

Evaluasi Tahapan *Pretreatment* dan Hidrolisis Enzimatik terhadap Tandan Kosong Kelapa Sawit untuk Produksi Xilosa dan Glukosa

Evaluation of Pretreatment and Enzymatic Hydrolysis Stages toward Oil Palm Empty Fruit Bunches (OPEFB) for Xylose and Glucose Production

Maisyarah Isnaini S. Nawawi^{1,*}, Efri Mardawati^{1,3}, Hana Nur Fitriana^{1,2,3}, dan Putri Amanda²

¹ Departemen Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Industri Pertanian, Universitas Padjadjaran
Jl. Ir. Soekarno Km. 21 Jatinangor, Sumedang, Jawa Barat 45363, Indonesia.

² Pusat Riset Biomassa dan Bioproduk, Organisasi Riset Hayati dan Lingkungan, Badan Riset dan Inovasi Nasional
Jl. Raya Jakarta-Bogor Km. 46, Cibinong, Bogor, Jawa Barat 16911, Indonesia.

³ Research Collaboration Center for Biomass and Biorefinery between BRIN and Universitas Padjadjaran
Jl. Ir. Soekarno Km. 21 Jatinangor, Sumedang, Jawa Barat 45363, Indonesia.

*) Alamat E-mail Korespondensi: maisarah19001@mail.unpad.ac.id

Informasi Artikel

Diterima: 22 Mei 2023

Disetujui: 13 Juni 2023

Terbit : 30 Juni 2023

Kata Kunci:

TKKS, Hemiselulosa, HPLC, Lignoselulosa, NaOH dan Xilitol.

Keywords:

OPEFB, Hemicellulose, HPLC, Lignocellulose, NaOH, and Xylitol.

Abstrak. Tandan kosong kelapa sawit (TKKS) sebagai limbah biomassa padat dari perkebunan kelapa sawit belum banyak dimanfaatkan karena minimnya teknologi pengolahan limbah. Kandungan lignoselulosa TKKS terdiri dari selulosa (43,0-43,7%), hemiselulosa (22,9-23,7%), dan lignin (21,3-22,1%) yang berpotensi sebagai bahan baku dalam pembuatan xilitol. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi tahapan *pretreatment* dan hidrolisis enzimatik menggunakan Cellic® Htec2 untuk menghasilkan xilosa dan glukosa yang tinggi. Tahapan *pretreatment* dilakukan dengan menggunakan pemanasan autoklaf pada suhu 121 °C, memvariasikan larutan katalis asam dan basa (H₂SO₄ dan NaOH), dan memvariasikan waktu *pretreatment* (15-60 menit). Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan *pretreatment* menggunakan NaOH 4% dengan waktu *pretreatment* selama 15 menit mampu mempertahankan kandungan hemiselulosa dengan baik (23,2%). TKKS dengan kandungan hemiselulosa tertinggi kemudian dihidrolisis menggunakan enzim Cellic® Htec2 yang menghasilkan xilosa sebanyak 12,27 g/L dan glukosa sebanyak 31,73 g/L. Konsentrasi xilosa dan glukosa yang tinggi pada hidrolisat TKKS menunjukkan potensi yang besar untuk dilanjutkan ke tahapan fermentasi agar terkonversi menjadi xilitol sebagai gula alkohol rendah kalori.

Abstract. Oil palm empty fruit bunches (OPEFB) as solid biomass waste from oil palm plantations have not been widely utilized due to a lack of waste handling and processing technology. OPEFB as lignocellulosic biomass consists of cellulose (44.0–43.7%), hemicellulose (22.9–23.7%), and lignin (21.3–22.1%), which have potential as feedstock materials in xylitol production. This study aimed to evaluate the *pretreatment* and enzymatic hydrolysis stages by deploying Cellic® Htec2 to produce high amounts of xylose and glucose. The *pretreatment* stage was carried out assisted by autoclave heating at 121 °C, varying the acid and base catalyst solutions (H₂SO₄ and NaOH), and varying the *pretreatment* time (15–60 min). The results showed that the *pretreatment* with 4% of NaOH for 15 min was able to maintain the hemicellulose content properly (23.2%). OPEFB with the highest hemicellulose content was then hydrolyzed by deploying Cellic® Htec2, which produced 12.27 g/L of xylose and 31.73 g/L of glucose. The high concentrations of xylose and glucose in OPEFB hydrolyzate show great potential to be further fermented and converted to xylitol as a low-calorie sugar alcohol.

