



## **Review: Potensi Tandan Kosong Kelapa Sawit sebagai Bahan Baku Pembuatan Bioetanol dengan Metode *Fed Batch* pada Proses Hidrolisis**

**Christyfani Sindhuwati\*, Asalil Mustain, Yasinta Octaliya Rosly, Andika Soharmat Aprijaya, Mufid, Ade Sonya Suryandari, Hardjono, Sri Rulianah**

Jurusan Teknik Kimia, Politeknik Negeri Malang, Jl. Soekarno Hatta No. 9, Malang 65141, Indonesia

\*E-mail: [c.sindhuwati@polinema.ac.id](mailto:c.sindhuwati@polinema.ac.id)

### **ABSTRAK**

Peningkatan kebutuhan energi terutama bahan bakar minyak yang tidak diimbangi dengan ketersediaan sumber energi tak terbarukan akan mengakibatkan kelangkaan energi. Pembuatan bahan bakar terbarukan merupakan solusi untuk mengatasi kelangkaan tersebut, salah satunya bioetanol. Biomassa Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS) merupakan bahan baku yang cocok untuk pembuatan bioetanol karena jumlahnya yang melimpah dan mengandung lignoselulosa. Bioetanol dapat diperoleh melalui proses fermentasi dengan metode yang digunakan adalah *Fed Batch Simultaneous Saccharification Fermentation*. *Pretreatment* berupa *size reduction* dan delignifikasi direkomendasikan sebelum proses hidrolisis enzimatis dan fermentasi secara serentak. Metode pengumpanan *Fed Batch* pada *High Total Solid Loading* (HTSL) direkomendasikan sebagai strategi pengumpanan pada proses hidrolisis enzimatis dengan jumlah frekuensi yang tinggi memberikan hasil kadar etanol lebih tinggi.

**Kata kunci:** *fed batch*, SSF, TKKS

### **ABSTRACT**

The enhancement of energy needs, especially fuel, that is not complemented by the availability of non-renewable energy sources, would affect the deficient of energy. The production of renewable fuel such as bioethanol is a solution to overcome that deficiency. One of the substrates that are appropriate to be processed into bioethanol is Oil Palm Empty Fruit Bunch (OPEFB) because of abundant and lignocellulosic biomass. Bioethanol can be produced through the fermentation process by Fed-Batch Simultaneous Saccharification Fermentation method. Size reduction and delignification for pretreatment are recommended before the simultaneous enzymatic hydrolysis process and fermentation. Using the fed-batch as a feeding method of High Total Solid Loading (HTSL) is recommended for feeding strategy in hydrolysis enzymatic process with high frequency that can produce a higher yield of ethanol.

**Keywords:** *fed batch*, SSF, OPEFB

### **1. PENDAHULUAN**

Energi adalah kontributor utama dalam kehidupan sehari-hari, menurut Badan Energi Internasional (IEA) permintaan energi di seluruh dunia tercatat menjadi pertumbuhan dengan laju tercepat dalam dekade ini [1]. Permintaan bahan bakar yang terus meningkat dapat mengakibatkan menipisnya cadangan energi tak terbarukan terutama bahan bakar minyak. Bahan bakar baru dan terbarukan merupakan salah satu alternatif tepat untuk mengatasi menipisnya cadangan

energi tak terbarukan tersebut. Pembuatan bahan bakar baru dan terbarukan (EBT) dapat diperoleh dari berbagai biomassa.

Menurut Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), biomassa merupakan salah satu sumber energi baru dan terbarukan (EBT) yang potensinya sangat melimpah di Indonesia. Potensi sumber daya biomassa di Indonesia diperkirakan sebanyak 49.810 MW, yang berasal dari tanaman dan limbah. Salah satu biomassa yang berasal dari tanaman dan merupakan limbah adalah



tandan kosong kelapa sawit. Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki potensi besar, karena memiliki banyak perusahaan kelapa sawit [2,3].

Menurut Badan Pusat Statistika (BPS), terdapat 1.700 perkebunan kelapa sawit di Indonesia dan tersebar di 25 provinsi. Provinsi dengan jumlah perusahaan perkebunan kelapa sawit terbanyak adalah Provinsi Sumatera Utara (336 perusahaan), Provinsi Kalimantan Barat (322 perusahaan), dan Provinsi Riau (200 perusahaan). Jumlah perusahaan sawit tentu sebanding dengan jumlah limbah berupa tandan kosong kelapa sawit yang dihasilkan. Berdasarkan data BPS tahun 2015, produksi kelapa sawit mencapai 31,07 juta ton/tahun dengan komposisi limbah kelapa sawit dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 menunjukkan bahwa, komposisi tandan kosong kelapa sawit dalam limbah kelapa sawit memiliki prosentase sebesar 23% dari total produksi atau sekitar 7,15 juta ton. Sebanyak 10% dari TKKS sudah dimanfaatkan menjadi bahan bakar boiler dan kompos, sedangkan 90% TKKS belum dimanfaatkan secara optimal [4,5].

**Tabel 1.** Komposisi limbah kelapa sawit [5]

No	Komponen	Prosentase (%)
1	Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS)	23
2	Limbah cangkang ( <i>shell</i> )	6,5
3	Lumpur sawit	4
4	Serabut ( <i>fiber</i> )	13
5	Limbah cair	50

Pengolahan dan pemanfaatan TKKS oleh PKS (Pabrik Kelapa Sawit) masih tergolong sangat terbatas. Sebagian besar Pabrik Kelapa Sawit (PKS) di Indonesia masih membakar TKKS dalam *incinerator*, meskipun cara ini sudah dilarang oleh pemerintah. Alternatif pengolahan lainnya adalah dengan menimbun (*open dumping*), dijadikan mulsa di perkebunan kelapa sawit, atau diolah menjadi kompos [6].

TKKS dapat dimanfaatkan sebagai substrat atau bahan baku untuk memproduksi bioetanol. Produksi bioetanol dari TKKS akan membantu permasalahan pengolahan limbah dan merupakan salah satu sumber bahan bakar EBT yang dapat dikembangkan. TKKS yang merupakan biomassa lignoselulosa memiliki kandungan selulosa sebesar 35–50%, selulosa tersebut digunakan sebagai substrat untuk menghasilkan glukosa yang akan digunakan sebagai umpan dalam proses fermentasi untuk menghasilkan bioetanol. Kadar selulosa sebanding dengan jumlah glukosa yang dihasilkan pada proses hidrolisis, oleh karena itu TKKS merupakan substrat atau bahan baku yang potensial untuk dijadikan bioetanol [7,8].

Menurut Harimawan (2016), *total solid loading* optimum yang digunakan pada proses hidrolisis enzimatis adalah sebesar 10%. Sedangkan, untuk proses hidrolisis enzimatis secara *fed batch* nilai optimum *solid loading* mencapai 25%. Hasil percobaan menunjukkan bahwa metode *fed batch* dapat meningkatkan konsentrasi glukosa sebesar 17% lebih tinggi dibandingkan sistem *batch*. Semakin tinggi glukosa maka jumlah etanol yang dihasilkan juga semakin tinggi. Oleh karena itu dengan mengacu dari beberapa jurnal dilakukan pengkajian mengenai proses produksi bioetanol secara *fed batch* dengan harapan mampu menghasilkan kadar etanol paling optimum [9].

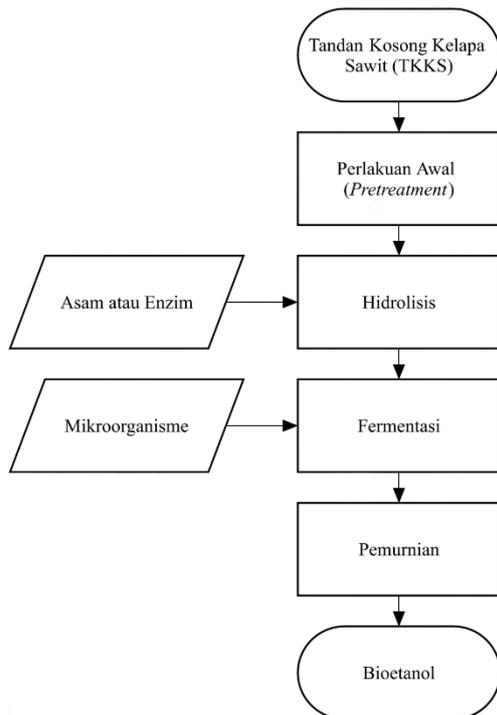
## 2. BIOETANOL DARI TKKS

Bioetanol merupakan salah satu *biofuel* yang hadir sebagai bahan bakar alternatif yang lebih ramah lingkungan dan sifatnya yang terbarukan. Bioetanol ( $C_2H_5OH$ ) adalah cairan biokimia hasil proses fermentasi gula dari sumber karbohidrat menggunakan bantuan mikroorganisme.

