

**DELIGNIFIKASI TANDAN KOSONG KELAPA SAWIT DILANJUTKAN DENGAN
HIDROLISIS BERTAHAP UNTUK MENGHASILKAN GLUKOSA***DELIGNIFICATION EMPTY FRUIT BUNCHES CONTINUED WITH THE PALM
GRADUAL HYDROLYSIS TO PRODUCE GLUCOSE***Nasruddin**

Balai Riset dan Standardisasi Industri Palembang

e-mail: nas.bppi@gmail.com

Diajukan: 16 April 2012 ; Disetujui: 8 Juni 2012

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari proses delignifikasi lignin dari tandan kosong kelapa sawit untuk masing-masing perlakuan dengan berat 500 g dengan larutan NaOH pada konsentrasi 2%; 4%; 6%; dan 8%. Proses delignifikasi berlangsung pada temperatur uap panas dari proses sterilisasi dengan *autoclave* selama 50 menit; 75 menit; 100 menit; dan 125 menit. Hasil delignifikasi tandan kosong kelapa sawit dicuci dengan air pH 6 – 6,5. Setelah dicuci ditiriskan di atas kawat kasa selama 60 menit. Selanjutnya dilakukan fermentasi tahap pertama dengan kapang *Trichoderma viride* 20% w/w pada tandan kosong kelapa sawit dengan waktu 2 hari; 4 hari; 6 hari dan 8 hari. Fermentasi tahap kedua dengan kapang *Aspergillus niger* 20% w/w dengan waktu 2 hari; 4 hari; 6 hari dan 8 hari. Glukosa yang dihasilkan diuji berdasarkan SNI 01-2892-1992. Hasil uji menunjukkan delignifikasi tandan kosong kelapa sawit dengan larutan NaOH 8% bersamaan dengan proses sterilisasi selama 100 menit dapat menurunkan kadar lignin dari 22,158% menjadi 2,361%. Hidrolisis bertahap terhadap selulosa dari tandan kosong kelapa sawit dengan *Trichoderma viride* selama waktu fermentasi 2 hari tahap pertama, dilanjutkan dengan hidrolisis tahap kedua dengan *Aspergillus niger* selama 6 hari dapat menghasilkan glukosa 1,251 mg/L.

Kata Kunci : Tandan kosong kelapa sawit, delignifikasi, *Trichoderma viride*, *Aspergillus niger*, glukosa

Abstract

*This research aims to study the process of delignification lignin from oil palm empty fruit bunches for each treatment with 500 g weight with a solution of NaOH at concentration 2%, 4%, 6%, and 8%. Delignification process takes place at temperatures of steam sterilization by autoclave for 50 minutes, 75 minutes, 100 minutes, and 125 minutes. Delignification results of oil palm empty fruit bunches are washed with water pH 6 to 6.5. After being washed drained on gauze for 60 minutes. The performed the first stage fermentation with *Trichoderma viride* fungus 20% w/w of oil palm empty fruit bunches with a time of 2 days, 4 days, 6 days and 8 days. The second stage fermentation with *Aspergillus niger* 20% w/w with a time of 2 days, 4 days, 6 days and 8 days. The resulting glucose was tested based on SNI 01-2892-1992. The test results indicate delignification of palm empty fruit bunches with 8% NaOH solution in conjunction with the sterilization process for 100 minutes to reduce levels of lignin from 22.158% to 2.361%. Gradual hydrolysis of cellulose from oil palm empty bunches fruit bunches with *Trichoderma viride* fermentation time of 2 days during the first stage followed by a second phase hydrolysis with *Aspergillus niger* for 6 days to produce glucose 1.251 mg/L.*

Keywords : Oil palm empty fruit bunches, delignification, *Trichoderma viride*, *Aspergillus niger*, glucose.

PENDAHULUAN

Tandan kosong kelapa sawit sebagai bahan organik yang dihasilkan dari pabrik pengolahan kelapa sawit sering dianggap sebagai limbah. Tandan kosong kelapa sawit merupakan limbah padat yang dihasilkan dari proses pengolahan tandan buah segar (TBS) dengan jumlah 22-23% (Darnoko, 1992). Sebagai bahan organik tandan kosong kelapa sawit mengandung lignin 22,60%; selulosa 45,80%; hemiselulosa 71,80%; pentosa 25,90%; dan abu 1,60% (Purwito dan Anita, 2005). Menurut Darnoko (1993), Tandan kosong kelapa sawit mengandung 45,95% selulosa, 22,84% hemiselulosa, 16,49% lignin, 1,23% abu, 0,53% nitrogen, dan 2,41% minyak. Selulosa adalah senyawa karbon yang terdiri dari 1000 unit glukosa yang terikat oleh ikatan beta 1,4 glikosida dan dapat didekomposisi oleh berbagai organisme selulolitik menjadi senyawa karbon sederhana. Sedangkan lignin merupakan komponen limbah TKKS yang relatif sulit didegradasi. Senyawa ini merupakan polimer struktural yang berasosiasi dengan selulosa dan hemiselulosa (Venny, dan Astuti, 2010).

Sehubungan dengan tandan kosong kelapa sawit para peneliti telah banyak melakukan penelitian diantaranya: Uki *et al.*, (2008) telah melakukan penelitian pemanfaatan abu tandan kosong kelapa sawit sebagai sumber katalis (K_2CO_3) pada pembuatan biodiesel minyak jarak. Yoeswono *et al.*, (2007) telah melakukan penelitian pemanfaatan abu tandan kosong kelapa sawit sebagai katalis basa untuk pembuatan biodiesel dari minyak biji sawit melalui reaksi transesterifikasi dalam media methanol. Sibarani (2006) dengan bahan baku minyak kelapa juga melakukan sintesis biodiesel menggunakan katalis abu tandan kosong kelapa sawit.

