

# Hidrolisis Enzimatis Dua Tahap dalam Produksi Bioetanol dan Xilitol berbasis Tandan Kosong Kelapa Sawit sebagai Strategi Penerapan Biorefineri yang Terintegrasi

*Two-stage Enzymatic Hydrolysis for Bioethanol and Xylitol Production from Oil Palm Empty Fruits Bunches (OPEFB) as Integrated Biorefinery Implementation Strategies*

Viola Caroline<sup>1,\*</sup>, Efri Mardawati<sup>1,3</sup>, Melbi Mahardika<sup>2,4</sup>, dan Hana Nur Fitriana<sup>1,2,3</sup>

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

<sup>2</sup> 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.

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

<sup>4</sup> Research Collaboration Center for Nanocellulose between BRIN and Universitas Andalas  
Limau Manis, Pauh, Padang, Sumatera Barat 25163, Indonesia.

\*) Alamat E-mail Korespondensi: [viola19002@mail.unpad.ac.id](mailto:viola19002@mail.unpad.ac.id)

## Informasi Artikel

Diterima: 26 Mei 2023

Disetujui: 9 Juni 2023

Terbit : 30 Juni 2023

## Kata Kunci:

Bioetanol, HPLC,  
Lignoselulosa, Selulosa,  
TKKS.

**Abstrak.** Tandan kosong kelapa sawit (TKKS) menjadi limbah biomassa berlignoselulosa yang potensial karena keberadaannya yang melimpah. Kandungan selulosa yang masih tinggi pada TKKS sisa produksi xilitol memiliki potensi yang besar untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku dalam produksi bioetanol. Hal tersebut kemudian mendorong untuk dilakukannya hidrolisis lanjutan agar dapat mengurai selulosa menjadi glukosa sebagai bahan baku dalam produksi bioetanol dan mengintegrasikan proses pemanfaatan TKKS yang mengacu pada konsep biorefineri. Penelitian ini kemudian bertujuan untuk mengevaluasi penerapan hidrolisis enzimatis dua tahap dalam penyediaan gula-gula pereduksi sebagai bahan baku produksi bioetanol dan xilitol yang terintegrasi. *Pretreatment* dilakukan sebagai tahapan awal dengan menggunakan NaOH 4% dan suhu 121 °C selama 15 menit pada autoklaf untuk mendegradasi kandungan lignin. Adapun hidrolisis enzimatis dua tahap yang dilakukan dalam penelitian menggunakan enzim Cellic® Htec2 yang kemudian dilanjutkan dengan enzim Cellic® Ctec2. Hasil penelitian menunjukkan kandungan selulosa pada TKKS mengalami peningkatan menjadi 62% setelah melalui tahapan *pretreatment* dan hidrolisis tahap pertama menggunakan Cellic® Htec2. Kandungan selulosa yang tinggi kemudian dihidrolisis dan menghasilkan glukosa dari tahapan pertama dan kedua hidrolisis berturut-turut sebanyak 31,73 g/L dan 35,86 g/L. Penerapan tahapan *pretreatment* dalam penelitian ini berhasil mempertahankan kandungan hemiselulosa dengan penurunan yang minimal dan dapat terhidrolisis menjadi xilosa sebanyak 12,27 g/L. Kandungan glukosa dan xilosa yang tinggi menunjukkan potensi yang besar dari penerapan strategi hidrolisis enzimatis dua tahap sehingga menjanjikan untuk digunakan dalam penelitian-penelitian mengenai integrasi proses produksi bioetanol dan xilitol di masa depan.

**Abstract.** Oil palm empty fruit bunches (OPEFB) are potential waste as lignocellulosic biomass due to their abundance. The high cellulose content in the remaining OPEFB from xylitol production has great potential to be used as a material feedstock in bioethanol production. Then it encouraged further hydrolysis to be carried out in order to break down cellulose into glucose as a material feedstock in bioethanol production and to integrate the process of valorizing OPEFB, which refers to the biorefinery concept. The aims of this study were to evaluate the implementation of two-stage enzymatic hydrolysis in the preparation of reducing sugars as material feedstock for the production of integrated bioethanol and xylitol. Pretreatment was carried out as an initial stage, deploying 4% NaOH and a temperature of 121 °C for 15 minutes in an autoclave to degrade the lignin. The two-stage enzymatic hydrolysis carried out in this study used the Cellic® Htec2, which was then followed by the Cellic® Ctec2. The results showed the cellulose content in OPEFB increased to 62% after going through the pretreatment and the first stage of hydrolysis using Cellic® Htec2. The high cellulose content was then hydrolyzed to produce glucose from the first and second stages of hydrolysis, respectively at 31.73 g/L and 35.86 g/L. The pretreatment stages deployed in this study succeeded in maintaining the hemicellulose content with minimal degradation and could be hydrolyzed to xylose by as much as 12.27 g/L. The high content of glucose and xylose indicates a great potential for implementing a two-step enzymatic hydrolysis strategy, so it is promising for use in studies on the integration of bioethanol and xylitol production processes in the future.

