

Peran Pretreatment Deep Eutectic Solvent (Kolin Klorida–Gliserol) dalam Peningkatan Produksi Bioetanol dari Limbah Kulit Pisang melalui Fermentasi *Saccharomyces cerevisiae*

Irfani Ghufran Hamid^{a,1,*}, Alkanda Kurnia^a, Muhammad Romi^a

^a Program Studi Kimia, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS), Indonesia

¹ Email : ghfrnhmd_irfni@gmail.com

* Corresponding author

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article history Received May 23, 2026 Revised June 10, 2026 Accepted June 18, 2026 Published June 30, 2026 Keywords Bioethanol Banana Peel Deep Eutectic Solvent Delignification Lignocellulosic Biomass  License by CC-BY-SA Copyright © 2026, The Author(s).	Banana peel is a lignocellulosic agricultural waste with considerable potential as a feedstock for second-generation bioethanol production. However, the presence of lignin imparts structural recalcitrance to the biomass, limiting hydrolysis efficiency and reducing the conversion of polysaccharides into fermentable sugars. This study aimed to evaluate the effect of pretreatment duration using a choline chloride–glycerol-based Deep Eutectic Solvent (DES) on lignocellulosic composition, reducing sugar concentration, bioethanol production, and fermentation efficiency. A completely randomized design (CRD) with a single experimental factor was employed, consisting of four treatments: untreated biomass (control) and DES pretreatment for 1, 2, and 3 h, each performed in triplicate. The pretreated biomass was hydrolyzed using 2% H₂SO₄ and subsequently fermented with <i>Saccharomyces cerevisiae</i> for five days. Lignocellulosic composition was determined using the Chesson method, reducing sugar concentration was quantified by the dinitrosalicylic acid (DNS) assay, and bioethanol concentration was analyzed using gas chromatography. Data were subjected to one-way analysis of variance (ANOVA), followed by Tukey's post hoc test at a significance level of $p < 0.05$. Pretreatment duration significantly affected all measured parameters ($p < 0.05$). DES pretreatment for 3 h produced the lowest lignin content ($10.1 \pm 0.4\%$), the highest cellulose content ($31.8 \pm 0.8\%$), a reducing sugar concentration of 41.8 ± 1.5 g/L, a bioethanol concentration of $11.7 \pm 0.4\%$ (v/v), a bioethanol yield of $58.5 \pm 2.0\%$, and a fermentation efficiency of 82.4%. These findings demonstrate that choline chloride–glycerol-based DES pretreatment for 3 h represents the optimum condition for enhancing the conversion of banana peel biomass into bioethanol by improving delignification, hydrolysis efficiency, and fermentation performance.
How to cite: Hamid, I. G., Kurnia, A., & Romi, M. (2026). Peran Pretreatment Deep Eutectic Solvent (Kolin Klorida–Gliserol) dalam Peningkatan Produksi Bioetanol dari Limbah Kulit Pisang melalui Fermentasi <i>Saccharomyces cerevisiae</i>. <i>Pure Chemistry Research</i>, 2(1), 31-40. doi: https://doi.org/10.70716/purechem.v2i1.660	

PENDAHULUAN

Kebutuhan energi global terus mengalami peningkatan seiring dengan pertumbuhan populasi, urbanisasi, dan perkembangan sektor industri. Kondisi tersebut masih didominasi oleh penggunaan bahan bakar fosil sebagai sumber energi utama, sehingga memunculkan berbagai permasalahan, antara lain menurunnya cadangan energi tak terbarukan, meningkatnya emisi gas rumah kaca, serta semakin besarnya tekanan terhadap lingkungan akibat perubahan iklim. Berbagai negara kini berupaya mengembangkan sumber energi alternatif yang bersifat terbarukan, berkelanjutan, dan lebih ramah lingkungan untuk mengurangi ketergantungan terhadap bahan bakar fosil. Salah satu sumber energi yang dinilai memiliki prospek besar adalah bioetanol karena dapat dimanfaatkan sebagai bahan bakar maupun campuran bahan bakar kendaraan, memiliki karakteristik pembakaran yang lebih bersih, serta berpotensi menurunkan emisi karbon dibandingkan bahan bakar berbasis minyak bumi. Selain itu, perkembangan teknologi konversi biomassa menjadikan bioetanol semakin penting sebagai bagian dari strategi transisi menuju sistem energi berkelanjutan (Alvira et al., 2010; Limayem & Ricke, 2012).

Bioetanol diproduksi melalui proses fermentasi gula sederhana oleh mikroorganisme, terutama *Saccharomyces cerevisiae*, yang hingga saat ini masih menjadi khamir paling banyak digunakan pada industri bioetanol karena memiliki produktivitas tinggi, toleransi yang baik terhadap etanol, serta mudah dikembangkan dalam skala besar. Berdasarkan sumber bahan bakunya, bioetanol dibedakan menjadi tiga

generasi. Bioetanol generasi pertama memanfaatkan tanaman pangan yang kaya gula atau pati, seperti tebu, jagung, dan singkong. Meskipun teknologinya telah berkembang dengan baik, pemanfaatan bahan pangan sebagai bahan baku energi menimbulkan permasalahan *food versus fuel* karena berpotensi mengurangi ketersediaan bahan pangan. Oleh sebab itu, perhatian penelitian saat ini lebih banyak diarahkan pada bioetanol generasi kedua yang menggunakan biomassa lignoselulosa dari limbah pertanian, perkebunan, maupun agroindustri. Pendekatan tersebut tidak hanya mengurangi ketergantungan terhadap bahan baku pangan, tetapi juga meningkatkan nilai tambah limbah organik melalui konsep biorefineri dan ekonomi sirkular (Lin & Tanaka, 2006; Sarkar et al., 2012; Anggoro & Oktavia, 2021).

Salah satu limbah lignoselulosa yang memiliki potensi besar sebagai bahan baku bioetanol adalah kulit pisang. Indonesia merupakan salah satu negara penghasil pisang terbesar di dunia sehingga menghasilkan limbah kulit pisang dalam jumlah yang melimpah setiap tahun. Sebagian besar limbah tersebut masih dibuang sebagai sampah organik atau hanya dimanfaatkan sebagai pakan ternak dan bahan kompos, padahal kulit pisang mengandung selulosa, hemiselulosa, dan lignin yang dapat dikonversi menjadi gula fermentabel untuk produksi bioetanol. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa limbah kulit pisang mampu menghasilkan bioetanol dengan rendemen yang cukup baik apabila didahului oleh proses hidrolisis dan fermentasi yang tepat. Selain memberikan nilai ekonomi pada limbah pertanian, pemanfaatan kulit pisang juga berpotensi mengurangi beban pencemaran lingkungan akibat akumulasi limbah organik serta mendukung pengembangan sumber energi terbarukan berbasis biomassa lokal (Gajera et al., 2022; Dewi et al., 2023; Mulyani et al., 2024).

