

**BIODELIGNIFIKASI TANDAN KOSONG KELAPA SAWIT  
DAN APLIKASI SERATNYA UNTUK PEMBUATAN  
LEMBARAN *PULP***

**OLEH**

**DEIVY ANDHIKA PERMATA**

**1830112007**



**DOSEN PEMBIMBING:**

- 1. Prof. Dr. Ir. Anwar Kasim**
- 2. Dr. Ir. Alfi Asben, M.Si**
- 3. Dr. Yusniwati, SP, MP**

**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS ANDALAS**

**2022**

# **BIODELIGNIFIKASI TANDAN KOSONG KELAPA SAWIT DAN APLIKASI SERATNYA UNTUK PEMBUATAN LEMBARAN *PULP***

Deivy Andhika Permata, Anwar Kasim, Alfi Asben, Yusniwati

## **RINGKASAN**

Tandan kosong kelapa sawit (TKKS) merupakan limbah utama bahan berlignoselulosa yang belum dimanfaatkan secara optimal dari industri pengolahan kelapa sawit. Komponen utama lignoselulosa TKKS, terdiri dari lignin, selulosa dan hemiselulosa. Keberadaan lignin membatasi penggunaan TKKS pada dunia industri, seperti pada industri *pulp* dan kertas. Lignin merupakan komponen limbah TKKS yang relatif sulit didegradasi. Lignin membentuk ikatan yang kuat dengan polisakarida, struktur ini menghalangi larutan untuk *pulping* atau enzim untuk memasuki jaringan, sehingga akan sulit untuk preparasi selulosa dan hemiselulosa dalam proses penyediaan serat. Oleh sebab itu diperlukan proses delignifikasi. Proses delignifikasi dapat dilakukan dengan menggunakan perlakuan fisik, kimia atau secara biologi (biodelignifikasi). Perlakuan kimia jika ditinjau dari aspek ekonomis kurang menguntungkan disamping juga dapat mencemari lingkungan. Perlakuan biologi dengan menggunakan mikroorganisme penghasil enzim menjadi salah satu alternatif yang dapat digunakan.

Sehubungan dengan itu maka perlu dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengkaji karakteristik kimia TKKS fraksi serat campuran setelah mengalami fermentasi secara spontan, mengidentifikasi dan karakterisasi mikroorganisme yang terkandung dalam TKKS fraksi serat campuran setelah mengalami fermentasi spontan dan lindi hasil fermentasi spontan, mengetahui aktivitas enzim ligninase yang dihasilkan dari mikroorganisme yang terdapat pada TKKS fraksi serat campuran setelah mengalami fermentasi spontan dan lindi hasil fermentasi spontan, mengetahui karakteristik enzim ligninase yang memiliki aktivitas tertinggi, mengkaji pengaruh penggunaan lindi sebagai agen biodelignifikasi pada TKKS

fraksi serat panjang, dan mengkaji sifat lembaran *pulp* yang dihasilkan melalui proses biodelignifikasi.

Penelitian terdiri atas 4 tahapan kegiatan, meliputi tahap I: fermentasi spontan TKKS; tahap II: identifikasi dan karakterisasi mikroorganisme, serta uji aktivitas dan karakterisasi enzim ligninase; tahap III: biodelignifikasi fraksi serat panjang TKKS; dan tahap IV: pembuatan lembaran *pulp*.

