

## Pemanfaatan Selulosa *Fron*d Sagu untuk Produksi Hidrolisat Prebiotik Melalui Hidrolisis Enzimatis

Ilham Marvie<sup>1\*</sup>, Titi Candra Sunarti<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Program Studi Teknologi Pangan, Jurusan Teknologi Produksi dan Industri, Institut Teknologi Sumatera, Jl. Terusan Ryacudu, Way Huwi, Kec. Jati Agung, Kabupaten Lampung Selatan, Lampung 3536

<sup>2</sup> Departemen Teknik Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, IPB University, Jl. Raya Dramaga, Babakan, Kec. Dramaga, Kota Bogor, Jawa Barat 16680

\* Corresponding email: [ilham.marvie@tp.itera.ac.id](mailto:ilham.marvie@tp.itera.ac.id)

### Riwayat Artikel

Diterima  
16/07/2021  
Disetujui  
05/01/2022  
Diterbitkan  
24/01/2022

### Abstrak

*Fron*d sagu merupakan bagian atas tanaman sagu yang tidak dimanfaatkan pada saat pemanenan batang sagu. *Fron*d sagu memiliki komponen non selulosa yang rendah, sehingga potensial dimanfaatkan sebagai produksi hidrolisat selulosa. Hasil hidrolisis tersebut mengandung selooligosakarida dan selobiosa yang dimanfaatkan sebagai prebiotik bagi sistem pencernaan manusia. Enzim selulolitik digunakan sebagai katalis dalam menghasilkan produk antara selulosa, oleh sebab itu diperlukan ketepatan waktu pada proses hidrolisis. Penelitian ini mengkaji karakteristik *frond* sagu dan ekstrak selulosa *frond* sagu, dan pemanfaatannya sebagai substrat untuk hidrolisis selulosa. Hasil memperlihatkan setengah bagian atas *frond* memiliki kandungan serat kasar (35% basis basah) dan komponen selulosa (37% basis basah) yang lebih tinggi dibandingkan bagian bawahnya. Hingga 72 jam proses hidrolisis, diperoleh selooligosakarida dan selobiosa dengan derajat polimerisasi rata-rata 7.9 dan dextrose equivalente 12.6.

**Kata Kunci:** *Fron*d Sagu, Hidrolisis, Selulase, Selooligosakarida, Selobiosa

### Abstract

Sago palm frond is the upper part of sago palm trunk and is not utilized during sago harvesting. Sago palm frond contains low non-cellulose components; thus, it is potential to be used as the production of cellulose hydrolysate. The result contains cello-oligosaccharides and cellobiose which can be utilized as a prebiotic that is beneficial to the human digestion system. The cellulolytic enzyme is used as a catalyst to produce intermediate hydrolysate. therefore, it requires a certain hydrolysis process. This research investigated the characteristics of sago palm frond and the extraction of its cellulose, and its application as a substrate for the cellulose hydrolysis. The results showed that the upper half frond contains higher crude fiber (35% wet basis) and cellulose components (37% wet basis) compared to the bottom one. Up to 72 hours the hydrolysis produced cello-oligosaccharides and cellobiose with degree of polymerization of 7.9 and a dextrose equivalent of 12.6.

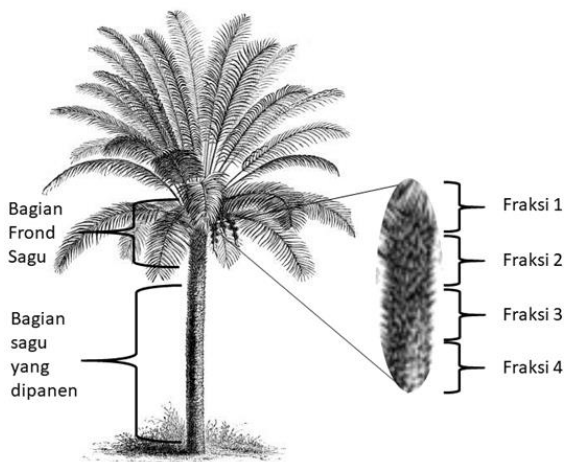
**Keywords:** Cellulase, Cellobiose, Cello-oligosaccharides, Hydrolysis, Sago palm frond

### 1. Pendahuluan

*Fron*d sagu merupakan salah satu bagian dari tanaman sagu (*Metroxylon sago*). Bagian ini terdiri atas bagian pucuk batang, dahan dan daun (Gambar 1). Pada proses pemanenan sagu bagian *frond* tidak dimanfaatkan dan menjadi limbah produksi [1]. Selama ini *frond* sagu dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan dinding rumah [2], pakan ternak [3], dan media tanam jamur [4]. *Fron*d sagu memiliki kandungan pati 13,53%, lebih rendah dibandingkan bagian batang sagu yang mencapai

25,19% [5]. Hal tersebut disebabkan oleh perubahan pati sagu menjadi gula sederhana selama proses pembentukan bunga dan buah dari tanaman sagu [5]. Dominasi kandungan serat memiliki potensi untuk dikembangkan manfaatnya, salah satunya menjadi selooligosakarida dan selobiosa sebagai prebiotik untuk bahan makanan fungsional [6], [7].

Informasi mengenai karakteristik kandungan serat dari *frond* sagu belum banyak tersedia saat ini, sehingga diperlukan penelitian pendahuluan untuk mengetahui potensi yang terdapat dari *frond* sagu. *Frond* sagu diharapkan memiliki karakteristik yang sama dengan *frond* kelapa sawit yang telah dikembangkan menjadi sumber serat alami di Industri. *Frond* kelapa sawit memiliki kandungan selulosa (41.7%), hemiselulosa (16.7%) dan lignin (15.5%)[8].



Gambar 1 Ilustrasi posisi frond sagu pada pohon sagu (*Metroxylon sagu*) dan pembagian fraksi frond sagu

Selulosa merupakan polimer yang tersusun oleh *D-anhidroglukopiranososa* pada ikatan  $\beta$ -1,4-glikosida [9]. Selulosa pada kondisi alami berikatan dengan lignin dan hemiselulosa [9] Untuk mendapatkan selulosa tersebut diperlukan proses ekstraksi dalam memisahkannya dari kandungan lignin dan hemiselulosa [10]. Identifikasi hasil hidrolisis dapat dilakukan dengan pengujian kadar serat kasar [11] dan pengamatan morfologi pada *frond* sagu menggunakan *scanning electron microscope* (SEM).

