



## Produksi Bioetanol dari Biomassa Minyak Sawit (Sebuah Tinjauan)

Amalia Cantika Asyafa, Universitas Singaperbangsa Karawang, Karawang, Indonesia

Teguh Pambudi, Universitas Singaperbangsa Karawang, Karawang, Indonesia

Hilman Imadul Umam, Universitas Singaperbangsa Karawang, Karawang, Indonesia

### ABSTRACT

The depletion of fossil fuel reserves, along with rising environmental pollution, induce a shift away from fossil fuels and toward renewable energy sources such as bioethanol obtained from industrial waste biomass. The process involves biomass pretreatment to alter the complex lignocellulosic biomass structure to make it accessible to enzymes in the hydrolysis process. This stage can be accomplished by physical treatments such as mechanical size reduction, sonication, and microwave heating, followed by chemical pretreatment using acids, bases, or ionic liquids, and then biological pretreatment with the assistance of microorganisms such as bacteria and enzymes. There are also combination techniques involving physico-chemical processes like steam explosion and the use of ammonia in ammonium fiber expansion. After the pretreatment stage, palm oil biomass is hydrolyzed into monomeric sugars that are subsequently used in the fermentation process to produce ethanol. To achieve efficient and sustainable bioethanol production, a holistic approach considering technical, environmental, and economic aspects is required. Therefore, this article provides a comprehensive overview of the potential utilization of palm oil biomass waste as a source of bioethanol. By harnessing available biomass, it is hoped that this can contribute to reducing dependence on fossil fuels and mitigating environmental pollution.

### ARTICLE HISTORY

Submitted 15/10/2023

Revised 09/11/2023

Accepted 09/11/2023

### KEYWORDS

bioethanol; fermentation; palm oil biomass; pretreatment; saccharification.

### CORRESPONDENCE AUTHOR

teguh.pambudi@ft.unsika.ac.id

DOI: <https://doi.org/10.30743/cheds.v7i1.8122>

## 1. PENDAHULUAN

Pemakaian bahan bakar fosil secara terus menerus menyebabkan penipisan cadangan bahan bakar dunia (Richana et al., 2015). Sekitar dua pertiga dari cadangan minyak bumi global telah menurun (McMillan, 1997) dan diperkirakan pada tahun 2070-2080, dunia akan kekurangan pasokan minyak bumi (Malode et al., 2021). Selain itu, residu yang dihasilkan oleh pembakaran bahan bakar fosil juga telah memberikan ancaman serius terhadap lingkungan (Güney, 2019), sehingga memaksa penggantian bahan bakar fosil dengan energi terbarukan yang lebih ramah lingkungan (Barreto, 2018). Salah satunya bahan pembuatan energi terbarukan adalah sumber organik seperti limbah biomassa pertanian yang dapat diolah menjadi *biofuel* (Malode et al., 2021).

Produksi *biofuel* pada awalnya berupa bioetanol dan biodiesel yang diolah dari tanaman pangan seperti jagung dan tebu, serta minyak nabati sebagai bahan dasar pembuatan biodiesel (Correa et al., 2017). Namun bahan-bahan tersebut dianggap menjadi eksplorasi berlebihan dan juga konversi lahan non-pertanian menjadi lahan pertanian tanaman pangan untuk produksi *biofuel*, sehingga melonjaknya harga pangan global (Antar et al., 2021). Oleh karena itu, dikembangkan produksi *biofuel* dari bahan-bahan non pangan biomassa (*biofuel* generasi kedua) (Okolie et al., 2021) yang sebagian besarnya menggunakan bahan lignoselulosa yang banyak tersedia, namun tidak termanfaatkan (Bhatia et al., 2017; Naik et al., 2010). Jika dibandingkan dengan bahan bakar fosil, produk *biofuel* menghasilkan bahan bakar berkualitas dengan sama atau bahkan lebih baik dengan efek samping yang lebih ramah lingkungan (Antar et al., 2021). Sehingga pembuatan *biofuel* ini dapat mereduksi limbah biomassa pada sektor industri maupun pertanian dengan mengkonversinya menjadi bahan bakar etanol.

Penggunaan *biofuel* berbahan dasar biomassa diprediksi mencapai 30% pada tahun 2025 (Kamm, 2007) dan saat ini *biofuel* yang paling banyak digunakan adalah etanol yang difermentasi dari biomassa selulosa (Sarkar et al., 2012). Tabel 1 menampilkan rincian produksi bioetanol di berbagai wilayah dunia.



Tabel 1. Produksi bioetanol pada beberapa wilayah.

Wilayah	Produksi (miliar)
Amerika	22.3
Asia	5.7
Eropa	4,6
Afrika	0.5
Oseania	0.2

Sumber: (Demirbaş, 2005)

Indonesia merupakan negara penghasil minyak sawit terbesar di dunia, disusul oleh Malaysia di peringkat kedua. Produksi minyak sawit dunia dirangkum pada Tabel 2. Produksi minyak sawit hanya mengolah sekitar 21% bagian pohon sawit sedangkan sisanya merupakan limbah biomassa minyak sawit (Kelly-Yong et al., 2007). Sebesar 54 juta ton tandan kosong kelapa sawit, 31 juta ton limbah cair, 15 juta ton cangkang inti sawit, 130 juta ton limbah pabrik kelapa sawit, 115 juta ton pelepas sawit dan 59.7 juta ton batang kelapa sawit diprediksi akan diproduksi di tahun 2030 (Hambali & Rivai, 2017). Data ini menjadikan pembuatan bioetanol dari biomassa minyak kelapa sawit sangat menjanjikan.

Tabel 2. Produksi minyak kelapa sawit dunia tahun 2023

Negara	Produksi (ton)	Persentasi produksi dunia (%)
Indonesia	47000	59
Malaysia	19000	24
Thailand	3450	4
Colombia	1900	2
Nigeria	1500	2
Guatemala	920	1
Lainnya	304790	8

Sumber: (US Department of Agriculture, 2023)

Tinjauan ini bertujuan untuk menyajikan secara sistematis tentang teknologi yang tersedia dan dapat diakses dalam pemanfaatan limbah biomassa kelapa sawit menjadi bioetanol melalui proses fermentasi ragi.

## 2. METODE PENELITIAN

Penulisan artikel dilakukan melalui studi literatur. Sumber referensi yang dipergunakan berasal dari jurnal penelitian yang sudah diterbitkan dan dapat diakses secara online pada *platform database* seperti Google Scholar, ScienceDirect, Researchgate, dan Springer, dengan kata kunci yang ditentukan. Selanjutnya, informasi yang terkumpul dianalisis berdasarkan model metode produksi dan hasil-hasil penelitian. Kriteria inklusi yang digunakan dalam penelaahan jurnal ini mencakup publikasi internasional yang mengkaji tahapan produksi bioetanol dari bahan baku biomassa kelapa sawit. Sejumlah 126 referensi digunakan sebagai acuan dalam menyusun artikel tinjauan yang berfokus pada eksplorasi produksi bioetanol dari biomassa kelapa sawit.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 3.1 Biomassa Kelapa Sawit sebagai Bahan Baku Produksi Bioetanol

Satu tandan buah sawit segar mengandung biomassa seperti tandan buah kosong, serabut kelapa sawit, inti sawit, dan residu lain berupa cangkang inti sawit (Gutiérrez et al., 2009). Cangkang inti sawit merupakan bagian yang paling sulit terurai walaupun memiliki nilai energi yang cukup, sehingga penggunaanya lebih disarankan sebagai karbon aktif (Chavalparit et al., 2006). Kemudian, pengolahan kelapa sawit juga menghasilkan limbah selama proses ekstraksi minyak, yaitu bungkil inti sawit dengan kandungan bahan lignoselulosa cukup tinggi (Gutiérrez et al., 2009). Masing-masing bagian tersebut mengandung bahan-bahan untuk produksi bioetanol seperti selulosa, hemiselulosa, lignin, dan lainnya, yang terangkum pada Tabel 3.

Lignoselulosa merupakan bagian dari dinding sel tanaman berupa senyawa rumit yang terdiri dari selulosa yaitu homopolimer yang terdiri dari sub unit D-glukosa yang dihubungkan oleh ikatan  $\beta$ -1,4 glikosidik. Kemudian terdapat hemiselulosa berupa karbohidrat kompleks, cabang-cabangnya terbuat dari sebagian besar xilan dari residu xilosa yang banyak terkandung dalam tanaman. Terakhir adalah lignin yang mengandung unit *fenil propana*, *p-coumaryl*, *coniferyl*, dan *sinapyl alcohol* (F. B. Ahmad et al., 2019; Hendriks & Zeeman, 2009; Sarkar et al., 2012). Selulosa dan hemiselulosa merupakan dua polisakarida utama yang terikat dengan lignin sehingga membentuk jaringan lignoselulosa yang kompleks.

Biomassa limbah nabati dibedakan menjadi dua jenis, yaitu biomassa basah dan biomassa kering. Limbah minyak sawit masuk ke dalam klasifikasi biomassa kering bersama dengan jerami padi, sekam padi, dan sejenisnya. Sementara itu limbah pertanian, hutan, dan limbah dapur tergolong biomassa basah yang mana proses sampai menjadi bioetanolnya lebih mudah dibanding yang kering, karena hanya diperas, lalu getahnya dikumpulkan dan dipanaskan sampai mendapatkan konsentrasi yang tepat. Berbeda dengan biomassa kering yang harus melewati tahap *pretreatment* terlebih dahulu (Hossain et al., 2017).

