

APLIKASI TEKNOLOGI *BIOREFINERY* LIMBAH AMPAS TEBU DALAM PEMBUATAN GULA PEREDUKSI SEBAGAI ALTERNATIF ENERGI BARU TERBARUKAN

¹Fadian Farisan Silmi*, ¹Inka Cristin, ¹Sri Rahayu Widyaningrum, ¹Dedi Teguh, ¹I Ketut Buyut Suratnata, ¹Nadinda Siti Rosyidah, ¹Resa Nurvia

¹Program Studi Teknologi Rekayasa Kimia Industri, Jurusan Teknik, Politeknik Negeri Lampung

*Penulis korespondensi: fadianfarisan@polinela.ac.id

Abstrak Pemanfaatan limbah ampas tebu sebagai bahan baku bioetanol generasi kedua masih terkendala oleh struktur lignoselulosa yang kompleks dan kadar lignin yang tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kondisi operasi mengetahui kondisi operasi biorefinery terbaik yang menghasilkan kadar gula yang tinggi dari ampas tebu pada proses hidrolisis enzimatis dimana diawali dengan pretreatment berbasis basa dengan bantuan gelombang mikro. Biorefinery limbah ampas tebu dimulai dengan perlakuan pretreatment limbah ampas tebu kering yang dikecilkan ukurannya hingga 80 mesh, kemudian dilakukan delignifikasi menggunakan NaOH 3M dan surfaktan Tween80 dengan bantuan microwave 800W selama 8 menit. Dilanjutkan dengan hidrolisis enzimatis dengan enzim CellicTech3-HS. Variabel yang divariasikan adalah volume enzim (2%, 3%, dan 4%) dan waktu hidrolisis (24 jam, 72 jam, dan 120 jam), sedangkan variabel yang diamati adalah kadar lignoselulosa, kadar gula pereduksi total setelah proses hidrolisis enzimatis dan yield serta densitas bioetanol. Proses pretreatment alkali menggunakan NaOH 3M sebanyak 250 mL dengan 10 gr ampas tebu dapat menurunkan kadar lignin dari 30,7% menjadi 12,9% serta dapat menaikkan kadar selulosa dari 15% menjadi 61%. Kadar gula reduksi tertinggi pada variasi konsentrasi enzim 4% selama 120 jam mendapatkan 5,55 g/L dengan % Brix sebesar 7,3%.

Kata kunci: Ampas tebu, Biorefinery, Hidrolisis enzimatis, Gelombang Mikro, Gula Pereduksi

Abstract. The utilization of bagasse waste as a raw material for second-generation bioethanol is still hampered by its complex lignocellulose structure and high lignin content. This study aims to determine the best operating conditions for a biorefinery that produces high sugar content from bagasse in the enzymatic hydrolysis process, which begins with a base-based pretreatment with the help of microwaves. The bagasse waste biorefinery begins with pretreatment of dried bagasse waste, which is reduced in size to 80 mesh, and then delignification is carried out using 3 M NaOH and Tween 80 surfactant with the help of 800W microwave for 8 minutes. Followed by enzymatic hydrolysis with the CellicTech3-HS enzyme. The variables varied were the enzyme volume (2%, 3%, and 4%) and hydrolysis time (24 hours, 72 hours, and 120 hours), while the observed variables were the lignocellulose content, total reducing sugar content after the enzymatic hydrolysis process, and the yield and density of bioethanol. The alkali pretreatment process using 250 mL of 3M NaOH with 10 grams of bagasse can reduce the lignin content from 30.7% to 12.9% and can increase the cellulose content from 15% to 61%. The highest reducing sugar content at a variation of 4% enzyme concentration for 120 hours obtained 5.55 g/L with a Brix of 7.3%.

Keywords: Sugarcane Bagasse, Biorefinery, Enzymatic hydrolysis, Microwave, Reducing sugar

1. Pendahuluan

Bioetanol merupakan bahan bakar etanol yang diperoleh dari proses fermentasi bahan-bahan karbohidrat atau lignoselulosa menggunakan bantuan mikroorganisme (Bautista-Herrera et al., 2021). Bioetanol memiliki karakteristik yang lebih baik dibandingkan dengan bensin karena dapat meningkatkan efisiensi pembakaran dan mengurangi emisi gas rumah kaca. Berdasarkan dari jenis bahan baku yang digunakan

dalam pembuatannya, bioetanol dapat dibagi dalam 3 tahap generasi. Bioetanol generasi pertama merupakan bioetanol yang dibuat dari biomassa yang mengandung pati. Bioetanol generasi kedua merupakan bioetanol yang dibuat dari biomassa yang banyak mengandung lignoselulosa. Bioetanol generasi ketiga merupakan bioetanol yang dibuat dari biomassa kelompok alga. Dalam keberjalanannya di dunia industri, bioetanol generasi kedua sedang dalam tahap pengembangan yang menjanjikan (Almeida et al., 2021).

Untuk mendukung keberjalanan industri bioetanol generasi kedua, dibutuhkan biomassa yang potensial dengan kuantitas melimpah dengan nilai guna rendah agar menjadikan bioetanol sebagai energi baru terbarukan yang dapat menggantikan bahan bakar fosil. Banyak sekali jenis biomassa yang ada di Indonesia yang dapat dimanfaatkan pada lingkup tersebut, terutama di Lampung. Salah satu jumlah biomassa yang dominan di provinsi ini adalah ampas tebu. Ampas tebu memiliki serat kasar yang terdiri dari senyawa lignoselulosa yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber energi seperti bioetanol. Selain itu, ampas tebu merupakan limbah padat yang diperoleh dari penggilingan sisa batang tebu (*Saccharum officinarum*) (H. B. Aditiya et al., 2016) (Hassan et al., 2024). Ketersediaan limbah tebu sangat melimpah, yang sejalan dengan banyaknya pabrik gula yang berfungsi dan dikelola oleh pemerintah (PT. Perkebunan Nusantara) serta oleh pihak swasta. Informasi yang didapat dari PT. Perkebunan Nusantara VII pada tahun 2024 menunjukkan bahwa total tebu yang diproses di PTPN VII mencapai 971.500 ton (BPS, 2025). Dari jumlah tebu yang digiling tersebut, ampas tebu yang dihasilkan sebesar 28% dari total tebu segar (Pérez-Almada et al., 2023). Sebagian besar pabrik gula memanfaatkan ampas tebu tersebut sekitar 50% sebagai bahan bakar boiler, hal itu juga dilakukan oleh PTPN VII. Dengan kompleksitas senyawa lignoselulosa yang dimiliki oleh ampas tebu tersebut menjadikan *biorefinery* sebagai salah satu solusi untuk menyokong keberjalanan industri bioetanol generasi kedua (Broda et al., 2022).

