

## **PENGARUH WAKTU DAN KONSENTRASI ENZIM SELULASE PADA PROSES HIDROLISIS TANDAN KOSONG KELAPA SAWIT MENJADI GLUKOSA**

**Panca Nugrahini F<sup>1\*</sup>, Hermanto Sitompul<sup>1</sup>, Donny Riza Putra<sup>1</sup>**

Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Lampung, Bandar Lampung 35141

*pancanugrahini@gmail.com*

### **Artikel Info**

Diterima  
tanggal  
11.06. 2016

Disetujui  
publikasi  
tanggal  
16.09.2016

### **Kata kunci :**

cellulase  
enzyme,  
enzymatic  
hydrolysis,  
glucose  
concentration

### **ABSTRACT**

This research discuss about the influence of time and cellulase enzymes concentrate in hydrolysis process of oil palm empty fruit bunches (EFB) into glucose. The aim of this research is to get the highest concentration of glucose. This research have done by using six variation in enzyme hydrolysis process, there are 100 hours and 0.75% cellulase enzyme, 100 hours and 1% cellulase enzyme, 112 hours and 0.75% cellulase enzyme, 112 hours and 1% cellulase enzyme, 124 hours and 0.75% cellulase enzyme, 124 hours and 1% cellulase enzyme. The result of this research shows that the highest glucose concentration is obtainable in 124 hours and 1% cellulase enzyme, that is 187 mg/L. Hydrolysis time and cellulase enzyme concentration take effect on the amount of glucose contained in oil palm EFB, the longer time and the higher cellulase enzyme concentration in hydrolysis enzyme will result the highest glucose concentration and vice versa.

### **PENDAHULUAN**

Indonesia sangat potensial sebagai penghasil bahan baku untuk bahan bakar alternatif selain minyak bumi. Keterbatasan persediaan cadangan minyak bumi dan isu lingkungan menyebabkan negara-negara di dunia mulai beralih pada produksi atau pemanfaatan bahan bakar nabati. Etanol merupakan bahan bakar yang telah dimanfaatkan sebagai campuran bensin di negara-negara maju. Negara-negara penghasil bioetanol seperti Brazil dan Amerika Serikat mengembangkan industri pengolahan etanol mulai dari industri pengolahan skala kecil sampai dengan skala besar UKM 2009 dalam Hermiati (2010).

Etanol yang diproduksi saat ini umumnya berasal dari etanol generasi pertama, yaitu etanol yang dibuat dari gula (tebu, molasses) atau pati (jagung, singkong, dll). Bahan-bahan tersebut berasal dari bahan pangan dan pakan. Konversi bahan pangan menjadi etanol merupakan

salah satu penyebab harga-harga pangan. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian etanol generasi kedua, yaitu etanol dari biomassa lignoselulosa. Biomassa yang berpotensi menghasilkan etanol antara lain adalah hasil limbah pertanian seperti jerami, gandum, tongkol jagung, dan tandan kosong kelapa sawit. Biomassa lignoselulosa di Indonesia sangat berlimpah dan tidak dimanfaatkan secara optimal seperti tandan kosong kelapa sawit. Tandan kosong kelapa sawit (TKKS) mengandung lignoselulosa dengan komponen utama ialah selulosa, hemiselulosa, dan lignin. TKKS mengandung 41,30% – 46,50 % selulosa, 25,30% - 33,80% hemiselulosa dan 27,60% - 32,50% lignin (Hermiati dkk., 2010 ). Lignin umumnya tidak pernah ditemui dalam bentuk sederhana diantara polisakarida dinding sel, tetapi selalu berikatan dengan polisakarida tersebut (Samsuri, dkk. 2007). Kandungan selulosa dalam TKKS berpotensi digunakan sebagai sumber glukosa melalui hidrolisis kimiawi atau enzimatis. Hidrolisis enzimatis memiliki beberapa keuntungan dibandingkan dengan hidrolisis asam. Pada hidrolisis enzimatis tidak terjadi degradasi gula hasil hidrolisis, dapat berlangsung pada suhu rendah, dan memberikan hasil yang lebih tinggi (Tahezadeh dan Karimi, 2007 ).