Tabel 3. Komposisi kimia biomassa kelapa sawit

<b>Biomassa</b>	<b>Oil Palm Biomass Chemical Composition (wt.%)</b>			
	<b>Tandan Buah Kosong</b>	<b>Pelepah</b>	<b>Serabut</b>	<b>Batang</b>
Sumber	(Chew & Bhatia, 2008; Law et al., 2007)	(Chew & Bhatia, 2008; Khalil et al., 2006)	(Chew & Bhatia, 2008; Kelly-Yong et al., 2007)	(T. Y. Ahmad et al., 2010)
Selulosa	62.9	49.8	33.9	39.9
Hemiselulosa	28	33.61	20.8	21.2
Lignin	36.6	20.5	28.5	22.6
Lainnya	3.7	4.6	0.8	11.3

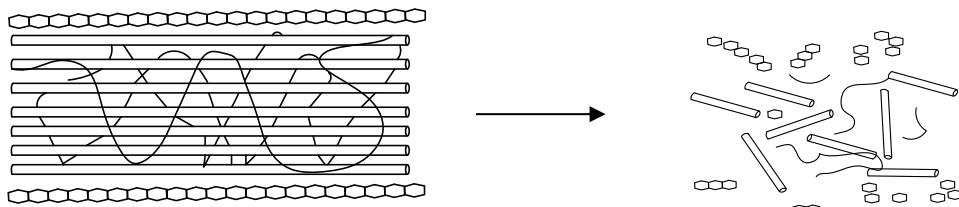
Produksi bioetanol dari biomassa kelapa sawit akan melewati tiga tahapan yaitu pertama reduksi lignin dan hemiselulosa pada tahap *pretreatment*, reduksi ini diperlukan untuk meningkatkan luas permukaan senyawa tersebut sehingga dengan mudah diakses oleh enzim selulotik (Chandra et al., n.d.; Richana et al., 2015; Wu et al., 2022). Tahap selanjutnya yaitu proses hidrolisis dengan tujuan untuk menghasilkan gula yang dapat difermentasi seperti glukosa, xilosa, arabinosa, galaktosa, dan manosa. Hasil dari tahap hidrolisis ini dibutuhkan untuk masuk ke proses terakhir yaitu fermentasi gula pereduksi (Sarkar et al., 2012).

### 3.2 Perlakuan Awal Biomassa Kelapa Sawit

Perlakuan awal limbah biomassa kelapa sawit bertujuan untuk mengubah biomassa menjadi gula yang dapat difermentasi. Perlakuan ini memungkinkan hidrolisis enzimatik untuk memecah struktur lignin dan hemiselulosa, serta selulosanya (Hassan et al., 2018) sehingga merubah komposisi kimia, struktur makro, dan struktur mikro dari lignoselulosa. Proses ini dilakukan seefektif mungkin dengan biaya yang rendah, dengan tidak ada atau rendahnya inhibitor yang dihasilkan dan juga persentase selulosanya signifikan (Han et al., 2011; Tayyab et al., 2018).

Pada tahap ini lignin, hemiselulosa, dan selulosa akan terpisah sehingga membuatnya mudah diakses untuk proses kimia dan biologi lebih lanjut (Demirbaş, 2005). Lignin dan hemiselulosa akan dipisahkan karena memiliki dampak negatif produksi bioetanol (Heap et al., 2014; Moilanen et al., 2011). Lignin dapat mengikat selulase secara non-spesifik sehingga berkurangnya efektivitas katalitik enzim (Mansfield et al., 1999), mengurangi luas permukaan selulosa (Moilanen et al., 2011), dan mengganggu proses fermentasi karena produk turunannya dapat menjadi racun (Heap et al., 2014; Moilanen et al., 2011). Sementara itu, penghilangan hemiselulosa dapat meningkatkan luas permukaan sehingga mudah diakses saat hidrolisis enzimatik (Boussaid et al., 2000; Heap et al., 2014). Namun, proses ini sangatlah sulit dilakukan sehingga tahap ini menjadi tahap kritis pembuatan bioetanol untuk mendapatkan yield yang tinggi (Rezania et al., 2020).

Pemisahan komponen-komponen tersebut umumnya dapat dilakukan menggunakan beberapa metode, yaitu fisik, kimia, biologis, dan kombinasi metode (Ahmad Rizal et al., 2018; Kucharska et al., 2018; Kumar et al., 2009; Onumaegbu et al., 2018; Rusanowska et al., 2018) caranya dengan mengubah ukuran, struktur, dan komposisi kimia dari biomassa minyak sawit. Mekanisme, keuntungan, dan kerugian masing-masing metode disajikan pada Tabel 4.



Gambar 1. Kondisi lignoselulosa sebelum dan setelah pretreatment

#### 1. *Pretreatment* fisik

Jenis praperlakuan ini biasa disebut dengan *mechanical pretreatment* (Ahmad Rizal et al., 2018), merupakan proses yang melibatkan pengurangan ukuran bahan lignoselulosa. Perlakuan ini masih menjadi salah satu *pretreatment* utama yang digunakan dalam konversi biomassa menjadi *biofuel* (Che Kamarludin et al., 2014). Praperlakuan ini dapat dibagi menjadi kategori:

### a. Pengurangan ukuran secara mekanis

Mekanisme *pretreatment* ini dilakukan melalui kombinasi berbagai teknik seperti *chipping*, *grinding*, *milling* dan *crushing* (Kumar et al., 2009). Proses ini dapat menghancurkan dinding sel sehingga selulosa lebih mudah diakses karena luas permukaan spesifiknya meningkat dan terjadi penurunan kristalinitas yang secara keseluruhan meningkatkan efisiensi proses akhir (Arce & Kratky, 2022). Meskipun metode *pretreatment* ini membuat proses produksi *biofuel* lebih cepat dan terjadi peningkatan perolehan hidrolisis dari limbah biomassa lignoselulosa (Arce & Kratky, 2022; Sinha & Pandey, 2011), namun konsumsi energi proses ini lebih mahal dibanding nilai produk akhir (Ahmad Rizal et al., 2018; Kumar et al., 2009; Rusanowska et al., 2018; Teramoto et al., 2008). Teknik pengurangan ukuran secara mekanis dilakukan sebelum proses hidrolisis maupun proses kimia lainnya (Mais et al., 2002; Muller et al., 2007; Tassinari & Macy, 1977; Tu & Hallett, 2019; Zhang & Zhang, 1999) yang mana ketepatan ukuran partikel dapat mempengaruhi proses tersebut, jika partikel terlalu halus maka akan berdampak negatif seperti terbentuknya gumpalan selama proses hidrolisis sehingga membuat konsumsi energi lebih meningkat (Sarkar et al., 2012).

### b. Sonifikasi

Kategori perlakuan fisik selanjutnya adalah sonifikasi, yaitu praperlakuan fisik melalui gaya geser, perpindahan massa, dan erosi permukaan lignoselulosa sampai terputusnya ikatan hidrogen internal biopolimer yang menyebabkan terjadinya pembengkakan, pelonggaran serta pecahnya serat lignoselulosa (Kucharska et al., 2018). Selain biaya produksinya sangat mahal, metode *pretreatment* ini terbukti berhasil meningkatkan proses fermentasi akibat disintegrasi struktur lignoselulosanya (Bussemaker et al., 2013; Dhandayuthapani et al., 2021) dan gula pereduksi yang dihasilkan juga semakin banyak (Lee & Ng, 2019).

### c. Gelombang mikro

*Pretreatment* dengan memanfaatkan gelombang energi ini pada prinsipnya adalah mengubah gelombang mikro menjadi frekuensi yang sesuai, dimana energi dapat diserap oleh bahan lignoselulosa (Hoang et al., 2021) secara langsung yang membuat pemanasannya bersifat volumetrik dan cepat (Hu & Wen, 2008). Penyerapan ini menimbulkan getaran sehingga bahan yang terpapar gelombang mikro dapat dipanaskan (Hoang et al., 2021; Surati et al., 2012). Efek pemanasan tersebut menyebabkan terjadinya pemutusan di antara partikel-partikel bahan dan meningkatkan pemecahan struktur dari lignoselulosanya (Hu & Wen, 2008; Sarkar et al., 2012). Selain itu, medan elektromagnetik yang digunakan dalam gelombang mikro dapat menimbulkan efek non-termal yang juga mempercepat penghancuran struktur kristal (Hu & Wen, 2008).

## 2. *Pretreatment* kimia

Praperlakuan kimia dapat dibagi menjadi beberapa kategori, diantaranya yaitu *pretreatment* menggunakan asam, basa, dan cairan ionik. Metode ini mudah dioperasikan dan memiliki hasil konversi yang baik dalam rentang waktu yang singkat (Sarkar et al., 2012).

### a. Asam

Dalam proses biokonversi, penerapan praperlakuan asam menjadi paling efisien dalam mendegradasi lapisan hemiselulosa dan lignin sehingga selulosa lebih mudah diakses serta meningkatkan produksi gula monomer (Deb et al., 2023; Kumar et al., 2009). Namun, penggunaan asam kurang diminati pada proses selanjutnya karena terdapat risiko terbentuknya inhibitor yang menghambat kinerja enzim selama hidrolisis (Rattanaporn et al., 2018). Selain itu, kerugian utamanya adanya masalah korosi yang menyebabkan kerusakan infrastruktur, jaringan pipa, dan lingkungan jika menggunakan asam kuat (Ahmad Rizal et al., 2018) sehingga beberapa penelitian melakukan percobaan menggunakan asam organik seperti asam asetat (Zhao et al., 2014), asam oksalat (Scordia et al., 2011), asam maleat (Lu & Mosier, 2007), dan asam fumarat (Kootstra et al., 2009) yang terbukti dapat menghasilkan lebih sedikit inhibitor dan meningkatkan hasil gula untuk proses fermentasi (Kootstra et al., 2009; Lu & Mosier, 2007; Rattanaporn et al., 2018; Scordia et al., 2011; Zhao et al., 2014).

