



Transformasi Lignoselulosa Ampas Kopi melalui Perlakuan Beku–Cair untuk Meningkatkan Efisiensi Biokonversi

Margareta N. Cahyanti^{1,*}, Diki Anggaran¹, Yefta A. Steefian¹, Vincentia N. P. Kristanti¹

¹Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Kristen Satya Wacana, Jalan Diponegoro 52-60 Salatiga, Jawa Tengah, Indonesia

*margareta.cahyanti@uksw.edu

Abstract

Spent coffee grounds are an abundant waste material that also holds great potential as a renewable biomass resource. In this study, a simple freeze–thaw treatment was applied repeatedly to investigate its effect on the extractive content and fiber composition of spent coffee grounds. Furthermore, the reducing sugar content obtained after acid hydrolysis was measured to evaluate its potential for microbial conversion. The results showed that the extractive content reached its lowest value after five freeze–thaw cycles, at 10.59%. Hemicellulose content increased with the number of treatment cycles but decreased again at the fifth cycle. Cellulose content exhibited a fluctuating trend across treatments, whereas lignin content remained relatively stable after one and three cycles and increased after five cycles. The reducing sugar concentration increased by more than 16%, from 38.21 g/kg in the untreated sample to 44.70 g/kg after five cycles of treatment. This increase indicates cell wall disruption and the removal of extractives, which enhanced cellulose accessibility during hydrolysis. Overall, the findings demonstrate that the freeze–thaw treatment is an effective, environmentally friendly, and economical approach to enhance the saccharification potential of coffee grounds, offering a promising route for biomass valorization and sustainable bioenergy production..

Keyword: Spent coffee grounds; biomass; saccharification; valorization; green process

Abstrak

Ampas kopi merupakan limbah yang berlimpah sekaligus menyimpan potensi untuk dapat dimanfaatkan sebagai biomassa terbarukan. Dalam penelitian ini, perlakuan sederhana dengan proses pembekuan dan pencairan berulang diberikan pada ampas kopi untuk mengetahui pengaruh perlakuan hijau ini terhadap kandungan ekstraktif dan komposisi serat. Lebih lanjut gula reduksi yang dihasilkan pascahidrolisis asam diukur untuk mengetahui potensinya dalam konversi mikrobiologis. Kandungan ekstraktif mencapai titik

terendah pada perlakuan sebanyak lima siklus yaitu sebesar 10,59%. Kandungan hemiselulosa meningkat seiring naiknya siklus perlakuan dan turun pada lima siklus. Kandungan selulosa cenderung fluktuatif pada berbagai perlakuan sedangkan kandungan lignin cenderung stabil pada perlakuan satu dan tiga siklus tetapi naik pada lima siklus. Kandungan gula reduksi menunjukkan kenaikan seiring naiknya siklus perlakuan, yaitu lebih dari 16% dari 38,21 g/kg pada sampel tanpa perlakuan hingga 44,70 g/kg pada perlakuan lima siklus. Kenaikan gula reduksi menunjukkan adanya kerusakan dinding sel dan hilangnya ekstraktif sehingga selulosa dapat mudah diakses pada proses hidrolisis. Penelitian ini menunjukkan perlakuan beku-cair adalah perlakuan yang efektif, ramah lingkungan dan ekonomis untuk meningkatkan potensi sakarifikasi ampas kopi dan menyediakan jalur yang menjanjikan dalam proses valorisasi biomassa dan produksi energi yang berkelanjutan.