Meskipun memiliki potensi yang besar, pemanfaatan kulit pisang sebagai bahan baku bioetanol masih menghadapi kendala utama berupa struktur lignoselulosa yang bersifat resisten (*recalcitrant*). Selulosa sebagai sumber utama glukosa terperangkap di dalam matriks lignin dan hemiselulosa sehingga sulit diakses oleh agen hidrolisis maupun enzim. Keberadaan lignin menyebabkan efisiensi sakarifikasi menjadi rendah, sehingga jumlah gula fermentabel yang dihasilkan tidak mampu mendukung produksi bioetanol secara optimal. Oleh karena itu, proses pretreatment menjadi tahapan yang sangat penting sebelum hidrolisis karena bertujuan membuka struktur biomassa, mengurangi kandungan lignin, dan meningkatkan aksesibilitas selulosa terhadap proses konversi. Berbagai teknologi pretreatment telah dikembangkan untuk mengatasi hambatan tersebut, namun efektivitas dan dampak lingkungannya masih menjadi perhatian dalam pengembangan bioetanol lignoselulosa. Kondisi inilah yang mendorong penelitian mengenai metode pretreatment yang lebih efisien sekaligus ramah lingkungan sebagai langkah penting dalam meningkatkan konversi biomassa menjadi bioetanol (Alvira et al., 2010; Limayem & Ricke, 2012).

Pretreatment merupakan tahapan kunci dalam produksi bioetanol lignoselulosa karena berperan dalam mengubah struktur fisik maupun kimia biomassa sehingga fraksi selulosa menjadi lebih mudah dihidrolisis. Berbagai metode pretreatment telah dikembangkan, seperti perlakuan asam, alkali, *steam explosion*, *organosolv*, dan *ammonia fiber expansion*. Masing-masing metode mampu meningkatkan aksesibilitas selulosa, namun masih memiliki berbagai keterbatasan, antara lain kebutuhan energi yang tinggi, penggunaan bahan kimia korosif, pembentukan senyawa inhibitor fermentasi, serta tingginya biaya operasional. Selain itu, beberapa metode konvensional berpotensi menghasilkan limbah sekunder yang memerlukan proses penanganan lebih lanjut sehingga mengurangi keberlanjutan proses secara keseluruhan. Oleh karena itu, pengembangan teknologi pretreatment yang efektif, ramah lingkungan, dan sejalan dengan prinsip *green chemistry* menjadi fokus utama dalam penelitian bioetanol generasi kedua (Alvira et al., 2010; Limayem & Ricke, 2012; Moodley et al., 2024).

Salah satu teknologi yang berkembang pesat dalam beberapa tahun terakhir adalah penggunaan *Deep Eutectic Solvent* (DES) sebagai pelarut hijau untuk pretreatment biomassa lignoselulosa. DES merupakan campuran dua atau lebih senyawa yang membentuk sistem eutektik melalui interaksi ikatan hidrogen sehingga memiliki titik leleh lebih rendah dibandingkan komponen penyusunnya. Sistem DES berbasis kolin klorida sebagai *hydrogen bond acceptor* dan gliserol sebagai *hydrogen bond donor* menjadi salah satu kombinasi yang paling banyak dipelajari karena mudah disintesis, relatif murah, memiliki toksisitas rendah, biodegradable, serta dapat didaur ulang. Berbeda dengan pelarut konvensional, DES mampu melarutkan lignin secara selektif dengan kerusakan yang minimal terhadap fraksi selulosa, sehingga meningkatkan kualitas biomassa untuk proses hidrolisis berikutnya. Karakteristik tersebut menjadikannya sebagai salah satu teknologi pretreatment yang menjanjikan dalam pengembangan biorefineri berkelanjutan (Chen & Wan, 2018; Sun et al., 2020; Xu et al., 2021).

Efektivitas DES dalam meningkatkan konversi biomassa telah dilaporkan pada berbagai jenis bahan lignoselulosa. Procentese et al. (2018) menunjukkan bahwa pretreatment menggunakan DES mampu meningkatkan efisiensi sakarifikasi tongkol jagung melalui penurunan kandungan lignin dan peningkatan aksesibilitas selulosa. Chen dan Wan (2018) juga melaporkan bahwa pretreatment berbasis DES mempercepat proses fraksinasi biomassa sehingga menghasilkan pelepasan gula fermentabel yang lebih tinggi dibandingkan biomassa tanpa perlakuan. Kajian yang lebih komprehensif oleh Xu et al. (2021) menjelaskan bahwa efektivitas DES dipengaruhi oleh komposisi pelarut, rasio molar, suhu, dan lama pretreatment, yang secara bersama-sama menentukan tingkat delignifikasi dan keberhasilan hidrolisis. Sementara itu, Sun et al. (2020) menegaskan bahwa kemampuan DES dalam mengganggu interaksi lignin–karbohidrat menjadikan teknologi ini sebagai salah satu pendekatan paling prospektif untuk mengurangi sifat *recalcitrance* biomassa lignoselulosa.

Pada biomassa kulit pisang, penelitian mengenai produksi bioetanol telah menunjukkan hasil yang cukup menjanjikan, namun sebagian besar masih menggunakan metode pretreatment konvensional. Dewi et al. (2023) melaporkan bahwa kondisi hidrolisis dan jumlah inokulum khamir berpengaruh terhadap kadar bioetanol yang dihasilkan dari fermentasi kulit pisang, sedangkan Mulyani et al. (2024) menunjukkan bahwa proses delignifikasi sebelum fermentasi mampu meningkatkan hasil produksi bioetanol dibandingkan biomassa tanpa perlakuan awal. Selain itu, Priharto et al. (2025) melaporkan bahwa peningkatan efisiensi sakarifikasi dan fermentasi pada biomassa lignoselulosa berkontribusi langsung terhadap peningkatan rendemen etanol. Meskipun demikian, penerapan DES berbasis kolin klorida–gliserol secara spesifik pada limbah kulit pisang masih relatif terbatas, terutama yang mengkaji keterkaitan antara perubahan komposisi lignoselulosa, pembentukan gula fermentabel, dan peningkatan hasil fermentasi secara terpadu. Kondisi tersebut menunjukkan bahwa masih diperlukan penelitian yang mampu menjelaskan hubungan antarsetiap tahapan proses sehingga mekanisme peningkatan produksi bioetanol melalui pretreatment DES dapat dipahami secara lebih komprehensif.