Gambar 1 menunjukkan bahwa pembuatan bioetanol dari TKKS terdiri dari beberapa tahapan, yaitu sebagai berikut:

- Perlakuan awal atau *pretreatment* bertujuan untuk mendapatkan selulosa dan menghilangkan lignin dari TKKS.

- Hidrolisis untuk mengubah selulosa menjadi glukosa. Hidrolisis dapat dilakukan dengan bantuan enzim ataupun asam.
- Fermentasi untuk mengubah glukosa menjadi etanol dengan bantuan mikroorganisme.
- Pemurnian untuk mendapatkan kadar etanol sesuai dengan *fuel grade* [10,11].



**Gambar 1.** Diagram alir pembuatan bioetanol dari tandan kosong kelapa sawit (TKKS)

Bahan baku yang dapat dipergunakan sebagai substrat pembuatan bioetanol diantaranya:

- Bahan yang mengandung glukosa
- Bahan yang mengandung pati atau karbohidrat
- Bahan yang mengandung selulosa [12,13].

Selulosa terdapat melimpah di alam, keberadaannya dapat ditemukan dalam struktur lignoselulosa. Lignoselulosa adalah sumber energi terbarukan terbesar di bumi, yang merupakan komponen utama penyusun tumbuhan. Energi dari biomassa lignoselulosa dapat menjadi solusi kelangkaan energi minyak bumi, selain itu

energi yang berbahan lignoselulosa ini terbukti lebih ramah lingkungan [14].

Indonesia merupakan negara kepulauan yang berada di daerah tropis serta merupakan salah satu negara penghasil utama kelapa sawit dunia. Menurut Badan Pusat Statistik (2018), jumlah industri yang bergerak dibidang kelapa sawit sebesar 1.779 di seluruh Indonesia. Industri kelapa sawit tersebut memproduksi minyak sawit dengan jumlah yang sangat besar. Besarnya produksi minyak sawit berbanding lurus dengan limbah yang dihasilkan, sebesar 23% komposisi limbah adalah tandan kosong kelapa sawit yang belum dimanfaatkan dengan baik [4,12].

Pemanfaatan TKKS sebagai biomassa untuk dikonversi menjadi bioetanol sangat berpeluang besar, karena keberadaannya sebagai limbah yang belum dimanfaatkan tidak bersaing dengan bahan pangan. TKKS secara kimiawi memiliki komposisi hampir sama dengan kayu yaitu tersusun dari lignin  $[(C_9H_{10}O_3)(CH_3O)]$ , selulosa  $(C_6H_{10}O_5)$  dan hemiselulosa  $(C_5H_8O_4)$  [16].

**Tabel 2.** Potensi biomassa pertanian sebagai sumber bioenergi [15]

No	Komoditas	Energi dari Limbah Biomasa (Juta GJ/Tahun)
1	Kelapa Sawit	69,7
2	Kelapa	---
3	Karet	144,8
4	Padi	158,6
5	Tebu	78
6	Sagu	---
7	Ternak Besar	---
Total		444,1

Tabel 2 menunjukkan bahwa potensi energi dari limbah biomassa mencapai angka 441,1 juta gigajoule per tahun, dengan energi dari biomassa kelapa sawit mencapai 69,7 gigajoule per tahun. Pemilihan limbah kelapa sawit sebagai bahan baku pembuatan bioetanol adalah salah satu upaya yang tepat, dikarenakan pemanfaatan limbah dari TKKS tidak bersaing dengan bahan atau produk

pangan dan memiliki potensi energi yang cukup besar. Hal tersebut sesuai dengan data hasil penelitian Fuadi (2016) yang menyatakan bahwa kelimpahan TKKS di Indonesia mencapai 6.835.400 ton dengan nilai potensi sebagai bioetanol mencapai 4,37% (v/b) atau sekitar 298.706,98 kiloliter [8, 17].

### 3. FERMENTASI

Teknologi proses pembuatan bioetanol dari limbah dan sampah organik yang dapat dikembangkan secara terintegrasi untuk mengoptimalkan proses adalah sebagai berikut:

#### a. *Separate Hydrolysis and Fermentation* (SHF)

Proses hidrolisis selulosa dan proses fermentasi berlangsung terpisah, sehingga masing-masing proses membutuhkan reaktor yang berbeda. Proses ini mengeluarkan biaya yang cukup besar karena proses hidrolisis merupakan tahapan tersendiri yang perlu waktu, tenaga, investasi reaktor, begitu juga dengan proses fermentasinya.

#### b. *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF)

Proses hidrolisis dan fermentasi berlangsung pada satu reaktor yang sama, sehingga menghemat waktu dan biaya produksi. Produksi enzim untuk proses hidrolisis dilakukan di luar reaktor. Strategi penting dalam proses SSF adalah kondisi operasi yang optimal yaitu meliputi pH dan suhu. Kontrol pH dapat dilakukan dengan penambahan larutan *buffer*, namun untuk kondisi suhu optimum hidrolisis enzimatik dan fermentasi terdapat perbedaan yang menjadikan hal ini sebagai kelemahan dari proses SSF. Suhu optimal untuk enzim selulase pada proses hidrolisis sekitar 45 °C, sedangkan *S. cerevisiae* yang digunakan dalam proses fermentasi memiliki suhu optimal sekitar 35 °C dan tidak aktif pada suhu diatas 40 °C [18]. Namun menurut Tengborg (2000) dan Modenbach (2013) SSF tetap dapat

dilakukan pada suhu optimum proses sebesar 38 °C menggunakan *T. reesei cellulase* dan *S. Cerevisiae* [19,20].

#### c. *Consolidated Bioprocessing* (CPB)

CPB merupakan proses yang hampir sama dengan SSF yaitu proses hidrolisis dan fermentasi dalam satu reaktor, akan tetapi di dalam reaktor yang sama juga dilakukan pertumbuhan mikroba atau enzim penghidrolisis [21]. Beberapa mikroorganisme yang digunakan untuk proses CBP seperti *Neurospora crassa*, *Monilia SHAL.*, and *Paecilomyces SHAL.* Namun membutuhkan waktu yang lama sekitar 12 hari dengan kadar etanol yang sangat rendah dan produk samping yang tinggi seperti asam asetat [22].

Waktu dan efektivitas proses merupakan beberapa hal penting yang harus dipertimbangkan dalam menentukan metode fermentasi terbaik untuk menghasilkan bioetanol. Berdasarkan pengertian ketiga teknologi proses pembuatan bioetanol yang telah dipaparkan sebelumnya, SSF atau *Simultaneous Saccharification Fermentation* adalah metode yang paling tepat karena efisien waktu, proses, dan juga rendah resiko.

**Tabel 3.** Perbandingan metode SHF, SSF, dan CBP [23]

No	Metode	Waktu (jam)	Yield Etanol (w/w)
1	SHF	72	0,4
2	SSF	48	0,4
3	CBP	48	0,24

Menurut Muryanto (2016), proses SSF lebih menguntungkan karena dapat mengurangi efek penghambatan proses yang disebabkan akumulasi monosakarida dan disakarida, meningkatkan laju sakarifikasi dan fermentasi sehingga menghasilkan etanol yang lebih tinggi, dan mengurangi waktu proses dan biaya produksi [24].