### b. Basa

*Pretreatment* kimia lainnya menggunakan basa seperti NaOH, KOH, Ca(OH)<sub>2</sub>, hidrazin, dan amonia anhidrat (Agbor et al., 2011; Alvira et al., 2010) untuk proses solvasi partikel lignoselulosa dan dekomposisi hidrolitik yang disebut saponifikasi (Kucharska et al., 2018) atau melalui pemecahan ikatan ester antara lignin dan hemiselulosa (Costa et al., 2013) yang menyebabkan pembengkakan biomassa dan pemutusan lignin juga hemiselulosa (Agbor et al., 2011; Ahmad Rizal et al., 2018; Costa et al., 2013; Kucharska et al., 2018; Sarkar et al., 2012) sehingga indeks kristalinitas lignoselulosa menurun dan area spesifik dari biomassa meningkat (Ahmad Rizal et al., 2018). Metode ini menghasilkan degradasi gula yang lebih sedikit dibanding *pretreatment* asam dan kurang efektif untuk bahan yang mengandung lignin tinggi (Alvira et al., 2010). Pada biomassa kelapa sawit sendiri, metode ini mampu menurunkan kandungan lignin dari tanda kosong kelapa sawit sebesar 47.31%, dan pelepasan sawit sebesar 37.81% menggunakan NaOH dengan konsentrasi

optimumnya yaitu 10% dan 8% (Barlanti et al., 2015) dengan gula yang dihasilkan di kisaran 32 g/L untuk konsentrasi 2% (Ibrahim et al., 2015).

### c. Cairan ionik

*Ionic liquid pretreatment* menjadi suatu metode yang sangat menjanjikan untuk praperlakuan biomassa lignoselulosa (Azmi et al., 2018; Sen et al., 2012; Su et al., 2012; Widjaja et al., 2015) karena memiliki toksitas rendah, stabilitas termal yang baik, tidak mudah menguap, dan dapat didaur ulang (Su et al., 2012). Keunggulan lainnya yaitu hasil gula monomernya tinggi, waktu pretreatment yang singkat, dan inhibitor selulasenya rendah (Tantayotai et al., 2016). Mekanisme pemutusan selulosanya melalui pengikatan silang antara lignoselulosa dan ikatan hidrogen hingga menghasilkan peningkatan pengolahan biomassa (Kucharska et al., 2018). Daur ulang cairan ionik merupakan keunggulan yang menarik, namun proses pemulihan membutuhkan langkah dan biaya tambahan untuk menghilangkan inhibitor yang dihasilkan (Domínguez de María, 2014), karena umumnya inhibitor selulase tidak aktif di cairan ionik (Li et al., 2009). proses pemulihan cairan ionik rumit untuk menghilangkannya dari selulosa yang diregenerasi, sehingga terdapat biaya tambahan (Sen et al., 2012).

## 3. Pretreatment biologis

Pemecahan kompleks lignoselulosa untuk melepaskan selulosa dapat juga dilakukan melalui *pretreatment* biologis yang dibagi menjadi dua kategori besar yaitu praperlakuan dengan bantuan mikroba dan enzimatik.

### a. Mikroba

Pada dasarnya, metode ini menggunakan bantuan jamur pengurai kayu (*wood decomposing fungi*) untuk membelah lignin, selulosa, dan hemiselulosa (Kucharska et al., 2018). Jamur tersebut akan mendegradasi lignin di dalam bahan sambil mengawetkan selulosanya (Akli et al., 2022). Jamur membantu proses pembusukan kayu yang dibagi menjadi tiga kelompok: 1) *brown root* (pembusukan jamur coklat) dengan menguraikan selulosa dan pentosa, 2) *white root* (pembusukan jamur putih) yaitu terjadinya penguraian lignin, dan 3) *soft rot* (pembusukan jamur lunak) yang dapat mengurai hemiselulosa dan lignin (Kucharska et al., 2018). Ketiga jenis jamur ini memiliki tujuan yang sama yaitu untuk memodifikasi komposisi lignoselulosa (Wan & Li, 2012). Pembusukan jamur putih memang lebih banyak digunakan sebagai praperlakuan biologis karena secara efektif dapat mengurai lignin (Potumarthi et al., 2013) secara lebih baik, karena dapat mendegradasi semua komponen dinding kayunya (Tsegaye et al., 2019). Aplikasi pembusukan mikroba ini dianggap ramah lingkungan namun berlangsung cukup lama (Highley & Dashek, 2020; Kumar et al., 2009).

### b. Enzim

Praperlakuan menggunakan enzim tergolong mahal terlebih jika digunakan dalam skala industri (Ometto et al., 2014), namun karena prosesnya yang singkat, rendahnya kebutuhan nutrisi untuk reaksi enzimatik, dan sebagian besar enzim tidak terpengaruh oleh adanya inhibitor (Hosseini Koupaei et al., 2019; Zheng et al., 2014) menjadikan metode ini semakin diminati semakin harinya. Enzim yang umum digunakan dalam praperlakuan ini adalah selulase (endo- $\beta$ -1,4,-glukanase, eksoglukanase,  $\beta$ -glukosidase) dan hemiselulase (xilanase, mananase) (Zheng et al., 2014).

## 4. Pretreatment fisika-kimia

Pretreatment dengan melibatkan interaksi kimia dan fisik dalam proses pemecahan kompleks lignin ini disebut dengan *physico-chemical pretreatment*. Terdapat beberapa metode yang umum, di antaranya yaitu *ammonium fiber explosion* (AFEX) dan *steam explosion*.

### a. Ledakan uap

Proses menggunakan ledakan uap ini merupakan salah satu metode yang paling banyak dipelajari dan dikembangkan pada konversi fisiko-kimia (Kim, 2018) untuk biokonversi material kayu lunak (Pan et al., 2005). Metode ini menggunakan perbedaan stabilitas termal dan tekanan (Kucharska et al., 2018), karena degradasi struktur lignoselulosa terjadi di kondisi operasi 160-270 °C dan 20-50 bar, sehingga hemiselulosa dan sebagian lignin dapat dihilangkan dengan lebih mudah (Kim, 2018; Kumari & Singh, 2018; Pan et al., 2005; Sun et al., 2014). Proses ini dilakukan di dalam air untuk menghindari dampak negatif terhadap lingkungan (Brodeur et al., 2011), dan pada suhu tinggi akan terjadi autoionisasi air sehingga menghasilkan ion hidronium serta menurunkan pH, dimana larutan yang terbentuk akan bertindak sebagai asam (Ahmad Rizal et al., 2018). Asam tersebut dapat menghidrolisis gugus asetyl dalam hemiselulosa sampai membentuk asam asetat. Selanjutnya asam asetat dapat mengkatalisis proses hidrolisis sehingga dapat dikatakan sebagai autohidrolisis (Ahmad Rizal et al., 2018; Kim, 2018). Praperlakuan ini ramah lingkungan karena tidak menimbulkan polusi dan tidak membutuhkan bahan kimia. Selain itu kebutuhan energi yang rendah dan biaya daur ulang limbah yang ekonomis (Kumari & Singh, 2018) menjadikan metode diminati. Namun, proses ledakan uap tidak menghasilkan delignifikasi bersih karena kandungan lignin setelah ledakan dapat meningkat akibat hilangnya hemiselulosa (Pan et al., 2005). Selain itu hasil sakarifikasi dan pelarutan yang dihasilkan juga rendah,

serta terdapat risiko terbentuknya inhibitor yang dapat menghilangkan karbohidrat pada temperatur tinggi (Ahmad Rizal et al., 2018; Kumari & Singh, 2018).

### b. Ammonia fiber expansion

*Ammonia Fiber Expansion (AFEX) pretreatment*, merupakan salah satu metode perlakuan pada suhu dan tekanan yang tinggi selama jangka waktu tertentu (Blümmel et al., 2018) kemudian tekanannya akan diturunkan secara tiba-tiba (Brodeur et al., 2011; Chundawat et al., 2020; Gollapalli et al., 2002; Kucharska et al., 2018; Kumar et al., 2009; Sarkar et al., 2012; Sasmal & Mohanty, 2018). Biomassa akan dikontakkan langsung dengan amonia cair sebagai reaktan utama yang mudah menguap (Chundawat et al., 2020). Metode ini sangat mirip dengan praperlakuan ledakan uap, bedanya, AFEX dilakukan pada proses kering tanpa air yang tidak menyebabkan perubahan signifikan pada komposisi biomassa (Chundawat et al., 2020) karena hanya sebagian kecil bahan padat yang dilarutkan, atau tidak ada hemiselulosa dan lignin yang dihilangkan (Gollapalli et al., 2002; Kumar et al., 2009; Sasmal & Mohanty, 2018). Hemiselulosa akan terdegradasi menjadi gula oligomer dan mengalami deasetilasi (Blümmel et al., 2018) dan berubahnya struktur lignin (Moilanen et al., 2011) kemungkinan menjadi alasan mengapa keduanya tidak larut saat proses *pretreatment* (Kumar et al., 2009). Pada intinya, sistem ini tidak secara langsung membebaskan gula, namun akan menyerang hemiselulosa dan selulosa sampai terurai menjadi gula (Sarkar et al., 2012). Akibat penurunan tekanan yang tiba-tiba, amonia mengalami penguapan yang cepat dan sistem menjadi dingin (Kucharska et al., 2018), dengan kata lain bahwa amonia yang digunakan dalam praperlakuan dapat digunakan kembali untuk proses pretreatment lain (Blümmel et al., 2018) sehingga konsumsi bersih amonia menjadi rendah (Sasmal & Mohanty, 2018). Selain itu, hidrolisat yang diperoleh tidak mengandung inhibitor yang mengganggu tahap fermentasi (Dheeran & Reddy, 2018). Metode AFEX perlu perhatian lebih terutama asap amonia yang beracun dapat menyebabkan masalah keselamatan dan lingkungan (Kucharska et al., 2018). Kekurangan lain praperlakuan ini yaitu kurang efisien untuk biomassa yang mengandung kandungan lignin tinggi seperti kayu (Kumar et al., 2009).