**Keywords:**

Bioethanol, HPLC, Lignocellulose, Cellulose, OPEFB.

**PENDAHULUAN**

Kelapa sawit menjadi salah satu komoditas unggulan hasil perkebunan Indonesia karena menjadi komoditas penghasil devisa terbesar yang memiliki manfaat dan kualitas terhadap perekonomian nasional. Setiap tahunnya produksi kelapa sawit mengalami peningkatan seiring dengan meningkatnya luas perkebunan kelapa sawit dan penambahan jumlah industri sawit yang semakin meningkat. Menurut Alkuma *et al.* [1], produksi kelapa sawit yang semakin meningkat berimplikasi terhadap peningkatan limbah, salah satunya adalah tandan kosong kelapa sawit (TKKS) sebagai limbah padat di lingkungan industri kelapa sawit. Menurut Yanti & Hutasuhut [2], dalam satu tahun dapat dibuang TKKS hingga mencapai 6.7 juta ton.

TKKS tergolong sebagai limbah biomassa berlignoselulosa yang pemanfaatannya belum maksimal. Kandungan lignoselulosa TKKS terdiri dari selulosa (41,3-46,5%), hemiselulosa (25,3-33,8%), dan lignin (27,6-32,2%) [3]. Menurut Muryanto *et al.* [4], kandungan selulosa yang tinggi pada TKKS dapat diolah menjadi sumber energi dalam bentuk bahan bakar cair berupa bioetanol. Bioetanol merupakan energi alternatif yang prospektif karena sifatnya yang terbarukan. Bioetanol sebagai bahan bakar memiliki beberapa kelebihan seperti lebih ramah lingkungan, memiliki

nilai oktan yang lebih tinggi dari premium, tidak mengakumulasi gas CO<sub>2</sub>, dan dapat digunakan pada mesin berbahan bakar bensin. Bioetanol saat ini telah digunakan sebagai bahan tambahan untuk bensin dan sebagian lainnya telah dijadikan sebagai pengganti bensin [5].

Proses produksi bioetanol dilakukan dalam beberapa tahapan yaitu melalui *pretreatment*, hidrolisis, dan fermentasi. Tahap *pretreatment* berperan untuk menghilangkan lignin, mengurangi kristalinitas selulosa, dan mengubah TKKS menjadi pulp agar mempermudah proses hidrolisis dan fermentasi dengan melarutkan kristal polisakarida melalui proses pemanasan pada suhu 120 °C. Tahap hidrolisis mengakibatkan hemiselulosa menjadi lunak sehingga serat yang sudah terpisah akan lebih mudah didapatkan dalam bentuk serabut [6]. Selain itu, tahapan hidrolisis dapat memecah rantai polisakarida menjadi monosakarida dengan proses secara enzimatik.

Sisa padatan dalam produksi xilitol dari TKKS menarik perhatian karena diketahui mengandung selulosa dalam jumlah yang tinggi. Hal tersebut dinilai memiliki nilai peluang untuk dilakukan, khususnya dalam penerapan konsep biorefineri dengan memanfaatkannya sebagai bahan baku pembuatan bioetanol. Adapun sisa padatan tersebut dapat dihidrolisis lebih lanjut menggunakan enzim Cellic® Ctec2 untuk mengurai polimer selulosa

menjadi glukosa. Hasil dari hidrolisis enzimatik ini diketahui dapat memberikan rendemen glukosa yang lebih tinggi daripada hidrolisis asam, sehingga rendemen bioetanol yang lebih tinggi diharapkan bisa didapatkan [7].