Biorefinery merupakan suatu konsep integrasi proses konversi biomassa lignoselulosa menjadi berbagai produk bernilai tambah tinggi, seperti bahan bakar nabati, energi, dan bahan kimia, melalui pemanfaatan seluruh komponen biomassa secara berkelanjutan (Hassan et al., 2018). Konsep *biorefinery* pada ampas tebu bertujuan untuk mengintegrasikan pengolahan biomassa menjadi produk bernilai tinggi dengan fokus utama pada pemisahan fraksi lignoselulosa secara efektif. Proses ini dimulai dengan tahap *pretreatment* yang ditujukan untuk memutus ikatan kompleks antara lignin dengan hemiselulosa dan selulosa, sehingga mampu meningkatkan aksesibilitas struktur holoselulosa bagi enzim. Setelah struktur lignoselulosa terbuka, fase holoselulosa yang kaya akan polimer karbohidrat dapat diolah secara intensif melalui hidrolisis enzimatik untuk menghasilkan monomer gula yang optimal (Zhu et al., 2016).

Pretreatment alkali dengan bantuan gelombang mikro atau *Microwave-Assisted Alkaline Delignification* (MAAD) memanfaatkan energi radiasi gelombang mikro untuk mengeksitasi molekul polar air dan agen alkali, sehingga menghasilkan pemanasan volumetrik internal yang cepat. Mekanisme ini secara efektif memutus ikatan ester oleh ion hidroksil pada matriks lignoselulosa, melarutkan komponen lignin, dan mengekspos fraksi selulosa. Penambahan surfaktan pada tahap ini membantu mengganggu kompleks lignin-karbohidrat serta memfasilitasi pelarutan fragmen lignin hidrofobik ke dalam fase cair (Anoopkumar et al., 2023; Laltha et al., 2021; Zhang et al., 2023). Beberapa penelitian terdahulu seperti Zhu et al. (2016) melaporkan bahwa metode MAAD mampu mencapai efisiensi *lignin removal* yang masif hingga mencapai 65%. Sebagai perbandingan, metode pemanasan alkali konvensional umumnya memerlukan waktu reaksi yang lama dan hanya mencapai delignifikasi sekitar 40–45% (Kim et al., 2016). Sementara itu, studi

Fadian Farisan Silmi, Inka Cristin, Sri Rahayu Widyaningrum, Dedi Teguh, I Ketut Buyut Suratnata, Nadinda Siti Rosyidah, Resa Nurvia
fadianfarisan@polinela.ac.id: Aplikasi Teknologi Biorefinery Limbah Ampas Tebu dalam Pembuatan Gula Pereduksi Sebagai Alternatif Energi Baru Terbarukan

perbandingan lainnya menunjukkan bahwa metode delignifikasi dengan menggunakan asam encer lebih berfokus pada degradasi hemiselulosa dan hanya mampu menyisihkan lignin kurang dari 20% (Baksi et al., 2023).

Pasca-delignifikasi, fraksi selulosa yang telah terbuka harus dikonversi menjadi monomer gula dapat-fermentasi melalui proses hidrolisis. Jika dibandingkan dengan metode hidrolisis kimiawi menggunakan asam kuat, hidrolisis enzimatik jauh lebih mendukung dalam pembuatan bioetanol generasi kedua. Karakteristik hidrolisis enzimatik mampu mencegah degradasi gula lebih lanjut menjadi senyawa inhibitor toksik seperti furfural dan hidrosimetilfurfural (HMF) yang biasanya hadir akibat pemanasan selulosa dan hemiselulosa pada suhu lebih dari 150°C dimana dapat meracuni ragi (*yeast*) pada tahap fermentasi (Sánchez-Muñoz et al., 2022). Dalam hal akumulasi produk hulu, studi terdahulu yang dirangkum menunjukkan bahwa optimalisasi hidrolisis enzimatik pada biomassa lignoselulosa mampu menghasilkan konsentrasi gula pereduksi yang tinggi berkisar antara 30 hingga 40 g/L (H. Aditiya et al., 2016). Aliran pasokan gula yang pekat ini sangat krusial, karena pada tahap fermentasi hilir, yield gula tersebut terbukti dapat dikonversi secara efisien oleh mikroorganisme untuk menghasilkan bioetanol dengan konsentrasi tinggi berkisar antara 15 hingga 20 g/L (Bezerra & Ragauskas, 2016).