Kata Kunci: Ampas kopi, biomassa, sakarifikasi, valorisasi, proses hijau

I. PENDAHULUAN

Kopi merupakan salah satu komoditas perkebunan yang banyak dikonsumsi secara global. Indonesia adalah salah satu negara produsen kopi utama di dunia dengan volume produksi mencapai 775 ribu ton pada tahun 2022. Dari jumlah tersebut, sebanyak 437 ribu ton diekspor, sementara sisanya dialokasikan untuk memenuhi kebutuhan konsumsi dalam negeri [1]. Konsumsi kopi dapat dilakukan oleh rumah tangga maupun industri. Konsumsi kopi menghasilkan limbah berupa ampas kopi yang cukup banyak karena dari 1 gram bubuk kopi menghasilkan limbah ampas kopi sebanyak 0,91 gram. Dengan konsumsi global mencapai 10 juta ton pada tahun 2020/2021 maka limbah ampas kopi yang dihasilkan lebih dari 9 juta ton [2]. Pemanfaatan limbah ampas kopi telah banyak

diteliti. Limbah ampas kopi berpotensi sebagai prekursor biopolimer dan filler komposit polimer [3], [4]. Limbah ampas kopi juga dikembangkan sebagai agen penjerap pewarna [5], [6], logam berat [7], maupun pestisida [8]. Alebooye *et al.* (2023) juga memanfaatkan ampas kopi dalam produksi γ -aminobutyric acid [9]. Pemanfaatan ampas kopi sebagai substrat pertumbuhan mikroorganisme menghadapi tantangan terkait struktur kompleks serat biomassa. Untuk dapat mengurai struktur serat biomassa yang kompleks, perlakuan perlu dilakukan. Perlakuan dapat dilakukan secara kimiawi, mekanis, biologis, fisik maupun kombinasi. Salah satu perlakuan fisik yang dapat diaplikasikan adalah perlakuan beku-cair. Penelitian sebelumnya oleh Raud *et al.* (2016) menunjukkan peningkatan kandungan

glukosa hasil hidrolisis enzimatis pasca perlakuan beku-cair dan mencapai titik tertinggi setelah 4 kali siklus yaitu sebesar 88,80 g/kg jerami barley [10]. Penelitian lain menggunakan jerami gandum yang dibekukan dalam 1 siklus pada suhu -10°C selama 24 jam meningkatkan efisiensi hidrolisis enzimatis sebanyak 3,13 kali dibandingkan kontrol [11]. Berbeda dengan perlakuan pada berbagai jenis jerami sebagian besar penelitian pemanfaatan ampas kopi sebagai substrat biologis masih mengandalkan perlakuan kimia dengan larutan alkali atau asam kuat untuk mendegradasi struktur lignoselulosa [12], [13], [14]. Meskipun efektif, pendekatan kimiawi tersebut berpotensi menghasilkan limbah cair yang mencemari lingkungan serta berisiko menghambat aktivitas mikroorganisme selanjutnya akibat sisa bahan kimia. Oleh karena itu, diperlukan pendekatan perlakuan yang lebih ramah lingkungan. Perlakuan fisik beku-cair menawarkan solusi potensial. Perlakuan beku cair bekerja berdasarkan pembentukan dan pertumbuhan kristal es dalam jaringan biomassa selama proses pembekuan [15]. Kristal es yang terbentuk menekan dinding sel yang menyebabkan lemahnya ikatan antar komponen dinding sel. Pada proses pencairan, struktur yang sudah lemah lebih mudah dimasuki molekul air yang akan membentuk kristal es pada siklus pembekuan selanjutnya.

Pada siklus awal, disrupsi terutama berupa retakan mikro, sedangkan peningkatan jumlah siklus diperkirakan menyebabkan akumulasi kerusakan struktural yang lebih signifikan. Siklus beku cair yang berulang diperkirakan dapat meningkatkan kerusakan matriks dinding sel, memperluas luas permukaan, dan meningkatkan keterpaparan hemiselulosa serta selulosa terhadap hidrolisis atau degradasi biologis. Meskipun efektivitasnya telah dibuktikan pada biomassa lignoselulosa lain seperti jerami, penerapan metode beku-cair secara spesifik pada ampas kopi untuk aplikasi fermentasi atau pertumbuhan mikroba masih sangat terbatas dipelajari. Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk menginvestigasi pengaruh variasi siklus perlakuan beku-cair terhadap perubahan karakteristik struktural ampas kopi dan peningkatan kelayakannya sebagai substrat pertumbuhan mikroorganisme, guna mengembangkan strategi valorisasi ampas kopi yang lebih hijau dan berkelanjutan.