Proses hidrolisis selulosa dapat dilakukan menggunakan enzim selulase [12]. Mekanisme kerja enzim ini terdiri dari pembentukan proses pembentukan selooligosakarida oleh enzim endoglukanase, pembentukan selobiosa oleh enzim eksoglukanase dan pembentukan  $\beta$ -glukosa oleh enzim  $\beta$ -glukosidase. Ketiga enzim tersebut bekerja secara bersama-sama [13]. Selooligosakarida dan selobiosa merupakan produk antara dari keseluruhan proses hidrolisis, sehingga diperlukan ketepatan waktu hidrolisis.

Selooligosakarida dan selobiosa dapat dimanfaatkan sebagai prebiotik bagi pertumbuhan probiotik *Lactobacillus sp* dalam saluran pencernaan manusia [14]. Identifikasi hasil hidrolisis tersebut dapat dilakukan dengan melakukan pengujian derajat polimerisasi dan *dextrose*

*equivalent* [15] dan Analisis menggunakan *high performance liquid chromatography* (HPLC).

Penelitian ini bertujuan mengetahui karakteristik dan potensi selulosa yang terdapat pada *frond* sagu sehingga dapat dimanfaatkan dalam produksi hidrolisat antara secara hidrolisis enzimatis. Selain itu penelitian ini juga bertujuan untuk mengetahui waktu yang tepat pada proses hidrolisis dan identifikasi hidrolisat selulosa *frond* sagu. Manfaat yang didapatkan dari penelitian ini adalah penambahan informasi terhadap karakteristik *frond* sagu dan potensi pemanfaatan produk hidrolisis selulosa sebagai prebiotik.

## 2. Metode

### 2.1 Bahan dan peralatan

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah *frond* sagu (*Metroxylon sagu*) bagian pucuk batang sagu dengan umur tanam 10 – 11 tahun (fase pelawai manit/*full trunk grow*) yang didapatkan di perkebunan ex-situ BPPT, Kelurahan Balumbang Jaya, Bogor. Enzim selulase dari *Trichoderma viride* yang digunakan didapatkan dari LIPI Cibinong, Bogor. Bahan lain yang digunakan adalah NaOH (Sigma-Aldrich 98%),  $H_2O_2$  (Sigma-Aldrich 95%) , buffer sitrat dan sodium azida (Sigma-Aldrich).

### 2.2 Persiapan bahan baku dan karakterisasi frond sagu

*Frond* sagu yang berupa pucuk batang pohon sagu dengan dipisahkan dari bagian batang sagu. Batas dari pucuk batang sagu merupakan bagian yang masih dilapisi pelepah berwarna hijau. *Frond* sagu dipisahkan dari pelepah dan dipotong menjadi empat fraksi masing-masing 80 – 110 cm. Fraksi *frond* sagu dilakukan pengecilan ukuran dan pengeringan selama 48 jam dengan sinar matahari langsung untuk mengurangi kandungan air hingga 10%. Hal ini dilakukan untuk menghindari terjadinya perubahan karakterisasi bahan baku. Selanjutnya *frond* sagu dilakukan pengecilan ukuran kembali dan pengeringan dengan menggunakan oven pada suhu 50°C selama 24 jam. Pengecilan ukuran bahan menggunakan *disc mill* hingga lolos pada saringan 40 mesh [16].

Karakterisasi *frond* sagu dilakukan dengan menggunakan metode analisis kandungan proksimat yang terdiri atas kandungan air, abu, protein kasar, lemak kasar, serat kasar, dan karbohidrat *by difference* [17]. Analisis kandungan serat yang terdiri atas kandungan *acid detergent fiber* (ADF), *neutral detergent fiber* (NDF), selulosa, lignin dan kadar hemiselulosa [11]. Selain itu juga dilakukan pengamatan morfologi pada *frond* sagu menggunakan (SEM). Karakterisasi *frond* sagu dilakukan pada sampel sebelum dan setelah proses ekstraksi selulosa *frond* sagu

### 2.3 Hidrolisis selulosa dan karakterisasi hidrolisat frond sago

Hidrolisis selulosa dilakukan dengan penambahan enzim selulase sebanyak 60 FPU/ g substrat, dan sodium azida 10% sebanyak 0,1 ml/ 10 ml buffer sitrat pH 4.8. Hidrolisis dilakukan dengan menggunakan *incubator shaker* pada suhu 50°C dan kecepatan agitasi 150 rpm selama 72 jam [15].

Pengambilan sampel dilakukan pada jam ke- 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 19, 21, 24, 30, 36, 42, 48, 60, dan 72 dari waktu hidrolisis. Sampel yang telah diambil dilakukan inaktivasi dengan pemanasan pada air mendidih selama 10 menit dan disimpan dalam *freezer*. Karakterisasi hidrolisat dari *frond* sago untuk mendapatkan nilai derajat polimerisasi dan dextrose *equivalent* menggunakan analisa total gula (Metode Fenol-Sulfat) dengan membandingkan dengan analisis gula pereduksi [15]. Identifikasi hidrolisat yang terdapat pada sampel dilakukan analisa dengan menggunakan HPLC [13].

## 3. Hasil dan Pembahasan

### 3.1. Persiapan Bahan Baku dan karakterisasi frond sago

Tanaman sago (*Metroxylon sago*) yang didapatkan dari perkebunan *ex-situ* BPPT Balumbang Jaya, Bogor Barat memiliki tinggi total 12.5 m dengan usia 10 – 11 tahun. Tanaman sago telah memasuki fase pertumbuhan pelawai manit/*full trunk grow* pada usia 10-11 tahun [5]. Pada fase ini tanaman sago telah memiliki kandungan pati pada batang yang optimal sehingga siap untuk dilakukan pemanenan pati sago [5]. *Fron*d sago yang terdiri atas bagian pucuk batang, pelepah, dan daun tidak digunakan pada pemanenan. *Fron*d sago memiliki ukuran 3.5 m dari 12.5 m tinggi pohon sago. Berat *frond* sago mencapai 49.66 kg dengan kandungan air pada *frond* sago mencapai 83.38%. Kandungan air yang tinggi pada *frond* sago menjadi salah satu penyebab tidak dimanfaatkan sebagai bagian yang digunakan untuk pemanenan pati sago.

