

TEKNOLOGI PRETREATMENT BAHAN LIGNOSELULOSA DALAM PROSES PRODUKSI BIOETANOL

*(Pretreatment Technologies of Lignocellulosic Materials in Bioethanol
Production Process)*

Mohamad Rusdi Hidayat

Baristand Industri Pontianak Jl. Budi Utomo No. 41 Pontianak 78243

E-mail: m_rusdi_h@yahoo.com

Naskah diterima tanggal 4 Februari 2013 dan disetujui untuk diterbitkan tanggal 1 April 2013

ABSTRAK. Bioetanol merupakan salah satu jenis biofuel yang mengalami perkembangan paling maju saat ini. Pemanfaatan bioetanol pun tidak terbatas hanya untuk bahan bakar tetapi dapat pula digunakan sebagai bahan baku berbagai industri seperti farmasi, kosmetik, dan pangan. Pemanfaatan yang luas serta prinsip teknologi produksinya yang relatif sederhana menjadikan bioetanol primadona biofuel saat ini. Meskipun kelayakan teknologi, ekonomi, dan sosial dari bioetanol telah tercapai, teknologi bioetanol saat ini terus maju dan berkembang. Pengembangan bioetanol generasi pertama yang telah dimulai puluhan tahun lalu saat ini mulai diarahkan untuk menggunakan bahan lain selain bahan berpati. Penggunaan limbah biomassa lignoselulosa, mikroalga, rumput laut, bahkan GMO (Genetically modified organisms) sebagai bahan baku produksi bioetanol telah banyak diujicobakan. Perbedaan bahan baku pada akhirnya menyebabkan teknologi produksi yang digunakannya pun berbeda. Teknologi pretreatment dalam produksi bioetanol dengan bahan lignoselulosa saat ini mengalami perkembangan pesat, karena tahap ini merupakan proses kunci dan sangat menentukan tahapan selanjutnya. Dari berbagai teknologi pretreatment yang ada saat ini, metode steam explosion dan liquid hot water sangat potensial untuk dikembangkan.

Kata kunci : bioetanol, biomassa lignoselulosa, teknologi pretreatment

ABSTRACT. Bioethanol is one type of biofuel that developed significantly. The utilization of bioethanol is not only limited for fuel, but also could be used as material for various industries such as pharmaceuticals, cosmetics, and food. With wide utilization and relatively simple production technology has made bioethanol as the most favored biofuel currently. The use of lignocellulosic biomass, microalgae, seaweeds, even GMO (Genetically modified organisms) as substrates for bioethanol production has been widely tested. Differences in the materials eventually led to change in the production technology used. Pretreatment technology in the bioethanol production using lignocellulosic currently experiencing rapid development. It is a key process and crucial for the whole next steps. Based on the advantages and disadvantages from all methods, steam explosion and liquid hot water methods are the most promising pretreatment technology available.

Keywords: bioethanol, lignocellulosic biomass, pretreatment technology

1. PENDAHULUAN

Bahan bakar fosil (batubara, minyak bumi, dan gas alam) saat ini memasok lebih dari 86% energi dunia (Vermerris, 2008). Bahan bakar fosil yang merupakan sumber daya alam terbatas pasti akan habis

jika dikonsumsi terus menerus. Selain itu, penggunaan bahan bakar terbukti memiliki berbagai dampak negatif terhadap lingkungan. Penggunaan bahan bakar fosil yang melepaskan gas rumah kaca seperti karbon dioksida, metana, dan nitrogen oksida menjadi salah satu penyebab utama

pemanasan global saat ini (Luque *et al.*, 2010). Sehingga pengembangan dan penggunaan bahan bakar alternatif menjadi suatu keharusan. Bahan bakar alternatif dapat meningkatkan ketersediaan bahan bakar di tengah kondisi terus meningkatnya permintaan energi dan masalah lingkungan. Oleh karena itu, banyak negara saat ini memprioritaskan penelitian dan pengembangan energi alternatif dan bahan bakar baru terbarukan melalui berbagai kebijakan.

Di Indonesia, kebijakan energi nasional saat ini tertuang dalam Peraturan Presiden (PP) No. 5 Tahun 2006. PP tersebut mempunyai target konsumsi energi alternatif lebih dari 17% dari total konsumsi energi nasional pada tahun 2025. Penjabaran dari PP tersebut kemudian dituangkan dalam *Blueprint* Pengelolaan Energi Nasional 2005-2025 yang ditetapkan oleh Menteri Energi dan Sumberdaya Mineral. Hasil kebijakan tersebut hingga saat ini tampak menunjukkan hasil yang baik. Terbukti dengan produksi biofuel di Indonesia pada tahun 2005 yang hanya sebesar 122,5 juta kilo liter melonjak menjadi 2.912,7 juta kilo liter pada tahun 2010. Tetapi, dengan konsumsi bahan bakar di Indonesia yang hampir 60 milyar liter pada tahun 2010, proporsi penggunaan biofuel di Indonesia masih sangat kecil (KESDM, 2011). Dari berbagai jenis bahan bakar terbarukan, pemerintah sebaiknya perlu memberikan prioritas pada jenis bahan bakar dan teknologi apa yang akan dikembangkan.

Dibandingkan energi alternatif lain, bioetanol sebagai salah satu sumber energi ramah lingkungan dalam beberapa tahun terakhir mengalami kenaikan produksi yang signifikan di banyak negara. Program bioetanol sebagai pengganti minyak bumi perlu didukung oleh penelitian dan pengembangan berkelanjutan mengingat karakteristik tiap negara terhadap sumber bahan baku bioetanol sangatlah beragam. Karena pada dasarnya bioetanol dapat diproduksi dari bahan apapun yang mengandung pati/gula. Di negara maju seperti Amerika Serikat, produksi bioetanol sebagian besar menggunakan tanaman pangan seperti jagung (US EIA,

2012). Sedangkan di Brazil sebagai salah satu negara penghasil bioetanol terbesar di dunia saat ini mengandalkan tebu sebagai bahan baku bioetanol (Zanin GM *et. al.*, 2000).

Di negara berkembang penelitian dan produksi bioetanol umumnya baru dimulai pada dekade ini. Penggunaan bahan – bahan non pangan seperti limbah lignoselulosa umumnya lebih dipilih selain karena ketersediannya yang melimpah serta agar tidak terjadi konflik dengan penyediaan bahan pangan di negara bersangkutan. Sebagai contoh negara Vietnam saat ini sedang mencoba menggunakan jerami dan sekam padi untuk produksi bioetanol (Kunimitsu dan Ueda 2013), Malaysia yang memanfaatkan biomassa kelapa sawit (Goh *et al.*, 2010), dan Indonesia yang menggunakan bagas sebagai bahan baku bioetanol (Herawati dan Puspawati 2010, Gozan *et al.*, 2007 dan Samsuri *et al.*, 2007). Lain halnya dengan Korea Selatan, karena bahan baku alam yang terbatas maka mereka mencoba untuk fokus pada pengembangan teknologi produksi bioetanol dari limbah lignoselulosa. Negara tersebut bekerjasama dengan beberapa negara di Asia Tenggara sebagai penyuplai bahan baku (Kim *et al.*, 2010). Berbagai kajian mengenai bioetanol dari mulai tekno-ekonomi, produksi, pemasaran, ekologi, hingga dampak sosial menunjukkan bahwa teknologi ini layak dan harus dikembangkan segera (Chaudhari *et al.*, 2012; Macrelli *et al.*, 2012; dan Pirraglia *et al.*, 2012).