II. METODOLOGI

Ampas kopi diperoleh dari salah satu kafe kopi di Salatiga. Setelah dikumpulkan, ampas kopi dikeringkan pada suhu 50°C selama 24 jam. Sampel kemudian disimpan dalam plastik dengan sealer. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah

akuades, asam klorida, dan asam sulfat dengan grade pro analysis yang diperoleh dari Laboratorium Kimia, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Kristen Satya Wacana. Penelitian dilakukan mulai bulan Januari 2025 sampai dengan bulan Juli 2025 di Laboratorium Kimia, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Kristen Satya Wacana.

2.1. Perlakuan beku-cair

Ampas kopi dicampur dengan akuades dengan perbandingan 1:10 kemudian dimasukkan dalam wadah plastik. Wadah ditutup kemudian dibekukan pada suhu -4°C . Setelah dibekukan sampel dikeluarkan dari freezer dan dibiarkan mencair pada suhu ruang sampai mencair sempurna selama kurang lebih 6 jam. Proses pembekuan divariasi sebagai perlakuan dengan rincian 1x, 3x, dan 5x pembekuan. Ampas kopi yang telah selesai diberi perlakuan dipisahkan dari fase cairnya dengan penyaringan. Ampas kopi dikeringkan dalam oven pada suhu 100°C selama 24 jam kemudian disimpan dalam kantong plastik.

2.2. Karakterisasi biomassa

Pengukuran komposisi serat biomassa dilakukan berdasarkan metode Chesson-Datta yang telah dimodifikasi [16]. Pengukuran

komposisi dilakukan bertingkat yaitu dimulai dari ekstraksi dengan akuades dilanjutkan dengan refluks dengan asam sulfat 0,5M untuk ekstraksi hemiselulosa. Ekstraksi selulosa dilakukan dengan perendaman biomassa menggunakan asam sulfat 72%. Kadar lignin dan abu diketahui dengan melalui proses pengabuan.

2.3. Hidrolisis asam

Proses hidrolisis asam dilakukan berdasarkan penelitian sebelumnya [17]. Sampel yang telah dimicrowave dan dioven selama 24 jam kemudian di ambil sebanyak 5 gram dan dimasukkan ke dalam beaker. Ditambahkan larutan HCl 1 N 87,5 mL ke dalam beaker berisi sampel kemudian didiamkan selama 1 jam. Beaker kemudian dipanaskan di water bath suhu 80°C selama 2 jam dan diaduk sesekali. Sampel kemudian disaring dan dinetralkan dengan NaOH. Setelah dinetralkan, pelarut yang telah netral kemudian dianalisis gula reduksi nya menggunakan DNS.

Kandungan gula pereduksi dalam sampel pelarut hasil hidrolisis dianalisis menggunakan metode DNS yang diukur dengan spektrofotometer UV-Vis. Reagen DNS pertama-tama disiapkan dengan melarutkan NaOH, Natrium Kalium Tartrat, dan DNSA ke dalam akuades hingga volume 50 mL. Kurva standar dibuat menggunakan

seri larutan glukosa dengan konsentrasi 0,1 hingga 1,0 mg/mL yang direaksikan dengan reagen DNS dan dipanaskan. Untuk pengujian sampel, 1 mL filtrat direaksikan dengan 1 mL reagen DNS, dipanaskan selama 10 menit, lalu didinginkan dan diencerkan hingga 10 mL. Absorbansi sampel yang dihasilkan kemudian diukur pada panjang gelombang maksimum untuk menentukan konsentrasi gula pereduksi berdasarkan kurva standar.