*Fron*d sago yang digunakan dibagi menjadi 4 fraksi untuk mendapatkan karakteristik dari setiap fraksi (Tabel 1). Pembagian dilakukan berdasarkan letak ketinggian pucuk batang sago (Gambar 1). Fraksi 1 yang merupakan bagian dengan posisi tertinggi hingga fraksi 4 yang merupakan bagian dengan letak terendah dari pucuk batang sago. Batas antara pucuk pohon sago dan bagian batang sago terlihat dari perubahan warna dari hijau menjadi berwarna coklat gelap. Pengecilan bentuk *frond* sago dilakukan hingga mencapai ukuran 40 mesh. Pengecilan ukuran dilakukan untuk melakukan pemisahan bagian *frond* sago yang berbentuk serat-serat halus dan panjang. Bentuk serat tersebut tidak dapat digunakan pada proses

selanjutnya karena ukurannya yang tidak sama dan bentuk yang kaku menunjukkan terdapat kandungan lignin yang lebih dominan. Rendemen keseluruhan yang didapatkan setelah proses pengeringan *frond* sago ukuran 40 mesh mencapai 5.53% atau 3.6 kg dari 49.66 kg bahan baku *frond* sago.

Tabel 1 Fraksinasi *frond* sago

<i>Fron</i> d Sagu	Panjang (cm)	Berat sebelum pengeringan (g)	Berat sesudah pengeringan (g)	
			< 40 mesh	> 40 mesh
Fraksi 1	110	7457.6	220	150
Fraksi 2	80	9472.4	340	509
Fraksi 3	80	13904.6	430	588
Fraksi 4	80	18823.6	2600	928

Analisis kandungan proksimat diperlukan untuk mengetahui komposisi senyawa penyusun bahan yang terdiri atas kandungan air, lemak, protein, serat kasar, abu dan karbohidrat. Analisis ini dapat menjadi dasar pemanfaatan bahan berdasarkan potensi yang terdapat pada komponen proksimat. Belum banyak informasi tentang kandungan proksimat pada *frond* sago membuat pemanfaatannya masih terbatas. Berbeda dengan empelur sago yang saat ini telah dimanfaatkan karena potensi kandungan pati dan selulosa yang tinggi. Perbandingan kandungan proksimat pada *frond* sago dengan empelur batang sago diperlukan untuk mengetahui perbedaan karakteristik antara *frond* sago dan batang sago serta potensi yang dapat dimanfaatkan pada *frond* sago.

Tabel 2 menunjukkan perbedaan kandungan proksimat pada setiap *frond* sago yang diuji secara statistik dengan metode pengujian pembeda *tukey* dan dilakukan pengujian lanjut menggunakan analisa varian (ANOVA) dengan tingkat kepercayaan 95%. Perbedaan signifikan terlihat pada kandungan air, protein kasar, serat kasar dan karbohidrat. Kandungan air, serat kasar dan karbohidrat menunjukkan bahwa *frond* sago terbagi menjadi 2 kelompok fraksi yang memiliki perbedaan signifikan. Kelompok fraksi atas terdiri atas fraksi 1 dan fraksi 2 sedangkan kelompok fraksi bawah terdiri atas proksimat yang sama seperti fraksi 3 dan fraksi 4. *Fron*d Sagu memiliki kandungan protein dan lemak yang rendah.

Komponen serat kasar dan karbohidrat merupakan komponen mayor yang terdapat pada *frond* sago dengan komponen serat kasar sebesar 17.90% – 34.44% dan komponen karbohidrat sebesar 51.44% – 72.87%. Penggunaan metode *by difference* menunjukkan selisih kandungan karbohidrat dan serat kasar dapat dijadikan dasar untuk melihat jumlah komponen karbohidrat non serat, salah satunya kandungan pati terdapat pada bahan. Selisih antara komponen karbohidrat dan serat kasar pada empelur batang sago (74.8%) lebih

tinggi dari *frond* sagu (51.44%-72.87%) [18]. Hal tersebut menunjukkan bahwa kandungan pati pada empelur batang sagu lebih besar dari pada *frond* sagu. Fenomena tersebut dibuktikan oleh Jong yang menunjukkan terjadinya perubahan distribusi kandungan pati pada pohon sagu selama masa pertumbuhan [5].

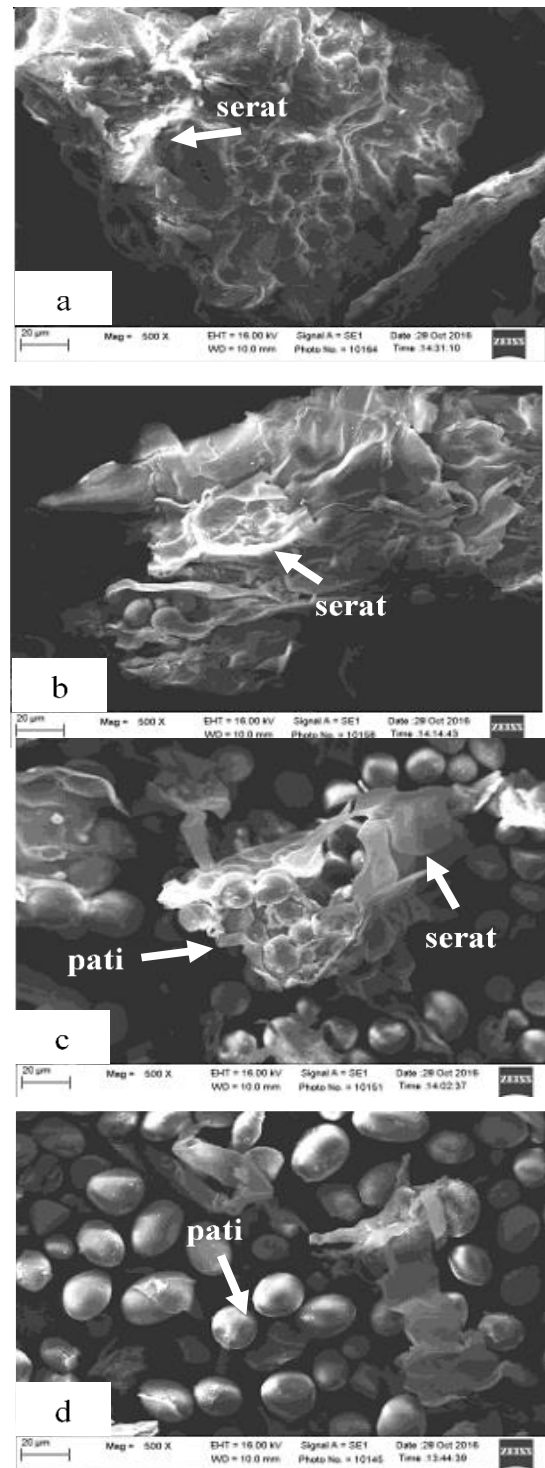
Tabel 2 Kandungan proksimat *frond* sagu