Berdasarkan evaluasi komprehensif terhadap literatur terdahulu, dapat disimpulkan bahwa kombinasi microwave-assisted alkaline merupakan metode terbaik untuk delignifikasi cepat, sedangkan hidrolisis enzimatik yang dimitigasi oleh surfaktan merupakan jalur paling aman untuk menghasilkan yield gula tinggi tanpa memicu terbentuknya senyawa inhibitor (H. Aditiya et al., 2016; Sánchez-Muñoz et al., 2022). Namun demikian, elaborasi dan integrasi simultan dari ketiga komponen teknologi ini yakni penggunaan alkali kuat, bantuan gelombang mikro, dan penambahan surfaktan non-ionik sejak awal pengondisian biomassa belum pernah dieksplorasi atau dilaporkan sebelumnya dalam suatu sistem *biorefinery* ampas tebu yang utuh. Sebagian besar studi perbandingan dan masih menguji parameter-parameter ini secara terisolasi atau terbatas pada sistem biner saja tanpa melihat efek sinergis ketiganya. Meskipun beberapa penelitian terdahulu telah melaporkan penggunaan gelombang mikro dalam delignifikasi biomassa, efektivitas proses ini sangat bergantung pada karakteristik struktural varietas spesifik tanaman lokal. Penelitian yang memetakan optimasi pretreatment pada kondisi kadar lignin ekstrem tersebut, dikombinasikan dengan penggunaan enzim komersial mutakhir CellicTech3-HS, masih sangat terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini mengisi kesenjangan tersebut dengan mengevaluasi sinergi daya gelombang mikro, penambahan surfaktan, dan konsentrasi enzim terhadap efisiensi delignifikasi dan sakarifikasi biomassa lokal tersebut. Dengan latar belakang tersebut, peneliti memiliki tujuan untuk meneliti kondisi operasi kondisi operasi *biorefinery* terbaik yang menghasilkan kadar gula yang tinggi dari ampas tebu pada proses hidrolisis enzimatik dimana diawali dengan *pretreatment* berbasis basa dengan bantuan gelombang mikro.

2. Bahan dan Metode

2.1. Alat dan Bahan

Bahan yang dipakai dalam penelitian ini yaitu, Ampas Tebu yang diambil dari PTPN VII Bunga Mayang, Lampung Timur, Natrium Hidroksida (NaOH) PA dengan kemurnian $\geq 99\%$, aquadest, Surfaktan Tween-80, Asam Sulfat (H₂SO₄) PA 98%, Kertas pH Universal, Kertas Saring Whatmann No. 42, Alumunium Foil, dan Kertas pH, tissue, CMC 1%, DNS, larutan

Buffer Sitrat, dan aquades. Sedangkan untuk alat yang digunakan yaitu neraca analitik, saringan, disc mill, oven, kondensor, labu didih, cawan petri, spatula, gelas kimia, gelas ukur, corong kaca, erlenmeyer, batang pengaduk, microwave electrolux® emg23k22b 50hz 220V, pipet tetes, pipet ukur, spektrofotometri Uv-Vis, desikator, tabung reaksi, rak tabung reaksi, statif, klem, ayakan 80 mesh, refraktometer, termometer, inkubator, magnetic stirrer, dan kuvet.

2.2. Metode

Tahapan secara keseluruhan pada pelaksanaan penelitian ini meliputi, proses *pretreatment* bahan baku secara fisik, proses delignifikasi secara kimia, dan proses hidrolisis enzimatis, serta pengujian kadar glukosa dengan metode Mandels dengan menggunakan *dinitrosalicylic acid* (DNS). Langkah pertama adalah ampas tebu dilakukan pengeringan dibawah sinar matahari selama 2 hari, kemudian dilakukan pengecilan hingga lolos dari ayakan 80 *mesh* (Setiati et al., 2021). Proses *pretreatment* basa dilakukan dengan massa ampas tebu sebanyak 10 g dengan konsentrasi NaOH 3 M (Widyawati, 2014) sebanyak 0,038 (b/v) 263 mL (Muharja et al., 2021) dengan penambahan Surfaktan Tween 80 sebanyak 3% dari massa ampas tebu (Qing et al., 2010). *Pretreatment* ini dilakukan dengan menggunakan microwave electrolux® emg23k22b 50hz 220V dengan daya 800W selama 8 menit. Lalu biomassa yang telah melalui proses *pretreatment* ini dicuci dengan menggunakan aquadest sampai pH netral sekitar 6-7 lalu disaring menggunakan kertas saring. Hasil residu yang tertahan di kertas saring selanjutnya akan dilakukan uji Chesson-Datta untuk mengetahui kadar ekstraktif, lignin, hemiselulosa, dan selulosa (Latifa et al., 2024). Dari hasil *pretreatment* basa, proses selanjutnya yaitu dilakukan hidrolisis enzimatis menggunakan enzim selulase dan hemiselulase dengan variasi volume enzim masing-masing yaitu 2% b/b, 3% b/b, dan 4% b/b (gr enzim/gr ampas tebu) dengan waktu hidrolisis selama 24, 72, dan 120 jam pada suhu 37 °C pH 5. Hidrolisis enzimatis dilakukan diatas waterbath dengan kecepatan pengadukan 75 rpm. Setelah proses hidrolisa selesai, selanjutnya dilakukan pengujian kadar glukosa menggunakan metode Mandels dan pengujian total gula terlarut (%Brix) dengan menggunakan refraktometer.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Karakteristik Bahan Baku

Limbah ampas tebu pada penelitian ini berasal dari limbah proses produksi gula di PTPN VII Distrik Bunga Mayang, Kabupaten Lampung Utara, Provinsi Lampung. Sampel ampas tebu dilakukan pengujian sehingga menghasilkan karakteristik yang disajikan pada Tabel 1

