

KONVERSI SELULOSA TANDAN KOSONG SAWIT (TKS) MENJADI ETANOL

Rakhman Sarwono ^{a1}, Eka Triwahyuni ^a, Yosi Aristiawan ^a, Hendris Hendarsyah Kurniawan ^a,
Trisanti Anindyawati ^b

^aPusat Penelitian Kimia-LIPI, Kawasan PUSPIPTEK, Serpong-Tangerang Selatan 15314

^bPusat Penelitian Bioteknologi-LIPI, Jl. Raya Bogor Km 46, Cibinong, Bogor 16911

¹ rakh_sarwono@yahoo.com

Diterima : 10 Maret 2014, Revisi akhir : 5 Mei 2014, Disetujui terbit : 30 Mei 2014

CELLULOSE CONVERSION OF OIL PALM EMPTY FRUIT BUNCH (EFB) INTO ETHANOL

ABSTRACT

A serious global energy crisis is thought to be originated from the imbalance rapid consumption and the non-renewable nature of the fossil fuels. A potential, yet promising route for diminishing this problem might involve rapid conversion of organic waste and biomass into fuels as an alternative. Oil-palm empty fruit bunch (EFB) is the waste from the oil palm plantation which abundant amount of lignocellulosic EFB biomass. EFB biomass was used as raw material of the second generation of bioethanol production. EFB was converted into ethanol through enzymatic hydrolysis and fermentation simultaneously. Cellulose waste was then turned into glucose by enzymatic saccharification and finally fermented into ethanol. The experiment of 20 liter broth resulted in ethanol concentration of about 7.93% (w/w). Conversion of cellulose into glucose was about 60.02%, and conversion of glucose into ethanol was about 88.44%. Following distillation, ethanol of 1970 mL was obtained at a concentration of 63% (v/v).

Keywords: EFB, saccharification, fermentation, glucose, ethanol

ABSTRAK

Adanya krisis energi minyak bumi secara global disebabkan oleh ketimpangan antara konsumsi dan produksi minyak bumi. Guna mengimbangi ketimpangan tersebut, maka dilakukan konversi limbah organik dan biomassa menjadi bahan bakar secara tepat dan cepat. Tandan Kosong Sawit (TKS) merupakan limbah dari perkebunan sawit yang melimpah jumlahnya. Penelitian etanol generasi kedua berbahan baku biomassa lignoselulosa dilakukan melalui proses sakarifikasi selulosa menjadi glukosa secara enzimatik dan fermentasi glukosa menjadi etanol. Berdasarkan hasil yang diperoleh dari 20 liter hidrolisat didapat konsentrasi etanol sebesar 7,93% (b/b). Hasil konversi selulosa menjadi glukosa sebesar 60,02%, sedangkan konversi glukosa menjadi etanol sebesar 88,44%. Setelah dilakukan distilasi didapatkan etanol sebanyak 1970 mL dengan konsentrasi 63% (v/v).

Kata kunci: TKS, sakarifikasi, fermentasi, glukosa, etanol

PENDAHULUAN

Selulosa merupakan komponen paling banyak yang terdapat pada tumbuhan. Selulosa bisa terdapat pada batang, akar, daun, dan buah. Salah satu biomassa lignoselulosa yang melimpah di Indonesia adalah limbah dari perkebunan sawit. Produksi minyak sawit (CPO) Indonesia

meningkat setiap tahunnya. Menurut data dari Direktorat Jenderal Perkebunan produksi tahun 2010 sebesar 21,958 juta ton meningkat pada tahun 2012 sebesar 23,52 juta ton (angka sementara) dan estimasi pada tahun 2013 sebesar 24,43 juta ton. Tandan Kosong Sawit (TKS) merupakan limbah dari buah sawit setelah buahnya dirontohkan. Setiap satu ton Tandan Buah Segar (TBS) yang

diproses di pabrik pengolahan minyak sawit, akan dihasilkan biomassa lignoselulosa dalam bentuk batang pohon sebanyak 7 ton, pelepah 26 ton dan TKS 0,23 ton (Yunus dkk., 2010). Berat kering TKS adalah sekitar 8% dari berat tandan buah segar (TBS), sedangkan satu batang pohon sawit akan menghasilkan satu pelepah baru setiap tiga minggu sekali (Sheil dkk., 2009). Pelepah yang dihasilkan dari setiap hektar kebun sawit adalah sekitar 10,88 ton (Hanim dkk., 2010).