Tabel 4. Perbedaan berbagai metode pretreatment biomassa lignoselulosa

Metode	Kategori	Mekanisme	Keuntungan	Kerugian	Sumber
Fisik	Pengurangan ukuran mekanis	Penghancuran substrat lignoselulosa menjadi bagian-bagian yang lebih kecil	Mempercepat proses. Mudah meningkatkan luas permukaan	Kebutuhan energi yang tinggi menyebabkan treatment ini kurang ekonomis	(Kumar et al., 2009; Mubarak et al., 2016; Rusanowska et al., 2018)
	Sonication	Pemisahan ikatan hidrogen dalam struktur lignoselulosa	Prosesnya cepat Mudah meningkatkan luas permukaan	Biaya produksi mahal	(Mishra et al., 2022; Muller et al., 2007; Tassinari & Macy, 1977; Zhang & Zhang, 1999)
	Microwave	Pengurangan struktur kristal selulosa	Prosesnya cepat Mudah meningkatkan luas permukaan	Biaya produksi mahal	(Hoang et al., 2021; Mishra et al., 2022)
Kimia	Asam	Penguraian hemiselulosa dan pembubaran lignin	Efisien untuk degradasi lapisan hemiselulosa dan lignin membuat selulosa lebih mudah diakses Mempercepat proses	Kurang ekonomis Korosif	(Deb et al., 2023; Kumar et al., 2009; Tantayotai et al., 2016)
	Basa	Saponifikasi lignoselulosa	Proses cepat Selektif menyerang lignin	Suhu tinggi Kurang efektif untuk biomassa dengan kandungan lignin tinggi	(Agbor et al., 2011; Costa et al., 2013)
	Cairan ionik	Pemisahan selulosa dari lignoselulosa	Murah, non-toxic, dan dapat didaur ulang	Tidak efisien jika di daur ulang	(Azmi et al., 2018; Sen et al., 2012)
Biologis	Mikroba	Penguraian hemiselulosa, lignin, atau hemiselulosa dan lignin	Efektif untuk degradasi lignin Ramah lingkungan dan kondisi operasinya ringan	Prosesnya lambat Beberapa kandungan lignoselulosa dikonsumsi oleh bakteri	(Akli et al., 2022; Homma et al., 2007; Liu et al., 2011; Stadler et al., 2008; Tsegaye et al., 2019)

	Enzim	Penguraian hemiselulosa dan selulosa	Efektif mendegrasasi lignin tanpa mempengaruhi kandungannya Ramah lingkungan Dapat dilakukan dalam kondisi tidak steril	Harga enzim mahal	(Ahmad Rizal et al., 2018; Kucharska et al., 2018)
Fisik-kimia	Ledakan uap	Pemutusan ikatan hemiselulosa dan lignin	Energi rendah Ramah lingkungan	Proses pemutusan lignin tidak menyeluruh Terdapat risiko pengendapan lignin yang larut Risiko terbentuknya inhibitor pada temperatur tinggi	(Mosier et al., 2005; Siramon et al., 2018)
	Ammonia fiber expansion	Penghilangan lignin dan Sebagian hemiselulosa	Amonia dapat didaur ulang Inhibitor yang dihasilkan rendah	Prosesnya berbahaya Kurang ekonomis	(Ahmad Rizal et al., 2018; Kucharska et al., 2018), (Chundawat et al., 2020)

### 3.3 Hidrolisis

Tahap selanjutnya adalah hidrolisis lignoselulosa, yaitu proses pemecahan senyawa karbohidrat kompleks lignoselulosa menjadi komponen yang lebih sederhana seperti gula monosakarida (Sarkar et al., 2012). Prosesnya dapat dilakukan dengan dua metode yaitu hidrolisis asam atau dengan bantuan enzim.

#### 1. Hidrolisis asam

Lignoselulosa dapat dihidrolisis secara kimia dengan menambahkan asam, baik itu menggunakan asam pekat maupun asam encer (Brethauer & Wyman, 2010). Proses hidrolisis asam cenderung lebih cepat karena asam bertindak sebagai katalis yang kuat (Zhou et al., 2021). Semakin tinggi selulosa dalam bahan, maka semakin rendah hasil hidrolisisnya karena terjadi degradasi gula hemiselulosa. Oleh karena itu, hidrolisis asam akan dilakukan dalam dua tahap. Pertama, kondisi relatif ringan yaitu pada tekanan atmosfer dan suhu di bawah 100 °C (Heinonen et al., 2012; Saxena et al., 2009), pada tahap ini lignoselulosa akan diberikan perlakuan awal untuk mengganggu struktur selulosa dan melarutkan serat. Kemudian dilanjut dengan tahap kedua dengan mengencerkan asam untuk menghidrolisis ikatan glikosidik untuk pembentukan monosakarida (Brethauer & Wyman, 2010), (Zhou et al., 2021).

#### 2. Hidrolisis enzim

Penggunaan enzim untuk hidrolisis lignoselulosa menjadi gula monomer (Van Dyk & Pletschke, 2012) seperti campuran glukosa, selobiosa, dan xilosa, serta sejumlah kecil selodekstrin (Ghose & Bisaria, 1979), lebih diminati karena prosesnya membutuhkan lebih sedikit energi, kondisi lingkungan yang ringan, ramah lingkungan, hasil produk lebih selektif, dan lebih sedikit menghasilkan produk sampingan yang tidak diinginkan (Ferreira et al., 2009). Pada proses *pretreatment*, lignin telah dihilangkan, hemiselulosa dilarutkan, dan terbentuknya enzim selulase, bertujuan untuk mempercepat laju hidrolisis (Vasić et al., 2021). Faktor yang mempengaruhi laju hidrolisis enzim yaitu kristalinitas selulosa, susunan molekul, kandungan bahan kimia seperti lignin, dan struktur kaplier serat selulosa. Selain itu, selulosa tidak larut dalam air sehingga derajat pembengkakan air juga menjadi faktor kecepatan laju reaksi (Vasić et al., 2021), (Fan et al., 1980). Enzim selulase dan hemiselulase yang dihasilkan akan memecah ikatan-ikatan yang ada dalam selulosa dan hemiselulosa menjadi glukan untuk selulosa, dan mannan, xilan, galaktan, glukan dan arabinan dari hemiselulosa (Sarkar et al., 2012). Mekanismenya, endoglukanase secara acak menyerang ikatan glukosidik internal dalam rantai glukan yang tidak terputus, selanjutnya ujung rantai non reduksi yang baru dibuat menjadi substrat untuk eksoglukanase memotong selobiosa dari rantai glukan dan melepaskannya ke dalam selulase (Hosseini & Shah, 2011) dan diselesaikan oleh β-glukosidase yang memecah selobiosa menjadi monomer glukosa (Gan et al., 2003; Wyman, 1999; Wyman et al., 1992). Konsep ini digambarkan sebagai berikut:



dimana, C1 merupakan komponen yang mengaktifkan rantai selulosa, dan Cx adalah enzim yang dapat melakukan depolimerisasi (Gan et al., 2003).

Beberapa penelitian telah melaporkan mengenai konversi biomassa kelapa sawit khususnya selulosa menjadi gula melalui hidrolisis enzimatik, (Hamzah et al., 2011). Semakin tinggi pemuatan substrat tandan kosong kelapa sawit maka akan meningkatkan kadar glukosa, namun lebih lanjut akan menghambat proses hidrolisis. Konsentrasi substrat, enzim, dan suhu reaksi merupakan faktor penting yang mempengaruhi efektivitas reaksi hidrolisis (Vasić et al., 2021), (Fan et al., 1980), (Barlanti et al., 2016). Konsentrasi substrat dan enzim optimum dalam konversi biomassa tandan kosong kelapa sawit masing-masing 20% dan 3,852% menggunakan  $\beta$ -1,4 glukosidase di suhu 50 °C. (Barlanti et al., 2016). Selain itu, hidrolisis pelepasan kelapa sawit yang mengandung 63.7% selulosa, 21.9% hemiselulosa, dan 14.4% lignin telah dilakukan menggunakan 40 U/g selulase dan 10 U/g hemiselulase di suhu 50 °C selama 150 menit. Hasilnya sebanyak 2421  $\mu\text{g g}^{-1}$  glukosa dan 2418  $\mu\text{g g}^{-1}$  xilosida terdeteksi (Farah Amani et al., 2018).