Pemanfaatan sisa padatan TKKS dalam produksi xilitol sebagai bahan baku pembuatan bioetanol kemudian mendorong penelitian ini untuk menerapkan dua tahapan hidrolisis enzimatik. Kedua tahapan hidrolisis tersebut terdiri dari hidrolisis menggunakan enzim Cellic® Htec2 dan dilanjutkan dengan enzim Cellic® Ctec2. Hal tersebut dilakukan sebagai gambaran penerapan biorefineri TKKS dalam produksi xilitol dan bioetanol yang terintegrasi. Dengan demikian, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi penerapan hidrolisis enzimatik dua tahap dalam produksi xilitol dan bioetanol yang terintegrasi dengan parameter berupa kandungan gula pereduksi sebagai bahan baku dalam produksi kedua produk yang telah disebutkan.

## METODE

### *Bahan Penelitian*

TKKS sebagai bahan utama penelitian diperoleh dari PT. Condong Garut (Garut, Jawa Barat). Adapun bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari NaOH, buffer asetat (pH 5), buffer sitrat (pH 5), Cellic® Ctec2, Cellic® Htec2, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, EDTA/ Titriplex II, CTAB, Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>·10H<sub>2</sub>O, dan Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (Merck, Singapura).

### *Persiapan Bahan*

Prosedur persiapan bahan baku dalam penelitian ini mengacu pada Darojati *et al.* [8] dengan modifikasi. TKKS dibersihkan dengan air mengalir dan kemudian dipotong menjadi ukuran lebih kecil. TKKS yang telah dipotong dikeringkan di bawah sinar matahari, lalu dilanjutkan menggunakan oven pada temperatur 60 ° selama 24 jam. Bahan yang sudah kering dihaluskan dan diayak hingga didapatkan serbuk TKKS berukuran 60-80 mesh.

### *Pretreatment*

Prosedur *pretreatment* mengikuti penelitian dari Sutikno *et al.* [9] yang menggunakan rasio padatan terhadap pelarut 1:20 (b/v). Adapun pelarut yang

digunakan dalam penelitian ini adalah NaOH 4%. Campuran TKKS dan pelarut kemudian dipanaskan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit. Padatan hasil *pretreatment* dipisahkan dari pelarut yang kemudian dicuci dengan air panas dan aquades. Pengeringan dilakukan terhadap padatan tersebut pada suhu 105 °C selama 24 jam sebelum digunakan pada tahapan berikutnya.

### *Hidrolisis Enzimatik*

Penelitian ini menerapkan dua tahapan hidrolisis enzimatik yang menggunakan enzim Cellic® Htec2 dan Cellic® Ctec2 yang mengikuti prosedur dari Mardawati *et al.* [11] [12]. Hidrolisis enzimatik tahap pertama dilakukan pada 10% TKKS dalam buffer asetat (pH 5) yang ditambahkan dengan 5% enzim Cellic® Htec2 guna mengurai kandungan xilosa pada bahan. Campuran kemudian diinkubasi pada suhu 60 °C selama 72 jam dengan kecepatan 200 rpm. Pemisahan secara sentrifugasi dilakukan setelah inkubasi pada kecepatan 6.000 rpm selama 20 menit. Padatan tersisa dibilas dan dikeringkan pada suhu 105 °C selama 24 jam, sedangkan hidrolisat disimpan untuk analisis selanjutnya (kandungan gula pereduksi).

Padatan sisa pada hidrolisis enzimatik tahap sebelumnya kemudian digunakan dalam hidrolisis menggunakan enzim Cellic® Ctec2. Sebanyak 10% TKKS dalam buffer sitrat (pH 5) ditambahkan 5% enzim Cellic® Ctec2. Reaksi hidrolisis dilakukan pada inkubator terkontrol pada suhu 50 °C selama 96 jam pada kecepatan 200 rpm. Pemisahan antara hidrolisat dan padatan kemudian dilakukan secara sentrifugasi pada kecepatan 6.000 rpm selama 20 menit. Adapun hidrolisat pada tahapan hidrolisis enzimatik kedua disimpan untuk analisis kandungan gula pereduksi.

### *Analisis Kandungan Lignoselulosa*

Kandungan lignoselulosa pada bahan dianalisis menggunakan metode Van Soest yang prosedurnya dijelaskan pada penelitian Rulianah *et al.* [12]. Analisis kemudian dilakukan pada TKKS awal, setelah *pretreatment*, dan setelah hidrolisis untuk mengevaluasi perubahan kandungan lignoselulosa yang terjadi.