Hasil penelitian pada Tabel 3 menunjukkan bahwa proses CBP menghasilkan *yield* 0,24 (w/w) dengan waktu proses 48 jam, proses SSF menghasilkan *yield* lebih besar yaitu 0,4

(w/w) dengan waktu proses 48 jam. Sedangkan proses SHF menghasilkan *yield* yang sama dengan SSF 0,4 (w/w) namun dengan waktu proses yang lebih lama yaitu 72 jam. Tabel 3 memberi simpulan bahwa metode SSF adalah metode yang paling efektif untuk menghasilkan bioetanol, dengan waktu yang lebih singkat menghasilkan *yield* yang lebih besar. Metode SSF juga lebih direkomendasikan oleh Loebis (2015) pada penelitiannya yang menghasilkan persen etanol 0,27% lebih besar dibanding metode SHF [25].

Menurut Hermiati (2010), proses SSF memiliki keunggulan dibandingkan dengan proses hidrolisis dan fermentasi bertahap. Beberapa keunggulan tersebut adalah meningkatkan kecepatan hidrolisis dengan mengonversi gula yang terbentuk dari hasil hidrolisis selulosa yang menghambat aktivitas enzim selulase, mengurangi kebutuhan enzim, meningkatkan rendemen produk, mengurangi kebutuhan kondisi steril karena glukosa langsung dikonversi menjadi etanol, waktu proses lebih pendek, volume reaktor lebih kecil karena hanya digunakan satu reaktor, dan proses SSF lebih toleran terhadap senyawa inhibitor yang terbentuk atau yang berasal dari proses perlakuan pendahuluan yang biasanya terdapat dalam fraksi cairan. Inhibitor yang terbentuk misalnya asam asetat, berpengaruh negatif

terhadap hidrolisis enzimatis, pengaruh negatif ini menurun jika menggunakan proses SSF [26].

#### 4. PRETREATMENT

Proses kimia pada SSF adalah proses sakarifikasi dan fermentasi yang terjadi secara serentak. Namun untuk menunjang keberhasilan proses tersebut perlu dilakukan *pretreatment* atau perlakuan awal pada bahan baku. Perlakuan awal pada bahan baku bertujuan untuk mendapatkan selulosa dan mengeliminasi keberadaan lignin. Keberadaan lignin dalam proses hidrolisis akan menghambat enzim atau larutan asam basa untuk mengurai selulosa menjadi glukosa. Beberapa jenis *pretreatment* telah dilakukan oleh beberapa peneliti yaitu sebagai berikut:

##### a. *Pretreatment* secara fisika

*Pretreatment* secara fisika bertujuan mengurangi ukuran partikel substrat. Pengurangan ukuran bahan baku menjadi bagian-bagian kecil merupakan salah satu cara yang paling efektif untuk meningkatkan aksesibilitas enzim ke bahan lignoselulosa. Keunggulan utama dari metode ini adalah ramah lingkungan karena tidak menggunakan bahan-bahan kimia dan tidak menghasilkan residu berbahaya. Berbagai perlakuan secara fisika dapat dilihat pada Tabel 4.

**Tabel 4.** Metode *pretreatment* fisika untuk produksi bioetanol berbagai substrat

Metode	Bahan Baku	Referensi
<i>Ball Mill Reactor</i>	Serpihan kayu <i>Pseudotsuga menziesii</i>	[27]
Ultrasonik	Tandan kosong kelapa sawit	[28]
<i>Steam Pretreatment</i>	Kayu cemara, jerami gandum, dan bagas tebu, TKKS, rumput gajah ( <i>Mischantus</i> ), rumput <i>Typha capensis</i> , dan silase jagung	[29] [30] [31]
<i>Pyrolysis</i>	Tandan kosong kelapa sawit	[32]
Iradiasi Sinar Gamma	Kulit kayu pohon poplar ( <i>Populus alba</i> )	[33]

Tabel 4 menunjukkan bahwa tandan kosong kelapa sawit banyak digunakan pada berbagai *pretreatment* untuk

dijadikan substrat. Penggunaan *ball mill* pada proses *pretreatment* dan hidrolisis disertai pemakaian enzim dengan kadar

rendah (10 unit kertas saring/gram selulosa) dapat menghidrolisis bahan lignoselulosa secara sempurna (100% hidrolisis) [27]. Penggunaan iradiasi sinar gamma pada proses *pretreatment* kulit kayu pohon poplar (*Populus alba*) mampu menghasilkan hingga 56,1% gula pereduksi hasil hidrolisis [33]. Penggunaan iradiasi sinar gamma yang diikuti oleh *pretreatment* dengan asam sulfur 3% bahkan mampu meningkatkan hasil gula pereduksi hingga 83,1%. Penelitian yang dilakukan oleh Yunus (2010) menunjukkan bahwa *pretreatment* tandan kosong kelapa sawit dengan menggunakan ultrasonikasi pada 90% amplitudo selama 45 menit menghasilkan xilosa sebesar 58% [28]. Jika dibandingkan tanpa perlakuan ultrasonikasi, xilosa yang dihasilkan hanya 22%. *Pretreatment* dengan menggunakan uap merupakan salah satu pilihan paling ekonomis untuk diterapkan pada produksi bioetanol untuk substrat tandan kosong kelapa sawit, dikarenakan pada proses ekstraksi minyak kelapa sawit, uap terus dihasilkan oleh boiler di pabrik untuk pembangkit listrik dan untuk sterilisasi. Hasil hidrolisis tandan kosong

kelapa sawit dengan *pretreatment* uap ini mampu menghasilkan 30% gula pereduksi [34].

b. *Pretreatment* secara kimiawi

Proses *pretreatment* secara kimiawi mempunyai tujuan utama untuk meningkatkan biodegradasi selulosa yaitu dengan menghilangkan lignin. *Pretreatment* secara kimia dapat dilihat pada Tabel 5. Metode *pretreatment* secara kimiawi dapat dilakukan pada suhu tinggi (180 °C) dalam waktu singkat atau menggunakan suhu yang lebih rendah (120 °C) tetapi dalam waktu yang lebih lama (30-90 menit) [35]. Berbagai larutan asam yang dapat digunakan antara lain asam sulfat ( $H_2SO_4$ ), asam klorida (HCl), asam nitrat ( $HNO_3$ ) dan asam fosfat ( $H_3PO_4$ ) [36]. Selain pelarut asam, pelarut lain yang lebih efektif dan banyak digunakan adalah pelarut basa. Pengolahan biomassa lignoselulosa umumnya menggunakan basa seperti natrium, kalium, kalsium, dan amonium hidroksida. Pemakaian larutan basa menyebabkan perubahan struktur lignin dengan cara mendegradasi ester dan rantai samping glikosidanya [37].

**Tabel 5.** *Pretreatment* kimia pada produksi glukosa

Metode	Bahan Baku	Hasil	Referensi
2% $H_2SO_4$ , 121 °C, 15 psi, 60 menit	Jerami gandum dan sorgum	0,27 – 0,34% g/g glukosa	[38, 39]
0,8 mol/L $H_2SO_4$ , 121 °C 15 menit	Bagas jambu mete	0,47 g/g glukosa	[40]
2 g/L $Na_2CO_3$ , 195 °C, 10 menit, 12 bar	Jerami gandum dan rumput semanggi	25 g/L glukosa	[41]
0,38M $H_2SO_4$ , 150 °C, 30 menit	Bagas tebu	41,3% gula pereduksi	[42]
1N $H_2SO_4$ , suhu ruang, 24 jam	Jerami gandum dan batang pisang	2,75g/L dan 1,9g/L etanol	[43]
8% $NaHSO_3$ , dan 1% $H_2SO_4$ , 180 °C, 30 menit	Tandan kosong kelapa sawit	0,318 g/g glukosa	[11, 44]