### 3.4 Fermentasi

Gula yang dilepaskan dari struktur selulosa dan hemiselulosa, dapat diubah oleh mikroorganisme menjadi berbagai produk industri seperti etanol, asam organik, gliserol, butanol, dan lainnya (Mussatto & Teixeira, 2010). Dalam prosesnya, tahap ini dapat dilakukan dengan beberapa metode tergantung pada jenis bahan baku, kondisi ekonomi, teknologi yang tersedia dan tujuan produksi. Metode yang pertama adalah SHF atau *separate hydrolysis and fermentation*, dimana hidrolisis dan fermentasi dilakukan secara berurutan atau terpisah, dan kedua yaitu SSF atau *simultaneous saccharification and fermentation* dengan menggabungkan tahap sarkarifikasi atau hidrolisis dan fermentasi (Sarkar et al., 2012), (Öhgren et al., 2007). Ketiga yaitu SSCF atau *saccharification and co-fermentation*, serta keempat yaitu metode terbaru yang penerapannya masih menjadi area penelitian aktif yaitu CBP atau *consolidated bioprocess* berupa penggabungan proses produksi enzim, sarkarifikasi dan fermentasi dalam satu langkah proses (Hasunuma & Kondo, 2012). Ketiga proses terakhir merupakan suatu sistem produksi bioetanol yang paling potensial karena prosesnya lebih sederhana dengan menggabungkan beberapa proses menjadi satu langkah, sehingga biaya produksi lebih rendah dan mengurangi risiko kontaminasi (Wyman, 1999). Meskipun begitu, kelemahan dari metode SSF, SSCF, dan CBP adalah sulit menentukan kondisi optimum proses (Park et al., 2013). Suhu optimum sarkarifikasi dengan enzim selulolitik ada di 50 °C, sedangkan sebagian besar mikroba fermentasi, memiliki suhu optimal antara 28 – 37 °C (Alfani et al., 2000), dan untuk ragi, toleransi panas yang sudah diteliti dalam produksi etanol ada di suhu 43 °C yaitu *Fabospora fragilis* (Hari Krishna et al., 2001; Szczodrak & Targoński, 1988). Hasil produk etanol dari proses CBP tidak begitu bagus dan membutuhkan waktu 3-12 hari, meskipun prosesnya tidak memerlukan enzim khusus dengan biaya produksi yang jauh lebih rendah dibanding metode lainnya (Hamelink et al., 2005; Lynd et al., 2005). Penggunaan *Saccharomyces cerevisiae* telah dilakukan pada metode SHF untuk daun kelapa sawit, selama 60 menit di suhu 30 °C menghasilkan bioetanol tertinggi 13.8 g/L pada koefisien hasil etanol 0.12 g/g (Farah Amani et al., 2018). Sementara untuk metode SSF dengan jenis ragi yang sama, konsentrasi etanol daun kelapa sawit menurun seiring lamanya waktu fermentasi alkohol, dan menghasilkan etanol tertinggi sekitar 23.1 g/L (Sheh Hong et al., 2012). Perbandingan lain menggunakan *Klyveromyces marxinus* pada tandan kosong kelapa sawit, menunjukkan bahwa proses SHF lebih baik dibanding SSF, sebanyak 28.1 g/L dan 25.8 g/L maksimum bioetanol diperoleh masing-masing pada metode SHF dan SSF (Sukhang et al., 2020).

## 4. SIMPULAN DAN SARAN

### 4.1 Simpulan

Berdasarkan kajian yang telah dipaparkan oleh penulis dengan mengacu pada hasil literatur review, dapat disimpulkan bahwa Indonesia memiliki potensi yang sangat besar dalam pembuatan bioetanol khususnya yang berbahan dasar biomassa minyak kelapa sawit. Proses pembuatan bioetanolnya terbagi menjadi tiga tahap utama yaitu perlakuan awal, dilanjutkan dengan proses hidrolisis dan diselesaikan pada tahap fermentasi menggunakan ragi.

### 4.2 Saran

Perlu dilakukan analisis yang mendalam secara langsung terkait kandungan biomassa kelapa sawit di Indonesia dan bagaimana proses yang paling sesuai dalam pembuatan bioetanol berbahan baku biomassa kelapa sawit.

## 5. DAFTAR PUSTAKA

- Agbor, V. B., Cicek, N., Sparling, R., Berlin, A., & Levin, D. B. (2011). Biomass pretreatment: Fundamentals toward application. *Biotechnology Advances*, 29(6), 675–685. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.05.005>
- Ahmad, F. B., Zhang, Z., Doherty, W. O. S., & O'Hara, I. M. (2019). The prospect of microbial oil production and applications from oil palm biomass. *Biochemical Engineering Journal*, 143, 9–23. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2018.12.003>
- Ahmad Rizal, N. F. A., Ibrahim, M. F., Zakaria, M. R., Abd-Aziz, S., Yee, P. L., & Hassan, M. A. (2018). Pre-treatment

- of oil palm biomass for fermentable sugars production. *Molecules*, 23(6), 1–14. <https://doi.org/10.3390/molecules23061381>
- Ahmad, T. Y., Hirajima, T., Kumagai, S., & Sasaki, K. (2010). Production of solid biofuel from agricultural wastes of the palm oil industry by hydrothermal treatment. *Waste and Biomass Valorization*, 1(4), 395–405. <https://doi.org/10.1007/s12649-010-9045-3>
- Akli, K., Maryam, M., Senjawati, M. I., & Ilyas, R. A. (2022). Eco-Friendly Bioprocessing Oil Palm Empty Fruit Bunch (Opefb) Fibers Into Nanocrystalline Cellulose (Ncc) Using White-Rot Fungi (*Tremetes Versicolor*) and Cellulase Enzyme (*Trichoderma Reesei*). *Journal of Fibers and Polymer Composites*, 1(2), 148–163. <https://doi.org/10.55043/jfpc.v1i2.55>
- Alfani, F., Gallifuoco, A., Saporosi, A., Spera, A., & Cantarella, M. (2000). Comparison of SHF and SSF processes for the bioconversion of steam-exploded wheat straw. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 25(4), 184–192. <https://doi.org/10.1038/sj.jim.7000054>
- Alvira, P., Tomás-Pejó, E., Ballesteros, M., & Negro, M. J. (2010). Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review. *Bioresource Technology*, 101(13), 4851–4861. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.11.093>
- Antar, M., Lyu, D., Nazari, M., Shah, A., Zhou, X., & Smith, D. L. (2021). Biomass for a sustainable bioeconomy: An overview of world biomass production and utilization. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 139(April 2020), 110691. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.110691>
- Arce, C., & Kratky, L. (2022). Mechanical pretreatment of lignocellulosic biomass toward enzymatic/fermentative valorization. *IScience*, 25(7), 104610. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.104610>
- Azmi, I. S., Azizan, A., & Mohd Salleh, R. (2018). Pretreatment of Oil Palm Frond (OPF) with Ionic Liquid. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 358(1). <https://doi.org/10.1088/1757-899X/358/1/012071>
- Barlanti, V., Dahnum, D., Hendarsyah, H., & Abimanyu, H. (2015). Effect of Alkaline Pretreatment on Properties of Lignocellulosic Oil Palm Waste. *Procedia Chemistry*, 16, 195–201. <https://doi.org/10.1016/j.proche.2015.12.036>
- Barlanti, V., Dahnum, D., Muryanto, ., Triwahyuni, E., Aristiawan, Y., & Sudiyani, Y. (2016). Enzymatic hydrolysis of oil palm empty fruit bunch to produce reducing sugar and its kinetic. *E-Journal Menara Perkebunan*, 83(1), 852. <https://doi.org/10.22302/iribb.jur.mp.v83i1.12>
- Barreto, R. A. (2018). Fossil fuels, alternative energy and economic growth. *Economic Modelling*, 75(September 2020), 196–220. <https://doi.org/10.1016/j.econmod.2018.06.019>
- Bhatia, S. K., Kim, S. H., Yoon, J. J., & Yang, Y. H. (2017). Current status and strategies for second generation biofuel production using microbial systems. *Energy Conversion and Management*, 148, 1142–1156. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2017.06.073>
- Blümmel, M., Teymouri, F., Moore, J., Nielson, C., Videto, J., Kodukula, P., Pothu, S., Devulapalli, R., & Varijakshapanicker, P. (2018). Ammonia Fiber Expansion (AFEX) as spin off technology from 2nd generation biofuel for upgrading cereal straws and stovers for livestock feed. *Animal Feed Science and Technology*, 236(December 2017), 178–186. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.12.016>
- Boussaid, A.-L., Esteghlalian, A. R., Gregg, D. J., Lee, K. H., & Saddler, J. N. (2000). Steam Pretreatment of Douglas-Fir Wood Chips. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 84–86(1–9), 693–706. <https://doi.org/10.1385/ABAB:84-86:1-9:693>
- Brethauer, S., & Wyman, C. E. (2010). Review: Continuous hydrolysis and fermentation for cellulosic ethanol production. *Bioresource Technology*, 101(13), 4862–4874. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.11.009>
- Brodeur, G., Yau, E., Badal, K., Collier, J., Ramachandran, K. B., & Ramakrishnan, S. (2011). Chemical and physicochemical pretreatment of lignocellulosic biomass: A review. *Enzyme Research*, 2011(1). <https://doi.org/10.4061/2011/787532>
- Bussemaker, M. J., Xu, F., & Zhang, D. (2013). Manipulation of ultrasonic effects on lignocellulose by varying the frequency, particle size, loading and stirring. *Bioresource Technology*, 148, 15–23. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.08.106>
- Chandra, R. P., Bura, R., Mabee, W. E., Berlin, A., Pan, X., & Saddler, J. N. (n.d.). Substrate Pretreatment: The Key to Effective Enzymatic Hydrolysis of Lignocellulosics? In *Biofuels* (pp. 67–93). Springer Berlin Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/10\\_2007\\_064](https://doi.org/10.1007/10_2007_064)
- Chavalparit, O., Rulkens, W. H., Mol, A. P. J., & Khaodhair, S. (2006). Options for Environmental Sustainability of the Crude Palm Oil Industry in Thailand Through Enhancement of Industrial Ecosystems. *Environment, Development and Sustainability*, 8(2), 271–287. <https://doi.org/10.1007/s10668-005-9018-z>
- Che Kamarludin, S. N., Jainal, M. S., Azizan, A., Safaai, N. S. M., & Daud, A. R. M. (2014). Mechanical pretreatment of lignocellulosic biomass for biofuel production. *Applied Mechanics and Materials*, 625, 838–841. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMM.625.838>
- Chew, T. L., & Bhatia, S. (2008). Catalytic processes towards the production of biofuels in a palm oil and oil palm