Hidrolisis enzimatis untuk menghasilkan glukosa menggunakan enzim selulase. Selulase merupakan enzim kompleks yang terdiri dari eksoselulase atau eksobiohidrolase, endoselulase atau endo- $\beta$ -1,4-glukanase dan  $\beta$  -1,4 glukosidase atau selobiasse. Ekso-  $\beta$  -1,4 glukanase atau selobiohidrolase bekerja dengan cara melepas unit-unit selobiosa dari ujung rantai selulosa. Aktivitasnya sangat tinggi pada selulosa kristal tetapi sangat rendah pada selulosa amorf. Endo- $\beta$  -1,4-glukanase mampu menghidrolisis selulosa secara acak menghasilkan selodextrin, selobiosa dan glukosa. Enzim ini sangat aktif memutus ikatan selulosa yang dapat larut (amorf) seperti karboksil metil selulosa (CMC). Enzim  $\beta$  -1,4- glukosidase atau selobiasse dapat menghidrolisis selobiosa dan selo-oligomer pendek lainnya untuk menghasilkan glukosa (Anindyawati, 2009). Glukosa adalah suatu aldoheksosa dan sering disebut dekstroza karena mempunyai sifat dapat memutar cahaya terpolarisasi ke arah kanan. Glukosa dihasilkan dari reaksi antara karbon dioksida dan air dengan bantuan sinar matahari dan klorofil dalam daun. Proses ini disebut fotosintesis dan glukosa yang terbentuk terus digunakan untuk pembentukan amilum atau selulosa (Suri, 2012).

Loebis (2008), telah melakukan penelitian optimasi terhadap suhu dan pH pada hidrolisis TKKS menggunakan enzim selulase komersial untuk mendapatkan gula pereduksi, diperoleh

kondisi optimum adalah pH 5 dan suhu 60 °C. Gayang (2013) telah melakukan penelitian konversi lignoselulosa tandan kosong kelapa sawit menjadi gula pereduksi menggunakan enzim xilanase dan selulase komersil. Diperoleh kondisi optimum hidrolisis menggunakan enzim selulase komersil adalah pada konsentrasi 0,5% selulase dan waktu hidrolisis selama 96 jam. Oleh karena itu, dibutuhkan proses hidrolisis enzimatik menggunakan enzim selulase komersil dengan konsentrasi yang lebih tinggi dan waktu hidrolisis yang lebih lama.

## **METODE**

### **Bahan**

Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain tandan kosong kelapa sawit, dari Bakrie Lampung Tengah, larutan NaOCl 10%, akuades, NaOH 4%, HCl 1 %, pereaksi DNS merupakan campuran larutan asam 3,5 dinitrosalisilat dan NaOH dilarutkan dalam akuades (larutan A), dan natrium kalium tartarat dilarutkan dalam akuades (larutan B), glukosa standar 10 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm, 500 ppm, dan enzim selulase (*Celluclast*) 0,75% dan 1 % pH 5 T 60 °C.

### **Penggilingan Tandan Kosong Kelapa Sawit**

Tandan kosong kelapa sawit (TKKS) dikumpulkan dan dijemur di bawah sinar matahari hingga kering kemudian dioven pada temperatur 50 °C selama 2 jam kemudian dihaluskan dengan penepung halus dan diayak dengan ayakan berukuran 80 mesh (Loebis, 2008).

### **Delignifikasi TKKS**

Sebanyak 1 kg serbuk TKKS dilarutkan ke dalam 10 L NaOCl 10%. Larutan NaOCl diencerkan dalam air dengan perbandingan volume masing – masing 1 : 4. Kemudian TKKS direndam selama 12 jam pada temperatur ruangan. Hasil rendaman dengan NaOCl dibilas dengan air sampai bersih, disaring dengan saringan santan dan kain saring. Setelah disaring TKKS dikeringkan dengan oven pada temperatur 40 – 50 °C selama 1 jam. Setelah kering TKKS ditimbang dan dianalisis kandungan selulosa, lignin, dan hemiselulosa.

### Hidrolisis Kimia TKKS

Sebanyak 5 gram serbuk TKKS 80 mesh ditimbang dan dilarutkan ke dalam 100 ml NaOH 4% Campuran larutan didiamkan selama 24 jam, setelah itu masukkan ke dalam *autoclave* selama 30 menit. Campuran larutan untuk gula pereduksi dan hidrolisis enzimatis dipisahkan. Larutan dipisahkan antara cairan dan endapan serbuknya menggunakan kertas saring kasar. Cairan hasil penyaringan dinetralkan dengan HCl 1% hingga pH berkisar 5 – 6, kemudian disentrifugasi untuk memisahkan garam yang terbentuk dengan cairan yang dinetralisasi. Endapan dimasukkan kembali ke dalam cairan yang telah dinetralisasi.