Penelitian yang berkaitan dengan tandan kosong kelapa sawit sebagai bahan bakar telah juga dilakukan oleh Andayani dan Rina (2011), tandan kosong kelapa sawit dilakukan proses *pretreatment* dengan cara delignifikasi dengan larutan NaOH (1:5, 1:10 w

TKKS/v NaOH) dan fermentasi dengan *Aspergillus niger* (20%, 30% v/v), dan aerasi pada suhu 50 °C, pH 5 selama 9 hari dilanjutkan dengan fermentasi dengan suspensi *Zymomonas mobilis* 10% (v/v) menghasilkan ethanol 0,14% dan yield 0,29 g ethanol/g glukosa.

Proses delignifikasi ditujukan untuk menghilangkan senyawa lignin dengan menggunakan basa atau asam, sedangkan proses hidrolisis ditujukan untuk memotong rantai selulosa dengan bantuan kapang yang menghasilkan enzim menjadi glukosa. Menurut Fujita dan Harada (1991), selulosa hemiselulosa, dan lignin merupakan salah satu bahan lignoselulosa. Selulosa adalah senyawa kerangka yang menyusun 40–50% bagian kayu dalam bentuk selulosa mikrofibril, di mana hemiselulosa merupakan senyawa matriks yang terdapat di antara mikrofibril-mikrofibril selulosa.

Hidrolisis merupakan proses pemecahan polisakarida di dalam biomassa lignoselulosa, yaitu selulosa dan hemiselulosa menjadi monomer gula penyusunnya. Pada hidrolisis sempurna selulosa akan menghasilkan glukosa, sedangkan hemiselulosa menghasilkan beberapa monomer gula pentose (C_5) dan heksosa (C_6) (Novia *et al.*, 2011). Pada proses hidrolisis umumnya digunakan enzim yang dihasilkan dari kapang untuk menguraikan selulosa menjadi glukosa. Enzim lipase memiliki aktivitas yang tinggi dalam reaksi hidrolisis dan dalam kimia sintesis. Lipase dapat berperan sebagai biokatalis untuk reaksi-reaksi hidrolisis, esterifikasi, alkoholisis, asidolisis, dan aminolisis (Gandhi, 1997).

Penelitian ini dilakukan dengan cara delignifikasi tandan kosong kelapa sawit dengan NaOH di dalam *autoclave* pada suhu tinggi (121 °C) dengan tekanan 15 psi. Proses sterilisasi pada suhu tinggi bertujuan untuk mempercepat terjadinya reaksi kimia pada proses delignifikasi lignin yang mengikat selulosa pada tandan kosong kelapa sawit oleh NaOH melalui uap panas. Suhu tinggi yang dihasilkan dari uap panas pada proses delignifikasi dapat mempercepat terjadinya

pergerakan antar molekul-molekul NaOH dan molekul-molekul lignin yang mengikat selulosa. Penggunaan suhu tinggi yang tidak tepat dapat merusak reaktan (Lehninger, 1990). Untuk mendapatkan glukosa yang optimal dari selulosa hasil delignifikasi lignin dari tandan kosong kelapa sawit dilakukan melalui proses hidrolisis bertingkat dengan menggunakan *Aspergillus niger* dan kapang *Trichoderma viride*.

Aspergillus niger merupakan mikroorganisme yang dapat menghasilkan enzim amilase, selulase (Frasier dan Westhoff, 1981) dan amiloglukosidase (Blain, 1975). Enzim amilase dan selulase melalui proses fermentasi mempunyai kemampuan merombak selulase menjadi glukosa. Hardjo *et al.*, (1989) dari hasil penelitiannya mengungkapkan *Aspergillus niger* dalam media pertumbuhan yang mengandung molekul kompleks dapat menghasilkan enzim ekstraseluler seperti: α -amilase, β -amilase, glukoaamilase, protease dan selulase. Miselium *Aspergillus niger* merupakan limbah hasil fermentasi asam sitrat dalam jumlah besar (Rahayu, 2004). Sedangkan kapang *Trichoderma viride* yang akan digunakan pada hidrolisis selulosa dari tandan kosong kelapa sawit adalah salah satu jenis jamur yang bersifat selulolitik karena dapat menghasilkan selulase dan mempunyai kemampuan dapat memecah selulosa menjadi glukosa (Nasruddin *et al.*, 2002). *Trichoderma viride* merupakan kapang yang potensial untuk memproduksi selulase khususnya salinase dan CMC-ase (Satiawihardja *et al.*, 2000). Fardiaz (1992) mengatakan bahwa, *Trichoderma viride* dapat memproduksi antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan organisme lain selain enzim selulase yang dapat memecah selulosa.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan glukosa dari tandan kosong kelapa sawit melalui proses delignifikasi pada temperatur tinggi (121 °C) pada tekanan 15 psi dari uap panas yang dihasilkan dari proses sterilisasi dan dilanjutkan dengan hidrolisis

bertingkat dengan menggunakan kapang *Trichoderma viride* dan *Aspergillus niger*.

BAHAN DAN METODA

A. Bahan

Bahan yang digunakan untuk kegiatan penelitian ini terdiri dari: tandan kosong kelapa sawit, NaOH, air, *Trichoderma viride* dan *Aspergillus niger* dan bahan kimia untuk pengujian glukosa.

B. Peralatan

Peralatan yang digunakan untuk kegiatan penelitian ini adalah *autoclave*, fermentor, alat pengukur temperatur udara, neraca analitis, gelas ukur dan alat untuk pengujian kadar glukosa.

C. Metoda Penelitian

Tandan kosong kelapa sawit dikeringkan sampai kadar air mencapai 10%, selanjutnya dilakukan pengecilan ukuran sampai 80 mesh. Timbang tandan kosong kelapa sawit 500 g lalu didelignifikasi dengan larutan NaOH. Selanjutnya dilakukan sterilisasi di dalam *autoclave* pada temperatur 121 °C tekanan 15 psi. Hasil sterilisasi dicuci dengan air sampai pH 6 – 6,5. Setelah dicuci ditiriskan diatas kawat kasa lebih kurang 60 menit. Hasil tirisan difermentasi tahap pertama dengan kapang *Trichoderma viride* dan dilanjutkan fermentasi tahap ke dua dengan *Aspergillus niger*.