Biomassa berbasis lignoselulosa terdiri dari tiga polimer yaitu selulosa, hemiselulosa dan lignin (Perez dkk., 2002) merupakan substrat yang cukup kompleks karena kandungan di dalamnya antara lain polisakarida, zat ekstraktif dan senyawa organik lainnya (Costello dan Chum, 1998). Polisakarida merupakan bagian terpenting dan terbanyak khususnya selulosa yang terbungkus lignin dengan ikatan yang cukup kuat. Dalam kaitan konversi TKS menjadi etanol, polisakarida dapat disakarifikasi atau dihidrolisis menjadi monosakarida (glukosa, xilosa) sebelum diproses lebih lanjut menjadi etanol.

Teknologi proses produksi etanol dalam proses sakarifikasi biasanya dilakukan dengan metode konvensional yaitu dengan menggunakan asam sulfat atau asam klorida. Akan tetapi metode tersebut dianggap kurang ramah lingkungan karena penggunaan asam dapat menimbulkan korosif di samping biaya bahan kimia asam tersebut relatif mahal. Pengembangan teknologi bioproses dengan menggunakan enzim pada proses sakarifikasi diyakini sebagai suatu proses yang lebih ramah lingkungan (Pandey dkk., 2000).

Sakarifikasi enzimatis adalah proses sakarifikasi yang dilakukan dengan menggunakan enzim, seperti enzim jenis selulase atau jenis hemiselulase tergantung substrat yang menjadi prioritas. Enzim jenis selulase digunakan untuk hidrolisis substrat selulosa, sedangkan enzim jenis hemiselulase untuk substrat hemiselulosa. Konsorsium enzim seperti endoglukanase, exoglukanase dan β -glukosidase juga diperlukan untuk memecah selulosa menjadi monomer gula (Lynd dkk., 2002). Pada TKS kandungan selulosa sebesar 54,4% berat kering dan pelepah sawit sebesar 62,3% berat kering (Goh dkk., 2010). Selulosa merupakan kandungan terbanyak dalam limbah sawit tersebut. Perlakuan awal pada TKS perlu dilakukan untuk memudahkan proses sakarifikasi baik perlakuan awal secara fisik maupun kimia. Secara teori proses hidrolisis

lignoselulosa menjadi glukosa < 20% bila tanpa perlakuan awal, sedangkan bila dilakukan perlakuan awal bisa terkonversi > 90% (Ghosh dan Ghose, 2003).

Ada beberapa metode proses sakarifikasi dan fermentasi diantaranya adalah *separated hydrolysis fermentation* (SHF), *direct microbial conversion* (DMC) dan *simultaneous saccharification fermentation* (SSF). SSF memberi laju reaksi, hasil dan konsentrasi etanol yang lebih tinggi (Wyman dkk., 1992). Pada penelitian ini dilakukan konversi selulosa pada TKS menjadi etanol sebagai energi alternatif dengan metode SHF pada skala 20 L. Optimasi proses sakarifikasi dan fermentasi dengan metode SHF untuk skala laboratorium telah dilakukan dengan hasil etanol 6,87% b/b pada substrat 20% TKS (Anindyawati dkk., 2012), sehingga pada penelitian ini dilakukan perbesaran skala produksi etanol 20 L dengan tujuan untuk mengetahui kondisi optimal proses skala laboratorium yang dapat teraplikasi di proses yang lebih besar.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Peralatan

Tandan Kosong Sawit diperoleh dari PT Perkebunan Nusantara VIII, Pandeglang, Banten Indonesia. Enzim yang digunakan adalah Ctec2 dan Htec2 dari Novozymes, sedangkan ragi *Saccharomyces cereviceae* yang digunakan adalah ragi padat komersial. Peralatan yang digunakan untuk sakarifikasi dan fermentasi adalah fermentor dengan kapasitas maksimum 69 L yang dilengkapi dengan pengatur suhu, laju pengadukan dan alat distilasi (Gambar 1).