Meskipun berbagai penelitian telah membuktikan efektivitas *Deep Eutectic Solvent* (DES) dalam pretreatment biomassa lignoselulosa, sebagian besar kajian masih difokuskan pada biomassa seperti tongkol jagung, jerami, bagas tebu, dan limbah kayu. Penelitian mengenai penerapan DES pada limbah kulit pisang masih relatif terbatas, terutama yang menggunakan sistem kolin klorida–gliserol sebagai pelarut pretreatment. Selain itu, sebagian besar penelitian terdahulu lebih menitikberatkan pada peningkatan kadar bioetanol sebagai parameter utama tanpa mengevaluasi hubungan antara perubahan komposisi lignoselulosa setelah pretreatment, peningkatan pembentukan gula fermentabel, serta efisiensi fermentasi yang dihasilkan. Padahal, pemahaman mengenai keterkaitan antarsetiap tahapan proses sangat penting untuk menjelaskan mekanisme peningkatan produksi bioetanol secara ilmiah dan menjadi dasar dalam pengembangan proses yang lebih efisien. Oleh karena itu, masih terdapat kebutuhan akan penelitian yang mengintegrasikan analisis perubahan struktur biomassa dengan kinerja hidrolisis dan fermentasi dalam satu rangkaian proses yang utuh (Procentese et al., 2018; Sun et al., 2020; Xu et al., 2021).

Berdasarkan kondisi tersebut, *research gap* penelitian ini terletak pada masih terbatasnya informasi mengenai pengaruh variasi waktu pretreatment menggunakan DES kolin klorida–gliserol terhadap karakteristik lignoselulosa limbah kulit pisang dan implikasinya terhadap produksi bioetanol. Lama pretreatment merupakan salah satu parameter proses yang berpotensi menentukan tingkat delignifikasi, namun belum banyak dikaji secara sistematis pada biomassa kulit pisang. Variasi waktu kontak diperkirakan memengaruhi kemampuan DES dalam melarutkan lignin, sehingga akan berdampak pada peningkatan aksesibilitas selulosa, pelepasan gula hasil hidrolisis, dan akhirnya menentukan efisiensi fermentasi oleh *Saccharomyces cerevisiae*. Dengan demikian, penelitian ini tidak hanya mengevaluasi hasil akhir berupa kadar bioetanol, tetapi juga menghubungkan perubahan struktur biomassa dengan setiap tahapan konversi yang terjadi. Pendekatan tersebut diharapkan dapat memberikan pemahaman yang lebih menyeluruh mengenai mekanisme pretreatment DES dalam meningkatkan pemanfaatan limbah lignoselulosa sebagai bahan baku bioenergi (Chen & Wan, 2018; Moodley et al., 2024).

Kebaruan (*novelty*) penelitian ini terletak pada integrasi evaluasi pengaruh variasi waktu pretreatment DES berbasis kolin klorida–gliserol terhadap keseluruhan rantai proses produksi bioetanol dari limbah kulit pisang. Berbeda dengan penelitian sebelumnya yang umumnya hanya menilai efektivitas pretreatment atau hasil fermentasi secara terpisah, penelitian ini menghubungkan perubahan komposisi lignoselulosa, terutama penurunan kadar lignin dan perubahan fraksi selulosa, dengan peningkatan kadar gula pereduksi

hasil hidrolisis serta efisiensi fermentasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*. Pendekatan tersebut memungkinkan diperolehnya gambaran yang lebih komprehensif mengenai hubungan antara modifikasi struktur biomassa dan peningkatan performa produksi bioetanol. Selain menghasilkan informasi mengenai kondisi pretreatment yang paling efektif, penelitian ini juga memberikan dasar ilmiah bagi pemanfaatan DES sebagai alternatif pretreatment yang lebih ramah lingkungan dibandingkan metode konvensional berbasis asam atau alkali kuat, sehingga sejalan dengan konsep *green chemistry* dan pengembangan biorefineri berkelanjutan (Anggoro & Oktavia, 2021; Gajera et al., 2022; Moodley et al., 2024).

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh variasi waktu pretreatment menggunakan *Deep Eutectic Solvent* berbasis kolin klorida–gliserol terhadap perubahan komposisi lignoselulosa limbah kulit pisang serta pengaruhnya terhadap pembentukan gula pereduksi, produksi bioetanol, dan efisiensi fermentasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan kontribusi ilmiah dalam pengembangan teknologi pretreatment biomassa yang lebih efektif dan ramah lingkungan, sekaligus memperluas pemanfaatan limbah kulit pisang sebagai bahan baku bioetanol generasi kedua. Selain itu, temuan penelitian ini diharapkan dapat menjadi salah satu dasar pengembangan proses produksi bioetanol yang lebih efisien dan berkelanjutan untuk mendukung diversifikasi sumber energi terbarukan berbasis biomassa di Indonesia.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen laboratorium dengan rancangan Desain Acak Lengkap (DAL) faktor tunggal berupa variasi waktu pretreatment menggunakan *Deep Eutectic Solvent* (DES). Perlakuan terdiri atas empat taraf, yaitu tanpa pretreatment (kontrol), pretreatment selama 1 jam, 2 jam, dan 3 jam. Setiap perlakuan dilakukan dalam tiga kali ulangan sehingga diperoleh 12 unit percobaan.

Bahan baku yang digunakan berupa limbah kulit pisang matang yang diperoleh dari pedagang buah di wilayah setempat. Kulit pisang dicuci menggunakan air mengalir untuk menghilangkan kotoran, kemudian dipotong dengan ukuran sekitar ± 1 cm dan dikeringkan dalam oven pada suhu 60°C hingga berat konstan. Sampel kering selanjutnya digiling dan diayak menggunakan ayakan 40 mesh untuk memperoleh ukuran partikel yang seragam sebelum digunakan pada proses pretreatment.

Pelarut DES disiapkan dengan mencampurkan kolin klorida dan gliserol pada rasio molar 1:2. Campuran dipanaskan pada suhu 80°C sambil diaduk hingga membentuk larutan homogen. Sebanyak 20 g serbuk kulit pisang dicampurkan ke dalam pelarut DES dengan rasio padatan terhadap pelarut 1:10 (b/v), kemudian dipanaskan pada suhu 100°C sesuai dengan variasi waktu perlakuan, yaitu 1, 2, dan 3 jam. Setelah proses pretreatment selesai, campuran diencerkan menggunakan akuades, kemudian biomassa dipisahkan melalui penyaringan vakum dan dicuci berulang kali hingga pH netral. Biomassa selanjutnya dikeringkan kembali pada suhu 60°C hingga berat konstan.