PENDAHULUAN

Industri perkebunan kelapa sawit di Indonesia mengalami pertumbuhan dan perkembangan yang signifikan. Arah perkembangan industri kelapa

sawit yang positif ini terjadi karena adanya peningkatan baik kelapa sawit yang linier seiring dengan meningkatnya kebutuhan masyarakat [1]. Peningkatan luas perkebunan kelapa sawit

berimplikasi pada peningkatan jumlah limbah biomassa kebun seperti tandan kosong kelapa sawit (TKKS). TKKS merupakan limbah dari perkebunan setelah tandan buah segar (TBS) melalui proses *sterilizer dan trippler*. Namun, pengelolaan TKKS belum banyak dimanfaatkan dan pengolahannya masih terbatas dan bisa dimanfaatkan jika ada manajemen yang baik untuk mengelolanya. TKKS memiliki beberapa kandungan kimia, yaitu selulosa sebanyak 43,0-43,7%, hemiselulosa sebanyak 22,9-23,7%, dan lignin sebanyak 21,3-22,1% [2]. Kandungan lignoselulosa yang tinggi pada TKKS, terutama kandungan hemiselulosa dapat diolah menjadi xilitol, karena hemiselulosa merupakan polimer sakarida heterogen yang tersusun dari unit glukosa, manosa, arabinosa dan juga xilosa. Sifat dari hemiselulosa adalah heteropolisakarida yang memiliki fungsi sebagai penyokong dinding sel [3]. Maka dari itu kandungan utama hemiselulosa dalam TKKS dapat terkonversi menjadi xilosa (maksimum 82%) yang berpotensi untuk dijadikan sebagai bahan baku pembuatan xilitol [4].

Xilitol merupakan salah satu gula alkohol yang memiliki manfaat dalam bidang industri pangan, farmasi, dan kesehatan. Produksi xilitol dapat dimanfaatkan dalam pembuatan permen, permen karet, minuman ringan, dan digunakan dalam produk pasta gigi. Proses produksi xilitol dilakukan dalam beberapa tahapan yang secara umum terdiri dari *pretreatment*, hidrolisis, dan fermentasi. Proses *pretreatment* bertujuan untuk memisahkan kandungan lignin pada kompleks biomassa lignoselulosa. *Pretreatment* kimia dengan senyawa asam dan basa merupakan metode yang paling banyak diterapkan di berbagai penelitian [5]. *Pretreatment* dengan senyawa basa umumnya digunakan dalam proses delignifikasi biomassa lignoselulosa, sedangkan *pretreatment* menggunakan senyawa asam banyak digunakan untuk mendekonstruksi kristalinitas selulosa, melarutkan sebagian komponen hemiselulosa, dan menghilangkan lignin [6]. Proses hidrolisis bertujuan untuk memecah hemiselulosa maupun selulosa menjadi monomer gula penyusunnya seperti xilosa dan glukosa yang nantinya dapat dikonversi menjadi xilitol dan etanol [7].

Evaluasi terhadap tahapan *pretreatment* dan hidrolisis dalam produksi xilitol perlu dilakukan. Hal tersebut diketahui dapat meningkatkan

aksesibilitas enzim dan mikroorganisme seperti khamir *Meyerozyma carribica* untuk melakukan biokonversi. Penelitian ini kemudian bertujuan untuk mengevaluasi tahapan *pretreatment* TKKS dengan menggunakan katalis basa dan variasi waktu yang dilanjutkan dengan hidrolisis secara enzimatik. Adapun hasil yang didapatkan dari penelitian ini diharapkan dapat menjadi acuan untuk dilakukannya penelitian produksi xilitol dari TKKS di masa depan.

