

**SAKARIFIKASI SERAT TANDAN KOSONG DAN PELEPAH KELAPA SAWIT SETELAH *PRETREATMENT* MENGGUNAKAN KULTUR CAMPURAN JAMUR PELAPUK PUTIH *Phanerochaete chrysosporium* DAN *Trametes versicolor***  
**(*Saccharification on Oil Palm Empty Fruit Bunch and Frond Fibers Pretreated with co-Culture of White-rot Fungi Phanerochaete chrysosporium and Trametes versicolor*)**

Euis Hermiati<sup>1</sup>, Lucky Risanto<sup>1</sup>, Sita Heris Anita<sup>1</sup>, Yosi Aristiawan<sup>2</sup>, Yanni Sudiyani<sup>2</sup>,  
Ahmad Hanafi<sup>2</sup>, & Haznan Abimanyu<sup>2</sup>

<sup>1</sup>UPT Balai Penelitian dan Pengembangan Biomaterial LIPI  
e-mail: euis.hermiati@lipi.go.id; e\_hermiati@yahoo.com

<sup>2</sup>Pusat Penelitian Kimia LIPI - Telp. 021-87914509, Fax 021-87914510

Diterima 1 April 2013, Disetujui 20 Maret 2014.

**ABSTRACT**

*There are only a few studies conducted on the use of co-culture of white-rot fungi for pretreatment of lignocellulosic biomass. The aim of this research is to study the effects of biological pretreatment of oil palm empty fruit bunch (OPEFB) and oil palm frond (OPF) fiber using co-culture of two white-rot fungi, namely Phanerochaete chrysosporium and Trametes versicolor, on the results of the enzymatic saccharification of such biomass. The representative samples of OPEFB and OPF fibers (40-60 mesh in sizes) after being sterilized, each as much as 5% (w/v), were inoculated with the co-cultures of the two fungi and incubated at  $\pm 27^{\circ}\text{C}$  for 4 weeks. The samples were taken partially and then examined after 1, 2, 3, and 4 weeks of incubation. Saccharification process using cellulase and  $\beta$ -glucosidase was performed in a water bath shaker at  $50^{\circ}\text{C}$  for 48 hours. Reducing sugar, glucose and xylose content were analyzed. The highest reducing sugar yield, glucose and xylose concentrations from the saccharification on OPEFB, as much as consecutively 13.08%, 0.86 mg/g and 0.13 mg/g, were obtained after pretreatment for 4 weeks; while likewise those for OPF corresponding to 8.98%, 0.92 mg/g and 0.23 mg/g, respectively, were obtained after 2-week pretreatment.*

*Keywords: Saccharification, oil palm empty fruit bunch, oil palm frond, pretreatment, white-rot fungi*

**ABSTRAK**

Penggunaan kultur campuran jamur pelapuk putih pada proses *pretreatment* bahan lignoselulosa belum banyak diteliti. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh penggunaan kultur campuran dua jenis jamur pelapuk putih, yaitu *Phanerochaete chrysosporium* dan *Trametes versicolor* pada proses *pretreatment* serat tandan kosong dan pelepah kelapa sawit terhadap hasil sakarifikasinya. Inokulum *P. chrysosporium* dan *T. versicolor* dituangkan ke dalam sampel substrat serat tandan kosong dan pelepah kelapa sawit (40-60 mesh) yang telah disterilkan, masing-masing sebanyak 5% (w/v), sehingga total inokulum yang ditambahkan ke dalam kedua macam substrat masing-masing 10% (w/v). Sampel diinkubasikan pada suhu  $\pm 27^{\circ}\text{C}$  selama 4 minggu. Sebagian dari contoh diambil dan lalu diperiksa setelah masa inkubasi 1, 2, 3, dan 4 minggu. Sakarifikasi dilakukan menggunakan enzim selulase sebanyak 20 FPU per g biomassa dan  $\beta$ -glukosidase dalam *shaking waterbath* pada suhu  $50^{\circ}\text{C}$  selama 48 jam. Analisis gula pereduksi, glukosa dan xilosa dilakukan terhadap hasil sakarifikasi. Rendemen gula pereduksi, konsentrasi glukosa dan xilosa tertinggi dari tandan kosong kelapa sawit

diperoleh dari sakarifikasi serat dengan *pretreatment* selama 4 minggu, yaitu masing-masing 13,08%, 0,86 mg/g dan 0,13 mg/g, sedangkan rendemen gula pereduksi, konsentrasi glukosa dan xilosa tertinggi dari pelepah kelapa sawit didapatkan dari sakarifikasi substrat dengan *pretreatment* selama 2 minggu, yaitu masing-masing 8,98%, 0,92 mg/g dan 0,23 mg/g.

Kata kunci: Sakarifikasi, tandan kosong kelapa sawit, pelepah kelapa sawit, *pretreatment*, jamur pelapuk putih

## I. PENDAHULUAN

Proses konversi biomassa lignoselulosa menjadi etanol pada dasarnya terdiri dari tiga tahap, yaitu *pretreatment* atau perlakuan pendahuluan, sakarifikasi atau hidrolisis selulosa menjadi gula-gula sederhana, dan fermentasi gula tersebut menjadi etanol. Proses *pretreatment* dinilai sebagai salah satu tahap yang mahal dalam proses konversi tersebut. *Pretreatment* bertujuan untuk mengurangi atau menghilangkan/mendegradasi lignin, mengurangi kristalinitas selulosa, dan meningkatkan porositas bahan. Degradasi lignin tersebut mengakibatkan pola struktur biomassa yang lebih lunak. Teknologi *pretreatment* telah banyak dikembangkan, baik secara fisik, mekanik, kimia dan biologis. *Pretreatment* secara fisik/mekanik antara lain penggilingan, iradiasi, dan hidrotermal. Contoh *pretreatment* secara kimia adalah menggunakan basa, asam, organosolvolisis, dan *ammonia fiber explosion* (AFEX). Kedua metode terakhir ini banyak dikaji karena metode ini efektif dan hanya memerlukan waktu relatif singkat. Akan tetapi, metode ini memerlukan konsumsi energi yang tinggi dan peralatan yang tahan korosi (metode kimia secara asam) serta memerlukan proses pencucian berulang sehingga menambah biaya. *Pretreatment* secara biologis menawarkan keunggulan dibandingkan cara fisik atau kimia, yaitu konsumsi energi yang lebih rendah, rendemen produk *pretreatment* lebih tinggi, serta menghasilkan limbah *pretreatment* sedikit dan tak begitu berbahaya terhadap lingkungan (Isroi *et al.*, 2011; Zhu *et al.*, 2008; Mosier *et al.*, 2005; Sun dan Cheng, 2002). *Pretreatment* secara biologis jarang dilakukan bila dibandingkan dengan cara fisik/mekanik dan kimia, karena proses biologis memerlukan waktu yang lebih lama sehingga pihak industri tidak tertarik. Akan tetapi, mengingat sifatnya yang ramah lingkungan, maka *pretreatment* secara biologis layak dipertimbangkan

untuk diterapkan pada proses konversi biomassa lignoselulosa menjadi etanol.