Sebelum dilakukan penelitian terlebih dahulu dilakukan pengambilan sampel TKKS yang telah dikeluarkan minyaknya dari pabrik kelapa sawit PT PN 6. TKKS yang diperoleh kemudian dilakukan proses defiberasi menggunakan mesin pengurai dan *grading*, sehingga diperoleh TKKS fraksi serat panjang dan TKKS fraksi serat campuran. Pada penelitian tahap I dilakukan fermentasi spontan (biodelignifikasi) TKKS fraksi serat campuran. Hasil fermentasi spontan diperoleh TKKS fraksi serat campuran yang telah terdegradasi ligninnya. Terhadap TKKS fraksi serat campuran dilakukan analisis kimia sebelum (bahan baku) dan setelah biodelignifikasi. Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian tahap I adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 3 kali ulangan. Data dianalisis secara statistika dengan uji F, jika hasil analisis sidik ragam berpengaruh nyata dilanjutkan dengan *Duncan's New Multiple Range Test* pada taraf 5%. Adapun perlakuan penelitian tahap I, yaitu perbedaan lama biodelignifikasi selama 2, 4, 6, 8, dan 10 hari setelah lindi pertama kali menetes.

Pada penelitian tahapan II dilakukan isolasi dan karakterisasi mikroorganisme secara makroskopis dan mikroskopis yang terdapat pada TKKS fraksi serat campuran yang telah mengalami fermentasi spontan. Disamping itu juga dilakukan identifikasi dan karakterisasi mikroorganisme yang terkandung pada lindi hasil fermentasi spontan tersebut. Terhadap mikroorganisme tersebut juga dilakukan uji aktivitas dan karakterisasi enzim ligninase serta pengamatan angka lempeng total. Pelaksanaan penelitian tahap II bersifat eksploratif.

Pada penelitian tahap III lindi yang dihasilkan dari penelitian tahap I digunakan untuk proses biodelignifikasi TKKS fraksi serat panjang. Pada penelitian tahap III dilakukan variasi penambahan lindi terhadap jumlah TKKS fraksi serat panjang yang digunakan, yakni 1%, 3%, 5%, 7% dan 9%. Penelitian ini menggunakan desain rancangan acak lengkap dengan 3 kali ulangan. Data

dianalisis secara statistika dengan uji F, jika hasil menunjukkan perbedaan akibat dari perlakuan, maka dilanjutkan dengan *Duncan's New Multiple Range Test* pada taraf nyata 5%.

Hasil perlakuan terbaik dari hasil penelitian tahap III yang ditunjukkan dengan persentase degradasi lignin tertinggi atau kadar lignin terendah pada serat hasil biodelignifikasi digunakan sebagai bahan baku *pulp* untuk penelitian tahap IV. Pada penelitian tahap IV dilakukan *pulping* dengan proses soda. Pada proses ini dilakukan karakterisasi *pulp* yang melalui proses perlakuan pendahuluan (biodelignifikasi) dan sebagai pembanding digunakan TKKS fraksi serat panjang tanpa proses perlakuan pendahuluan sebelum dilakukannya proses *pulping*. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji T berpasangan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa lama fermentasi spontan berpengaruh nyata terhadap kadar air, kadar lemak, kadar nitrogen, kadar fosfor dan kadar kalium TKKS fraksi serat campuran. Semakin lama proses fermentasi maka kecenderungan terjadi penurunan kandungan nutrisi (lemak, nitrogen, fosfor dan kalium) yang ada pada TKKS. Disamping itu berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa lama biodelignifikasi spontan TKKS fraksi serat campuran berpengaruh nyata terhadap kadar hemiselulosa, kadar selulosa dan kadar lignin. Biodelignifikasi selama 2 hari setelah lindi pertama kali menetes (perlakuan H+2) merupakan waktu yang efektif untuk menguraikan lignin dengan persentase degradasi lignin sebesar 25,95%. Perlakuan H+2 dapat digunakan sebagai rujukan lama waktu biodelignifikasi TKKS fraksi serat campuran yang efektif sebagai upaya penyediaan bahan baku *pulp* yang menginginkan kadar lignin yang rendah namun selulosa sedikit mengalami penguraian.

