

Review:
**Pengolahan Awal Lignoselulosa Menggunakan Amoniak Untuk
 Meningkatkan Perolehan Gula Fermentasi**

Silvi Octavia^{1,2}, Tatang H. Soerawidjaja¹, Ronny Purwadi¹, I.D.G. Arsa Putrawan¹

¹ Program Studi Teknik Kimia, Institut Teknologi Bandung, Bandung

² Jurusan Teknik Kimia, Universitas Bung Hatta, Padang

e-mail: silviocetavia@yahoo.com

Abstract

Salah satu kendala utama dalam pemanfaatan lignoselulosa sebagai bahan mentah bioetanol adalah tingginya biaya yang dibutuhkan dalam proses pengolahan awal (pretreatment) untuk mempersiapkan lignoselulosa tersebut agar mudah dihidrolisis oleh enzim menjadi monomer-monomer gulanya (gula fermentasi). Para peneliti berupaya mengembangkan teknologi pretreatment, diantaranya dengan menggunakan asam, basa, ataupun mikroorganisme. Tetapi sangat disayangkan teknologi yang banyak berkembang menggunakan kondisi-kondisi ekstrim (temperatur, tekanan dan konsentrasi pelarut yang tinggi), sehingga dibutuhkan peralatan yang mahal. Hal ini dinilai tidak cocok untuk dikembangkan di negara berkembang seperti Indonesia. Oleh karena itu, penelitian diarahkan kepada pemanfaatan teknologi yang dapat menurunkan biaya, dengan beberapa syarat antara lain bahan kimia dapat dijumpai dan digunakan lagi, dan beroperasi pada kondisi ruang. Salah satu teknologi yang diharapkan dapat memenuhi persyaratan ini adalah teknologi perendaman menggunakan amoniak pada tekanan dan temperatur ruang (solution soaking with aqueous-ammonia, SAA). Teknologi ini masih baru, sehingga perlu diteliti dan dikembangkan, terutama pemanfaatannya pada berbagai macam sumber lignoselulosa yang ada di Indonesia. Bagaimanapun, hasil penelitian menunjukkan peningkatan perolehan gula hasil hidrolisis enzim yang cukup signifikan, dan kedepannya diharapkan dapat menurunkan biaya pengolahan.

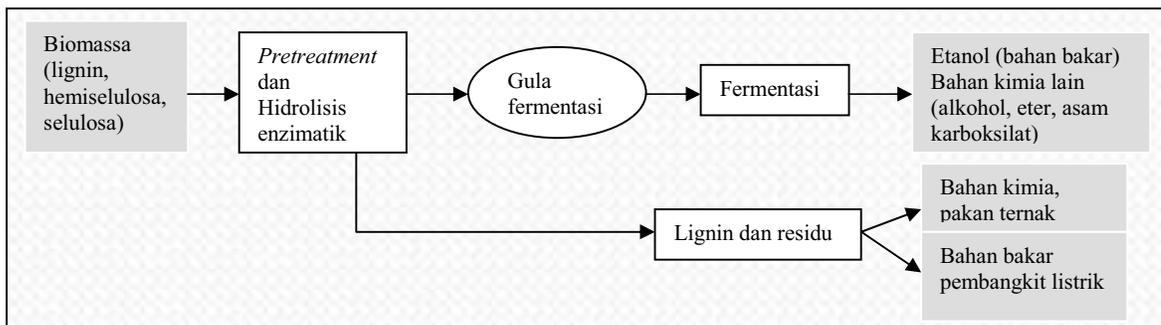
Keywords: lignoselulosa, pretreatment, hidrolisis enzim, gula fermentasi, SAA.

Pendahuluan

Ketergantungan akan energi minyak bumi telah memberikan dampak terhadap perubahan iklim dunia. Oleh karena itu, banyak penelitian yang mengarah pada pemanfaatan energi yang berasal dari sumber energi terbarukan, salah satunya adalah biomassa (bahan berlignoselulosa), sebagai bahan mentah pembuatan bioetanol (gambar 1). Dengan menggunakan lignoselulosa biomassa sebagai bahan mentah bioetanol dapat mengurangi kelangkaan atau persaingan dengan bahan pangan dan memberikan tantangan tersendiri karena perbedaan struktur dinding selnya yang lebih kompleks (Silverstein dkk., 2007).

