**OPTIMASI PRODUKSI SENYAWA VANILIN
DARI BIOKONVERSI LIGNOSELULOSA TANDAN KOSONG
KELAPA SAWIT DENGAN *PHANEROCHAETE CHRYSOSPORIUM*
MENGUNAKAN RESPONSE SURFACE METHOD**

***Optimization Production of Vanillin Compounds from Bioconversion of
Lignoselulosa Empty Fruit Palm with Phanerochaete chrysosporium
Using Response Surface Method***

Rohmah, Sri Suhartini, Iرنia Nurika*

Jurusan Teknologi Industri Pertanian – Fakultas Teknologi Pertanian – Universitas Brawijaya

Jl. Veteran – Malang 65145

Penulis Korespondensi, email : ىرنia@ub.ac.id

Disubmit : 13 Juli 2021

Direvisi : 26 Oktober 2021

Diterima : 15 Desember 2021

ABSTRAK

Limbah tandan kosong kelapa sawit (TKKS) merupakan limbah hasil produksi minyak sawit yang memiliki kandungan lignoselulosa (lignin, selulosa, hemiselulosa) tinggi, dapat dimanfaatkan untuk produksi senyawa aromatik vanilin dengan menggunakan jamur *Phanerochaete chrysosporium* dan pelarut etil asetat. Diketahui pelarut etil asetat dan lama ekstraksi berpengaruh terhadap kadar vanilin dan *yield* vanilin dengan *Response Surface Method* (RSM) terdiri dari 4 faktor yang digunakan untuk mengukur sejauh mana faktor-faktor tersebut saling berpengaruh terhadap kadar vanilin. Regresi terdiri dari 13 titik faktorial dengan 6 titik aksial, dan 7 titik tengah melalui *software Design Expert 7.0.0*. Faktor-faktor optimasi digabung untuk mendapatkan nilai optimum untuk menghasilkan kadar dan *yield* vanilin yang bagus. Hasil penelitian optimasi RSM volume pelarut etil asetat yaitu 100,36 mL dan lama ekstraksi yaitu 120,27 menit yang digunakan dalam penelitian TKKS dengan nilai validasi optimal yang didapatkan yaitu kadar vanilin mendekati hasil prediksi sebesar 0,015% dan *yield* vanilin sebesar 11,862 µg/g. Hasil dalam penelitian ini menunjukkan penggunaan *bio-pretreatment Phanerochaete chrysosporium* sebagai biokonversi TKKS menghasilkan vanilin dapat menekan biaya besar dan meningkatkan nilai fungsi dari limbah TKKS

Kata Kunci: Etil Asetat; Senyawa Aromatik; Jamur Pelapuk Putih

ABSTRACT

Oil palm empty fruit bunches (OPEFB) waste is a waste from palm oil production which has a high content of lignocellulose (lignin, cellulose, hemicellulose), which can be used for the production of vanillin aromatic compounds using *Phanerochaete chrysosporium* fungus and ethyl acetate as solvent. It is known that ethyl acetate solvent and extraction time have an effect on vanillin content and vanillin yield with the Response Surface Method (RSM) consisting of 4 factors that are used to measure the extent to which these factors influence the vanillin content. Regression consists of 13 factorial points with 6 axial points, and 7 midpoints through the Design Expert 7.0.0 software. The optimization factors were combined to obtain the optimum value to produce good vanillin content and yield. The results of the optimization research RSM volume of ethyl acetate solvent that is 100.36 mL and extraction time of 120.27 minutes used in OPEFB research with the optimal validation value obtained, namely: vanillin content is close to the predicted result of 0.015% and vanillin yield is 11.862 µg/g. The results in this study indicate that the use of *Phanerochaete chrysosporium* bio-pretreatment as an OPEFB bioconversion to produce vanillin can reduce high costs and increase the functional value of OPEFB waste

Keyword: Aromatic Compounds; Ethyl Acetate; White Rot Fungus

PENDAHULUAN

Tandan kosong kelapa sawit (TKKS) merupakan limbah yang dihasilkan dari proses pembuatan minyak kelapa sawit, yang memiliki potensi untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku penghasil produk bernilai tambah (Chang, 2018; Ibrahim *et al.*, 2008). TKKS seringkali dianggap sebagai salah satu limbah yang sangat sulit untuk dimanfaatkan karena strukturnya terlalu keras, berserabut dan di Indonesia sendiri belum banyak tempat pengolahan limbah TKKS secara optimal (Maitah *et al.*, 2016). Menurut Gabungan Pengusaha Kelapa Sawit Indonesia (GAPKI), jumlah produksi kelapa sawit pada tahun 2019 sebanyak 46 juta ton, banyaknya produksi kelapa sawit mengakibatkan limbah TKKS di industri meningkat setiap tahunnya, dan diperlukan beberapa penanganan untuk mengolah limbahnya agar tidak merusak lingkungan (Jin *et al.*, 2018; Panwar *et al.*, 2011).

Purnamayani (2013) menyatakan bahwa jumlah TKKS setiap tahun mengalami peningkatan yaitu 6 juta ton/tahun dikarenakan jumlah konsumsi minyak kelapa dan kebutuhan pasar ekspor selalu bertambah. Produksi limbah TKKS di Indonesia bisa sampai 40 juta ton/tahun tergantung produksi yang dilakukan oleh pabrik (Rahayu *et al.*, 2018).