METODE

Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu TKKS yang diperoleh dari PT. Condong Garut (Garut, Jawa Barat), sementara bahan kimia yang digunakan pada penelitian ini yaitu, aquades, NaOH, asam asetat, Cellic® Htec2, EDTA/Titriplex II, $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, Na_2HPO_4 , H_2SO_4 , dan CTAB (Merck, Singapura).

Persiapan Bahan

Prosedur persiapan bahan dilakukan dengan mengikuti prosedur dari penelitian Mardawati *et al.* [8]. TKKS dicuci dengan air mengalir yang kemudian dikecilkan ukurannya. Pengeringan dilakukan terhadap TKKS tersebut menggunakan oven pada suhu 60 °C selama 24 jam. TKKS kering diserbukkan menggunakan Disc Mill dan diayak untuk mendapatkan ukuran serbuk 60 mesh.

Pretreatment

Tahapan *pretreatment* mengikuti langkah-langkah dari Nasruddin *et al.* [3] dengan modifikasi. TKKS ditimbang dan dilarutkan pada larutan H_2SO_4 4% atau NaOH 4% dengan perbandingan 1:20 (b/v). Homogenisasi campuran dilakukan selama 3 menit yang kemudian dimasukkan ke dalam autoklaf pada suhu 121 °C. *Pretreatment* dilakukan berdasarkan variasi waktu reaksi yang meliputi 15, 30, dan 60 menit. Padatan TKKS dipisahkan untuk dicuci dan dikeringkan pada suhu 105 °C selama 24 jam.

Hidrolisis Enzimatik

Sebanyak 10 gram TKKS direndam dalam 100 mL larutan buffer asetat (pH 5). Campuran tersebut kemudian ditambahkan enzim Cellic® Htec2 dengan konsentrasi 5% dan diinkubasi pada suhu 50 °C selama 96 jam. Hasil hidrolisis dipisahkan menggunakan sentrifuge pada kecepatan 6.000 rpm

selama 20 menit untuk mendapatkan hidrolisat xilosa.

Analisis Kandungan Lignoselulosa

Kandungan lignoselulosa dianalisis menggunakan metode Van Soest [9]. Analisis kemudian dilakukan terhadap TKKS awal dan TKKS hasil *pretreatment* untuk dievaluasi kondisi *pretreatment* yang sesuai untuk digunakan dalam produksi xilitol.

Analisis Kandungan Gula Pereduksi

Prosedur analisis mengacu pada penelitian dari Aprilia *et al.* [10] dengan menggunakan instrumen kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). Hidrolisat TKKS difiltrasi menggunakan *filter syringe* sebanyak 2 mL kemudian diinjeksikan pada HPLC-DAD dengan detektor RID-20A. Adapun jenis kolom yang dipakai adalah CARBOsep Coregel 87H3 3/8in OD x 30 c sebagai fase diam dan fase gerak yang digunakan adalah 5 Mm H₂SO₄ dengan metode aliran 0,6 mL/menit pada suhu 80°C.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Bahan Baku TKKS

Tabel 1 menunjukkan profil kandungan lignoselulosa TKKS, baik sebelum dan setelah tahapan *pretreatment* dilakukan. TKKS awal yang digunakan dalam penelitian diketahui memiliki kandungan hemiselulosa yang lebih tinggi dibandingkan dengan profil TKKS terdahulu yaitu sebesar 22,93% [11]. Hasil *pretreatment* menunjukkan bahwa penggunaan larutan NaOH sebagai katalis memberikan kandungan hemiselulosa yang lebih tinggi daripada katalis

asam H₂SO₄. Selain itu, semakin lama waktu *pretreatment* menyebabkan jumlah kehilangan hemiselulosa yang besar dan hal ini tidak diharapkan karena hemiselulosa diperlukan sebagai bahan baku untuk produksi xilitol. Kandungan hemiselulosa tertinggi pada TKKS hasil *pretreatment* diberikan oleh perlakuan menggunakan katalis basa NaOH dengan waktu reaksi pemanasan autoklaf selama 15 menit.