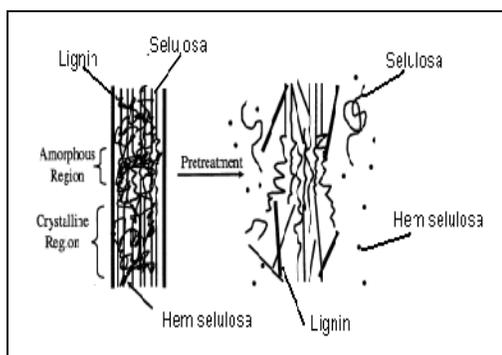
Keuntungan lain lain penggunaan bahan ini adalah keberadaannya yang melimpah, tidak menghasilkan emisi gas rumah kaca seperti halnya bahan bakar minyak bumi, dan energi berkelanjutan (Kumar dkk., 2009; Akhtar dkk. 2010).

Indonesia merupakan penghasil biomassa yang cukup melimpah, baik yang berasal dari limbah pertanian, limbah perkebunan, limbah industri, maupun limbah rumah tangga, contohnya tandan kosong sawit, tongkol jagung, bagas tebu, bagas sorgum manis, dan dedak padi. Dengan demikian Indonesia memiliki peluang yang besar dalam pengembangan teknologi konversi biomassa menjadi sumber energi.



Gambar 1. Skema aliran pemanfaatan bahan lignoselulosa sebagai bahan mentah bioetanol, bahan kimia, pakan ternak, dan energi.

Perancangan dan implementasi teknologi perangkat dari konversi gula sederhana melalui proses fermentasi, hingga konversi multi tahap bahan lignoselulosa menjadi bioetanol. Kunci dari semua penelitian dibidang ini adalah untuk mengurangi biaya proses sehingga meningkatkan daya saing bioetanol terhadap bahan bakar minyak bumi (gasoline). Faktor utama yang menjadi penyebab adalah tingginya tingkat kekompleksan yang menjadi sifat dalam pemrosesan bahan ini, sehingga membutuhkan pengolahan awal (*pretreatment*) untuk merubah struktur dan komposisi kimia dari lignoselulosa untuk memfasilitasi kecepatan dan efisiensi hidrolisis karbohidat menjadi gula fermentasi, seperti yang ditunjukkan oleh gambar 2 (Mosier dkk., 2005). Dengan kata lain *pretreatment* merupakan kunci penting (Kim dan Lee, 2006) dan dinilai merupakan salah satu langkah proses yang mahal pada proses konversi biomassa menjadi bioetanol, sehingga sangat potensial untuk dikembangkan agar lebih efisien dan ekonomis (Lee dkk., 1994; Lynd dkk., 1996), dan merupakan subjek pada artikel ini.



Gambar 2. Skema pengolahan awal biomassa (adaptasi dari Hsu dkk., 1980)

Karakteristik Bahan Lignoselulosa

Bahan lignoselulosa mempunyai kandungan utama tiga macam polimer yang berbeda, yang dikenal dengan lignin, hemiselulosa, dan selulosa, yang saling berikatan membentuk satu kesatuan yang utuh (Sjöström, 1998; Pérez dkk., 2002). Besarnya kandungan masing-masing komponen bergantung pada jenis biomassa, umur, dan kondisi lingkungan tempat biomassa tersebut tumbuh dan berkembang, ditunjukkan oleh tabel 1 (Jørgensen dkk., 2007).

Selulosa ($C_6H_{10}O_5$)_n merupakan komponen utama lignoselulosa berupa mikrofibril, mikrofibril homopolisakarida yang terdiri atas unit-unit β-D-glukopiranososa yang terhubung melalui ikatan glikosidik (1→4). Struktur selulosa secara umum berbentuk kristalin, tetapi terdapat juga bagian-bagian yang berbentuk amorph. Tingkat kekristalan selulosa mempengaruhi kemampuan hidrolisis baik secara enzimatik ataupun bahan kimia lain.

Sumber karbohidrat lain yang terkandung dalam bahan lignoselulosa adalah hemiselulosa atau

yang dikenal juga dengan poliosa, karena terdiri atas berbagai macam gula monomer, yaitu pentose (ksilosa, rhamnosa, dan arabinosa); heksosa (glukosa, manosa, dan galaktosa); dan asam uronik (4-O-metilglukoronik, D-glukoronik, dan D-galaktoronik). Hemiselulosa mempunyai rantai polimer yang pendek dan tak berbentuk, sehingga sebagian besar dapat larut dalam air (Ibrahim, 1998). Oleh karena itu, hemiselulosa relatif mudah dihidrolisis oleh asam menjadi monomer-monomernya.