Hasil pengamatan mikrobiologi menunjukkan adanya kapang dan bakteri yang bersifat ligninolitik pada TKKS fraksi serat campuran hasil biodelignifikasi spontan dan lindinya. Hasil isolasi kapang yang dilakukan menunjukkan bahwa terdapat sebanyak 5 isolat kapang dari substrat TKKS fraksi serat campuran yang telah mengalami biodelignifikasi dan 3 isolat kapang dari substrat lindi. Diketahui spesies kapang yang diisolasi dari TKKS fraksi serat campuran yang telah mengalami biodelignifikasi adalah *Aspergillus* sp. (isolat S1), *Chrysosporium* sp. (isolat S2), *Aspergillus* sp. (isolat S4), *Chrysosporium* sp. (isolat S7) dan

*Penicillium* sp. (isolat S8), sedangkan spesies kapang yang diisolasi dari lindi hasil biodelignifikasi adalah *Penicillium* sp. (isolat A3), *Aspergillus* sp. (isolat A5), dan *Chrysosporium* sp. (isolat A6). Semua kapang yang diisolasi memiliki aktivitas ligninase yang berbeda. Aktivitas lakase tertinggi pada isolat S5 dengan suhu optimum 50°C dan pH 6, lignin peroksidase pada isolat A5 dengan suhu optimum 35°C dan pH 6, serta mangan peroksidase pada isolat S2 dengan suhu optimum 30°C dan pH 7.

Hasil isolasi bakteri terhadap substrat TKKS fraksi serat campuran yang telah mengalami biodelignifikasi spontan terdapat sebanyak 5 isolat bakteri (F1, F2, F3, F4 dan F5) dan 1 isolat bakteri (L9) dari substrat lindi. Hasil identifikasi menunjukkan isolat F1, F4 dan L9 tergolong ke dalam genus *Corynebacterium* spp, isolate F2 dan F3 tergolong ke dalam genus *Proteus* spp, dan isolat F5 teridentifikasi sebagai *Staphylococcus aureus*. Semua bakteri yang diisolasi memiliki aktivitas ligninase yang berbeda. Aktivitas lakase tertinggi pada isolat F3 dengan suhu optimum 50°C dan pH 5, lignin peroksidase pada isolat F4 dengan suhu optimum 35°C dan pH 5, serta mangan peroksidase pada isolat F1 dengan suhu optimum 30°C dan pH 5.

Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa penambahan substrat lindi pada proses biodelignifikasi tandan kosong kelapa sawit fraksi serat panjang berpengaruh nyata terhadap kadar hemiselulosa, selulosa dan lignin. Semakin banyak lindi yang ditambahkan semakin tinggi persentase degradasi komponen lignoselulosa yang terjadi. Persentase degradasi lignin tertinggi sebesar 6,94%, dengan persentase hemiselulosa sebesar 9,10% dan persentase degradasi selulosa sebesar 5,70%.

Serat hasil penelitian tahap III dijadikan sebagai bahan baku untuk pembuatan lembaran pulp dan hasil penelitian menunjukkan karakteristik lembaran pulp yang melalui perlakuan pendahuluan (biodelignifikasi) lebih baik dibandingkan dengan lembaran pulp yang seratnya tanpa melalui perlakuan pendahuluan (biodelignifikasi). Adapun karakteristik lembaran pulp dengan perlakuan pendahuluan, yaitu rendemen pulp 96,97%, bilangan kappa pulp 13,91, gramatur lembaran pulp 76,85 g/m<sup>2</sup>, ketahanan tarik lembaran pulp 0,74 kN/m dan derajat putih lembaran pulp 62,67%.

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa lama fermentasi spontan berpengaruh nyata terhadap kadar air, kadar lemak, kadar nitrogen, kadar fosfor, kadar kalium, kadar hemiselulosa, selulosa dan lignin TKKS fraksi serat campuran. Biodelignifikasi selama 2 hari setelah lindi pertama kali menetes merupakan waktu yang efektif untuk menguraikan lignin dengan persentase degradasi lignin sebesar 25,95%.

