

Optimasi Produksi *Fermentable Sugar* dengan Hidrolisis Enzimatis Limbah Daun Nanas (*Ananas comosus* [L] Merr) Sebagai Bahan Baku Biofuel Ramah Lingkungan

Sutini¹, Yohanita Restu Widiastuty¹, Muhammad Rizki Murdowo¹, Aida Nur Ramadhani¹
¹Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Sebelas Maret, Jl. Ir. Sutami 36A Jebres, Surakarta 57126.

Corresponding author: aidaramadhani@staff.uns.ac.id

Abstrak. *Agricultural waste* adalah limbah yang dihasilkan dari sektor pertanian, seperti limbah jerami, ampas tebu, dan pelepah sawit. Limbah pertanian tersebut mengandung lignoselulosa. Lignoselulosa adalah komponen yang terdiri atas selulosa, hemiselulosa, dan lignin. Adanya kandungan selulosa dapat dimanfaatkan menjadi berbagai produk, namun kandungan lignin dan hemiselulosa dapat menghambat proses hidrolisis lignoselulosa. Selulosa memiliki banyak kegunaan seperti bahan baku propelan atau bahan peledak, serta turunan dari alfa-selulosa dapat diproses menjadi produksi bioetanol, asam glutamat, *biosolvent* alkohol, dll. Metode hidrolisis lignoselulosa sangat mempengaruhi kadar *fermentable sugar* yang dihasilkan. Upaya penelitian telah dilakukan untuk meningkatkan hidrolisis lignoselulosa. *Pretreatment* bahan untuk menghilangkan lignin dan hemiselulosa serta optimasi enzim dan selulase meningkatkan kemampuan hidrolisis lignoselulosa. Hidrolisis simultan efektif meningkatkan hasil dan laju hidrolisis lignoselulosa. Fokus pada review paper ini adalah metode yang dapat digunakan dalam hidrolisis lignoselulosa *agricultural waste* sebagai optimasi produksi *fermentable sugar* dari limbah daun nanas, diantaranya: metode *pretreatment*, delignifikasi, dan hidrolisis.

1. Pendahuluan

Limbah pertanian mengandung banyak bahan lignoselulosa yang bisa didegradasi oleh enzim secara bioproses. Bahan lignoselulosa dengan komponen terbesar adalah selulosa (35-50%), hemiselulosa (20-35%) dan lignin (10-25%)[1]. Komponen ini merupakan sumber utama untuk menghasilkan produk bernilai seperti gula dari hasil fermentasi, bahan kimia, bahan bakar cair, sumber karbon, dan energi. Lignoselulosa merupakan komponen polisakarida yang terdiri atas tiga tipe polimer yaitu selulosa, hemiselulosa, dan lignin. Selulosa merupakan salah satu polimer dengan pemanfaatan yang masih sangat terbatas. Selulosa hampir tidak pernah ditemui dalam keadaan murni di alam, melainkan selalu berikatan dengan bahan lain seperti lignin dan hemiselulosa. Adanya lignin serta hemiselulosa di sekeliling selulosa merupakan hambatan utama untuk menghidrolisis selulosa [2]. Rantai panjang selulosa terhubung secara bersama melalui ikatan hidrogen dan gaya van der Waals [3]. Hidrolisis sempurna selulosa akan menghasilkan monomer selulosa yaitu glukosa, selanjutnya glukosa yang dihasilkan dapat difermentasi menjadi menjadi produk, sedangkan hidrolisis tidak sempurna akan menghasilkan disakarida dari selulosa yaitu selobiosa [4]. Dalam paper ini akan dikaji beberapa metode yang dapat digunakan dalam proses hidrolisis lignoselulosa, diantaranya metode *pretreatment*, delignifikasi, dan hidrolisis.

2. Metode Penelitian

Narrative review merupakan salah satu jenis dari pedoman penyusunan sebuah tinjauan pustaka. Dalam penyusunan *narrative review*, langkah-langkah yang dilakukan antara lain menyusun pokok bahasan; studi literatur dari publikasi paper, tesis, disertasi, jurnal, prosiding, serta abstrak hasil penelitian; pengumpulan data; dan analisa kesimpulan. Kata kunci untuk pemilihan literatur yang digunakan dalam *narrative review* ini adalah *pretreatment*, delignifikasi, dan hidrolisis dari berbagai limbah pertanian.