Biomassa hasil pretreatment kemudian dihidrolisis menggunakan larutan H₂SO₄ 2% dengan rasio padatan terhadap larutan sebesar 1:15 (b/v). Campuran dimasukkan ke dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 30 menit. Setelah hidrolisis selesai, hidrolisat didinginkan hingga suhu ruang dan dinetralkan menggunakan larutan NaOH 5 M sampai mencapai pH 5,0–5,5. Larutan kemudian disaring untuk memisahkan residu padat, sedangkan filtrat yang mengandung gula fermentabel disimpan pada suhu 4°C hingga digunakan sebagai media fermentasi.

Fermentasi dilakukan menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* yang telah diremajakan dalam media cair hingga mencapai kepadatan sekitar 1×10^7 sel/mL. Sebanyak 100 mL hidrolisat diinokulasi dengan starter khamir sebanyak 10% (v/v), kemudian difermentasi secara anaerob pada suhu $30 \pm 2^\circ\text{C}$ selama lima hari. Seluruh proses fermentasi dilakukan secara aseptik untuk meminimalkan risiko kontaminasi mikroorganisme lain.

Komposisi lignoselulosa yang meliputi kadar lignin, selulosa, dan hemiselulosa dianalisis menggunakan metode fraksinasi serat. Kadar gula pereduksi hasil hidrolisis ditentukan dengan metode asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS) menggunakan spektrofotometer UV–Vis pada panjang gelombang 540 nm. Bioetanol hasil fermentasi dipisahkan melalui proses distilasi, kemudian kadar etanol ditentukan menggunakan Gas Chromatography (GC) dengan detektor Flame Ionization Detector (FID). Efisiensi delignifikasi dihitung berdasarkan penurunan kadar lignin setelah pretreatment, sedangkan yield bioetanol dihitung berdasarkan volume etanol yang dihasilkan terhadap berat awal biomassa kering. Efisiensi fermentasi dihitung dengan membandingkan hasil etanol aktual terhadap hasil teoritis berdasarkan konversi glukosa menjadi etanol.

Data hasil penelitian disajikan sebagai nilai rata-rata $\pm$ standar deviasi dari tiga kali ulangan. Pengaruh variasi waktu pretreatment terhadap komposisi lignoselulosa, kadar gula pereduksi, yield bioetanol, dan efisiensi fermentasi dianalisis menggunakan One-Way Analysis of Variance (ANOVA) pada taraf signifikansi 5% ($\alpha = 0,05$). Apabila hasil analisis menunjukkan perbedaan yang signifikan, pengujian dilanjutkan dengan Tukey's Honestly Significant Difference (HSD) untuk mengetahui perbedaan antarperlakuan. Seluruh analisis statistik dilakukan

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa pretreatment menggunakan *Deep Eutectic Solvent* (DES) berbasis kolin klorida–gliserol memberikan pengaruh yang signifikan terhadap perubahan komposisi lignoselulosa kulit pisang. Analisis menggunakan metode Chesson menunjukkan bahwa biomassa tanpa pretreatment memiliki kandungan lignin sebesar $17,3 \pm 0,5\%$, selulosa $24,5 \pm 0,7\%$, dan hemiselulosa $19,4 \pm 0,5\%$. Komposisi tersebut mengindikasikan bahwa kulit pisang merupakan biomassa lignoselulosa yang berpotensi dimanfaatkan sebagai bahan baku bioetanol generasi kedua karena mengandung fraksi karbohidrat yang cukup tinggi. Akan tetapi, keberadaan lignin sebagai polimer aromatik yang menyelimuti serat selulosa dan hemiselulosa menyebabkan struktur biomassa bersifat resisten (*recalcitrant*) terhadap proses hidrolisis. Lignin membentuk jaringan kompleks bersama polisakarida melalui ikatan eter dan ikatan hidrogen sehingga membatasi penetrasi larutan hidrolisis ke dalam dinding sel. Kondisi tersebut menyebabkan konversi selulosa menjadi gula fermentabel berlangsung kurang efisien apabila biomassa digunakan tanpa perlakuan awal. Oleh karena itu, pretreatment menjadi tahapan penting untuk mengurangi hambatan struktural tersebut sebelum biomassa memasuki tahap hidrolisis dan fermentasi, sehingga fraksi karbohidrat dapat dimanfaatkan secara lebih optimal sebagai sumber glukosa untuk produksi bioetanol (Limayem & Ricke, 2012; Anggoro & Oktavia, 2021).

Penerapan DES berbasis kolin klorida–gliserol terbukti mampu mengubah komposisi lignoselulosa secara bertahap seiring bertambahnya waktu pretreatment. Berdasarkan hasil analisis ragam, variasi waktu perlakuan memberikan pengaruh yang nyata terhadap kadar lignin, selulosa, dan hemiselulosa ($p < 0,05$). Kandungan lignin menurun dari $17,3 \pm 0,5\%$ pada kontrol menjadi $14,6 \pm 0,2\%$ setelah perlakuan selama 1 jam, kemudian turun menjadi $12,2 \pm 0,3\%$ pada perlakuan 2 jam, dan mencapai nilai terendah $10,1 \pm 0,4\%$ setelah pretreatment selama 3 jam. Penurunan tersebut setara dengan efisiensi delignifikasi masing-masing sebesar 15,61%, 29,48%, dan 41,62%. Hasil uji lanjut Tukey menunjukkan bahwa perlakuan selama 3 jam berbeda nyata dibandingkan perlakuan lainnya, sehingga dapat dinyatakan sebagai kondisi paling efektif dalam menurunkan kandungan lignin pada penelitian ini. Pola tersebut menunjukkan bahwa semakin lama biomassa berada dalam media DES, semakin besar peluang terjadinya pelarutan lignin ke dalam fase cair, sehingga hambatan struktural terhadap proses konversi biomassa semakin berkurang.