Peningkatan selulosa terjadi pada TKKS setelah *pretreatment* dilakukan dari 36,0% menjadi 40,6-45,4%. Hal tersebut terjadi karena delignifikasi yang menghilangkan kandungan lignin pada kompleks lignoselulosa. Selain itu, sifat lignin yang amorf dapat larut pada larutan alkali sedangkan selulosa sukar larut karena bersifat kristalin, sehingga lignin pada kompleks lignoselulosa dapat hilang dalam jumlah yang besar [12]. Penggunaan suhu tinggi saat *pretreatment* dilakukan mengkatalis reaksi delignifikasi karena pergerakan ion-ion dari NaOH semakin cepat untuk menghidrolisis ikatan antarmolekul dari lignin dengan kompleks selulosa dan hemiselulosa. Reaksi yang dilakukan dalam waktu yang cukup lama terbukti memperbesar jumlah lignin yang hilang dari kompleks lignoselulosa TKKS. Adapun perlakuan *pretreatment* yang diharapkan dalam penelitian adalah tetap mempertahankan kandungan hemiselulosa dalam jumlah yang tinggi karena sifat hemiselulosa yang amorf dan mudah mengalami depolimerisasi [13]. Perlakuan tersebut diberikan oleh perlakuan NaOH selama 15 menit yang mampu mempertahankan hemiselulosa sebanyak 23,2% dan mampu menurunkan lignin hingga 9,5%.

Tabel 1. Perbandingan kandungan lignoselulosa TKKS pada kondisi awal dan setelah *pretreatment*

Komponen Lignoselulosa	% Bobot Kering						
	TKKS Awal	TKKS setelah <i>Pretreatment</i>					
		A15	A30	A60	B15	B30	B60
NDF	79,7	77,8	75,6	72,8	76,0	75,0	71,2
ADF	56,3	58,4	58,4	54,8	52,8	54,8	51,8
Hemiselulosa	23,4	19,4	17,2	18,0	23,2	20,2	19,4
Lignin	19,1	16,6	14,6	13,6	9,5	8,6	7,6
Selulosa	36,0	41,0	43,0	40,6	42,9	45,4	43,0
Abu	1,2	0,8	0,8	0,6	0,4	0,8	1,2

Keterangan:

Perlakuan *pretreatment* terdiri dari: A15 (H₂SO₄ 4% selama 15 menit); A30 (H₂SO₄ 4% selama 30 menit); A60 (H₂SO₄ 4% selama 60 menit); B15 (NaOH 4% selama 15 menit); B30 (NaOH 4% selama 30 menit); dan B60 (NaOH 4% selama 60 menit).

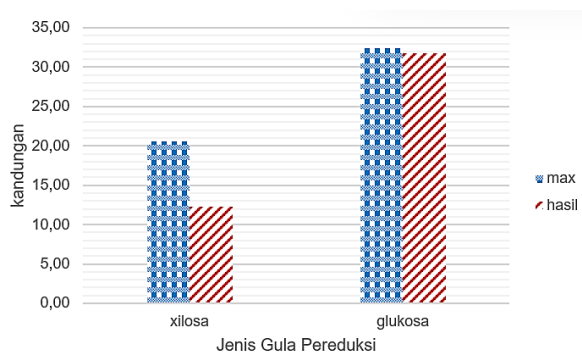
Kandungan Gula Pereduksi TKKS

Gula pereduksi dihasilkan dari hidrolisis enzimatis menggunakan enzim Cellic® Htec2 yang

merupakan kombinasi dari xilanase dan selulase. Enzim ini berperan untuk memutus ikatan β-1,4 pada hemiselulosa untuk menghasilkan

xilooligosakarida (XOS) dan ikatan β -1,4 pada selulosa untuk menghasilkan glukosa [14]. Jumlah gula pereduksi yang terkonversi dari selulosa dan hemiselulosa secara teoritis berturut-turu sebanyak 90% untuk glukosa dan 88% untuk xilosa. Adapun penelitian ini mendapatkan konsentrasi glukosa yang lebih tinggi daripada konsentrasi xilosa seperti yang dapat dilihat pada Gambar 1.