Efisiensi proses hidrolisis dihitung dengan membandingkan kandungan glukosa yang dihasilkan dengan massa selulosa awal dikalikan faktor konversi selulosa menjadi glukosa [18]. Perhitungan efisiensi proses hidrolisis dihitung berdasarkan persamaan (1).

$$\text{Efisiensi hidrolisis} = \frac{\text{massa glukosa}}{\text{massa selulosa} \times \text{faktor konversi (1,11)}} \times 100\%, (1)$$

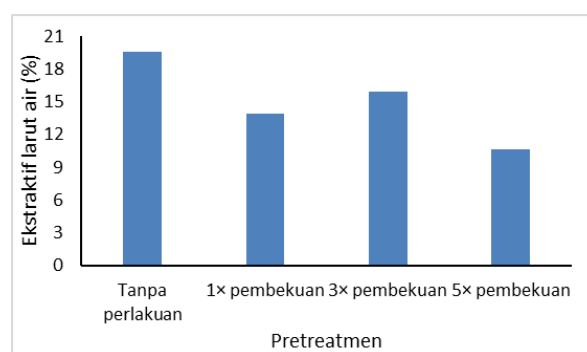
III. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Pengaruh perlakuan terhadap kandungan ekstraktif larut air

Pengaruh perlakuan terhadap kandungan ekstraktif larut air ampas kopi disajikan pada Gambar 1. Ampas kopi yang telah mengalami perlakuan mengandung ekstraktif larut air yang lebih sedikit dibandingkan dengan ampas kopi tanpa perlakuan. Nilai terendah ekstraktif larut air dicapai pada perlakuan 5 siklus yaitu sebesar 10,59%. Perlakuan beku-cair merupakan salah satu cara untuk melakukan disrupsi dinding sel yang dapat menyebabkan pelepasan

senyawa bioaktif termasuk ekstraktif dari sel [19].

Penurunan kandungan ekstraktif dapat dijelaskan oleh mekanisme pembentukan dan pertumbuhan kristal es selama perlakuan beku-cair. Kristal es yang terbentuk pada ruang antar struktur biomassa menghasilkan tekanan mekanik dan gesekan lokal yang memicu retakan mikro serta meningkatkan permeabilitas matriks dinding sel [20]. Pada fase pencairan, kondisi ini memfasilitasi difusi senyawa ekstraktif yang bersifat non-struktural dan mudah larut air keluar dari biomassa. Efek ini bersifat kumulatif, sehingga peningkatan jumlah siklus pembekuan-pencairan menghasilkan penurunan kandungan ekstraktif yang semakin signifikan.



Gambar 1. Pengaruh perlakuan pada kandungan ekstraktif

3.2. Pengaruh perlakuan terhadap kandungan hemiselulosa, selulosa, dan lignin

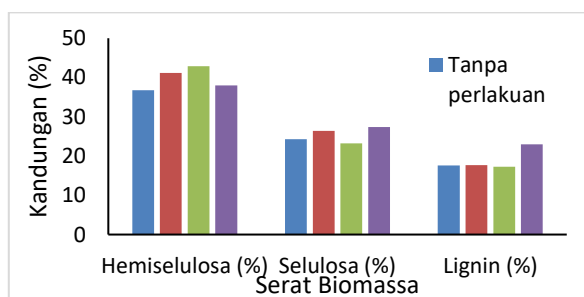
Pengaruh perlakuan terhadap kandungan hemiselulosa, selulosa, dan lignin ampas kopi disajikan pada Gambar 2. Pada perlakuan 1x dan 3x siklus pembekuan kandungan hemiselulosa cenderung meningkat tetapi turun pada 5x siklus pembekuan. Kenaikan kandungan hemiselulosa pada 1x dan 3x siklus merupakan kenaikan relatif yang disebabkan karena penurunan kandungan ekstraktif pada ampas kopi. Pada tahap ini perlakuan berperan dalam membuka struktur dinding sel dan mengekspos hemiselulosa tanpa menyebabkan degradasi signifikan. Pada siklus yang lebih banyak, 5x siklus, kandungan hemiselulosa cenderung turun. Penurunan ini mengindikasikan terjadinya pergeseran mekanisme dari dominasi disrupsi fisik menuju degradasi struktural ringan. Hemiselulosa yang kurang stabil dibandingkan selulosa [21] menjadi lebih rentan terhadap fragmentasi dan pelarutan selama fase pencairan berulang, sehingga sebagian fraksinya hilang dari matriks biomassa. Penurunan kandungan hemiselulosa pasca perlakuan beku-cair juga terjadi pada penelitian yang dilakukan Deng *et al.* (2018) yang mengamati adanya penurunan kadar hemiselulosa dari 21,32% menjadi

18,55% setelah 1 siklus pembekuan pada suhu -20°C selama 12 jam [22].