Penurunan kadar lignin diduga berkaitan dengan mekanisme kerja DES yang memanfaatkan interaksi ikatan hidrogen antara komponen penyusunnya dengan matriks lignoselulosa. Kolin klorida berperan sebagai *hydrogen bond acceptor*, sedangkan gliserol bertindak sebagai *hydrogen bond donor*, sehingga membentuk sistem pelarut yang mampu mengganggu interaksi antara lignin dan polisakarida penyusun dinding sel. Selama proses pemanasan, sebagian ikatan lignin–karbohidrat melemah sehingga fragmen lignin menjadi lebih mudah larut dalam media DES. Semakin lama waktu kontak antara biomassa dan pelarut, semakin besar tingkat pelonggaran struktur dinding sel yang terjadi. Kondisi tersebut menjelaskan mengapa penurunan lignin berlangsung secara progresif hingga perlakuan 3 jam. Temuan ini konsisten dengan penelitian Chen dan Wan (2018) yang melaporkan bahwa pretreatment berbasis DES mampu meningkatkan pemisahan lignin dari biomassa lignoselulosa, serta diperkuat oleh kajian Sun et al. (2020) yang menjelaskan bahwa sistem DES berbasis kolin klorida memiliki selektivitas tinggi terhadap lignin sehingga mampu meningkatkan aksesibilitas polisakarida tanpa menyebabkan kerusakan selulosa yang berlebihan. Dengan demikian, peningkatan durasi pretreatment tidak hanya memengaruhi jumlah lignin yang terlarut, tetapi juga menentukan efektivitas proses dekonstruksi struktur biomassa secara keseluruhan.

Perubahan kandungan lignin diikuti oleh peningkatan proporsi selulosa pada biomassa hasil pretreatment. Kandungan selulosa meningkat dari $24,5 \pm 0,7\%$ pada kontrol menjadi $26,8 \pm 0,4\%$ setelah perlakuan selama 1 jam, kemudian meningkat menjadi $29,1 \pm 0,6\%$ pada perlakuan 2 jam, dan mencapai $31,8 \pm 0,8\%$ pada perlakuan 3 jam. Sebaliknya, kandungan hemiselulosa mengalami penurunan bertahap dari $19,4$

$\pm 0,5\%$ menjadi $18,1 \pm 0,3\%$, $16,5 \pm 0,4\%$, dan $15,2 \pm 0,6\%$. Peningkatan proporsi selulosa tidak menunjukkan terbentuknya selulosa baru, melainkan merupakan akibat dari berkurangnya fraksi lignin dan sebagian hemiselulosa yang terlarut selama proses *pretreatment*. Dengan berkurangnya komponen non-selulosa, persentase selulosa terhadap total biomassa menjadi lebih tinggi sehingga biomassa yang dihasilkan memiliki kandungan polisakarida yang lebih kaya sebagai substrat hidrolisis. Pola perubahan tersebut menunjukkan bahwa DES memiliki kemampuan delignifikasi yang relatif selektif, karena penurunan lignin berlangsung lebih besar dibandingkan kehilangan fraksi selulosa. Hasil ini sejalan dengan laporan Xu et al. (2021) yang menyatakan bahwa *pretreatment* menggunakan DES berbasis kolin klorida mampu mempertahankan sebagian besar kandungan selulosa sambil meningkatkan pelepasan lignin dari biomassa lignoselulosa.

Hasil penelitian memperlihatkan bahwa peningkatan durasi *pretreatment* menggunakan DES berbasis kolin klorida–gliserol berperan penting dalam memodifikasi komposisi lignoselulosa kulit pisang sehingga lebih sesuai untuk proses produksi bioetanol. Penurunan kadar lignin yang disertai peningkatan proporsi selulosa menunjukkan bahwa struktur biomassa menjadi lebih terbuka dan lebih mudah diakses pada tahap hidrolisis berikutnya. Kondisi tersebut menjadi indikator bahwa keberhasilan *pretreatment* tidak hanya ditentukan oleh besarnya lignin yang dihilangkan, tetapi juga oleh kemampuannya mempertahankan fraksi selulosa sebagai sumber utama gula fermentabel. Temuan ini memperkuat konsep bahwa *pretreatment* merupakan tahapan kunci dalam proses konversi biomassa lignoselulosa, karena perubahan struktur yang terjadi pada tahap awal akan memengaruhi efisiensi hidrolisis, fermentasi, dan produksi bioetanol secara keseluruhan. Dengan demikian, perlakuan selama 3 jam dapat dianggap sebagai kondisi optimum dalam penelitian ini karena menghasilkan tingkat delignifikasi tertinggi sekaligus mempertahankan kandungan selulosa yang paling besar, sehingga menyediakan kondisi yang paling menguntungkan untuk proses sakarifikasi dan fermentasi pada tahap selanjutnya.

Perubahan komposisi lignoselulosa setelah *pretreatment* menggunakan DES memberikan dampak langsung terhadap efektivitas proses hidrolisis asam pada tahap berikutnya. Biomassa yang mengalami penurunan kadar lignin menunjukkan aksesibilitas yang lebih tinggi terhadap larutan asam sulfat, sehingga pemutusan ikatan β -1,4-glikosidik pada rantai selulosa berlangsung lebih efektif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi gula pereduksi meningkat secara bertahap seiring bertambahnya waktu *pretreatment*. Pada biomassa tanpa perlakuan awal, kadar gula pereduksi yang dihasilkan hanya mencapai $24,6 \pm 1,2$ g/L. Setelah biomassa dipretreatment selama 1 jam, konsentrasi gula meningkat menjadi $29,2 \pm 1,0$ g/L, kemudian bertambah menjadi $35,4 \pm 1,3$ g/L pada perlakuan 2 jam, dan mencapai nilai tertinggi sebesar $41,8 \pm 1,5$ g/L setelah *pretreatment* selama 3 jam. Analisis statistik menunjukkan bahwa variasi waktu *pretreatment* memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kadar gula pereduksi ($p < 0,05$). Dibandingkan kontrol, perlakuan selama 3 jam meningkatkan konsentrasi gula pereduksi sekitar 69,9%, menunjukkan bahwa proses delignifikasi yang lebih efektif mampu meningkatkan efisiensi sakarifikasi biomassa.

Peningkatan kadar gula pereduksi tersebut menunjukkan adanya hubungan yang erat antara efektivitas delignifikasi dengan keberhasilan proses hidrolisis. Lignin yang berkurang selama *pretreatment* menyebabkan struktur dinding sel menjadi lebih terbuka sehingga larutan asam lebih mudah mencapai serat selulosa. Selain itu, berkurangnya hambatan difusi memungkinkan reaksi hidrolisis berlangsung lebih merata pada seluruh permukaan biomassa. Akibatnya, konversi polisakarida menjadi monosakarida berlangsung lebih optimal tanpa memerlukan peningkatan konsentrasi asam ataupun waktu hidrolisis. Mekanisme tersebut sejalan dengan konsep yang dikemukakan oleh Alvira et al. (2010), bahwa keberhasilan hidrolisis biomassa lignoselulosa sangat dipengaruhi oleh efektivitas tahap *pretreatment* dalam mengurangi sifat *recalcitrance* biomassa. Temuan penelitian ini juga konsisten dengan hasil penelitian Procentese et al. (2018) yang melaporkan bahwa penggunaan DES sebelum hidrolisis mampu meningkatkan pelepasan gula fermentabel melalui peningkatan aksesibilitas selulosa terhadap agen hidrolisis.