D. Rancangan Percobaan

Tandan kosong kelapa sawit dikeringkan sampai kadar air maksimum 10%. Timbang tandan kosong kelapa sawit (W_{TKS}) 500 g lalu didelignifikasi dengan larutan NaOH (2%; 4%; 6%; dan 8%) untuk masing-masing perlakuan 1000 mL. Selanjutnya dari masing-masing perlakuan disterilisasi selama (50 menit; 75 menit; 100 menit; dan 125 menit) pada temperatur 121 °C dengan tekanan 121 psi. Hasil sterilisasi dicuci dengan air sampai pH 6 – 6,5. Setelah dicuci ditiriskan diatas kawat kasa selama 60 menit. Setelah ditiriskan difermentasi dengan kapang *Trichoderma viride* 35% w/w dengan

waktu fermentasi 2 hari; 4 hari; 6 hari dan 8 hari. Selanjutnya difermentasi lagi pada tahap kedua dengan *Aspergillus niger* 35% w/w selama 2 hari; 4 hari; 6 hari dan 8 hari.

Masing-masing perlakuan diulang 2 kali, jika hasil anova menunjukkan signifikan dilanjutkan dengan uji Duncan New Multiple Range Test (DNMRT) pada α 5% menggunakan program stastika 7. Model linier dari rancangan percobaan dituliskan dengan persamaan berikut ini (Steel dan Torrie, 1991):

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \delta_k + \gamma_l + (\alpha\beta)_{ij} + (\alpha\delta)_{ik} + (\alpha\gamma)_{il} + (\beta\delta)_{jk} + (\beta\gamma)_{jl} + (\delta\gamma)_{kl} + (\alpha\beta\delta)_{ijk} + (\beta\delta\gamma)_{jkl} + (\alpha\beta\delta\gamma)_{ijkl} + \varepsilon_{ijkl} \dots\dots\dots(1)$$

Keterangan:

- μ = rata-rata repon
- α = pengaruh faktor C_{NaOH} taraf ke i
- β = pengaruh faktor t_s taraf ke j
- δ = pengaruh faktor t_{F1} taraf ke k
- γ = pengaruh faktor t_{F2} taraf ke l
- ijkl = galat percobaan

E. Parameter yang Diamati

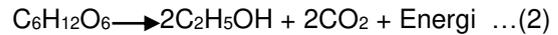
Peubah yang diamati meliputi penurunan kadar lignin dan peningkatan kadar glukosa dari masing-masing interaksi antar perlakuan delignifikasi yang dilakukan bersamaan dengan proses sterilisasi terhadap tandan kosong kelapa sawit dan hidrolisis dengan *Trichoderma viride* dan *Aspergillus niger*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

Hasil pengujian laboratorium terhadap kadar glukosa dari tandan kosong kelapa sawit yang didelignifikasi dengan larutan NaOH pada berbagai konsentrasi pada suhu uap panas yang dihasilkan dari proses sterilisasi di dalam autoclave dan dilanjutkan dengan proses hidrolisis bertahap dengan kapang *Trichoderma viride* pada tahap pertama dan *Aspergillus niger* pada tahap kedua diperlihatkan pada gambar 1, 2, 3 dan Gambar 4. Secara teoritis, 1 g glukosa akan menghasilkan 0,51 g etanol bila

gula difermentasi menjadi etanol sesuai dengan persamaan reaksi berikut (Ega, 2008).

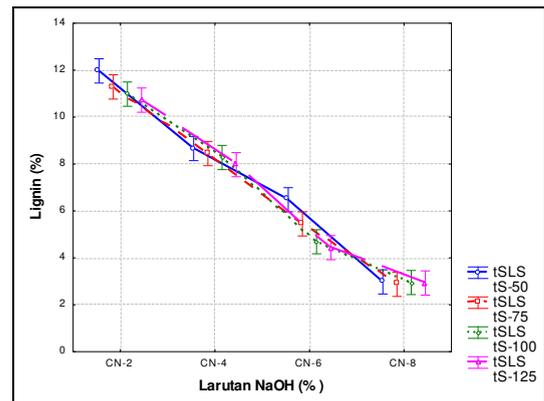


Hasil uji Duncan New Multiple Range Test (DNMRT) pada α 5% dengan program statistika 7 untuk dari masing-masing interaksi antar perlakuan mempunyai perbedaan yang cukup signifikan seperti diperlihatkan pada Gambar 1, Gambar 2 dan Gambar 3.

B. Pembahasan

1. Delignifikasi Lignin dari Tandan Kosong Kelapa Sawit dengan NaoH Bersamaan dengan Proses Sterilisasi

Hasil uji lignin tandan kosong kelapa sawit menunjukkan, tandan kosong kelapa sawit setelah dilakukan proses delignifikasi yang dilakukan bersamaan dengan proses sterilisasi pada berbagai perlakuan dapat menurunkan persentase kandungan lignin yang mengikat selulosa. Hasil uji lignin dari masing-masing interaksi antar perlakuan terhadap TKKS berdasarkan uji DNMRT mempunyai perbedaan yang cukup signifikan seperti diperlihatkan pada Gambar 1 berikut ini:



Gambar 1. Delignifikasi bersamaan dengan sterilisasi tandan kosong kelapa sawit untuk menurunkan lignin

Hasil analisis lignin dari berbagai interaksi antar perlakuan pada berbagai konsentrasi larutan NaOH dan pada berbagai waktu sterilisasi seperti terlihat pada Gambar 1 menunjukkan telah

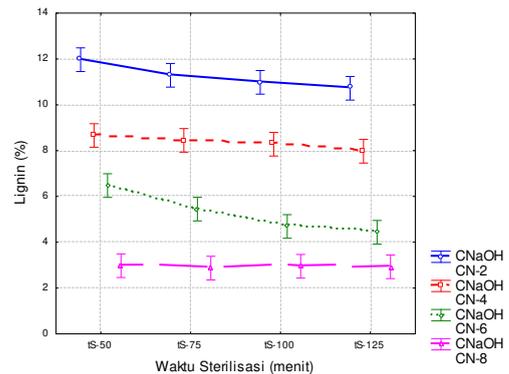
terjadi kecenderungan penurunan kandungan lignin akibat dari interaksi proses delignifikasi yang dilakukan secara bersamaan dengan proses sterilisasi. Terjadinya penurunan kandungan lignin yang mengikat selulosa yang terdapat pada tandan kosong kelapa sawit hal ini disebabkan oleh adanya kemampuan larutan NaOH yang dibantu oleh uap panas yang dihasilkan dari proses sterilisasi pada saat yang bersamaan untuk memotong senyawa lignin. Lignin terdapat pada serat tandan kelapa sawit berfungsi untuk melindungi selulosa dari degradasi oleh adanya pengaruh fisik, kimia, atau biologi.