*Pretreatment* secara biologis biasanya dilakukan menggunakan mikroorganisme yang dapat mendegradasi lignin secara enzimatik, misalnya jamur pelapuk putih. Jamur pelapuk putih menghasilkan beberapa enzim yang bersifat ligninolitik, yaitu lignin peroksidase (LiP), mangan II peroksidase (MnP) dan laccase. Di antara jamur pelapuk putih yang dikenal sebagai pendegradasi lignin adalah *Phanerochaete chrysosporium* dan *Trametes versicolor*. Jamur *P. chrysosporium* dan *T. versicolor* dilaporkan dapat menghasilkan ketiga jenis enzim ligninolitik tersebut, namun laccase yang dihasilkan oleh *P. chrysosporium* jumlahnya sedikit (Tuor *et al.*, 1995). Enzim yang dihasilkan oleh *P. chrysosporium* bersifat ekstraseluler dan memerlukan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> untuk aktivitasnya. (Tien dan Kirk, 1984). Sejauh ini kajian yang banyak dilakukan adalah menggunakan kultur tunggal jamur pelapuk putih. *Pretreatment* menggunakan kultur campuran jamur pelapuk putih belum banyak dilakukan. Adapun yang pernah dilakukan antara lain *pretreatment* bagas tebu (Anita *et al.*, 2011), dan biopulping bambu (Fatriasari *et al.*, 2010). Pada penelitian ini dikaji pengaruh penggunaan kultur campuran jamur pelapuk putih *P. chrysosporium* dan *T. versicolor* pada proses *pretreatment* tandan kosong dan pelepah kelapa sawit terhadap hasil sakarifikasinya.

## II. BAHAN DAN METODE

### A. Bahan

Tandan kosong kelapa sawit (TKKS) dan pelepah kelapa sawit (PKS) diperoleh dari areal Perkebunan Kertajaya, Perseroan Terbatas Perkebunan Nusantara (PTPN) VIII, Banten. TKKS dan PKS digiling dengan *disc mill* hingga diperoleh partikel yang lolos saringan berukuran

40 dan tertahan di saringan berukuran 60 mesh. Jamur pelapuk putih (*Phanerochaete chrysosporium*, *Trametes versicolor*) diperoleh dari Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Cibinong. Bahan kimia lain yang digunakan merupakan bahan kimia untuk analisis dan mikrobiologi.

## B. Metode

### 1. Persiapan substrat

Partikel serat TKKS dan PKS (30 g) diberi media *Japan Industrial Standard (JIS) broth* (kaldu) (ke dalam 1 liter air suling ditambahkan 3 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 2 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 25 g glukosa, 5 g pepton, dan 10 g *malt extract*), dengan perbandingan 1:2 (w/v), kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu  $121^\circ\text{C}$  selama 30 menit.

### 2. Persiapan inokulum jamur

Jamur *P. chrysosporium* dan *T. versicolor* dibiakkan pada media *Malt Extract Agar (MEA) slant* (ke dalam 250 ml air suling ditambahkan 8,875 g MEA dan 0,125 g chloramphenicol) selama 7 hari. Sebanyak 5 ml *JIS broth* (kaldu) dimasukkan ke dalam tiap agar *slant* yang sudah ditumbuhi jamur, kemudian jamur tersebut dirontokkan dengan ose, sehingga diperoleh suspensi jamur di dalam 5 ml *JIS broth*. Suspensi tersebut kemudian dituangkan ke dalam 95 ml *JIS broth* dan diinkubasi selama 10 hari dalam kondisi stasioner. Setelah itu, suspensi inokulum *P. chrysosporium* dan *T. versicolor* dihomogenkan dengan *waring blender* pada kecepatan tinggi selama dua kali 20 detik.

### 3. Inokulasi kultur jamur

Inokulasi dilakukan dengan cara menuangkan suspensi inokulum *P. chrysosporium* dan *T. versicolor* ke dalam medium TKKS dan PKS sebanyak masing-masing 5% (w/v), sehingga total inokulum yang ditambahkan ke dalam medium TKKS dan PKS masing-masing 10% (w/v). Media TKKS dan PKS yang telah diinokulasi jamur kemudian diinkubasikan di dalam inkubator pada suhu  $\pm 27^\circ\text{C}$  selama 1-4 minggu. Setelah diinkubasi selama 1,2,3 dan 4 minggu, TKKS dan PKS yang telah ditumbuhi jamur, masing-masing dengan selang 1 minggu tersebut, disterilkan dengan autoklaf pada suhu  $121^\circ\text{C}$  selama 15 menit untuk mematikan jamur, kemudian dicuci dengan air mengalir untuk memisahkan substrat dari jamur. Substrat yang telah dibersihkan

kemudian ditimbang, diukur kadar airnya dan disimpan di dalam *freezer* untuk dipakai dalam proses sakarifikasi. Selain itu, disiapkan juga perlakuan kontrol, yaitu kontrol 1 berupa TKKS dan PKS awal tanpa *pretreatment* apa pun dan kontrol 2 berupa TKKS dan PKS yang sudah disterilkan, namun tidak diinokulasi dengan jamur. Setiap perlakuan dibuat dengan 3 ulangan.

### 4. Sakarifikasi

Sakarifikasi substrat dilakukan dengan bantuan enzim selulase (Novozyme, aktivitas enzim 70 filter paper unit (FPU)/g) sebanyak 20 FPU per g substrat dan  $\beta$ -glukosidase (Novozyme, aktivitas enzim 240 cellobiose unit (CBU)/g) sebanyak 14 CBU per g substrat, mengacu pada metode sakarifikasi Selig *et al.* (2008). Sakarifikasi dilakukan di dalam *shaking waterbath* pada suhu  $50^\circ\text{C}$  selama 48 jam. Analisis total gula pereduksi dilakukan menggunakan metode Nelson-Somogyi (Wrolstad *et al.*, 2004), sedangkan analisis individu gula pereduksi, yaitu glukosa dan xilosa dilakukan menggunakan Waters HPLC dengan detektor RI, eluen  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,005 M dengan laju alir 0,6 mL/menit. Kadar gula pereduksi, glukosa dan xilosa dihitung berdasarkan berat kering bahan awal dan berdasarkan berat kering pulp (bahan yang tersisa setelah *pretreatment* jamur).

