

Perjanjian No : III/LPPM/2013-03-09-P

**PENGARUH MEDIA SUB- DAN SUPERKRITIK CO₂ DALAM
PROSES HIDROLISIS SECARA ENZYMATIC TERHADAP
PEROLEHAN GLUKOSA**



Disusun oleh :
Peneliti Utama : Dr. Henky Muljana, S.T., M.Eng
Anggota : Tony Handoko, S.T., M.T.
Lesty Meilianasari
Gisca Widhi

**Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat
Universitas Katolik Parahyangan
2013**

ABSTRAK

Tingginya pemanfaatan minyak bumi sebagai sumber bahan bakar utama di dunia memicu munculnya dua permasalahan besar yaitu semakin menipisnya persediaan minyak bumi (*non renewable*) dan terkait dengan hal tersebut, harga minyak bumi yang semakin tinggi. Oleh karena itu perlu dicari sumber alternatif energi lainnya yang berasal dari bahan baku yang dapat diperbaharui. Salah satunya adalah pembuatan bioetanol sebagai energi alternatif dari kertas bekas. Saat ini beberapa kendala yang dihadapi di dalam proses pembuatan bioetanol dari kertas bekas ini adalah masih rendahnya perolehan glukosa dan tingkat kemurnian glukosa yang masih rendah. Dari proses konvensional yang ada saat ini, produk hidrolisis glukosa tercampur dengan komponen furfural, *hydroxymethyl* furfural (HMF) dan asam-asam organik yang akan mengganggu proses fermentasi glukosa menjadi etanol. Sebagai salah satu alternatif untuk mengurangi kendala-kendala tersebut adalah dengan melakukan proses perlakuan awal dan proses hidrolisis enzimatis di dalam media super- dan subkritik CO₂.

Tujuan khusus yang ingin dicapai di dalam penelitian ini adalah meliputi : i) mempelajari potensi pemanfaatan kertas bekas dan media CO₂ di dalam proses perlakuan awal dan proses hidrolisis secara enzimatis dengan terlebih dahulu mempelajari sistem reaksi yang lebih sederhana yaitu dengan menggunakan *microcrystalline* selulosa (derajat polimerisasi, DP = 230) dan kertas HVS baru (ukuran A₄), ii) mempelajari dan melakukan optimasi proses fermentasi glukosa yang diperoleh dari hasil hidrolisis kertas bekas secara enzimatis di dalam media sub- dan superkritik CO₂ menjadi bioetanol

Penelitian pada tahun pertama ini memiliki fokus untuk mempelajari pengaruh tekanan dan temperatur medium superkritik CO₂ pada proses perlakuan awal terhadap perolehan glukosa. Perlakuan awal dilakukan dengan variasi temperatur pada 50° C, 75° C, dan 100° C serta variasi tekanan pada 80 bar, 120 bar, dan 150 bar. Produk hidrolisis dengan kadar glukosa sebesar 10,9 % - 26,7 % berat/berat dapat diperoleh dengan kondisi percobaan tersebut. Penelitian pada tahun pertama ini menunjukkan potensi penggunaan media superkritik di dalam proses enzimatis kertas dan membuka peluang untuk pemanfaatan lebih lanjut pada berbagai materi lignoselulosa lainnya.

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Bioetanol merupakan salah satu alternatif bahan bakar yang dapat digunakan untuk mengurangi ketergantungan terhadap bahan bakar berbasis minyak bumi yang semakin terbatas (*non renewable*) dan harganya yang semakin tinggi (Alinia et al., 2010; Narayanaswamy et al., 2011; Santos et al., 2011). Tingginya ketergantungan akan minyak bumi dapat dilihat dari besarnya laju konsumsi minyak bumi di Indonesia yaitu 1355 ribu barrel perhari pada tahun 2011 dengan laju produksinya yang hanya 995 ribu barel perhari (<http://www.eia.gov/>). Bioetanol dapat dihasilkan dari berbagai jenis biomassa seperti pati dan selulosa (*first generation bioetanol*) dan biomassa mengandung lignoselulosa seperti kayu, jerami, eceng gondok, bagas tebu, sorgum dan kertas bekas (*second generation bioethanol*) (Schacht et al., 2008; Shi et al., 2009). Lignoselulosa dianggap merupakan material yang ideal sebagai bahan baku bioetanol karena harganya lebih murah, berlimpah dibandingkan pati (Wang, M. et al., 2011). Selain itu biomassa lignoselulosa merupakan limbah dan belum dimanfaatkan dengan baik. Proses konversi material lignoselulosa menjadi bioetanol melewati empat tahapan proses yaitu tahap perlakuan awal, tahap hidrolisis biomassa menjadi produk glukosa, tahap fermentasi glukosa menjadi bioetanol, kemudian terakhir adalah proses pemurnian dari produk bioetanol.