- NaOH, KOH, Ca(OH)<sub>2</sub>, dan NH<sub>4</sub>OH merupakan larutan basa yang terbukti efektif mendegradasi biomassa lignoselulosa. Sebagai contoh, NaOH mampu meningkatkan tingkat degradasi kayu keras dari 14% menjadi 55% dengan cara mengurangi kadar ligninnya dari 55% menjadi 20% [45].
- c. *Pretreatment organosolv*  
Metode *pretreatment organosolv* menggunakan pelarut organik/aqueous (etanol, metanol, etilen glikol, dan gliserol) untuk mengekstrak lignin dan meningkatkan aksesibilitas selulase. Pelarut organik yang dicampur dengan air digunakan untuk merendam biomassa untuk selanjutnya dipanaskan pada suhu 100-250 °C. Penambahan asam (HCl, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, oksalat, atau salisilat) sebagai katalis dilakukan jika proses dibawah suhu 185-210 °C [46]. Masalah utama pada metode ini adalah diperlukannya proses penghilangan pelarut menggunakan evaporasi atau kondensasi. Pemisahan pelarut dilakukan agar tidak menghambat proses hidrolisis enzimatik dan fermentasi oleh mikroorganisme. Masalah lainnya adalah harga pelarut yang relatif mahal dan tingginya zat inhibitor (seperti furfural dan fenol) yang dihasilkan selama proses *pretreatment* [47].
- d. *Pretreatment biologis*  
*Pretreatment biologis* menggunakan bantuan mikroorganisme pendegradasi kayu dan zat penyusunnya seperti lignin, hemiselulosa, dan selulosa. Kelompok utama mikroorganisme tersebut adalah jamur pembusuk putih dan coklat, serta jamur pembusuk lunak. Mikroorganisme tersebut diketahui mampu merubah komposisi kimia dan struktur biomassa lignoselulosa [47]. Berbagai jamur pelapuk putih seperti *Phanerochaete chrysosporium*, *Ceriporia lacerata*, *Cyathus stercoleris*, *Ceriporiopsis subvermispora*, *Pycnoporus cinnabarinus*, dan *Pleurotus ostreatus* memiliki efisiensi delignifikasi yang tinggi [48]. Beberapa kelebihan *pretreatment* ini adalah biaya rendah, pemakaian energi yang rendah, tidak menggunakan bahan kimia, dampak terhadap lingkungan sedikit, dan tidak dihasilkan zat inhibitor. Kekurangan metode ini adalah laju hidrolisis yang rendah, sebagian besar mikroorganisme lignolitik mengkonsumsi tidak hanya lignin tetapi juga hemiselulosa dan selulosa, proses *pretreatment* memerlukan waktu yang lama dan pertumbuhan mikroorganisme perlu terus dikontrol [37].
- e. *Pretreatment ozonolysis*  
*Pretreatment ozonolysis* dilakukan pada kondisi atmosfer, suhu ruangan, dan tekanan yang normal. Ozon (O<sub>3</sub>) merupakan molekul yang mempunyai tingkat delignifikasi yang tinggi. Metode *ozonolysis* ini menghasilkan senyawa hasil degradasi hemiselulosa dan selulosa yang sangat sedikit. Hal itu terjadi karena *ozonolysis* terbatas untuk degradasi lignin saja, hemiselulosa sedikit terdegradasi, sedangkan selulosa tidak sama sekali [47]. Penggunaan ozon dalam jumlah besar menjadikan metode ini kurang layak secara ekonomi.
- f. *Pretreatment steam explosion*  
*Pretreatment steam explosion* merupakan gabungan dari fisika dan kimia. Pada metode ini biomassa diberi tekanan uap tinggi, selanjutnya tekanan dikurangi secara tiba-tiba, yang menyebabkan biomassa mengalami dekompresi eksplosif. Tekanan yang dikurangi secara tiba-tiba menyebabkan ledakan dekompresi, yang berakibat serat-serat biomassa terpisah. Pada metode ini juga terjadi hidrolisis (autohidrolisis) dari gugus asetil pada hemiselulosa. Autohidrolisis gugus asetil pada suhu tinggi menghasilkan asam asetat. Selain itu air pada suhu tinggi dapat bersifat seperti asam [37]. Berbagai kombinasi *pretreatment* fisika dan kimia telah dilakukan seperti penelitian berikut pada Tabel 6.

**Tabel 6.** *Pretreatment* fisika-kimia untuk produksi bioetanol

Metode	Proses	Referensi
Rangkaian alkalin peroksida dan <i>steam explosion</i>	Perlakuan larutan basa alkalin (contoh: 1%NaOH dan 1 wt% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) yang dilanjutkan dengan <i>steam explosion</i> .	[49]
<i>Ionic liquids</i> dan <i>steam explosion</i>	Berbagai larutan organosolv digunakan untuk melarutkan biomassa untuk mendegradasi selulosa. Selanjutnya <i>steam explosion</i> mendegradasi hemiselulosa. Lignin dapat dipisahkan dengan mudah karena senyawa tersebut tidak larut dalam <i>ionic liquids</i>	[50]
Ekstraksi organosolv dan <i>steam explosion</i>	Berbagai campuran larutan organik dan air (etanol-H <sub>2</sub> O, aseton-H <sub>2</sub> O, atau methanol-H <sub>2</sub> O) digunakan untuk pretreatment awal. Kadang asam (HCl) ditambahkan sebagai katalis. Proses dilanjutkan menggunakan <i>steam explosion</i>	[51]

Dari uraian beberapa metode *pretreatment* di atas digunakan 2 metode *pretreatment* yang dilakukan yaitu *size reduction* yang berguna untuk menyeragamkan ukuran substrat menjadi lebih kecil, karena semakin besar luas permukaan objek yang bereaksi maka akan semakin efektif reaksi yang bekerja. Permatasari (2014) menyatakan ada beberapa faktor yang mempengaruhi delignifikasi secara fisika, salah satunya ukuran sampel [52]. Ukuran sampel dapat mempengaruhi porositas yang kemudian mempengaruhi kontak terhadap delignifikator. Selain itu, pengecilan ukuran sampel akan memutuskan rantai polimer yang panjang menjadi rantai polimer yang lebih pendek sehingga memudahkan pemisahan lignin dari ikatan selulosa. Semakin kecil ukuran sampel maka akan semakin mudah dalam mendegradasi lignin. Alat untuk mereduksi ukuran substrat TKKS yang umum digunakan adalah *hammer mill*.

Tahap *pretreatment* dapat disebut sebagai proses delignifikasi, menurut Usmana (2012), tujuan dari delignifikasi adalah untuk membuka struktur lignoselulosa agar selulosa menjadi lebih mudah diakses oleh enzim yang memecah polimer polisakarida

menjadi monomer gula [53]. Rika (2012) berpendapat bahwa proses delignifikasi adalah proses pemisalan lignin dari struktur lignoselulosa seperti NaOH, NH<sub>4</sub>OH dan KOH. Pelarut yang paling baik digunakan adalah NaOH. Hemiselulosa memiliki struktur amorf sehingga penggunaan NaOH dapat menghilangkan lignin sekaligus hemiselulosa [54].

Dalam penelitian Safaria (2013) larutan NaOH dapat menyerang dan merusak struktur lignin pada bagian kristalin dan amorf serta memisahkan sebagian hemiselulosa sehingga menyisakan sebagian besar selulosa pada substrat. Ion OH<sup>-</sup> dari NaOH akan memutuskan ikatan-ikatan dari struktur dasar lignin sedangkan ion Na<sup>+</sup> akan berikatan dengan lignin membentuk natrium fenolat. Garam fenolat ini bersifat mudah larut. Lignin yang terlarut ditandai dengan warna hitam pada larutan yang disebut lindi hitam (*black liquor*). Setelah proses delignifikasi dilakukan perendaman dengan air untuk menetralkan pH sampel dan membuang lignin yang terlarut dalam larutan tersebut. Substrat yang sudah dicuci, dikeringkan untuk menghilangkan kadar air yang terdapat dalam sampel, dilakukan

dengan cara mengeringkan sampel hingga didapat berat konstan sampel. Hasil yang diperoleh yaitu penurunan berat substrat dan perubahan fisik berupa perubahan warna substrat serta penurunan massa sampel. Hal ini diakibatkan kandungan lignin yang terdapat pada substrat telah hilang dan lepas sehingga didapatkan sampel selulosa yang akan digunakan untuk proses sakarifikasi dan fermentasi [55].

Permatasari (2014) telah melakukan penelitian yang membandingkan antara kinerja  $H_2SO_4$  dan NaOH dalam kinerjanya terhadap proses delignifikasi. Hasil penelitian ditunjukkan pada Tabel 7. Dari Tabel 7 dapat ditarik kesimpulan bahwa semakin pekat kadar zat delignifikator maka

kadar lignin yang terurai semakin besar. Sehingga dari kedua larutan dapat disimpulkan pengurai lignin terbesar adalah  $H_2SO_4$  2,5% sedangkan untuk NaOH kadar optimumnya adalah 6% karena lignin terurai sejalan dengan peningkatan konsentrasi NaOH.