3. Hasil dan Diskusi

3.1 Metode Pretreatment

Limbah pertanian mengandung banyak lignoselulosa dimana di dalamnya terdapat selulosa yang dapat dihidrolisis secara enzimatik menjadi gula reduksi atau *fermentable sugar*.

Tabel 1. Kandungan Selulosa, Hemiselulosa, dan Lignin dalam Berbagai *Agricultural Waste*

Limbah	Kandungan			Referensi
	Selulosa	Hemiselulosa	Lignin	
Jerami	52,60	12,05	22,50	[5]
Ampas tebu	52,42	25,80	21,69	[6]
Pelepah sawit	50,00	19,60	16,00	[7]
Bonggol jagung	45,60	39,00	14,00	[8]
Daun nanas	81,27	12,31	3,46	[9]

Perlakuan awal (*pretreatment*) merupakan tahapan proses yang bertujuan untuk memecah struktur kristal lignin-selulosa dan membuang lignin sehingga enzim selulase dapat bersinggungan langsung dengan selulosa. *Pretreatment* merupakan salah satu proses terpenting dalam biokonversi substrat berlignoselulosa. Proses *pretreatment* dibutuhkan untuk memutuskan ikatan lignin dari struktur lignoselulosa serta mengurangi derajat polimerisasi dan sifat kristalin selulosa. Proses *pretreatment* akan meningkatkan efisiensi proses hidrolisis dengan cara memperluas permukaan kontak substrat dengan enzim. *Pretreatment* yang paling sering dilakukan untuk hidrolisis lignoselulosa adalah dengan mengecilkan ukuran bahan menjadi serbuk sehingga luas permukaan menjadi lebih besar dan proses selanjutnya menjadi lebih efektif. Beberapa alternatif proses *pretreatment* hidrolisis lignoselulosa disajikan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Metode *pretreatment* hidrolisis lignoselulosa

Cara	Proses	Contoh	Suhu (°C)	Referensi
Fisika	Pembakaran menjadi abu	Pembuatan ekstrak abu dari pembakaran Tandan Kosong Sawit (TKS)	600	[10]
	Penguapan	Hidrolisis kayu cemara, jerami gandum, dan bagas tebu	200	[11]
Kimia	Asam (HCl, H ₂ SO ₄)	Hidrolisis kulit pisang	121	[12]
Biologi	Mikroorganisme jamur	Hidrolisis dengan jamur pelapuk putih terutama <i>Ceriporiopsis subvermispora</i>	180	[13]

3.2 Metode Delignifikasi

Delignifikasi adalah suatu proses mengubah struktur kimia biomassa berlignoselulosa dengan tujuan mendegradasi lignin secara selektif sehingga menguraikan ikatan kimianya baik secara ikatan kovalen, ikatan hidrogen maupun ikatan van der Waals, dengan komponen kimia lain pada bahan berlignoselulosa [14]. Proses delignifikasi akan melarutkan kandungan lignin di dalam bahan sehingga mempermudah proses pemisahan lignin dengan serat. Berdasarkan **Tabel 3.**, delignifikasi secara kimia dengan penambahan NaOH 1,5% mampu melarutkan lignin sebesar 83%.

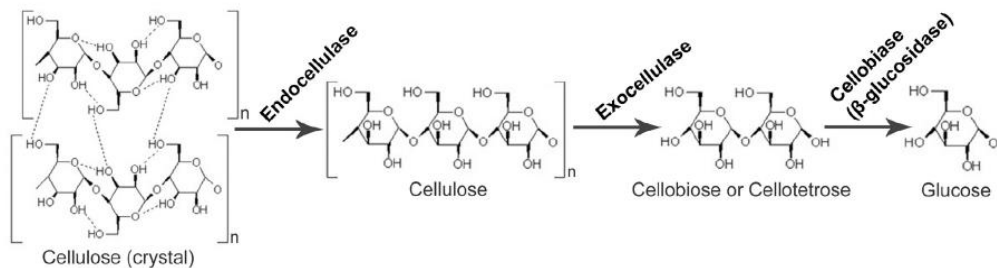
Tabel 3. Macam proses delignifikasi dan hasilnya