Tabel 1. Besarnya kadungan dari berbagai jenis biomassa (adaptasi dari Howard dkk, 2003).

Biomassa	Lignin (%)	Hemisel. (%)	Selulosa (%)
Hardwood	18-25	24-40	40-55
Softwood	25-35	25-35	45-50
Kulit kacang	30-40	25-30	25-30
Tongkol jagung	15	35	45
Kertas	0-15	0	85-99
Jerami gandum	15	50	30
Jerami padi	18	24	32,1
Dedaunan	0	80-85	15-20
Biji kapas	0	5-20	80-95
Kertas koran	18-30	25-40	40-55
Bagas	18,9	30	33,4
Rerumputan	10-30	25-50	25-40

Struktur molekul lignin sangat berbeda bila dibandingkan polisakarida karena terdiri atas sistem aromatik yang tersusun atas unit-unit fenilpropana: unit *guaiacyl* (G) dari prekursor *trans*-koniferil alkohol, unit *syringyl* (S) dari prekursor *trans*-sinapil alkohol, dan *p*-hidroksifenil (H) dari prekursor *trans*-*p*-kumaril alkohol (Palonen, 2004). Lignin dapat dinyatakan dengan rumus $C_9H_{7,16}O_{2,44}(OCH_3)_{1,36}$ per unit fenilpropana (Fengel dan Wegener, 1984). Lignin dapat membentuk ikatan kovalen dengan beberapa komponen hemiselulosa, seperti ikatan benzyl ester dengan grup karboksil dari asam 4-O- metal-D-glukoronik dalam ksilan. Ikatan eter yang lebih stabil, yang dikenal dengan nama *lignin carbohydrate complexes* (LCC) yang terbentuk antara lignin dengan grup arabinosa atau galaktosa dalam ksilan atau manan (Kuhad dkk., 1997). Oleh karena itu lignin sangat sulit untuk didegradasi. Sehingga keberadaannya memberikan bentuk lignoselulosa yang kompleks dan menghambat degradasi selulosa oleh mikroba ataupun bahan kimia lainnya (Aguado dkk., 2006; Boateng dkk., 2006; Balat dkk., 2008; Misson dkk., 2009).

Pretreatment Lignoselulosa

Tantangan utama proses produksi bioetanol dari biomassa adalah *pretreatment* bahan mentah. *Pretreatment* ini dimaksudkan untuk meningkatkan kemampuan area permukaan (porositas) selulosa sehingga dapat meningkatkan konversi selulosa menjadi glukosa (gula fermentasi). Metoda yang

banyak digunakan untuk memecah rantai selulosa menjadi glukosa adalah hidrolisis dengan asam dan enzim. Masing-masing metoda mempunyai keuntungan dan kelemahan, tetapi faktor utama yang harus diperhatikan adalah pemakaian energi yang rendah dan rendahnya polusi yang dihasilkan dari proses tersebut. Hidrolisis enzim dipercaya mampu memenuhi persyaratan tersebut, karena proses ini bekerja pada kondisi yang menengah (mild condition) sehingga tidak memerlukan energi yang besar, menghindari penggunaan bahan kimia yang beracun dan korosif (Sharma dkk., 2002).

Struktur lignoselulosa yang tersusun atas matrix selulosa dan lignin yang berikatan melalui rantai hemiselulosa, harus dipecah sehingga lebih mudah diserang oleh enzim selama proses hidrolisis (Laureano-Perez dkk., 2005). Faktor-faktor yang mempengaruhi kemampuan enzim menghidrolisis bahan lignoselulosa diantaranya kandungan lignin dan hemiselulosa dan tingkat kekristalan selulosa. Oleh karena itu *pretreatment* diperlukan untuk (1) menghilangkan lignin dan hemiselulosa, (2) menurunkan tingkat kekristalan selulosa sehingga meningkatkan fraksi amorph selulosa, dan (3) meningkatkan porositas material (Sánchez dan Cardona, 2007; Zhu dkk., 2008; Hsu dkk., 2010). *Pretreatment* juga harus bisa meningkatkan kemampuan pembentukan gula selama proses hidrolisis, menghalangi terbentuknya inhibitor pada hidrolisis berikutnya dan selama proses fermentasi, menghalangi kehilangan karbohidrat, dan biaya yang efektif (Sun dan Cheng, 2005; Kumar dan Wyman, 2009).