Kadar lignin terurai terus mengalami peningkatan hingga hampir mencapai titik konstan pada konsentrasi 6,0%, 8,0%, dan 10% dengan angka kadar lignin terurai sebesar 9,98%, 10%, dan 10,03%. Jadi, dapat disimpulkan bahwa pelarut terbaik adalah NaOH dengan konsentrasi NaOH optimum untuk delignifikasi adalah 6% [52].

**Tabel 7.** Perbandingan delignifikasi  $H_2SO_4$  dan NaOH [52]

No	$H_2SO_4$		NaOH	
	Konsentrasi (%)	Lignin Terurai (%)	Konsentrasi (%)	Lignin Terurai (%)
1	0,5	1,64	2	1,27
2	1	2,52	4	5,81
3	1,5	3,29	6	9,98
4	2	4,82	8	10,00
5	2,5	5,37	10	10,03

## 5. HIDROLISIS

Proses selanjutnya adalah SSF dengan metode pengumpanan *fed batch* atau pengumpanan berkala, menurut Sarah (2018) dan Harimawan (2016) metode *fed batch* dapat meningkatkan optimasi proses hidrolisis enzimatis. Enzim mempunyai dua fungsi pokok yaitu mempercepat atau memperlambat reaksi kimia dan mengatur sejumlah reaksi yang berbeda-beda dalam waktu yang sama. Enzim dapat meningkatkan kecepatan reaksi kimia berkali-kali lipat [56]. Bentuk optimasi hidrolisis enzimatis adalah dengan terjadinya peningkatan konsentrasi glukosa hingga 17%. *Total solid loading* yang mampu dimuat pada metode pengumpanan *fed batch* lebih tinggi, yaitu sebesar 25% (w/v) dibanding metode *batch* yaitu sebesar 10% (w/v). Untuk mencapai kadar bioetanol yang tinggi maka jumlah selulosa yang akan

dikonversikan harus besar. Jumlah selulosa yang dikonversikan besar, maka jumlah glukosa yang dihidrolisis harus semakin besar pula. Glukosa hasil hidrolisis, selulosa, dan kadar bioetanol yang tinggi bisa didapat jika jumlah substrat yang diumpankan dalam jumlah yang besar pula [9].

*High total solid loading* atau HTSL adalah cara tepat untuk mencapai kadar bioetanol yang tinggi. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Harimawan (2016), *total solid loading* yang digunakan mencapai 25% (w/v). Penelitian menggunakan HTSL 35% (w/v) yang kandungan air bebas sangat sedikit, menurut Modenbach (2013) akan mempersulit reaksi hidrolisis karena fungsi air bebas sebagai media perpindahan massa dan pelumasan. Selain itu tumbukan partikel solid dari umpan akan menyebabkan gesekan yang semakin besar diikuti dengan peningkatan viskositas, sehingga hal yang

pasti terjadi adalah pengadukan yang sukar dan membutuhkan enzim yang cukup banyak untuk mencapai glukosa hasil hidrolisis yang lebih besar. Akibat lain adalah terjadi inhibisi yang besar pula, sehingga metode *fed batch* sangat cocok untuk mengatasi permasalahan pada HTSL 35%. Reaksi akan terjadi lebih efisien karena kontak antara padatan (substrat TKKS) dan zat cair (enzim dan buffer) menjadi lebih optimal sehingga proses hidrolisis terjadi lebih baik karena inhibitor produk dan substrat tidak terjadi sebesar metode *batch* [9, 54].

Metode *fed batch* merupakan metode pengumpanan berkala, sehingga jumlah tiap kali pengumpanan perlu diperhatikan sebagai langkah optimasi proses SSF agar mendapat hasil yang maksimum. Strategi pengumpanan berkala perlu diperhatikan dalam hal variasi frekuensi dan jumlah yang diumpankan. Sehingga ketika jumlah glukosa besar maka jumlah etanol akan besar karena antara jumlah glukosa dan jumlah etanol berbanding lurus.

Sistem *fed batch* merupakan suatu sistem yang menambahkan substrat baru secara teratur pada kultur tertutup ke dalam

bioreaktor dengan volume tertentu hingga diperoleh produk yang mendekati maksimal namun konsentrasi sumber nutrisi dibuat konstan dengan volume kultur makin lama makin bertambah tanpa mengeluarkan cairan kultur yang ada di dalam fermentor [57]. Keuntungan yang didapat dengan sistem *fed batch* ialah konsentrasi sisa substrat terbatas dan dapat dipertahankan pada tingkat yang sangat rendah sehingga dapat mencegah fenomena represi katabolit atau inhibisi substrat.

Tabel 8 menunjukkan bahwa kinerja dari fermentasi sangat baik karena konsentrasi etanol yang dihasilkan lebih dari 40 g/L. Ketika konsentrasi massa sel menurun menjadi 2 dan 3 g/L, produktivitas etanol selama 24 jam pertama dan terutama 7 jam pertama jauh lebih tinggi selama percobaan *fed batch* dibandingkan dengan percobaan *batch*. Upaya meningkatkan produktivitas etanol lebih lanjut, maka laju hidrolisis enzimatik harus ditingkatkan [58]. Penelitian serupa juga dilakukan oleh Aini (2017) dengan sistem perlakuan dapat dilihat pada Tabel 9 [59].

**Tabel 8.** Percobaan *fed batch* dan *batch* [58]

<i>SSF-index</i>	<i>Pretreatment batch</i>	<i>Time between slurry additions (h)</i>	<i>N<sub>2</sub>-flushing</i>	<i>Cell mass concentration (g/L)</i>	<i>Final ethanol concentration (g/L)</i>
a	1	<i>Batch</i>	<i>Yes</i>	5	42,6
b	1	1,5	<i>Yes</i>	5	44,0
c	1	3	<i>Yes</i>	5	40,0
d	1	5	<i>Yes</i>	5	43,5
e	2	<i>Batch</i>	<i>Yes</i>	5	44,5
f	2	1,5	<i>Yes</i>	5	44,5
g	2	<i>Batch</i>	<i>Yes</i>	3	41,9
h	2	1,5	<i>Yes</i>	3	43,7
i	2	<i>Batch</i>	<i>Yes</i>	2	41,6
j	2	1,5	<i>Yes</i>	2	41,0
k	2	<i>Batch</i>	<i>No</i>	5	42,2
l	2	1,5	<i>No</i>	5	42,2

Tabel 9 merupakan konfigurasi percobaan yang telah dilakukan oleh Aini (2017). Hasil yang telah didapatkan adalah pada percobaan ke-3 menggunakan

pengumpanan enzim secara *fed batch*, nilai gula pereduksi naik pada kadar padatan 10% sampai 18%. Hal ini terjadi karena semakin tinggi kadar padatan maka kada selulosa akan

semakin tinggi pula sehingga akan banyak selulosa yang terhidrolisis menjadi glukosa. Dari penelitian tersebut didapatkan konsentrasi gula pereduksi mencapai

maksimum pada proses sakarifikasi dengan pengumpanan lumpur dan enzim secara *fed batch* pada kadar 18% yaitu mencapai 43,899 g/L dengan efisiensi sakarifikasi 60,03%.