**Tabel 1.** Kandungan lignoselulosa TKKS

Komponen Lignoselulosa	% Bobot Kering		
	TKKS Awal	Setelah <i>Pretreatment</i>	Setelah Hidrolisis Tahap Pertama
<i>Neutral Detergent Fiber</i> (NDF)	79,7	75,6	79,9
<i>Acid Detergent Fiber</i> (ADF)	56,3	52,6	72,4
Hemiselulosa	23,4	23,0	7,5
Selulosa	36,0	42,6	62,0
Lignin	19,1	9,6	8,9
Kadar Abu	1,2	0,4	1,5

### **Analisis Kandungan Gula Pereduksi**

Prosedur identifikasi menggunakan analisis kualitatif HPLC mengacu pada Rahmi *et al.* [13]. Hidrolisat TKKS difiltrasi menggunakan *syringe filter* sebanyak 2 mL untuk diinjeksikan pada HPLC-DAD dengan detektor RID-20A. Kolom C18 150 mm dan Coregel 87H digunakan sebagai fase statis, sedangkan larutan 5 mM H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> digunakan sebagai fase gerak dengan mode aliran isokratis sebesar 0,6 mL/menit. Adapun kondisi oven dalam analisis ditetapkan pada suhu 80 °C.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Kandungan Lignoselulosa TKKS**

Perubahan kandungan lignoselulosa pada TKKS setelah *pretreatment* dan hidrolisis enzimatis ditunjukkan pada Tabel 1. Kandungan selulosa dan hemiselulosa yang tinggi pada TKKS awal masing-masing berpotensi sebagai bahan baku dalam konversi menjadi etanol dan xilitol. Berdasarkan hasil karakterisasi TKKS dari Mardawati *et al.* [14], kandungan selulosa pada TKKS yang digunakan dalam penelitian ini memiliki nilai yang lebih rendah, namun memiliki kandungan lignin yang lebih rendah. Kandungan lignin yang lebih rendah dinilai dapat menjadi alasan untuk dilakukannya tahap *pretreatment* yang lebih sederhana dengan waktu yang lebih singkat.

Komponen lignin pada TKKS perlu dihilangkan hingga kandungannya minimum. Hal tersebut dilakukan karena lignin dengan struktur karakteristik dinding sel yang kuat dan keras dapat menghambat proses biokonversi selulosa menjadi bioetanol [15]. Struktur lignin yang kuat dapat rusak melalui *pretreatment* sehingga kandungan lignin pada TKKS menurun dan memudahkan aksesibilitas enzim atau khamir terhadap selulosa. Menurut Ariandi & Khaerati [16], keberadaan lignin dalam limbah biomassa berlignoselulosa

dapat memperlambat kerja enzim dalam memecah polisakarida menjadi monosakarida.

Tahapan *pretreatment* menggunakan NaOH sebagai katalis memberikan dampak yang signifikan terhadap karakteristik kandungan lignoselulosa TKKS. Komponen lignin dan hemiselulosa mengalami penurunan kandungan yang masing-masing menjadi 9,6% dan 23,0%. Adapun selulosa pada TKKS meningkat menjadi 42,6% dan hasil ini membuktikan potensi yang besar untuk mengkonversi TKKS menjadi etanol.

Penggunaan NaOH dalam tahapan *pretreatment* mampu menguraikan kompleks lignoselulosa, khususnya pada komponen lignin dan hemiselulosa. Reaksi degradasi lignin dan hemiselulosa berjalan lebih cepat karena dikatalis oleh panas dan tekanan dari autoklaf [17]. Dinding lignin yang menutupi kompleks lignoselulosa dirusak oleh NaOH saat *pretreatment* berlangsung dan menyerang ikatan  $\beta$ -1,4 glikosida pada struktur selulosa [18]. Selain itu, depolimerisasi hemiselulosa terjadi saat tahapan *pretreatment* dilakukan. Menurut Lismeri *et al.* [19], hal tersebut terjadi karena proses delignifikasi saat tahapan *pretreatment* melunakkan lignin sehingga sebagian hemiselulosa yang terikat pada strukturnya ikut terbebas dan terlarut pada larutan NaOH. Walaupun demikian, penurunan kandungan hemiselulosa pada penelitian ini dinilai tidak signifikan karena hanya terjadi penurunan yang minimum yaitu sebanyak 0,4%.