Beberapa teknologi *pretreatment* yang telah banyak digunakan dan dikembangkan antara lain (1) secara fisika (mekanik dan pirolisis) (Sun dan Cheng, 2002; Karagöz dkk., 2005), (2) fisika kimia (*steam explosion*, *liquid hot water*, *CO₂ explosion*, dan ammonia fiber *explosion/AFEX*) (Dale dkk., 1996; Ballesteros dkk., 2006; Öhgren dkk., 2007; Li dkk., 2010), (3) kimia (alkali, larutan asam, pelarut organik) (Saha, dkk., 2005; Dien dkk., 2006; Karr dan Holtzaple, 2000; Kim dan Holtzaple, 2005), (4) biologi (jamur) (Tengerdy dan Szakacs, 2003; Itoh dkk., 2003), dan (5) kombinasi dari proses diatas (Mabee, 2006; Huang, 2007; Minowa, 1998).

Perkembangan teknologi *pretreatment* dewasa ini mengarah pada teknologi yang efektif, hemat energi dan hemat biaya. Salah satu teknologi yang ditawarkan adalah perendaman dalam larutan amoniak pada temperatur ruang (SAA/*soaking in aqueous ammonia*). Reagen ini efektif untuk menghilangkan lignin dari biomassa dengan reaksi utama menghidrolisis ikatan eter. Penggunaan reagen ini menawarkan beberapa keuntungan: (1) mempunyai selektifitas yang tinggi terhadap lignin, (2) mempertahankan karbohidrat dalam bentuk aslinya, (3) memperlihatkan efek pengembangan lignoselulosa yang signifikan, (4) interaksi yang

sangat sedikit dengan hemiselulosa, dan (5) sangat *volatile* sehingga mudah dijumpit kembali (Kim dkk., 2003; Zhu dkk., 2006; Kim dkk., 2008; Ko dkk., 2009).

Kemampuan reagen ini bergantung kepada jenis biomassa. SAA sangat efektif digunakan untuk bahan dengan kandungan lignin yang rendah, contohnya limbah pertanian ataupun herbaceous biomass, tetapi tidak untuk bahan berkayu yang mengandung lignin yang tinggi (Gupta dkk., 2007). Karena itu biomassa yang paling banyak dipakai oleh para peneliti yang menggunakan metoda ini diantaranya switchgrass, dedak padi, jerami padi, tongkol jagung, dan gandum. Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh beberapa ahli disarikan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Beberapa hasil penelitian menggunakan SAA pada berbagai kondisi (temperatur, komposisi, konsentrasi amoniak)

Peneliti	Bahan	Delignifikasi (%)	Glukosa (%)
Cao dkk., 1996	Tongkol jagung	80 - 90	92
Kim dan Lee, 2005	<i>Corn stover</i>	55 - 74	65 - 97
Kim dkk., 2008	<i>Barley hull</i>	50 - 60	83
Isci dkk., 2008	<i>Switchgrass</i>	40 - 50	SSF, hasil 72% etanol
Ko dkk., 2009	Jerami padi	35 - 60	71,1
Li dkk., 2010	<i>Corn stover</i>	45 - 61	81% <i>xylan digestibility</i>
Rémond dkk., 2010	<i>Wheat straw</i>	38	39 - 54
Salvi dkk., 2010	Sorgum	44	84
Gupta dan Lee, 2010	<i>Switchgrass</i>	65	54
Silvi, dkk., 2010	Tandan kosong sawit	18 - 24	79

Dari table 2 dapat dilihat bahwa para peneliti dewasa ini tertarik dengan proses pengolahan awal menggunakan amoniak karena keuntungan-keuntungan seperti yang telah diuraikan diatas. Walaupun proses ini sudah sejak lama diketahui, tetapi baru mulai dikembangkan oleh Cao dkk. pada tahun 1996. Cao dkk. memperlihatkan hasil yang menggembirakan, sehingga penelitian akhirnya mengarah pada metoda ini dengan menggunakan biomassa yang berbeda.

Secara keseluruhan, dari table 2 diketahui bahwa terjadi peningkatan hasil perolehan gula fermentasi (baik glukosa ataupun ksilosa). Jika diaplikasikan di Indonesia, dimana Indonesia merupakan penghasil tongkol jagung ataupun *corn stover*, jerami padi, dan tandan kosong sawit yang melimpah, maka Indonesia berpotensi untuk memproduksi bioetanol dalam skala yang besar. Hal ini dapat mengurangi ketergantungan pada bahan

bakar minyak bumi yang harganya semakin meningkat, mengurangi emisi, dan menjadi solusi dalam menangani sampah (limbah) setelah panen.