Saat ini produksi bioetanol diarahkan untuk menggunakan limbah lignoselulosa sebagai bahan bakunya. Limbah hasil pertanian, perkebunan dan kehutanan dapat kita manfaatkan sepenuhnya. Indonesia sebagai negara tropis mempunyai berbagai limbah lignoselulosa yang potensial untuk produksi bioetanol. Limbah pertanian seperti jerami dan sekam padi, serta tongkol jagung belum dimanfaatkan secara optimal. Limbah perkebunan di Indonesia pun mempunyai potensi yang sangat besar untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku bioetanol. Mengingat luas lahan dan

jumlah produksinya yang terus meningkat, bagas tebu dan tandan kosong kelapa sawit (TKKS) dapat dijadikan prioritas dalam pengembangan bioetanol berbasis biomassa lignoselulosa. Pada tahun 2010 jumlah produksi kelapa sawit mencapai 19.760.011 ton dan produksi gula dari tanaman tebu yang sebesar 2.694.227 ton pada 2010 pertumbuhan limbah dari kegiatan kedua industri itu pun terus meningkat (Dirjen Perkebunan-Kementerian Pertanian, 2011). Tersedianya berbagai bahan baku tersebut tentu saja perlu diiringi dengan penguasaan kita terhadap teknologi produksi bioetanol. Saat ini teknologi produksi bioetanol dari bahan lignoselulosa masih dalam tahap pengembangan baik di negara maju maupun di negara berkembang. Beberapa kendala utama yang dihadapi teknologi ini adalah adanya lignin dapat menghambat laju hidrolisis dengan menghalangi akses selulase pada selulosa, masih sedikitnya strain mikroorganisme yang dapat mengkonversi hemiselulosa menjadi etanol, adanya zat inhibitor, dan harga selulase yang masih mahal (Sudiyani *et al.*, 2010). Teknologi bioetanol mengalami perkembangan pesat dalam beberapa tahun belakangan ini. Tahap *pretreatment*, yang merupakan tahapan kunci dalam produksi bioetanol dengan bahan lignoselulosa, saat ini teknologinya banyak sekali variasinya. Pada tulisan ini akan diulas mengenai berbagai teknologi *pretreatment* yang ada saat ini dan metode yang sangat potensial untuk dikembangkan.

2. METODE PENELITIAN

Teknologi proses produksi bioetanol pada dasarnya menggunakan prinsip fermentasi. Teknologi proses produksi bioetanol generasi pertama dapat dikatakan telah layak secara ekonomi saat ini. Sedangkan teknologi produksi bioetanol generasi ketiga dan keempat masih dalam tahap awal penelitian sehingga teknologi produksi bioetanolnya belum berkembang. Saat ini teknologi produksi bioetanol generasi kedua mengalami perkembangan pesat. Tetapi tetap saja berbagai teknologi tersebut belum layak secara ekonomi,

masih banyak hambatan dalam proses pemecahan lignoselulosa menjadi gula sederhana.

Teknologi produksi bioetanol dari bahan lignoselulosa secara umum meliputi tahapan *pretreatment*, hidrolisis, fermentasi dan pemisahan produk/distilasi. Kendala utama proses teknologi dari bahan lignoselulosa adalah pada tahap *pretreatment*. Tahap ini sangat menentukan kuantitas dan kualitas bioetanol yang dihasilkan nantinya.

Metode *pretreatment* saat ini berkembang pesat. Beragamnya jenis bahan baku lignoselulosa yang digunakan mengakibatkan beragam pula metode *pretreatment* yang digunakan. Berbagai strategi *pretreatment* untuk memproduksi bioetanol pun telah banyak dilakukan. Berbagai teknologi *pretreatment* bahan lignoselulosa yang telah diujicobakan diulas pada tulisan ini.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

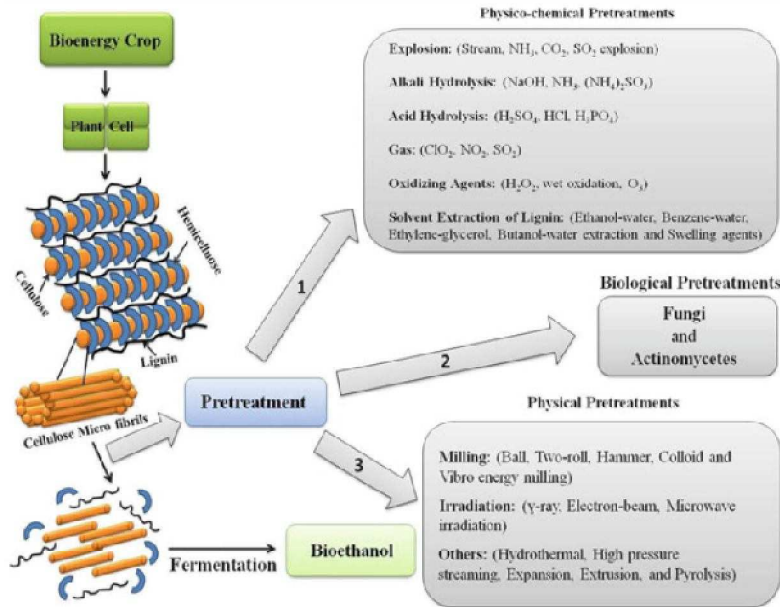
Teknologi Pretreatment

Tahap pertama dalam biokonversi bahan lignoselulosa menjadi bioetanol adalah pengurangan ukuran dan *pretreatment*. Tujuan dari semua teknologi *pretreatment* adalah untuk mengurangi atau menghilangkan berbagai bahan/senyawa yang dapat menghambat laju hidrolisis dan meningkatkan produksi bioetanol dari gula sederhana yang berasal dari selulosa dan hemiselulosa (Balat *et al.*, 2008).

Pemilihan metode *pretreatment* yang tepat sangat penting dilakukan karena tahap ini menentukan metode hidrolisis dan fermentasi apa yang akan dipakai nantinya. Sehingga pada akhirnya pemilihan metode *pretreatment* ini sangat mempengaruhi keseluruhan biaya operasional produksi bioetanol. Penggunaan metode *pretreatment* yang tidak optimal akan menyebabkan degradasi hemiselulosa dan lignin secara parsial serta menghasilkan senyawa beracun yang dapat menghambat pertumbuhan khamir (Tomas-Pejo *et al.*, 2011). Pemilihan teknologi *pretreatment* tergantung juga pada bahan baku lignoselulosa yang

digunakan. Karena tiap bahan baku memiliki komposisi selulosa, hemiselulosa, dan lignin yang berbeda. Metode *pretreatment* berdasarkan prinsip

teknologinya dapat digolongkan menjadi perlakuan fisika, perlakuan kimia, perlakuan fisika-kimia, dan perlakuan biologis (Gambar 1).



Gambar 1. Berbagai strategi *pretreatment* untuk mengolah biomassa lignoselulosa menjadi bioetanol (Ghosh dan Hellenbeck 2012).

Pretreatment Fisika

Pretreatment secara mekanik/fisika bertujuan mengurangi ukuran partikel bahan baku. Pengurangan ukuran bahan baku menjadi bagian-bagian kecil merupakan salah satu cara yang paling efektif untuk meningkatkan aksesibilitas enzim ke bahan lignoselulosa. Keunggulan utama dari metode ini adalah ramah lingkungan karena tidak menggunakan

bahan-bahan kimia dan tidak menghasilkan residu berbahaya. Berbagai perlakuan fisika ini telah banyak diujicobakan (Tabel 1), tetapi sebagian besar perlakuan fisika tersebut memerlukan banyak energi sehingga tidak layak secara ekonomi. Pemecahan lignin dan xilan yang kurang optimal juga merupakan masalah lain dari metode fisika ini.

Tabel 1. Berbagai metode *pretreatment* fisika untuk produksi bioetanol pada berbagai substrat

| Metode | Bahan Baku | Referensi |
|----------------------|--|---|
| Ball mill reactor | Serpihan kayu <i>Pseudotsuga menziesii</i> . | Mais <i>et al.</i> , 2002 |
| Steam pretreatment | Kayu cemara, jerami gandum, dan bagas tebu. Tandan kosong kelapa sawit. Rumput gajah (<i>Miscanthus</i>), tandan kosong kelapa sawit, dan rumput <i>Typha capensis</i> . Silase jagung. | Kovacs <i>et al.</i> , 2009 Kovacs <i>et al.</i> , 2009 Timilsena <i>et al.</i> , 2012 Xu <i>et al.</i> , 2010 |
| Pirolisis | Tandan kosong kelapa sawit. | Misson <i>et al.</i> , 2009 |
| Ultrasonik | Tandan kosong kelapa sawit. | Yunus <i>et al.</i> , 2010 |
| Iradiasi Sinar Gamma | Kulit kayu pohon poplar (<i>Populus alba</i>). | Chung <i>et al.</i> , 2012 |

a. Milling (Penggilingan)

Proses penggilingan digunakan untuk mengurangi ukuran partikel, mengubah ultrastruktur serta tingkat kristalinitas lignoselulosa. Berbagai perubahan tersebut dapat membuat efektifitas enzim selulase pada bahan lignoselulosa meningkat. Proses penggilingan dan pengurangan ukuran partikel ini dilakukan sebelum tahap hidrolisis enzimatik atau tahap *pretreatment* lainnya (Tahezadeh dan Karimi, 2008).