Bahan	Metode	Kondisi	Penurunan Lignin	Referensi
Jeramipadi	Kimia	NaOH 1.5 % (w/v), konsentrasi jerami terhadap larutan 4% (w/v)	83,00%	[15]
	Biologi	<i>Trichoderma viridae</i> 4% (w/v), Agitation	73,60%	[16]

Daun nanas	Biologi	rate 160 rpm, ukuran inoculum (1) Enzim laccase dari <i>Pleurotus djamora</i> . Waktu inkubasi 6 jam, 40°C, pH 7, enzim 500 UI/mL dan padatan 25%	78,14%	[17]
Pelepah sawit	Kimia	ChCl:Urea 30% suhu 120°C, waktu 4 jam	16,71%	[18]

3.3. Metode Hidrolisis

Hidrolisis merupakan suatu reaksi pemecahan molekul besar menjadi bagian-bagian yang lebih kecil yang merupakan komponen monomer dari senyawa itu sendiri melalui adisi oleh air. Hasil pemutusan rantai tersebut merupakan monomer gula pereduksi. Pemutusan rantai polimer tersebut dapat dilakukan dengan dua metode, yaitu secara enzimatik dan kimiawi. Hidrolisis kimiawi biasanya menggunakan asam sulfat (H₂SO₄) atau asam klorida (HCl), sedangkan hidrolisis enzimatik adalah hidrolisis dengan menggunakan enzim. [19]



Gambar 1. Mekanisme Hidrolisis Selulosa [20]

Tabel 4. Hidrolisis dengan Katalis Asam

Bahan	Waktu (menit)	Suhu (°C)	pH	% Glukosa	Referensi
Jerami padi	2.880,0	30	3,0	40,33	[21]
Ampas tebu	2,5	80	1,0	12,20	[22]
Pelepah sawit	100,0	121	1,0	19,49	[23]
Gandum	30,0	147	1,6	50,00	[24]
Mahkota nanas	120,0	50	1,0	51,40	[25]

Tabel 5. Hidrolisis dengan Katalis Enzim

Bahan	Waktu (jam)	Tek. (atm)	Suhu (°C)	pH	% Glukosa	Referensi
Jerami padi	64	1	50	5,0	17,35	[26]
Ampas tebu	16	1	55	5,0	20,00	[27]
Pelepah sawit	124	1	60	5,0	18,70	[28]
Daun nanas	24	1	50	5,0	63,75	[29]
Tongkol jagung	24	1	50	4,8	59,10	[30]

Berdasarkan Tabel 5., daun nanas yang dihidrolisis dengan katalis enzim mampu menghasilkan glukosa hingga 63,75%. Yield glukosa yang dihasilkan tersebut lebih tinggi dibandingkan bahan lain yang dihidrolisis dengan katalis asam. Penggunaan katalis asam dalam proses hidrolisis juga dihindari karena dapat mencemari lingkungan.

4. Kesimpulan dan Saran

Banyak limbah agrikultural yang dapat dimanfaatkan dan diolah menjadi gula reduksi. Gula reduksi (*fermentable sugar*) jika diteruskan lebih lanjut akan menghasilkan produk-produk yang berguna seperti *biofuel*, bioproduk, *biosolvent*, asam organik, biosurfaktan dan biopolimer. Pemilihan metode pada proses pretreatment akan mempengaruhi proses selanjutnya seperti hidrolisis dan fermentasi. Kondisi yang tidak diinginkan selama proses pretreatment serta delignifikasi akan

membuat terbentuknya produk parsial hemiselulosa dan lignin serta senyawa toksik atau inhibitor yang akan mengurangi kinerja enzim maupun mikroba. Optimasi hidrolisis limbah daun nanas untuk mendapatkan nilai gula reduksi maksimum melalui proses *pretreatment* pengecilan ukuran hingga menjadi serbuk, kemudian proses delignifikasi dengan basa, proses hidrolisis menggunakan katalis enzim yang selanjutnya dapat difermentasi menjadi *biofuel* ataupun produk lain. Maka dari itu, perlu adanya penelitian lebih lanjut limbah agrikultural lain serta pemilihan kondisi operasi yang tepat untuk menghasilkan gula reduksi yang optimal hingga menjadi produk yang lebih bermanfaat.