Tabel 1. Karakteristik sampel ampas tebu dalam penelitian ini

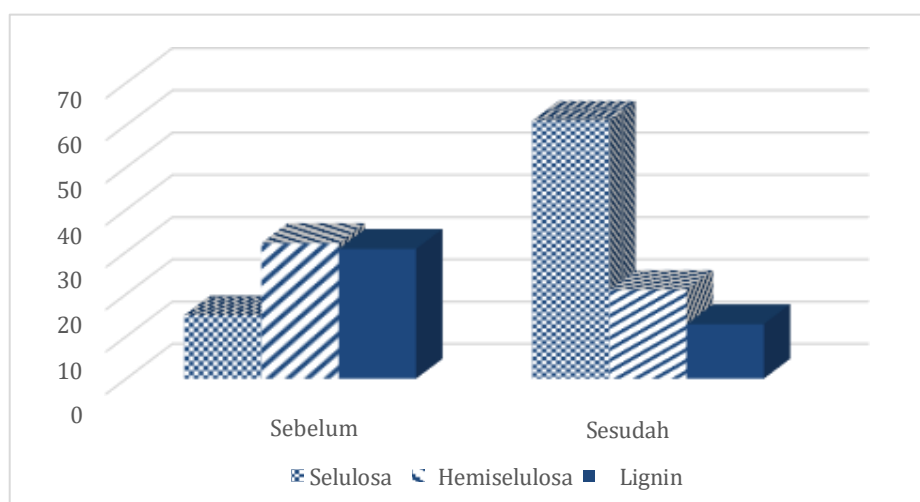
Parameter	Hasil Analisis (%)
Lignin	30,7
Hemiselulosa	32
Selulosa	15
Kadar Abu	14
Kadar Air	7,9

Pada karakteristik ampas tebu yang disajikan pada Tabel 1, ampas tebu mengandung serat lignin, selulosa, dan hemiselulosa yang merupakan hasil samping dari proses ekstraksi tanaman tebu. Berdasarkan analisis kimia dengan metode Chesson-Datta menghasilkan kandungan komponen yaitu lignin 30,7%, hemiselulosa 32%, dan selulosa 15% hasil tersebut relevan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Widyawati, 2014) dengan kandungan ampas tebu sebelum *pretreatment* dengan komponen lignin sebesar 17,55%, hemiselulosa 20,97%, dan selulosa sebesar 53,75%.

Pada pengujian kadar air yang dilakukan didasarkan pada prosedur kerja pengujian kadar air metode oven (SNI 01-2891-1992) menghasilkan kadar air sebesar 7,9%. Sehingga dengan kandungan kadar air tersebut ampas tebu tidak perlu dilakukan pengeringan selanjutnya karena hasil tersebut lebih kecil dengan penelitian (Gunam et al., 2011) yang mengandung kadar air sebesar 19,3% sehingga harus dilakukan pengeringan lanjutan pada sampel ampas tebu.

Delignifikasi (*pretreatment*) dalam penelitian ini adalah *pretreatment* kimia dengan menggunakan larutan basa (alkali *pretreatment*) yaitu larutan Natrium Hidroksida (NaOH). Pemilihan *pretreatment* basa didasarkan pada beberapa penelitian di antaranya (Muharja et al., 2021; Zhu et al., 2016). Hal ini terjadi karena basa kuat lebih reaktif untuk memecah lapisan lignin dan melarutkannya dibandingkan dengan basa lemah (Setiati et al., 2021).

Konsentrasi larutan NaOH yang digunakan yaitu sebesar 3M berdasarkan penelitian (Muharja et al., 2021). *Pretreatment* pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan microwave pada daya 800W selama 8 menit. Sampel ampas tebu yang telah melalui proses *pretreatment* diuji kadar lignin dan selulosa menggunakan metode Chesson-datta untuk mengetahui kadar lignin yang terdegradasi dan kadar selulosa yang terbentuk sebagai bahan baku untuk proses hidrolisis. Hasil kandungan lignin, selulosa, dan hemiselulosa sebelum dan sesudah *pretreatment* disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Perbandingan Kadar Lignin dan Selulosa Sebelum dan Sesudah *Pretreatment*

Nilai kandungan selulosa sebelum dan setelah proses *pretreatment* mengalami peningkatan dari 15% menjadi 61%. Hal ini disebabkan oleh proses *pretreatment* menggunakan microwave yang meningkatkan suhu dengan sangat cepat, sehingga sampel ampas tebu mengalami perubahan suhu yang signifikan. Interaksi antara ampas tebu

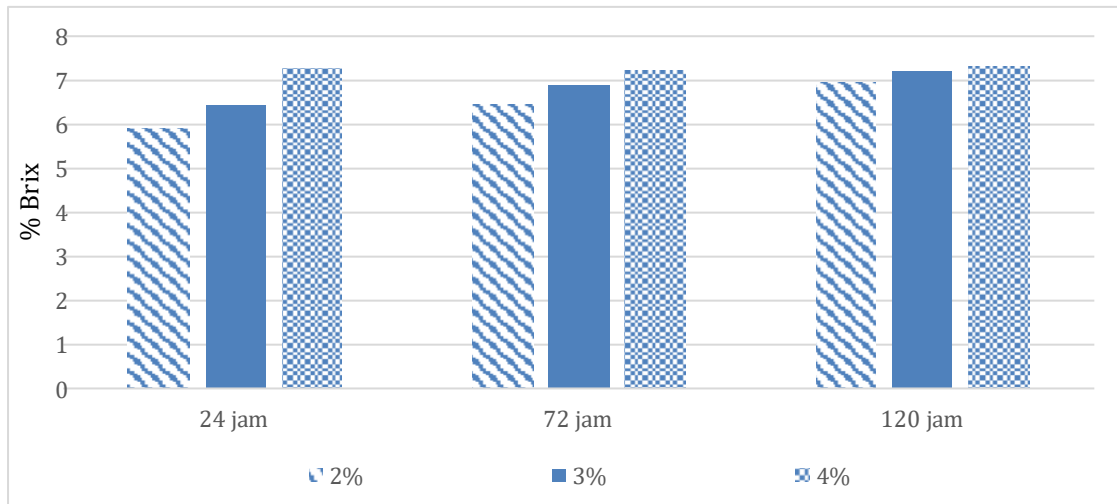
dengan gelombang mikro menyebabkan dinding sel yang membungkus selulosa dan hemiselulosa yang terikat dapat terlepas, serta kandungan lignin pada dinding sel yang menghalangi selulosa akan berkurang.

