3, pp. 195–203, 1998.
- [22] H. H. Yoon, “Pretreatment of Lignocellulosic Biomass by Autohydrolysis and Aqueous Ammonia Percolation,” *Korean J. Chem. Eng.*, vol. 15, no. 6, pp. 631–636, 1998.
- [23] K. H. Kim and J. Hong, “Supercritical CO₂ Pretreatment of Lignocellulose Enhances Enzymatic Cellulose Hydrolysis,” *Bioresour. Technol.*, vol. 77, no. 139–144, 2001.
- [24] V. Balan, B. B, and S. P. . Chundawat, “Lignocellulose Biomass treatment Using AFEX,” *Method Mol. Biol.*, vol. 581, pp. 61–77, 2009.
- [25] Syafwina, E. D. Wong, Y. Honda, T. Watanabe, and M. Kuwahara, “Pretreatment of empty fruit bunch of oil palm by white-rot fungi for the utilization of its component,” *Wood Res*, pp. 351–356, 2002.
- [26] Syafwina, H. Y, T. Watanabe, and M. Kuwahara, “Pretreatment of oil palm empty fruit bunch by white-rot fungi for enzymatic saccharification,” *Wood Res*, vol. 89, pp. 19–20, 2002.
- [27] H. Itoh, M. Wada, Y. Honda, M. Kuwahara, and T. Watanabe, “Bioorganosolve pretreatments for simultaneous saccharification and fermentation of beech wood by ethanolysis and white rot fungi,” *J. Biotechnol.*, vol. 103, pp. 273–280, 2003.
- [28] Syafwina, T. Watanabe, Y. Honda, M. Kuwahara, and T. Watanabe, “Simultaneous Saccharification and Fermentation of Oil Palm Empty Fruit Bunch Pretreated by White Rot Fungi for Ethanol Production,” *Wood Res*, pp. 313–316, 2004.

- [29] M. Samsuri, M. Gozan, R. Mardias, M. Baiquni, H. Hermansyah, A. Wijanarko, B. Prasetya, M. Nasikin, "Pemanfaatan Selulosa Bagas untuk Produksi Etanol Melalui Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak dengan Enzim Xylanase," *J. Tek. Kim. UI*, vol. 11, no. 1, pp. 17-24, 2007.
- [30] T. Tanabe, Y. Baba, N. Shinohara, T. Mitani, Y. Honda, and T. Watanabe, "Pretreatments of Softwood by Microwave Irradiation and White Rot Fungi for Ethanol Production," p. 379, 2004.
- [31] S. Hatakeyama and M. Kuwahara, "Degradation of Discharged Stump and Root of Japanese Cedar by Wood Rotting Basidiomycetes," p. 373, 2004.
- [32] M. Samsuri, B. Prasetya, E. Hermiati, T. Idiyanti, K. Okano, Syafwina, Y. Honda, and T. Watanabe., "Pretreatments for Ethanol Production from Bagasse by Simultaneous Saccharification and Fermentation," pp. 288–294, 2005.
- [33] E. Hermiati, D. Mangunwidjaja, T. C. Sunarti, and O. Suparno, "Pemanfaatan Biomassa Lignoselulosa Ampas tebu untuk Produksi Bioetanol," *J. Litbang Pertan.*, vol. 29, no. 4, pp. 121–130, 2010.
- [34] Y. Sun and J. Cheng, "Hidrolysis of Lignocellulose Material for Ethanol Production: a Review," *Bioresour. Technol.*, vol. 83, pp. 1–11, 2002.
- [35] L. Agustini, L., dan Efiyanti, "Pengaruh Perlakuan Delignifikasi Terhadap Hidrolisis Selulosa dan Produksi Etanol Dari Limbah Berlignoselulosa," vol. 33, no. 1, pp. 69–88, 2015.
- [36] W. Y. Zulfieni, "Hidrolisis Pelepah Sawit Untuk Memurnikan Selulosa- α Menggunakan Larutan Pemasak dan Ekstrak Abu TKS," *Skripsi Universitas Indonesia*, pp. 78, 2010.
- [37] Y. Kurniati, S. Budijanto, L. Nuraida, F. Nur, and A. Dewi, "Peningkatan Senyawa Fenolik Bekatul dengan SSF (Solid State Fermentation) sebagai Pencegah Kanker," *Iptek Tanam. Pangan*, vol. 12, no. 2, pp. 97–104, 2017.
- [38] T. M. Fenida, "Studi Reaksi Hidrolisis Glukosa untuk Menghasilkan Senyawa Asam Levulinat Menggunakan Katalis Homogen dan Katalis Heterogen Asam," *Skripsi Universitas Indonesia*, pp. 83, 2010.
- [39] Y. Andayana, "Pembuatan Ethanol dari Jerami Padi dengan Proses Hidrolisis dan Fermentasi," *Jur. Tek. Kim. Fak. Teknol. Ind. UPN "Veteran" Jatim*, vol. 8, no. 2, pp. 54–57, 2014.
- [40] Sutikno, Marniza, and N. Sari, "Pengaruh Perlakuan Awal Basa dan Hidrolisis Asam terhadap Kadar Gula Reduksi Ampas Tebu," *J. Teknol. Ind. dan Has. Pertan.*, vol. 20, no. 2, pp. 65–72, 2015.
- [41] H. Ferdiansyah, S. H. Sumarlan, and B. D. Argo, "Hidrolisis Enzimatik Menggunakan Enzim Selulase dari *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* pada Produksi Bioetanol Jerami Padi," *J. Keteknikan Pertan. Trop. dan Biosistem*, vol. 3, no. 2, pp. 211–216, 2015.
- [42] E. Ella Saparianti, T. Dewanti, and S. K. Dhoni, "Hidrolisis Ampas Tebu Menjadi Glukosa Cair Oleh Kapang *Trichoderma viride*," *J. Teknol. Pertan.*, vol. 5, no. 1, pp. 1–10, 1992.
- [43] H. Sitompul, D. R. Putra, and P. N. F., "Pengaruh Waktu dan Konsentrasi Enzim Selulase pada Proses Hidrolisis Tandan Kosong Kelapa Sawit Menjadi Glukosa," *Anal. Anal. Environ. Chem.*, vol. 1, no. 01, pp. 8–16, 2016.
- [44] M. Oktaviani, T. Fajriutami, and E. Hermiati, "Produksi Etanol dari Ampas Tebu Terdelignifikasi Alkali melalui Proses Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak," *Prosiding Seniati*, pp. 45–51, 2016.
- [45] Kristina, E. R. Sari, and Novia, "Alkaline Pretreatment dan Proses Simultan Sakarifikasi-Fermentasi untuk Produksi Etanol dari Tandan Kosong Kelapa Sawit," *J. Tek. Kim.*, vol. 18, no. 3, pp. 34–43, 2012.
- [46] P. Gutierrez-macias, M. De Lourdes, H. De Jesus, and B. E. Barragan-huerta, "The Production of Biomaterials from Agro-industrial Waste," *Fresenius Environ. Bullet*, vol. 26, no. 6, pp. 4128–4152, 2017.