Gambar 1. Fermentor untuk Proses Sakarifikasi dan Fermentasi yang Dilengkapi dengan Sistem Distilasi

Perlakuan Awal TKS

Perlakuan awal meliputi perlakuan fisik menjadi serat, yaitu dengan cara mencacah potongan TKS sampai berukuran kurang lebih 3 mm. Selanjutnya dilakukan perlakuan kimia yaitu dengan menambahkan larutan NaOH 10% dan dipanaskan pada suhu 150°C pada tekanan 4-8 kg/cm² selama 30 menit. Kemudian dilakukan pencucian sampai pH netral dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50°C sampai kadar air di bawah 10%.

Proses Sakarifikasi dan Fermentasi

Proses sakarifikasi dan fermentasi dilakukan pada satu bejana fermentor dengan volume proses 20 L. Pulp TKS yang digunakan adalah 20% b/v dari volume proses. Sebanyak 14,69 L *buffer* sitrat 20 mM pH 4,8 dimasukkan ke dalam fermentor dan diikuti dengan penambahan 4290 g pulp TKS dengan kadar air 6,7% (b/v), kemudian campuran disterilisasi selama 15 menit. Setelah suhu diturunkan, selanjutnya dimasukkan enzim Ctec2 (30 FPU/g TKS) dan Htec2 dengan perbandingan 5:1. Kondisi proses sakarifikasi yaitu pada pH 4,8; suhu 32°C dan pengadukan 200-300 rpm selama 48 jam. Setelah proses sakarifikasi selesai, dimasukkan ragi padat *Saccharomyces cereviceae* sebanyak 1% (b/v). Kondisi proses fermentasi yaitu pada suhu 32°C, pengadukan 200 rpm selama 72 jam. Pengambilan contoh dan analisis dilakukan setiap 24 jam.

Analisis Produk

1. Analisis Komponen TKS Sebelum dan Sesudah Perlakuan Awal

Analisis komponen pada substrat TKS dilakukan dengan menggunakan prosedur analitis standar untuk biomassa yang disediakan oleh *National Renewable Energy Laboratory* (NREL), 2010. Sebanyak 0,3 g sampel TKS dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 3 mL H₂SO₄ 72%. Kemudian dihidrolisis pada suhu 30°C selama 2 jam menggunakan inkubator (hidrolisis pertama). Hasil hidrolisis ditambahkan ke dalam 84 mL aquadest dalam botol Duran 100 mL dan dilakukan hidrolisis kedua pada suhu 121°C selama 1 jam menggunakan *autoclave*. Setelah didinginkan sampai suhu ruang, dilakukan

penyaringan sisa padatan dengan filtrasi vakum. Kurang lebih 20 mL filtratnya diambil untuk analisis selanjutnya. Lignin tidak terlarut dalam residu ditentukan setelah pengabuan sisa padatan dalam *furnace* selama 24 jam. Lignin terlarut dan komponen struktur utama (glukosa dan xilosa) dianalisis dari filtratnya. Analisis lignin terlarut dilakukan dengan menambahkan 3 mL H₂SO₄ 4% ke dalam 0,15 mL filtrat, kemudian diukur absorbansinya menggunakan UV spektrofotometer pada panjang gelombang 205 nm. Analisis komponen struktur utama dilakukan dengan menambahkan CaCO₃ ke dalam 4 mL filtrat sampai pH netral, kemudian disaring dan dianalisis menggunakan HPLC. Perhitungan komponen lignin, selulosa dan hemiselulosa adalah sebagai berikut :