**Tabel 9.** Variasi konfigurasi pengumpanan berkala (*fed batch*) [59]

Perlakuan	Pengumpanan Substrat	Kadar Padatan	Waktu Pengumpanan dan Jumlah Umpan (g)				Pengumpanan Enzim
			Jam ke 0	Jam ke 6	Jam ke 24	Jam ke 30	
1	<i>Fed batch</i>	10	6	4	-	-	<i>Batch</i>
2	<i>Fed batch</i>	10	6	4	-	-	<i>Fed batch</i>
3	<i>Fed batch</i>	14	6	4	4	-	<i>Batch</i>
4	<i>Fed batch</i>	14	6	4	4	-	<i>Fed batch</i>
5	<i>Fed batch</i>	18	6	4	4	4	<i>Batch</i>
6	<i>Fed batch</i>	18	6	4	4	4	<i>Fed batch</i>
7	<i>Batch</i>	10	10	-	-	-	<i>Batch</i>
8	<i>Batch</i>	14	14	-	-	-	<i>Batch</i>
9	<i>Batch</i>	18	18	-	-	-	<i>Batch</i>

Hasil optimum didapat dengan kadar gula pereduksi tertinggi pada *total solid* (TS) 18% sebesar 43 g/l dengan efisiensi 60% dan kadar gula pereduksi terendah diperoleh pada TS 10% dengan kadar gula pereduksi 10,8 g/l dengan efisiensi 11%. Faktor lain yang berpengaruh adalah frekuensi pengumpanan, semakin sedikit frekuensi pengumpanan maka gula pereduksi dan efisiensi menurun hal tersebut tampak pada hasil perbandingan perlakuan 1 terhadap perlakuan 3 dan perlakuan 5, lalu perlakuan 2 terhadap perlakuan 4 dan perlakuan 6. Klasifikasi tersebut dibedakan berdasarkan metode pengumpanan yang digunakan yaitu *batch* dan *fed batch*.

Hasil terbaik didapat pada perlakuan 5 dengan hasil gula pereduksi 23,5 g/l dan efisiensi 48% untuk perlakuan pengumpanan substrat secara *fed batch* sedangkan pengumpanan enzim secara *batch*. Metode *fed batch* untuk pengumpanan substrat dan enzim dengan hasil tertinggi didapa tpada perlakuan 6 dengan kadar gula pereduksi 43 g/l dan efisiensi 60 %. Perbedaan hasil yang cukup signifikan dikarenakan perbedaan metode pengumpanan yaitu *batch* dan *fed batch* [59].

Pada masing-masing TS hasil perlakuan menunjukkan angka hasil gula pereduksi terbesar. Hasil penelitian Aini (2017) sesuai dengan penelitian Leoanggraini (2012) yang menyatakan bahwa penambahan konsentrasi substrat pada proses fermentasi *fed batch* akan berpengaruh pada produktivitas bakteri dan jumlah biomassa yang diinginkan. Penambahan substrat pada suatu batas konsentrasi tertentu, dapat meningkatkan produktivitas bakteri dan jumlah biomassa dari produk yang diinginkan [57,58].

Tahap awal SSF adalah hidrolisis meliputi proses pemecahan polisakarida menjadi monomer gula penyusunnya. Proses hidrolisis terdiri dari:

- Proses hidrolisis dengan katalis asam
- Proses hidrolisis dengan katalis enzim

Secara umum perbedaan dari kedua metode menunjukkan bahwa dengan menggunakan katalis asam memerlukan waktu yang lebih cepat dibandingkan dengan katalis enzim namun kondisi operasinya relatif lebih tinggi jika dilihat dari tekanan dan suhu dibanding katalis enzim sedangkan pada pH lebih rendah. Hal ini dapat memperbesar biaya operasi selama proses berjalan dan biaya perawatan. Jika dilihat dari konversi glukosa

diperoleh katalis enzim lebih besar dari katalis asam.

Hidrolisis menggunakan katalis asam menyebabkan terjadinya pemutusan rantai secara acak yang terdiri dari 2 tahap yaitu pati menjadi maltosa dan maltosa menjadi dekstrosa sehingga pada tahap ini memungkinkan terbentuknya produk samping [61]. Larutan asam kuat encer memiliki kelemahan karena berpotensi menghasilkan produk samping seperti furfural dan hidroksi metil furfural (HMF) yang dapat menghambat proses fermentasi, mencemari lingkungan, misalnya menghasilkan residu berupa gipsum, selain memerlukan alat-alat proses yang terbuat dari bahan yang tahan terhadap kondisi asam dan suhu tinggi. Penggunaan asam pekat akan berisiko sulit dipisahkan sedangkan jika menggunakan asam lemah maka batas efisiensi hidrolisis hanya mencapai 50%,

membutuhkan alat yang tahan kuat dan tahan terhadap korosi karena bahan yang termuat didalamnya adalah asam, dan memungkinkan terbentuk senyawa inhibitor. Hidrolisis menggunakan katalis enzim menawarkan banyak keuntungan seperti pemutusan rantai yang terjadi secara spesifik, proses lebih cepat, efisiensi hidrolisis mencapai 96-98% sehingga dapat mempertahankan *flavour* atau aroma substrat [23]. Beberapa peneliti telah melakukan perbandingan kinerja asam dan enzim dalam melakukan hidrolisis Devita (2015) dan Fuadi (2017) yang menarik kesimpulan bahwa hidrolisis enzim lebih baik dengan data hasil penelitian pada Tabel 10 [60,61]. Dari Tabel 10 dapat disimpulkan bahwa hidrolisis menggunakan enzim lebih baik dibanding asam. Enzim merupakan protein yang berfungsi sebagai katalis untuk proses biokimia.

**Tabel 10.** Perbandingan hidrolisis asam dan enzim

No	Jenis	Referensi	Waktu (jam)	Temperatur (°C)	Glukosa Hasil (mg)
1	Asam	[62]	4	130	30,5
		[63]	5	90	0,097
2	Enzim	[62]	2	60	38,7
		[63]	4	90	35,06

Proses hidrolisis pada studi literatur, umumnya memanfaatkan enzim selulase, enzim selulase atau enzim yang dikenal dengan nama sistematik  $\beta$ -1,4 glukano hidrolase adalah enzim yang dapat menghidrolisis selulosa dengan memutus ikatan glikosidik  $\beta$ -1,4 dalam selulosa, selodektrin, selobiosa, dan turunan selulosa lainnya menjadi gula sederhana atau glukosa. Enzim selulase dimanfaatkan juga dalam proses fermentasi dari biomassa menjadi *biofuel* seperti bioetanol dan juga digunakan sebagai pengganti bahan kimia pada proses pembuatan alkohol dari bahan yang mengandung selulosa. Keberadaan enzim selulase dalam suatu reaksi dapat memaksimalkan konversi selulosa menjadi gula sederhana dan etanol yang dihasilkan lebih tinggi [64].

## 6. KESIMPULAN

Semakin tinggi konsentrasi substrat yang diumpankan maka glukosa hasil hidrolisis dan kadar bioetanol yang dicapai semakin tinggi, sehingga *total solid loading* yang direkomendasikan sebesar > 15% (*High Total Solid Loading*) dengan metode pengumpulan *fed batch* pada proses hidrolisis. Proses kimia yang terjadi pada SSF adalah sakarifikasi dan fermentasi yang terjadi secara serentak. Kadar etanol yang terbentuk dengan proses SSF lebih besar dibandingkan dengan proses CBP, dan memiliki waktu yang relatif cepat dibandingkan dengan proses SHF. Sehingga dipilihnya proses SSF tersebut karena menghasilkan kadar etanol yang besar dengan proses yang lebih singkat dibandingkan proses yang lainnya. SSF

paling cepat dilakukan dalam kurun waktu 48 jam.