Lignin yang terdapat pada tandan sawit berfungsi sebagai perekat yang dapat mengikat sel-sel agar menjadi kokoh dari pengaruh lingkungan. Keberadaan lignin dalam dinding sel berkaitan langsung dengan selulosa yang berfungsi untuk memperkuat sel. Struktur bangun lignin terdiri dari ikatan rantai eter C-O-C dan ikatan karbon C-C. Ikatan antar unit yang terdapat pada lignin *hardwood* dan lignin *softwood* membentuk struktur β -O-4 (Gullichsen dan Paulapuro 2004). Konsentrasi lignin tertinggi terdapat di dalam lamella tengah dan akan semakin mengecil pada bagian lapisan dinding sekunder (Haygreen dan Bowyer 1989; Sjostrom 1995).

Pelepasan lignin yang mengikat selulosa tanpa dilakukan dengan proses delignifikasi baik secara kimiawi maupun secara fisik yang hanya berdasarkan pada proses alami akan berlangsung sangat lambat dengan waktu yang cukup lama. Lignin mempunyai kemampuan secara fisik untuk membungkus mikrofibril selulosa dalam suatu matriks hidrofobik dan terikat secara kovalen baik di selulosa maupun pada hemiselulosa (Said, 1994).

Hasil pengujian terhadap penurunan nilai lignin yang mengikat selulosa oleh adanya proses delignifikasi dengan NaOH secara bersamaan, untuk nilai lignin terendah (2,631%) didapatkan dari interaksi antar perlakuan delignifikasi dengan larutan NaOH 8%, dengan waktu sterilisasi selama 100 menit. Sedangkan untuk nilai lignin tertinggi (13,357%) didapat dari perlakuan delignifikasi

dengan larutan NaOH 2% dengan waktu sterilisasi selama 50 menit (Gambar 1 dan Gambar 2).



Gambar 2. Pengaruh waktu sterilisasi bersamaan dengan delignifikasi tandan kosong kelapa sawit untuk menurunkan lignin

Jika dilihat dari kenaikan konsentrasi larutan NaOH (Gambar 1) dan waktu sterilisasi (Gambar 2) maka peningkatan konsentrasi larutan NaOH untuk mendelignifikasi lignin dan lamanya waktu sterilisasi berdasarkan uji DNMRT sangat berpengaruh signifikan terhadap terjadinya proses pelepasan lignin yang mengikat selulosa pada tandan kosong kelapa sawit. Penurunan nilai lignin yang telah dilakukan pada penelitian ini untuk perlakuan delignifikasi dengan larutan NaOH 8%, dengan waktu sterilisasi selama 100 menit lebih rendah dari hasil penelitian oleh Sun *et al.*, (1999) dan Ibrahim (2003), yaitu sebesar 4,30-7,55 gram/500 ml.

Hal ini menunjukkan, proses delignifikasi bersamaan dengan sterilisasi dengan larutan NaOH 8%, dengan waktu sterilisasi selama 100 menit yang telah dilakukan dapat menurunkan nilai lignin yang terkandung di dalam tandan kosong kelapa sawit. Dimana lignin yang terkandung di dalam tandan kosong kelapa sawit yang digunakan untuk kegiatan penelitian ini dari hasil uji laboratoriu adalah 22,158%. Tandan kosong kelapa sawit berasal dari kebun yang sudah berumur 19 tahun.

Melalui perlakuan delignifikasi dengan larutan NaOH 8% dan sterilisasi selama 100 menit telah terjadi penurunan lignin cukup signifikan yaitu 8,419 kali. Berdasarkan hasil uji ANOVA

pada $\alpha=0,05$ dapat dilihat faktor delignifikasi dengan NaOH 8%, dan faktor lamanya waktu sterilisasi 100 menit, dan dari interaksi antara kedua faktor perlakuan sangat berpengaruh nyata terhadap penurunan nilai lignin. Hal ini terlihat dari hasil uji statistik dengan nilai $P > F$ memiliki nilai lebih kecil $\alpha = 0,05$. Berdasarkan uji Duncan, kadar lignin yang tersisa pada tandan kosong kelapa sawit akibat dari adanya proses delignifikasi dengan larutan NaOH 8% dan waktu sterilisasi selama 100 menit nilai lignin yang tersisa lebih kecil (2,631%) dari semua perlakuan, dan sangat berbeda nyata antar interaksi perlakuan. Faktor konsentrasi NaOH 8% dan waktu sterilisasi selama 100 menit memberikan efek sangat nyata terhadap penurunan nilai lignin jika dibandingkan dengan perlakuan yang lainnya.

Kadar lignin yang rendah dari hasil proses delignifikasi dan sterilisasi diduga karena aktivitas larutan NaOH dan proses sterilisasi dengan uap panas secara bersamaan untuk mendegradasi struktur ikatan lignin pada selulosa berlangsung sempurna. Penurunan nilai lignin terlihat dari hasil uji laboratorium untuk semua perlakuan pada Gambar 1 dan Gambar 2. Kadar lignin yang tinggi yang terdapat pada tandan kosong kelapa sawit akan menghalangi kinerja enzim untuk menguraikan selulosa menjadi glukosa, karena lignin dapat melindungi dan memperkuat ikatan selulosa dari serangan enzim dan dari pengaruh perubahan lingkungan. Salah satu faktor yang menyebabkan lignin sulit terdelignifikasi pada perlakuan delignifikasi dengan larutan NaOH < 8% dengan waktu sterilisasi < 100 menit diduga dari ikatan yang kuat antar molekul-molekul lignin. Dimana ikatan yang kuat antar molekul dapat menghambat pengaruh dari luar termasuk enzim untuk mendegradasi selulosa menjadi senyawa yang lebih sederhana. Semakin tinggi berat molekul suatu persenyawaan kimia maka ikatan antar molekul atom karbon akan lebih kokoh dan sangat kompleks. Beckman dalam Santoso (1995) menyatakan, lignin merupakan senyawa kimia bivalen yang menyebabkan berat molekul lignin

lebih besar dari ekuivalennya atau dua kali berat ekuivalennya. Semakin banyak gugus $-OCH_3$ yang terkandung di lignin maka lignin akan semakin sukar untuk larut di dalam air.