Kandungan Proksimat	<i>Frond Sagu</i>			
	Fraksi 1	Fraksi 2	Fraksi 3	Fraksi 4
Air	(% bb) 3.65 ±0.05 <sup>a</sup>	3.85 ±0.18 <sup>a</sup>	2.83 ±0.04 <sup>b</sup>	2.65 ±0.14 <sup>b</sup>
Lemak Kasar	(% bb) 0.42 ±0.01	0.57 ±0.00	0.35 ±0.02	0.34 ±0.01
	(% bk) 0.41 ±0.01 <sup>a</sup>	0.55 ±0.00 <sup>b</sup>	0.34 ±0.02 <sup>c</sup>	0.33 ±0.01 <sup>c</sup>
Protein Kasar	(% bb) 2.85 ±0.28	1.90 ±0.19	0.99 ±0.22	0.53 ±0.12
	(% bk) 2.75 ±0.27 <sup>a</sup>	1.83 ±0.18 <sup>b</sup>	0.96 ±0.21 <sup>c</sup>	0.51 ±0.12 <sup>c</sup>
Serat Kasar	(% bb) 35.76 ±0.73	35.59 ±4.33	19.51 ±1.35	18.35 ±1.28
	(% bk) 34.40 ±0.72 <sup>a</sup>	34.20 ±4.23 <sup>a</sup>	19.00 ±1.31 <sup>b</sup>	17.90 ±1.27 <sup>b</sup>
Abu	(% bb) 5.60 ±0.02	5.70 ±0.06	5.18 ±0.04	5.63 ±0.79
	(% bk) 5.40 ±0.02 <sup>a</sup>	5.48 ±0.05 <sup>a</sup>	5.03 ±0.04 <sup>a</sup>	5.48 ±0.77 <sup>a</sup>
Karbohidrat	(% bb) 51.44 ±0.16 <sup>a</sup>	54.35 ±2.74 <sup>a</sup>	70.62 ±1.37 <sup>b</sup>	72.87 ±1.92 <sup>b</sup>

Keterangan: basis basah (bb), basis kering(bk); perbedaan huruf (a, b, dan c) menunjukkan perbedaan nyata berdasarkan uji ragam varian (ANOVA) dan uji lanjut tukey dengan tingkat kepercayaan 95%.

Penelitian yang dilakukan oleh Jong menunjukkan kandungan pati terbesar berada dibagian bawah batang tanaman sagu pada fase tanaman muda (tahun ke 7) dan bergerak menuju bagian tengah batang sagu pada fase full trunk (tahun ke 11.5 - 12), lalu pati akan mendominasi bagian *frond* sagu pada fase keluarnya bunga (Tahun ke 12.5). Hal ini disebabkan oleh proses penyimpanan cadangan gula pada fase pembentukan buah (Tahun ke 10) yang membuat kandungan pati akan berkurang pada seluruh bagian tanaman sagu hingga memasuki fase kematian dari tanaman sagu [5].

Berdasarkan penelitian tersebut dapat dilihat bahwa bagian *frond* sagu memiliki kandungan pati yang lebih rendah pada bagian empelur sagu pada fase full trunk. Kondisi tersebut. menjadi alasan tidak dimanfaatkan *frond* sagu dalam pemanenan pati sagu. Bagian dari *frond* sagu diperkirakan memiliki umur 1 - 2 tahun dari fase pertumbuhan batang sagu.



Gambar 2 Hasil pengamatan scanning electron microscope (SEM) terhadap *frond* sagu fraksi 1 (a) fraksi 2 (b) fraksi 3 (c) dan fraksi 4 (d)

Gambar 2 menunjukkan hasil pengamatan menggunakan *scanning electron microscope* (SEM) terhadap morfologi *frond* sagu menunjukkan bahwa *frond* sagu memiliki karakteristik yang berbeda. Kandungan pati terlihat dominan pada fraksi 3 dan fraksi 4 *frond* sagu dengan pencitraan komponen berbentuk bola pada hasil pengamatan SEM. Fraksi

1 dan fraksi 2 memiliki karakteristik kandungan serat yang lebih dominan dengan pencitraan bentuk lapisan yang berlapis lapis dan tidak teratur pada hasil pengamatan SEM (Gambar 2a dan 2b). Hasil pengamatan morfologi menggunakan SEM menguatkan pendapat dari Jong terhadap fenomena perbedaan kandungan karbohidrat dan serat kasar yang menunjukkan fraksi 3 dan fraksi 4 sebagai fraksi bawah (Gambar 2c dan 2d) dengan kandungan pati yang lebih dominan dari pada fraksi atas (Gambar 2a dan 2b) [5].

Fraksi atas yang terdiri atas fraksi 1 dan fraksi 2 (Gambar 2a dan 2b) memiliki kandungan serat yang dominan dibandingkan fraksi bawah (Gambar 2c dan 2d). Apabila dibandingkan dengan hasil analisa kandungan proksimat, kandungan serat kasar pada *frond* sagu juga memiliki perbedaan karakteristik, pada fraksi 1 (35.76%) dan fraksi 2 (35.59%) memiliki perbedaan yang signifikan dengan fraksi 3 (19.50%) dan fraksi 4 (18.35%). Perbedaan tersebut menunjukkan bahwa terdapat korelasi antara kandungan karbohidrat, kandungan serat kasar dan kandungan pati. Fraksi 3 dan fraksi 4 merupakan bagian *frond* dengan posisi terendah dibandingkan *frond* lainnya memiliki kandungan pati yang lebih besar dari pada fraksi *frond* yang lebih tinggi. Hal tersebut membuktikan fenomena yang terdapat pada distribusi pati pada tanaman sagu (Gambar 2) dan menjadikan *frond* sagu sebagai bagian dari tanaman sagu dengan potensi serat terbesar. Potensi serat kasar pada *frond* sagu tersebut juga lebih besar dibandingkan dengan *frond* kelapa sawit sebesar 21% [8], sehingga *frond* sagu memiliki potensi untuk dimanfaatkan sebagai salah satu alternatif sumber serat alami.

Analisa kandungan serat dilakukan untuk melihat karakter serat yang terdapat pada *frond* sagu. *Acid detergent fiber* (ADF) merupakan kandungan serat yang terdiri atas lignin, selulosa dan hemiselulosa, sedangkan *neutral detergent fiber* (NDF) merupakan kandungan serat yang terdiri dari selulosa dan lignin [18], Tabel 3 menunjukkan adanya perbedaan kandungan NDF, ADF, dan selulosa yang signifikan, perbedaan tersebut diuji secara statistika dengan metode uji perbedaan tukey dan pengujian lanjut menggunakan uji analisa varian (ANOVA) dengan tingkat kepercayaan 95%. Perbedaan kandungan selulosa yang signifikan membuat *frond* sagu menjadi 2 kelompok dengan fraksi 1 (37.41%) dan fraksi 2 (34.35%) sebagai kelompok fraksi atas yang memiliki kandungan selulosa lebih tinggi dari kelompok fraksi bawah (fraksi 3 dan fraksi 4). Kandungan hemiselulosa dan lignin pada *frond* sagu menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan pada semua fraksi *frond* sagu.