Nilai kandungan hemiselulosa sebelum dan sesudah *pretreatment* menunjukkan penurunan yang relatif kecil, yaitu dari 32,1% menjadi 21%. Ini disebabkan oleh penambahan NaOH dalam proses *pretreatment*, sementara terdapat sisa kandungan air dalam ampas tebu yang menyebabkan hemiselulosa menguap dan terurai menjadi asam. Proses ini mengkatalis dekomposisi hemiselulosa yang kemudian melepaskan selulosa. Hal ini sejalan dengan pernyataan (Muharja et al., 2021) yang mengungkapkan bahwa hemiselulosa adalah salah satu bentuk karbohidrat yang tidak dapat larut dalam air mendidih, tetapi larut ketika berada dalam alkali yang encer dan akan terdegradasi saat bertemu dengan asam encer. Hemiselulosa terdiri dari polisakarida yang memiliki berat molekul lebih rendah jika dibandingkan dengan selulosa. Molekul hemiselulosa memiliki kemampuan lebih baik dalam menyerap air, sifatnya lebih plastis, dan menyediakan area kontak antar molekul yang lebih luas daripada selulosa.

Hasil penurunan hemiselulosa telah sesuai dengan penelitian (Oktavia et al., 2014) dari 18,14% menjadi 16,02% menggunakan pelarut NaOH dan gelombang mikro. Penurunan nilai kandungan lignin paling optimal pada proses sebelum dan sesudah *pretreatment* dari 30,7% menjadi 12,9%. Hasil tersebut telah sesuai dengan pernyataan (Hassan et al., 2024) yaitu cara NaOH berfungsi dalam proses degradasi lignin adalah dengan menghancurkan lignin yang melindungi selulosa dan hemiselulosa, sehingga lignin menjadi pecah atau terbagi. Proses penghancuran ikatan antara lignin dan hemiselulosa ini dapat meningkatkan jumlah selulosa yang bebas dalam sampel ampas tebu. Dalam tahap *pretreatment* ampas tebu menggunakan larutan basa kuat (NaOH) yang bersifat sebagai penghantar panas, energi ini dapat tersebar secara lebih efektif melalui konduksi ionik yang menyebabkan peningkatan suhu. Oleh karena itu, untuk meningkatkan degradasi yang dihasilkan, maka dilakukan perlakuan pemanasan dengan menggunakan microwave selama proses *pretreatment* (Widyawati, 2014). Proses *pretreatment* yang dilakukan pada penelitian ini juga menggunakan penambahan bahan Surfaktan Tween-80 yang berfungsi sebagai katalisator dalam degradasi lignin dan memperbesar selulosa dalam bahan (Qing et al., 2010).

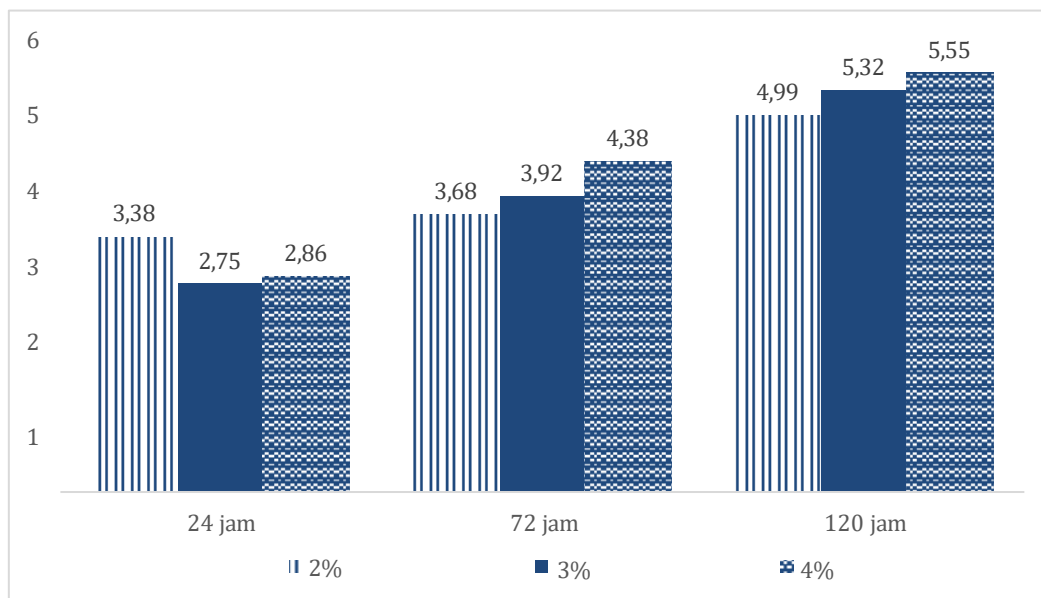
3.2. Hasil Hidrolisis Enzimatik

Hasil pada proses *pretreatment* yang telah dilakukan sebelumnya menggunakan larutan NaOH 3M dengan pemaparan microwave akan dilanjutkan proses hidrolisis. Proses hidrolisis dilakukan secara enzimatik menggunakan enzim selulase dan hemiselulase dengan merk Novozemys Cellic dengan variasi waktu (jam) dan konsentrasi enzim (%). Adapun variasi waktu yang ditentukan yaitu 24 jam, 72 jam, dan 120 jam, sedangkan variasi konsentrasi volume enzim (b/b) yang ditentukan 2%, 3%, 4% pada pH 5 serta kondisi suhu 37°C didalam inkubator yang selanjutnya dihitung konsentrasi gula pereduksi dengan metode DNS seperti pada Gambar 2.