5. Referensi

- [1] B. C. Saha, "Lignocellulose Biodegradation and Application in Biotechnology," *US Gov. Work. Am. Chem. Soc.*, vol. 2, no. 14, 2004.
- [2] E. Sjostrom, *Kimia Kayu: Dasar-dasar dan Penggunaan*, 2nd ed. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- [3] J. M. Perez, J., J. M. Dorado, T. Rubia, "Biodegradation and Biological treatments of Cellulose, Hemicellulose and Lignin: An Overview," *Int. Microbiol.*, vol. 5, pp. 53–63, 2002.
- [4] et al Fan, "The Nature of Lignocellulosic and Their Pretreatment for Enzymatic Hydrolysis," *Adv. Biochem. Eng.*, vol. 23, pp. 158–187, 1982.
- [5] R. A. dos R. Ferreira, C. da S. Meireles, R. M. N. Assunção, M. A. S. Barrozo, and R. R. Soares, "Optimization of the oxidative fast pyrolysis process of sugarcane straw by TGA and DSC analyses," *Biomass and Bioenergy*, vol. 134, no. December 2019, pp. 1–7, 2020.
- [6] M. Tewari, P. C. Singh, V.K., Gope, and A. K. Chaudhary, "Evaluation of Mechanical Properties of Bagasse-Glass Fiber Reinforced Composite," *J. Mater. Environ. Sci.*, vol. 3, no. 1, pp. 187–194, 2012.
- [7] K. W. Law, W. Daud, and W.R, "Oil Palm Fibers as Papermaking Material: Potentials and Challenges," *Bioresources*, vol. 6, no. 1, pp. 901–917, 2011.
- [8] J. C. Gómora-Hernández, M. del C. Carreño-de-León, N. Flores-Alamo, M. del C. Hernández-Berriel, and S. M. Fernández-Valverde, "Kinetic and thermodynamic study of corncob hydrolysis in phosphoric acid with a low yield of bacterial inhibitors," *Biomass and Bioenergy*, vol. 143, no. October, 2020.
- [9] B. M. Cherian, A. L. Leão, S. F. de Souza, S. Thomas, L. A. Pothan, and M. Kottaisamy, "Isolation of nanocellulose from pineapple leaf fibres by steam explosion," *Carbohydr. Polym.*, vol. 81, no. 3, pp. 720–725, 2010.
- [10] J. de C. Pereira Scarpa *et al.*, "Saccharification of pretreated sugarcane bagasse using enzymes solution from *Pycnoporus sanguineus* MCA 16 and cellulosic ethanol production," *Ind. Crops Prod.*, vol. 141, no. June, p. 111795, 2019.
- [11] K. Kovács, G. Szakács, and G. Zacchi, "Enzymatic hydrolysis and simultaneous saccharification and fermentation of steam-pretreated spruce using crude *Trichoderma reesei* and *Trichoderma atroviride* enzymes," *Process Biochem.*, vol. 44, no. 12, pp. 1323–1329, 2009.
- [12] D. Seftian, F. Antonius, and M. Faizal, "Pembuatan Etanol dari Kulit Pisang Menggunakan Metode Hidrolisis Enzimatik dan Fermentasi," *J. Tek. Kim.*, vol. 18, no. 1, pp. 10–16, 2012.
- [13] S. Hatakeyama and M. Kuwahara, "Degradation of Discharged Stump and Root of Japanese Cedar by Wood Rotting Basidiomycetes," p. 373, 2004.
- [14] L. Agustini and L. Efiyanti, "Pengaruh Perlakuan Delignifikasi Terhadap Hidrolisis Selulosa Dan Produksi Etanol Dari Limbah Berlignoselulosa," *J. Penelit. Has. Hutan*, vol. 33, no. 1, pp. 69–80, 2015.
- [15] M. M. Patel and R. M. Bhatt, "Optimisation of the alkaline peroxide pretreatment for the delignification of rice straw and its applications," *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, vol. 53, no. 3, pp. 253–263, 1992.
- [16] M. Karimi, R. Esfandiari, and D. Biria, "Simultaneous delignification and saccharification of rice straw as a lignocellulosic biomass by immobilized *Trichoderma viride* sp. to enhance