Kertas bekas merupakan salah satu material lignoselulosa yang melimpah dimana jumlah total produksi kertas di dunia pada tahun 2010 mencapai sekitar 400 juta ton (Ververis et al., 2007) sehingga kertas bekas memiliki potensi untuk digunakan sebagai bahan baku di dalam pembuatan bioetanol (Franceschin et al., 2010). Walaupun jumlahnya melimpah, akan tetapi penggunaan biomassa berbasis lignoselulosa termasuk kertas bekas di dalam pembuatan bioetanol masih terbatas. Hal ini disebabkan oleh kecilnya perolehan produk glukosa dan tingginya kandungan pengotor yang dihasilkan sehingga akan mengganggu proses fermentasi produk glukosa menjadi bioetanol (Narayanaswamy et al., 2011; Santos et al., 2011). Sebagai salah satu alternatif untuk mengurangi kendala-kendala tersebut adalah dengan melakukan proses perlakuan awal dan proses hidrolisis enzimatis di dalam media super- dan subkritik CO₂ (Narayanaswamy et al., 2011; Santos et al., 2011).

Beberapa keuntungan penggunaan CO₂ sebagai pelarut antara lain adalah merupakan pelarut yang “*green*”, murah, tidak mudah terbakar, inert dan memiliki sifat sebagai *plasticizer* untuk kebanyakan material polimer dan biopolimer (Kemmere, 2005; Nalawade et al., 2006). Saat ini penggunaan CO₂ di dalam proses perlakuan awal material lignoselulosa dan proses enzimatis mulai banyak digunakan untuk beberapa jenis material lignoselulosa seperti jerami dari tanaman gandum (wheat straw), beberapa jenis rumput-rumputan, tongkol jagung dan bagas tebu (Alinia et al., 2010; Muratov & Kim, 2002; Narayanaswamy et al., 2011; Santos et al., 2011; Srinivasan & Ju, 2010). Dari hasil tersebut dapat dilihat bahwa proses perlakuan awal dan proses enzimatis dengan menggunakan media sub- dan superkritik CO₂ dapat meningkatkan perolehan dan kemurnian dari produk glukosa yang dihasilkan. Di dalam penelitian ini hal baru yang ingin dikaji yaitu potensi penggunaan media sub dan superkritik CO₂ di dalam proses perlakuan awal dan juga proses hidrolisis secara enzimatis kertas bekas menjadi glukosa. Pemanfaatan kertas

bekas diharapkan dapat mengurangi limbah kertas bekas yang cukup banyak terdapat di Indonesia.

Fokus dari penelitian ini adalah pada tahap perlakuan awal dan proses hidrolisis kertas HVS bekas secara enzimatis sementara proses fermentasi glukosa menjadi bioetanol akan dilakukan setelah pemahaman mendasar dan tahap optimasi perolehan glukosa telah dilakukan (pada tahun kedua). Pada tahap pertama di dalam penelitian ini, untuk mempermudah pemahaman fundamental tentang proses ini maka akan terlebih dahulu dilakukan penelitian dengan bahan baku *microcrystalline* selulosa (DP 230) dan juga kertas HVS bersih (belum ditulisi) sebagai *model compound*. Material *microcrystalline* selulosa dengan DP 230 dipilih karena panjang rantainya mirip dengan panjang rantai dari selulosa penyusun kertas/kertas bekas (Torii et al., 2010)

Dalam tahap ini, kami akan mempelajari pengaruh tekanan dan temperatur pada proses perlakuan awal dan proses enzimatis serta pengaruh konsentrasi enzim terhadap perolehan dan kemurnian produk glukosa yang dihasilkan. Perolehan dan kemurnian produk hasil hidrolisis akan dianalisa dengan menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Pengaruh dari penggunaan media superkritik CO₂ terhadap produk hasil perlakuan awal akan dianalisa dengan menggunakan Scanning Electron Microscope (SEM), X-Ray Diffractometry (XRD) dan Fourier Transform Infra Red Spectroscopy (FT-IR).

1.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui potensi penggunaan CO₂ sebagai pelarut dalam proses perlakuan awal, dan proses hidrolisis secara enzimatis *microcrystalline* selulosa, kertas HVS baru dan kertas HVS bekas.
2. Mempelajari pengaruh dari beberapa faktor terhadap proses perlakuan awal dan reaksi hidrolisis secara enzimatis dari kertas bekas di dalam media sub- dan superkritik CO₂, antara lain pengaruh dari temperatur, tekanan, jenis enzim dan rasio enzim terhadap kertas bekas, serta rasio jumlah kertas bekas terhadap CO₂.
3. Mempelajari dan melakukan optimasi proses hidrolisis secara enzimatis antara kertas bekas dengan enzim di dalam media sub- dan superkritik CO₂ terhadap perolehan dan kemurnian produk glukosa dengan terlebih dahulu mempelajari sistem reaksi yang lebih sederhana yaitu reaksi hidrolisis secara enzimatis dengan *microcrystalline* selulosa, kertas HVS baru (belum ditulisi), baru kemudian dengan kertas HVS bekas.
4. Mempelajari dan melakukan proses fermentasi produk glukosa yang dihasilkan dari proses perlakuan awal dan hidrolisis secara enzimatis dari produk *microcrystalline* selulosa, kertas HVS baru dan kertas bekas (dilakukan pada tahap kedua).