Rendahnya kadar lignin dari *frond* sagu dapat menjadi salah keunggulan dibandingkan bahan lain

yang memiliki kadar lignin yang lebih tinggi seperti *frond* kelapa sawit sebesar 15.5% [8] dan tongkol jagung sebesar 23.74% [19]. Kandungan lignin yang lebih rendah menunjukkan proses pemanfaatan selulosa dari bahan lebih mudah. Hasil analisis kandungan serat menguatkan hasil kandungan proksimat dan pengamatan menggunakan SEM bahwa fraksi atas dari *frond* sagu memiliki karakteristik selulosa yang lebih dominan. Hasil analisa komponen proksimat, analisa komponen serat dan pengamatan SEM menunjukkan bahwa fraksi 1 dan fraksi 2 dari *frond* sagu merupakan bagian terbaik untuk dimanfaatkan sebagai salah satu alternatif sumber selulosa alami. Fraksi 1 dan fraksi 2 memiliki ukuran sepanjang 190 cm dari pucuk batang pohon sagu dengan perkiraan usia pertumbuhan batang 1 – 2 tahun.

Tabel 3 Analisa kandungan serat pada *frond* sagu

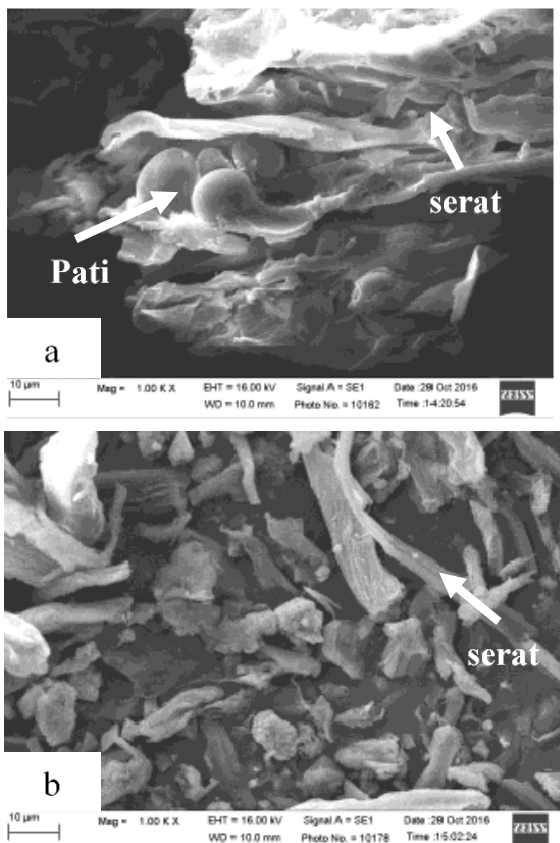
Kandungan Serat	<i>Frond Sagu</i>			
	Fraksi 1	Fraksi 2	Fraksi 3	Fraksi 4
NDF (%)	63.21 <sup>a</sup>	58.36 <sup>a</sup>	32.92 <sup>b</sup>	27.57 <sup>b</sup>
ADF (%)	45.66 <sup>a</sup>	44.41 <sup>a</sup>	24.60 <sup>b</sup>	12.26 <sup>b</sup>
Selulosa (%)	37.41 <sup>a</sup>	34.35 <sup>a</sup>	17.70 <sup>b</sup>	5.34 <sup>b</sup>
Hemiselulosa (%)	17.55 <sup>a</sup>	13.95 <sup>a</sup>	8.33 <sup>a</sup>	15.32 <sup>a</sup>
Lignin (%)	6.30 <sup>a</sup>	9.25 <sup>a</sup>	5.02 <sup>a</sup>	5.47 <sup>a</sup>
Senyawa ekstraktif (%)	38.74	2.45	68.95	3.87

Keterangan: Perbedaan huruf (a, b, dan c) menunjukkan perbedaan nyata berdasarkan uji ragam varian (ANOVA) dan uji lanjut tukey dengan tingkat kepercayaan 95%

Selulosa merupakan bagian dari senyawa lignoselulosa. Ikatan hidrogen antara senyawa selulosa dan hemiselulosa membentuk struktur kerangka yang dilapisi oleh matriks, serta lapisan lignin yang menjadikan struktur lignoselulosa yang tidak mudah terdegradasi [20]. Oleh karena itu diperlukan proses ekstraksi untuk merusak lapisan lignin (delignifikasi) dan memisahkan selulosa dan kandungan senyawa lignoselulosa lainnya (bleaching).

Pada proses perusakan lignin terjadi perubahan warna pada larutan *frond* sagu fraksi atas menjadi hitam pekat dan bersifat lengket. Perubahan tersebut menunjukkan terjadinya pelarutan lignin [20]. Adanya sebagian dari *frond* sagu yang membentuk gumpalan dan mengapung dipermukaan pelarut menunjukkan bahwa NaOH belum cukup untuk merusak lapisan lignin. Pemanasan pada suhu 130°C dan tekanan lebih dari 1,5 atm diperlukan untuk merusak ikatan-ikatan pada senyawa lignin yang bersifat amorf termoplastik [16].

Hemiselulosa yang menjadi matriks pada senyawa lignoselulosa lebih mudah mengalami hidrolisis ketika lapisan lignin sudah rusak. Sifat tersebut membuat sebagian hemiselulosa mulai berubah menjadi monosakarida ketika ekstraksi menggunakan NaOH yang lebih dari 5% dan menggunakan panas [20]. Rendemen dari delignifikasi fraksi atas *frond* sagu terdiri atas fraksi 1 (28.38%) dan Fraksi 2 (25.80%) dari *frond* sagu yang digunakan.



Gambar 3 Hasil pengamatan scanning electron microscope pada fraksi 2 *frond* sagu sebelum ekstraksi (a) dan sesudah ekstraksi (b)

Proses *bleaching* merupakan proses selanjutnya dari ekstraksi *frond* sagu yang bertujuan untuk melarutkan sisa lignin yang masih terdapat pada bahan [20]. Lignin yang mengandung molekul-molekul kromofor akan dioksidasi sehingga menjadi polar dan larut dalam air. Penurunan rendemen pada proses *bleaching* dibandingkan proses delignifikasi menunjukkan bahwa *frond* sagu memiliki kandungan senyawa-senyawa yang terhidrolisis ketika dilakukan proses *bleaching*. Penurunan rendemen fraksi 1 dari  $28.38 \pm 0.64$  (%bb) sebelum delignifikasi menjadi  $2.06 \pm 0.52$  (%bb) setelah *bleaching*. Pada fraksi 2 terjadi penurunan dari  $25.80 \pm 0.21$  (%bb) menjadi  $2.12 \pm 1.10$  (%bb).