Peningkatan kandungan selulosa pada TKKS setelah *pretreatment* sejalan dengan hasil penelitian Asror & Emilia [20]. Hal ini disebabkan karena hilangnya sebagian besar komponen lignin serta penurunan fraksi amorf selulosa. Kandungan lignin yang semakin rendah dapat mempermudah aksesibilitas enzim untuk melakukan reaksi hidrolisis agar didapatkan gula-gula pereduksi sebagai monomer dari komponen selulosa dan hemiselulosa [21].

**Tabel 2.** Kandungan glukosa dan xilosa hidrolisat TKKS

Bahan	Kandungan Maksimum (g/L)		Hasil Analisis Kandungan (g/L)	
	Glukosa	Xilosa	Glukosa	Xilosa
Hidrolisat dari tahap pertama (Cellic® Htec2)	32,40	20,59	31,73	12,27
Hidrolisat dari tahap kedua (Cellic® Ctec2)	55,80	0	35,86	0

Kandungan lignoselulosa pada TKKS hasil *pretreatment* semakin berkurang setelah digunakan dalam hidrolisis tahap pertama. Enzim Cellic® Htec2 yang secara spesifik memutus ikatan kimia pada struktur hemiselulosa sehingga terurai menjadi xilan dan xilosa sebagai molekul yang lebih pendek rantainya. Hal tersebut menyebabkan kandungan hemiselulosa pada TKKS menurun dan meningkatkan kandungan selulosa. Adapun sisa hemiselulosa setelah hidrolisis enzimatis menggunakan enzim Cellic® Htec2 yaitu sebesar 7,5%.

Selulosa pada TKKS yang digunakan dalam penelitian ini semakin meningkat pada setiap tahapan. Menurut Mirahmadi *et al.* [22], kandungan selulosa yang meningkat setelah *pretreatment* dan hidrolisis menggunakan Cellic® Htec2 terjadi karena basis perhitungan yang berkurang akibat berkurangnya kandungan lignin dan hemiselulosa. Adapun selulosa yang dominan bersifat kristalin diketahui tidak mudah untuk terhidrolisis oleh basa dan enzim yang bersifat spesifik.

### ***Kandungan Gula Pereduksi Hidrolisat TKKS***

Penguraian polimer selulosa dan hemiselulosa pada kompleks lignoselulosa TKKS menghasilkan gula-gula pereduksi seperti glukosa dan xilosa. Penguraian selulosa menjadi glukosa dilakukan oleh enzim Cellic® Ctec2 yang bekerja secara spesifik terhadap selulosa dan secara teoritis dapat terhidrolisis dengan kandungan maksimum hingga 90%. Adapun hemiselulosa diurai menjadi gula pentosa seperti xilosa, manosa, dan arabinosa dengan menggunakan Cellic® Htec2 serta konversi hidrolisis maksimum menjadi xilosa yaitu mencapai 88%. Hasil perhitungan secara teoritis (kandungan maksimal) dan pengukuran kandungan gula pereduksi dapat dilihat pada Tabel 2.

Hidrolisis tahap pertama menggunakan enzim Cellic® Htec2 sebagai katalis reaksi yang terdiri dari xilanase dan selulase. Kombinasi kedua enzim tersebut dapat menghidrolisis hemiselulosa dan selulosa pada kompleks biomassa TKKS menjadi monomer-monomernya yaitu masing-masing sebesar 12,27 g/L dan 31,73 g/L. Hasil tersebut

diketahui lebih tinggi daripada penelitian yang dilakukan oleh Mardawati *et al.* [23], karena TKKS yang digunakan dalam penelitiannya hanya menghasilkan xilosa (1,47 g/L) dan glukosa (4,18 g/L) yang sangat rendah.

Penurunan kandungan hemiselulosa yang terjadi setelah hidrolisis tahap pertama terjadi karena sebagian besar xilosa larut dalam hidrolisat. Pada Tabel 1, kandungan hemiselulosa pada TKKS setelah *pretreatment* sebesar 23,0% yang kemudian menurun setelah hidrolisis menjadi 7,5%. Kandungan hemiselulosa yang hilang diasumsikan terlarut pada hidrolisat dalam bentuk xilosa yang terdeteksi sebanyak 12,27 g/L. Angka tersebut menunjukkan efisiensi konversi hidrolisis enzimatis yang tinggi yaitu sebesar 59,59%.