Komponen lignin

= lignin terlarut + lignin tidak terlarut.
= (berat padatan/ berat sampel biomassa) x 100
+ (faktor pengenceran x absorbansi x 87/100) x 100

Komponen selulosa

= (konsentrasi glukosa pada HPLC (g/mL) x 87 mL/ 100)/ berat biomassa (g) x 100 x 0,9

Komponen hemiselulosa

= (konsentrasi xilosa pada HPLC (g/mL) x 87 mL/100)/ berat biomassa (g) x 100 x 0,88

2. Analisis Glukosa, Xilosa dan Etanol

Produk hasil sakarifikasi berupa glukosa dan xilosa serta etanol hasil dari fermentasi dianalisis menggunakan HPLC *Waters* dengan kolom Aminex 87H dan detektor RI. Kecepatan laju alir sampel ke HPLC 0,6 mL/ menit dengan menggunakan eluen 200 mM H₂SO₄.

Perhitungan konversi glukosa dan etanol:

Konversi selulosa menjadi glukosa
= (glukosa yang dihasilkan/selulosa pada bahan baku) x 100%

Konversi glukosa menjadi etanol

= (etanol yang dihasilkan/ glukosa awal pada proses fermentasi) x 100%

Konversi selulosa menjadi etanol

= (etanol yang dihasilkan/selulosa pada bahan baku) x 100%

HASIL DAN PEMBAHASAN

Proses perlakuan awal terhadap limbah biomassa TKS bertujuan untuk menurunkan kandungan lignin. Proses tersebut perlu dilakukan untuk mempermudah proses sakarifikasi, yaitu untuk membuka struktur lignoselulosa agar selulosa menjadi lebih mudah diakses oleh enzim yang memecah polimer polisakarida menjadi bentuk monomer, sehingga dapat mengurangi penggunaan enzim dan mengurangi biaya (Dashtban dkk., 2009). Adanya lignin juga akan mengikat enzim, sehingga menyebabkan kerja enzim tidak maksimal (Moilanen dkk., 2011) dan menutup jalannya penetrasi enzim ke struktur biomassa melalui ikatan lignin karbohidrat (Yu dkk., 2012). Menurut Sun dan Cheng (2004), proses perlakuan awal dapat mempercepat proses sakarifikasi dengan hasil yang lebih baik.

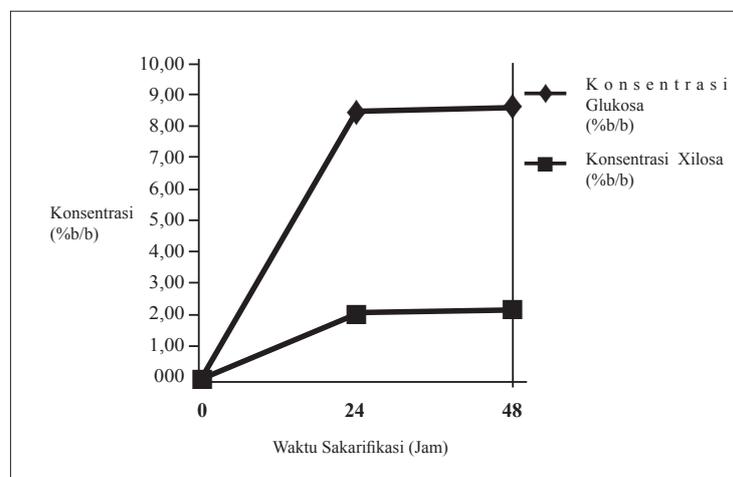
Hasil yang diperoleh dari proses perlakuan awal dalam penelitian ini menunjukkan adanya penurunan kandungan lignin pada substrat TKS dari 35,51% menjadi 9,47% atau penurunannya sebesar 73,33%, sedangkan kadar selulosa dan hemiselulosa meningkat masing-masing sebesar