1.3 Urgensi Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah fluida sub- dan superkritik CO₂ merupakan pelarut yang potensial untuk digunakan sebagai pelarut dalam proses pembuatan bioetanol, khususnya pada proses perlakuan awal dan proses hidrolisis secara enzimatis dari material-material berikut seperti *microcrystalline* selulosa, kertas HVS baru dan kertas HVS bekas. Selain itu, penelitian ini juga dilakukan

untuk mempelajari apakah variabel-variabel proses seperti temperatur, tekanan, jenis enzim, rasio enzim terhadap kertas bekas, serta rasio jumlah kertas bekas terhadap CO₂ mempengaruhi perolehan dan kemurnian produk glukosa yang dihasilkan. Hasil ini akan dijadikan dasar bagi penelitian lanjutan yaitu melakukan proses fermentasi produk glukosa yang dihasilkan. Melalui hasil penelitian ini, diharapkan penggunaan pelarut CO₂ di dalam proses ini dapat dikembangkan lebih lanjut dalam skala yang lebih besar.

1.4 Target Luaran Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi yang luas, khususnya mengenai pemanfaatan limbah kertas bekas sebagai sumber alternatif bagi pembuatan bioetanol. Media superkritik CO₂ yang digunakan pada proses perlakuan awal dan sebagai pelarut pada proses hidrolisis secara enzimatik diharapkan dapat menjawab permasalahan-permasalahan yang ada saat ini.

Adapun target dari luaran penelitian ini adalah sebagai berikut :

Tabel 1.1 Target Publikasi

Target Publikasi		
Tahun	International Conference	International SCI Journals
1	20th Regional Symposium on Chemical Engineering, Manila, Philipines	Carbohydrate Research (Impact Factor of 2.23)

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

Di dalam tinjauan pustaka ini, akan diuraikan tentang bioetanol, material lignoselulosa dan teknologi konversi material lignoselulosa menjadi bioetanol baik secara konvensional maupun dengan menggunakan pelarut CO₂ sub- dan superkritik.

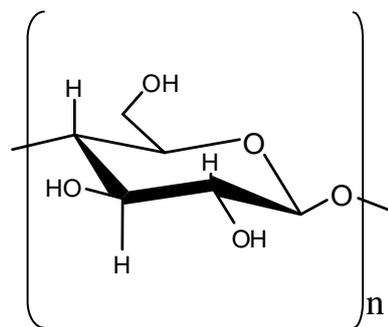
2.1 Lignocellulosic biomassa sebagai bahan baku pembuatan bioetanol

Ketersediaan lignoselulosa yang cukup melimpah, terutama sebagai limbah pertanian, perkebunan, dan kehutanan, menjadikan bahan ini berpotensi sebagai salah satu sumber energi melalui proses konversi, baik proses fisika, kimia maupun biologis. Salah satu proses konversi bahan lignoselulosa yang banyak diteliti adalah proses konversi lignoselulosa menjadi bioetanol (Schacht et al., 2008; Shi et al., 2009). Secara umum material lignoselulosa terdiri dari selulosa (35- 50% berat), hemiselulosa (20-35% berat) dan lignin (10-25% berat) (Schacht et al., 2008). Kandungan selulosa dan hemiselulosa yang besar inilah yang membuat material lignoselulosa sangat potensial untuk digunakan sebagai bahan baku pembuatan bioetanol.

Dari berbagai macam sumber material lignoselulosa, kertas bekas memiliki potensi yang besar karena jumlahnya yang berlimpah. Konsumsi kertas di dunia meningkat, dari 300 juta ton pada tahun 1996 menjadi 400 juta ton pada tahun 2010 (Ververis et al., 2007). Limbah kertas belum sepenuhnya dimanfaatkan termasuk di dalamnya adalah limbah kertas dari perkantoran dalam hal ini adalah limbah kertas HVS (Franceschin et al., 2010). Pemanfaatan yang paling besar adalah didalam pembuatan kertas daur ulang walaupun hal ini hanya menghasilkan kertas dengan

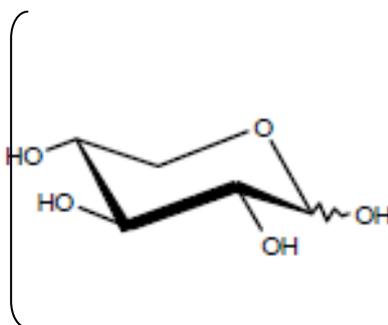
kualitas yang lebih rendah (Franceschin et al., 2010). Di dalam penelitian ini, limbah kertas HVS dipilih sebagai bahan baku. Kertas HVS tergolong material lignoselulosa yang terdiri dari selulosa (63.13% berat) yang berikatan dengan dengan lignin (9.53 % berat), hemiselulosa (11.89% berat) dan abu (13.99 % berat) (Franceschin et al., 2010).