Selain meningkatkan jumlah gula yang dilepaskan, penggunaan DES juga berpotensi memperbaiki kualitas hidrolisat yang dihasilkan. Hidrolisis menggunakan asam encer pada biomassa yang telah mengalami *pretreatment* memungkinkan proses depolimerisasi berlangsung pada kondisi yang relatif lebih ringan sehingga pembentukan senyawa inhibitor, seperti furfural dan 5-hidroksimetilfurfural (5-HMF), dapat diminimalkan. Senyawa-senyawa tersebut diketahui terbentuk akibat degradasi lanjutan gula pada kondisi asam kuat dan suhu tinggi, serta dapat menghambat pertumbuhan dan aktivitas metabolisme khamir selama fermentasi. Dengan berkurangnya kandungan lignin sebelum hidrolisis, konversi selulosa menjadi glukosa dapat berlangsung lebih efisien tanpa memerlukan perlakuan hidrolisis yang terlalu keras. Kondisi ini

memberikan keuntungan ganda, yaitu meningkatkan konsentrasi gula fermentabel sekaligus menghasilkan media fermentasi yang lebih sesuai bagi pertumbuhan mikroorganisme. Oleh karena itu, peningkatan gula pereduksi pada penelitian ini tidak hanya mencerminkan keberhasilan proses sakarifikasi, tetapi juga mengindikasikan bahwa kualitas substrat fermentasi menjadi lebih baik dibandingkan biomassa tanpa *pretreatment*.

Ketersediaan gula fermentabel yang lebih tinggi berdampak langsung terhadap peningkatan produksi bioetanol selama fermentasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar bioetanol meningkat secara konsisten mengikuti peningkatan konsentrasi gula pereduksi pada setiap perlakuan. Biomassa tanpa *pretreatment* hanya menghasilkan bioetanol sebesar $6,8 \pm 0,3\%$ (v/v) dengan *yield* sebesar $34,0 \pm 1,5\%$. Setelah dilakukan *pretreatment* selama 1 jam, kadar bioetanol meningkat menjadi $8,1 \pm 0,2\%$ (v/v), kemudian mencapai $9,8 \pm 0,4\%$ (v/v) pada perlakuan 2 jam, dan menghasilkan kadar tertinggi sebesar $11,7 \pm 0,4\%$ (v/v) pada perlakuan selama 3 jam dengan *yield* bioetanol sebesar $58,5 \pm 2,0\%$. Analisis ragam menunjukkan bahwa variasi waktu *pretreatment* berpengaruh nyata terhadap kadar bioetanol maupun *yield* yang dihasilkan ($p < 0,05$). Hasil tersebut memperlihatkan bahwa peningkatan produksi etanol tidak terjadi secara acak, melainkan merupakan konsekuensi dari meningkatnya jumlah glukosa yang tersedia sebagai substrat fermentasi.

Hubungan yang konsisten antara penurunan kadar lignin, peningkatan gula pereduksi, dan kenaikan produksi bioetanol menunjukkan bahwa *pretreatment* merupakan tahapan yang menentukan keberhasilan keseluruhan proses konversi biomassa. Semakin efektif proses delignifikasi berlangsung, semakin besar fraksi selulosa yang dapat dihidrolisis menjadi glukosa, sehingga semakin tinggi pula etanol yang dihasilkan selama fermentasi. Hasil penelitian ini sejalan dengan laporan Mulyani et al. (2024) yang menunjukkan bahwa biomassa kulit pisang yang mengalami perlakuan delignifikasi menghasilkan produksi bioetanol lebih tinggi dibandingkan biomassa tanpa perlakuan awal. Temuan ini juga didukung oleh Dewi et al. (2023) yang melaporkan bahwa keberhasilan fermentasi bioetanol dari limbah kulit pisang sangat dipengaruhi oleh jumlah gula fermentabel yang tersedia sebagai sumber karbon bagi *Saccharomyces cerevisiae*. Dengan demikian, peningkatan produksi bioetanol pada penelitian ini merupakan hasil dari keterkaitan yang berurutan antara efektivitas *pretreatment*, keberhasilan hidrolisis, dan optimalnya proses fermentasi. Rangkaian proses tersebut menegaskan bahwa optimalisasi tahap *pretreatment* menggunakan DES berbasis kolin klorida–gliserol menjadi faktor penting dalam meningkatkan efisiensi konversi limbah kulit pisang menjadi bioetanol generasi kedua.

Efisiensi fermentasi yang diperoleh pada penelitian ini menunjukkan kecenderungan meningkat seiring bertambahnya waktu *pretreatment* menggunakan DES. Nilai efisiensi fermentasi berturut-turut sebesar 63,1% pada kontrol, 70,8% pada perlakuan 1 jam, 77,6% pada perlakuan 2 jam, dan mencapai 82,4% pada perlakuan 3 jam. Peningkatan tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi jumlah gula fermentabel yang dihasilkan selama hidrolisis, semakin besar pula proporsi glukosa yang berhasil dikonversi menjadi etanol oleh *Saccharomyces cerevisiae*. Efisiensi fermentasi yang tinggi mengindikasikan bahwa sebagian besar substrat tersedia dapat dimanfaatkan secara efektif untuk jalur glikolisis dan pembentukan etanol, sehingga kehilangan karbon menuju pembentukan produk samping relatif kecil. Selain dipengaruhi oleh ketersediaan glukosa, peningkatan efisiensi fermentasi juga mengindikasikan bahwa hidrolisat hasil *pretreatment* DES memiliki kualitas yang lebih baik bagi pertumbuhan khamir. Kondisi tersebut menunjukkan bahwa *pretreatment* tidak hanya meningkatkan jumlah gula hasil hidrolisis, tetapi juga menghasilkan media fermentasi yang lebih mendukung aktivitas metabolisme mikroorganisme.