### Hidrolisis Enzimatis TKKS

Cairan yang telah dinetralisasi sampai pH 5, kemudian ditambahkan enzim dengan konsentrasi 0,75 % dan dimasukkan ke dalam *water batch* pada temperatur 60 °C dengan waktu hidrolisis enzimatis selama 100 jam 112 jam dan 124 jam. Selanjutnya dilakukan untuk konsentrasi enzim 1 % dengan waktu hidrolisis yang sama.

### Pengukuran Gula Pereduksi

Metode yang digunakan untuk pengukuran gula pereduksi adalah metode *Dinitro Salicylic Acid* (DNS). Sampel yang telah jernih dimasukkan sebanyak 1 mL ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 3 mL pereaksi DNS. Kemudian dikocok hingga homogen menggunakan vortex. Hasil pengadukan tadi dimasukkan ke dalam air mendidih selama 15 menit dan didinginkan sampai temperatur ruangan. Bila terlalu pekat sampel diencerkan agar terukur pada panjang gelombang 540 nm. Pengukuran blanko menggunakan akuades, kurva standar dibuat dengan menggunakan larutan glukosa standar 10,50, 100, 200, 300, 400, 500 ppm. Setelah itu didapat data hasil pengukuran, kemudian hitung kadar gula pereduksi

$$A \text{ rata - rata} = \frac{A1 + A2}{2} = Y$$

Keterangan :

A1 = Absorban ulangan pertama

A2 = Absorban Ulangan kedua

Selanjutnya absorban rata-rata dimasukkan ke dalam persamaan garis dari data kurva standar

$$Y = aX(+/-)b$$

Y = Absorban rata – rata

X = Konsentrasi gula pereduksi (mg/L)

## Analisis Lignoselulosa

Analisis komponen lignoselulosa menggunakan metode Chesson dan Datta. Sampel yang akan dianalisis adalah Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS). Pertama sampel dikeringkan dengan oven pada temperatur 60 °C sampai kadar air 5%. Kemudian sebanyak 1 g sampel dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml dan diberi penambahan akuades sebanyak 150 ml, lalu dipanaskan dengan menggunakan *hot plate* pada temperatur 100 °C selama 2 jam. Kemudian sampel disaring dengan kertas saring dengan penambahan akuades sampai volume filtrat 300 ml lalu dikeringkan residu dengan oven pada temperatur 105 °C sampai dengan berat konstan. Setelah didapat berat konstan, maka didapatkan berat a. Residu a dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml lalu ditambahkan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1 N sebanyak 150 ml. Kemudian dipanaskan dengan menggunakan *hot plate* pada temperatur 100 °C selama 1 jam. Lalu disaring dan residu dicuci dengan akuades sampai volume filtrat 300 ml dan dikeringkan dengan temperatur 105 °C sampai berat konstan, maka didapat berat b.

Residu b dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml dengan penambahan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 72% sebanyak 10 ml lalu residu (b) direndam dan dibiarkan selama 4 jam pada temperatur ruang, kemudian residu b diberi penambahan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1N sebanyak 150 ml dan dipanaskan dengan temperatur 100 °C selama 2 jam. Lalu sampel tersebut disaring dengan penambahan akuades sampai volume filtrat 400 ml dan dikeringkan dalam oven pada temperatur 105 °C sampai berat konstan, maka diperoleh berat c. Setelah didapat berat c, maka dilakukan pengukuran kadar abu dengan memasukkan residu c ke dalam *furnace* pada temperatur 600 °C selama 4 jam lalu ditimbang untuk mendapat berat d.

Kadar Hemiselulosa, dihitung dengan rumus :

$$\text{Hemiselulosa (\%)} = \frac{a-b}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$$

Kadar selulosa, dihitung dengan rumus :

$$\text{Selulosa (\%)} = \frac{b-c}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$$

Kadar Lignin, dihitung dengan rumus :

$$\text{Lignin (\%)} = \frac{c-d}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$$

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Perlakuan awal pada penelitian ini adalah analisis lignoselulosa sebelum dan sesudah delignifikasi untuk mengetahui jumlah lignin yang berkurang. Tabel 1 menunjukkan bahwa pengurangan lignin berkurang namun tidak terlalu signifikan, karena persentase pengurangan lignin dikategorikan baik apabila berkurang 10 – 15% (Darnoko, 2001). Hal itu disebabkan kinerja NaOCl dalam proses delignifikasi belum maksimal. Oleh karena itu pada penelitian ini dilakukan hidrolisis kimia selama 30 menit (Gayang, 2013) untuk mengurangi kadar lignin setelah proses delignifikasi. Hidrolisis kimia bertujuan mengurangi kadar lignin yang terkandung pada lignoselulosa. Selain itu, setelah hidrolisis kimia telah terbentuk glukosa walaupun dalam konsentrasi yang rendah. Hasil analisis glukosanya adalah 74,555 mg/L.