Berdasarkan Mais *et al.* (2002) penggunaan bola-bola kecil pada proses *pretreatment* dan hidrolisis disertai pemakaian enzim dengan kadar rendah (10 unit kertas saring/g selulosa) dapat menghidrolisis bahan lignoselulosa secara sempurna (100% hidrolisis). Tetapi bagaimanapun juga penggunaan bola-bola kecil ini membutuhkan jumlah energi yang besar. Kekurangan lain metode ini adalah ketidakmampuannya menghilangkan lignin yang dapat menghambat penetrasi selulase pada selulosa.

b. Iradiasi

Iradiasi dengan sinar gamma, sinar elektron dan gelombang mikro dapat meningkatkan hasil hidrolisis enzimatik dari lignoselulosa. Radiasi ionisasi yang terjadi dapat secara mudah menetrasi struktur lignoselulosa dan memproduksi radikal bebas yang berguna dalam modifikasi struktur lignin dan pemecahan kristal selulosa (Tahezadeh dan Karimi 2008).

Berdasarkan Chung *et al.* (2012), penggunaan iradiasi sinar gamma pada proses *pretreatment* kulit kayu pohon poplar (*Populus alba*) mampu menghasilkan hingga 56,1% gula pereduksi hasil hidrolisis. Penggunaan iradiasi sinar gamma yang diikuti oleh *pretreatment* dengan asam sulfur 3% bahkan mampu meningkatkan hasil gula pereduksi hingga 83,1%.

c. Gelombang Ultrasonik

Pretreatment dengan gelombang ultrasonik merupakan hal baru dalam teknologi pengolahan biomassa. Sebelumnya gelombang ultrasonik telah

dimanfaatkan untuk meningkatkan kemampuan mengekstrak hemiselulosa, selulosa, dan lignin pada kertas daur ulang. Penggunaan gelombang ultrasonik pada proses *pretreatment* tidak bertujuan untuk menghidrolisis biomassa menjadi gula sederhana melainkan agar substrat yang dihasilkan lebih mudah untuk di hidrolisis dengan cara meningkatkan luas permukaan dan merubah kristalinitas substrat. Gelombang ultrasonik dapat memecah dinding sel dan merusak dinding sel sekunder pada lapisan tengah. Perambatan gelombang ultrasonik melalui cairan pada frekuensi 20 kHz hingga beberapa megahertz dapat menyebabkan kavitasi sehingga berbagai perubahan fisika dan kimia dapat terjadi (Yunus *et al.*, 2010 dan Asakura *et al.*, 2008).

Penelitian yang dilakukan oleh Yunus *et al.* (2010) menunjukkan bahwa pada *pretreatment* tandan kosong kelapa sawit dengan menggunakan ultrasonikasi pada 90% amplitudo selama 45 menit menghasilkan xilosa sebesar 58%. Jika dibandingkan tanpa perlakuan ultrasonikasi, xilosa yang dihasilkan hanya 22%.

d. Pretreatment lainnya

Beberapa metode *pretreatment* fisika lain untuk memproduksi bioetanol, diantaranya pirolisis dan autohidrolisis. Pirolisis adalah proses degradasi biomassa menggunakan suhu moderat dalam waktu yang singkat dalam keadaan tanpa oksigen. Hasil pirolisis antara lain *bio-oil* (gas terkondensasi), gas sintetis, dan arang (Boateng *et al.*, 2007). Penggunaan pirolisis pada *pretreatment* tandan kosong kelapa sawit yang sebelumnya diberi perlakuan penambahan NaOH dan H₂O₂ dapat mendekomposisi lignin hampir 100% (Misson *et al.*, 2009).

Tenaga uap memiliki kemampuan untuk mendegradasi struktur kompleks lignoselulosa. Pada *pretreatment* menggunakan uap, biomassa diberi tekanan dan suhu tinggi (140°C - 260°C) secara terus menerus selama beberapa menit. *Pretreatment* dengan uap ini diketahui dapat menghidrolisis parsial hemiselulosa, memodifikasi struktur

lignin, meningkatkan luas permukaan, dan menurunkan kristalinitas selulosa dan derajat polimerisasinya (Ramos 2003). *Pretreatment* dengan menggunakan uap merupakan salah satu pilihan paling ekonomis untuk diterapkan pada produksi bioetanol dengan substrat tandan kosong kelapa sawit. Karena pada proses ekstraksi minyak kelapa sawit, uap terus dihasilkan oleh boiler di pabrik untuk pembangkit listrik dan untuk sterilisasi. Hasil hidrolisis tandan kosong kelapa sawit dengan *pretreatment* uap ini mampu menghasilkan 30% gula pereduksi (Shamsudin *et al.*, 2012)

Pretreatment Kimia

Pretreatment secara kimiawi mempunyai tujuan utama untuk meningkatkan biodegradasi selulosa dengan menghilangkan lignin dan atau hemiselulosa. Metode ini juga bertujuan menurunkan tingkat polimerisasi dan kristalinitas komponen selulosa. *Pretreatment* kimia ini awalnya dikembangkan di industri kertas untuk delignifikasi bahan selulosa agar

dihasilkan produk kertas berkualitas (Menon dan Rao 2012). Berbagai metode *pretreatment* kimia yang umum digunakan adalah sebagai berikut.

a. Pretreatment Asam

Pretreatment asam menggunakan larutan asam sebagai katalisnya. Asam memiliki pengaruh yang kuat pada hemiselulosa dan lignin dibandingkan pada struktur kristalin selulosa. Tujuan utama metode ini adalah melarutkan sebagian hemiselulosa agar enzim selulase dapat menjangkau struktur selulosa (Tomas-Pejo *et al.*, 2011).

Metode ini dapat dibagi menjadi dua kelompok, yakni perlakuan dengan asam pekat dan perlakuan dengan asam encer. Perlakuan dengan asam pekat kurang disukai pada produksi bioetanol karena dapat meningkatkan pembentukan senyawa inhibitor, menyebabkan korosi pada peralatan, dan sulit *recovery* asam yang digunakan. Sebaliknya, *pretreatment* dengan asam encer lebih disukai untuk produksi bioetanol.

Tabel 2. Berbagai *pretreatment* kimia pada produksi bahan lignoselulosa

| Metode | Bahan Baku | Hasil | Referensi |
|---|----------------------------------|-------------------------------|-----------------------------|
| 2% H ₂ SO ₄ , 121°C/15 psi, 60 menit | Jerami gandum dan sorgum | 0,27-0,34% gr/gr glukosa | Chen <i>et al.</i> , 2007 |
| 0,8 mol/L H ₂ SO ₄ , 121°C selama 15 menit | Bagas jambu mete | 0,47 gr/gr glukosa | Rocha <i>et al.</i> , 2009 |
| 2 gr/L Na ₂ CO ₃ , 195°C, 10 menit, 12 bar | Jerami gandum dan rumput semangi | 25 gr/L glukosa | Thomsen dan Nielsen 2008 |
| 0,38M H ₂ SO ₄ , 150°C, 30 menit | Bagas tebu | 41,3% gula pereduksi | Yoon <i>et al.</i> , 2011 |
| 1N H ₂ SO ₄ , suhu ruang, 24 jam | Jerami gandum dan batang pisang | 2,75gr/L dan 1,9 gr/L ethanol | Thakur <i>et al.</i> , 2012 |
| 8% NaHSO ₃ dan 1% H ₂ SO ₄ , 180°C, 30 menit | Tandan kosong kelapa sawit | 0,318 gr/gr glukosa | Tan <i>et al.</i> , 2012 |

Meskipun penggunaan asam encer ini menghasilkan produk degradasi yang lebih rendah dari asam pekat tetapi berbagai studi menunjukkan bahwa metode ini paling sesuai untuk diterapkan pada produksi bioetanol skala besar. Beberapa kelebihan metode ini adalah: 1) Metode ini dapat dilakukan pada suhu tinggi

(misalnya 180°C) dalam waktu singkat atau menggunakan suhu yang lebih rendah (misal 120°C) tetapi dalam waktu yang lebih lama (30 – 90 menit); 2) Asam yang digunakan bukan hanya dapat melarutkan hemiselulosa tetapi juga dapat mengkonversi hemiselulosa yang terlarut menjadi gula; 3) Metode ini dapat

mengurangi pemakaian hemiselulase selama proses hidrolisis enzimatis (Lu dan Mosier 2008; dan Tomas-Pejo *et al.*, 2011).