Razali *et al.* (2012) memaparkan produksi minyak goreng dari tandan buah segar kelapa sawit akan terpecah menjadi beberapa bagian yaitu 21% minyak, inti sawit 7%, serat mesocarp 14%, kulit inti sawit 7%, dan tandan kosong kelapa sawit 23%. Limbah TKKS terdiri dari 30,5% selulosa, 19,5 hemiselulosa, dan 32,17% lignin (Medina *et al.*, 2015; Hosseini dan Wahid, 2014; Sukson *et al.*, 2019; Torres *et al.*, 2021).

Metode *pretreatment* secara biologi dapat digunakan untuk memanfaatkan limbah TKKS untuk menghasilkan produk bernilai tambah, salah satunya dengan menggunakan jamur pelapuk putih *Phanerochaete chrysosporium* yang memiliki kemampuan degradasi lignin dan memiliki efektifitas tinggi dalam proses degradasi lignoselulosa (Sharma *et al.*, 2021; Couto *et al.*, 2006). Penggunaan *biotreatment* penggunaan enzim untuk mendegradasi struktur lignoselulosa pada TKKS dinilai lebih efektif, hasil baik, dan tidak menyebabkan toksik terhadap lingkungan (Piñeros-castro dan Velásquez-lozano, 2014).

Phanerochaete chrysosporium bekerja secara efektif memecah struktur lignoselulosa dengan enzim ekstraseluler yang meliputi *manganase peroksidase* (mnp), *lignin peroksidase* (lip) dan *laccase* (lac), *feruloyl* dan *p-coumaroyl esterase* (Piñeros-castro dan Velásquez-lozano, 2014; Zeng *et al.*, 2010). Hal ini juga dipaparkan oleh Kwong (2009), jika jamur pelapuk putih *Phanerochaete chrysosporium* memiliki berbagai kombinasi enzim untuk mendegradasi yaitu *laccase*, *lignin peroksidase* (LiP), dan *manganase peroxidase* (MnP).

Phanerochaete chrysosporium diharapkan dapat memberikan nilai tambah dengan menghasilkan produk bernilai tambah, yaitu senyawa vanilin dari TKKS melalui proses delignifikasi (Fache *et al.*, 2015). Vanilin adalah senyawa alami vanila yang digunakan dalam makanan selama berabad-abad tahun, dan merupakan bahan kaya akan fitokimia atau senyawa perasa, yang sulit untuk dipisahkan karena struktur kimianya terutama polimer pektin yang menyebabkan ekstraksi vanilin menjadi sangat sulit (Doble dan Kruthiventi, 2007; Hocking, 1997; Zhang *et al.*, 2014).

Vanilin diproduksi dari tanaman vanila yang masih dianggap belum memenuhi kebutuhan pasar dikarenakan keberadaan biji vanila terjangkau. Perusahaan terkenal Prancis memproduksi vanilin melalui senyawa asam ferulik dengan harga kisaran USD 700/kg, harga bisa mencapai kisaran USD 1.800/kg jika vanilin berasal dari biji vanila, sedangkan untuk sintesis vanilin seharga USD 15/kg (Martau *et al.*, 2021). Saat ini, vanilin sudah diproduksi dalam skala industri dengan jumlah 20.000 ton per tahun dan 15% bahan baku yang digunakan berasal dari lignin (3.000 ton/tahun) (Holladay *et al.*, 2007; Jadhav *et al.*, 2009). Ekstraksi vanilin dengan pelarut organik etil asetat dianggap sangat baik, untuk mengekstrak senyawa vanilin dikarenakan senyawa semi polarnya yang dapat mengikat senyawa spesifik aromatik termasuk vanilin dari komponen fenolik (Popescu *et al.*, 2020).

Oleh karena itu, penelitian kali ini bertujuan untuk mengukur pengaruh *bio-pretreatment* menggunakan *Phanerochaete chrysosporium* dalam mendegradasi biomassa lignoselulosa TKKS untuk menghasilkan senyawa vanilin yang kemudian pada tahap pengolahan data menggunakan RSM untuk mendapatkan nilai validasi. Variabel respon yang digunakan dalam penelitian kali ini yaitu (kadar vanilin dan *yield* vanilin) yang dipengaruhi oleh beberapa variabel

independennya (volume pelarut etil asetat dan lama ekstraksi) (Abdulgader *et al.*, 2018).

METODE

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah tandan kosong kelapa sawit yang diperoleh dari pabrik pengolahan kelapa sawit Blitar PT. Sawit Arummadani. Fungi yang digunakan adalah *Phanerochaete Chrysosporium* diperoleh dari Laboratorium Bioindustri Teknologi Industri Pertanian Universitas Brawijaya Malang. Media komersial yang digunakan adalah *malt extract agar* (MEA), *barley, aquades*, kalsium karbonat (CaCO_3), etil asetat, alkohol 70%, spirtus, 3,5 *Dinitrosalysilic acid* (DNS) (Nurika *et al.*, 2020). Alat yang digunakan pada tahapan penelitian ini autoklaf, *laminar air flow*, inkubator, oven listrik, *spektrofotometer UV-Vis*, sentrifuse, magnet stirrer, dan *shaker waterbath*.

Response Surface Method (RSM)

Optimasi diterapkan pada faktor volume pelarut dan lama ekstraksi dengan metode *Response Surface Methodology* (RSM) untuk mendapatkan kondisi optimal vanilin dari biomass TKKS. Taraf level untuk masing-masing faktor dapat dilihat pada Tabel 1. Pembagian faktor antara lain volume pelarut dan lama ekstraksi (variabel bebas) (Lun *et al.*, 2014; Nassiri Mahallati, 2020). Variabel respon yang diterapkan adalah kadar vanilin (%) dan *yield* vanilin ($\mu\text{g/g}$) pada respon kadar satuan vanilin yang digunakan berdasarkan berat (g) sampel hasil ekstraksi etil asetat dapat dilihat pada Tabel 2.