Selulosa adalah biopolimer linear yang tersusun dari molekul-molekul anhidro D-glukosa yang berikatan dengan β -1,4 glukosidik dengan ikatan hydrogen (Gambar 2.1). (Foyle et al., 2007; Schacht et al., 2008) Bergantung dari asal dan jenis materialnya, selulosa memiliki berat molekul antara 50.000-500.000. Dari analisa X-Ray Diffractogram diketahui bahwa selulosa tergolong material kristalin (Girisuta et al., 2007)



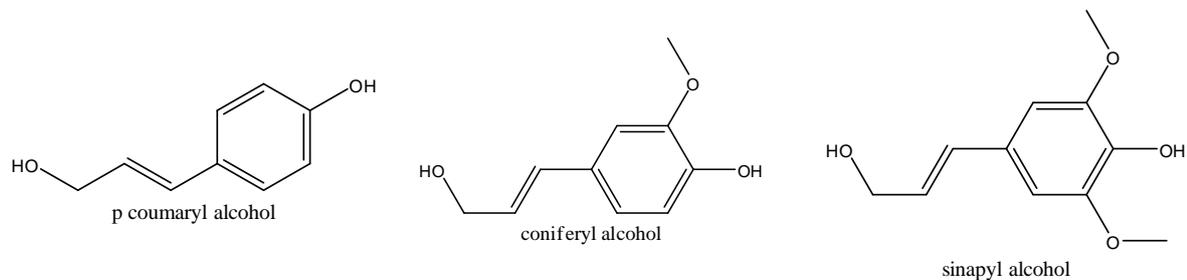
Gambar 2.1 Struktur monomer selulosa (Girisuta et al., 2007)

Hemiselulosa adalah heteropolisakarida yang terdiri dari pentose (β -D-xylose, α -L-arabinose), heksosa (β -D-mannose, β -D-glucose, α -D-galactose) dan asam (α -D-glucuronic, α -D-4-O-methylgalacturonic and α -D-galacturonic acids) (Gambar 2.2). Terdapat beberapa gula seperti α -L-rhamnose dan α -L-fucose dalam jumlah kecil dan grup gula hidroksil yang dapat disubstitusi dengan grup asetil. (Girio et al., 2010) Berbeda dari selulosa yang merupakan homopolisakarida dengan monomer glukosa rantai utama hemiselulosa dapat terdiri atas hanya satu jenis monomer (homopolimer), seperti xilan, atau terdiri atas dua jenis atau lebih monomer (heteropolimer), seperti glukomannan (Schacht et al., 2008).. Xylan merupakan polisakarida dengan ikatan β -1,4-D-xylopyranose dengan rantai bercabang (Gambar 2.5).



Gambar 2.2 Struktur xylosa (Girisuta, 2007)

Lignin merupakan polimer alami yang paling melimpah di alam setelah selulosa dan hemiselulosa. Tidak seperti selulosa dan hemiselulosa, meskipun tersusun atas karbon, hydrogen dan oksigen, lignin bukanlah karbohidrat. Lignin adalah heteropolimer yang kompleks dengan berat molekul tinggi. Lignin tersusun dari tiga jenis unit fenilpropana yang berbeda yaitu *p*-kumaril, koniferil, dan sinapil alkohol (Gambar 2.3).



Gambar 2.3 Struktur Lignin (Girisuta, 2007)

Lignin sangat sulit untuk didegradasi, sehingga keberadaannya memberikan bentuk lignoselulosa yang kompleks dan menghambat degradasi selulosa oleh mikroba ataupun bahan kimia lainnya (Schacht et al., 2008).

2.2 Teknologi Konversi Biomassa menjadi Etanol

Proses konversi bahan lignoselulosa menjadi etanol terdiri atas empat proses utama: perlakuan awal, sakarifikasi atau hidrolisis selulosa menjadi gula-gula sederhana, fermentasi gula-gula sederhana menjadi etanol, dan terakhir adalah pemisahan serta pemurnian produk etanol. Pemurnian etanol melalui distilasi dan dehidrasi untuk memperoleh *fuel-grade ethanol*. (Narayanaswamy et al., 2011; Schacht et al., 2008)

2.2.1 Tahap Perlakuan Awal Lignoselulosa

Lignocellulosic biomassa umumnya terdiri dari selulosa, hemiselulosa dan lignin. Selulosa secara alami diikat oleh hemiselulosa dan dilindungi oleh lignin. Adanya senyawa pengikat lignin inilah yang menyebabkan bahan-bahan lignoselulosa sulit untuk dihidrolisis. Oleh sebab itu, proses perlakuan awal dan hidrolisis merupakan tahapan proses yang sangat penting yang dapat mempengaruhi perolehan glukosa dan bioetanol.