Hasil penelitian juga menyimpulkan bahwa isolasi kapang yang dilakukan menunjukkan bahwa terdapat sebanyak 5 isolat kapang (S1, S2, S4, S7, dan S8) dari substrat TKKS fraksi serat campuran yang telah mengalami biodelignifikasi spontan dan 3 isolat kapang (A3, A5, dan A6) dari substrat lindi. Hasil karakterisasi spesies kapang yang menunjukkan bahwa isolat S1, S4, dan A5 merupakan *Aspergillus* sp., isolat S2, S7 dan A6 merupakan *Chrysosporium* sp., dan isolat S8 dan A3 merupakan *Penicillium* sp. Hasil isolasi bakteri terhadap substrat TKKS fraksi serat campuran yang telah mengalami biodelignifikasi spontan diperoleh terdapat sebanyak 5 isolat bakteri (F1, F2, F3, F4 dan F5) dan 1 isolat bakteri dari substrat lindi (L9). Hasil identifikasi menunjukkan isolat F1, F4 dan L9 merupakan *Corynebacterium* spp, isolat F2 dan F3 merupakan *Proteus* spp, dan isolat F5 merupakan *Staphylococcus aureus*. Semua kapang dan bakteri yang diisolasi memiliki aktivitas ligninase yang berbeda. Masing-masing aktivitas lakase tertinggi terdapat pada isolat S2 dan F3, aktivitas lignin peroksidase tertinggi pada isolat A5 dan F4, serta aktivitas mangan peroksidase tertinggi pada isolate S2 dan F1. Aktivitas lakase optimum isolat S5 pada suhu optimum 50<sup>0</sup>C dan pH 6, aktivitas lignin peroksidase optimum isolat A5 pada suhu optimum 35<sup>0</sup>C dan pH 6, serta aktivitas mangan peroksidase optimum isolat S2 pada suhu optimum 30<sup>0</sup>C dan pH 7. Aktivitas lakase optimum isolat F3 pada suhu optimum 50<sup>0</sup>C dan pH 5, aktivitas lignin peroksidase optimum isolat F4 pada suhu optimum 35<sup>0</sup>C dan pH 5, serta aktivitas mangan peroksidase isolat F1 pada suhu optimum 30<sup>0</sup>C dan pH 5.

Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan bahwa penambahan lindi pada proses biodelignifikasi tandan kosong kelapa sawit fraksi serat panjang berpengaruh nyata terhadap kadar hemiselulosa, selulosa dan lignin. Semakin banyak lindi yang ditambahkan semakin tinggi persentase degradasi komponen lignoselulosa yang terjadi. Disamping itu juga dapat disimpulkan bahwa

karakteristik lembaran *pulp* yang melalui perlakuan pendahuluan (biodelignifikasi) lebih baik dibandingkan dengan lembaran *pulp* yang tanpa melalui perlakuan pendahuluan.



## SUMMARY

Oil palm empty fruit bunches (OPEFB) are the leading waste of lignocellulosic materials not optimally utilized by the palm oil processing industry. The main components of OPEFB lignocellulose are lignin, cellulose, and hemicellulose. The presence of lignin limits its use in the industrial world, such as

in the pulp and paper industry because it is relatively difficult to degrade. It forms strong bonds with polysaccharides that prevent the solution for pulping or enzymes from entering the tissue. This makes it challenging to prepare cellulose and hemicellulose in the fiber preparation process. Therefore, a delignification process is needed, which can be done using physical, chemical, or biological treatment (biodelignification). When viewed from the economic aspect, chemical treatment is less profitable and pollutes the environment. In this situation, a biological treatment using enzyme-producing micro-organisms becomes an alternative that can be used.

In connection with this, it is necessary to conduct research that examines the chemical characteristics of OPEFB after spontaneous fermentation, as well as identify and characterize the micro-organisms content. It is also important to identify the leachate formed and determine the activity of the ligninase enzyme produced. The characteristics of the ligninase enzyme with the highest activity were determined from the micro-organisms found in the mixed fiber fraction of OPEFB and leachate after fermentation. Furthermore, the effect of using leachate as a biodelignification agent and the properties of pulp sheets produced through the process were examined.