Kandungan lignin pada ampas kopi sebelum dan sesudah perlakuan 1x dan 3x siklus pembekuan cenderung stabil dan meningkat pada 5x siklus pembekuan. Stabilitas lignin pada siklus awal menunjukkan bahwa perlakuan beku-cair tidak secara langsung mempengaruhi struktur lignin, melainkan lebih selektif terhadap fraksi yang bersifat hidrofilik dan amorf. Lignin merupakan komponen dalam biomassa lignoselulosa yang dalam interaksinya dengan sesama lignin maupun dengan hemiselulosa didominasi oleh interaksi hidrofobik dan menolak keberadaan air. Interaksi ini didominasi oleh gaya hidrofobik dan π - π stacking antar cincin aromatik yang menghalangi penetrasi air ke dalam matriks lignin. Hal ini menyebabkan lignin sulit larut dalam air [23]. Peningkatan kandungan lignin pada 5x siklus pembekuan lebih mencerminkan peningkatan relatif akibat berkurangnya fraksi karbohidrat yang lebih mudah terdisrupsi, bukan karena pembentukan lignin baru atau degradasi selektif lignin. Deng *et al.* (2018) juga mengamati kestabilan lignin pada kisaran 9% setelah 1 siklus pembekuan pada suhu -20°C selama 12 jam [22].

Kandungan selulosa mempunyai dinamika yang berbeda jika dibandingkan

dengan kandungan hemiselulosa dan lignin. Pada perlakuan 1x siklus pembekuan kandungan selulosa cenderung meningkat kemudian turun pada siklus 3x dan kembali naik pada 5x siklus pembekuan. Fluktuasi ini menunjukkan bahwa perubahan kandungan selulosa tidak hanya dipengaruhi oleh degradasi, tetapi juga oleh perubahan proporsi relatif akibat hilangnya fraksi lain selama perlakuan beku-cair. Kandungan selulosa mencapai nilai tertinggi pasca 5x siklus pembekuan yaitu sebesar 27,35%. Kondisi ini mengindikasikan bahwa meskipun sebagian hemiselulosa mengalami degradasi pada siklus lanjut, struktur selulosa yang lebih kristalin tetap bertahan dan menjadi semakin terekspos akibat berkurangnya hambatan struktural di sekitarnya. Peningkatan kandungan selulosa ini dinilai menguntungkan karena meningkatkan kemungkinan konversi limbah lignoselulosa menjadi gula yang dapat digunakan dalam konversi biologi [24].



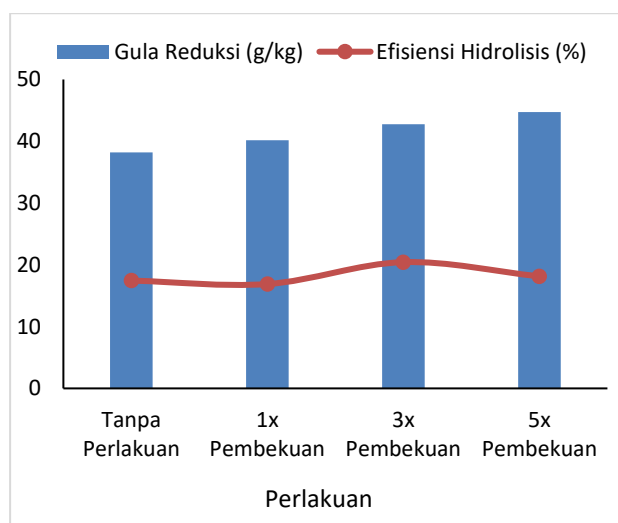
Gambar 2. Pengaruh perlakuan pada kandungan serat biomassa.