- biomass-based biorefinery. *Bioresource Technology*, 99(17), 7911–7922. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.03.009>
- Chundawat, S. P. S., Pal, R. K., Zhao, C., Campbell, T., Teymour, F., Videto, J., Nielson, C., Wieferich, B., Sousa, L., Dale, B. E., Balan, V., Chipkar, S., Aguado, J., Burke, E., & Ong, R. G. (2020). Ammonia fiber expansion (AFEX) pretreatment of lignocellulosic biomass. *Journal of Visualized Experiments*, 2020(158), 1–8. <https://doi.org/10.3791/57488>
- Correa, D. F., Beyer, H. L., Possingham, H. P., Thomas-Hall, S. R., & Schenk, P. M. (2017). Biodiversity impacts of bioenergy production: Microalgae vs. first generation biofuels. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 74(October 2016), 1131–1146. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.02.068>
- Costa, A. G., Pinheiro, G. C., Pinheiro, F. G. C., Dos Santos, A. B., Santaella, S. T., & Leitão, R. C. (2013). Pretreatment strategies to improve anaerobic biodegradability and methane production potential of the palm oil mesocarp fibre. *Chemical Engineering Journal*, 230, 158–165. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2013.06.070>
- Deb, N., Alam, M. Z., Rahman, T., Al-Khatib, M. F. R., Jami, M. S., & Mansor, M. F. B. (2023). Acid–Base Pretreatment and Enzymatic Hydrolysis of Palm Oil Mill Effluent in a Single Reactor System for Production of Fermentable Sugars. *International Journal of Polymer Science*, 2023, 1–15. <https://doi.org/10.1155/2023/8711491>
- Demirbaş, A. (2005). Bioethanol from cellulosic materials: A renewable motor fuel from biomass. *Energy Sources*, 27(4), 327–337. <https://doi.org/10.1080/00908310390266643>
- Dhandayuthapani, K., Sarumathi, V., Selvakumar, P., Temesgen, T., Asaithambi, P., & Sivashanmugam, P. (2021). Study on the ethanol production from hydrolysate derived by ultrasonic pretreated defatted biomass of chlorella sorokiniana NITTS3. *Chemical Data Collections*, 31, 100641. <https://doi.org/10.1016/j.cdc.2020.100641>
- Dheeran, P., & Reddy, L. (2018). *Biorefining of Lignocelluloses: An Opportunity for Sustainable Biofuel Production* (pp. 1–23). [https://doi.org/10.1007/978-3-319-67678-4\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-67678-4_1)
- Domínguez de María, P. (2014). Recent trends in (ligno)cellulose dissolution using neoteric solvents: Switchable, distillable and bio-based ionic liquids. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 89(1), 11–18. <https://doi.org/10.1002/jctb.4201>
- Fan, L. T., Lee, Y. -H., & Beardmore, D. H. (1980). Mechanism of the enzymatic hydrolysis of cellulose: Effects of major structural features of cellulose on enzymatic hydrolysis. *Biotechnology and Bioengineering*, 22(1), 177–199. <https://doi.org/10.1002/bit.260220113>
- Farah Amani, A. H., Toh, S. M., Tan, J. S., & Lee, C. K. (2018). The Efficiency of Using Oil Palm Frond Hydrolysate from Enzymatic Hydrolysis in Bioethanol Production. *Waste and Biomass Valorization*, 9(4), 539–548. <https://doi.org/10.1007/s12649-017-0005-z>
- Ferreira, S., Duarte, A. P., Ribeiro, M. H. L., Queiroz, J. A., & Domingues, F. C. (2009). Response surface optimization of enzymatic hydrolysis of Cistus ladanifer and Cytisus striatus for bioethanol production. *Biochemical Engineering Journal*, 45(3), 192–200. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2009.03.012>
- Gan, Q., Allen, S. J., & Taylor, G. (2003). Kinetic dynamics in heterogeneous enzymatic hydrolysis of cellulose: An overview, an experimental study and mathematical modelling. *Process Biochemistry*, 38(7), 1003–1018. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(02\)00220-0](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(02)00220-0)
- Ghose, T. K., & Bisaria, V. S. (1979). Studies on the mechanism of enzymatic hydrolysis of cellulosic substances. *Biotechnology and Bioengineering*, 21(1), 131–146. <https://doi.org/10.1002/bit.260210110>
- Gollapalli, L. E., Dale, B. E., & Rivers, D. M. (2002). Predicting digestibility of ammonia fiber explosion (AFEX)-treated rice straw. *Applied Biochemistry and Biotechnology - Part A Enzyme Engineering and Biotechnology*, 98–100(1), 23–35. <https://doi.org/10.1385/ABAB:98-100:1-9:23>
- Güney, T. (2019). Renewable energy, non-renewable energy and sustainable development. *International Journal of Sustainable Development and World Ecology*, 26(5), 389–397. <https://doi.org/10.1080/13504509.2019.1595214>
- Gutiérrez, L. F., Sánchez, Ó. J., & Cardona, C. A. (2009). Process integration possibilities for biodiesel production from palm oil using ethanol obtained from lignocellulosic residues of oil palm industry. *Bioresource Technology*, 100(3), 1227–1237. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.09.001>
- Hambali, E., & Rivai, M. (2017). The Potential of Palm Oil Waste Biomass in Indonesia in 2020 and 2030. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 65, 012050. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/65/1/012050>
- Hamelinck, C. N., Van Hooijdonk, G., & Faaij, A. P. C. (2005). Ethanol from lignocellulosic biomass: Techno-economic performance in short-, middle- and long-term. *Biomass and Bioenergy*, 28(4), 384–410. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2004.09.002>
- Hamzah, F., Idris, A., & Shuan, T. K. (2011). Preliminary study on enzymatic hydrolysis of treated oil palm (*Elaeis*) empty fruit bunches fibre (EFB) by using combination of cellulase and  $\beta$  1-4 glucosidase. *Biomass and Bioenergy*, 35(3), 1055–1059. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2010.11.020>
- Han, M., Kim, Y., Kim, S. W., & Choi, G.-W. (2011). High efficiency bioethanol production from OPEFB using pilot

- pretreatment reactor. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 86(12), 1527–1534. <https://doi.org/10.1002/jctb.2668>
- Hari Krishna, S., Janardhan Reddy, T., & Chowdary, G. V. (2001). Simultaneous saccharification and fermentation of lignocellulosic wastes to ethanol using a thermotolerant yeast. *Bioresource Technology*, 77(2), 193–196. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(00\)00151-6](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(00)00151-6)
- Hassan, S. S., Williams, G. A., & Jaiswal, A. K. (2018). Emerging technologies for the pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, 262(May), 310–318. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.04.099>
- Hasunuma, T., & Kondo, A. (2012). Consolidated bioprocessing and simultaneous saccharification and fermentation of lignocellulose to ethanol with thermotolerant yeast strains. *Process Biochemistry*, 47(9), 1287–1294. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2012.05.004>
- Heap, L., Green, A., Brown, D., Van Dongen, B., & Turner, N. (2014). Role of Laccase as an Enzymatic Pretreatment Method to Improve Lignocellulosic Saccharification. *Catalysis Science and Technology*, 4(8), 2251–2259. <https://doi.org/10.1039/c4cy00046c>
- Heinonen, J., Tamminen, A., Uusitalo, J., & Sainio, T. (2012). Ethanol production from wood via concentrated acid hydrolysis, chromatographic separation, and fermentation. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 87(5), 689–696. <https://doi.org/10.1002/jctb.2766>
- Hendriks, A. T. W. M., & Zeeman, G. (2009). Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, 100(1), 10–18. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.05.027>
- Highley, T. L., & Dashek, W. V. (2020). Biotechnology in the Study of Brown- and White-Rot Decay. *Forest Products Biotechnology*, 25–46. <https://doi.org/10.1201/9781482272734-4>
- Hoang, A. T., Nižetić, S., Ong, H. C., Mofijur, M., Ahmed, S. F., Ashok, B., Bui, V. T. V., & Chau, M. Q. (2021). Insight into the recent advances of microwave pretreatment technologies for the conversion of lignocellulosic biomass into sustainable biofuel. *Chemosphere*, 281(April), 130878. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130878>
- Homma, H., Shinoyama, H., Nobuta, Y., Terashima, Y., Amachi, S., & Fujii, T. (2007). Lignin-degrading activity of edible mushroom *Strobilurus ohshimae* that forms fruiting bodies on buried sugi (*Cryptomeria japonica*) twigs. *Journal of Wood Science*, 53(1), 80–84. <https://doi.org/10.1007/s10086-006-0810-7>
- Hossain, N., Haji Zaini, J., & Mahlia, T. M. I. (2017). A Review of Bioethanol Production from Plant-based Waste Biomass by Yeast Fermentation. *International Journal of Technology*, 8(1), 5. <https://doi.org/10.14716/ijtech.v8i1.3948>
- Hosseini Koupaeie, E., Dahadha, S., Bazyar Lakeh, A. A., Azizi, A., & Elbeshbishi, E. (2019). Enzymatic pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biomethane production-A review. *Journal of Environmental Management*, 233(May), 774–784. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.09.106>
- Hosseini, S. A., & Shah, N. (2011). Modelling enzymatic hydrolysis of cellulose part I: Population balance modelling of hydrolysis by endoglucanase. *Biomass and Bioenergy*, 35(9), 3841–3848. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2011.04.026>
- Hu, Z., & Wen, Z. (2008). Enhancing enzymatic digestibility of switchgrass by microwave-assisted alkali pretreatment. *Biochemical Engineering Journal*, 38(3), 369–378. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2007.08.001>
- Ibrahim, M. F., Abd-Aziz, S., Yusoff, M. E. M., Phang, L. Y., & Hassan, M. A. (2015). Simultaneous enzymatic saccharification and ABE fermentation using pretreated oil palm empty fruit bunch as substrate to produce butanol and hydrogen as biofuel. *Renewable Energy*, 77, 447–455. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2014.12.047>
- Kamm, B. (2007). Production of Platform Chemicals and Synthesis Gas from Biomass. *Angewandte Chemie International Edition*, 46(27), 5056–5058. <https://doi.org/10.1002/anie.200604514>
- Kelly-Yong, T. L., Lee, K. T., Mohamed, A. R., & Bhatia, S. (2007). Potential of hydrogen from oil palm biomass as a source of renewable energy worldwide. *Energy Policy*, 35(11), 5692–5701. <https://doi.org/10.1016/j.enpol.2007.06.017>
- Khalil, H. P. S. A., Alwani, M. S., & Omar, A. K. M. (2006). Chemical composition, anatomy, lignin distribution, and cell wall structure of Malaysian plant waste fibers. *BioResources*, 1(2), 220–232. <https://doi.org/10.15376/biores.1.2.220-232>
- Kim, D. (2018). Physico-chemical conversion of lignocellulose: Inhibitor effects and detoxification strategies: A mini review. *Molecules*, 23(2). <https://doi.org/10.3390/molecules23020309>
- Kootstra, A. M. J., Beeftink, H. H., Scott, E. L., & Sanders, J. P. M. (2009). Comparison of dilute mineral and organic acid pretreatment for enzymatic hydrolysis of wheat straw. *Biochemical Engineering Journal*, 46(2), 126–131. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2009.04.020>
- Kucharska, K., Rybarczyk, P., Hołowacz, I., Łukajtis, R., Glinka, M., & Kamiński, M. (2018). Pretreatment of lignocellulosic materials as substrates for fermentation processes. *Molecules*, 23(11), 1–32. <https://doi.org/10.3390/molecules23112937>
- Kumar, P., Barrett, D. M., Delwiche, M. J., & Stroeve, P. (2009). Methods for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass

- for Efficient Hydrolysis and Biofuel Production. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 48(8), 3713–3729. <https://doi.org/10.1021/ie801542g>
- Kumari, D., & Singh, R. (2018). Pretreatment of lignocellulosic wastes for biofuel production: A critical review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 90(March), 877–891. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.03.111>
- Law, K.-N., Wan Daud, W. R., & Ghazali, A. (2007). Morphological and chemical nature of fiber strands of oil palm empty-fruit-bunch (OPEFB). *BioResources*, 2(3), 351–362. <https://doi.org/10.15376/biores.2.4.351-362>
- Lee, K. M., & Ng, K. N. (2019). Effect of Ultrasonication in Organosolv Pretreatment for Enhancement of Fermentable Sugars Recovery from Palm Oil Empty Fruit Bunches. *Progress in Energy and Environment*, 11, 15–23.
- Li, Q., He, Y. C., Xian, M., Jun, G., Xu, X., Yang, J. M., & Li, L. Z. (2009). Improving enzymatic hydrolysis of wheat straw using ionic liquid 1-ethyl-3-methyl imidazolium diethyl phosphate pretreatment. *Bioresource Technology*, 100(14), 3570–3575. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.02.040>
- Liu, X., Fatehi, P., & Ni, Y. (2011). Adsorption of Lignocelluloses Dissolved in Prehydrolysis Liquor of Kraft-Based Dissolving Pulp Process on Oxidized Activated Carbons. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 50(20), 11706–11711. <https://doi.org/10.1021/ie201036q>
- Lu, Y., & Mosier, N. S. (2007). Biomimetic catalysis for hemicellulose hydrolysis in corn stover. *Biotechnology Progress*, 23(1), 116–123. <https://doi.org/10.1021/bp060223e>
- Lynd, L. R., Van Zyl, W. H., McBride, J. E., & Laser, M. (2005). Consolidated bioprocessing of cellulosic biomass: An update. *Current Opinion in Biotechnology*, 16(5), 577–583. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2005.08.009>
- Mais, U., Esteghlalian, A. R., Saddler, J. N., & Mansfield, S. D. (2002). Enhancing the Enzymatic Hydrolysis of Cellulosic Materials Using Simultaneous Ball Milling. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 98–100(1–9), 815–832. <https://doi.org/10.1385/ABAB:98-100:1-9:815>
- Malode, S. J., Prabhu, K. K., Mascarenhas, R. J., Shetti, N. P., & Aminabhavi, T. M. (2021). Recent advances and viability in biofuel production. *Energy Conversion and Management: X*, 10, 100070. <https://doi.org/10.1016/j.ecmx.2020.100070>
- Mansfield, S. D., Mooney, C., & Saddler, J. N. (1999). Substrate and enzyme characteristics that limit cellulose hydrolysis. *Biotechnology Progress*, 15(5), 804–816. <https://doi.org/10.1021/bp9900864>
- McMillan, J. D. (1997). Bioethanol production: Status and prospects. *Renewable Energy*, 10(2–3), 295–302. [https://doi.org/10.1016/0960-1481\(96\)00081-X](https://doi.org/10.1016/0960-1481(96)00081-X)
- Mishra, P., Wahid, Z. ab, Singh, L., Zaid, R. M., Tabassum, S., Sakinah, M., & Jiang, X. (2022). Synergistic effect of ultrasonic and microwave pretreatment on improved biohydrogen generation from palm oil mill effluent. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 12(9), 3655–3662. <https://doi.org/10.1007/s13399-021-01285-4>
- Moilanen, U., Kellock, M., Galkin, S., & Viikari, L. (2011). The laccase-catalyzed modification of lignin for enzymatic hydrolysis. *Enzyme and Microbial Technology*, 49(6–7), 492–498. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2011.09.012>
- Mosier, N. S., Hendrickson, R., Brewer, M., Ho, N., Sedlak, M., Dreshel, R., Welch, G., Dien, B. S., Aden, A., & Ladisch, M. R. (2005). Industrial scale-up of pH-controlled liquid hot water pretreatment of corn fiber for fuel ethanol production. *Applied Biochemistry and Biotechnology - Part A Enzyme Engineering and Biotechnology*, 125(2), 77–97. <https://doi.org/10.1385/abab:125:2:077>
- Mubarak, M., Shaija, A., & Suchithra, T. V. (2016). Ultrasonication: An effective pre-treatment method for extracting lipid from *Salvinia molesta* for biodiesel production. *Resource-Efficient Technologies*, 2(3), 126–132. <https://doi.org/10.1016/j.refft.2016.07.005>
- Muller, C. D., Abu-Orf, M., & Novak, J. T. (2007). Application of Mechanical Shear in an Internal-Recycle for the Enhancement of Mesophilic Anaerobic Digestion. *Water Environment Research*, 79(3), 297–304. <https://doi.org/10.2175/106143006x101935>
- Mussatto, S., & Teixeira, J. (2010). Lignocellulose as raw material in fermentation processes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 92(2), 897–907. <http://repositorium.sdum.uminho.pt/handle/1822/16762%5Cnwww.formatec.info>
- Naik, S. N., Goud, V. V., Rout, P. K., & Dalai, A. K. (2010). Production of first and second generation biofuels: A comprehensive review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(2), 578–597. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2009.10.003>
- Öhgren, K., Bura, R., Lesnicki, G., Saddler, J., & Zacchi, G. (2007). A comparison between simultaneous saccharification and fermentation and separate hydrolysis and fermentation using steam-pretreated corn stover. *Process Biochemistry*, 42(5), 834–839. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2007.02.003>
- Okolie, J. A., Nanda, S., Dalai, A. K., & Kozinski, J. A. (2021). Chemistry and Specialty Industrial Applications of Lignocellulosic Biomass. *Waste and Biomass Valorization*, 12(5), 2145–2169. <https://doi.org/10.1007/s12649-020-01123-0>
- Ometto, F., Quiroga, G., Pšenička, P., Whitton, R., Jefferson, B., & Villa, R. (2014). Impacts of microalgae pre-treatments for improved anaerobic digestion: Thermal treatment, thermal hydrolysis, ultrasound and enzymatic