The research consisted of 4 activity stages, namely stage I: spontaneous fermentation of OPEFB, II: identification and characterization of microorganisms, as well as activity test and characterization of ligninase enzymes, III: biodelignification of OPEFB long fiber fraction, and IV: manufacture of pulp sheets.

The samples were obtained from the OPEFB extracted from the palm oil mill of PT PN 6. The OPEFB was then subjected to a delignification process using a parsing and grading machine to obtain OPEFB long fiber and OPEFB mixed fiber fractions. Spontaneous fermentation (biodelignification) of the mixed fraction was carried out in the first phase, and it resulted in a product with degraded lignin. The mixed fraction was carried out by chemical analysis before (raw material) and after biodelignification. This research used a completely randomized design (CRD) in the first phase with five treatments and three replications. The data were statistically analyzed with the F test. When the analysis of variance had a significant effect, it



was continued with Duncan's New Multiple Range Test at the 5% level. The treatment of the first research stage, namely differences in the biodelignification length for 2, 4, 6, 8, and 10 days after the leachate was first dripped.

In the second stage, macroscopic and microscopic isolation and characterization of micro-organisms were carried out in the mixed fiber fraction, which had been subjected to spontaneous fermentation. In addition, identification and characterization of micro-organisms contained in the leachate were carried out. The micro-organisms were tested for the activity and characterization of the ligninase enzyme, as well as the total plate number. The implementation of the second phase of the research is exploratory.

The leachate produced from the first stage was used for the biodelignification process of OPEFB long fiber fraction in the third stage. During the stage, variations in the addition of leachate were made to the amount of long fiber fraction used, namely 1%, 3%, 5%, 7%, and 9%. This research used a completely randomized design with three replications, and the data were statistically analyzed with the F test. When the results showed differences in the treatment effects, then Duncan's New Multiple Range Test can be done at a 5% significance level.

The best treatment results from the third phase were indicated by the highest percentage of lignin degradation or the lowest lignin content in the biodelignified fiber and used as raw material for pulp in the fourth phase. The pulping was carried out with the soda process in stage 4. In this process, pulp characterization was carried out through pretreatment (biodelignification). As a comparison, a long fiber OPEFB fraction was used before the pulping process was carried out without any pretreatment. The data obtained were analyzed using paired T-test.

The results showed the duration of spontaneous fermentation significantly affected water, fat, nitrogen, phosphorus, and potassium contents of the mixed fiber fraction. The longer the fermentation process, the more the tendency to decrease the nutritional content (fat, nitrogen, phosphorus, and potassium). Based on the results, it was known that the duration of spontaneous biodelignification of OPEFB from mixed fiber fraction significantly affected the hemicellulose, cellulose, and lignin contents. Also, biodelignification for two days after leachate was first dripped

(H+2 treatment) was an adequate time to decompose lignin, with a degradation percentage of 25.95%. The H+2 treatment can be used as a reference for the OPEFB biodelignification time from mixed fiber fractions which is effective as an effort to provide pulp raw materials with low lignin content and slightly decomposed cellulose.

The microbiological observations showed the presence of ligninolytic fungi and bacteria in the mixed fiber fraction from spontaneous biodelignification and their leachate. The mold results showed five mold isolates from the substrate that had undergone biodelignification and three isolates from the leachate substrate. It is known that the mold species from the mixed fiber fraction are *Aspergillus* sp. (S1), *Chrysosporium* sp. (S2), *Aspergillus* sp. (S4), *Chrysosporium* sp. (S7), and *Penicillium* sp. (S8). In contrast, the species isolated from biodelignified leachate were *Penicillium* sp. (A3), *Aspergillus* sp. (A5), and *Chrysosporium* sp. (A6). All the isolated molds had different ligninase activities. The highest laccase activity was in isolate S5 with an optimum temperature of 50<sup>0</sup>C and pH 6, lignin peroxidase in A5 at 35<sup>0</sup>C and pH 6, and manganese peroxidase in S2 at 30<sup>0</sup>C and pH 7.