**Tabel 1.** Kandungan Lignoselulosa

<b>Lignoselulosa</b>	<b>Sebelum delignifikasi (%)</b>	<b>Setelah delignifikasi (%)</b>	<b>Setelah hidrolisis kimia (%)</b>
Selulosa	54,7166	42,2961	57,207
Hemiselulosa	14,1933	11,5097	19,392
Lignin	17,6306	12,0791	4,630

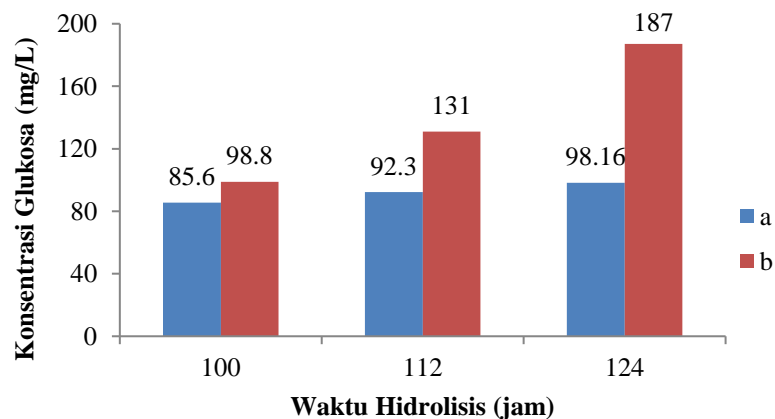
### Hidrolisis Enzimatis

Hidrolisat hasil dari hidrolisis kimia kemudian dilanjutkan dengan proses hidrolisis enzimatis. Pada penelitian ini, variasi konsentrasi enzim yang digunakan adalah 0,75% dan 1% serta variasi waktu yang digunakan adalah 100 jam, 112 jam dan 124 jam. Hidrolisis enzimatis adalah proses konversi selulosa dan hemiselulosa menjadi gula reduksi menggunakan enzim. Enzim yang digunakan untuk mengkonversi hemiselulosa menjadi glukosa adalah enzim xylanase sedangkan enzim yang digunakan untuk mengkonversi selulase menjadi glukosa menggunakan enzim selulase.

Enzim selulase digunakan untuk menghidrolisis selulosa menjadi glukosa. Struktur yang rapat pada selulosa, bagian kristalin dari selulosa resisten terhadap aksi individual selulase, sehingga perlu dilakukan perlakuan pendahuluan dengan temperatur tinggi dan hidrolisis kimiawi. Rangkaian proses hidrolisis selulosa dengan selulase terdiri dari adsorpsi selulase pada

permukaan selulosa, biodegradasi selulosa menjadi gula reduksi dan desorpsi selulase. Degradasi selulosa menjadi glukosa, umumnya merupakan proses sinergis antara endoglukanase, eksoglukanase dan betaglucosidase yang ketiganya merupakan bagian dari selulase (Sitorus, 2011). Endoglukanase menyerang bagian yang sedikit kristalin pada serat selulosa. Selanjutnya eksoglukanase memotong rantai utama selulosa dengan menghasilkan beberapa unit selobiosa. Terakhir selobiosa didegradasi menjadi unit yang lebih kecil yaitu glukosa oleh enzim betaglucosidase (Tahezadeh dan Karimi 2007).

Kondisi pH optimum enzim selulase, yaitu pH 5. Hidrolisis enzim selama 124 jam dan netralisasi menggunakan asam klorida (HCl) 1% akan menghasilkan lebih banyak glukosa. Netralisasi dilakukan untuk menurunkan pH yang awalnya basa menjadi pH 5-6. Pada penelitian ini pH sebelum netralisasi yaitu 8,36 dan setelah netralisasi menjadi 5,35. Selain itu, asam klorida yang merupakan asam kuat mampu memutus ikatan antara selulosa dan hemiselulosa dan mengkonversinya menjadi glukosa walaupun dilakukan pada temperatur rendah, asam kuat juga memiliki kemampuan untuk menurunkan derajat kristalinitas selulosa sehingga memberikan akses enzim lebih besar untuk menghidrolisis (Tahezadeh dan Karimi, 2007).