#### DAFTAR PUSTAKA

- [1] IEA, *Global Energy Review 2019*. IEA Publications, 2019.
- [2] W. Hermawati, *Konversi Biomassa untuk Energi Alternatif di Indonesia: Tinjauan Sumber Daya, Teknologi, Manajemen, dan Kebijakan*. Jakarta: LIPI Press, 2014.
- [3] L. Parinduri, T. Parinduri, Konversi Biomassa Sebagai Sumber Energi Terbarukan, *JET (Journal Electr. Technol.*, vol. 5, no. 2, hal. 88–92, 2020.
- [4] BPS, *Direktori Perusahaan Perkebunan Sawit*. Jakarta: CV. Dharmaputra, 2017.
- [5] N. Kamal, Karakterisasi dan Potensi Pemanfaatan Limbah Sawit, *Itenas Libr.*, hal. 61–68, 2012.
- [6] S. Salmina, Studi Pemanfaatan Limbah Tandan Kosong Kelapa Sawit Oleh Masyarakat Di Jorong Koto Sawah Nagari Ujung Gading Kecamatan Lembah Melintang, *J. Spasial*, vol. 3, no. 2, 2017.
- [7] J. Purnomo, Irianto, Rekayasa Pembuatan Bioetanol Berbahan Baku Limbah Tandan Kosong Kelapa Sawit pada Perlakuan Lama Fermentasi dan Dosis Ragi dengan Metode Hot Compressed-Water Temperatur 220°C, *Jurnal Pertanian*, vol. 11, no. 1, hal. 15-20, 2020.
- [8] A. M. Fuadi, H. Pranoto, Pemanfaatan Limbah Tandan Kosong Kelapa Sawit Sebagai Bahan Baku Pembuatan Glukosa, *Chem. J. Tek. Kim.*, vol. 3, no. 1, hal. 1, 2016.
- [9] Y. Eko, C. Sugiharto, A. Harimawan, R. Purwadi, T. M. HAL. A. Kresnowati, R. Mariyana, R. Mariyana, H. Nur, Bioresource Technology Enzyme feeding Strategies for Better Fed-batch Enzymatic Hydrolysis of Empty Fruit Bunch, *Bioresour. Technol.*, vol. 207, hal. 175–179, 2016.
- [10] J. B. Kristensen, C. Felby, H. Jørgensen, Determining Yields in High Solids Enzymatic Hydrolysis of Biomass, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, vol. 156, no. 1–3, hal. 127–132, 2009.
- [11] L. Tan, Y. Yu, X. Li, J. Zhao, Y. Qu, Y. M. Choo, S. K. Loh, Pretreatment of empty fruit bunch from oil palm for fuel ethanol production and proposed biorefinery process., *Bioresour. Technol.*, vol. 135, hal. 275–282, 2013.
- [12] Y. A. Ningsih, K. R. Lubis, R. Moeksin, Pembuatan Bioetanol Dari Tandan Kosong Kelapa Sawit ( Tkks ) Dengan Metode Hidrolisis Asam Dan Fermentasi, *Jurnal Teknik Kimia*, vol. 18, no. 1, hal. 30–34, 2012.
- [13] K. Hoyer, M. Galbe, G. Zacchi, Effects of enzyme feeding strategy on ethanol yield in fed-batch simultaneous saccharification and fermentation of spruce at high dry matter., *Biotechnol. Biofuels*, vol. 3, hal. 14, 2010.
- [14] A. Modenbach, S. E. Nokes, Enzymatic Hydrolysis of Biomass at High Solids Loadings - A review, *Biomass and Bioenergy*, vol. 56, hal. 526–544, 2013.
- [15] N. Abdullah, F. Sulaiman, The Properties of the Washed Empty Fruit Bunches of Oil Palm, *Journal of Physical Science*, vol. 24, no. 2, hal. 117–137, 2013.

- [16] M. T. Ali Sabit, Efek Suhu pada Proses Pengarangan terhadap Nilai Kalor Arang Tempurung Kelapa (Coconut Shell Charcoal), *J. Neutrino*, vol. 3, no. 2, hal. 143–152, 2012.
- [17] Kristina, E. R. Sari, Novia, Alkaline Pretreatment Dan Proses Simultan Sakarifikasi – Fermentasi Untuk Produksi Etanol Dari Tandan Kosong Kelapa Sawit, *Jurnal Teknik Kimia*, vol. 18, no. 3, hal. 34–43, 2012.
- [18] R. B. Nair, HAL. R. Lennartsson, M. J. Taherzadeh, *Bioethanol Production From Agricultural and Municipal Wastes*, no. September 2017. Elsevier B.V., 2017.
- [19] A. A. Modenbach, S. E. Nokes, Enzymatic Hydrolysis Biomass at High Solids Loading - A Review, *Biomass and Bioenergy*, vol. 56, hal. 526-544, 2013
- [20] C. Tengborg, M. Galbe, G. Zacchi, Influence of Enzyme Loading and Physical Parameters on the Enzymatic Hydrolysis of Steam-Pretreated Softwood, *Biotechnology Progress*, vol 17, no. 1, hal. 110–117, 2001.
- [21] H. S. Hafid, N. A. A. Rahman, U. K. M. Shah, A. S. Baharuddin, A. B. Ariff, Feasibility of using kitchen waste as future substrate for bioethanol production: A review, *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 74, no. January, hal. 671–686, 2017.
- [22] D. Szymanowska, W. Grajek, Fed-batch Simultaneous Saccharification and Ethanol Fermentation of Native Corn Starch, *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment*, vol. 8, no. 4, hal. 5–16, 2009.
- [23] E. Hermiati, L. Risanto, S. H. Anita, Y. Aristiawan, Y. Sudiyani, Sakarifikasi Serat Tandan Kosong dan Pelepah Kelapa Sawit setelah Pretreatment Menggunakan Kultur Campuran Jamur Pelapuk putih *Phanerochaete chrysosporium* dan *Trametes versicolor*, *Penelit. Has. Hutan*, vol. 32, no. 2, hal. 111–122, 2014.
- [24] M. Muryanto, Y. Sudiyani, H. Abimanyu, Optimasi Proses Perlakuan Awal NaOH Tandan Kosong Kelapa Sawit untuk menjadi Bioetanol, *J. Kim. Terahal. Indones.*, vol. 18, no. 01, hal. 27–35, 2016.
- [25] E. H. Loebis, Y. R. Meutia, L. Junaidi, R. Alamsyah, Proses Delignifikasi Limbah Pasar untuk Produksi Bioetanol Delignification Process of Market-place Waste for Bioethanol Production, *War. IHP/Journal Agro-based Ind.*, vol. 32, no. 2, hal. 68–74, 2015.
- [26] E. Hermiati, D. Mangunwidjaja, T. C. Sunarti, O. Suparno, Pemanfaatan biomassa lignoselulosa ampas tebu untuk produksi bioetanol, *J. Penelit. dan Pengemb. Pertan.*, vol. 29, no. 4, hal. 121–130, 2017.
- [27] U. Mais, A. R. Esteghlalian, J. N. Saddler, S. D. Mansfield, Enhancing the enzymatic hydrolysis of cellulosic materials using simultaneous ball milling., *Appl. Biochem. Biotechnol.*, vol. 98–100, hal. 815–832, 2002.
- [28] R. Yunus, S. F. Salleh, N. Abdullah, D. R. A. Biak, Effect of ultrasonic pre-treatment on low temperature acid hydrolysis of oil palm empty fruit bunch, *Bioresour. Technol.*, vol. 101, no. 24, hal. 9792–9796, 2010.
- [29] K. Kovacs, S. Macrelli, G. Szakacs, G. Zacchi, Enzymatic hydrolysis of steam-pretreated lignocellulosic materials with *Trichoderma atroviride* enzymes produced in-house, *Biotechnol. Biofuels*, vol. 2, no. 1, hal.