### 5. Analisis morfologi serat

TKKS dan PKS sebelum dan sesudah *pretreatment* dianalisis morfologinya menggunakan *scanning electron microscope (SEM)* Zeiss Evo50-05-87.

### 6. Analisis kimia TKKS dan PKS

Analisis komponen kimia serat TKKS dan PKS meliputi kelarutan dalam etanol benzena, lignin, holoselulosa dan selulosa dilakukan mengacu pada *Mokushitsu Kagaku Jiken Manual* (Japan Wood Research Society, 2000). Kadar hemiselulosa ditentukan dengan menghitung selisih kadar holoselulosa dan selulosa. Komponen kimia lain dihitung dari angka 100 dikurangi kadar ekstrak etanol benzena, lignin dan holoselulosa.

## III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Komposisi kimia serat TKKS dan PKS yang digunakan pada penelitian ini disajikan pada Tabel 1. Kadar ekstrak etanol benzena dalam

contoh awal TKKS (2,48%) lebih rendah daripada dalam PKS (9,90%), sedangkan kadar lignin TKKS (17,54%) tidak jauh berbeda dengan kadar lignin PKS (16,77%). TKKS mengandung lebih banyak holoselulosa (70,72%) dibandingkan dengan PKS (66,67%), dengan selulosa yang lebih tinggi namun hemiselulosa lebih rendah daripada PKS. Komponen lainnya masing-masing

mencapai 9,26% (TKKS) dan 6,66% (PKS). Lebih tingginya jumlah kadar lignin dan holoselulosa atau lebih rendahnya jumlah persentase ekstrak etanol benzena dan persentase komponen lain pada TKKS dibandingkan pada PKS mengindikasikan bahan-bahan ekstraktif (bukan penyusun dinding serat) dalam TKKS lebih besar daripada dalam PKS.

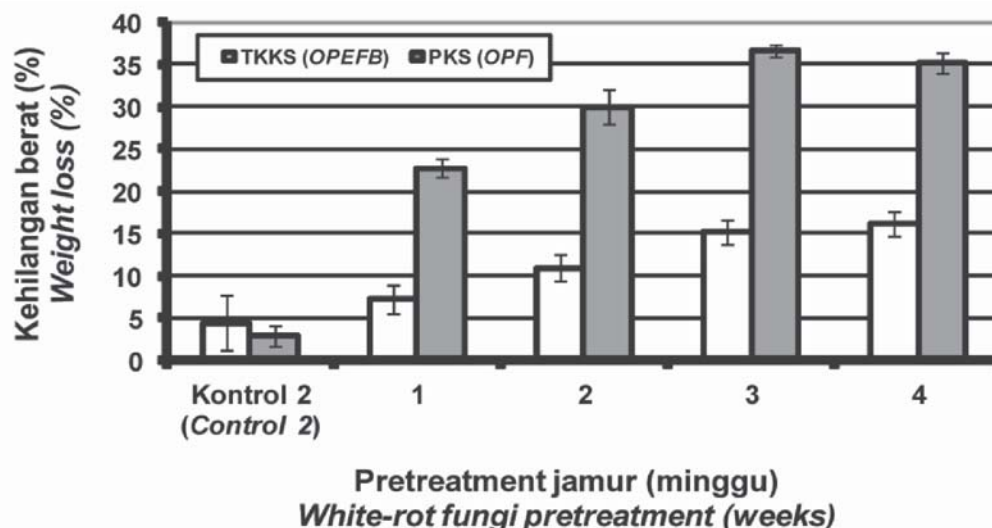
**Tabel 1. Komposisi kimia serat TKKS dan PKS**  
*Table 1. Chemical compositions of OPEFB and OPF*

Komponen kimia ( <i>Chemical components</i> )	TKKS ( <i>OPEFB</i> )		PKS ( <i>OPF</i> )	
	Kontrol 1 ( <i>Control 1</i> )	Kontrol 2 ( <i>Control 2</i> )	Kontrol 1 ( <i>Control 1</i> )	Kontrol 2 ( <i>Control 2</i> )
Ekstrak etanol benzena ( <i>Ethanol benzene extract</i> ), %	2,48 ± 0,04	2,27 ± 0,24	9,90 ± 0,49	2,49 ± 0,11
Lignin ( <i>Lignin</i> ), %	17,54 ± 0,37	20,06 ± 0,39	16,77 ± 0,30	28,18 ± 0,38
Holoselulosa ( <i>Holocellulose</i> ), %	70,72 ± 0,56	75,20 ± 0,40	66,67 ± 1,62	67,32 ± 0,60
Selulosa ( <i>Cellulose</i> ), %	44,22 ± 5,61	47,05 ± 0,47	36,33 ± 4,10	37,26 ± 0,81
Hemiselulosa ( <i>Hemicellulose</i> ), %	26,50 ± 5,61	28,14 ± 0,46	30,34 ± 4,54	30,06 ± 1,31
Komponen kimia lain ( <i>Other chemical components</i> ), %	9,26	2,47	6,66	2,01

Keterangan (*Remarks*): TKKS (*OPEFB*) = tandan kosong kelapa sawit (*oil palm empty fruit bunch*), PKS (*OPF*) = pelepah kelapa sawit (*oil palm frond*), kontrol (*control*) 1 = contoh awal serat TKKS dan PKS (*original samples of OPEFB and OPF*), kontrol (*control*) 2 = serat TKKS dan PKS yang disterilkan dan dicuci dengan air suling (*sterilized and washed OPEFB and OPF*).

Sterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit yang dilanjutkan dengan pencucian dengan air suling dingin tidak mengakibatkan perubahan yang berarti terhadap kadar ekstrak etanol benzena pada TKKS, namun menurunkan kadar ekstrak etanol benzena dalam PKS. Perlakuan tersebut menurunkan kadar komponen lain dengan jumlah yang cukup signifikan, yaitu 6,8% pada TKKS dan 4,6% pada PKS (Tabel 1). Komponen lain ini diduga sebagian besar berupa zat ekstraktif yang larut dalam air dingin pada proses pencucian. Hasil analisis kelarutan dalam air dingin contoh awal TKKS dan PKS masing-masing adalah 13,52% dan 9,36%. Pengaruh panas selama sterilisasi dapat menyebabkan

matriks serat lebih terbuka, sehingga ekstraktif di dalam bahan lebih mudah terekstrak oleh air maupun etanol benzena. Perlakuan sterilisasi pada suhu tinggi (121°C) juga dapat mengakibatkan melelehnya senyawa ekstraktif tertentu, seperti sisa lemak dan minyak, sehingga viskositasnya menurun, dan akibatnya menjadi mudah bermigrasi keluar dari serat dan ikut tercuci bersama air. Hal ini terutama terjadi pada penurunan persentase ekstrak etanol benzena pada serat PKS. Hilangnya komponen lain dan menurun drastisnya ekstrak etanol benzena, terutama pada PKS, dengan jumlah yang signifikan, mengakibatkan persentase relatif lignin dan holoselulosa di dalam bahan (kontrol 2) meningkat.



Gambar 1. Kehilangan berat serat TKKS dan PKS setelah *pretreatment* dengan kultur campuran *P. chrysosporium* dan *T. versicolor*, dengan waktu inkubasi 1-4 minggu.

Figure 1. Weight loss of OPEFB and OPF substrates after pretreatment using co-culture of *P. chrysosporium* and *T. versicolor*, with incubation duration for 1-4 weeks.

Tabel 2. Rendemen gula pereduksi dari hasil sakarifikasi serat TKKS dan PKS dengan pretreatment kultur campuran *P. chrysosporium* dan *T. versicolor*

Table 2. Reducing sugar yield obtained from the sakharification of OPEFB and OPF fibers after pretreatment using co-culture of *P. chrysosporium* and *T. versicolor*

Perlakuan (Treatment)	TKKS/OPEFB		PKS/OPF	
	(% pulp) (% pulp)	(% bahan awal) (% feedstock)	(% pulp) (% pulp)	(% bahan awal) (% feedstock)
Kontrol 1 (Control 1)	-	14,56 ± 0,41	-	5,82 ± 0,25
Kontrol 2 (Control 2)	12,40 ± 2,01	12,02 ± 2,01	2,04 ± 0,57	1,98 ± 0,53
Inkubasi 1 minggu (1 week incubation)	9,63 ± 0,85	8,98 ± 0,79	8,74 ± 2,23	7,11 ± 1,76
Inkubasi 2 minggu (2-week incubation)	10,91 ± 1,08	9,85 ± 1,08	11,67 ± 1,14	8,98 ± 0,92
Inkubasi 3 minggu (3-week incubation)	11,55 ± 1,02	10,03 ± 0,89	9,87 ± 2,09	7,22 ± 1,49
Inkubasi 4 minggu (4-week incubation)	15,19 ± 0,93	13,08 ± 0,67	7,13 ± 1,03	5,28 ± 0,79

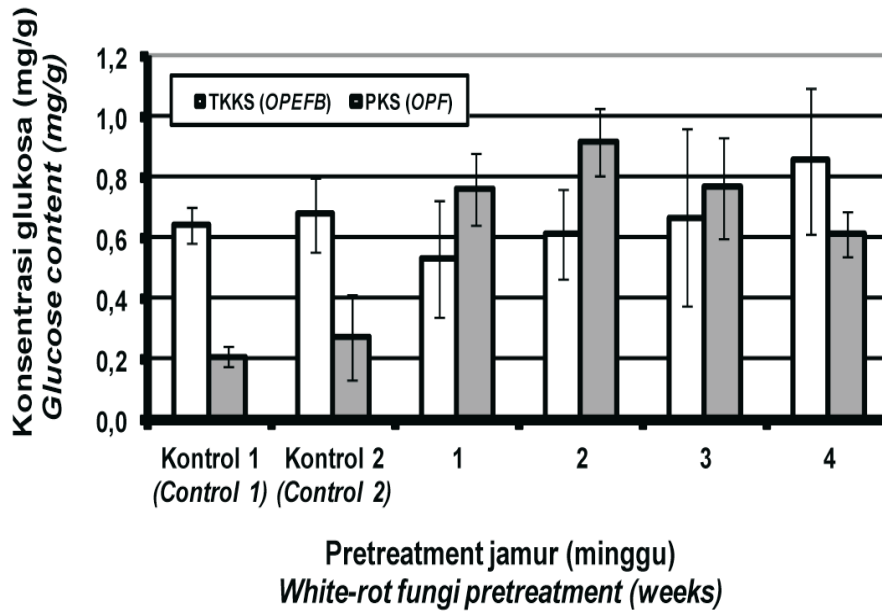
Keterangan (Remarks): Kontrol (Control) 1 = contoh awal serat TKKS dan PKS (original samples of OPEFB and OPF), Kontrol (Control) 2 = serat TKKS dan PKS yang disterilkan dan dicuci dengan air suling (sterilized and washed OPEFB and OPF), pulp (pulp) = bagian bahan (TKKS dan PKS) yang tersisa setelah pretreatment dengan kultur jamur 1-4 minggu yang dilanjutkan dengan pencucian bahan (part of the feedstock (OPEFB and OPF) that remained after pretreatment using co-culture of white-rot fungi for 1-4 weeks).

Kehilangan berat serat TKKS dan PKS meningkat dengan semakin lamanya waktu inkubasi sampai dengan waktu inkubasi 3 minggu, setelah itu tidak terjadi perubahan kehilangan berat yang signifikan (Gambar 1). Kehilangan berat serat TKKS lebih rendah daripada yang terjadi pada PKS, yang menandakan kultur campuran *P. chrysosporium* dan *T. versicolor* lebih aktif dalam mendegradasi PKS daripada TKKS. Hal ini diduga berhubungan dengan kandungan hemiselulosa dan ekstrak etanol-benzena dalam bahan. Hemiselulosa dan zat ekstraktif cenderung lebih mudah didegradasi daripada lignin maupun selulosa. Kandungan hemiselulosa dan ekstrak etanol-benzena yang lebih tinggi dalam PKS memungkinkan terjadinya degradasi komponen kimia yang lebih cepat, dan berkontribusi pada kehilangan berat. Diduga ini terjadi karena derajat polimerisasi atau berat molekul hemiselulosa dan ekstrak etanol benzena lebih rendah dibandingkan pada selulosa atau lignin.