69% dan 20,68% (Tabel 1). Pulp TKS hasil perlakuan awal tersebut digunakan sebagai substrat pada proses sakarifikasi dan fermentasi. Proses sakarifikasi menggunakan enzim Ctec2 dan Htec2 dari Novozymes. Enzim Ctec2 merupakan selulase kasar untuk mendegradasi selulosa menjadi gula yang bisa difermentasi, berupa campuran dari selulase, β -glukosidase dan hemiselulase. Sedangkan enzim Htec2 merupakan endoxilanase dengan spesifikasi tinggi untuk mengubah hemiselulosa menjadi xilosa. Penggunaan enzim Ctec2 dan Htec2 secara bersamaan dengan perbandingan tertentu dapat mengoptimalkan konversi selulosa dan hemiselulosa menjadi glukosa dan xilosa (www.novozymes.com). Pada penelitian ini penggunaan enzim Ctec2 dan Htec2 menggunakan perbandingan 5:1. Penggunaan enzim Ctec2 lebih banyak karena komponen tertinggi pada bahan baku adalah selulosa, sehingga diharapkan diperoleh konversi optimum selulosa menjadi glukosa.

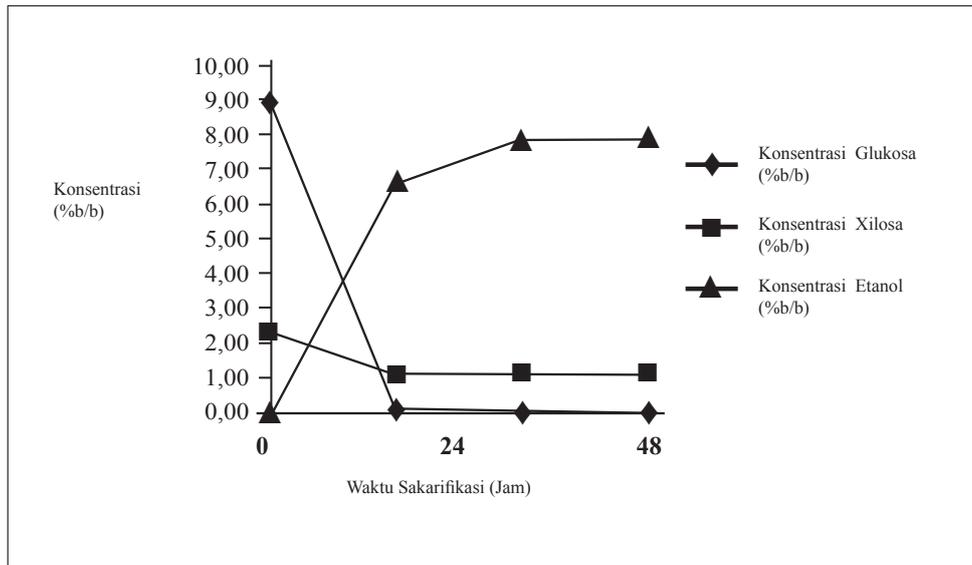
Terlihat pada Gambar 2, bahwa pada proses sakarifikasi terjadi konversi selulosa menjadi glukosa dan hemiselulosa menjadi xilosa.

Tabel 1. Karakterisasi Komponen TKS dan Pulp TKS

No.	Komponen	Persentase (%) TKS -Tanpa Perlakuan	Persentase (%) Pulp TKS
1.	Selulosa	44,21	74,72
2.	Hemiselulosa	16,68	20,13
3.	Lignin	35,51	9,47
4.	Abu	0,26	0,61



Gambar 2. Kurva Hasil Sakarifikasi Pulp TKS



Gambar 3. Kurva Fermentasi Glukosa menjadi Etanol dengan Ragi *S. cereviceae*.

Hasil sakarifikasi tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi glukosa lebih besar daripada xilosa, sehingga proses fermentasi menggunakan *S. cereviceae* dapat berlangsung dengan mengubah glukosa menjadi etanol.