Perlakuan awal ini dimaksudkan untuk memecah struktur kristalin selulosa dan memisahkan lignin sehingga selulosa dapat terpisah, serta meningkatkan porositas bahan. Rusaknya struktur kristal selulosa akan mempermudah terurainya selulosa menjadi glukosa. Selain itu, hemiselulosa turut terurai menjadi senyawa gula sederhana: glukosa, galaktosa, manosa, heksosa, pentosa, xilosa dan arabinosa. Selanjutnya senyawa-senyawa gula sederhana tersebut yang akan difermentasi oleh mikroorganisme menghasilkan bioetanol (Narayanaswamy et al., 2011; Schacht et al., 2008).

Perlakuan awal dapat dilakukan secara fisika, fisiko-kimia, kimia, biologis maupun kombinasi dari cara-cara tersebut. Perlakuan awal secara fisika antara lain berupa penggilingan, dan penepungan untuk memperkecil ukuran bahan dan mengurangi kristalinitas selulosa. Perlakuan awal secara fisikokimia antara lain adalah *steam explosion*, *ammonia fiber explosion* (AFEX), dan *CO₂ explosion*. Pada metode ini, partikel biomassa dipaparkan pada suhu dan tekanan tinggi, kemudian tekanannya diturunkan secara cepat sehingga bahan mengalami dekomresi eksplosif. Perlakuan awal secara kimia, di antaranya adalah perlakuan awal dengan menggunakan asam, dan alkali (Santos et al., 2011; Schacht et al., 2008).

Beberapa kendala yang muncul dari beberapa perlakuan awal di atas adalah penggunaan energi dalam jumlah yang cukup besar, penggunaan bahan-bahan yang korosif dan kurang ramah lingkungan serta yang paling penting adalah munculnya produk-produk degradasi gula dan lignin seperti furfural, hidroksimetil furfural (HMF), dan senyawa turunan fenol (degradasi lignin) yang dapat menjadi racun bagi proses fermentasi gluosa menjadi bioetanol (Santos et al., 2011)

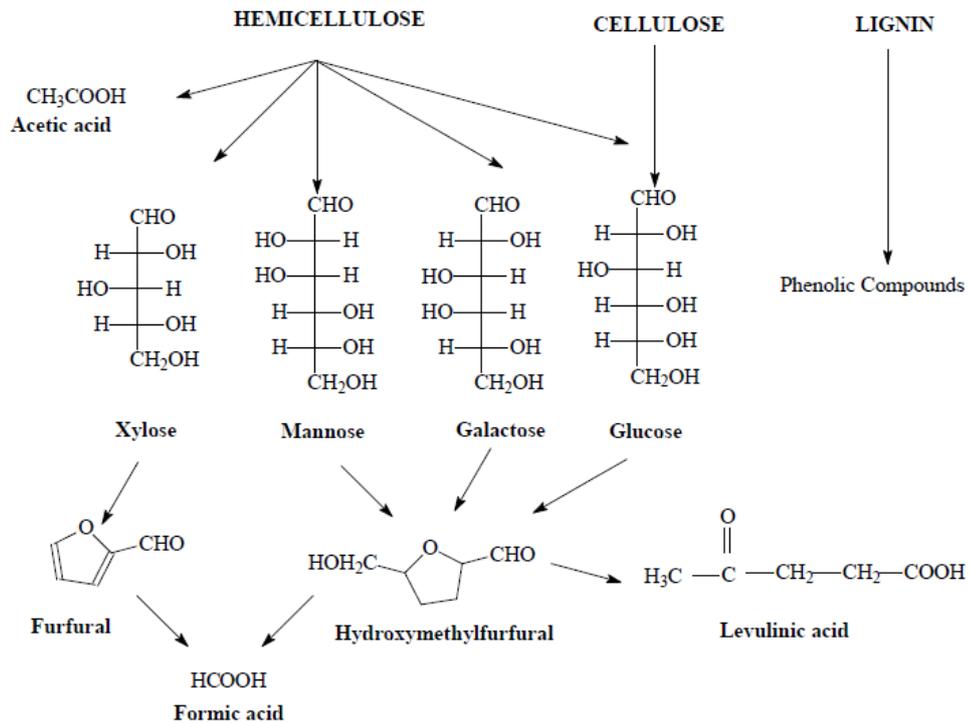
2.2.2 Sakarifikasi atau Hidrolisis Biomassa menjadi gula-gula sederhana

Sakarifikasi merupakan proses pemecahan gula kompleks menjadi gula sederhana. Pada tahap sakarifikasi, selulosa diubah menjadi selobiosa atau sukrosa dan selanjutnya menjadi gula-gula sederhana seperti glukosa melalui proses hidrolisis. Sementara itu hasil hidrolisis komponen hemiselulosa adalah campuran gula-gula sederhana seperti glukosa, galaktosa, xylosa, dan arabinosa (Schacht et al., 2008). Hidrolisis lignoselulosa dapat dilakukan menggunakan larutan asam, larutan basa secara enzimatik, maupun termal, masing-masing dengan kelebihan dan kekurangannya (Pejo et al., 2008).