Berbagai larutan asam yang dapat digunakan antara lain asam sulfat (H_2SO_4), asam klorida (HCl), asam nitrat (HNO_3) dan asam fosfat (H_3PO_4) (Mosier *et al.*, 2005). Berdasarkan hasil hidrolisis enzimatis, pemakaian asam sulfat untuk *pretreatment* bahan lignoselulosa diketahui lebih baik dibandingkan dengan pemakaian larutan asam lainnya (Tabel 2).

b. Pretreatment Basa

Metode *pretreatment* basa dalam pengolahan biomassa lignoselulosa umumnya menggunakan basa seperti natrium, kalium, kalsium, dan amonium hidroksida. Pemakaian basa menyebabkan perubahan struktur lignin dengan cara mendegradasi ester dan rantai samping glikosidiknya. Penggunaan basa juga menyebabkan dekrystalisasi parsial selulosa, solvasi parsial hemiselulosa dan mengakibatkan selulosa membesar. Proses ini dilakukan dengan cara merendam biomassa dalam larutan alkali pada suhu dan waktu yang telah ditentukan. Tahap netralisasi perlu dilakukan sebelum masuk tahap hidrolisis enzimatis untuk menghilangkan lignin dan zat inhibitor (misalnya garam, asam fenolik, dan aldehid) (Menon dan Rao 2012). Dibandingkan *pretreatment* asam metode ini lebih efektif dalam solubilisasi lignin, sebaliknya kurang dalam mendegradasi selulosa dan hemiselulosa. Efektifitas metode ini juga tergantung kadar lignin pada biomassa (Tomas-Pejo 2011).

NaOH, KOH, $Ca(OH)_2$, dan NH_4OH merupakan larutan basa yang terbukti efektif mendegradasi biomassa lignoselulosa. Sebagai contoh, NaOH mampu meningkatkan tingkat degradasi kayu keras dari 14% menjadi 55% dengan cara mengurangi kadar ligninnya dari 55% menjadi 20% (Kumar *et al.*, 2009). *Pretreatment* berbagai biomassa lignoselulosa seperti jerami gandum, rumput, kayu keras, dan kayu lunak menggunakan NaOH juga mampu mengurangi kadar lignin menjadi kurang

dari 26% (Zhao *et al.*, 2008). Sedangkan berdasarkan Sun *et al.*, (1995) kondisi optimal yang diperlukan untuk mengurangi 60% kadar lignin dan 80% hemiselulase pada jerami gandum adalah menggunakan 1,5% NaOH selama 144 jam pada suhu 20°C.

c. Pretreatment Oksidatif

Pretreatment oksidatif menggunakan senyawa oksidasi seperti hidrogen peroksida (H_2O_2) atau asam parasetat yang dilarutkan dalam air. Sama seperti metode *pretreatment* lainnya, tujuan metode ini adalah untuk menghilangkan hemiselulosa dan lignin untuk meningkatkan aksesibilitas selulase. Selama *pretreatment*, beberapa reaksi dapat terjadi seperti substitusi elektrofilik, perpindahan rantai samping, pembelahan ikatan alkil aril eter atau pembelahan oksidatif dari inti aromatik. Beberapa kekurangan metode ini adalah penggunaan oksidan yang tidak selektif dan tingkat pembentukan senyawa inhibitor yang tinggi karena lignin yang teroksidasi atau terbentuknya senyawa aromatik (Hendriks and Zeeman 2009; dan Quintero *et al.*, 2011).

d. Pretreatment Organosolv

Metode *pretreatment* organosolv menggunakan pelarut organik/*aqueous* (etanol, metanol, etilen glikol, gliserol, dll) untuk mengekstrak lignin dan meningkatkan aksesibilitas selulase. Pelarut organik yang dicampur dengan air digunakan untuk merendam biomassa untuk selanjutnya dipanaskan pada suhu 100-250°C. Penambahan asam (HCl, H_2SO_4 , oksalat, atau salisilat) sebagai katalis dilakukan jika proses dibawah suhu 185-210°C (Park *et al.*, 2010). Penambahan asam juga dapat meningkatkan laju delignifikasi dan menghasilkan xilosa lebih banyak (Zhao *et al.*, 2009). Penggunaan etanol dan metanol lebih disukai karena memiliki massa jenis yang rendah, titik didih rendah dan lebih murah dibandingkan bahan pelarut lainnya (Tomas-Pejo *et al.*, 2011).

Salah satu masalah utama pada metode ini adalah diperlukannya proses penghilangan pelarut menggunakan evaporasi atau kondensasi. Pemisahan

pelarut dilakukan agar tidak menghambat proses hidrolisis enzimatis dan fermentasi oleh mikroorganisme. Masalah lainnya adalah harga pelarut yang relatif mahal dan tingginya zat inhibitor (seperti furfural dan fenol) yang dihasilkan selama proses *pretreatment* (Tomas-Pejo *et al.*, 2011).

e. *Pretreatment* Ozonolysis

Ozon (O₃) merupakan molekul yang mempunyai tingkat delignifikasi yang tinggi. Proses ozonolysis biasanya dilakukan pada kondisi atmosfer, suhu ruangan, dan tekanan yang normal. Metode ozonolysis ini menghasilkan senyawa hasil degradasi hemiselulosa dan selulosa yang sangat sedikit. Hal itu terjadi karena ozonolysis terbatas untuk degradasi lignin saja, hemiselulosa sedikit terdegradasi, sedangkan selulosa tidak sama sekali (Tomas-Pejo *et al.*, 2011).

Penggunaan ozon untuk *pretreatment* bahan lignoselulosa telah dilakukan pada jerami gandum (Garcia-Cubero *et al.*, 2009), residu kapas (Silverstein *et al.*, 2007), serta bagas dan poplar (Kumar *et al.*, 2009). Meskipun beberapa penelitian telah menunjukkan hasil yang cukup memuaskan tetapi studi lebih lanjut perlu dilakukan untuk optimalisasi metode ini. Penggunaan ozon dalam jumlah besar menjadikan metode ini kurang layak secara ekonomi.

f. *Pretreatment* Ionic liquids

Ionic liquids adalah golongan pelarut yang baru saja ditemukan. Pelarut ini sepenuhnya terdiri dari ion-ion yang seringkali berupa cairan pada suhu kamar. Secara umum, *ionic liquids* dibuat dari garam yang memiliki anion dan atau kation yang berukuran besar. Selain itu, kation pada garam tersebut harus memiliki derajat simetri yang rendah. Ada dua kategori *ionic liquids*, yaitu garam sederhana (terdiri dari anion dan kation tunggal) dan *ionic liquids* biner (terdiri dari garam-garam yang telah mencapai kesetimbangan). Karakteristik penting yang dimiliki *ionic liquids* adalah: memiliki stabilitas suhu dan kimia yang baik, tidak mudah terbakar, memiliki kisaran suhu yang luas, dan merupakan pelarut yang baik untuk berbagai jenis

bahan (Earle dan Seddon 2000; dan Hayes 2009).

Kelebihan utama dari jenis pelarut ini adalah karakteristiknya yang dapat disesuaikan sesuai kebutuhan dari proses yang dikehendaki. Karakteristik *ionic liquids* dapat diubah dengan cara menyesuaikan anion dan gugus alkil pada kationnya. Karena tidak ada gas beracun atau gas yang mudah meledak yang dihasilkan selama proses, *ionic liquids* sering disebut dengan istilah "green solvent" (Tomas-Pejo *et al.*, 2011).

Pemakaian *ionic liquids* sebagai pelarut untuk *pretreatment* biomassa lignoselulosa telah menjadi perhatian para peneliti selama satu dekade belakangan ini. *Ionic liquids* mampu memecah jaringan ikatan hidrogen pada polisakarida secara ekstensif sehingga meningkatkan daya larutnya. Beberapa *ionic liquids* berbasis imidazolium dilaporkan dapat melarutkan selulosa dalam jumlah besar (Olivier-Bourbigou *et al.*, 2010 dan Swatloski *et al.*, 2002).