Berdasarkan Tabel 1, dapat dilihat jarak antara level yaitu:

1. Jarak antara faktor volume pelarut = $100 - 80 = 20 \text{ mL}$
2. Jarak antara level faktor lama ekstraksi = $120 - 60 = 60 \text{ menit}$.

Tabel 1. Taraf level faktor

	Level faktor		
	-1	0	1
Volume pelarut (mL)	80	100	120
Lama ekstraksi (menit)	60	120	180

*Tara level faktor untuk menentukan level faktor terendah dan tertinggi

Menurut Rangkuti *et al.* (2018), penetapan untuk mengetahui level tertinggi dan terendah dari masing-masing faktor. Level-level faktor yang sesuai dengan titik pusat $X_1 = 0$ dan $X_2 = 0$.

Untuk faktor volume pelarut (A) dan lama ekstraksi (B) dapat dinyatakan variabelnya pada persamaan (1) dan (2):

$$X_1 = \frac{A - (100)}{20}, A \text{ 20X1 + 100} \dots \dots \dots (1)$$

$$X_2 = \frac{A - (100)}{60}, B \text{ 60X1 + 120} \dots \dots \dots (2)$$

Nilai *star point* (α) didapatkan dari perhitungan $\alpha = 2^{k/4}$, karena penelitian ini menggunakan 2 faktor maka nilai $k=2$, sehingga nilai $\alpha = 2^{2/4} = 1,414$. Selanjutnya, nilai α tersebut disesuaikan dengan level faktor yang telah ditetapkan yaitu $-\alpha = -1,414$ dan $\alpha = 1,414$. Selanjutnya nilai A dan B untuk masing-masing level faktor ($-\alpha$ dan α) dapat diketahui menggunakan Persamaan (i) sehingga didapatkan nilai Persamaan (i) berikut ini.

- a. $X_1 = -1,414$; sehingga nilai $A = 20(-1,414) + 100 = 71,72 \text{ mL}$
- b. $X_1 = 1,414$; sehingga nilai $A = 20(1,414) + 100 = 128,28 \text{ mL}$

Persamaan (ii):

- a. $X_2 = -1,414$; sehingga nilai $B = 60(-1,414) + 120 = 35,16 \text{ menit}$
- b. $X_2 = 1,414$; sehingga nilai $B = 60(1,414) + 120 = 204,84 \text{ menit}$.

Berdasarkan rancangan percobaan yang diperoleh, maka didapatkan titik komposit terpusat pada Tabel 3.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Optimasi Kadar Senyawa Vanilin dari Degradasi TKKS dengan *P. chrysosporium*

Model regresi variabel respon yang digunakan dalam penelitian ini adalah kadar dan *yield* vanilin, sedangkan untuk variabel independen berupa lama ekstraksi dan volume pelarut etil asetat. Regresi terdiri dari 13 titik faktorial dengan 6 titik aksial dan 7 titik tengah. Kadar vanilin tertinggi sebesar 0,0163% pada lama ekstraksi 120 menit dengan 100 mL etil asetat dan memiliki nilai terkecil 0,0006% pada lama ekstraksi 60 menit dan volume pelarut etil asetat sebanyak 80 mL, sedangkan untuk *yield* vanilin nilai tertinggi sebesar 11,0653 $\mu\text{g/g}$ pada volume pelarut 100 mL dan lama ekstraksi 120 menit dan memiliki nilai terkecil 0,0234 $\mu\text{g/g}$ pada volume pelarut sebesar 80 mL dan lama ekstraksi 60 menit yang dapat dilihat pada Gambar 1 dan 2.

Tabel 2. Rancangan percobaan (Design expert 7)

No	Variabel kode		Variabel Asli		Respon	
	X ₁	X ₂	Volume Pelarut (mL)	Lama Ekstraksi (menit)	Kadar vanilin (%)	Yield vanilin (µg/g)
1	1	-1	120	60	Y1	Y2
2	0	0	100	120	Y1	Y2
3	1,414	0	128,28	120	Y1	Y2
4	0	1,414	100	204,85	Y1	Y2
5	0	-1,414	100	35,15	Y1	Y2
6	0	0	100	120	Y1	Y2
7	1	1	120	180	Y1	Y2
8	0	0	100	120	Y1	Y2
9	0	0	100	120	Y1	Y2
10	-1,414	0	71,72	120	Y1	Y2
11	0	0	100	120	Y1	Y2
12	-1	1	80	180	Y1	Y2
13	-1	-1	80	60	Y1	Y2

Tabel 3. Titik komposit terpusat yang dicobakan

Faktor	-α	-1	0	1	+α
Volume Pelarut (mL)	71,72	80	100	120	128,28
Lama Ekstraksi (menit)	35,16	60	120	180	204,84

Hasil analisis ragam ANOVA menunjukkan respon kadar vanilin dengan model *quadratic*, memiliki nilai p model sebesar 0,0001 ($p < 0,05$) menunjukkan model signifikan. Hasil ANOVA untuk faktor volume etil asetat dan lama ekstraksi diperoleh nilai signifikansi ($p < 0,05$) menunjukkan faktor volume pelarut etil asetat dan lama ekstraksi berpengaruh secara signifikan terhadap kadar vanilin (Bahadar *et al.*, 2015; Czemplik *et al.*, 2017). Nilai p kurang dari 0,05 didapatkan pada A² dan B² yang menunjukkan volume etil asetat kuadrat (A²) dan lama ekstraksi kuadrat (B²) berpengaruh secara signifikan (Gunawan dan Suhendra, 2010). Hasil menunjukkan faktor interaksi antara volume etil asetat dan lama ekstraksi secara *quadratic* berpengaruh nyata terhadap kadar vanilin TKKS dengan p -value 0,0001 ($p < 0,05$). Hal ini diperkuat oleh penelitian dari Cicchetti dan Chaintreau (2009) yang menjelaskan bahwa dengan menggunakan pelarut etil asetat dapat menghasilkan 84% ekstrak vanilin daripada pelarut lainnya (etanol, methanol, methylene chloride, dan pentane) dari biji kedelai madagaskar.