Sekalipun bahan lignoselulosa berpotensi sebagai *feedstock* yang menjanjikan sebagai bahan mentah bioetanol, tetapi masih belum bisa diterapkan untuk skala komersial. *Pretreatment* dipandang sebagai langkah proses yang paling banyak membutuhkan biaya, US\$0,3/gallon bioetanol (Mosier dkk., 2005), dan harga enzim diperkirakan US\$0.15/gallon bioetanol (Eggeman dan Elander, 2005). Oleh karena itu, penelitian-penelitian yang mengarah pada penurunan biaya *pretreatment* masih terus dikembangkan. Sebagai pembandingan, biaya produksi bioetanol di Amerika dengan bahan mentah jagung pada kisaran US\$1,65/gallon, dan Brazil pada rentang US\$0,68 – US\$0,95/gallon dengan bahan mentah nira tebu (Balat dkk., 2008).

Walaupun dari aspek ekonomi belum dapat dibuktikan, tetapi metoda ini mempunyai prospek yang baik untuk dikembangkan mengingat (1) harga bahan mentah yang dapat dinilai nol karena merupakan limbah, dan (2) proses berlangsung pada atmosferik (temperatur) ruang sehingga mudah dikerjakan dan tidak memerlukan peralatan canggih dan mahal. Kedepannya diharapkan dapat mengatasi permasalahan bangsa dalam hal penyediaan bahan bakar, penanganan limbah biomassa, dan peningkatan ekonomi masyarakat.

Kesimpulan

Bioetanol dapat diproduksi dari bahan lignoselulosa (biomassa). Lignoselulosa merupakan bahan yang mengandung karbohidrat yang berlimpah yaitu berupa selulosa dan hemiselulosa. Bahan ini dapat dikonversi menjadi energi ataupun bahan kimia lainnya. Tetapi keberadaannya dialam bersamaan dengan lignin yang membungkus matrix selulosa dan hemiselulosa, sehingga dalam pemanfaatannya memerlukan pengolahan awal (*pretreatment*) untuk membuka akses bagi enzim atau bahan kimia mencapai selulosa ataupun hemiselulosa dan mendegradasi menjadi monomer-monomer gula (gula fermentasi).

Biaya produksi pengolahan bioetanol dari biomassa saat ini masih dinilai sangat tinggi, dimana *pretreatment* memberikan kontribusi yang besar dalam perhitungan keekonomisan proses ini. Oleh karena itu para ahli mulai mencari dan mengembangkan proses *pretreatment* yang dinilai mampu menurunkan harga produksi melalui penghematan energi dan biaya.

Salah satu proses yang dilirik adalah *pretreatment* dengan menggunakan amoniak. Dari beberapa hasil penelitian yang menggunakan metoda ini, dapat dilihat adanya peningkatan perolehan gula fermentasi sehingga dapat meningkatkan perolehan bioetanol. Walaupun harga amoniak juga masih dapat dianggap mahal,

tetapi karena beberapa keuntungan yang ditawarkan oleh penggunaan bahan ini, terutama sifatnya yang mudah menguap sehingga dapat dijumpit dan digunakan kembali, maka diharapkan proses ini dapat menekan biaya produksi. Sayangnya hingga saat ini belum ada yang mengkaji keefektifan proses ini dari segi ekonomi.