Meskipun sebagian besar data efektifitas *ionic liquids* menggunakan bahan selulosa kristalin murni, tetapi beberapa studi terakhir menunjukkan bahwa *ionic liquids* dapat digunakan untuk *pretreatment* biomassa lignoselulosa seperti bagas (Dadi *et al.*, 2006), jerami gandum (Li *et al.*, 2009), dan kayu (Lee JS, 2009). Pelarut *ionic liquids* yang diketahui sesuai dengan bahan lignoselulosa adalah 1-ethyl-3-methylimidazolium acetate dan 1-allyl-3-methylimidazolium chloride (Maki-Arvela *et al.*, 2010). Studi lain pemakaian *ionic liquids* untuk *pretreatment* switchgrass (*Panicum virgatum*) ternyata mampu meningkatkan sakarifikasi enzimatis dari selulosa (menghasilkan 96% glukosa dalam 24 jam) dan xilan (menghasilkan 63% xilosa dalam 24 jam) (Zhao *et al.*, 2010). Pada metode *pretreatment* lainnya menggunakan 1-ethyl-3-methylimidazolium diethyl phosphate, jerami gandum yang di *pretreatment* pada 130°C selama 30 menit menghasilkan 54,8% gula pereduksi setelah dihidrolisis secara enzimatis selama 12 jam (Li *et al.*, 2009).

Meskipun *pretreatment* menggunakan *ionic liquids* ini sangat potensial untuk diaplikasikan pada proses pengolahan bahan lignoselulosa. Tetapi masih banyak hambatan dalam penerapannya pada skala industri. Berbagai permasalahan seperti biaya *ionic liquids* yang tinggi, kebutuhan akan regenerasi pelarut, kurangnya data toksikologi, kurangnya pengetahuan dasar mengenai karakteristik fisika-kimia *ionic liquids*, dan masalah zat inhibitor yang mungkin dihasilkan perlu diteliti dan dikaji lebih lanjut (Menon dan Rao 2012).

Pretreatment Fisika-Kimia

Pretreatment fisika-kimia merupakan *pretreatment* yang menggabungkan proses fisika dan kimia. Sehingga kekurangan suatu metode diharapkan dapat diatasi oleh metode lainnya. Beberapa *pretreatment* fisika-kimia utama adalah *Ammonia Fiber Explosion* (AFEX), *microwave-chemical*, dan *steam explosion*.

a. Pretreatment Ammonia Fiber Explosion (AFEX)

Ammonia fiber explosion adalah proses *pretreatment* fisika-kimia yang menggunakan amonia cair dan tekanan uap. Pada *pretreatment* ini biomassa lignoselulosa direndam pada cairan amonia pada suhu dan tekanan tinggi pada waktu tertentu, dan kemudian tekanan dikurangi secara tiba-tiba. Proses AFEX ini dapat menyebabkan dekrystalisasi selulosa, depolimerisasi sebagian hemiselulosa, pembelahan kompleks ikatan lignin-karbohidrat, pembelahan ikatan C-O-C pada lignin, dan peningkatan akses selulase yang diakibatkan oleh rusaknya struktur (Menon dan Rao 2012)

Metode ini secara umum menggunakan dosis cairan amonia sebanyak 1-2 kg/kg biomassa kering, suhu yang digunakan 90°C, dan waktu 30 menit. Salah satu kelebihan proses ini adalah amonia yang digunakan dapat di *recycle* dan dipakai kembali. Selain itu, proses di bagian hilirnya pun tidak serumit metode *pretreatment* lain. Efektifitas *pretreatment* ini sangat baik diaplikasikan pada limbah pertanian dan rerumputan atau bahan lain

yang memiliki kadar lignin rendah. *Pretreatment bermudagrass* (*Cynodon dactylon*) menggunakan metode AFEX ini dilaporkan menghasilkan lebih dari 90% hidrolisis selulosa dan hemiselulosa. Sebaliknya, metode ini kurang efektif jika menggunakan bahan baku yang memiliki kadar lignin tinggi seperti kayu dan cangkang biji-bijian (Menon dan Rao 2012 dan Taherzadeh dan Karimi, 2008). Tetapi permasalahan utama metode ini adalah biaya bahan amonia serta proses *recycle* amonia yang digunakan masih kurang efektif dan efisien sehingga mengakibatkan biaya tinggi (Balat *et al.*, 2008).

b. Pretreatment Microwave-Chemical

Pretreatment microwave-chemical dilakukan dengan merendam biomassa lignoselulosa di dalam larutan kimia. Larutan kimia yang digunakan bisa berupa asam, basa, atau larutan oksidatif. Penggunaan *microwave* dapat mempercepat pemanasan biomassa dengan cara memanaskan secara selektif struktur lignoselulosa yang lebih bersifat polar. Sedangkan pemakaian larutan kimia dan gelombang elektromagnetik yang dihasilkan akan mempercepat reaksi perusakan struktur kristalin lignoselulosa serta merubah struktur super molekul lignoselulosa (Tomas-Pejo *et al.*, 2011)

Penggunaan larutan kimia pada metode ini tergantung dari bahan lignoselulosa yang digunakan. Sebagai contoh, *pretreatment microwave-NaOH* efektif untuk *pretreatment switchgrass* dan *bermudagrass* (Keshwani dan Cheng 2010); sedangkan *pretreatment microwave-asam-basa-H2O2* pada jerami padi menghasilkan laju hidrolisis dan glukosa yang paling tinggi dibandingkan metode *microwave-basa* dan *microwave-asam-basa* (Zhu *et al.*, 2006).

Meskipun metode ini prosesnya yang sangat cepat dan zat inhibitor yang dihasilkannya pun rendah, tetapi belum ada studi mengenai kelayakan penggunaan metode ini untuk skala komersial, sehingga metode ini perlu dikaji lebih mendalam di masa yang akan datang (Tomas-Pejo *et al.*, 2011).

c. Pretreatment Steam Explosion

Metode ini merupakan gabungan dari kekuatan mekanik dan kimia. Pada metode ini biomassa diberi tekanan uap tinggi, selanjutnya tekanan dikurangi secara tiba-tiba, yang menyebabkan biomassa mengalami dekomposisi eksplosif. Tekanan yang dikurangi secara tiba-tiba menyebabkan ledakan dekomposisi, yang berakibat serat-serat biomassa terpisah. Pada metode ini juga terjadi hidrolisis (autohidrolisis) dari gugus asetil pada hemiselulosa. Autohidrolisis gugus asetil pada suhu tinggi menghasilkan asam asetat. Selain itu air pada suhu tinggi dapat bersifat seperti asam (Menon dan Rao 2012).

Proses ini biasanya menggunakan suhu 160-260°C dengan tekanan 0,69-4,83 mPa selama beberapa detik hingga beberapa menit sebelum biomassa dipaparkan pada tekanan atmosfer. Proses ini dapat menyebabkan degradasi hemiselulosa dan perubahan lignin sehingga meningkatkan laju hidrolisis selulosa (Menon dan Rao 2012).

Teknologi "steam explosion" ini telah sukses diaplikasikan untuk produksi etanol dari berbagai substrat residu pohon zaitun (Cara et al., 2006), tongkol jagung (Yang et al., 2010), jerami gandum

(Ballesteros et al., 2006), bagas tebu (Martin et al., 2002), berbagai jenis rumput (Viola et al., 2008) dan rami (Barta et al., 2010).

Beberapa kelebihan pretreatment ini adalah: a) dampak lingkungan yang rendah, b) modal investasi yang diperlukan kecil, c) efisiensi energinya yang lebih baik, d) menggunakan sedikit sekali bahan dan proses berbahaya, e) dapat menggunakan bahan berukuran besar, f) tidak perlu penambahan asam sebagai katalis kecuali untuk jenis kayu lunak, g) hasil hidrolisis enzimatisnya baik, dan h) layak secara ekonomi. Sedangkan kekurangan utama metode ini adalah adanya bahan beracun yang dihasilkan selama proses degradasi gula, sehingga dapat mempengaruhi tahap hidrolisis dan fermentasi (Avellar dan Glasser 1998 dan Tomas-Pejo et al., 2011).

d. Pretreatment Fisika-Kimia Lainnya

Hingga saat ini berbagai kombinasi pretreatment fisika dan kimia telah dilakukan. Dengan menggunakan berbagai metode pada berbagai substrat didapatkan berbagai kelebihan dan kekurangan (Tabel 3). Berbagai metode pretreatment ini diharapkan dapat diaplikasikan dimasa yang akan datang melalui penelitian dan pengembangan berkelanjutan.