Gambar 1 menunjukkan perbedaan konsentrasi xilosa dan glukosa berdasarkan hasil perhitungan secara teoritis dan hasil pengukuran menggunakan kromatografi. Konsentrasi maksimum xilosa berdasarkan TKKS yang digunakan dapat dihasilkan sebanyak 20,59 g/L dan hasil hidrolisis memiliki kandungan yang lebih rendah yaitu hanya sebesar 12,27 g/L. Adapun kandungan glukosa hasil hidrolisis didapatkan sebanyak 31,73 g/L yang mendekati hasil perhitungan konsentrasi maksimum glukosa yaitu 32,40 g/L. Hasil tersebut diketahui lebih tinggi daripada penelitian yang dilakukan Mardawati *et al.* [8] dengan konsentrasi xilosa yang dihasilkan sebesar 1,47 g/L dengan konsentrasi glukosa sebesar 4,18 g/L. Kandungan xilosa yang tinggi di penelitian ini disebabkan oleh kandungan hemiselulosa yang tinggi dan terhidrolisis dalam jumlah yang besar, selain itu minimnya kandungan lignin diketahui meningkatkan aksesibilitas reaksi hidrolisis oleh enzim [15]. Selain itu, kandungan gula pereduksi yang tinggi dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor yang meliputi konsentrasi substrat, konsentrasi enzim, pH, lama hidrolisis, dan suhu [16]. Konsentrasi substrat yang cocok dan tepat dapat meningkatkan kinerja enzim karena enzim memiliki spesifitas yang tinggi. Konsentrasi enzim berbanding lurus terhadap efektivitas enzim karena konsentrasi enzim berpengaruh terhadap likuifikasi, sehingga proses hidrolisis dapat berjalan secara optimal dan hidrolisis berjalan semakin cepat.



Gambar 1. Konsentrasi kandungan gula pereduksi (xilosa dan glukosa) pada hidrolisat TKKS

KESIMPULAN

Perlakuan *pretreatment* yang mampu mempertahankan kandungan hemiselulosa tetap tinggi dan menghilangkan lignin dalam jumlah yang besar diberikan oleh penggunaan NaOH pada suhu 121 °C selama 15 menit. Perlakuan tersebut memberikan TKKS memiliki kandungan lignoselulosa yang terdiri dari hemiselulosa sebanyak 23,2%, selulosa sebanyak 42,9%, dan lignin sebanyak 9,5%. Hasil hidrolisis enzimatis terhadap TKKS tersebut memberikan kandungan gula pereduksi yang meliputi xilosa sebanyak 12,27 g/L dan glukosa sebanyak 31,73 g/L. Tingginya kandungan gula pereduksi yang dihasilkan dapat dikonversi lebih lanjut, khususnya menjadi xilitol sebagai gula alkohol rendah kalori.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Laboratorium Teknologi Proses dan Bioproses Agroindustri, Fakultas Teknologi Industri Pertanian Universitas Padjadjaran dan Integrated Laboratory for Bioproducts Badan Riset dan Inovasi Nasional atas fasilitasnya untuk melakukan penelitian dan pengujian.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Direktorat Jendral Perkebunan, "Statistik Perkebunan Indonesia 2018-2021," *Secr. Dir. Gen. Estates*, pp. 1–82, 2020.
- [2] E. Mardawati, A. Werner, T. Bley, MTAP. Kresnowati, and T. Setiadi, "The Enzymatic Hydrolysis of Oil Palm Empty Fruit Bunches to Xylose," *J. Japan Inst. Energy*, vol. 93, no. 10, pp. 973–978, 2014, doi: 10.3775/jie.93.973.
- [3] Nasruddin, "Delignifikasi Tandan Kosong Kelapa Sawit Dilanjutkan dengan Hidrolisis Bertahap untuk Menghasilkan Glukosa," *J. Din. Penelit. Ind.*, vol. 23, no. 1, pp. 1–11, 2012.
- [4] E. Mardawati, N. Maharani, D. W. Wira, B. M. Harahap, T. Yuliana, and E. Sukarminah, "Xylitol Production from Oil Palm Empty Fruit Bunches (OPEFB) Via Simultaneous Enzymatic Hydrolysis and Fermentation Process," *J. Ind. Inf. Technol. Agric.*, vol. 2, no. 1, pp. 29–36, 2020, doi: 10.24198/jiita.v2i1.25064.
- [5] P. L. Tang, W. L. Hong, C. S. Yue, and S.