3.3. Pengaruh perlakuan terhadap kandungan gula reduksi pascahidrolisis asam

Pengaruh perlakuan terhadap kandungan gula reduksi pascahidrolisis asam disajikan pada Gambar 3. Pascahidrolisis asam dengan menggunakan asam klorida diketahui kandungan gula reduksi pada ampas kopi tanpa perlakuan adalah sebesar 34,47 g/kg. Gula reduksi yang dihasilkan dari hidrolisis asam naik seiring dengan bertambahnya jumlah siklus pembekuan dan mencapai titik tertinggi pada 5x siklus pembekuan yaitu sebesar 40,49 g/kg. Peningkatan kandungan gula reduksi pascahidrolisis juga diamati oleh Rooni *et al.* (2017) yang mengamati kenaikan kandungan glukosa pascahidrolisis enzimatis pada jerami barley setelah siklus 6x siklus pembekuan [25]. Kandungan glukosa yang diperoleh adalah sebesar 116,97 g/kg. Kandungan glukosa tersebut lebih tinggi dibandingkan kandungan glukosa pada penelitian ini. Hal ini terjadi karena jumlah selulosa pada masing-masing sampel sangat mempengaruhi jumlah glukosa maupun gula reduksi yang dihasilkan dari proses hidrolisis. Pernyataan ini didukung dengan kandungan selulosa pada Jerami barley yang digunakan dalam penelitian tersebut berada pada kisaran 40%.

Selain jenis biomassa, jenis hidrolisis juga mempengaruhi efisiensi konversi

selulosa menjadi gula reduksi atau glukosa. Pada penelitian Rooni *et al.* (2017) efisiensi hidrolisis enzimatis pada biomassa dengan 6x siklus pembekuan yaitu sebesar 25,58% [25]. Pada penelitian ini efisiensi hidrolisis asam tertinggi pada biomassa dengan 3x siklus pembekuan yaitu sebesar 20,43%. Penelitian yang dilakukan oleh [26] menunjukkan efisiensi hidrolisis asam lebih rendah, yaitu antara 73,32-74,24% dibandingkan hidrolisis enzimatis yang berkisar pada antara 78,13-79,52% pada biomassa batang jagung. Hal ini disebabkan enzim bekerja secara spesifik sehingga menghasilkan produk secara lebih efisien.



Gambar 3. Pengaruh perlakuan pada kandungan gula reduksi pascahidrolisis asam

Peningkatan kandungan gula reduksi pascahidrolisis asam berkaitan erat dengan perubahan struktural biomassa yang diinduksi

oleh perlakuan beku-cair. Penurunan kandungan ekstraktif mengurangi senyawa non-struktural yang pada suasana asam dapat berkontribusi terhadap pembentukan senyawa larut dioksan. Senyawa larut dioksan ini bersifat inhibitor terhadap proses biokonversi lanjutan [27]. Selain itu, pengurangan fraksi ekstraktif menurunkan hambatan fisik dan kimia pada permukaan biomassa, sehingga meningkatkan penetrasi larutan asam selama hidrolisis. Disrupsi dinding sel meningkatkan keterpaparan fraksi hemiselulosa dan selulosa, yang merupakan sumber utama gula pereduksi. Perubahan kandungan hemiselulosa dan selulosa menunjukkan bahwa perlakuan beku-cair tidak hanya menyebabkan penghilangan fraksi non-struktural, tetapi juga memodifikasi organisasi matriks lignoselulosa sehingga ikatan karbohidrat menjadi lebih mudah terhidrolisis. Stabilitas relatif lignin selama siklus awal menunjukkan bahwa peningkatan gula reduksi terutama didorong oleh peningkatan aksesibilitas karbohidrat, bukan oleh degradasi lignin. Kombinasi efek-efek ini menjelaskan kecenderungan peningkatan gula reduksi seiring bertambahnya jumlah siklus pembekuan.