Nilai *lack of fit* (ketidaksesuaian) pada respon kadar vanilin memiliki nilai p sebesar

0,0016 ($p < 0,05$) dengan keterangan tidak signifikan. Pada data *fit summary* kadar vanilin menunjukkan penggunaan model yang dianjurkan merupakan model *quadratic* dikarenakan model signifikan ($p < 0,05$) dengan nilai p sebesar 0,0001, memiliki keterangan "*aliased*" yang artinya tidak semua parameter model kubik bisa diperkirakan secara spesifik (Fathur *et al.*, 2018; Myers *et al.*, 2009). Pemilihan model juga berdasarkan nilai R² dari model *quadratic* sebesar 0,9523 tertinggi dibandingkan dengan model lainnya sehingga model terpilih adalah model *quadratic*.

Pemilihan model juga didasarkan pada hasil model *summary* statistik dimana model yang dipilih adalah model dengan nilai *adjusted* R² dan *predicted* R² yang maksimal, dengan nilai R² yang didapat sebesar 0,9523, maka dari pernyataan tersebut bisa dikatakan model terbaik adalah model *quadratic* (Rangkuti *et al.*, 2018). Hasil tersebut menunjukkan model *quadratic* yang digunakan sudah sangat cocok dan dapat digunakan sebagai prediksi. Warna pada kontur mengalami peningkatan yaitu semakin merah yang artinya kadar vanilin semakin tinggi dapat dilihat pada Gambar 1.

Gambar 1. Kontur kadar vanilin (3D) (a) plot kontur yang menunjukkan pengaruh lama ekstraksi (menit) dan volume pelarut (mL) terhadap kadar vanilin (%) (b) titik persebaran probabilitas normal kadar vanilin TKKS setelah dilakukan *pretreatment* menggunakan *P. chrysosporium*

Kenaikan kadar vanilin terjadi seiring bertambahnya lama ekstraksi yang dilakukan disebabkan jumlah kandungan fenolik pada bahan yang diekstrak dan ekstraksi senyawa fenol seperti vanilin dipengaruhi oleh beberapa parameter pada proses ekstraksi seperti volume pelarut, temperatur, suhu dan lama waktu ekstraksi (Auras, 2007; Spigno *et al.*, 2007; Dewi dan Gapsari, 2013).

Persamaan polinomial/matematika yang digunakan untuk mengetahui hasil nilai *quadratic* dari kadar vanilin dapat dilihat pada Persamaan (3).

$$Y_2 = 0,016 + 4,964(X_1) + 2,442(X_2) + 2,304(X_1X_2) - 5,861(X_1^2) - 5,874(X_2^2) \dots\dots\dots(3)$$

dimana :

Y_2 = Variabel respon kadar vanillin

X_1 = Faktor volume etil asetat

X_2 = Faktor lama ekstraksi

Menurut Dewi *et al.* (2019), koefisien positif yang dihasilkan menunjukkan terdapat hubungan berbanding lurus, atau artinya semakin tinggi X_1 , X_2 dan interaksi keduanya maka akan semakin tinggi kadar vanilin. Namun apabila koefisien negatif, berarti terdapat hubungan berbanding terbalik, atau artinya semakin tinggi nilai kuadrat dari X_1 dan X_2 maka semakin rendah kadar vanilin yang dihasilkan dari TKKS.

Model *quadratic* menunjukkan bahwa respon kadar vanilin dipengaruhi oleh lama ekstraksi dan volume pelarut etil asetat.

Pengaruh yang diberikan kadar vanilin lebih dominan pada respon volume pelarut dibandingkan dengan lama ekstraksi. Hal ini dapat dilihat dari koefisien X_1 memiliki nilai yang lebih besar yaitu 4,96 jika dibandingkan X_2 lama ekstraksi 2,44. Persamaan (3) juga menggambarkan bahwa lama ekstraksi dan volume pelarut yang memberikan pengaruh berbanding terbalik terhadap respon. Hal ini ditujukan oleh nilai negatif (-) konstanta (Syahrul *et al.*, 2017).

Optimasi *yield* Senyawa Vanilin dari Degradasi TKKS dengan *P. chrysosporium*

Berdasarkan rancangan percobaan menggunakan RSM, diperoleh hasil data respon *yield* vanilin dari kombinasi perlakuan volume pelarut etil asetat dan lama ekstraksi. Berdasarkan penelitian yang dilakukan, *yield* vanilin tertinggi diperoleh sebesar 11,0653 µg/g dan nilai terkecil sebesar 0,0234 µg/g pada lama ekstraksi 120 menit dan volume pelarut 100 mL yang dapat dilihat pada Gambar 2. Hasil data *fit summary* menunjukkan penggunaan model yang disarankan adalah model *quadratic* dikarenakan model tersebut model signifikan ($p < 0,05$) dengan nilai p sebesar 0,0001 (Nurmiah *et al.*, 2013). Pemilihan model juga berdasarkan pada nilai R^2 dari model *quadratic* sebesar 0,9245 tertinggi dibandingkan dengan model lainnya sehingga model yang dipilih adalah model *quadratic*.