Daftar Pustaka

- Aguado, J, Serrano, D.P, Miguel, G.S., Castro, M.C., dan Madrid, S., 2006, Feedstock Recycling in A Two Step Thermo Catalytic Reaction System, *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 79, 415-423.
- Akhtar, J., Kuang, S.K., dan Saidina-Amin, N., 2010, Liquefaction of Empty Palm Fruit Bunch (EPFB) in Alkaline Hot Compressed Water, *Renewable Energy*, 35, 1220-1227.
- Balat, M., Balat, H., dan Öz, C., 2008, Progress in Bioethanol Processing, *Progress In Energy And Combustion Science*, 34, 551-573.
- Ballesteros, I., Negro, M.J., Olivia, J.M., Cabanas, A., Manzanares, P., dan Ballesteros, M., 2006., Ethanol Production from Steam Explosion Pretreated Wheat Straw, *Applied Biochem. Biotechnol.*, 70-72, 3-15.
- Boateng, A.A., Hicks, K.B., Flores, R.A., dan Gutsol, A., 2006, Pyrolysis of Hull Enriched Byproducts from The Saccharification of Hull Barley (*Hordeum vulgare* L.), *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 78, 95-103.
- Cao, N.J., Krishnan, M.S., Du, J.X., dan Gong, C.S., 1996, Ethanol Production from Corn Cob Pretreated by The Ammonia Steeping Process Using Genetically Engineered Yeast, *Biotechnology Letters*, 18(9), 1013-1018.
- Dale, B.E., Leong, C.K., Pham, T.K., Esquivel, V.M., Rios, I., dan Latimer, V.M., 1996, Hydrolysis of Lignocellulose at Low Enzyme Levels: Application of The AFEX Process, *Bioresource Technology*, 56, 111-116.
- Dien, B.S., Jung, H.J.G., Vogel, K.P., Casler, M.D., Lamb, J.F.S., Iten, L., Mitchell, R.B., dan Sarath, G., 2006, Chemical Composition and Response to Dilute-acid Pretreatment and Enzymatic Saccharification of Alfalfa, Reed Canarygrass, and Switchgrass, *Biomass Bioenergy*, 30, 880-891.
- Eggeman, T., dan Elander, R.T., 2005, Process and Economic Analysis of Pretreatment Technologies, *Bioresource Technology*, 96, 2019-2025.
- Fengel, D. dan Wegener, G., 1984. Kayu; Kimia, Ultrastruktur, Reaksi-reaksi. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.