The results of bacterial isolation on the mixed fiber fraction substrate that had undergone spontaneous biodelignification were five bacteria (F1, F2, F3, F4, and F5) and one isolate (L9) from the leachate substrate. The identification results showed that F1, F4, and L9 belonged to the genus *Corynebacterium* spp, F2 and F3 belonged to the genus *Proteus* spp, and F5 was identified as *Staphylococcus aureus*. All the isolated bacteria had different ligninase activity. The highest laccase activity was in isolate F3 with an optimum temperature of 50<sup>0</sup>C and pH 5, lignin peroxidase in F4 at 35<sup>0</sup>C and pH 5, and manganese peroxidase in F1 at 30<sup>0</sup>C and pH 5.

The results also showed that the addition of leachate substrate in the biodelignification process of long fiber OPEFB significantly affected the hemicellulose, cellulose, and lignin levels. The more leachate added, the higher the degradation percentage of lignocellulosic components. Also, the highest percentage of lignin degradation was 6.94%, with a hemicellulose percentage of 9.10%, and a cellulose degradation of 5.70%.

The fiber from the third stage was used as raw material for the manufacture of pulp sheets, and the results showed the sheets that underwent biodelignification

were better than those whose fibers did not go through the pretreatment process. The characteristics of the pulp sheet with pretreatment are pulp yield 96.97%, pulp kappa number 13.91, grammage 76.85 g/m<sup>2</sup>, a tensile strength of 0.74 kN/m, and 62.67% degree of whiteness.

Based on the results, it can be concluded that the duration of spontaneous fermentation significantly affected the moisture, fat, nitrogen, phosphorus, potassium, hemicellulose, cellulose, and lignin contents of the mixed fiber fraction. Biodelignification for two days after the first leachate drips is a sufficient time to decompose lignin, with a degradation percentage of 25.95%.

The results also found that the mold isolation showed five isolates (S1, S2, S4, S7, and S8) from the mixed fiber substrate that had undergone spontaneous biodelignification and three mold isolates (A3, A5, and A6) of the leachate substrate. The mold species characterization showed that isolates S1, S4, and A5 were *Aspergillus* sp., S2, S7, and A6 were *Chrysosporium* sp., and S8 and A3 were *Penicillium* sp. The results of bacterial isolation on the mixed fiber fraction substrate that had undergone spontaneous biodelignification obtained five bacterial isolates (F1, F2, F3, F4, and F5) and one isolate from leachate substrate (L9). The results found that F1, F4, and L9 were *Corynebacterium* spp, F2 and F3 were *Proteus* spp, and F5 was *Staphylococcus aureus*. All the isolated fungi and bacteria had different ligninase activity. Each of the highest laccase activity was found in S2 and F3, the highest lignin peroxidase activity in A5 and F4, and the highest manganese peroxidase activity in isolates S2 and F1. Furthermore, the optimum laccase activity of isolate S5 is at 50<sup>0</sup>C and pH 6, lignin peroxidase activity of A5 is at 35<sup>0</sup>C and pH 6, and the manganese peroxidase activity of S2 is at 30<sup>0</sup>C and pH 7. The optimum laccase activity of F3 is at 50<sup>0</sup>C and pH 5, lignin peroxidase activity of F4 is at 35<sup>0</sup>C and pH 5, and the activity of manganese peroxidase of F1 is 30<sup>0</sup>C and pH 5.

Based on the results, it was concluded that the addition of leachate in the biodelignification process of extended fiber OPEFB had a significant effect on the levels of hemicellulose, cellulose, and lignin. The more leachate added, the higher the degradation percentage of the lignocellulosic components. It can also be

concluded that the characteristics of the pulp sheets that had gone through the biodelignification process are better than those without pretreatment.