Gambar 2. Hubungan % Brix Terhadap Konsentrasi Enzim dan Waktu Hidrolisis

Hasil pengujian %brix yang dilakukan menggunakan refraktometer waktu 24 jam pada variasi konsentrasi 2% sebesar 5,9%, variasi konsentrasi 3% sebesar 6,45% dan pada variasi konsentrasi 4% sebesar 7,25. Semakin banyak enzim yang digunakan maka semakin naik konsentrasi gula pereduksi yang dihasilkan. Pada waktu 72 jam pada variasi konsentrasi 2% didapatkan sebesar 6,45%, variasi konsentrasi 3% sebesar 6,9% dan pada variasi konsentrasi 4% sebesar 7,2%. Pada variasi konsentrasi 4% hasil brix yang didapat lebih kecil dibandingkan a n dengan 24 jam hal itu disebabkan penambahan enzim yang berlebih sehingga %brix yang didapat sedikit meningkat. Pada waktu 120 jam pada variasi konsentrasi 2% didapatkan sebesar 6,95%, variasi konsentrasi 3% sebesar 7,3% dan pada variasi konsentrasi 4% sebesar 7,3%. Peningkatan bertahap dalam nilai brix ini mengindikasikan bahwa enzim selulase dan hemiselulase mampu mengonversi selulosa dan hemiselulosa menjadi gula reduksi dengan cepat disebabkan oleh aktivitas enzim yang sangat tinggi. Kenaikan total gula yang tercermin dalam % brix sejalan dengan peningkatan konsentrasi gula pereduksi (Permanasari et al., 2018). Hasil konsentrasi gula pereduksi dengan metode DNS ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3 Hubungan Kadar gula reduksi (dalam g/L) terhadap konsentasi enzim dan waktu hidrolisis

Berdasarkan grafik pada Gambar 3, Kadar gula reduksi tertinggi dihasilkan oleh konsentrasi enzim 4% pada waktu hidrolisis 120 jam. Semakin tinggi konsentrasi enzim yang digunakan dan semakin lama waktu pada proses hidrolisis maka semakin tinggi kadar gula reduksi yang dihasilkan. Hal tersebut relevan dengan penelitian (Permanasari et al., 2018) yang menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi enzim selulase semakin meningkat kadar gula totalnya. Konsentrasi enzim yang tinggi meningkatkan frekuensi tumbukan molekuler selulosa, dan terurai menjadi gula. Semakin lama waktu hidrolisis juga meningkatkan konversi selulosa menjadi gula.

Kenaikan kadar gula reduksi dengan penambahan konsentrasi enzim 3% dan 4% selama 120 jam tidak terlalu signifikan, sehingga dengan penambahan enzim 3% dapat menghasilkan produk yang tinggi karena ditinjau dari segi ekonomis perbedaannya dengan enzim 4% tidak terlalu tinggi dan lebih hemat dalam penggunaan enzim. Dilihat dari grafik pada gambar 14. konsentrasi enzim 2% waktu 24 jam terdapat konsentrasi gula pereduksi yang tinggi yaitu 3,38 g/L hal tersebut dikarenakan pada saat penambahan enzim terlalu banyak sehingga tidak sesuai dengan konsentrasi yang seharusnya. Penggunaan mikropipet dengan konsentrasi kecil sangat disarankan untuk mencapai hasil konsentrasi gula yang sesuai.

Metode pengukuran gula reduksi dalam sampel dilakukan dengan menggunakan reagen 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) melalui pendekatan kimia. DNS adalah suatu senyawa aromatik yang berinteraksi dengan gula reduksi untuk menghasilkan 3-amino-5-nitrosalicylic acid. Senyawa ini dapat menyerap secara efisien radiasi elektromagnetik pada panjang gelombang 540 nm. Semakin banyak jumlah komponen reduksi dalam sampel, maka akan semakin banyak juga molekul yang dihasilkan, sehingga menyebabkan tingkat serapan menjadi lebih tinggi. Proses reaksi DNS adalah reaksi redoks yang terjadi pada kelompok aldehid dalam gula, di mana ia teroksidasi menjadi kelompok karboksil. Reaksi ini berlangsung dalam kondisi basa, dan jika ada gula reduksi dalam sampel, larutan akan berubah dari warna kuning menjadi jingga kemerahan. Perubahan warna pada reaksi DNS sampel disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Perubahan Warna Reaksi DNS dengan Gula Pereduksi

Berdasarkan pengujian kadar gula pereduksi dengan reaksi DNS didapatkan kadar gula reduksi tertinggi didapatkan pada konsentrasi enzim 4% (b/b) selama 120 jam menghasilkan gula reduksi sebesar 5,55 g/L. Hasil tersebut juga relevan dengan spesifikasi yang disajikan pada Lembar Aplikasi Novozim CelliCTech3-HS yang merupakan merek dari enzim selulase dan hemiselulase yang dipakai menyatakan bahwa kinerja Cellic yang optimal terjadi pada kisaran pH 4,75 – 5,25 selama 5 hari dengan variasi konsentrasi 2%,

3%, dan 4% dan optimal pada konsentrasi 4% pada sampel. Pada Tabel 2 disajikan hasil konsentrasi gula pereduksi dari beberapa penelitian.

Tabel 2. Perbandingan antara hasil konsentrasi gula pereduksi yang dihasilkan dibandingkan dengan referensi yang lain

Nama	Metode	Konsentrasi Gula Pereduksi
(Nawawi et al., 2023)	<i>Pretreatment</i> dan Hidrolisis Enzimatik dengan 10 gr TKKS dalam 100 mL larutan buffer (pH 5) konsentrasi enzim Cellic 5% pada suhu 50 ⁰ C selama 96jam.	31,73 g/L
(Caroline et al., 2023)	Hidrolisis Enzimatik dua tahap dengan 10% TKKS dalam buffer asetat (pH 5) yang ditambah 5% enzim Cellic. Campuran diinkubasi pada suhu 60 ⁰ C selama 72 jam dengan kecepatan 200rpm.	35,86 g/L
Penelitian ini	Hidrolisis Enzimatik pada 5 gr ampas tebu dalam 50 mL larutan buffer dengan penambahan enzim Cellic 4% dan diinkubasi pada suhu 37 ⁰ C selama 120 jam.	5,55 g/L

Berdasarkan Tabel 2, konsentrasi gula pereduksi yang paling tinggi didapatkan oleh (Nawawi et al., 2023) dan (Caroline et al., 2023) sebesar 31,72 g/L dan 35,86 g/L sedangkan pada penelitian ini didapatkan 5,55 g/L. Hal itu disebabkan enzim CellicTech 3 – HS adalah salah satu jenis enzim termofil dimana memiliki kondisi optimum pada suhu diantara 50 – 60 °C. Suhu dibawah 50 °C dianggap tidak cukup untuk menurunkan energi aktivasi reaksi hidrolisis dengan katalis enzim termofil sehingga menyebabkan konversi selulosa dan hemiselulosa menjadi tidak optimal (Guo et al., 2018). Dibandingkan dengan penelitian terdahulu yang menjalankan proses pada suhu 50 – 60 °C, konsentrasi gula yang dihasilkan memang akan menjadi lebih tinggi.