Hasil analisis lignin dari perlakuan delignifikasi dengan larutan NaOH 4% selama waktu sterilisasi 50 menit, lignin yang tersisa pada tandan kosong kelapa sawit 9,932% lebih besar jika dibandingkan dengan perlakuan delignifikasi dengan larutan NaOH 6% dengan waktu sterilisasi yang sama yaitu 50 menit dengan sisa lignin pada tandan kosong kelapa sawit 8,273%. Demikian juga dengan perlakuan delignifikasi dengan larutan NaOH 8% waktu sterilisasi selama 50 menit lignin yang tersisa hanya 3,806% lebih kecil jika dibandingkan dengan perlakuan delignifikasi dengan larutan NaOH 4% dengan waktu sterilisasi selama 50 menit dan dengan delignifikasi dengan NaOH selama waktu sterilisasi 50 menit.

Perbedaan sisa lignin dari berbagai konsentrasi perlakuan larutan NaOH menunjukkan bahwa, kenaikan konsentrasi larutan NaOH akan diiringi oleh penurunan kandungan lignin yang mengikat selulosa pada tandan kosong kelapa sawit (Gambar 1). Kemampuan proses delignifikasi dengan larutan NaOH, hal ini disebabkan larutan NaOH dapat merombak dan memotong struktur lignin pada bagian kristalin dan amorf untuk memisahkan sebagian lignin dan hemiselulosa serta dapat menyebabkan terjadinya pengembangan struktur selulosa (Enarni, 1983; Marsdan dan Grey, 1986; Gunam dan Antara 1999). Peningkatan konsentrasi larutan NaOH dari 2%, 4%, 6%, hingga 8% dapat menyebabkan kemampuan untuk melarutkan lignin akan semakin bertambah, dengan demikian pada proses hidrolisis dengan menggunakan *Trichoderma viride* dan dengan *Aspergillus niger* selulosa akan semakin mudah dihidrolisisnya menjadi glukosa baik untuk pertumbuhannya maupun untuk memproduksi enzim selulase.

Pada interaksi antar perlakuan delignifikasi tandan kosong kelapa sawit dengan larutan NaOH 2% waktu sterilisasi selama 50 menit, lignin yang

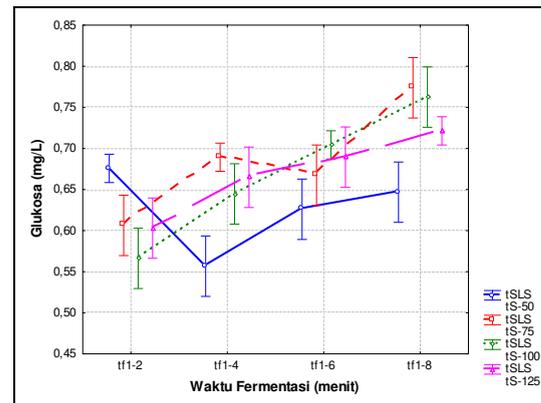
tersisa pada tandan kosong kelapa sawit masih cukup tinggi (13,652%). Hal ini disebabkan oleh kemampuan NaOH dengan konsentrasi yang rendah (2%) dan waktu sterilisasi tidak cukup lama (50 menit) untuk mendegradasi sejumlah lignin (22,158%) yang ada di dalam tandan kosong kelapa sawit. Pada Gambar 1 dan Gambar 2 terlihat, semakin tinggi konsentrasi larutan NaOH dan lamanya waktu sterilisasi diikuti juga oleh penurunan nilai lignin yang terdapat di dalam tandan kosong kelapa sawit.

Kenaikan konsentrasi larutan NaOH dapat memicu terjadinya percepatan proses lignifikasi dengan sempurna, dan lamanya waktu sterilisasi dapat menyebabkan lamanya waktu kontak antara larutan NaOH dengan tandan kosong kelapa sawit. Lamanya waktu kontak bersamaan dengan proses sterilisasi yang menghasilkan uap panas akan memicu terjadinya percepatan pergerakan antar molekul-molekul NaOH dengan molekul-molekul lignin yang mengikat selulosa.

2. Hidrolisis Bertahap Selulosa dari Tandan Kosong Kelapa Sawit

Hidrolisis bertahap terhadap selulosa menjadi glukosa dari tandan kosong kelapa sawit dengan kapang *Trichoderma viride* dan *Aspergillus niger* pada berbagai perlakuan waktu fermentasi, glukosa yang dihasilkan dari hasil uji DNMR memiliki perbedaan yang cukup signifikan antar perlakuan. Proses hidrolisis selulosa dengan bantuan kapang *Trichoderma viride* bertujuan untuk merubah selulosa menjadi glukosa. *Trichoderma viride* termasuk kelompok mikroorganisme selulolitik yang sangat potensial untuk menghidrolisis selulosa menjadi glukosa melalui proses fermentasi. Perlakuan delignifikasi substrat tandan kosong kelapa sawit menggunakan NaOH pada berbagai konsentrasi perlakuan (2%, 4%, 6%, dan 8%) yang diiringi dengan proses sterilisasi, dapat mempermudah proses hidrolisis selulosa menjadi glukosa oleh *Trichoderma viride* pada tahap pertama (Gambar 3) dan hidrolisis tahap kedua oleh *Aspergillus niger* (Gambar 4). Perbedaan glukosa dari hasil proses

hidrolisis diperlihatkan pada Gambar 3 dan Gambar 4 berikut ini :