Tabel 3. Berbagai pretreatment fisika-kimia potensial untuk produksi bioetanol

| Metode | Proses | Referensi |
|--|---|--|
| Rangkaian alkalin peroksida dan steam eksplosion | Perlakuan larutan basa alkalin (contoh: 1%NaOH dan 1 wt.% H ₂ O ₂) yang dilanjutkan dengan steam explosion | Yamashita et al., 2010 |
| Ionic liquids dan steam explosion | Berbagai larutan organosolv digunakan untuk melarutkan biomassa untuk mendegradasi selulosa. Selanjutnya steam explosion mendegradasi hemiselulosa. Lignin dapat dipisahkan dengan mudah karena senyawa tersebut tidak larut dalam ionic liquids | Dadi et al., 2006 |
| Ekstraksi organosolv dan steam explosion | Berbagai campuran larutan organik dan air (etanol-H ₂ O, aseton-H ₂ O, atau methanol-H ₂ O) digunakan untuk pretreatment awal. Kadang asam (HCl) ditambahkan sebagai katalis. Proses dilanjutkan menggunakan steam explosion | Chen dan Sun 2008 |
| Liquid hot water | Tekanan tinggi digunakan untuk mempertahankan air di kondisi cair pada suhu tinggi | Girio et al., 2010 Perez et al., 2008 |
| Superfine grinding dan steam explosion | Pada metode ini biomassa di giling hingga halus untuk lebih meningkatkan luas permukaan. Selanjutnya partikel halus diberi perlakuan steam explosion | Jin dan Chen 2007 |
| Superfine grinding dan steam explosion | Metode ini digunakan untuk bahan berkayu yang masih berukuran besar. Bahan baku sebelumnya direndam di larutan | Tian et al., 2010 Zhu et al., 2009 |
| Kombinasi pretreatment termal dengan asam/basa/oksidatif | Biomassa direndam dengan larutan asam/basa/oksidatif atau kombinasinya untuk kemudian diberi perlakuan termal pada suhu tinggi. | Quintero et al., 2011 |

Pretreatment Biologis

Pretreatment secara biologis menggunakan mikroorganisme pendegradasi kayu dan zat penyusunnya seperti lignin, hemiselulosa, dan selulosa. Kelompok utama mikroorganisme tersebut adalah jamur pembusuk putih dan coklat, serta jamur pembusuk lunak. Mikroorganisme tersebut diketahui mampu merubah komposisi kimia dan struktur biomassa lignoselulosa (Tomas-Pejo *et al.*, 2011). Berbagai jamur pembusuk putih seperti *Phanerochaete chrysosporium*, *Ceriporia lacerata*, *Cyathus stercolerus*, *Ceriporiopsis subvermispora*, *Pycnoporus cinnabarinus*, dan *Pleurotus ostreatus* diketahui mempunyai efisiensi delignifikasi yang tinggi (Sanchez 2009; Keller *et al.*, 2003; Kumar *et al.*, 2009; dan Shi *et al.*, 2009).

Secara umum, kelompok cendawan pembusuk coklat dan pembusuk lunak mendegradasi selulosa dan sedikit memodifikasi lignin. Sedangkan kelompok cendawan pembusuk putih secara aktif mendegradasi komponen lignin. Banyak penelitian akhir-akhir ini yang mencoba untuk mencari organisme yang dapat mendegradasi lignin secara efektif dan spesifik. Cendawan pembusuk putih saat ini dianggap sebagai kelompok yang potensial untuk biopretreatment biomassa (Menon dan Rao 2012).

Berdasarkan Itoh *et al.* (2003) dan Munoz *et al.* (2007) *Pretreatment* secara biologis dapat digabungkan dengan *pretreatment* organosolv pada produksi etanol dengan substrat *Pinus radiata*, *Acacia dealbata* dan potongan kayu. Hasil penelitian mereka menunjukkan bahwa proses delignifikasi secara biologis dan kimiawi dapat berperan sinergis dengan cara meningkatkan sakarifikasi selulosa dan mengurangi proses yang berbahaya.

Beberapa kelebihan *pretreatment* ini adalah: biaya rendah, pemakaian energi yang rendah, tidak menggunakan bahan kimia, dampak terhadap lingkungan sedikit, dan tidak dihasilkan zat inhibitor. Sedangkan kekurangan metode ini adalah masih rendahnya laju hidrolisis yang dihasilkan, sebagian besar mikroorganisme lignolitik mengkonsumsi tidak hanya

lignin tetapi juga hemiselulosa dan selulosa, proses *pretreatment*-nya memerlukan waktu yang lama dan pertumbuhan mikroorganisme perlu terus dikontrol (Menon dan Rao 2012).

4. KESIMPULAN

Dalam proses produksi bioetanol dari bahan lignoselulosa, *pretreatment* termokimia dan hidrolisis enzimatis yang diikuti dengan fermentasi mikroba merupakan proses yang paling banyak dikaji dan diteliti. Jika metode hidrolisis enzimatis dan fermentasi sudah layak secara ekonomi maka sebaliknya dengan metode *pretreatment* karena hingga saat ini belum layak secara ekonomi. Tahap *pretreatment* merupakan kunci suksesnya proses produksi lignoselulosa menjadi bioetanol.

Optimasi *pretreatment* perlu terus dilakukan untuk meningkatkan hasil hidrolisis. Syarat-syarat lain agar suatu metode *pretreatment* dapat dikatakan efisien adalah efisien dalam penggunaan energi, hilangnya gula saat dapat diminimalisir, bahan yang telah di-*pretreatment* mengandung sedikit senyawa inhibitor, jika menggunakan katalis atau bahan kimia maka bahan tersebut harus ramah lingkungan dan jumlahnya sedikit, selain itu proses lain setelah tahap *pretreatment* seperti pencucian atau penetralan harus dapat dihilangkan.

Dari berbagai teknologi *pretreatment* yang tersedia, metode *steam explosion* merupakan teknologi *pretreatment* yang paling mendekati komersialisasi saat ini. Hasil hidrolisis yang tinggi dan dengan biaya yang tidak besar membuat metode ini banyak digunakan oleh perusahaan bioethanol. Kinerja proses ini hanya tergantung pada parameter suhu dan tekanan. Modifikasi pada metode ini mencakup penggunaan katalis atau tanpa katalis, penggunaan reaktor *batch* atau *continuous*.

Selain itu, teknologi *pretreatment* lain yang cukup menjanjikan adalah metode *liquid hot water*. Metode ini mirip *steam explosion*, tetapi tanpa penggunaan tekanan. Proses dekompresi cepat pada

metode *steam explosion* digantikan dengan proses pendinginan yang terkontrol untuk menjaga air tetap pada fase cair. Pada metode ini hemiselulosa dapat dihidrolisis secara sempurna menjadi oligosakarida terlarut dan gula sederhana tanpa penambahan bahan kimia apapun. Metode ini dikatakan lebih efektif karena dapat menghilangkan penggunaan bahan kimia dan tidak ada proses tambahan lain setelah *pretreatment* baik untuk netralisasi ataupun *recovery* bahan kimia.