4. Kesimpulan

Hasil *pretreatment* menggunakan gelombang mikro 800W dalam keadaan basa dengan konsentrasi 3M menunjukkan penurunan lignin hingga 15% dan mampu meningkatkan konsentrasi selulosa hingga 61%. Kemudian berdasarkan variasi konsentrasi enzim yang telah dilakukan yaitu pada 2%, 3%, dan 4% didapatkan hasil bahwa volume enzim selulase dan hemiselulase dalam menghasilkan kadar gula reduksi yang optimum pada variasi 4% volume enzim menghasilkan kadar gula reduksi sebesar 5,55 g/L dengan kondisi operasi 37 °C, pH 5, dan 75 rpm. Saran pada penelitian selanjutnya adalah mencari kinetika reaksi untuk enzim CellicTech3 – HS agar nantinya dapat mengetahui waktu optimum keberjalanan reaksi hidrolisis secara tepat dan akurat dan juga dengan pertimbangan konsentrasi selulosa dan hemiselulosa yang mempengaruhi kinetika reaksi enzimatik tersebut.

5. Ucapan Terima Kasih

Ucapan terimakasih ditujukan kepada Politeknik Negeri Lampung (Polinela) sebagai penyedia dana DIPA skema penelitian dosen pemula dan khususnya kepada Pusat Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (P3M) Polinela yang telah memberikan arahan dan bantuan untuk segala bentuk administrasi pengurusan dana DIPA. Terimakasih juga ditujukan kepada PT Perkebunan Nasional VII yang telah bersedia bekerja sama memberikan sampel yang digunakan sebagai bahan baku utama dalam penelitian ini

References

- Aditiya, H., Chong, W., Mahlia, T., Sebayang, A., Berawi, M., & Nur, H. (2016). Second generation bioethanol potential from selected Malaysia's biodiversity biomasses: A review. *Waste Management*, 47, 46-61.
- Aditiya, H. B., Mahlia, T. M. I., Chong, W. T., Nur, H., & Sebayang, A. H. (2016). Second generation bioethanol production: A critical review. *Renewable and sustainable energy reviews*, 66, 631-653.
- Almeida, F., Travália, B., Gonçalves, I., & Forte, M. (2021). *Biodiesel production by lipase-catalyzed reactions: bibliometric analysis and study of trends. Biofuels Bioprod Biorefin* 15 (4): 1141–1159.
- Anoopkumar, A., Reshmy, R., Aneesh, E. M., Madhavan, A., Kuriakose, L. L., Awasthi, M. K., Pandey, A., Binod, P., & Sindhu, R. (2023). Progress and challenges of Microwave-assisted pretreatment of lignocellulosic biomass from circular bioeconomy perspectives. *Bioresource technology*, 369, 128459.
- Baksi, S., Saha, D., Saha, S., Sarkar, U., Basu, D., & Kuniyal, J. (2023). Pre-treatment of lignocellulosic biomass: review of various physico-chemical and biological methods influencing the extent of biomass depolymerization. *International journal of environmental science and technology*, 20(12), 13895-13922.
- Bautista-Herrera, A., Ortiz-Arango, F., & Alvarez-Garcia, J. (2021). Profitability using second-generation bioethanol in gasoline produced in Mexico. *Energies*, 14(8), 2294.
- Bezerra, T. L., & Ragauskas, A. J. (2016). A review of sugarcane bagasse for second-generation bioethanol and biopower production. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 10(5), 634-647.
- BPS. (2025). Statistik Tanaman Perkebunan Semusim Indonesia 2024 (Tebu dan Tembakau). *Badan Pusat Statistik*, 1. https://web-api.bps.go.id/download.php?f=MSYrlwVCHcDzqzKCWps8EzdOaEpEaXJITW1ZR2VXaTZ4Z00wcTZ5TWcwSFhqMINndi9uaU9nNDlkWVYyUmRIeFU0KzhIRzFRWDdZSCtHZmpXN2dOUERLU2tuNnRRUldybFZFR1hvUHHpQit3UDJkdW9vUDB5WTdyTU1yUkZpNy9mRC9mZ2UrZkJIWmIzMmNISIFIQThrdEFhWERUTWpVN2ZPekx5L0dGOThHaHhpT1NxTHptUGN6QXA4V2ZiMXdTO0d0aEpCYVVLbzdhM2Y3VktxdLZKbzFqY1dmNThKUzU3Nk9YYzNZaWNHMEexcVdzV0NOOTZOQjNNQWxOVmRyRmZoOXBVLzVteHNIWmR4V1g4UXp6SFNPTjdXVGFBRjM2T2hieHZSdlZaVEtPOExqd2xMS3JlcU1RVWhsUG4xcFRKak9EZUxrREx0V1IHTXIN&gl=1*1rxdv2w*ga*MjEzODUwNzU3My4xNzY3MDY1OTc5*gaXXTTVXWHDB*cze3NzI1NDg1MTQkbzckZzEkdDE3NzI1NDg1OTUkajQ1JGwwJGgw
- Broda, M., Yelle, D. J., & Serwańska, K. (2022). Bioethanol production from lignocellulosic biomass—challenges and solutions. *Molecules*, 27(24), 8717.
- Caroline, V., Mardawati, E., Mahardika, M., & Fitriana, H. N. (2023). Two-stage Enzymatics Hydrolysis for Bioethanol and Xylitol Production from Oil Palm Empty Fruits Bunches (OPEFB) as Integrated Biorefinery Implementation Strategies. *Biomass, Biorefinery and Bioeconomy*, 1(1).
- Gunam, I. B. W., Wartini, N. M., Anggreni, A., & Suparyana, P. M. (2011). Delignifikasi ampas tebu dengan larutan natrium hidrosida sebelum proses sakaraifikasi secara enzimatis menggunakan enzim selulase kasar dari *Aspergillus niger* Fnu 6018. *Jurnal teknologi indonesia*, 34(3), 24-32.
- Guo, H., Chang, Y., & Lee, D.-J. (2018). Enzymatic saccharification of lignocellulosic biorefinery: research focuses. *Bioresource technology*, 252, 198-215.