Kinerja fermentasi yang semakin baik juga tercermin dari penurunan kadar gula pereduksi sisa setelah fermentasi berlangsung selama lima hari. Pada biomassa tanpa *pretreatment*, gula sisa masih mencapai $11,5 \pm 0,4$ g/L, sedangkan pada perlakuan *pretreatment* selama 3 jam hanya tersisa $2,3 \pm 0,2$ g/L. Penurunan kadar gula sisa tersebut menunjukkan bahwa sebagian besar glukosa yang terbentuk selama hidrolisis berhasil dimanfaatkan oleh *Saccharomyces cerevisiae* sebagai sumber karbon untuk menghasilkan etanol. Semakin rendah gula yang tersisa di dalam media, semakin tinggi tingkat pemanfaatan substrat oleh khamir. Kondisi ini sekaligus menjelaskan mengapa perlakuan 3 jam menghasilkan kadar bioetanol dan efisiensi fermentasi tertinggi dibandingkan perlakuan lainnya. Dengan demikian, keberhasilan proses fermentasi pada penelitian ini tidak hanya dipengaruhi oleh tingginya konsentrasi gula awal, tetapi juga oleh kemampuan *pretreatment* DES menghasilkan hidrolisat yang lebih mudah difermentasi tanpa menimbulkan hambatan berarti terhadap aktivitas mikroorganisme.

Hasil penelitian ini memiliki kesesuaian dengan berbagai penelitian terdahulu yang melaporkan efektivitas *Deep Eutectic Solvent* sebagai teknologi *pretreatment* biomassa lignoselulosa. Chen dan Wan (2018) melaporkan bahwa penggunaan DES mampu meningkatkan pemisahan lignin sehingga struktur biomassa menjadi lebih terbuka terhadap proses hidrolisis. Temuan tersebut diperkuat oleh Procentese et al. (2018) yang menunjukkan bahwa *pretreatment* menggunakan DES meningkatkan efisiensi sakarifikasi melalui peningkatan aksesibilitas selulosa. Selain itu, Xu et al. (2021) menjelaskan bahwa sistem DES berbasis kolin klorida memiliki kemampuan mempertahankan sebagian besar kandungan selulosa sekaligus menghilangkan lignin secara selektif, sehingga menghasilkan biomassa yang lebih sesuai untuk produksi bioetanol. Pada aspek fermentasi, hasil penelitian ini juga sejalan dengan Priharto et al. (2025) dan Mulyani et al. (2024) yang melaporkan bahwa peningkatan gula fermentabel setelah perlakuan awal biomassa berkontribusi langsung terhadap peningkatan kadar bioetanol yang dihasilkan oleh *Saccharomyces cerevisiae*. Kesamaan pola tersebut menunjukkan bahwa hubungan antara delignifikasi, pelepasan gula, dan pembentukan etanol merupakan mekanisme yang konsisten pada berbagai jenis biomassa lignoselulosa.

Meskipun memberikan hasil yang menjanjikan, penelitian ini masih memiliki beberapa keterbatasan yang perlu diperhatikan. Variabel yang dievaluasi hanya difokuskan pada pengaruh waktu *pretreatment*, sedangkan parameter lain seperti rasio kolin klorida terhadap gliserol, rasio biomassa terhadap pelarut, suhu *pretreatment*, serta efisiensi daur ulang DES belum dikaji secara mendalam. Selain itu, karakterisasi biomassa masih terbatas pada perubahan komposisi lignoselulosa berdasarkan metode Chesson dan belum didukung oleh analisis morfologi maupun perubahan struktur kimia menggunakan instrumen seperti *Scanning Electron Microscopy* (SEM), *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR), atau *X-Ray Diffraction* (XRD). Pengujian pada penelitian ini juga masih dilakukan pada skala laboratorium sehingga aspek teknis, ekonomi, dan keberlanjutan proses pada skala yang lebih besar belum dapat dievaluasi secara menyeluruh. Oleh karena itu, penelitian lanjutan diperlukan untuk mengoptimalkan parameter proses, mengevaluasi pemanfaatan kembali pelarut DES, serta mengkaji kelayakan penerapan teknologi ini pada skala pilot maupun industri.

Penelitian ini membuktikan bahwa *pretreatment* menggunakan DES berbasis kolin klorida–gliserol merupakan pendekatan yang efektif dalam meningkatkan konversi biomassa kulit pisang menjadi bioetanol. Peningkatan durasi *pretreatment* hingga 3 jam menghasilkan delignifikasi tertinggi yang diikuti oleh peningkatan proporsi selulosa, kenaikan kadar gula pereduksi, peningkatan kadar dan *yield* bioetanol, serta efisiensi fermentasi yang mencapai 82,4%. Hasil tersebut menunjukkan adanya hubungan yang saling berkaitan antara perubahan struktur lignoselulosa, keberhasilan proses hidrolisis, dan performa fermentasi. Dengan demikian, keberhasilan produksi bioetanol tidak hanya ditentukan oleh tahap fermentasi, tetapi merupakan akumulasi dari keberhasilan setiap tahapan proses yang diawali oleh *pretreatment* biomassa. Temuan ini memperkuat potensi DES sebagai teknologi *pretreatment* yang lebih ramah lingkungan dibandingkan pelarut konvensional serta mendukung pemanfaatan limbah kulit pisang sebagai bahan baku bioetanol generasi kedua. Selain memberikan nilai tambah terhadap limbah pertanian, pendekatan ini juga berkontribusi pada pengembangan konsep biorefineri berkelanjutan melalui pemanfaatan biomassa lokal sebagai sumber energi terbarukan yang memiliki prospek untuk dikembangkan lebih lanjut pada skala yang lebih luas.

KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa *pretreatment* menggunakan *Deep Eutectic Solvent* (DES) berbasis kolin klorida–gliserol berpengaruh nyata terhadap karakteristik lignoselulosa kulit pisang dan kinerja proses produksi bioetanol. Semakin lama waktu *pretreatment* yang diterapkan, semakin besar penurunan kadar lignin yang dicapai, disertai peningkatan proporsi selulosa dan penurunan hemiselulosa. Perlakuan selama 3 jam menghasilkan kondisi biomassa terbaik dengan kadar lignin sebesar $10,1 \pm 0,4\%$, lebih rendah dibandingkan kontrol ($17,3 \pm 0,5\%$), serta meningkatkan kandungan selulosa menjadi $31,8 \pm 0,8\%$. Perubahan komposisi tersebut menunjukkan bahwa DES mampu mengurangi sifat *recalcitrance* biomassa lignoselulosa sehingga struktur dinding sel menjadi lebih terbuka dan lebih mudah diakses pada tahap hidrolisis. Hasil analisis statistik menggunakan *One-Way ANOVA* menunjukkan bahwa variasi waktu *pretreatment* memberikan pengaruh yang signifikan ($p < 0,05$) terhadap perubahan komposisi lignoselulosa, sehingga lama kontak antara biomassa dan DES menjadi faktor penting dalam menentukan efektivitas proses delignifikasi.