- 14, 2009.
- [30] Y. HAL. Timilsena, C. J. Abeywickrama, S. K. Rakshit, N. Brosse, Effect of different pretreatments on delignification pattern and enzymatic hydrolysability of miscanthus, oil palm biomass and typha grass., *Bioresour. Technol.*, vol. 135, hal. 82–88, 2013.
- [31] J. Xu, M. H. Thomsen, A. B. Thomsen, Feasibility of Hydrothermal Pretreatment on Maize Silage for Bioethanol Production, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, vol. 162, no. 1, hal. 33–42, 2010.
- [32] M. Misson, R. Haron, M. F. A. Kamaroddin, N. A. S. Amin, Pretreatment of empty palm fruit bunch for production of chemicals via catalytic pyrolysis., *Bioresour. Technol.*, vol. 100, no. 11, hal. 2867–2873, 2009.
- [33] B. Y. Chung, J. T. Lee, H.W. Bai, U.J. Kim, H. J. Bae, J. Y. Cho, Enhanced enzymatic hydrolysis of poplar bark by combined use of gamma ray and dilute acid for bioethanol production, *Radiat. Phys. Chem.*, vol. 81, no. 8, hal. 1003–1007, 2012.
- [34] N. Aklis, M.A Riyadi, G. Rosyadi, T. Cahyanto, Studi Eksperimen Konversi Biomassa menjadi SynGas pada Reaktor Bubbling Fluidized Bed Gasifier, in ReTII, (Seminar Nasional ReTII ke 10), Dec. 2015.
- [35] Y. Lu, N. S. Mosier, Current Technologies for Fuel Ethanol Production from Lignocellulosic Plant Biomass BT - Genetic Improvement of Bioenergy Crops, W. Vermerris, Ed. New York, NY: Springer New York, 2008, hal. 161–182.
- [36] N. Mosier, C. Wyman, B. Dale, R. Elander, Y. Le, M. Holtzapfle, M. Ladisch, Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass., *Bioresour. Technol.*, vol. 96, no. 6, hal. 673–686, 2005.
- [37] V. Menon, M. Rao, Trends in bioconversion of lignocellulose: Biofuels, platform chemicals & biorefinery concept, *Prog. Energy Combust. Sci.*, vol. 38, no. 4, hal. 522–550, 2012.
- [38] Y. Chen, R. R. Sharma-Shivappa, D. Keshwani, C. Chen, Potential of agricultural residues and hay for bioethanol production., *Appl. Biochem. Biotechnol.*, vol. 142, no. 3, hal. 276–290, 2007.
- [39] M. Chen, L. Xia, HAL. Xue, Enzymatic hydrolysis of corncob and ethanol production from cellulosic hydrolysate, *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, vol. 59, hal. 85–89, 2007.
- [40] M. V. HAL. Rocha, T. H. S. Rodrigues, G. R. de Macedo, L. R. B. Gonçalves, Enzymatic hydrolysis and fermentation of pretreated cashew apple bagasse with alkali and diluted sulfuric Acid for bioethanol production., *Appl. Biochem. Biotechnol.*, vol. 155, no. 1–3, hal. 407–417, 2009.
- [41] M. H. Thomsen, H. Haugaard-Nielsen, Sustainable bioethanol production combining biorefinery principles using combined raw materials from wheat undersown with clover-grass, *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 35, no. 5, hal. 303–311, 2008.
- [42] L. W. Yoon, G. C. Ngoh, A. S. May Chua, M. A. Hashim, Comparison of ionic liquid, acid and alkali pretreatments for sugarcane bagasse enzymatic saccharification, *J. Chem.*

- Technol. Biotechnol.*, vol. 86, no. 10, hal. 1342–1348, 2011.
- [43] S. Thakur, B. Shrivastava, S. Ingale, R. C. Kuhad, A. Gupte, Degradation and selective ligninolysis of wheat straw and banana stem for an efficient bioethanol production using fungal and chemical pretreatment, *3 Biotech*, vol. 3, no. 5, hal. 365–372, 2013.
- [44] Harmaja Simatupang, Andi Nata, Netti Herlina, Studi Isolasi Dan Rendemen Lignin Dari Tandan Kosong Kelapa Sawit (Tkks), *J. Tek. Kim. USU*, vol. 1, no. 1, hal. 20–24, 2012.
- [45] P. Kumar, D. M. Barreet, M. J. Delwiche, P. Stroeve, Methods for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Efficient Hydrolysis and Biofuel Production Methods for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Efficient Hydrolysis and Biofuel Production, *Ind. Eng. Chem. Res.*, vol. 48, no. 8, hal. 3713–3729, 2009.
- [46] J. M. Park, B. R. Oh, J. W. Seo, W. K. Hong, A. Yu, J. H. Sohn, C.H. Kim, Efficient production of ethanol from empty palm fruit bunch fibers by fed-batch simultaneous saccharification and fermentation using *Saccharomyces cerevisiae*., *Appl. Biochem. Biotechnol.*, vol. 170, hal. 1807–14, 2013.
- [47] P. Alvira, E. Tomás-Pejó, M. Ballesteros, M. J. Negro, Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review., *Bioresour. Technol.*, vol. 101, no. 13, hal. 4851–4861, 2010.
- [48] C. Sánchez, Lignocellulosic residues: Biodegradation and bioconversion by fungi, *Biotechnol. Adv.*, vol. 27, no. 2, hal. 185–194, 2009.
- [49] Y. Yamashita, M. Shono, C. Sasaki, Y. Nakamura, Alkaline peroxide pretreatment for efficient enzymatic saccharification of bamboo, *Carbohydr. Polym.*, vol. 79, no. 4, hal. 914–920, 2010.
- [50] A. P. Dadi, S. Varanasi, C. A. Schall, Enhancement of cellulose saccharification kinetics using an ionic liquid pretreatment stehal., *Biotechnol. Bioeng.*, vol. 95, no. 5, hal. 904–910, 2006.
- [51] H. Chen, F. Sun, A Method for Composition Separation of Straw Coupling Steam Explosion with Microwave, China, 200610113216.4, 2008.
- [52] H. R. Permatasari, F. Gulo, B. Lesmini, Pengaruh Konsentrasi H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan NaOH terhadap Delignifikasi Serbuk Bambu ( *Gigantochloa apus* ), *Penelit. dan Pendidik. Kim.*, vol. 1, no. 2, hal. 131–140, 2012.
- [53] Usmana, Rianda, Novia, Pengaruh Volume Enzim dan Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Etanol (Bahan Baku Tandan Kosong Kelapa Sawit dengan Pretreatment Alkali, *J. Saintia Kim.*, vol. 18, no. 2, hal. 17–25, 2012.
- [54] R. J. Sutarno, T. A. Zaharah, N. Indiawati, Hidrolisis Enzimatik Selulosa dari Ampas Sahu Menggunakan Campuran Selulase dari *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus Niger*, *Jurnal Kimia dan Kemasan*, vol. 2, no. 1, hal. 52–57, 2010.
- [55] S. Safaria, N. Idiawati, T. A. Zaharah, Efektifitas Campuran Enzim Selulase dari *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei* dalam Menghidrolisis Substrat

- Sabut Kelapa, *Jurnal Kimia dan Kemasan*, vol. 3, no. 1, hal. 443–444, 2013.
- [56] S. Rulianah, C. Sindhuwati, P. Prayitno, Produksi Crude Selulase dari Limbah Kayu Mahoni Menggunakan Phanerochaete chrysosporium, *J.Tek.Kim.Ling*, vol. 3, hal. 39–46, 2019.
- [57] A. Rudolf, M. Alkasrawi, G. Zacchi, G. Lidén, A comparison between batch and fed-batch simultaneous saccharification and fermentation of steam pretreated spruce, *Enzyme Microb. Technol.*, vol. 37, hal. 195–204, 2005.
- [58] A. Rudolf, M. Alkasrawi, G. Zacchi, G. Lidén, A comparison between batch and fed-batch simultaneous saccharification and fermentation of steam pretreated spruce, *Enzyme Microb. Technol.*, vol. 37, no. 2, hal. 195–204, 2005.
- [59] M. N. Aini, R. S. Soetopo, K. Septiningrum, S. Saepulloh, HAL. B. Asthary, Sakarifikasi Lumpur Primer Industri Kertas Secara Fed Batch Menjadi Glukosa Untuk Pembuatan Bioetanol (Fed Batch Saccharification of Primary Paper Mill Sludge To Produce Fermentable Sugar), *J. Selulosa*, vol. 7, no. 02, hal. 69-78, 2017.
- [60] U. Leoanggraini, Proses Fermentasi Fed Batch Lactobacillus acidophilus Untuk Produksi Probiotik, *J. Refrig. Air Cond. Energy*, vol. 6, no. 1, hal. 678-683, 2012.
- [61] S. Risoyatiningsih, Hidrolisis pati ubi jalar kuning menjadi glukosa secara enzima, *J. Tek. Kim.*, vol. 5, no. 2, hal. 417–424, 2011.
- [62] C. Devita, W. Pratjojo, S. M. R. Sedyawati, Perbandingan Metode Hidrolisis Enzim dan Asam dalam Pembuatan Sirup Glukosa Ubi Jalar Ungu, *Indones. J. Chem. Sci.*, vol. 4, no. 1, hal. 15 - 19, 2015.
- [63] A. M. H. K. Fuadi, Perbandingan Efektifitas Pembuatan Glukosa dari Kertas Bekas Secara Hidrolisis Asam dan Enzim, *Tekmol. Bahan Alam*, vol. 1, no. 1, hal. 6–11, 2017.
- [64] I. B. W. Gunam, Pengaruh Konsentrasi Starter dan Gula terhadap Karakteristik Wine Salak, *J. Ilm. Teknol. Pertan. Agrotechno*, vol. 3, no. 1, hal. 289-296, 2018.