Fadian Farisan Silmi, Inka Cristin, Sri Rahayu Widyaningrum, Dedi Teguh, I Ketut Buyut Suratnata, Nadinda Siti Rosyidah, Resa Nurvia
fadianfarisan@polinela.ac.id: Aplikasi Teknologi Biorefinery Limbah Ampas Tebu dalam Pembuatan Gula Pereduksi Sebagai Alternatif Energi Baru Terbarukan

- Hassan, S., Ngo, T., & Ball, A. S. (2024). Valorisation of sugarcane bagasse for the sustainable production of polyhydroxyalkanoates. *Sustainability*, 16(5), 2200.
- Hassan, S. S., Williams, G. A., & Jaiswal, A. K. (2018). Emerging technologies for the pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource technology*, 262, 310-318.
- Kim, J. S., Lee, Y., & Kim, T. H. (2016). A review on alkaline pretreatment technology for bioconversion of lignocellulosic biomass. *Bioresource technology*, 199, 42-48.
- Laltha, M., Sewsynker-Sukai, Y., & EB, G. K. (2021). Development of microwave-assisted alkaline pretreatment methods for enhanced sugar recovery from bamboo and corn cobs: process optimization, chemical recyclability and kinetics of bioethanol production. *Industrial Crops and Products*, 174, 114166.
- Latifa, A., Sediawan, W., & Fahrurrozi, M. (2024). Analysis and characterization of microcrystalline cellulose synthesized from microwave-assisted hydrolysis of sugarcane bagasse. AIP Conference Proceedings,
- Muharja, M., Darmayanti, R. F., Palupi, B., Rahmawati, I., Fachri, B. A., Setiawan, F. A., Amini, H. W., Rizkiana, M. F., Rahmawati, A., & Susanti, A. (2021). Optimization of microwave-assisted alkali pretreatment for enhancement of delignification process of cocoa pod husk. *Bulletin of Chemical Reaction Engineering & Catalysis*, 16(1), 31-43.
- Nawawi, M. I. S., Mardawati, E., Fitriana, H. N., & Amanda, P. (2023). Evaluation of pretreatment and enzymatic hydrolysis stages toward oil palm empty fruit bunches (OPEFB) for xylose and glucose production. *Biomass, Biorefinery and Bioeconomy*, 1(1).
- Oktavia, F. I., Argo, B. D., & Lutfi, M. (2014). Hidrolisis enzimatik ampas tebu (bagasse) memanfaatkan enzim selulase dari mikrofungi *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* sebagai katalisator dengan pretreatment microwave. *Journal of Tropical Agricultural Engineering and Biosystems- Jurnal Keteknik Pertanian Tropis dan Biosistem*, 2(3).
- Pérez-Almada, D., Galán-Martín, Á., del Mar Contreras, M., & Castro, E. (2023). Integrated techno-economic and environmental assessment of biorefineries: review and future research directions. *Sustainable Energy & Fuels*, 7(17), 4031-4050.
- Permanasari, A. R., Yulistiai, F., Tsagila, M. A., Alami, D., & Wibowo, A. (2018). Pengaruh konsentrasi substrat dan enzim terhadap produk gula reduksi pada pembuatan gula cair dari tepung sorgum merah secara hidrolisis enzimatis. Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan",
- Qing, Q., Yang, B., & Wyman, C. E. (2010). Impact of surfactants on pretreatment of corn stover. *Bioresource technology*, 101(15), 5941-5951.
- Sánchez-Muñoz, S., Balbino, T. R., de Oliveira, F., Rocha, T. M., Barbosa, F. G., Vélez-Mercado, M. I., Marcelino, P. R., Antunes, F. A., Moraes, E. J., & Dos Santos, J. C. (2022). Surfactants, biosurfactants, and non-catalytic proteins as key molecules to enhance enzymatic hydrolysis of lignocellulosic biomass. *Molecules*, 27(23), 8180.
- Setiati, R., Fatahanissa, A., Riswati, S. S., Siregar, S., & Wahyuningrum, D. (2021). Potential of Bagasse as Raw Material for Lignosulfonate. *Sugarcane: Biotechnology for Biofuels*, 91.
- Widyawati, N. (2014). Pemanfaatan Microwave dalam Proses Pretreatment Degradasi Lignin Ampas Tebu (Bagasse) pada Produksi Bioetanol.
- Zhang, H., Dai, T., Huang, S., & Xie, J. (2023). Enhancement of enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse by the combination of delignification pretreatment and polysorbate 80. *Fermentation*, 9(4), 371.
- Zhu, Z., Rezende, C. A., Simister, R., McQueen-Mason, S. J., Macquarrie, D. J., Polikarpov, I., & Gomez, L. D. (2016). Efficient sugar production from sugarcane bagasse by microwave assisted acid and alkali pretreatment. *Biomass and Bioenergy*, 93, 269-278.