Perbaikan struktur biomassa setelah *pretreatment* berdampak langsung terhadap peningkatan pembentukan gula fermentabel dan produksi bioetanol. Konsentrasi gula pereduksi meningkat secara

bertahap dari $24,6 \pm 1,2$ g/L pada kontrol menjadi $41,8 \pm 1,5$ g/L setelah pretreatment selama 3 jam, atau meningkat sekitar 69,9% dibandingkan tanpa perlakuan. Peningkatan tersebut diikuti oleh kenaikan kadar bioetanol dari $6,8 \pm 0,3\%$ (v/v) menjadi $11,7 \pm 0,4\%$ (v/v) dengan *yield* bioetanol sebesar $58,5 \pm 2,0\%$. Hasil ini menunjukkan bahwa berkurangnya kandungan lignin meningkatkan aksesibilitas selulosa terhadap proses hidrolisis sehingga lebih banyak glukosa yang tersedia sebagai substrat fermentasi bagi *Saccharomyces cerevisiae*. Selain menghasilkan kadar etanol yang lebih tinggi, pretreatment DES juga diduga mampu menekan pembentukan senyawa inhibitor selama hidrolisis, sehingga proses fermentasi berlangsung lebih optimal. Temuan ini memperlihatkan adanya hubungan yang konsisten antara tingkat delignifikasi, peningkatan gula pereduksi, dan keberhasilan konversi glukosa menjadi bioetanol.

Penelitian ini membuktikan bahwa pretreatment menggunakan DES kolin klorida–gliserol selama 3 jam merupakan kondisi terbaik untuk meningkatkan efisiensi konversi limbah kulit pisang menjadi bioetanol. Efisiensi fermentasi mencapai 82,4%, menunjukkan bahwa sebagian besar gula hasil hidrolisis berhasil dimanfaatkan oleh *Saccharomyces cerevisiae* untuk menghasilkan etanol. Hasil tersebut memperkuat potensi DES sebagai teknologi pretreatment yang ramah lingkungan, selektif terhadap lignin, dan efektif meningkatkan pemanfaatan biomassa lignoselulosa sebagai bahan baku bioetanol generasi kedua. Penelitian ini juga memberikan kontribusi ilmiah melalui penyajian hubungan yang terintegrasi antara perubahan komposisi lignoselulosa, peningkatan gula pereduksi, dan performa fermentasi, sehingga memberikan pemahaman yang lebih komprehensif mengenai mekanisme peningkatan produksi bioetanol berbasis limbah kulit pisang. Ke depan, penelitian lanjutan perlu diarahkan pada optimasi komposisi DES, evaluasi proses daur ulang pelarut, penggunaan hidrolisis enzimatis, serta pengujian pada skala pilot untuk mendukung pengembangan teknologi biorefineri yang lebih efisien dan berkelanjutan.

DAFTAR PUSTAKA

- 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>
- Anggoro, D. D., & Oktavia, K. N. (2021). The potential of cellulose as a source of bioethanol using the solid catalyst: A mini-review. *Bulletin of Chemical Reaction Engineering & Catalysis*, 16(3), 661–672. <https://doi.org/10.9767/bcrec.16.3.10635.661-672>
- Chen, Z., & Wan, C. (2018). Ultrafast fractionation of lignocellulosic biomass by microwave-assisted deep eutectic solvent pretreatment. *Bioresource Technology*, 250, 532–537. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.11.066>
- Chesson, A. (1981). Effects of sodium hydroxide on cereal straws in relation to the enhanced degradation of structural polysaccharides by rumen microorganisms. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 32(8), 745–758. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740320802>
- Dewi, L. K., Cahyani, C., Rahmadhina, A. F., Prasetya, A. T., & Triyastuti, M. S. (2023). Effect of hydrolysis and amount of yeast on banana peel fermentation into bioethanol. *Fluida*, 16(2), 114–119. <https://doi.org/10.35313/fluida.v16i2.4615>
- Gajera, Y., Shah, M., Patel, A., et al. (2022). Bioethanol from various types of banana waste: A review. *Bioresource Technology Reports*, 20, 101092. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2022.101092>
- Limayem, A., & Ricke, S. C. (2012). Lignocellulosic biomass for bioethanol production: Current perspectives, potential issues and future prospects. *Progress in Energy and Combustion Science*, 38(4), 449–467. <https://doi.org/10.1016/j.pecs.2012.03.002>
- Lin, Y., & Tanaka, S. (2006). Ethanol fermentation from biomass resources: Current state and prospects. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 69(6), 627–642. <https://doi.org/10.1007/s00253-005-0229-x>
- Moodley, P., Kana, E. G. B., & Sartbaeva, A. (2024). Recent developments in pretreatment technologies for lignocellulosic biomass conversion to bioethanol: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 191, 114134. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2023.114134>
- Mulyani, A. S., Hidayah, A. N., Paramita, D. R. A., & Azizah, S. N. (2024). Bioethanol production by fermentation of rice husk and golden banana peel delignified using EM4. *Berkala Sainstek*, 12(2), 115–124. <https://doi.org/10.19184/bst.v12i2.44102>

- Priharto, N., Setiawan, A., & Astuti, D. I. (2025). Optimized bioethanol production from banana stem waste via simultaneous saccharification and fermentation with *Saccharomyces cerevisiae*. *Indonesian Journal of Biotechnology*, 30(1), 45–53. <https://doi.org/10.22146/ijbiotech.91024>
- Procentese, A., Johnson, E., Orr, V., Garruto Campanile, A., Wood, J. A., Marzocchella, A., & Rehmann, L. (2018). Deep eutectic solvent pretreatment and subsequent saccharification of corncob. *Biotechnology for Biofuels*, 11, 118. <https://doi.org/10.1186/s13068-018-1117-4>
- 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>
- Sun, S., Cao, X., Xu, F., Sun, R., & Jones, G. L. (2020). Deep eutectic solvent fractionation and lignin removal from lignocellulosic biomass: Advances and perspectives. *Chemical Engineering Journal*, 384, 123314. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.123314>
- Xu, H., Kong, Y., Peng, J., Li, B., Wang, Z., Liu, Y., Song, X., & Su, Z. (2021). Comprehensive analysis of important parameters of choline chloride-based deep eutectic solvent pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, 319, 124209. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124209>