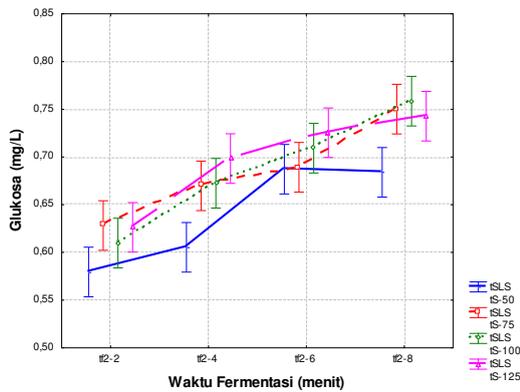


Gambar 3. Pengaruh waktu fermentasi bertahap dengan *Trichoderma viride* selulosa dari tandan kosong kelapa sawit terhadap glukosa

Perlakuan delignifikasi substrat tandan kosong kelapa sawit menggunakan NaOH pada berbagai konsentrasi perlakuan (2%, 4%, 6%, dan 8%) yang diiringi dengan proses sterilisasi, dapat mempermudah proses hidrolisis selulosa menjadi glukosa oleh *Trichoderma viride* pada tahap pertama (Gambar 3) dan hidrolisis tahap kedua oleh *Aspergillus niger* (Gambar 4). Hal ini disebabkan oleh semakin tinggi konsentrasi larutan NaOH dan lamanya waktu sterilisasi kemampuan untuk melarutkan lignin dan merusak struktur selulosa akan semakin bertambah, yang mengakibatkan serat-serat selulosa akan semakin terbuka sehingga memudahkan mikroorganisme untuk melakukan proses hidrolisis untuk pertumbuhannya maupun untuk memproduksi enzim selulase (Gunam, 1997; Gunam *et al.*, 2004; dan Lee *et al.*, 2009).

Hasil uji glukosa yang dihasilkan dari proses delignifikasi, sterilisasi, hidrolisis tahap pertama oleh *Trichoderma viride*, dan hidrolisis tahap kedua oleh *Aspergillus niger* pada berbagai waktu fermentasi menghasilkan glukosa tertinggi (1,251 mg/L) dari perlakuan delignifikasi dengan larutan NaOH 8% bersamaan dengan sterilisasi selama 50 menit dengan waktu hidrolisis tahap satu fermentasi selama 2 hari dan hidrolisis tahap kedua fermentasi selama 6 hari. Jika dilihat dari proses hidrolisis tahap satu oleh *Trichoderma viride*

(Gambar 3), dan hidrolisis tahap kedua (Gambar 4) maka terlihat bahwa pengaruh delignifikasi dengan larutan NaOH pada berbagai interaksi antar perlakuan (Gambar 1) dan pengaruh waktu sterilisasi (Gambar 2) dari uji DNMR sangat berpengaruh signifikan terhadap kinerja *Trichoderma viride* dan *Aspergillus niger* untuk merombak selulosa menjadi glukosa. *Trichoderma viride* merupakan salah satu dari jenis kapang yang dapat menghasilkan tiga jenis enzim selulase yaitu endo- β -1,4-glukanase, ekso- β -1,4-glukanase dan β -glukosi-dase.



Gambar 4. Pengaruh waktu fermentasi bertahap dengan *Aspergillus niger* selulosa dari tandan kosong kelapa sawit terhadap glukosa

Data hasil uji glukosa (Gambar 3 dan Gambar 4) dari masing-masing perlakuan memperlihatkan, aktivitas enzim selulase untuk merombak selulosa menjadi glukosa berdasarkan hasil uji terdapat nilai glukosa terendah (0,276 mg/L) dari perlakuan delignifikasi dengan larutan NaOH 2% bersamaan dengan waktu sterilisasi 50 menit, yang dihidrolisis dengan *Trichoderma viride* dan *Aspergillus niger* masing-masing waktu fermentasi 2 hari. Rendahnya glukosa yang dihasilkan, hal ini disebabkan oleh masih tingginya kadar lignin yang terdapat pada tandan kosong kelapa sawit, dimana pada perlakuan ini kandungan lignin masih cukup tinggi yaitu 13,570% (Gambar 1). Kandungan glukosa yang dihasilkan dari masing-masing perlakuan dipengaruhi oleh jumlah lignin yang masih tersisa pada tandan kosong kelapa sawit. Perlakuan delignifikasi dengan larutan NaOH 2% bersamaan dengan waktu sterilisasi 50

menit, kemampuan NaOH untuk mendelignifikasi lignin yang melindungi selulosa mempunyai aktivitas yang sangat rendah dan waktu sterilisasi yang digunakan pada proses delignifikasi ini cukup singkat, sehingga interaksi antara molekul-molekul NaOH dan molekul-molekul lignin tidak berlangsung sempurna. Hal ini berpengaruh secara langsung terhadap proses hidrolisis selulosa menjadi glukosa yang dilakukan oleh *Trichoderma viride* dan *Aspergillus niger*.

Kadar glukosa yang dihasilkan seperti terlihat pada Gambar 3 dan Gambar 4 berdasarkan analisis statistik mempunyai perbedaan yang sangat signifikan antar interaksi dari masing-masing perlakuan. Dari hasil uji statistik dengan nilai $P > F$ memiliki nilai lebih kecil $\alpha = 0,05$. Hasil uji Duncan menunjukkan, untuk kadar glukosa yang dihasilkan dari masing-masing interaksi antar perlakuan delignifikasi dengan larutan NaOH 8% bersamaan dengan sterilisasi selama 50 menit dengan waktu hidrolisis tahap satu fermentasi selama 2 hari dan hidrolisis tahap kedua fermentasi selama 6 hari mempunyai perbedaan yang cukup signifikan.

Lignin yang terdapat pada tanaman berfungsi untuk mempersatukan dan melindungi selulosa. Selulosa merupakan nutrisi yang dapat dirubah menjadi glukosa oleh enzim yang dihasilkan dari *Trichoderma viride* dan *Aspergillus niger*. Suhartono (1989) mengatakan, nutrisi merupakan salah satu media fermentasi yang akan dihabiskan selama berlangsungnya proses fermentasi sampai menghasilkan aktivitas enzim yang optimal, seiring dengan berkurangnya cadangan nutrisi maka produksi enzim dan pertumbuhan mikroorganisme akan mengalami penurunan.