Gambar 2. Kontur *yield* vanilin (3D) dan (a) plot kontur yang menunjukkan pengaruh lama ekstraksi (menit) dan volume pelarut (mL) terhadap *yield* vanilin ($\mu\text{g/g}$) (b) titik persebaran probabilitas normal *yield* vanilin TKKS setelah dilakukan pretreatment menggunakan *P. chrysosporium*

Pada pemilihan model kubik terdapat penjelasan “*aliased*” karena model terlalu kompleks dan tidak didukung oleh desain komposit terpusat sehingga model kubik tidak disarankan meskipun memiliki nilai $p < 0,05$. pemilihan model, yang dipilih adalah model dengan nilai R^2 dan *predicted* R^2 yang maksimal dan yang di sarankan oleh model adalah model *quadratic* daripada model kubik.

Kenaikan *yield* vanilin pada jumlah pelarut tertinggi menunjukkan semakin banyak pelarut etil asetat yang digunakan maka semakin tinggi nilai *yield* vanilin yang dihasilkan dan berpengaruh secara signifikan dalam hasil vanilin yang didapat yaitu sebesar 21,3 mg/g (Do *et al.*, 2013). Popescu *et al.* (2020) juga memaparkan pelarut etil asetat sangat baik digunakan sebagai pengikat senyawa aromatik vanilin dari kraft lignin dan baik dalam segala aspek (polusi, ketersediaan, dan harga) dibandingkan dengan pelarut lain. Pelarut etil asetat memiliki sifat semi polar yang dapat mengikat senyawa organik flavonoid lainnya secara efektif (Aji, 2019).

Hasil ANOVA untuk respon *yield* vanilin dengan model *quadratic* dimana nilai p dari model sebesar 0,0001 ($p < 0,05$) yang menunjukkan model signifikan (Muñiz-Márquez *et al.*, 2019). Hasil ANOVA untuk faktor volume pelarut etil asetat dan lama ekstraksi, interaksi kedua faktor tersebut memiliki nilai signifikansi ($p < 0,05$) yang menunjukkan faktor volume pelarut etil asetat dan lama ekstraksi berpengaruh secara signifikan terhadap *yield* vanilin. Memiliki nilai p -value sebesar 0,9245 ($p > 0,05$) dengan keterangan yang mengindikasikan bahwa model dapat mendeskripsikan data respon

yield vanilin sehingga dapat disimpulkan bahwa model yang didapat cocok digunakan untuk memprediksi kondisi proses ekstraksi yang menghasilkan *yield* vanilin yang optimum. Hasil tersebut menunjukkan model *quadratic* yang digunakan sudah cocok dan dapat digunakan sebagai prediksi. Memiliki nilai R^2 sebesar 0,9910 atau 99,10% pada model *quadratic* sehingga model yang dipilih adalah *quadratic*. Probabilitas normal *yield* vanilin menunjukkan persebaran titik data tidak memiliki titik persebaran yang jauh sehingga bisa dikatakan data yang dihasilkan masih normal yang dapat dilihat pada Gambar 2 (Sarabia dan Ortiz, 2009). Persamaan (4) merupakan persamaan polinomial yang digunakan untuk mengetahui model *quadratic* yang dihasilkan.

$$Y_1 = 10,27 - 2,113(X_1) + 0,095(X_2) + 0,17(X_1X_2) - 4,94(X_1^2) - 5,05(X_2^2) \dots\dots\dots(4)$$

dimana :

Y_1 = Variabel respon *yield* vanillin

X_1 = Faktor volume etil asetat

X_2 = Faktor lama ekstraksi

Koefisien positif dari *yield* vanilin menunjukkan hubungan yang berbanding lurus atau artinya semakin tinggi X_1 , X_2 , dan interaksi keduanya maka akan semakin tinggi *yield* vanilin. Jika koefisien negatif berarti terdapat hubungan berbanding terbalik, yang artinya semua nilai kuadrat dari X_1 dan X_2 maka akan semakin rendah *yield* vanilin yang dihasilkan dari sampel TKKS (Dewi *et al.*, 2019).

Model *quadratic* menunjukkan *yield* vanilin lebih dominan pada respon volume pelarut dibandingkan dengan lama ekstraksi. Hal ini dapat dilihat dari koefisien X_1 memiliki nilai yang lebih besar yaitu 2,11 jika dibandingkan dengan X_2 lama ekstraksi 0,09. Persamaan (4) juga menggambarkan bahwa lama ekstraksi dan volume pelarut yang memberikan pengaruh berbanding terbalik terhadap respon, hal ini ditunjukkan oleh nilai negatif (-) konstanta (Syahrul *et al.*, 2017).