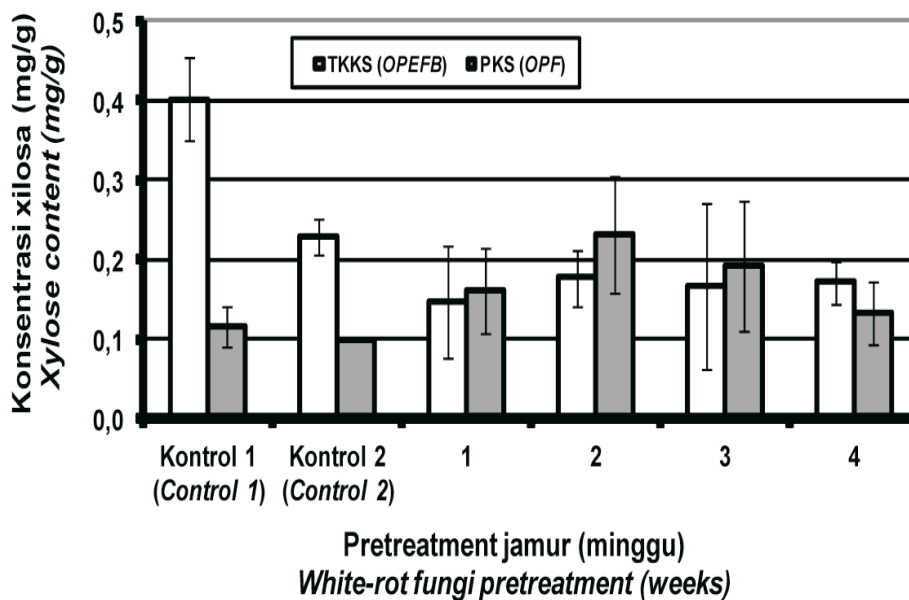
Polisakarida pada TKKS dan PKS kontrol 1 maupun kontrol 2 juga dapat disakarifikasi oleh enzim selulase dan  $\beta$ -glukosidase yang terlihat dari diperolehnya total gula pereduksi (Tabel 2), dan individu gula pereduksi, yaitu glukosa (Gambar 2) dan xilosa (Gambar 3) pada kontrol 1 dan kontrol 2. Hal yang sama dijumpai pada hasil penelitian Shamsudin *et al.* (2012) terhadap serat TKKS. Rendemen total gula pereduksi dari hasil sakarifikasi TKKS dan PKS kontrol 1 relatif lebih tinggi daripada kontrol 2. Hal ini diduga disebabkan hilangnya sebagian gula pereduksi akibat pencucian yang dilakukan pada kontrol 2 setelah disterilkan. Pencucian juga dilakukan pada contoh yang diberi perlakuan jamur. Rendemen gula pereduksi meningkat lagi setelah serat PKS diberi perlakuan jamur, yang menandakan terjadinya proses degradasi selektif terhadap lignin oleh jamur dan memberi akses kepada enzim selulase dan xilase untuk mendegradasi selulosa dan hemiselulosa menjadi gula pereduksi. Pada TKKS *pretreatment* menggunakan jamur selama 1-3 minggu belum meningkatkan kadar total gula pereduksi dari hasil sakarifikasinya. Hal ini diduga disebabkan dikonsumsinya sebagian selulosa dan hemiselulosa TKKS oleh jamur sebelum jamur tersebut mulai mendegradasi lignin. Selulosa dan hemiselulosa pada TKKS sudah dalam kondisi relatif terbuka akibat

perlakuan uap panas saat perontokan tandan buah segar kelapa sawit. Proses degradasi oleh jamur pada TKKS kemungkinan bersifat tidak selektif. Pada PKS jamur langsung mendegradasi lignin karena minimnya selulosa dan hemiselulosa dengan kondisi relatif terbuka yang tersedia untuk didegradasi oleh jamur. Namun demikian, dugaan ini perlu diteliti lebih lanjut di waktu mendatang, misalnya dengan cara menganalisis kadar total gula pereduksi di dalam larutan hasil pencucian.