- enzymatic sugar production,” *Renew. Energy*, vol. 104, pp. 88–95, 2017.
- [17] R. Banerjee, A. D. Chintagunta, and S. Ray, “Laccase mediated delignification of pineapple leaf waste: An ecofriendly sustainable attempt towards valorization,” *BMC Chem.*, vol. 13, pp. 1–11, 2019.
- [18] E. K. New *et al.*, “Potential use of pure and diluted choline chloride-based deep eutectic solvent in delignification of oil palm fronds,” *Process Saf. Environ. Prot.*, vol. 123, pp. 190–198, 2019.
- [19] T. M. Fenida, “Studi Reaksi Hidrolisis Glukosa untuk Menghasilkan Senyawa Asam Levulinat Menggunakan Katalis Homogen dan Katalis Heterogen Asam,” Universitas Indonesia, 2010.
- [20] K. Maneeintr, T. Leewisuttikul, S. Kerdsuk, and T. Charinpanitkul, “Hydrothermal and enzymatic treatments of pineapple waste for energy production,” *Energy Procedia*, vol. 152, pp. 1260–1265, 2018.
- [21] Y. Andayana, “Pembuatan Ethanol dari Jerami Padi dengan Proses Hidrolisis dan Fermentasi,” *Jur. Tek. Kim. Fak. Teknol. Ind. UPN “Veteran” Jatim*, vol. 8, no. 2, pp. 54–57, 2014.
- [22] M. A. Ahmed *et al.*, “Dilute acid hydrolysis of sugar cane bagasse using a laboratory twin gear reactor,” *Renew. Energy*, vol. 153, pp. 61–66, 2020.
- [23] N. M. Rilek, N. Hidayat, and Y. Sugiarto, “Hidrolisis Lignoselulosa Hasil Pretreatment Pelepah Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq) menggunakan H₂SO₄ pada Produksi Bioetanol,” *J. Teknol. dan Manaj. Agroindustri*, vol. 6, no. 2, pp. 76–82, 2017.
- [24] B. Satari Baboukani, M. Vossoughi, and I. Alemzadeh, “Optimisation of dilute-acid pretreatment conditions for enhancement of sugar recovery and enzymatic hydrolysis of wheat straw,” *Biosyst. Eng.*, vol. 111, no. 2, pp. 166–174, 2012.
- [25] L. U. S. Faria, B. J. S. Pacheco, G. C. Oliveira, and J. L. Silva, “Production of cellulose nanocrystals from pineapple crown fibers through alkaline pretreatment and acid hydrolysis under different conditions,” *J. Mater. Res. Technol.*, vol. 9, no. 6, pp. 12346–12353, 2020.
- [26] H. Ferdiansyah, S. H. Sumarlan, and B. D. Argo, “Hidrolisis Enzimatis Menggunakan Enzim Selulase dari *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* pada Produksi Bioetanol Jerami Padi,” *J. Keteknikan Pertan. Trop. dan Biosistem*, vol. 3, no. 2, pp. 211–216, 2015.
- [27] B. P. Prajapati, U. K. Jana, R. K. Suryawanshi, and N. Kango, “Sugarcane bagasse saccharification using *Aspergillus tubingensis* enzymatic cocktail for 2G bio-ethanol production,” *Renew. Energy*, vol. 152, pp. 653–663, 2020.
- [28] H. Sitompul, D. R. Putra, and P. N. F., “Pengaruh Waktu dan Konsentrasi Enzim Selulase pada Proses Hidrolisis Tandan Kosong Kelapa Sawit Menjadi Glukosa,” *Anal. Anal. Environ. Chem.*, vol. 1, no. 01, pp. 8–16, 2016.
- [29] C. Conesa, L. Seguí, N. Laguarda-Miró, and P. Fito, “Microwaves as a pretreatment for enhancing enzymatic hydrolysis of pineapple industrial waste for bioethanol production,” *Food Bioprod. Process.*, vol. 100, pp. 203–213, 2016.
- [30] L. qun Jiang *et al.*, “Selective saccharification of microwave-assisted glycerol pretreated corncobs via fast pyrolysis and enzymatic hydrolysis,” *Fuel*, vol. 265, no. December 2019, p. 116965, 2020.