Nilai Optimal dan Validasi dari Faktor-Faktor

Hasil validasi menggunakan nilai solusi optimasi yang diperoleh dari RSM yang bisa dilihat pada Tabel 4, dimana volume pelarut sebesar 100,36 mL, lama ekstraksi sebesar 125,27 menit, dan ketepatan atau *desirability* sebesar 0,957 yang menandakan jika nilai *desirability* mendekati 1 menunjukkan bahwa tujuan/goal telah terpenuhi (Fathur *et al.*, 2018). Hasil validasi nilai optimum pada Tabel 5 didapat hasil validasi dengan volume pelarut etil asetat sebesar 100,36 mL dan lama ekstraksi sebesar 125,27 menit. Diketahui dari hasil validasi di dapat kadar vanilin 0,015 atau 1,5% dengan *yield* vanilin 10,513 µg/g, maka bisa disimpulkan kadar vanilin telah mendekati angka solusi yaitu 0,016 dan *yield* vanilin sebesar 10,137 µg/g. Data tersebut menunjukkan nilai volume pelarut dan lama ekstraksi sangat berpengaruh terhadap kadar dan *yield* vanilin, etil asetat sebagai pelarut dikatakan sangat efektif dalam melarutkan

senyawa organik dalam suatu bahan karena sifatnya yang semi polar memudahkannya dalam pengikatan senyawa organik dalam suatu zat (Sánchez-Camargo *et al.*, 2019; Pintać *et al.*, 2018; Ramić *et al.*, 2015). Spigno *et al.* (2007) dalam penelitiannya memaparkan lama ekstraksi yang digunakan pada ekstraksi menggunakan pelarut etil asetat adalah 1-12 jam untuk menghasilkan *yield proanthocyanidins*, dan tergantung jenis bahan yang digunakan.

SIMPULAN

Degradasi senyawa lignoselulosa dengan *P. chrysosporium* sangat efektif dalam produksi senyawa vanilin dari biomasa TKKS, dan volume pelarut etil asetat serta lama ekstraksi berpengaruh nyata terhadap kadar dan *yield* vanilin. Etil asetat memiliki kemampuan mengikat senyawa organik fenolik (vanilin) dalam biomas tandan kosong kelapa sawit karena sifatnya semi polar cocok dengan karakteristik senyawa organik pada tumbuhan khususnya fenolik. Hasil dari RSM menunjukkan solusi optimal lama ekstraksi dan volume pelarut untuk mendapatkan kadar dan *yield* vanilin tinggi yaitu: volume pelarut sebesar 100,36 mL dengan lama ekstraksi 120,27 menit yang menghasilkan rendemen kadar vanilin rata-rata 0,015% dan *yield* vanilin sebesar 11,862 µg/g.

Tabel 4. Solusi optimal berdasarkan RSM

Kriteria	Parameter	Standar prediksi
Faktor	Volume pelarut etil asetat (mL)	100,36
Faktor	Lama ekstraksi (menit)	125,27
Respon	Kadar vanilin (%)	0,016
Respon	<i>Yield</i> vanilin (µg/g)	10,13
Ketepatan (<i>desirability</i>)	-	0,957
Keterangan	-	Dipilih

Tabel 5. Hasil validasi TKKS menggunakan nilai prediksi faktor volume etil (mL) asetat dan lama ekstraksi (menit)

Sampel	Volume pelarut	Lama ekstraksi	Kadar vanilin	<i>Yield</i> vanilin (µg/g)
R1	100,36	125,27	0,014	10,513
R2	100,36	125,27	0,015	11,862

*R1&R2 merupakan jenis sampel TKKS yang dilakukan uji menggunakan data prediksi RSM

DAFTAR PUSTAKA

- Abdulgader, -M., Yu, -J., Zinatizadeh, A, -A., Williams, -P., Rahimi, -Z., 2018. Process analysis and optimization of single stage flexible fibre biofilm reactor treating milk processing industrial wastewater using response surface methodology (RSM). *Chemical Engineering Research and Design*. 149, 169–181. <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2019.07.011>
- Aji, -N., 2019. Pengaruh pelarut campur etil asetat dan n-heksan terhadap rendemen dan kandungan metabolit sekunder ekstrak daun bidara arab (*Ziziphus spina-christi* L). *Pharmacoscrypt*. 2(2), 1–8. <https://doi.org/10.36423/pharmacoscrypt.v2i1.222>
- Auras, R. 2007. 'Solubility of Gases and Vapors in Polylactide Polymers'. Dalam Letcher TM. (Ed.), *Thermodynamics, Solubility and Environmental Issues*. Elsevier BV, Amsterdam
- Bahadar, A., Khan, MB., Asim, MA., Jalwana, K. 2015. 'Supercritical Fluid Extraction of Microalgae (*Chlorella vulgaris*) Biomass'. Dalam Kim SK. (Ed.), *Handbook of Marine Microalgae: Biotechnology Advances*. Academic Press, Cambridge, USA
- Chang, S, -H., 2018. Biomass and Bioenergy bio-oil derived from palm empty fruit bunches: Fast pyrolysis, liquefaction and future prospects. *Biomass and Bioenergy*. 119, 263–276. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2018.09.033>
- Cicchetti, -E., Chaintreau, -A., 2009. Comparison of extraction techniques and modeling of accelerated solvent extraction for the authentication of natural vanilla flavors. *Journal of Separation Science*. 32(11), 1957–1964. <https://doi.org/10.1002/jssc.200800650>
- Couto, S, -R., Moldes, -D., Sanromán, M, -A., 2006. Optimum stability conditions of pH and temperature for ligninase and manganese-dependent peroxidase from *Phanerochaete chrysosporium*. Application to in vitro decolorization of Poly R-478 by MnP. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 22, 607–608. <https://doi.org/10.1007/s11274-005-9078-0>
- Czemplik, -M., Korzun-Chłopicka, -U., Szatkowski, -M., Działo, -M., Szopa, -J., Kulma, -A., 2017. Optimization of phenolic compounds extraction from flax shives and their effect on human fibroblasts. *Evidence-Based Complementary Alternative Medicine*. 2017, 1-15. <https://doi.org/10.1155/2017/3526392>
- Dewi, F, G, -U., Gapsari, -F., 2013. Optimasi parameter pembubutan terhadap kekasaran permukaan produk. *Rekayasa Mesin*. 4(3), 177–181
- Dewi, I, -A., Ihwah, -A., Setyawan, H, -Y., Kurniasari, A, A, -N., Ulfah, -A., 2019. Optimasi proses delignifikasi pelepah pisang untuk bahan baku pembuatan kertas seni. *SEBATIK*. 23(2), 447–454. <https://doi.org/10.46984/sebatik.v23i2.797>
- Do, Q, -D., Angkawijaya, A, -E., Tran-nguyen, P, -L., Huynh, L, -H., Soetaredjo, F, -A., Ismadji, -S., 2013. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*. 22(3), 296–302. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2013.11.001>
- Doble, M., Kruthiventi, AK. 2007. 'Industrial Examples'. Dalam *Green Chemistry and Engineering*. Elsevier Science Publishing Co Inc, Oxford
- Fache, -M., Boutevin, -B., Caillol, -S., 2015. Vanillin production from lignin and its use as a renewable chemical vanillin production from lignin and its use as a renewable chemical. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*. 4(1), 35–46. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.5b01344>
- Fathur, A, -R., Hendrawan, -Y., Dewi, S, -R., 2018. Optimasi nilai rendemen dalam pembuatan virgin coconut oil (VCO) menggunakan pemanasan suhu rendah dan kecepatan sentrifugasi dengan response surface methodology (RSM). *Jurnal Keteknikaan Pertanian Tropis dan Biosistem*. 6(3), 218–228
- Gunawan, E, -R., Suhendra, -D., 2010. Four-factor response surface optimization of the enzymatic synthesis of wax ester from palm kernel oil. *Indonesia Journal of Chemistry*. 8(1), 83–90. <https://doi.org/10.22146/ijc.21653>
- Hocking, M, -B., 1997. Vanillin: Synthetic flavoring from spent sulfite liquor. *Journal of Chemical Education*. 74(9), 1055–1059. <https://doi.org/10.1021/ed074p1055>
- Holladay, JE., White, JF., Bozell, JJ., Johnson, D. 2007. Top Value-Added Chemicals from Biomass Volume II—Results of Screening for Potential Candidates from Biorefinery Lignin. Pacific Northwest National Laboratory, USA