Hasil analisis glukosa seperti terlihat pada Gambar 3 dan Gambar 4 menunjukkan, adanya kecenderungan kadar glukosa terus mengalami peningkatan sampai pada titik optimal seiring dengan menurunnya kadar lignin yang terdapat pada tandan kosong kelapa sawit (Gambar 1). Hal ini menunjukkan, aktivitas *Trichoderma*

viride dan *Aspergillus niger*, dalam menghidrolisa selulosa menjadi komponen-komponen glukosa maupun selobiosa meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi selulosa dan lamanya waktu fermentasi. Waktu fermentasi akan memberikan kesempatan *Trichoderma viride* dan *Aspergillus niger* untuk melakukan proses hidrolisis guna merombak struktur selulosa menjadi glukosa. Semakin lama waktu fermentasi yang mencapai pada titik optimum maka interaksi antara *Trichoderma viride* dan *Aspergillus niger* dengan selulosa akan lebih optimum. Waktu fermentasi yang digunakan pada dua tahap hidrolisis ini adalah 2 hari; 4 hari; 6 hari; dan 8 hari. Jika dilihat dari glukosa yang dihasilkan maka fermentasi yang digunakan untuk fermentasi tahap ke-satu adalah selama dua hari dan fermentasi tahap ke-dua selama enam hari (Gambar 4).

Selulosa yang terdapat pada tandan kosong kelapa sawit merupakan substrat yang cukup tinggi yang dapat digunakan oleh enzim selulase sebagai sumber karbon, untuk pertumbuhan, dan mendapatkan energi. Said (1987) menyatakan, kadar dekstrosa (jumlah total gula pereduksi) lebih tinggi dapat diperoleh dengan menggunakan substrat yang lebih tinggi.

Perlakuan delignifikasi terhadap tandan kosong kelapa sawit dengan larutan NaOH 8% bersamaan dengan sterilisasi selama 50 menit dapat mendelignifikasi lignin sampai 3,806% sehingga memudahkan *Trichoderma viride* dan *Aspergillus niger* merombak selulosa dan memproduksi lebih banyak enzim selulase. Selain itu dengan berkurangnya lignin yang melindungi selulosa pada TKKS maka akan semakin banyak substrat selulosa yang dapat dihidrolisis oleh enzim selulase menjadi monomernya dan kadar glukosa akan meningkat. Sternberg (1976) dari hasil penelitiannya menyatakan, produksi selulase dapat diperoleh lebih besar dalam fermentasi seiring dengan meningkatkan konsentrasi selulosa dari 0,75% menjadi 2%. Glukosa tertinggi (1,251 mg/L) diperoleh dari perlakuan waktu fermentasi 2 hari tahap pertama,

dan 6 hari fermentasi tahap kedua, berarti waktu fermentasi berpengaruh sangat signifikan terhadap hasil glukosa. Lamanya waktu fermentasi berdasarkan hasil penelitian ini menunjukkan bahwa, semakin lama waktu fermentasi maka proses hidrolitik selulosa menjadi glukosa oleh enzim selulase yang diproduksi *Trichoderma viride* dan *Aspergillus niger* akan semakin tinggi. Detroy *et al* (1981) dalam Wood (1998) mengatakan selama waktu fermentasi berlangsung, mikroorganisme penghasil selulase mempunyai kemampuan untuk memproduksi 2-3 kali dari kadar gula reduksi pertama.

KESIMPULAN

1. Delignifikasi tandan kosong kelapa sawit dengan larutan NaOH 8% bersamaan dengan proses sterilisasi selama 100 menit dapat menurunkan kadar lignin dari 22,158% menjadi 2,361%.
2. Hidrolisis bertahap terhadap selulosa dari tandan kosong kelapa sawit dengan *Trichoderma viride* selama waktu fermentasi 2 hari tahap pertama dilanjutkan dengan hidrolisis tahap kedua dengan *Aspergillus niger* selama 6 hari dapat menghasilkan glukosa 1,251 mg/L

DAFTAR PUSTAKA

- Andayani dan Rina. (2011). Pembuatan Bioethanol dari Tandan Kosong Kelapa Sawit Melalui Proses Fungal Treatment oleh *Aspergillus niger* dan Fermentasi oleh *Zymomonas Mobilis*. <http://digilib.its.ac.id>. Diakses tanggal 9 Februari 2012.
- Badan Standardisasi Nasional. (1995). Cara uji glukosa sesuai dengan SNI 01-2892-1992. Jakarta: BSN
- Blain, J.A. (1975). *Industrial Enzyme Production*. London: Edward Arnold.
- Darnoko. (1992). Potensi Pemanfaatan Limbah Lignoselulosa Kelapa Sawit Melalui Biokonversi. *Berita Pen. Perkeb* (2) : 85-97.