Fermentasi untuk mengkonversi glukosa menjadi etanol, seperti terlihat pada Gambar 3. Ragi *S. cereviceae* mengkonversi glukosa menjadi etanol secara spesifik, hanya glukosa yang dikonversi menjadi etanol, sedangkan xilosa tidak terkonversi. Setelah 72 jam proses fermentasi, etanol yang dihasilkan sebanyak 7,93% dan setelah didistilasi diperoleh etanol 1970 mL dengan kadar 63% (v/v), dengan efisiensi distilasi sebesar 78,26%.

Terlihat pada Gambar 2 dan 3, konsentrasi glukosa sebesar 8,66% dan etanol 7,93%, sehingga jumlah glukosa seluruhnya = 8,66 % (b/b) x 20 L = 1793,34 g (asumsi densitas 1 g/L). Sedangkan jumlah selulosa pada substrat awal sebesar 74,7% x 4000 g = 2988 g. Jadi konversi selulosa menjadi glukosa sebesar 60,02%. Sedangkan etanol yang diperoleh dari 20 L volume proses adalah = 7,93% (b/b) x 20 L = 1586 g (asumsi densitas 1 g/L), sehingga konversi glukosa menjadi etanol sebesar 88,44% dan konversi selulosa menjadi etanol sebesar 53,08%. Konversi selulosa menjadi glukosa sebesar 60,02% sudah cukup baik, mengingat beberapa peneliti melakukan konversi selulosa menjadi glukosa secara enzimatik diperoleh persentase yang sangat bervariasi. Beberapa hasil penelitian dengan bahan baku, jenis enzim,

perlakuan awal dan kondisi operasi yang berbeda, menghasilkan glukosa paling tinggi sebesar 96% dan yang terendah adalah 36,3%. Sedangkan hasil etanol paling besar 0,3 (g/g) dari bahan baku selulosa dan paling rendah 0,1 (g/g) dari bahan baku kayu zaitun maupun bagase (Kumar dkk., 2009). Pada skala laboratorium yang telah dilakukan dengan menggunakan substrat TKS yang sama 20% b/v, diperoleh konsentrasi etanol 6,87% b/b pada proses sakarifikasi suhu 32°C dan 7,86% b/b pada proses sakarifikasi suhu 50°C (Anindyawati dkk, 2012). Hasil perbesaran skala 20 L pada penelitian ini diperoleh konsentrasi etanol 7,93% pada proses sakarifikasi 32°C, sehingga hasil optimasi skala laboratorium bisa teraplikasi dengan baik.

KESIMPULAN

Konversi TKS menjadi etanol dapat dilakukan pada skala proses 20 L. Enzim Ctec2 dan Htec2 mampu menghidrolisis pulp TKS menjadi glukosa dengan konsentrasi 8,66% dan ragi *S. cereviceae* mampu mengkonversi glukosa hasil hidrolisis pulp TKS menjadi etanol dengan konsentrasi 7,93%. Hasil ini cukup baik, setelah dihitung dengan perbandingan selulosa awal, selulosa yang terkonversi menjadi glukosa sebesar 60,02 %, dan glukosa yang terbentuk menjadi etanol sebesar 88,44%. Konversi selulosa menjadi etanol sebesar 53,08%. Setelah didistilasi vakum didapatkan etanol sebanyak 1970 mL dengan kadar 63% (v/v).