DAFTAR PUSTAKA

- Asakura Y, Nishida T, Matsuoka T, dan Koda, S. 2008. Effects of ultrasonic frequency and liquid height on sonochemical efficiency of large-scale sonochemical reactors. *Ultrasonics Sonochemistry*, 15(3): 244-250.
- Avellar BK dan Glasser WG. 1998. Steam-assisted biomass fractionation I: process considerations and economic evaluation. *Biomass and Bioenergy* 14 (3), 205–218.
- Balat M, Balat H, dan Oz C. 2008. Progress in bioethanol processing. *Progress in Energy and Combustion Science* 34: 551–573.
- Ballesteros I, Negro MJ, Oliva JM, Cabañas A, Manzanares P, dan Ballesteros M. 2006. Ethanol production from steam-explosion pretreated wheat straw. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 130: 496–508.
- Barta Z, Oliva JM, Ballesteros I, Dienes D, Ballesteros M, dan Réczey K. 2010. Refining hemp hurds into fermentable sugars or ethanol. *Chem. Biochem. Eng. Q.* 24: 331–339.
- Boateng AA, Hicks KB, Flores RA, dan Gutsol A. 2007. Pyrolysis of hull-enriched byproducts from the scarification of hulled barley (*Hordeum vulgare* L.). *Journal of analytical and applied pyrolysis*, 78(1): 95-103.
- Cara C, Ruiz E, Ballesteros I, Negro MJ, Castro E, 2006. Enhanced enzymatic hydrolysis of olive tree wood by steam explosion and alkaline peroxide delignification. *Process Biochem.* 41: 423–429.
- Center for Energy and Mineral Resources Data and Information. 2011. Handbook of Energy & Economic Statistics of Indonesia. Indonesian Ministry of Energy and Mineral Resources. Jakarta.
- Chaudhari AB, Dandi ND, Vadnere NC, Patil UK, dan Chincholkar SB. 2012. Bioethanol: A Critical Appraisal. Di dalam: Satyanarayana T (ed.), *Microorganisms in Sustainable Agriculture and Biotechnology*, 793-824. Springer Science: New York.
- Chen HZ dan Sun FB. 2008. A method for composition separation of straw coupling steam explosion with microwave. China, 200610113216.4.
- Chen Y, Sharma-Shivappa RR, Keshwani D, dan Chen C. 2007. Potential of agricultural residues and hay for bioethanol production. *Applied biochemistry and biotechnology*, 142(3): 276-290.
- Chung BY, Lee JT, Bai HW, Kim UJ, Bae HJ, Wi SG, dan Cho JY. (2012). Enhanced enzymatic hydrolysis of poplar bark by combined use of gamma ray and dilute acid for bioethanol production. *Radiation Physics and Chemistry* 81: 1003–1007.
- Dadi AP, Varanasi S, dan Schall CA. 2006. Enhancement of cellulose saccharification kinetics using an ionic liquid pretreatment step. *Biotechnol. Bioeng.* 95:904–10.
- Direktorat Jenderal Perkebunan. 2011. Luas areal dan produksi perkebunan seluruh Indonesia menurut pengusaha. Kementerian Pertanian RI.
- Earle MJ dan Seddon KR. 2000. Ionic liquids: Green solvents for the future. *Pure and applied chemistry*, 72(7): 1391-1398.
- Garcia-Cubero MT, González-Benito G, Indacochea I, Coca M, dan Bolado S. 2009. Effect of ozonolysis pretreatment on enzymatic digestibility of wheat and rye straw. *Bioresource Technology*, 100(4): 1608-1613.
- Ghosh D dan Hallenbeck PC. 2012. Advanced Bioethanol Production. di dalam: Hallenbeck PC (ed.), *Microbial Technologies in Advanced Biofuels Production*. Springer Science: New York.
- Gírio FM, Fonseca C, Carvalheiro F, Duarte LC, Marques S, dan Bogel-Lukasik R.

2010. Hemicelluloses for fuel ethanol: a review. *Bioresour. Technol.* 101: 4775–4800.
- Goh CS, Tan KT, Lee KT, dan Bhatia S. 2010. Bio-ethanol from lignocellulose: Status, perspectives and challenges in Malaysia. *Bioresource Technology* 101: 4834–4841.
- Gozan M, Samsuri M, Siti F, Bambang P, dan Nasikin M. 2007. Sakarifikasi dan fermentasi bagas menjadi ethanol menggunakan enzim selulase dan enzim sellobiase. *Jurnal Teknologi*, 3: 209–215.
- Hayes DJ, 2009. An examination of biorefining processes, catalysts and challenges. *Catal. Today* 145, 138–151.
- Hendriks AT dan Zeeman G. 2009. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *Bioresource technology*, 100(1): 10–18.
- Herawati DA dan Puspawati N. 2010. Produksi Bioetanol Dari Bagas Melalui Penggunaan Enzim Ekstrasel *Trichoderma* sp. dan Fermentasi *Saccharomyces cerevisiae*. *Biomedika* 3(2): 102–110.
- Itoh H, Wada M, Honda Y, Kuwahara M. 2003. Bioorganosolve pretreatments for simultaneous saccharification and fermentation of beech wood by ethanolysis and white rot fungi. *J. Biotechnol.* 103, 273–280.
- Jin SY dan Chen HZ. 2007. Fractionation of fibrous fraction from steam exploded rice straw. *Process Biochem* 42:188–92.
- Keller FA, Hamilton J, Nguyen QA. 2003. Microbial pretreatment of biomass. *Appl. Biotechnol. Bioeng.* 105: 27–41.
- Kementerian Energi dan Sumber Daya Mineral, Blue Print Pengelolaan Energi Nasional 2005–2025. Pola Pikir Pengelolaan Energi Nasional, 2005.
- Kim JS, Park SC, Kim JW, Park JC, Park SM, dan Lee JS. 2010. Production of bioethanol from lignocellulose: Status and perspectives in Korea. *Bioresource Technology* 101: 4801–4805.
- Kovacs K, Macrelli S, Szakacs G, dan Zacchi G. 2009. Enzymatic hydrolysis of steam-pretreated lignocellulosic materials with *Trichoderma atroviride* enzymes produced in-house. *Biotechnology for biofuels*, 2(1), 14.
- Kumar P, Barrett DM, Delwiche MJ, Stroeve P. 2009. Methods for pretreatment of lignocellulosic biomass for efficient hydrolysis and biofuel production. *Ind. Eng. Chem. Res.* 48, 3713–3729.
- Kunimitsu Y dan Ueda T. 2013. Economic and environmental effects of rice-straw bioethanol production in Vietnam. *Paddy Water Environ* 11:411–421.
- Lee JS. 2009. Recent Developments on Biofuels Technology. In Proceedings of ISES World Congress 2007 (Vol. I–Vol. V) (pp. 83–86). Springer Berlin Heidelberg.
- Li Q, He YC, Xian M, Jun G, Xu X, Yang JM, dan Li LZ. 2009. Improving enzymatic hydrolysis of wheat straw using ionic liquid 1-ethyl-3-methyl imidazolium diethyl phosphate pretreatment. *Bioresource Technology*, 100(14), 3570–3575.
- Luque R, et. al., 2010. Biofuels for Transport: Prospects and Challenges. Di dalam: Shah V (ed.), Emerging Environmental Technologies. Springer Science: New York .
- Lu Y dan Mosier NS. 2008. Current Technologies for Fuel Ethanol Production from Lignocellulosic Plant Biomass. Di dalam: Vermerris W (ed.), Genetic Improvement of Bioenergy Crops. Springer Science: New York.
- Macrelli S, Mogensen J, dan Zacchi G. 2012. Techno-economic evaluation of 2nd generation bioethanol production from sugar cane bagasse and leaves integrated with the sugar-based ethanol process. *Biotechnology for Biofuels* 5 (22): 1–18.
- Mais U, Esteghlalian AR, Saddler JN, dan Mansfield SD. 2002. Enhancing the enzymatic hydrolysis of cellulosic materials using simultaneous ball milling. *Applied biochemistry and biotechnology*, 98(1): 815–832.
- Mäki-Arvela P, Anugwom I, Virtanen P, Sjöholm R, dan Mikkola JP. 2010. Dissolution of lignocellulosic materials and its constituents using ionic liquids—A review. *Industrial Crops and Products*, 32(3): 175–201.