IV. KESIMPULAN

Aplikasi berulang dari siklus pembekuan-pencairan terbukti menurunkan

kandungan ekstraktif dan memodifikasi komposisi serat ampas kopi yang ditandai dengan terpaparnya selulosa pada siklus ke lima sedangkan di sisi lain lignin relatif lebih stabil karena sifatnya yang lebih hidrofobik. Perubahan struktural ini berkontribusi langsung terhadap peningkatan gula reduksi yang dihasilkan melalui hidrolisis asam, menunjukkan bahwa perlakuan beku-cair meningkatkan aksesibilitas karbohidrat tanpa memerlukan bahan kimia tambahan. Oleh karena itu, metode beku-cair berpotensi diaplikasikan sebagai tahap pretreatment fisik yang sederhana dan ramah lingkungan untuk meningkatkan efisiensi konversi ampas kopi menjadi gula fermentabel pada proses biokonversi selanjutnya.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Sub Direktorat Statistik Tanaman Perkebunan, Statistik Kopi Indonesia 2022. Jakarta: Badan Pusat Statistik, 2023.
- [2] N. Rüegg, T. Tschichold, and S. Yildirim, "Utilizing spent coffee grounds as sustainable fillers in biopolymer composites: influence of particle size and content †," *Sustainable Food Technology*, 2025, doi: 10.1039/d5fo00187k.
- [3] A. S. C. de Bomfim, D. M. de Oliveira, H. J. C. Voorwald, K. C. C. de C. Benini, M. J. Dumont, and D. Rodrigue, "Valorization of Spent Coffee Grounds as Precursors for Biopolymers and Composite Production," Feb. 01, 2022, MDPI. doi: 10.3390/polym14030437.
- [4] R. Taufik *et al.*, "Spent coffee ground as low-cost adsorbent for congo red dye removal from aqueous solution," in *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, IOP Publishing Ltd, May 2021. doi: 10.1088/1755-1315/765/1/012089.
- [5] H. M. A. Hassan, M. S. Alhumaimess, I. H. Alsohaimi, S. F. Al-Furhud, A. A. Alqadami, and A. M. Aldawsari, "Synthesis of polymer functionalized spent coffee-based porous carbon for efficient dye adsorption," *Biomass Bioenergy*, vol. 203, Dec. 2025, doi: 10.1016/j.biombioe.2025.108275.
- [6] R. Campbell, B. Xiao, and C. Mangwandi, "Production of activated carbon from spent coffee grounds (SCG) for removal of hexavalent chromium from synthetic wastewater solutions," *J Environ Manage*, vol. 366, Aug. 2024, doi: 10.1016/j.jenvman.2024.121682.
- [7] V. Milanković, T. Tasić, M. Pejčić, I. Pašti, and T. Lazarević-Pašti, "Spent