**Gambar 1.** Konsentrasi Glukosa hasil hidrolisis enzimatis  
a. konsentrasi enzim selulase 0,75% dan b. konsentrasi enzim selulase 1%

Pada penelitian ini ada dua variasi konsentrasi enzim yaitu 0,75% dan 1 %. Konsentrasi enzim selulase 1% lebih banyak menghasilkan glukosa, jika dibandingkan dengan 0,75%. Hal ini serupa dengan hasil penelitian Gayang (2013) yang menyatakan bahwa glukosa yang dihasilkan

dengan konsentrasi 0,5% selulase lebih banyak daripada 0,25 % selulase. Penambahan jumlah dosis selulase ke dalam proses hidrolisis dapat meningkatkan hasil dan laju hidrolisis, namun juga bisa meningkatkan biaya selama proses.

Glukosa terbesar yang dihasilkan melalui hidrolisis enzim selulase, yaitu 187 mg/L lebih banyak dibandingkan hasil hidrolisis kimiawi, yaitu 74,555 mg/L. Banyaknya glukosa yang dihasilkan hidrolisis kimiawi lebih kecil jika dibandingkan dengan hasil hidrolisis enzim selulase yang terkecil yaitu 85,666 mg/L. Hal ini berkaitan dengan teori *lock and key* pada enzim. Enzim akan bekerja pada kondisi spesifik, yaitu substrat yang sesuai, pH dan temperatur optimum. Enzim selulase bekerja pada substrat selulosa, pH 5 dan temperatur 60 °C.

## **KESIMPULAN**

Berdasarkan hasil analisis pada penelitian ini, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Komposisi kimia lignoselulosa pada Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS) sebelum delignifikasi TKKS: selulosa 54,7166%, hemiselulosa 14,1933% dan lignin 17,6306% kemudian setelah delignifikasi: selulosa 42,2961%, hemiselulosa 11,5097% dan lignin 12,0721% serta setelah hidrolisis kimiawi: selulosa 57,207%, hemiselulosa 19,392% dan lignin 4,630%.
2. Hidrolisis enzim terbukti meningkatkan kadar glukosa dari hidrolisis kimia 74,555 mg/L menjadi 85,666 mg/L yang merupakan kadar glukosa terkecil pada proses hidrolisis enzimatis.
3. Proses Hidrolisis enzimatis dengan konsentrasi enzim 1% selama 124 jam menghasilkan kadar glukosa tertinggi yaitu 187 mg/L.

## **DAFTAR PUSTAKA**

- Anindyawati, T., 2009, *Prospek Enzim dan Limbah Lignoselulosa Untuk Produksi Bioetanol*, Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI, Bogor.
- Darnoko, 1992, *Potensi Pemanfaatan Limbah Lignoselulotik Kelapa Sawit Melalui Biokonversi*, Berita Panel Perkebunan, 85-89.

- Gayang, F., 2013, Konversi Ligneselulosa Tandan Kosong Kelapa Sawit Menjadi Gula Pereduksi Menggunakan Enzim Xilanase dan Selulase Komersil, Departemen Biokimia, FMIPA, IPB.
- Hermiati, E., 2010, Pemanfaatan Biomassa Ligneselulosa Ampas Tebu Untuk Produksi Bioetanol, Fakultas Teknologi Pertanian, IPB.
- Loebis, E.H., 2008, Optimasi Proses Hidrolisis Kimiawi dan Enzimatis Tandan Kosong Kelapa Sawit Menjadi Glukosa Untuk Produksi Etanol, Sekolah Pascasarjana, IPB.
- Samsuri, M. 2008. Konversi Bagas Menjadi Etanol dengan Kombinasi Perlakuan Awal dan Enzim dalam Proses Sakarifikasi dan Fermentasi Serempak. Departemen Teknik Kimia, FT. UI.
- Sitorus, R.S., 2011, Pretreatment dan Hidrolisis Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS) dengan Metode Steaming dan Enzimatik, Fakultas Teknik, UI.
- Suri, A. 2012. Pengaruh Lama Fermentasi dan Berat Ragi Roti terhadap Kadar Bioetanol dari Fermentasi Glukosa Hasil Hidrolisis Selulosa Tandan Kosong Kelapa Sawit dengan HCl 30%. FMIPA, USU. Medan.
- Taherzadeh M.J., dan Karimi K., 2007, Process for Ethanol from Lignocelulosic Materials: Acid based Hydrolysis Process, *Bioresoures*, 2(3):472-499.