- Harun, "Palm oil mill effluent as the pretreatment solvent of oil palm empty fruit bunch fiber for fermentable sugars production," *Bioresour. Technol.*, vol. 314, no. June, p. 123723, 2020, doi: 10.1016/j.biortech.2020.123723.
- [6] N. Sritrakul, S. Nitisinprasert, and S. Keawsompong, "Evaluation of dilute acid pretreatment for bioethanol fermentation from sugarcane bagasse pith," *Agric. Nat. Resour.*, vol. 51, no. 6, pp. 512–519, 2017, doi: 10.1016/j.anres.2017.12.006.
- [7] N. B. Riset, D. Standardisasi, and I. Palembang, "Nasruddin Delignifikasi Tandan Kosong Kelapa Sawit"
- [8] E. Mardawati, D. N. Daulay, D. W. Wira, and E. Sukarminah, "The Effect of Initial Cell and pH on Xylitol Fermentation from Oil Palm Empty Fruit Bunch," *Ind. J. Teknol. dan Manaj. Agroindustri*, vol. 7, no. 1, pp. 23–30, 2018, doi: 10.21776/ub.industria.2018.007.01.3.
- [9] P. J. Van Soest, J. B. Robertson, and B. A. Lewis, "Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition," *J. Dairy Sci.*, vol. 74, no. 10, pp. 3583–3597, 1991, doi: 10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2.
- [10] F. R. Aprilia, Y. Ayuliansari, T. Putri, M. Y. Azis, W. D. Camelina, and M. R. Putra, "Analisis Kandungan Kafein Dalam Kopi Tradisional Gayo Dan Kopi Lombok Menggunakan Hplc Dan Spektrofotometri Uv/Vis," *Biot. J. Ilm. Biol.*, vol. 16, no. 2, p. 40, 2018, doi: 10.24198/bjib.v16i2.19829.
- [11] E. Mardawati, R. Andoyo, K. A. Syukra, M. Kresnowati, and Y. Bindar, "Production of xylitol from corn cob hydrolysate through acid and enzymatic hydrolysis by yeast," in *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, Apr. 2018, vol. 141, no. 1, doi: 10.1088/1755-1315/141/1/012019.
- [12] N. Wely Asmoro, dan Ismawati, P. Studi Teknologi Hasil Pertanian, and F. Pertanian, "Prosiding Seminar Nasional Publikasi Hasil-Hasil Penelitian dan Pengabdian Masyarakat 'Implementasi Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Untuk Peningkatan Kekayaan Intelektual' Ekstraksi Selulosa Batang Tanaman Jagung (*Zea mays*) mteode Basa," no. September, pp. 273–278, 2017.
- [13] J. P. Susanto, A. D. Santoso, and N. Suwedi, "Perhitungan Potensi Limbah Padat Kelapa Sawit untuk Sumber Energi Terbaharukan dengan Metode LCA," *J. Teknol. Lingkung.*, vol. 18, no. 2, p. 165, 2017, doi: 10.29122/jtl.v18i2.2046.
- [14] D. M. Maharani *et al.*, "Pengaruh Pretreatment Secara Alkalisasi- Resistive Heating terhadap Kandungan Lignoselulosa Jerami Padi The Effect of Alkalization- Resistive Heating Pretreatment on Lignocellulose Content of Rice Straw," *Agritech*, vol. 37, no. 2, pp. 132–138, 2017.
- [15] J. Prayitno Susanto *et al.*, "Perhitungan Potensi Limbah Padat Kelapa Sawit untuk Sumber Energi Terbaharukan dengan Metode LCA Palm Solid Wastes Potential Calculation for Renewable Energy with LCA Method," 2017.
- [16] S. Octavia, T. H. Soerawidjaja, R. Purwadi, and I. D. G. A. Putrawan, "Pengolahan Awal Lignoselulosa Menggunakan Amoniak untuk Meningkatkan Perolehan Gula Fermentasi," *Pros. Semin. Nas. Tek. Kim. "Kejuangan,"* pp. B13-1–6, 2011.