- Gupta, R., Kim, T.H., dan Lee, Y.Y., 2007, Substrate Dependency and Effect of Xylanase Supplementation on Enzymatic Hydrolysis of Ammonia-treated Biomass, *Applied Biochem. Biotechnol.*, 148 (1-3), 59-70.
- Gupta R., dan Lee, Y.Y., 2010, Investigation of Biomass Degradation Mechanism in Pretreatment of Switchgrass by Aqueous Ammonia and Sodium Hydroxide, *Bioresource Technology*, 101, 8185-8191.
- Howard, R.L., Abotsi, E., Jansen van Rensburg, E.L., dan Howard, S., 2003, Lignocellulose Biotechnology: Issues of Bioconversion and Enzyme Production, *African Journal of Biotechnology*, 2 (12), 602-619.
- Hsu, T.A., Ladisch, M.R., dan Tsao, G.T., 1980, Alcohol from Cellulose, *Chemical Technology*, 10 (5), 315-319.
- Hsu, T.C., Guo, G.L., Chen W.H., dan Hwang, W.S., 2010, Effect of Dilute Acid Pretreatment of Rice Straw on Structural Properties and Enzymatic Hydrolysis, *Bioresource Technology*, 101, 4907-4913.
- Huang, G., Shi, J.X., dan Langrish, T.A.G., 2007, NH₄OH-KOH Pulping Mechanism and Kinetics of Rice Straw, *Bioresource Technology*, 98, 1218-1223.
- Ibrahim, M., 1998, Clean Fractionation of Biomass - Steam Explosion and Extraction, *Faculty of The Virginia Polytechnic Institute and State University*.
- Isci, A., Himmelsbach, J.N., Pometto III, A.L., Raman, D.R., dan Anex, R.P., 2008, Aqueous Ammonia Soaking of Switchgrass Followed by Simultaneous Saccharification and Fermentation, *Applied Biochem. Biotechnol.*, 144, 69-77.
- Itoh, H., Wada, M., Honda, Y., Kuwahara, M., dan Watanabe, T., 2003, Bioorganosolve Pretreatment for Simultaneous Saccharification and Fermentation of Beech Wood by Ethanolysis and White Rot Fungi, *Journal of Biotechnology*, 103, 273-280.
- Jørgensen, H., Kristensen, J.B., dan Felby, C., 2007, Enzymatic Conversion of Lignocellulose into Fermentable Sugars: Challenges and Opportunities, *Biofuels, Bioproducts & Biorefining*, 1, 119-134.
- Karagöz, S., Bhaskar, T., Muto, A., Sakata, Y., Oshiki, T., dan Kishimoto, T., 2005, Low-temperature Catalytic Hydrothermal Treatment of Woody Biomass: Analysis of Liquid Products, *Chemical Engineering Journal*, 108, 127-137.
- Karr, W.E. dan Holtzapple, M.T., 2000, Using Lime Pretreatment to Facilitate The Enzymatic Hydrolysis of Corn Stover, *Biomass Bioenergy*, 18, 189-199.
- Kim, S., dan Holtzapple, M.T., 2005, Lime Pretreatment and Enzymatic Hydrolysis of Corn Stover, *Bioresource Biotechnology*, 96, 1994-2006.
- Kim, T.H., Kim, J.S., Sunwoo, C., dan Lee, Y.Y., 2003, Pretreatment of Corn Stover by Aqueous Ammonia, *Bioresource Technology*, 90, 39-47.
- Kim T.H., dan Lee, Y.Y., 2005, Pretreatment of Corn Stover by Soaking in Aqueous Ammonia, *Applied Biochem. Biotechnol.*, 121-124, 1119-1132.
- Kim, T.H., dan Lee, Y.Y., 2006, Fractionation of Corn Stover by Hot-water and Aqueous Ammonia Treatment, *Bioresource Technology*, 97, 224-232.
- Kim, T.H., Taylor, F., dan Hicks, K.B., 2008, Bioethanol Production from Burley Hull Using SAA (Soaking in Aqueous Ammonia) Pretreatment, *Bioresource Technology*, 99, 5694-5702.
- Ko, J.K., Bak, J.S., Jung, M.W., Lee, H.J., Choi, I.G., Kim, T.H., dan Kim, K.H., 2009, Ethanol Production from Rice Straw Using Optimized Aqueous-ammonia Soaking Pretreatment and Simultaneous Saccharification and Fermentation Processes, *Bioresource Technology*, 100, 4374-4380.
- Kuhad, R.C., Singh, A., dan Eriksson, K.E., 1997, Microorganisms and Enzymes Involved in The Degradation of Plant Fiber Cell Walls, *Adv Biochem. Eng. Biotechnol.*, 57, 45-125.
- Kumar, P., Barrett, D.M., Delwice, M.J., dan Stroeve, P., 2009, Methods for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Efficient Hydrolysis and Biofuel Production, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 48, 3713-3729.
- Kumar, R., dan Wyman, C.E., 2009, Cellulase Adsorption and Relationship to Feature of Corn Stover Solid Produce by Leading Pretreatment., *Biotechnology and Bioengineering*, 103, 252-267.
- Laureano-Perez, L., Teymouri, F., Alizadeh, H., dan Dale, B.E., 2005, Understanding Factors That Limit Enzymatic Hydrolysis of Biomass, *Applied Biochem. Biotechnol.*, 121-124, 1081-1100.
- Lee, D., Yu, A.H.C., Wong, K.K.Y., dan Saddler, J.R., 1994, Evaluation of The Enzymatic Susceptibility of Cellulosic Substrates Using Specific Hydrolysis Rates and Enzyme Adsorption, *Applied Biochem. Biotechnol.*, 45/45, 407-415.
- Li, B.Z., Balan, V., Yuan, Y.J., dan Dale, B.E., 2010, Process Optimization to Convert Forage and Sweet Sorghum Bagasse to Ethanol Based on Ammonia Fiber