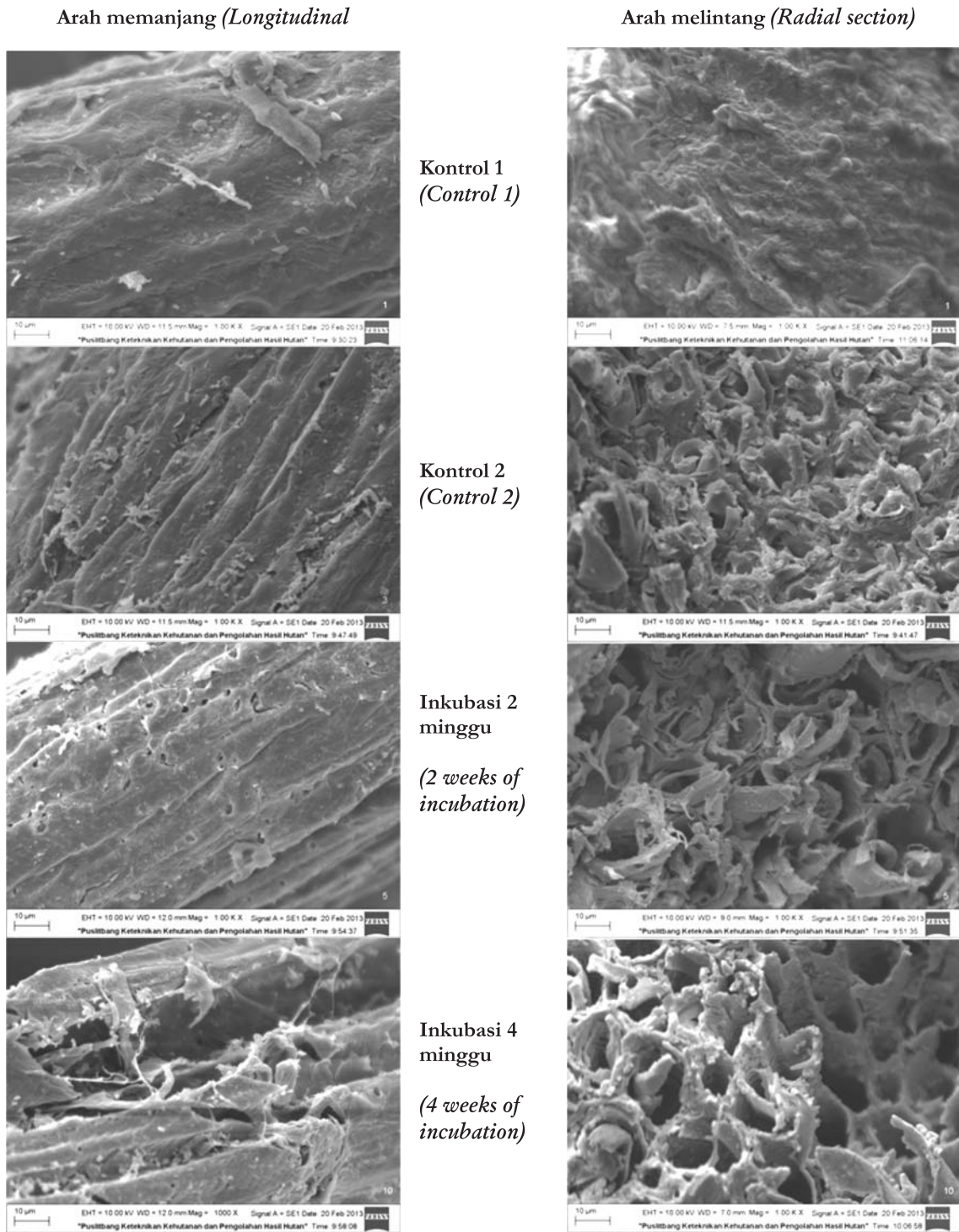
Rendemen gula pereduksi TKKS meningkat seiring dengan meningkatnya waktu inkubasi *pretreatment* jamur dan mencapai maksimum (15,19% dari pulp atau 13,08% dari bahan awal) setelah inkubasi selama 4 minggu, sedangkan rendemen gula pereduksi PKS mencapai maksimum (11,67% dari pulp atau 8,98% dari bahan awal) pada minggu ke dua inkubasi, kemudian menurun pada minggu ke tiga dan ke empat. Pola serupa juga dijumpai pada hasil analisis glukosa dari sakarifikasi TKKS dan PKS (Gambar 2), serta hasil analisis xilosa dari sakarifikasi PKS, namun agak sedikit berbeda pada hasil analisis xilosa dari sakarifikasi TKKS (Gambar 3). Hal lain yang perlu dicatat adalah konsentrasi glukosa dan xilosa maksimum dari hasil sakarifikasi TKKS (setelah diinokulasi jamur) ternyata relatif lebih rendah dibandingkan dengan yang diperoleh dari hasil sakarifikasi PKS (setelah diinokulasi pula). Padahal, rendemen total gula pereduksi yang diperoleh dari sakarifikasi serat TKKS lebih tinggi daripada yang diperoleh dari sakarifikasi serat PKS (Tabel 2). Kadar lignin kedua bahan relatif sama, sedangkan kadar selulosa pada TKKS lebih tinggi daripada PKS (Tabel 1). Dengan demikian, potensi individu gula pereduksi yang terbentuk setelah sakarifikasi TKKS seharusnya lebih besar dibandingkan dengan hasil sakarifikasi PKS, dan kenyataannya adalah sebaliknya. Kemungkinan ada perbedaan panjang rantai atau derajat polimerisasi (DP) selulosa dan juga derajat kristalinitas selulosa pada hasil sakarifikasi serat TKKS dan PKS. Dalam hal ini mungkin DP dan derajat kristalinitas selulosa dari hasil sakarifikasi PKS lebih rendah dari hasil sakarifikasi TKKS, sehingga jumlah glukosa yang terbentuk akibat kerja enzim  $\beta$ -glukosidase menjadi lebih cepat pada selang waktu sakarifikasi yang sama yang digunakan pada penelitian ini, yaitu 48 jam. Kemungkinan lain adalah kadar



Gambar 2. Konsentrasi glukosa hasil sakarifikasi TKKS dan PKS setelah *pretreatment* dengan kultur campuran *P. chrysosporium* dan *T. versicolor*.  
 Figure 2. Glucose content obtained from the saccharification of OPEFB and OPF after pretreatment with co-culture of *P. chrysosporium* and *T. versicolor*.



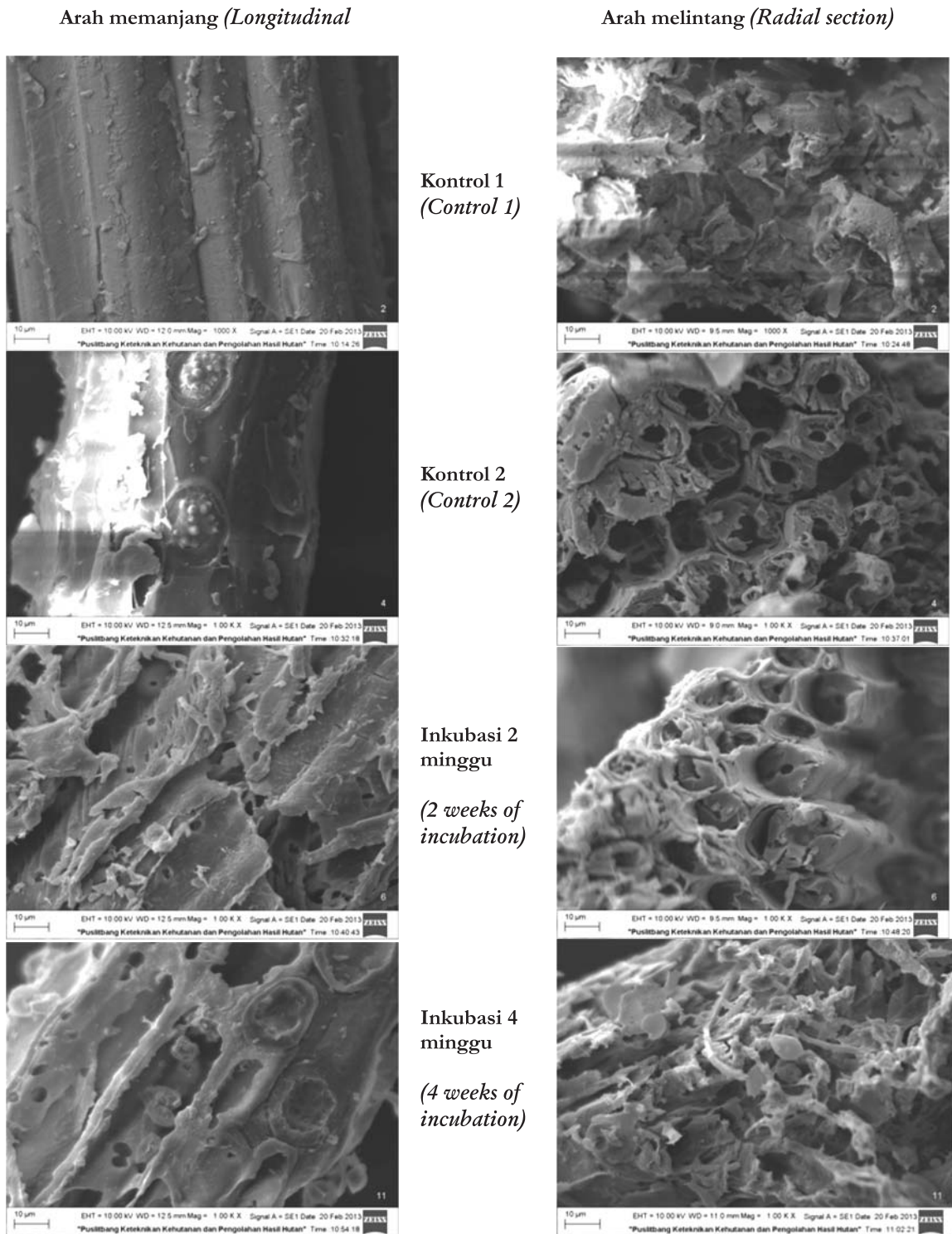
Gambar 3. Konsentrasi xilosa hasil sakarifikasi TKKS dan PKS setelah *pretreatment* dengan kultur campuran *P. chrysosporium* dan *T. versicolor*.  
 Figure 3. Xylose content obtained from the saccharification of OPEFB and OPF after pretreatment with co-culture of *P. chrysosporium* and *T. versicolor*.