- Martin C, Galbe M, Wahlbom CF, Hahn-Hagerdal B, dan Jonsson LJ, 2002. Ethanol production from enzymatic hydrolysates of sugarcane bagasse using recombinant xylose-utilising *Saccharomyces cerevisiae*. *Enzyme Microb. Technol.* 31: 274–282.
- Menon V dan Rao M. 2012. Trends in bioconversion of lignocellulose: Biofuels, platform chemicals & biorefinery concept. *Progress in Energy and Combustion Science* 8(4): 522–550.
- Misson M, Haron R, Kamaroddin MFA, dan Amin NAS. 2009. Pretreatment of empty palm fruit bunch for production of chemicals via catalytic pyrolysis. *Bioresource technology*, 100(11): 2867–2873.
- Mosier N, Wyman C, Dale B, Elander R, Lee YY, Holtzapple M, dan Ladisch M.. 2005. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource technology*, 96(6): 673–686.
- Munoz C, Mendonça R, Baeza J, Berlin A, Saddler J, dan Free J. 2007. Bioethanol production from bioorganosolv pulps of *Pinus radiata* and *Acacia dealbata*. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 82: 767–774.
- Olivier-Bourbigou H, Magna L, dan Morvan D. 2010. Ionic liquids and catalysis: Recent progress from knowledge to applications. *Applied Catalysis A: General*, 373(1): 1–56.
- Park N, Kim HY, Koo BW, Yeo H, dan Choi IG. 2010. Organosolv pretreatment with various catalysts for enhancing enzymatic hydrolysis of pitch pine (*Pinus rigida*). *Bioresource technology*, 101(18): 7046–7053.
- Peraturan Presiden Republik Indonesia Nomor 5 Tahun 2006. Tentang Kebijakan Energi Nasional. Jakarta
- Pérez JA, Ballesteros I, Ballesteros M, Sáez F, Negro MJ, dan Manzanares P. 2008. Optimizing Liquid Hot Water pretreatment conditions to enhance sugar recovery from wheat straw for fuel-ethanol production. *Fuel* 87, 3640–3647.
- Pirraglia A, Gonzalez R, Denig J, dan Saloni D. 2012. Technical and Economic Modeling for the Production of Torrefied Lignocellulosic Biomass for the US Densified Fuel Industry. *Bioenergy Research*, 1–13.
- Pusat Data dan Informasi ESDM. 2011. Handbook of energy & economic statistics of indonesia. Kementerian Energi dan Sumberdaya Mineral. Jakarta
- Quintero JA, Rincón LE, Cardona CA. 2011. Production of bioethanol from agro-industrial residues as feedstocks. Di dalam Pandey A (ed.): *Biofuels: Alternative Feedstocks and Conversion Processes*. Elsevier Inc. USA.
- Ramos LP. 2003. The chemistry involved in the steam treatment of lignocellulosic materials. *Quimica Nova*, 26(6), 863–871.
- Rocha MVP, Rodrigues THS, de Macedo GR, dan Gonçalves LR. 2009. Enzymatic hydrolysis and fermentation of pretreated cashew apple bagasse with alkali and diluted sulfuric acid for bioethanol production. *Applied biochemistry and biotechnology*, 155(1): 104–114.
- Samsuri M, et. al. 2007. Pemanfaatan sellulosa bagas untuk produksi ethanol melalui sakarifikasi dan fermentasi serentak dengan enzim xylanase. *Makara, Teknologi*, 11 (1): 17–24.
- Sanchez C. 2009. Lignocellulosic residues: biodegradation and bioconversion by fungi. *Biotechnol. Adv.* 27: 185–194.
- Shamsudin S, et al. 2011. Effect of steam pretreatment on oil palm empty fruit bunch for the production of sugars. *Biomass and Bioenergy*. 36: 280–288.
- Shi J, Sharma-Shivappa RR, Chinn M, dan Howell N. 2009. Effect of microbial pretreatment on enzymatic hydrolysis and fermentation of cotton stalks for ethanol production. *Biomass Bioenerg.* 33: 88–96.
- Silverstein RA, Chen Y, Sharma-Shivappa RR, Boyette MD, dan Osborne J. 2007. A comparison of chemical pretreatment methods for improving saccharification of cotton stalks. *Bioresource Technology*, 98(16): 3000–3011.
- Sudiyani Y, Heru R, dan Alawiyah S. 2010. Pemanfaatan biomassa limbah

- lignoselulosa untuk bioetanol sebagai sumber energi baru terbarukan. *Ecolab* 4 (1): 1-54.
- Sun R, Lawther JM, dan Banks WB. 1995. Influence of alkaline pre-treatments on the cell wall components of wheat straw. *Industrial crops and products*, 4(2): 127-145.
- Swatloski RP, Spear SK, Holbrey JD, dan Rogers RD. 2002. Dissolution of cellulose with ionic liquids. *Journal of the American Chemical Society*, 124(18): 4974-4975.
- Taherzadeh MJ dan Karimi K. 2008. Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: A Review. *Int. J. Mol. Sci.* 9: 1621-1651.
- Tan L, Yu Y, Li X, Zhao J, dan Qu Y. 2012. Pretreatment of empty fruit bunch from oil palm for fuel ethanol production and proposed biorefinery process. *Bioresource Technology*, in press.
- Thakur S, Shrivastava B, Ingale S, Kuhad RC, dan Gupte A. 2012. Degradation and selective ligninolysis of wheat straw and banana stem for an efficient bioethanol production using fungal and chemical pretreatment. *3 Biotech*: 1-8.
- Thomsen MH dan Haugaard-Nielsen, H. 2008. Sustainable bioethanol production combining biorefinery principles using combined raw materials from wheat undersown with clover-grass. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*, 35(5): 303-311.
- Tian S, Luo XL, Yang XS, dan Zhu JY. 2010. Robust cellulosic ethanol production from SPORL-pretreated lodgepole pine using an adapted strain *Saccharomyces cerevisiae* without detoxification. *Bioresour. Technol.* 101: 8678-8685.
- Timilsena YP, Abeywickrama CJ, Rakshit SK, dan Brosse N. 2012. Effect of different pretreatments on delignification pattern and enzymatic hydrolysability of miscanthus, oil palm biomass and typha grass. *Bioresource Technology*, in press.
- Tomas-Pejo E, Alvira P, Ballesteros M, Negro MJ. 2011. Pretreatment Technologies for Lignocellulose-to-Bioethanol Conversion. Di dalam Pandey A (ed.), *Biofuels: Alternative Feedstocks and Conversion Processes*, pp: 149-176.
- United States Energy Information Administration (US EIA). Annual Energy Outlook 2012.
- Vermerris W. 2008. Why Bioenergy Makes Sense. di dalam: Vermerris W (ed.), *Genetic Improvement of Bioenergy Crops*. Springer Science: New York.
- Viola E, Cardinale M, Santarcangelo R, Villone A, dan Zimbardi F. 2008. Ethanol from eel grass via steam explosion and enzymatic hydrolysis. *Biomass Bioenerg.* 32: 613-618.
- Xu J, Thomsen MH, dan Thomsen AB. 2010. Feasibility of hydrothermal pretreatment on maize silage for bioethanol production. *Applied biochemistry and biotechnology*, 162(1): 33-42.
- Yamashita Y, Shono M, Sasaki C, dan Nakamura Y. 2010. Alkaline peroxide pretreatment for efficient enzymatic saccharification of bamboo. *Carbohydr Polym* 79:914-20.
- Yang M, Li W, Liu B, Li Q, dan Xing J. 2010. High-concentration sugars production from corn stover based on combined pretreatments and fed-batch process. *Bioresour. Technol.* 101: 4884-4888.
- Yoon LW, Ngoh GC, Chua M, Seak A, dan Hashim M. 2011. Comparison of ionic liquid, acid and alkali pretreatments for sugarcane bagasse enzymatic saccharification. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 86(10): 1342-1348.
- Yunus R, Salleh SF, Abdullah N, dan Biak DRA. 2010. Effect of ultrasonic pretreatment on low temperature acid hydrolysis of oil palm empty fruit bunch. *Bioresource technology*, 101(24): 9792-9796.
- Zanin GM. Brazilian Bioethanol Program. 2000. *Appl. Biochem. Biotech.* 84, 1147-1162.
- Zhao H, Baker GA, dan Cowins JV. 2010. Fast enzymatic saccharification of switchgrass after pretreatment with ionic liquids. *Biotechnol. Prog.* 26: 127-133.

- Zhao X, Cheng K, dan Liu D. 2009. Organosolv pretreatment of lignocellulosic biomass for enzymatic hydrolysis. *Applied microbiology and biotechnology*, 82(5): 815-827.
- Zhao Y, Wang Y, Zhu JY, Ragauskas A, dan Deng Y. 2008. Enhanced enzymatic hydrolysis of spruce by alkaline pretreatment at low temperature. *Biotechnol Bioeng* 99:1320-1328.
- Zhu S, et al. 2006. Comparison of three microwave/chemical pretreatment processes for enzymatic hydrolysis of rice straw. *Biosystems engineering*, 93(3), 279-283.
- Zhu JY, Pan XJ, Wang GS, dan Gleisner R. 2009. Sulfite pretreatment (SPORL) for robust enzymatic saccharification of spruce and red pine. *Bioresour. Technol.* 100: 2411–2418.