Sisa padatan TKKS dari tahapan hidrolisis enzimatis menggunakan Cellic® Htec2 kemudian dihidrolisis lebih lanjut menggunakan Cellic® Ctec2. Penggunaan Cellic® Ctec2 yang dominan enzim selulase bertujuan untuk mendegradasi selulosa menjadi glukosa, selobiosa, dan selo-oligosakarida. Pada hidrolisis tahap pertama diketahui efisiensi konversi selulosa menjadi glukosa mencapai angka 97,93%, namun kandungan selulosa pada TKKS diketahui masih tinggi karena sebagian besar glukosa yang terlarut berasal dari fraksi amorf selulosa. Adapun pada hidrolisis tahap kedua didapatkan efisiensi konversi sebesar 64,27% yang disebabkan oleh sukarnya fraksi kristalin selulosa untuk terhidrolisis.

Konsentrasi glukosa yang didapatkan dalam penelitian ini dinilai lebih maksimal daripada beberapa temuan dalam penelitian terdahulu. Penelitian Darsono & Sumarti [3] mendapatkan glukosa sebanyak 20,02 g/L, sedangkan penelitian dari Mardawati *et al.* [23] mendapatkan glukosa sebanyak 4,18 g/L. Menurut Darojati *et al.* [8], hal ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor yang meliputi rasio konsentrasi substrat dan enzim, jenis enzim, suhu, pH, waktu hidrolisis, dan perlakuan sebelumnya seperti *pretreatment*.

Penggunaan enzim Cellic® Ctec2 sebagai biokatalisator hidrolisis selulosa menjadi glukosa

dinilai efektif dan efisien. Enzim ini menyerang ikatan  $\beta$ -1,4 glikosidik pada rantai panjang selulosa secara efektif karena kondisi hidrolisis dan konsentrasi substrat yang digunakan tepat. Adapun konsentrasi enzim yang digunakan berbanding lurus terhadap likuifaksi, sehingga reaksi hidrolisis berjalan optimal dan semakin cepat. Konsentrasi enzim yang tepat dapat menguraikan selulosa menjadi glukosa dalam konsentrasi yang tinggi karena pembentukan kompleks enzim-substrat terjadi pada interaksi yang tepat [24]. Enzim memiliki interaksi dengan substrat yang semakin lama menyebabkan reaksi berjalan lebih maksimal sehingga konsentrasi glukosa yang dihasilkan menjadi lebih tinggi [25]. Pernyataan ini didukung oleh hasil penelitian Fuadi *et al.* yang menyatakan bahwa semakin lama waktu hidrolisis maka glukosa yang dihasilkan akan semakin meningkat [26].

## KESIMPULAN

Hidrolisis enzimatis dua tahap yang diterapkan dalam penelitian dinilai dapat menjadi strategi yang menjanjikan dalam integrasi proses produksi etanol dan xilitol berbasis TKKS. Penerapan tahapan *pretreatment* dan hidrolisis dua tahap terbukti meningkatkan kandungan selulosa dan degradasi lignin tanpa menghilangkan hemiselulosa dalam jumlah yang besar. Kandungan selulosa TKKS meningkat menjadi 62,0% dan kemudian terurai menjadi glukosa sebanyak 31,73 g/L dan 35,86 g/L yang berpotensi sebagai bahan baku produksi bioetanol. Adapun kandungan hemiselulosa yang dapat dipertahankan pada tahapan *pretreatment* memberikan peluang dalam produksi xilitol karena TKKS masih tinggi kandungan hemiselulosa (23,0%) yang kemudian terurai menjadi xilosa dengan konsentrasi pada hidrolisis sebesar 12,27 g/L. Tingginya kandungan xilosa pada penelitian ini dinilai berpotensi untuk digunakan dalam produksi xilitol yang terintegrasi dengan produksi bioetanol yang dapat dilakukan pada penelitian-penelitian di masa depan.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Laboratorium Teknologi Proses dan Bioproses Agroindustri, Fakultas Teknologi Industri Pertanian Universitas Padjadjaran dan Laboratorium

Genomik Badan Riset dan Inovasi Nasional atas fasilitas laboratorium dan pengujian yang diberikan.