2.2.2.1 Hidrolisis dengan menggunakan asam

Proses hidrolisis secara asam dapat dilakukan dengan penambahan asam, seperti asam sulfat, asam perklorat, dan asam klorida. Hidrolisis asam adalah hidrolisis dengan menggunakan asam yang dapat mengubah polisakarida (pati, selulosa) menjadi gula. Asam akan bersifat sebagai katalisator yang dapat membantu dalam proses pemecahan karbohidrat menjadi gula. Rendemen glukosa yang tinggi dapat dihasilkan dari hidrolisis asam bila dicapai kondisi yang optimum (Girisuta, 2007).

Pada hidrolisis dengan menggunakan asam pada konsentrasi tinggi, gula yang dihasilkan akan diubah menjadi senyawa-senyawa furfural, 5-hydroxymethylfurfural (HMF), asam levulinik, asam asetat (acetic acid), asam format (formic acid), asam uronat (uronic acid), asam 4-hydroxybenzoic, asam vanilik (vanilic acid), vanillin, phenol, cinnamaldehyde, formaldehida (formaldehyde), dan beberapa senyawa lain yang akan menghambat proses fermentasi (lihat Gambar 2.4) (Pejo et al., 2008). Lama waktu hidrolisis mempengaruhi proses degradasi selulosa menjadi glukosa dan juga mempengaruhi degradasi glukosa sebagai produk. Waktu hidrolisis yang melebihi waktu optimum akan mendegradasi glukosa menjadi komponen-komponen yang lebih sederhana yang biasanya bersifat racun terhadap mikroorganisme (Grethlein, 1984).



Gambar 2.4 Konversi Material Lignoselulosa (Corredor, 2008; Girisuta, 2007)

2.2.2.2 Hidrolisis termal

Hidrolisis termal dilakukan dengan menggunakan hot compressed water (HCW) sebagai media cair untuk proses hidrolisis. Hidrolisis termal menggunakan tekanan dan temperatur yang tinggi untuk memisahkan komponen organiknya, menghidrolisis hemiselulosa dan mengubah sifat-sifat selulosa dan lignin. Hidrolisis ini mempunyai beberapa keuntungan, seperti ramah lingkungan dan tidak memerlukan proses pemurnian. Larutan gula hasil hidrolisis mendapat perlakuan detoksifikasi untuk menghilangkan racun yang mungkin terkandung dalam bahan baku. Kerugian dari hidrolisis secara termal adalah adanya kemungkinan reaksi dekomposisi gula menjadi produk seperti 5-hydroxymethyl furfural dan asam levulinat (Gambar 2.4). Selain itu dibutuhkan energi yang besar untuk mencapai temperatur reaksi (di atas 100°C) (Schacht et al., 2008).

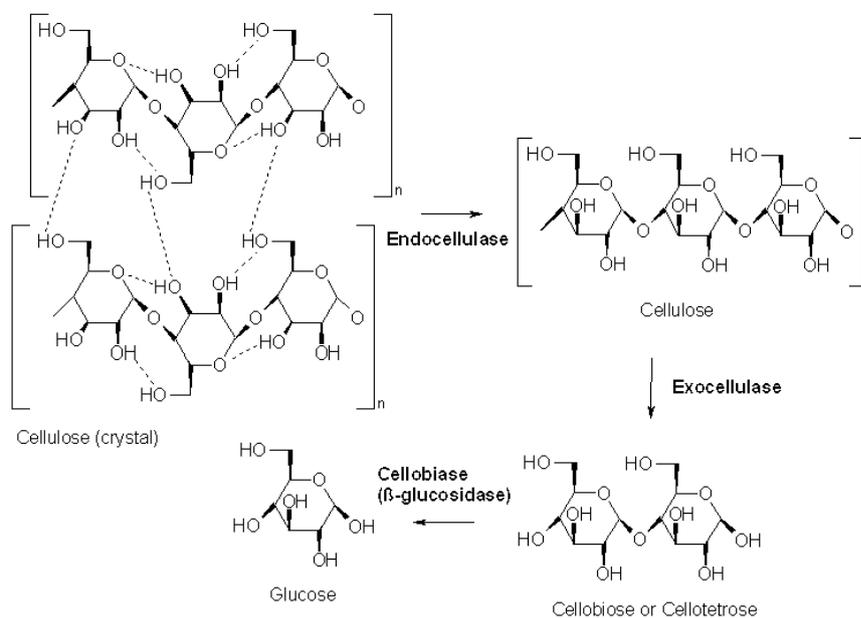
2.2.2.3 Hidrolisis enzimatik

Proses menggunakan enzim biasanya lebih disukai daripada proses menggunakan asam karena enzim bekerja lebih spesifik sehingga tidak menghasilkan produk yang tidak diharapkan, dapat digunakan pada kondisi proses yang lebih ringan, dan lebih ramah lingkungan.