- Coffee Grounds as an Adsorbent for Malathion and Chlorpyrifos—Kinetics, Thermodynamics, and Eco-Neurotoxicity,” *Foods*, vol. 12, no. 12, Jun. 2023, doi: 10.3390/foods12122397.
- [8] P. Alebooye, F. Falah, A. Vasiee, F. T. Yazdi, and S. A. Mortazavi, “Spent coffee grounds as a potential culture medium for γ -aminobutyric acid (GABA) production by *Levilactobacillus brevis* PML1,” *LWT*, vol. 189, Nov. 2023, doi: 10.1016/j.lwt.2023.115553.
- [9] M. Raud, V. Rooni, and T. Kikas, “Explosive decompression perlakuan: Nitrogen vs. compressed air,” *Agronomy Research*, vol. 14, no. 2, pp. 569–578, 2016.
- [10] J. Sun, Y. Deng, S. Li, W. Xu, and G. Liu, “Enhanced efficiency of enzymatic hydrolysis of wheat straw via freeze–thaw perlakuan,” *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 29, no. 37, pp. 56696–56704, 2022.
- [11] P. Tsafraikidou *et al.*, “Aqueous ammonia soaking perlakuan of spent coffee grounds for enhanced enzymatic hydrolysis: A bacterial cellulose production application,” *Sustain Chem Pharm*, vol. 33, Jun. 2023, doi: 10.1016/j.scp.2023.101121.
- [12] E. Titiri, K. Filippi, N. Giannakis, A. Vlysidis, A. Koutinas, and E. Stylianou, “Optimisation of alkaline perlakuan of spent coffee grounds for microbial oil production by *Cryptococcus curvatus*,” *Biochem Eng J*, vol. 193, Apr. 2023, doi: 10.1016/j.bej.2023.108841.
- [13] S. Gosławski, “Assessment of the Impact of Perlakuan of Spent Coffee Grounds with Diluted Sulfuric Acid on the Efficiency of Methane and Lactic Acid Fermentation,” *Acta Universitatis Lodzianensis. Folia Biologica et Oecologica*, vol. 18, pp. 14–22, Sep. 2024, doi: 10.18778/1730-2366.18.06.
- [14] M. N. Cahyanti, B. K. Wibowo, Y. A. Steefian, D. A. Stefani, and D. Anggaran, “Dilute Alkali Treatment as an Effective Strategy for Valorizing Young Coconut Coir as Cellulose Source,” *Jurnal Biologi Tropis*, 2024, doi: 10.29303/jbt.v24i2.6891.
- [15] Y. Azizah and A. Marziah, “Hidrolisis Ampas Tebu (Baggase) Menggunakan HCl Menjadi Cellulosa Powder,” 2022.
- [16] M. Raud, V. Rooni, and T. Kikas, “The efficiency of nitrogen and flue gas as operating gases in explosive decompression perlakuan,” *Energies (Basel)*, vol. 11, no. 8, Aug. 2018, doi: 10.3390/en11082074.

- [17] J. Xie, F. Wei, L. Luo, L. Dai, L. Zeng, and X. Wang, "Effect of cell wall-disruption processes on wall disruption, antioxidant activity and nutrients in tea pollen," *Int J Food Sci Technol*, vol. 57, no. 6, pp. 3361–3374, Jun. 2022, doi: <https://doi.org/10.1111/ijfs.15612>.
- [18] Y. Deng, L. Qiu, Y. Yao, and M. Qin, "A technology for strongly improving methane production from rice straw: Freeze-thaw perlakuan," *RSC Adv*, vol. 8, no. 40, pp. 22643–22651, 2018, doi: 10.1039/c8ra03692f.
- [19] R. L. Silveira, S. R. Stoyanov, S. Gusarov, M. S. Skaf, and A. Kovalenko, "Supramolecular interactions in secondary plant cell walls: Effect of lignin chemical composition revealed with the molecular theory of solvation," *Journal of Physical Chemistry Letters*, vol. 6, no. 1, pp. 206–211, Jan. 2015, doi: 10.1021/jz502298q.
- [20] E. I. Kashcheyeva, G. F. Mironova, V. V. Budaeva, and H. Khan, "Bioconversion of oat hull and miscanthus cellulose to glucose solutions," *PROCEEDINGS OF UNIVERSITIES APPLIED CHEMISTRY AND BIOTECHNOLOGY*, vol. 9, no. 4, pp. 654–664, 2019, doi: 10.21285/2227-2925-2019-9-4-654-664.
- [21] V. Rooni, M. Raud, and T. Kikas, "The freezing pre-treatment of lignocellulosic material: A cheap alternative for Nordic countries," *Energy*, vol. 139, pp. 1–7, 2017, doi: 10.1016/j.energy.2017.07.146.
- [22] K. T. Eunice, "Enzymatic and Dilute Acid Hydrolyses of Maize Stalk Substrate in Bio-ethanol Production," *Journal of Energy, Environmental & Chemical Engineering*, vol. 6, no. 1, p. 24, 2021, doi: 10.11648/j.jeece.20210601.14.