- Hosseini, S, -E., Wahid, M, -A., 2014. Utilization of palm solid residue as a source of renewable and sustainable energy in Malaysia. *Renewable Sustainable Energy Reviews*. 40, 621-632. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.07.214>
- Ibrahim, M, N, -M., Nadiah, M, Y, -N., Norliana, M, -S., Sipaut, C, -S., Shuib, -S., 2008. Separation of vanillin from oil palm empty fruit bunch lignin. *Clean - Soil, Air, Water*. 36, 287-291. <https://doi.org/10.1002/clen.200700141>
- Jadhav, -D., Rekha, B, -N., Gogate, P, -R., Rathod, V, -K., 2009. Extraction of vanillin from vanilla pods: A comparison study of conventional soxhlet and ultrasound assisted extraction. *Jurnal of Food Engineering*. 93, 421-426. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.02.007>
- Jin, -Q., Yang, -L., Poe, -N., Huang, -H., 2018. Integrated processing of plant-derived waste to produce value-added products based on the biorefinery concept. *Trends Food Science & Technology*. 74, 119-131. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.02.014>
- Kwong, ST. 2009. Biodegradation of lignin in oil palm empty fruit bunch (Efb) using ligninolytic fungi. Universitas Malaysia Serawak, Malaysia
- Lun, O, -K., Wai, T, -B., Ling, L, -S., 2014. Pineapple cannery waste as a potential substrate for microbial biotransformation to produce vanillic acid and vanillin. *International Food Research Journal*. 21(3), 953-958.
- Maitah, -M., Prochazka, -P., Pachmann, -A., Šrédľ, -K., Řezbová, -H., 2016. Economics of palm oil empty fruit bunches bio briquettes in Indonesia. *International Journal of Energy Economics and Policy*. 6(1), 35-38
- Martău, G, -A., Călinoiu, L, -F., Vodnar, D, -C., 2021. Bio-vanillin: Towards a sustainable industrial production. *Trends Food Science & Technology*. 109, 579-592. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.059>
- Medina, J, D, -C., Woiciechowski, -A., Filho, A, -Z., Nosedá, M, -D., Kaur, B, -S., Soccol, C, -R., 2015. Lignin preparation from oil palm empty fruit bunches by sequential acid/alkaline treatment - A biorefinery approach. *Bioresource Technology*. 194, 172-178. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.07.018>
- Muñiz-Márquez, D, -B., Wong-Paz, J, -E., Contreras-Esquivel, J, -C., Rodríguez-Herrera, -R., Aguilar, C, -N., 2019. 'Extraction Of Phenolic Compounds From Coriandrum Sativum L. And Amaranthus Hybridus L By Microwave Technology'. Dalam Watson, RR. (Ed.), *Polyphenols in Plants*. Academic Press, Cambridge, USA
- Myers, RH., Montgomery, DC., Anderson-Cook, CM. 2009. Response Surface Methodology: Process and Product Optimization Using Designed Experiments, 4th Edition. John Wiley & Sons, Inc., New York
- Nassiri-Mahallati, M., 2020. 'Advances in Modeling Saffron Growth and Development at Different Scales'. Dalam Koocheki, A, Khajeh-Hosseini, M. (Ed.), *Saffron Science, Technology and Health*. Woodhead Publishing, Cambridge
- Nurika, -I., Suhartini, -S., Barker, G, -C., 2020. Biotransformation of tropical lignocellulosic feedstock using the brown rot fungus *Serpula lacrymans*. *Waste and Biomass Valorization*. 11, 2689-2700. <https://doi.org/10.1007/s12649-019-00581-5>
- Nurmiah, -S., Syarief, -R., Peranginangin, -R., Nurtama, -B., 2013. Aplikasi *response surface methodology* pada optimalisasi kondisi proses pengolahan alkali treated cottonii (ATC). *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. 8(1), 9-22.
- Panwar, N, -L., Kaushik, S, -C., Kothari, -S., 2011. Role of renewable energy sources in environmental protection: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 15, 1513-1524. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2010.11.037>
- Piñeros-castro, -Y., Velásquez-lozano, -M., 2014. Biodegradation kinetics of oil palm empty fruit bunches by white rot fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 91, 24-28. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2014.03.009>
- Pintač, -D., Majkić, -T., Torović, -L., Orčić, -D., Beara, -I., Mimica-dukić, -N., Lesjak, -M., 2018. Solvent selection for efficient extraction of bioactive compounds from grape pomace. *Industrial Crops and Products*. 111, 379-390. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.10.038>
- Popescu, A, E, -P., Torralba, -J., Bonet-Ruiz, -J., Llorens, -J., 2020. Solvent screening and process simulation for vanillin production from lignin. *Chemical Engineering Transactions*. 81, 835-840. <https://doi.org/10.3303/CET2081140>
- Purnamayani, R. 2013. Teknologi Pembuatan Kompos Tandan Kosong Kelapa Sawit. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Jambi