Pada proses hidrolisis secara enzimatik dapat digunakan enzim selulase atau enzim lainnya yang dapat memecah selulosa menjadi monomer-monomernya. Aplikasi hidrolisis menggunakan enzim secara sederhana dilakukan dengan mengganti tahap hidrolisis asam dengan tahap hidrolisis enzim. Hidrolisis enzimatik memiliki beberapa keuntungan dibandingkan hidrolisis asam, antara lain tidak terjadi degradasi gula hasil hidrolisis, kondisi proses yang lebih lunak (pH sekitar 4,70-4,80

dan suhu 45–50°C), tidak terjadi reaksi samping, lebih ramah lingkungan, dan tidak melibatkan bahan - bahan yang bersifat korosif (Cheng & Timilsina, 2011; Schacht et al., 2008). Beberapa kelemahan dari hidrolisis enzimatik antara lain adalah membutuhkan waktu yang lebih lama, dan kerja enzim dihambat oleh produk. Selain itu, enzim bekerja secara spesifik dan tidak bisa menembus lignin yang mengikat selulosa dan hemiselulosa. Sehingga sebelum dihidrolisis secara enzimatik, limbah lignoselulosa harus mengalami proses penghilangan lignin atau biasa disebut delignifikasi. Harga enzim yang relatif lebih mahal dibandingkan asam juga menjadi kerugian penggunaan hidrolisis enzimatik (Cheng & Timilsina, 2011; Schacht et al., 2008).

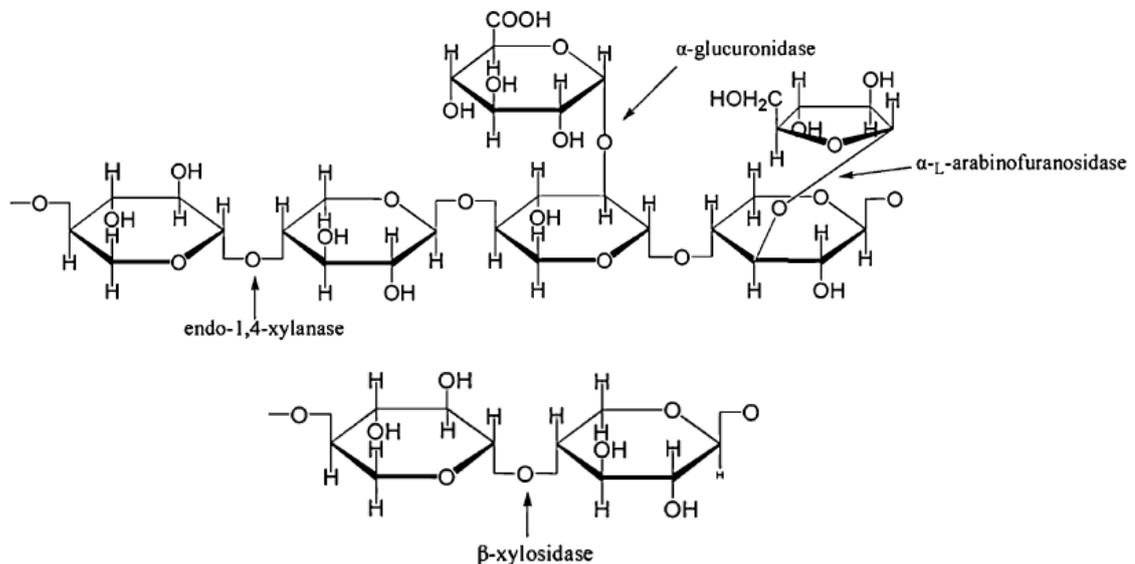
Selulosa dapat dihidrolisis secara enzimatik dengan menggunakan enzim selulase mengikuti mekanisme yang dapat dilihat pada Gambar 2.5. Enzim selulase biasanya merupakan campuran dari beberapa enzim, sedikitnya ada tiga kelompok enzim yang terlibat dalam proses hidrolisis selulosa, yaitu endoglukanase (endo- β -1,4 glukukanase) yang bekerja pada wilayah serat selulosa yang mempunyai kristalinitas rendah untuk memecah selulosa, secara acak dan membentuk ujung rantai yang bebas, eksoglukanase (ekso- β -1,4 glukukanase) atau selobiohidrolase yang mendegradasi lebih lanjut molekul tersebut dengan memindahkan unit-unit selobiosa dari ujung-ujung rantai yang bebas, dan β -1,4 glukosidase atau selobiase yang menghidrolisis selobiosa menjadi glukosa. Hidrolisis selulosa juga dapat dilakukan dengan menggunakan mikroba yang menghasilkan enzim selulase, seperti *Trichoderma reesei*, *Trichoderma viride*, dan *Aspergillus niger* (Cheng & Timilsina, 2011).