Hasil pengamatan menggunakan *scanning electron microscope* (SEM) menunjukkan bahwa terjadi proses penghilangan kandungan pati serta rusaknya lapisan lignoselulosa yang melapisi pati menjadi kandungan selulosa, lignin dan hemiselulosa. Gambar 3 membuktikan bahwa proses ekstraksi *frond* sagu berhasil membuat kandungan serat menjadi lebih dominan. Analisis kandungan serat dilakukan untuk mengetahui perubahan karakter kandungan serat yang terdapat pada *frond* sagu sebelum dan sesudah proses ekstraksi.

Proses ekstraksi yang dilakukan pada sampel fraksi 2 *frond* sagu memperlihatkan terjadinya perubahan komposisi serat sebelum dan setelah ekstraksi. Kandungan selulosa mengalami peningkatan dari 34,35 (%bb) menjadi 67,71 (%bb). Kandungan hemiselulosa mengalami penurunan dari 12,95 (%bb) menjadi 2,17 (%bb). Sedangkan kandungan lignin mengalami penurunan dari 9,25 (%bb) menjadi 1,73 (%bb). Kandungan hemiselulosa dan lignin yang menurun menunjukkan bahwa telah terjadi pemisahan lapisan hemiselulosa dan lignin yang membungkus selulosa, hal tersebut membuat perbandingan kandungan selulosa menjadi meningkat terhadap kandungan hemiselulosa dan lignin. Alternatif ekstraksi dapat menggunakan NaOH 4% dan NaOCl 4% dengan hasil kandungan selulosa 40,5%, lignin 11,7% dan hemiselulosa 21,4% [21].

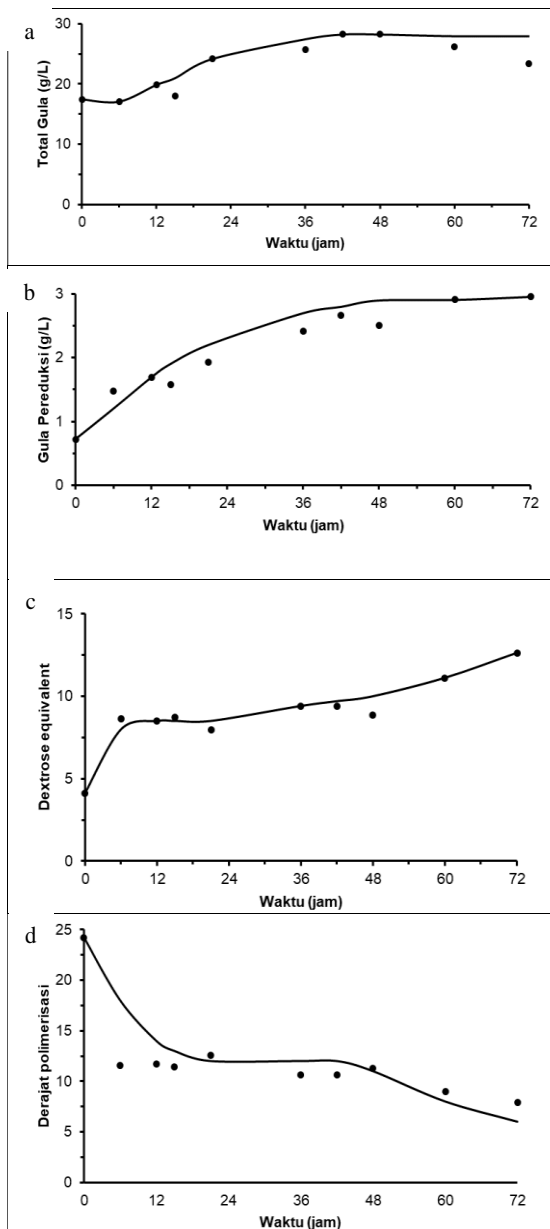
Kandungan lignin yang masih tersisa setelah ekstraksi disebabkan oleh keberagaman sifat yang dimiliki oleh lignin, terdapat komponen dari lignin yang bersifat asam sehingga tidak dapat larut oleh pelarut alkali, salah satu pelarut yang dapat melarutkan adalah hexafluorisopropanol [20]. Hasil dari analisa kandungan serat dan pengamatan SEM membuktikan bahwa fraksi atas *frond* sagu yang telah diekstraksi memiliki kandungan selulosa yang dominan dari kandungan hemiselulosa dan lignin.

### 3.2. Hidrolisis selulosa dan karakterisasi hidrolisat *frond* sagu

Hidrolisis selulosa dengan enzim selulase memiliki kondisi optimum pada suhu 50°C dan kecepatan agitasi sebesar 150 rpm [15]. Aktivitas enzim yang dimiliki oleh enzim selulase sebesar 8.1 filter paper unit (FPU)/mL, sedangkan enzim loading yang diinginkan sebesar 60 FPU/mL. Jika substrat yang digunakan sebesar 2 g, maka dibutuhkan enzim selulase sebanyak 14.81 mL. Hidrolisis enzim selulase menggunakan buffer sitrat pH 4.8 sebagai pelarut substrat selulosa karena pH optimum dari enzim selulase antara pH 4.5 – 5.5. Penggunaan sodium azida digunakan sebagai antibiotik yang menghambat pertumbuhan mikroba pada substrat. Hidrolisis selulase dilakukan selama 72 jam dengan pengambilan sampel secara berkala untuk

mengetahui perubahan total gula dan gula pereduksi pada substrat.