- Expansion (AFEX) Pretreatment, *Bioresource Technology*, 101, 1285-1292.
- Li, X., Kim, T.H., dan Nghiem, N.P., 2010, Bioethanol Production from Corn Stover Using Aqueous Ammonia Pretreatment and Two-phase Simultaneous Saccharification and Fermentation (TPSSF), *Bioresource Technology*, 101, 5910-5916.
- Lynd, L.R., Elander, R.T., dan Wyman, C.E., 1996, Likely Features and Costs of Mature Biomass Ethanol Technology, *Applied Biochemistry Biotechnology*, 57/58, 741-761.
- Mabee, W.E., Gregg, D.J., Arato, C., Berlin, A., Bura, R., Gilkes, N., Mirochnik, O., Pan, X., Pye, E.K., dan Saddler, J.N., 2006, Updates on Softwood-to-Ethanol Process Development, *Applied Biochemistry Biotechnology*, 129-132, 55-70.
- Minowa, T., Zhen, F., dan Ogi, T., 1998, Cellulose Decomposition in Hot-compressed Water with Alkali or Nickel Catalyst, *Journal of Supercritical Fluids*, 13, 253-259.
- Misson, M., Haron, R., Kamaruddin, M.F.A., dan Saidina-Amin, N., 2009, Pretreatment of Empty Palm Fruit Bunch for Production of Chemicals via Catalytic Pyrolysis, *Bioresource Technology*, 100, 2867-2873.
- Mosier, N., Wyman, C., Dale, B., Elander, R., Lee, Y.Y., Holtzapple, M., dan Ladisch, M., 2005, Features of Promising Technologies for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass, *Bioresource Technology*, 96, 673-686.
- Öhgren, K., Bura, R., Saddler, J., Zacchi, G., 2007, Effect of Hemicellulose and Lignin Removal on Enzymatic Hydrolysis of Steam Pretreated Corn Stover, *Bioresource Technology*, 98, 2503-2510.
- Palonen, H., 2004, Role of Lignin in The Enzymatic Hydrolysis of Lignocellulose, *VTT Biotechnology*, Helsinki University of Technology, Finland.
- Pérez, J, Muñoz-Dorado, J., de la Rubia, T., dan Martínez, J., 2002, Biodegradation and Biological Treatments of Cellulose, Hemicellulose and Lignin: An Overview, *Int. Microbiol.*, 5, 53-63.
- Rémond, C., Aubry, N., Crônier, D., Noël, S., Martel, F., Roge, B., Rakotoarivonina, H., Debeire, P., dan Chabbert, B., 2010, Combination of Ammonia and Xylanase Pretreatment: Impact on Enzymatic Xylan and Cellulose Recovery from Wheat Straw, *Bioresource Technology*, 101, 6712-6717.
- Saha, B.C., Iten, L.B., Cotta, M.A., Wu, Y.V., 2005, Dilute Acid Pretreatment, Enzymatic Saccharification, and Fermentation of Rice Hulls to Ethanol, *Biotechnology Progress*, 21, 816-822.
- Salvi, D.A., Aita, G.M., Robert, D., dan Bazan, V., 2010, Dilute Ammonia Pretreatment of Sorghum and Its Effectiveness on Enzyme Hydrolysis and Ethanol Production, *Applied Biochem. Biotechnol.*, 161, 67-74.
- Sánchez, Ó. J., dan Cardona, C. A., 2007, Review: Trends of Biotechnological Production of Fuel Ethanol from Different Feedstocks. *Bioresource Technology*, Artikel in Press, 1-26.
- Sharma, S.K., Kalra, K.L., dan Grewal, H.S., 2002, Enzymatic Saccharification of Pretreated Sunflower Stalks, *Biomass and Bioenergy*, 23, 237-243.
- Silverstein, R.A., Chen, Y., Sharma-Shivappa, R.R., Boyette, M.D., dan Osborne, J., 2007, A Comparison of Chemical Pretreatment Methods for Improving Saccharification of Cotton Stalks, *Bioresource Technology*, 98, 3000-3011.
- Silvi, O., Horváth, I.S., Soerawidjaja, T.H., Purwadi, R., dan Putrawan, I.D.G.A., 2010, Enhancement of Enzymatic Hydrolysis of Oil Palm Empty Fruit Bunches by Decreasing Cellulose Crystallinity Index, *Prosiding The 1st ISFAChe2010*.
- Sjöström, E., 1998. Kimia Kayu: Dasar-dasar dan Penggunaannya. *Gadjah Mada University Press*, Yogyakarta.
- Sun, Y., dan Cheng, J.J., 2002, Hydrolysis of Lignocellulose Materials for Ethanol Production: A Review, *Bioresource Technology*, 83, 1-11.
- Sun, Y., dan Cheng, J.J., 2005, Dilute Acid Pretreatment of Rye Straw and Bermudagrass for Ethanol Production, *Bioresource Technology*, 96, 1599-1606.
- Tengerdy, R.P., dan Szakacs, G., 2003, Bioconversion of Lignocellulose in Solid Substrate Fermentation, *Biochemical Engineering Journal*, 13, 169-179.
- Zhu, L., O'Dwyer, J.P., Chang, V.S., dan Granda, C.B., 2008, Structure Features Affecting Biomass Enzymatic Digestibility, *Bioresource Technology*, 99, 3817-3828.
- Zhu, Y., Kim, T.H., Lee, Y.Y., Chen, R., dan Elander, R.T., 2006, Enzymatic Production of Xylooligosaccharides from Corn Stover and Corn Cobs Treated with Aqueous Ammonia, *Applied Biochem. Biotechnol.*, 129-132, 586-598.