## DAFTAR PUSTAKA

- [1] Y. M. Alkusma, H. Hermawan dan H. Hadiyanto, "Pengembangan Potensi Energi Alternatif Dengan Pemanfaatan Limbah Cair Kelapa Sawit Sebagai Sumber Energi Baru Terbarukan di Kabupaten Kotawaringin Timur," *Jurnal Ilmu Lingkungan*, vol. 14, no. 2, pp. 96-102, Oct 2016.
- [2] R. N. Yanti dan I. L. Hutasuhut, "Potensi Limbah Padat Perkebunan Kelapa Sawit di Provinsi Riau," *Wahana Foresta: Jurnal Kehutanan*, vol. 15, no. 2, pp. 1-11, July 2020.
- [3] Darsono dan M. Sumarti, "Pembuatan Bioetanol Dari Lignoselulosa Tandan Kosong Kelapa Sawit Menggunakan Perlakuan Awal Iradiasi Berkas Elektron Dan NaOH," *Jurnal Kimia dan Kemasan*, vol. 36, no. 2, pp. 245-252, Oct 2014.
- [4] Muryanto, Y. Sudiyani dan H. Abimanyu, "Optimasi Proses Perlakuan Awal NaOH Tandan Kosong Kelapa Sawit untuk Menjadi Bioetanol," *Kurnal Kimia Terapan*, vol. 18, no. 1, pp. 27-35, June 2016.
- [5] T. M. Mata, A. A. Martins dan S. N. Caetano, "Microalgae for Biodiesel Production and Other Applications: A Review," *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 14, no. 1, pp. 217-232, January 2010.
- [6] W. R. Kunusa, "Kajian Tentang Isolasi Selulosa Mikrokristalin (SM) dari Limbah Tongkol Jagung," *Jurnal Entropi: Inovasi Penelitian, Pendidikan dan Pembelajaran Sains*, vol. 12, no. 1, pp. 105-108, Feb. 2017.
- [7] Z. S. Osvaldo, S. P. Panca dan M. Faizal, "Pengaruh Konsentrasi Asam dan Waktu Pada Proses Hidrolisis dan Fermentasi Pembuatan Bioetanol dari Alang-alang," *Jurnal Teknik Kimia*, vol. 18, no. 2, pp. 52-62, April. 2012.
- [8] A. H. Darojati, R. Purwadi dan B. C. Rashendra, "Proses Fraksionasi Biomassa dari Tandan Kosong Kelapa Sawit melalui Metode Organosolv Etanol dengan Penambahan Katalis," *Jurnal Selulosa*, vol. 10, no. 2, pp. 73-80, Dec. 2020.