Gambar 4. Citra SEM serat TKKS sebelum dan setelah *pretreatment* dengan *P. chrysosporium* dan *T. versicolor*.

Figure 4. SEM image on OPEFB fiber before and after *pretreatment* with *P. chrysosporium* and *T. versicolor*.





Gambar 5. Citra SEM serat PKS sebelum dan setelah *pretreatment* dengan *P. chrysosporium* dan *T. versicolor*.  
*Figure 5. SEM image on OPF fiber before and after pretreatment with P. chrysosporium and T. versicolor.*

hemiselulosa pada PKS lebih besar dibandingkan pada TKKS, terutama pada bahan kontrol 2 (Tabel 1). Ini disebabkan hemiselulosa merupakan heteropolimer yang terdiri dari monomer seperti glukosa, manosa, xilosa, galaktosa, dan arabinosa. Disamping itu, derajat polimerisasi hemiselulosa jauh lebih rendah dibandingkan derajat polimerisasi selulosa. Hal ini lebih mempermudah pula aktifitas enzim selulase dan  $\beta$ -glukosidase, yang diindikasikan pula dari penurunan berat PKS yang lebih besar daripada TKKS setelah keduanya mengalami masa inkubasi selama 1-4 minggu (Gambar 1).

Sakarifikasi kontrol 1 dan kontrol 2 serat PKS menghasilkan kadar glukosa dan xilosa yang lebih rendah daripada sakarifikasi kontrol 1 dan kontrol 2 serat TKKS (Gambar 2 dan 3). Pada proses produksi minyak kelapa sawit, tandan buah segar diberi perlakuan uap panas untuk memudahkan proses perontokan buah kelapa sawit dari tandannya. Perlakuan ini ternyata dapat meningkatkan tingkat konversi gula yang diperoleh dari sakarifikasi serat tandan kelapa sawit dari 2,4% pada serat tandan buah segar menjadi 25% pada tandan kosong kelapa sawit (Shamsudin *et al.*, 2012). Pada penelitian ini digunakan TKKS yang sudah mengalami perlakuan uap panas saat perontokan buah, sedangkan PKS tidak mengalami perlakuan serupa. Dengan demikian, polisakarida dalam serat TKKS menjadi lebih mudah disakarifikasi daripada polisakarida dalam serat PKS, walaupun belum diberi *pretreatment* jamur. Setelah *pretreatment* jamur, rendemen gula pereduksi, glukosa dan xilosa pada hasil sakarifikasi PKS mengalami peningkatan yang signifikan sampai waktu inkubasi 2 minggu. Fenomena ini didukung oleh data kehilangan berat PKS (Gambar 1) yang memperlihatkan terjadinya kehilangan berat yang cukup besar pada serat PKS setelah diberi perlakuan jamur. Penurunan kadar gula pereduksi, glukosa dan xilosa yang terjadi pada serat PKS yang diinkubasi selama 3 dan 4 minggu mungkin disebabkan oleh dikonsumsi gula-gula tersebut oleh jamur.

Rendemen gula pereduksi hasil sakarifikasi TKKS maupun PKS yang diberi *pretreatment* kultur campuran *P. chrysosporium* dan *T. versicolor*

masih rendah, masing-masing dengan rendemen tertinggi 13,08 dan 8,98% (Tabel 2). Dengan kadar selulosa TKKS dan PKS yang ada (Tabel 1), maka masing-masing hanya sekitar 30% dan 25% selulosa dalam TKKS dan PKS yang terhidrolisis menjadi gula pereduksi. Metode *pretreatment* menggunakan air panas bertekanan tinggi terhadap PKS dapat menghasilkan 92% dari teoritis glukosa yang dapat dihasilkan (Goh *et al.*, 2010), sedangkan *pretreatment* uap panas pada suhu 130°C selama 2 jam dan dilanjutkan dengan penggunaan katalis *ionic liquid 1-ethyl-3-methyl imidazolium acetate* atau [Emim]OAc terhadap serat TKKS dapat menghasilkan *enzymatic digestibility* sebesar 95,5% (Katinonkul *et al.*, 2012). Peneliti lain memperoleh *enzymatic digestibility* serat TKKS sebesar 41,4% setelah *pretreatment* menggunakan larutan ammonia cair 21% pada suhu 60°C selama 12 jam dan sakarifikasi menggunakan enzim Accellerase 60 FPU selama 96 jam (Jung *et al.*, 2011).