DAFTAR PUSTAKA

- Anindyawati, T., Triwahyuni, E., Idiyanti, T. 2012. Optimasi Proses Sakarifikasi Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS) Untuk Bahan Baku Bioetanol. *Prosiding Seminar Nasional XXI Kimia dan Lingkungan*, hal. 363-368
- Costello. R., and Chum. H., 1998. Biomass Bioenergy and Carbon Management, In "Bioenergy '98: Expanding Bioenergy Partnerships" (D. Wichert. Ed.). Omnipress. Madison. WI., p.11- 17
- Dashtban, M., Schraft, H., Qin, W., 2009. Fungal Bioconversion of Lignocellulosic Residue: Opportunities & Perspectives. *Int. J. Biol. Sci.*, 578-595
- Ghosh, P., Ghose, T.K. 2003. *In advances in biotechnology Engineering/Biotechnology* (Ed:T.Scheper), vol.85, Springer, New York. DOI 10.1007/3-540-36466-8
- Goh, C.S., Tan, K.T., Lee, K.T., Bhatia, S. 2010. Bio-ethanol from lignocellulose: status, perspectives and challenges in Malaysia, *Bioresource Technol.*, 101 (13), 4834-4841.
- Hanim, S. S., Noor, M.A.M., Rosma, A., 2010. Effect of autohydrolysis and enzymatic treatment on oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) frond fibres for xylose and xylooligosaccharides production, *Bioresource Technol.*, Article in Press, doi:10.1016/j.biortech.2010.08.017
- Kumar, S., Singh, S.P., Mishra, I.M., Adhikari, D.K. 2009. Review. Recent Advances in Production of Bioethanol from Lignocellulosic Biomass. *Chem. Eng. Technol.* 32, No.4, 517-526.
- Lynd, L.R., Weimer, P.J., van Zyl, W.H., Petrorius, I.S., 2002. Microbial cellulose utilization: Fundamental and Biotechnology. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 66, 506-577
- Moilanen, U., Kellock, M., Galkin, S., Viikari, L. 2011. The laccase-catalyzed modification of lignin for enzymatic hydrolysis. *Enzyme Microb. Technol.*, 49(6-7), 492-498
- Pandey, A. Soccol, C.R. Nigam, P. and Soccol, V.T. 2000. Biotechnological potential of agro-industrial residues: Sugarcane bagasse. *Bioresource Technol.* 74, 69-80
- Perez, J., Minoz-Dorado, J., Rubia, T., Martinez, J., 2002. Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin. *Int'l Microbiol.* (5), 51-63
- Sheil, D., Casson, A., Meijaard, E., Van Noordwijk, M., Gaskell, J., Groves, J.S., Wertz, K., Kanninem, M., 2009. The impacts and opportunities of oil palm in Southeast Asia, *CIFOR*, Bogor, Indonesia. p. 6
- Sun, Y., Cheng, J. 2004. Hydrolysis of Lignocellulosic Materials for Ehanol Production: A Review. *Bioresource Technol.*, 83, 1-11
- Wyman, C.E., Spindler, D.D., Grohmann, K. 1992. Simultaneous Saccharification and Fermentation of Several Lignocellulosic Feedstocks to Fuel Ethanol. *Biomass and Bioenergy*, Vol.3 (5), 301-307
- Yu, Z., Jameel, H., Chang, H. M., Park, S. 2012. A Study in Lignin Inhibition for Enzymatic Hydrolysis of Woody Biomass. *Proceedings of 12AICHE Annual Meeting*, February11, 2012, Pittsburgh,PA, USA. www.aiche.org/Proceedings/Abstract.aspx?paperID=270943 (diakses tanggal 1 Oktober 2013)
- Yunus, R., Salleh, S.F., Abdullah, N. and Biak, D.R.A. 2010. Effect of ultrasonic pretreatment on low temperature acid hydrolysis of oil palm empty fruit bunch, *Bioresource Technol.*, 101(24), 9792-9796 <http://ditjenbun.pertanian.go.id/statis-36-produksi.html>. Perkembangan Produksi Komoditi Perkebunan 2008-2013. (diakses tanggal 30 Mei 2014)
- www.novozymes.com. Application Sheet Cellic® CTec2 and HTec2 -Enzymes for hydrolysis of lignocellulosic materials. (diakses tanggal 17 Mei 2013)
- <http://www.nrel.gov/biomass/analytical> prosedures. National Renewable Laboratory. 2010. *Analitical Prosedures of Standard Biomass Analysis*. Available electronically (diakses tanggal 12 Juli 2013)