Gambar 4a menunjukkan bahwa terjadi peningkatan total gula pada hidrolisis dari jam ke-0 (17.48 g/L) hingga jam ke-72 (23.40 g/L). Peningkatan total gula pada hasil hidrolisis menunjukkan terjadi pemisahan polisakarida pada selulosa *amorf* terhadap selulosa kristalin sehingga terhidrolisis menjadi molekul gula yang lebih sederhana. Penggunaan selulase dalam konsentrasi yang lebih tinggi yaitu 10% dari substrat akan meningkatkan kandungan total gula menjadi 1250



Gambar 4 Kurva pengukuran total gula (a), gula pereduksi (b), dextrose equivalent (c) dan derajat polimerisasi (d) hasil hidrolisis selulosa *frond* sago

mg/L selama 24 jam hidrolisis [22]. Gambar 4b menunjukkan peningkatan jumlah gula pereduksi yang dihasilkan selama hidrolisis *frond* sago, jumlah

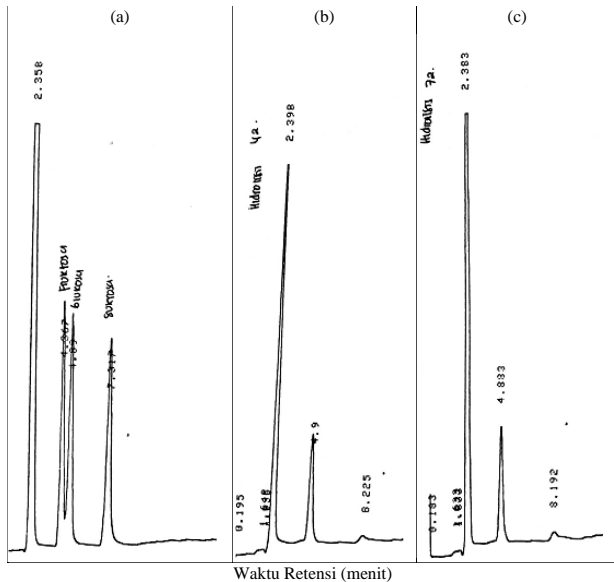
gula pereduksi tertinggi terjadi pada hidrolisis jam ke- 72 sebanyak 2.96 g/L. Peningkatan tersebut menunjukkan bahwa selulosa *frond* sago banyak yang telah terhidrolisis menjadi disakarida dan monosakarida. Sebagai perbandingan hidrolisis kulit umbi singkong menggunakan kapang *T. viride* menghasilkan kandungan gula pereduksi kurang dari 200 mg/L selama 24 jam hidrolisis [23].

*Dextrose equivalent* (DE) merupakan nilai yang menunjukkan kemampuan senyawa dalam mereduksi yang setara dengan yang dimiliki oleh destrosa murni/glukosa. Gambar 4c menunjukkan Nilai DE dari hidrolisat selulosa *frond* sago sekitar 4.1 sampai 11.60. Oligosakarida memiliki DE kurang dari 39.50. Oligosakarida yang terbentuk dari hidrolisis *frond* sago merupakan selo-oligosakarida. Menurut penelitian Resita nilai DE dari selo-oligosakarida yang terbentuk berkisar 1.61 sampai 6.77 [19]. Hal tersebut menunjukkan bahwa presentasi selulosa yang berubah menjadi gula pereduksi lebih besar dari penelitian sebelumnya. Semakin besar nilai DE menunjukkan semakin banyak gula pereduksi yang terbentuk dengan nilai maksimum 100 yang menunjukkan seluruh selulosa telah berubah menjadi monomer glukosa.

Derajat polimerisasi (DP) merupakan jumlah unit monomer dalam satu molekul. Jika semakin kecil nilai dari derajat polimerisasi maka produk hidrolisis telah membentuk molekul gula yang lebih sederhana. Gambar 4d menunjukkan terjadi penurunan DP dari hasil hidrolisis selulosa *frond* sago. Penurunan DP terhadap waktu hidrolisis terjadi pada jam ke-0 (24.20) hingga jam ke-72 (7.90). Oligosakarida memiliki DP antara 3 sampai 10 [24] dan oligosakarida dari selulosa merupakan selo-oligosakarida, sehingga hasil dari hidrolisis selulosa *frond* sago selama 72 jam telah menghasilkan selo-oligosakarida yang diinginkan yang ditunjukkan dengan warna keruh pada substrat [23]. Semakin kecil nilai DP menunjukkan bahwa produk hidrolisis telah menuju pembentukan disakarida selobiosa dan monomer glukosa.

Pengujian *high performance liquid chromatography* (HPLC) diperlukan untuk mengetahui kandungan gula yang terlarut dari hidrolisis selulosa *frond* sago. HPLC akan melihat kandungan glukosa dan komponen gula lain yang terdapat pada selo-oligosakarida. Selo-oligosakarida yang sudah terbentuk terdiri atas kandungan selobiosa dan glukosa. Semakin kecil DP yang dimiliki oleh produk hidrolisis memiliki kandungan disakarida dan monosakarida yang semakin tinggi. Hasil Pengujian HPLC pada gambar 5 menunjukkan terjadinya peningkatan konsentrasi glukosa yang sebelumnya 87.34% menjadi 91.89% saat waktu hidrolisis jam ke-42 dan jam ke-72. Konsentrasi glukosa terbentuk menunjukkan bahwa telah terjadi hidrolisis selulosa menjadi glukosa oleh

komponen enzim  $\beta$ -glukosidase. Hasil pengujian HPLC memiliki korelasi dengan pengujian gula pereduksi dimana terjadi peningkatan gula pereduksi (Glukosa) pada hidrolisis jam ke-42 dan jam ke-72.



Gambar 5 Kromatogram Standar Profil gula (a), Produk Hidrolisis Frond Sagu Jam ke-42 (b) dan Produk Hidrolisis Frond Sagu Jam ke-72 (c).

Selobiosa yang merupakan disakarida dari glukosa dengan ikatan  $\beta$ -1,4 Glikosidik tidak terbaca pada pengujian HPLC karena tidak tersedianya standar selobiosa pada HPLC yang digunakan dan kelarutan selobiosa yang lebih rendah dari pada glukosa (Gambar 5). Kromatogram HPLC hasil pengujian menunjukkan terdapat konsentrasi komponen lain yang terbaca pada pengujian dengan konsentrasi mencapai 6.72% - 9.32%, komponen tersebut diduga merupakan komponen disakarida karena terbaca pada waktu 8.23 menit sedangkan standar sukrosa yang merupakan monosakarida terbaca pada waktu 7.31 menit dari pembacaan HPLC (Gambar 5). Disakarida yang terbentuk dari monomer glukosa dengan ikatan  $\beta$ -1,4 Glikosidik merupakan selobiosa. Menurut Liang selobiosa terbaca setelah glukosa dengan waktu retensi setelah 10 menit [13]. Hasil pengujian HPLC menunjukkan bahwa proses hidrolisis selulosa telah membentuk selo-oligosakarida sebagai produknya dengan kandungan glukosa dan selobiosa, nilai derajat polimerisasi dan dextrose equivalent menunjukkan bahwa selo-oligosakarida terbaik telah terbentuk pada waktu hidrolisis jam ke-72.