- Rahayu, D, -E., Nasarani, -D., Hadi, -W., Wrijodirjo, -B., 2018. Potential of biomass residues from oil palm agroindustry in Indonesia. *MATEC Web of Conferences*. 197, 1-4. <https://doi.org/10.1051/mateconf/201819713008>
- Ramić, -M., Vidović, -S., Zeković, -Z., Vladić, -J., Cvejin, -A., Pavlić, -B., 2015. Modeling and optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenolic compounds from *Aronia melanocarpa* by-products from filter-tea factory. *Ultrasonics Sonochemistry*. 23, 360-368. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2014.10.002>
- Rangkuti, E, -M., Matondang, A, -R., Matondang, -N., 2018. Aplikasi response surface methodology (RSM) untuk mempersingkat waktu pengeringan sheet di pabrik pengolahan sheet PTPN III kebun Sarang Giting. *Jurnal Sistem Teknik Industri*. 18(2), 61-65. <https://doi.org/10.32734/jsti.v18i2.350>
- Razali, W, A, -W., Baharuddin, A, -S., Talib, A, -T., Sulaiman, -A., Naim, M, -N., Hassan, M, -A., Shirai, -Y., 2012. Degradation of oil palm empty fruit bunches (OPEFB) fibre during composting process using in-vessel composter. *Bioresources*. 7(4), 4786-4805. <https://doi.org/10.15376/biores.7.4.4786-4805>
- Sánchez-Camargo, A, -P., Bueno, -M., Parada-Alfonso, -F., Cifuentes, -A., Ibáñez, -E., 2019. Hansen solubility parameters for selection of green extraction solvents. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 118, 227-237. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.05.046>
- Sarabia, LA., Ortiz, MC. 2009. 'Response Surface Methodology'. Dalam Bown SD, Tauler, R, Walczak, B. (Ed.), *Comprehensive Chemometrics Chemical and Biochemical Data Analysis*. Elsevier B.V., Amsterdam
- Sharma, J, -L., Dhayal, -V., Sharma, R, -K., 2021. Antibacterial effect of glycerol assisted ZnO nanoparticles synthesized by white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Materials Today Proceedings*. 43, 2855-2860. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.01.075>
- Spigno, -G., Tramelli, -L., De Faveri, D, -M., 2007. Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal Of Food Engineering*. 81(1), 200-208. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.10.021>
- Suksong, -W., Tukanghan, -W., Promnuan, -K., Kongjan, -P., Reungsang, -A., Insam, -H., O-thong, -S., 2019. Biogas production from palm oil mill effluent and empty fruit bunches by coupled liquid and solid-state anaerobic digestion. *Bioresource Technology*. 296, 122304. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122304>
- Syahrul, Syarief, -R., Hermanianto, -J., Nurtama, -B., 2017. Optimasi proses penggorengan tumpi-tumpi dari ikan bandeng used response surface methodology. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 20(3), 432-445.
- Torres L, A, -Z., Woiciechowski, A, -L., Oliveira de Andrade Tanobe, -V., Zandoná Filho, -A., Alves de Freitas, -R., Nosedá, M, -D., Saito Szameitat, -E., Faulds, -C., Coutinho, -P., Bertrand, -E., Soccol, C, -R., 2021. Lignin from oil palm empty fruit bunches: Characterization, biological activities and application in green synthesis of silver nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules*. 167, 1499-1507. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.11.104>
- Zeng, -G., Yu, -M., Chen, -Y., Huang, -D., Zhang, -J., Huang, -H., Jiang, -R., Yu, -Z., 2010. Effects of inoculation with *Phanerochaete chrysosporium* at various time points on enzyme activities during agricultural waste composting. *Bioresource Technology*. 101(1), 222-227. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.08.013>
- Zhang, -Y., Mo, -L., Chen, -F., Lu, -M., Dong, -W., Wang, -Q., Xu, -F., Gu, -F., 2014. Optimized production of vanillin from green vanilla pods by enzyme-assisted extraction combined with pre-freezing and thawing. *Molecules*. 19(2), 2181-2198. <https://doi.org/10.3390/molecules19022181>