- Darnoko, Z., Poeloengan, dan Anas. I. (1993). Pembuatan Pupuk Organik Dari Tandan Kosong Kelapa Sawit. *Buletin PPKS* 1 (1).
- Enari, T.M. (1983). *Microbial Cellulase*. New York: Applied Science Publisher.
- Fardiaz, S. (1992). *Mikrobiologi Pangan I*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Fujita, M. and Harada. H. (1991). *Wood and Cellulosic Chemistry*. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Frazier., Westhoff. (1981). *Food Microbiology*. New York: Tata Mc Graw Hill Publ. Co. Ltd.
- Gandhi, N. (1997). Application of Lipases. *Journal American Oil Chemist Society* 74(6): 621-629.
- Gullichsen, J., dan Paulapuro, H. (2000). *Chemical Pulping*. USA: TAPPI Press.
- Gunam, I.B.W. (1997). Perlakuan Kimiawi Ampas Tebu Tanpa Pencucian Sebagai Perlakuan Pendahuluan Untuk Hidrolisis Enzimatis Selulosanya (Tesis). Yogyakarta: Program Pasca Sarjana UGM.
- Gunam, I.B.W., N.S, Antara. (1999). Study on Sodium Hydroxide Treatment of Corn Stalk to Increase Its Cellulose Saccharification Enzymatically by Using Culture Filtrate of *Trichoderma reesei*. *J. Agric. Technol. J.* 5 (1): 34-38.
- Gunam, I.B.W., Hardiman, T. Dan Utami. (2004). Chemical Pretreatments on Bagasse to Enhance Hydrolysis of Its Cellulose Enzymatically., Sapporo: The 3th Hokkaido Indonesian Student Association Scientific meeting.
- Hardjo, S., Indrasti, N.S., and Bantacut, T. (1989). Biokonversi. Pemanfaatan Limbah Industri Pertanian. Bogor: PAU Pangan dan Gizi IPB.
- Haygreen, J.G., dan Bowyer, J.L. (1989). *Hasil Hutan dan Ilmu Kayu Suatu Pengantar*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Ibrahim, M.N.M., and Chuah, S.B. (2003). Characterization of Lignin Precipitated From The Soda Black Liquor of Oil Palm Empty Fruit bunch Fibers by Various Mineral Acids. *AJSTD* 21 (1): 57-67.
- Lee, S.H., Doherty, T.V., Linhardt, R.J., and Dordick, J.S. (2009). Ionic Liquid-Mediated Selective Extraction of Lignin From Wood Leading to Enhanced Enzymatic Cellulose Hydrolysis. *Biotechnol. and Bioeng* 102 (5) :1368-1376.
- Lehninger and Albert. L. (1990). *Dasar-dasar Biokimia Jilid 1*. Jakarta: Erlangga.
- Marsden, W.L and Gray, P.P. (1986). Enzymatic Hydrolysis of Cellulases in Lignocellulosic Material. *Critical Rev. in Biotechnol* (3): 235-276.
- Nasruddin, Priyanto, G., dan Hamzah, B. (2009). Pengaruh Delignifikasi Daun Nilam (*Pogostemon Cablin Benth*) dengan Larutan NaOH dan Fermentasi dengan Kapang *Trichoderma viride* terhadap Minyak Hasil Penyulingan. *Jurnal Riset Industri Online* 3 (3).
- Novia, Faizal, M., Ariko, M.F., Yogamina, D.H. (2011). Hidrolisis Enzimatis dan Fermentasi TKKS yang Didelignifikasi dengan Asam Sulfat dan NaOH untuk Memproduksi Etanol. Prosiding Seminar Nasional AVoER ke-3.
- Purwito dan Anita, F.E.S. (2005). *Pemanfaatan Limbah Sawit dan Asbuton Untuk Bahan Pencegah Serangan Rayap Tanah*. (Kolokium dan Open House). Pusat Penelitian dan Pengembangan Pemukiman Badan Penelitian dan Pengembangan Departemen Pekerjaan Umum.
- Rahayu, G. (2004). Mikroorganisme Eukariota; Cendawan. Makalah dalam Penelitian Mikrobiologi Dosen PTN se-Kalimantan dan Nusa Tenggara. Bogor: Departemen Biologi FMIPA IPB dan Bagian Proyek Peningkatan Kualitas Sumber Daya Manusia
- Sa'id, E.G. (1987). *Bioindustri Penerapan Teknologi Fermentasi*. Bogor: PAU Bioteknologi IPB.
- Sa'id, E.G. (1994). *Penanganan dan Pemanfaatan Limbah Industri*

- Kelapa Sawit*. Bogor: Badan Kerjasama Pusat Studi Lingkungan.
- Satiawihardja, B., Sunarmani, dan Rosyana, E. (2000). Pemanfaatan Kulit Pisang untuk Produksi Selulase. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian* 10 (1): 33-39.
- Santoso, A. (1995). Pencirian Isolat Lignin dan Upaya Menjadikannya Sebagai Bahan Perikat Kayu Lapis (Tesis). Bogor: Program Pasca Sarjana IPB.
- Sibarani, J. (2006). Pemanfaatan Abu Tandan Kosong Sawit Sebagai Sumber Katalis Basa (K_2CO_3) pada Pembuatan Biodiesel Minyak Kelapa.
- Steel, R.G.D., dan Torrie, J.H. (1991). *Prinsip dan Prosedur Statistika Suatu Pendekatan Biometrik*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka.
- Sternberg, D. (1976). *Production of Cellulase by Trichoderma viride*. In *Enzymatic Conversion of Cellulosic Materails : Technology and Applications*. New York: John Willey and Sons, Inc.
- Suhartono, M.T. (1989). *Enzim dan Bioteknologi*. Bogor: IPB
- Sun, R.C., Tomkinson, J. dan Bolton, J. (1999). Effect of Precipitation pH on The Physico-chemical Properties of The Lignins Isolated From The Black Liquor of Oil Palm Empty Fruit Bunch Fiber Pulping. *J. Poly. Deg. Sta.* 1 (63) : 195-200.
- Uki, Y., Yoeswono, T.D. Wahyuningsih, dan Tahir, I. (2008). Pemanfaatan Abu Tandan Kosong Sawit Sebagai Sumber Katalis Basa (K_2CO_3) Pada Pembuatan Biodiesel Minyak Jarak (*Ricinus communis*). Makalah Seminar Nasional Kimia XVIII. Yogyakarta: Jurusan Kimia FMIPA UGM.
- Venny, A.N dan Astuti, L.Y. (2010). *Pemanfaatan Tandan Kosong Kelapa Sawit Sisa Media Jamur Merang (Volvariella volvacea) sebagai Pupuk Organik dengan Penambahan Aktivator Effective Microorganism EM-4*. <http://digilib.its.ac.id>.
- Wood, B.J.B. (1998). *Microbiology of fermented Foods 2th*. London: Blackie Academic and Profesional.
- Yoeswono, Tahir, I., dan Triyono. (2007). *The Use of Ash of Palm Empty Fruit Bunches as a Source of Base Catalyst for Synthesis of Biodiesel from Palm Kernel Oil*, Proc. of the 1st International Conference on Chemical Sciences. Yogyakarta.