- [9] S. Rulianah, Prayitno, C. Sindhuwati, D. R. A. Ayu dan K. Sa'diyah, "Penurunan Kadar Lignin pada Fermentasi Limbah Kayu Mahoni Menggunakan *Phanerochaete chrysosporium*," *Jurnal Teknik Kimia dan Lingkungan*, vol. 4, no. 1, April. 2020.
- [10] Sutikno, Marniza dan N. Sari, "Pengaruh Perlakuan Awal Basa Dan Hidrolisis Asam Terhadap Kadar Gula Reduksi Ampas Tebu," *Jurnal Teknologi Industri & Hasil Pertanian*, vol. 20, no. 2, pp. 65-72, Sept. 2015.
- [11] E. Mardawati, B. M. Harahap, E. A. Febrianti, A. T. Hartono, N. P. Siahaan, A. Wulandari, S. Yudiastuti, S. Suhartini dan K. Kasbawati, "Integrated Production of Xylitol and Ethanol from Oil Palm Empty Fruit Bunches," *Advances in Food Science, Sustainable Agriculture and Agroindustrial Engineering*, vol. 5, no. 1, pp. 53-65, 2022.
- [12] E. Mardawati, M. Kresnowati, R. Purwadi, Y. Bindar dan T. Setiadi, "Fungal Production of Xylanase from Oil Palm Empty Fruit Bunches via Solid State Cultivation. *International Journal on Advanced Science*," *International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology*, vol. 8, no. 6, pp. 2539-2546, 2018.
- [13] N. Rahmi, B. Oktavia dan Z. Nazulis, "Penentuan Kadar Etanol Pada Sampel Minuman dengan Metoda HPLC Menggunakan Fasa Gerak Asetonitril dan Buffer Fosfat," *Periodic: Chemistry Journal of State University of Padang*, vol. 2, no. 1, pp. 51-56, 2013.
- [14] E. Mardawati, P. Kresnowati, A. Werner dan T. Setiadi, "The enzymatic hydrolysis of oil palm empty fruit bunches to xylose," *Journal of the Japan Institute of Energy*, vol. 93, no. 10, pp. 973-978, Feb. 2014.
- [15] A. Sokanandi, G. Pari, D. Setiati dan Saepuloh, "Komponen Kimia Sepuluh Jenis Kayu Kurang dikenal: Kemungkinan Penggunaan Sebagai Bahan Baku Pembuatan Bioetanol," *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*, vol. 32, no. 3, p. 209 – 220, 2014.
- [16] Ariandi dan Khaerati, "Uji Aktivitas Enzim Diastase, Hidroksimetilfurfural (Hmf), Kadar Gula Pereduksi, Dan Kadar Air Pada Madu Hutan Battang," dalam *in Prosiding Seminar Hasil Penelitian Pengabdian Kepada Masyarakat (SNP2M)*, 2017.
- [17] Kodri, B. D. Argo dan R. Yulianingsih, "Pemanfaatan Enzim Selulase dari *Trichoderma Reseei* dan *Aspergillus Niger* sebagai Katalisator Hidrolisis Enzimatik Jerami Padi dengan Pretreatment Microwave," *Jurnal Bioproses Komoditas Tropi*, vol. 1, no. 1, pp. 36-43, April. 2013.
- [18] A. Tami, "Pengaruh Konsentrasi Asam Formiat dan Waktu Reaksi pada Proses Delignifikasi Metode Organosolv dari Limbah Batang Pisang (*Musa Parasidiaca*)," *Jurnal Kelitbangan: Inovasi Pembangunan*, vol. 8, no. 2, August. 2020.
- [19] L. Lismeri, Y. Darni, M. D. Sanjaya dan M. I. Immadudin, "Pengaruh Suhu Dan Waktu Pretreatment Alkali Pada Isolasi Selulosa Limbah Batang Pisang," *Journal of Chemical Process Engineering*, vol. 4, no. 1, pp. 18-22, June. 2019.
- [20] K. Asror dan A. R. Emilia, "Pengaruh Suhu Dan Konsentrasi NaOH Pada Proses Hidrothermal Jerami Padi Untuk Bahan Baku Biogas," *Skripsi*, Jan. 2017.
- [21] Y. Xiaochen, Z. Jijiao, Z. Yubin, B. Mahesh dan C. Shulin, "Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF) of Lignocellulosic Biomass for Single Cell Oil Production by Oleaginous Microorganisms," *U.S. Patent*, vol. 2, no. 4, pp. 1-9, 2016.
- [22] K. Mirahmadi, M. M. Kabir, A. Jeihanipour, K. Karimi dan M. J. Taherzadeh, "Alkaline Pretreatment of Spruce and Birch to Improve Bioethanol and Biogas Production," *BioResources*, vol. 5, no. 2, pp. 928-938, May. 2010.
- [23] E. Mardawati, A. V. Putri, T. Yuliana, S. Rahimah, S. Nurjanah dan I. Hanidah, "Effects of Substrate Concentration on Bioethanol Production from Oil Palm Empty Fruit Bunches with Simultaneous Saccharification fermentation (SSF)," *International Conference on Green Agro-industry and Bioeconomy*, pp. 1-8, 2019.
- [24] S. M. Sholikhah dan N. Wijayati, "Produksi Bioetanol dari Kertas HVS Bekasmelalui

- Hidrolisis Enzim Selulase Jamur Tiram,” *Indonesian Journal of Chemical Science*, vol. 7, no. 1, pp. 11-16, 2018.
- [25] S. Safaria, N. Idiawati dan T. A. Zaharah, “Efektivitas Campuran Enzim Selulase dari *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei* dalam Menghidrolisis Substrat Sabut Kelapa,” *JKK*, vol. 2, no. 1, pp. 46-51, 2013.
- [26] A. Fuadi, K. Harismah dan A. Setiawan, “Hidrolisis Enzimatis Kertas Bekas Dengan Variasi Pemanasan Awal,” *University Research Colloquium*, pp. 1-8, 2015.
- [27] R. Anugrah, E. Mardawati, S. H. Putri dan T. Yuliani, “Karakterisasi Bioetanol Tandan Kosong Kelapa Sawit Dengan Metode Pemurnian Adsorpsi (Adsorpsi Menggunakan Adsorben Berupa Zeolit),” *Jurnal Industri Pertanian*, vol. 2, no. 1, pp. 113-123, 2020.