#### 4. Kesimpulan

*Frond* sagu memiliki karakter kandungan serat kasar yang lebih besar dari kandungan karbohidrat, lemak kasar, dan protein kasar. *Frond* sagu

merupakan bagian dari pucuk batang tanaman sagu yang berumur 1 – 2 tahun. Kandungan selulosa yang mencapai 34.35% – 37.41% pada bagian 190 cm dari total panjang *frond* sagu menunjukkan bahwa selulosa merupakan potensi yang dapat dimanfaatkan dari fraksi 1 dan fraksi 2 *frond* sagu. Waktu terbaik dari hidrolisis selama 72 jam dengan terbentuknya hidrolisat dengan derajat polimerisasi 7,90 dan dextrose equivalent 12,60. Hasil pengujian HPLC menunjukkan bahwa proses hidrolisis selulosa telah membentuk selo-oligosakarida sebagai produknya dengan kandungan glukosa dan selobiosa

#### Daftar Pustaka

- [1] I. W. Arnata, Suprihatin, F. Fahma, N. Richana, and T. C. Sunarti, "Cellulose Production from Sago Frond with Alkaline Delignification and Bleaching on Various Types of Bleach Agents," *Orient. J. Chem.*, vol. 35, 2019.
- [2] Y. C. Ondikeleuw, Wahyudi, and M. Arifudin, "Utilization of biomass from Sago (Metroxylon sp) by local ethnic around the Sentani Lake Jayapura-Papua Province," *IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng.*, vol. 935, no. 1, 2020.
- [3] M. N. Ahmad, K. Bujang, and A. A. D. Salwani, "Production of High Quality Silage from Sago Fronds," *Biodivers. Environ. Conserv.*, vol. 15, no. 2, p. 26, 2019.
- [4] H. Senghie, M. H. Bolhassan, and D. S. Awg-Adeni, "The Effects of Sago (Metroxylon sago) Bark and Frond Waste as Substrates on the Growth and Yield of Grey Oyster Mushrooms (Pleurotus sajor-caju)," *Pertanika Trop. Agric. Sci.*, vol. 44, no. 2, pp. 307–316, 2021.
- [5] F. . Jong, "Distribution and variation in the starch content of sago palms (Metroxylon sago rottb.) at different growth stages," *Sago Palm*, vol. 2, pp. 45–54, 1995.
- [6] G. C. van Zanten *et al.*, "The Effect of Selected Synbiotics on Microbial Composition and Short-Chain Fatty Acid Production in a Model System of the Human Colon," *PLoS One*, vol. 7, no. 10, 2012.
- [7] G. Van Zanten *et al.*, "Synbiotic Lactobacillus acidophilus NCFM and cellobiose does not affect human gut bacterial diversity but increases abundance of lactobacilli, bifidobacteria and branched-chain fatty acids: a randomized, double-blinded crossover trial.," 2014.
- [8] M. Khushairi *et al.*, "Renewable sugar from



- oil palm frond juice as an alternative novel fermentation feedstock for value-added product,” *Bioresour Technol*, vol. 110, pp. 556–571, 2012.
- [9] O. O. Elechi, N. J. Tagbo, O. C. Mary, and A. O. Emmanuel, “Acid Hydrolysis Of Cassava Peel,” *Int. J. Sci. Technol. Res.*, vol. 5, no. 01, pp. 184–187, 2016.
- [10] S. A. Allen, A. R. E. E. Godson, S. M. Ayodeji, and S. E. Deborah, “Lignocelluloses: An Economical and Ecological Resource for Bio-Ethanol Production – A Review,” *Int. J. Nat. Resour. Ecol. Manag.*, vol. 1, no. 3, pp. 128–144, 2016.
- [11] P. J. van Soest, “Use of Detergents in the Analysis of Fibrous Feeds . II . A Rapid Method for the Determination of Fiber and Lignin,” *J. AOAC*, vol. 46, pp. 829–835, 1963.
- [12] S. Jayasekara and R. Ratnayake, “Microbial Cellulases: An Overview and Applications,” in *Cellulose*, IntechOpen, 2019, pp. 1–18.
- [13] X. Liang, T. Yoshida, and T. Uryu, “Direct saccharification and ethanol fermentation of cello-oligosaccharides with recombinant yeast,” *Carbohydr. Polym.*, vol. 91, no. 1, pp. 157–161, 2013.
- [14] M. Basholli-salihi, M. Mueller, F. M. Unger, and H. Viernstein, “The Use of Cellobiose and Fructooligosaccharide on Growth and Stability of *Bifidobacterium infantis* in Fermented Milk,” *Food Nutr. Sci.*, vol. 4, no. December, pp. 1301–1306, 2013.
- [15] M. Selig, N. Weiss, and Y. Ji, “Enzymatic Saccharification of Lignocellulosic Biomass Laboratory Analytical Procedure,” Colorado, 2008.
- [16] P. Tasaso, “Optimization of Reaction Conditions for Synthesis of 2,6-Dimethylheptulose from Palm Fronds,” *Int. J. Chem. Eng. Appl.*, vol. 6, no. 2, pp. 3–6, 2015.
- [17] AOAC, *Official methods of analysis, Association of official analytical chemist 19th edition*. 2012.
- [18] V. Derosya, “Sakarifikasi empulur sagu (Metroxylon sagu) dengan konsorsium enzim amilolitik dan holoselulolitik untuk produksi bioetanol,” IPB University, 2010.
- [19] R. E.T, “Produksi selo-oligosakarida dari fraksi selulosa tongkol jagung oleh selulase *Trichoderma viride*,” IPB University, 2006.
- [20] H. Chen, “Chemical Composition and Structure of Natural Lignocellulose,” in *International Journal of Natural Resource Ecology and Management.*, Beijing: Chemical Industry Press, 2014, pp. 25–72.
- [21] S. Widiarto, E. Pramono, A. Rochliadi, and I. M. Arcana, “Cellulose Nanofibers Preparation from Cassava Peels via Mechanical Disruption,” *Fibers*, vol. 7, no. 44, pp. 1–11, 2019.
- [22] R. Bayitse, X. Hou, A. B. Bjerre, and F. K. Saalia, “Optimisation of enzymatic hydrolysis of cassava peel to produce fermentable sugars,” *AMB Express*, vol. 5, no. 60, 2015.
- [23] J. Jayus, A. Nafi, and A. Shabrina Hanifa, “Degradasi Komponen Selulosa, Hemiselulosa, dan Pati Tepung Kulit Ubi Kayu Menjadi Gula Reduksi oleh *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride*, dan *Acremonium sp. IMI 383068*,” *J. Agroteknologi*, vol. 13, no. 01, pp. 34–41, 2019.
- [24] S. I. Mussatto and I. M. Mancilha, “Non-digestible oligosaccharides: A review,” *Carbohydr. Polym.*, vol. 68, pp. 587–597, 2007.