Proses degradasi serat TKKS dan PKS oleh jamur pelapuk putih, masing-masing pada arah memanjang dan melintang, dapat dilihat pada hasil citra SEM serat TKKS (Gambar 4) dan PKS (Gambar 5). Pada arah memanjang belum tampak perubahan yang berarti akibat perlakuan sterilisasi bahan dengan autoklaf baik pada serat TKKS maupun PKS, namun pada arah melintang sudah tampak pengaruhnya, yaitu pada serat yang disterilkan rongga-rongga serat sudah mulai terbuka. Semakin lama perlakuan pendahuluan, rongga-rongga menjadi semakin terbuka. Perlakuan jamur selama 2 minggu mengakibatkan terbentuknya beberapa lubang di permukaan memanjang serat TKKS maupun PKS yang diduga merupakan akibat invasi hifa jamur. Lubang yang terbentuk tampak semakin banyak pada inkubasi 4 minggu. Proses degradasi serat yang terjadi pada PKS setelah *pretreatment* jamur selama 2 minggu tampak lebih hebat daripada yang terjadi pada serat TKKS. Hal ini sesuai dengan hasil analisis kehilangan berat dan hasil analisis gula hasil sakarifikasi. Hasil SEM ini menguatkan bahwa serat PKS lebih mudah dan lebih cepat didegradasi oleh jamur pelapuk putih *P. chrysosporium* dan *T. versicolor*.

#### IV. KESIMPULAN

Serat PKS lebih mudah didegradasi oleh jamur pelapuk putih *P. chrysosporium* dan *T. versicolor* dibandingkan serat TKKS yang ditandai dengan nilai kehilangan berat PKS setelah *pretreatment* yang jauh lebih tinggi dibandingkan dengan kehilangan berat TKKS. Polisakarida yang terdapat dalam serat PKS juga lebih cepat disakarifikasi menjadi glukosa dan xilosa dibandingkan dengan yang terdapat di dalam serat TKKS. Proses *pretreatment* menggunakan kultur campuran jamur pelapuk putih *P. chrysosporium* dan *T. versicolor* belum menghasilkan rendemen gula pereduksi serta konsentrasi glukosa dan xilosa yang tinggi seperti diharapkan setelah bahan disakarifikasi. Rendemen gula pereduksi, konsentrasi glukosa dan xilosa tertinggi dari tandan kosong kelapa sawit diperoleh dari sakarifikasi substrat dengan *pretreatment* selama 4 minggu, yaitu masing-masing 13,08%, 0,86 mg/g dan 0,13 mg/g, sedangkan rendemen gula pereduksi, konsentrasi glukosa dan xilosa tertinggi dari pelepah kelapa sawit diperoleh dari sakarifikasi substrat dengan *pretreatment* selama 2 minggu, yaitu masing-masing 8,98%, 0,92 mg/g dan 0,23 mg/g.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terimakasih kepada Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) yang sudah menyediakan dana untuk melakukan penelitian ini melalui Program Prioritas Nasional Energi tahun 2012.

#### DAFTAR PUSTAKA

Anita, S.H., T. Fajriutami, Fitria, R.A. Ermawar, D.H.Y. Yanto dan E. Hermiati. (2011). *Pretreatment Trametes versicolor dan Pleurotus ostreatus pada bagas untuk produksi bioetanol. Teknologi Indonesia* 34: 33-39.

Fatriasari, W., S.H. Anita, F. Falah, D.T.N. Adi dan E. Hermiati. (2010). Biopulping bambu betung menggunakan kultur campur jamur

pelapuk putih (*Trametes versicolor, Pleurotus ostreatus* dan *Phanerochaete chrysosporium*). *Berita Selulosa* 45(2): 44-56.

- Goh, C.S., K.T. Lee dan S. Bhatia. (2010). Hot compressed water pretreatment of oil palm fronds to enhance glucose recovery for production of second generation bio-ethanol. *Bioresour Technol* 101: 7362-7367.
- Isroi, R. Millati, S. Syamsiah, C. Niklasson, M.N. Cahyanto, K. Lundquist dan M.J. Taherzadeh. (2011). Biological pretreatment of lignocelluloses with white-rot fungi and its applications: A Review. *Bioresources* 6(4): 1-36.
- Japan Wood Research Society. 2000. *Mokushitsu Kagaku Jiken Manual*. Tokyo: Japan Wood Research Society Publisher.
- Jung, Y.H., I.J. Kim, J.I. Han, I.G. Choi dan K.H. Kim. 2011. Aqueous ammonia pretreatment of oil palm empty fruit bunches for ethanol production. *Bioresour Technol* 102: 9806-9809.
- Katinonkul, W., J.S. Lee, S.H. Ha dan J.Y. Park. 2012. Enhancement of enzymatic digestibility of oil palm empty fruit bunch by ionic-liquid pretreatment. *Energy* 47: 11-16.
- Mosier, N., C. Wyman, B. Dale, R. Elander, Y.Y. Lee, M.T. Holtzapple dan M. Ladisch. (2005). Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresour Technol* 96: 673-686.
- Selig, M., N. Weiss dan Y. Ji. (2008). *Enzymatic Saccharification of Lignocellulosic Biomass*. NREL LAP 3/21/2008.
- Shamsudin, S., U.K. Md Shah, H. Zainudin, S. Abd-Aziz, S.M.M. Kamal, Y. Shirai dan M.A. Hassan. (2012). Effect of steam pretreatment on oil palm empty fruit bunch for the production of sugars. *Biomass and Bioenerg* 36: 280-288.
- Sun, Y. dan J. Cheng. (2002). Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: A Review. *Bioresour Technol* 83: 1-11.

- Tien, M. dan T.K. Kirk. (1984). Lignin-degrading enzyme from *Phanerochaete chrysosporium*: Purification, characterization, and catalytic properties of a unique H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-requiring oxygenase. *Proc Natl Acad Sci USA* 81: 2380-2384.
- Tuor, U., K. Winterhalter dan A. Fiechter. (1995). Enzymes of white rot fungi involved in lignin degradation and ecological determinants for wood decay. *J Biotechnol* 41:1-17.
- Wrolstad, R.E., T.E. Acree, E.A. Decker, M.H. Penner, D.S. Reid, S.J. Schwartz, C.F. Shoemaker, D. Smith dan P. Sporns (Eds.). 2004. *Handbook of Food Analytical Chemistry: Water, Proteins, Enzymes, Lipids, and Carbohydrates*, New Jersey: John Wiley & Sons, Hoboken.
- Zhu, L., J.P. O'Dweyer, V.S. Chang, C.B. Granda dan M.T. Holtzaple. 2008. Structural features affecting biomass enzymatic digestibility. *Bioresource Technol* 99: 3817-3828.