- hydrolysis. *Water Research*, 65, 350–361. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.07.040>
- Onumaegbu, C., Mooney, J., Alaswad, A., & Olabi, A. G. (2018). Pre-treatment methods for production of biofuel from microalgae biomass. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 93(April), 16–26. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.04.015>
- Pan, X., Xie, D., Gilkes, N., Gregg, D. J., & Saddler, J. N. (2005). Strategies to Enhance the Enzymatic Hydrolysis of Pretreated Softwood with High Residual Lignin Content. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 124(1–3), 1069–1080. <https://doi.org/10.1385/ABAB:124:1-3:1069>
- Park, J. M., Oh, B. R., Seo, J. W., Hong, W. K., Yu, A., Sohn, J. H., & Kim, C. H. (2013). Efficient production of ethanol from empty palm fruit bunch fibers by fed-batch simultaneous saccharification and fermentation using *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 170(8), 1807–1814. <https://doi.org/10.1007/s12010-013-0314-z>
- Potumarthi, R., Baadhe, R. R., Nayak, P., & Jetty, A. (2013). Simultaneous pretreatment and saccharification of rice husk by *Phanerochete chrysosporium* for improved production of reducing sugars. *Bioresource Technology*, 128, 113–117. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.030>
- Rattanaporn, K., Tantayotai, P., Phusantisampan, T., Pornwongthong, P., & Sriariyanun, M. (2018). Organic acid pretreatment of oil palm trunk: Effect on enzymatic saccharification and ethanol production. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 41(4), 467–477. <https://doi.org/10.1007/s00449-017-1881-0>
- Rezania, S., Oryani, B., Cho, J., Talaiekhozani, A., Sabbagh, F., Hashemi, B., Rupani, P. F., & Mohammadi, A. A. (2020). Different pretreatment technologies of lignocellulosic biomass for bioethanol production: An overview. *Energy*, 199, 117457. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2020.117457>
- Richana, N., Winarti, C., Hidayat, T., & Prastowo, B. (2015). Hydrolysis of Empty Fruit Bunches of Palm Oil (*Elaeis Guineensis* Jacq.) by Chemical, Physical, and Enzymatic Methods for Bioethanol Production. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, 6(6), 422–426. <https://doi.org/10.7763/ijcea.2015.v6.522>
- Rusanowska, P., Zieliński, M., Dudek, M., & Dębowski, M. (2018). Mechanical pretreatment of lignocellulosic biomass for methane fermentation in innovative reactor with cage mixing system. *Journal of Ecological Engineering*, 19(5), 219–224. <https://doi.org/10.12911/22998993/89822>
- Sarkar, N., Ghosh, S. K., Bannerjee, S., & Aikat, K. (2012). Bioethanol production from agricultural wastes: An overview. *Renewable Energy*, 37(1), 19–27. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2011.06.045>
- Sasmal, S., & Mohanty, K. (2018). *Pretreatment of Lignocellulosic Biomass Toward Biofuel Production*. 203–221. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-67678-4\\_9](https://doi.org/10.1007/978-3-319-67678-4_9)
- Saxena, R. C., Adhikari, D. K., & Goyal, H. B. (2009). Biomass-based energy fuel through biochemical routes: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 13(1), 167–178. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2007.07.011>
- Scordia, D., Cosentino, S. L., Lee, J. W., & Jeffries, T. W. (2011). Dilute oxalic acid pretreatment for biorefining giant reed (*Arundo donax* L.). *Biomass and Bioenergy*, 35(7), 3018–3024. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2011.03.046>
- Sen, S. M., Binder, J. B., Raines, R. T., & Maravelias, C. T. (2012). Conversion of biomass to sugars via ionic liquid hydrolysis: process synthesis and economic evaluation. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 6(4), 444–452. <https://doi.org/10.1002/bbb.1336>
- Sheh Hong, L., Ibrahim, D., & Che Omar, I. (2012). Oil Palm Frond for the Production of Bioethanol. *International Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 1(1), 7–011. <http://internationalscholarsjournals.org>
- Sinha, P., & Pandey, A. (2011). An evaluative report and challenges for fermentative biohydrogen production. *International Journal of Hydrogen Energy*, 36(13), 7460–7478. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2011.03.077>
- Siramon, P., Punsvon, V., & Vaithanomsat, P. (2018). Production of Bioethanol from Oil Palm Empty Fruit Bunch via Acid Impregnation-Steam Explosion Pretreatment. *Waste and Biomass Valorization*, 9(8), 1407–1414. <https://doi.org/10.1007/s12649-017-9924-y>
- Stadler, M., Fournier, J., Læssøe, T., Lechat, C., Tichy, H. V., & Piepenbring, M. (2008). Recognition of hypoxylloid and xylarioid Entonaema species and allied Xylaria species from a comparison of holomorphic morphology, HPLC profiles, and ribosomal DNA sequences. *Mycological Progress*, 7(1), 53–73. <https://doi.org/10.1007/s11557-008-0553-5>
- Su, C. H., Chung, M. H., Hsieh, H. J., Chang, Y. K., Ding, J. C., & Wu, H. M. (2012). Enzymatic hydrolysis of lignocellulosic biomass in ionic liquid media for fermentable sugar production. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 43(4), 573–577. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2012.02.001>
- Sukhang, S., Choojit, S., Reungpeerakul, T., & Sangwichien, C. (2020). Bioethanol production from oil palm empty fruit bunch with SSF and SHF processes using *Kluyveromyces marxianus* yeast. *Cellulose*, 27(1), 301–314. <https://doi.org/10.1007/s10570-019-02778-2>
- Sun, S., Cao, X., Sun, S., Xu, F., Song, X., Sun, R. C., & Jones, G. L. (2014). Improving the enzymatic hydrolysis of thermo-mechanical fiber from Eucalyptus urophylla by a combination of hydrothermal pretreatment and alkali fractionation. *Biotechnology for Biofuels*, 7(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s13068-014-0116-8>

- Surati, M. A., Jauhari, S., & Desai, K. R. (2012). A brief review : Microwave assisted organic reaction. *Applied Science Research*, 4(1), 645–661.
- Szczodrak, J., & Targoński, Z. (1988). Selection of thermotolerant yeast strains for simultaneous saccharification and fermentation of cellulose. *Biotechnology and Bioengineering*, 31(4), 300–303. <https://doi.org/10.1002/bit.260310404>
- Tantayotai, P., Rachmontree, P., Rodiahwati, W., Rattanaporn, K., & Sriariyanun, M. (2016). Production of Ionic Liquid-tolerant Cellulase Produced by Microbial Consortium and its Application in Biofuel Production. *Energy Procedia*, 100, 155–159. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2016.10.158>
- Tassinari, T., & Macy, C. (1977). Differential speed two roll mill pretreatment of cellulosic materials for enzymatic hydrolysis. *Biotechnology and Bioengineering*, 19(9), 1321–1330. <https://doi.org/10.1002/bit.260190906>
- Tayyab, M., Noman, A., Islam, W., Waheed, S., Arifat, Y., Ali, F., Zaynab, M., Lin, S., Zhang, H., & Lin, W. (2018). Bioethanol Production From Lignocellulosic Biomass by Environment-frendly Pretreatment Methods: A Rebiew. *Applied Ecology and Environmental Research*, 16(1), 225–249. [https://doi.org/10.15666/aeer/1601\\_225249](https://doi.org/10.15666/aeer/1601_225249)
- Teramoto, Y., Tanaka, N., Lee, S.-H., & Endo, T. (2008). Pretreatment of eucalyptus wood chips for enzymatic saccharification using combined sulfuric acid-free ethanol cooking and ball milling. *Biotechnology and Bioengineering*, 99(1), 75–85. <https://doi.org/10.1002/bit.21522>
- Tsegaye, B., Balomajumder, C., & Roy, P. (2019). Microbial delignification and hydrolysis of lignocellulosic biomass to enhance biofuel production: an overview and future prospect. *Bulletin of the National Research Centre*, 43(1). <https://doi.org/10.1186/s42269-019-0094-x>
- Tu, W. C., & Hallett, J. P. (2019). Recent advances in the pretreatment of lignocellulosic biomass. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 20, 11–17. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2019.07.004>
- US Department of Agriculture. 2023. Palm Oil 2023 World Production. <https://ipad.fas.usda.gov/cropexplorer/cropview/commodityView.aspx?cropsid=4243000>. (12 Agustus 2023).
- Repository.Umsu.Ac.Id, 7(1), 1–15. <http://repository.umsu.ac.id/handle/123456789/2311>
- Van Dyk, J. S., & 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. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2012.03.002>
- Vasić, K., Knez, Ž., & Leitgeb, M. (2021). Bioethanol Production by Enzymatic Hydrolysis from Different Lignocellulosic Sources. *Molecules*, 26(3), 753. <https://doi.org/10.3390/molecules26030753>
- Wan, C., & Li, Y. (2012). Fungal pretreatment of lignocellulosic biomass. *Biotechnology Advances*, 30(6), 1447–1457. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2012.03.003>
- Widjaja, A., Agnesty, S. Y., Sangian, H. F., & Gunawan, S. (2015). Application of ionic liquid [DMIM]DMP pretreatment in the hydrolysis of sugarcane Bagasse for biofuel production. *Bulletin of Chemical Reaction Engineering & Catalysis*, 10(1), 70–77. <https://doi.org/10.9767/bcrec.10.1.7143.70-77>
- Wu, Z., Peng, K., Zhang, Y., Wang, M., Yong, C., Chen, L., Qu, P., Huang, H., Sun, E., & Pan, M. (2022). Lignocellulose dissociation with biological pretreatment towards the biochemical platform: A review. *Materials Today Bio*, 16(July), 100445. <https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2022.100445>
- Wyman, C. E. (1999). Biomass ethanol: Technical progress, opportunities, and commercial challenges. *Annual Review of Energy and the Environment*, 24, 189–226. <https://doi.org/10.1146/annurev.energy.24.1.189>
- Wyman, C. E., Spindler, D. D., & Grohmann, K. (1992). Simultaneous saccharification and fermentation of several lignocellulosic feedstocks to fuel ethanol. *Biomass and Bioenergy*, 3(5), 301–307. [https://doi.org/10.1016/0961-9534\(92\)90001-7](https://doi.org/10.1016/0961-9534(92)90001-7)
- Zhang, R., & Zhang, Z. (1999). Biogasification of rice straw with an anaerobic-phased solids digester system. *Bioresource Technology*, 68(3), 235–245. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(98\)00154-0](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(98)00154-0)
- Zhao, X., Wang, L., Lu, X., & Zhang, S. (2014). Pretreatment of corn stover with diluted acetic acid for enhancement of acidogenic fermentation. *Bioresource Technology*, 158, 12–18. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.01.122>
- Zheng, Y., Zhao, J., Xu, F., & Li, Y. (2014). Pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biogas production. *Progress in Energy and Combustion Science*, 42(1), 35–53. <https://doi.org/10.1016/j.pecs.2014.01.001>
- Zhou, Z., Liu, D., & Zhao, X. (2021). Conversion of lignocellulose to biofuels and chemicals via sugar platform: An updated review on chemistry and mechanisms of acid hydrolysis of lignocellulose. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 146(April), 111169. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.111169>