Gambar 2.5 Hidrolisis Selulosa Dengan Enzim Selulase diperlukan (Wang, Mingyu et al., 2012)

Sedangkan untuk hidrolisis hemiselulosa yang sebagian besar adalah xylan yang mengandung xylose, L-arabinose dan D-glucuronic acid, Endo- β -1,4 xylanase yang akan memecah rantai utama xylan, β -xylosidase yang akan menghidrolisis xylooligosacharides menjadi xylose, dan beberapa aktivitas enzim penambah seperti

α - β -arabinosidase dan α -glucuronidase yang akan memecah arabinose dan 4-O-methyl glucuronic acid substituent dari bagian tulang belakang xylan diperlukan (Wang, Mingyu et al., 2012) (**Gambar 2.6**).



Gambar 2.6 Struktur Kimia dan Degradasi dari Hemiselulosa (Wang, Mingyu et al., 2012)

2.2.3 Fermentasi glukosa menjadi bioetanol

Proses fermentasi glukosa dari selulosa pada prinsipnya sama dengan yang digunakan pada fermentasi glukosa dari pati atau nira yang tersedia secara komersial. Pada proses ini, gula-gula sederhana yang terbentuk difermentasi menjadi etanol dengan bantuan khamir seperti *Saccharomyces cerevisiae* dan bakteri *Zymomonas mobilis*. Fermentasi biasanya dilakukan pada suhu 30°C, pH 5, dan sedikit aerobik. Fermentasi hasil hidrolisis komponen hemiselulosa seperti xilosa menjadi etanol dapat menggunakan khamir *Pichia stipitis* atau *Candida shehatae*. Pada fermentasi xilosa, tiga molekul xilosa menghasilkan lima molekul etanol, lima molekul CO₂, dan lima molekul air (Marques et al., 2008).

Dalam proses konversi bahan lignoselulosa menjadi bioetanol, dapat dilakukan beberapa integrasi reaksi. Reaksi yang diintegrasikan atau digabungkan antara lain adalah reaksi sakarifikasi atau hidrolisis selulosa menjadi gula sederhana dan reaksi fermentasi gula heksosa menjadi etanol atau yang biasa dikenal dengan proses sakarifikasi dan fermentasi serentak (*simultaneous saccharification and fermentation/SSF*). Reaksi-reaksi lain yang dapat diintegrasikan adalah fermentasi heksosa dan pentosa yang disebut *co-fermentation* (CF), reaksi sakarifikasi, fermentasi heksosa dan pentosa yang disebut *simultaneous saccharification and co-fermentation* (SSCF) serta reaksi SSCF ditambah dengan produksi selulase yang disebut *consolidated bioprocessing* (CBP). Di antara keempat proses integrasi atau gabungan reaksi tersebut, proses SSF adalah yang paling banyak dilakukan (KÃ¡rdÃ¡r et al., 2004; Marques et al., 2008).

2.3 Teknologi konversi biomassa menjadi bioetanol dengan menggunakan media sub dan superkritik CO₂

Dari uraian di atas dapat dilihat bahwa proses konvensional yang ada memiliki beberapa kendala baik pada saat perlakuan awal maupun pada saat proses hidrolisis. Kendala utama adalah munculnya produk samping seperti furfural, HMF, senyawa furan, komponen fenol (hasil degradasi lignin) yang akan menjadi pengotor dalam proses fermentasi menjadi bioetanol (Santos et al., 2011). Metode hidrolisis secara enzimatis merupakan solusi untuk mencegah munculnya pengotor tersebut karena sifat reaksi enzimatis yang spesifik apabila dibandingkan metode-metode lain. Hanya saja waktu reaksi yang lama dan perolehan glukosa yang lebih sedikit dibandingkan dengan metode hidrolisis lainnya merupakan kendala yang harus dihilangkan. Salah satu alternatif yang dapat dilakukan adalah dengan melakukan perlakuan awal dan reaksi enzimatis dengan menggunakan media sub dan superkritik CO₂.

CO₂ telah dimanfaatkan secara luas sebagai pelarut/solvent pada berbagai proses modifikasi polimer dan biopolimer karena sifatnya yang meningkatkan *swelling* dari bahan, dan sebagai *plasticizer* (Kemmere, 2005). Kedua hal ini akan mempermudah proses modifikasi dari bahan-bahan tersebut (Muljana, H. et al., 2010b). Selain itu, jika CO₂ mencapai kondisi di atas titik kritiknya (P = 7.3 MPa dan T = 31 °C), maka pelarut ini memiliki keunggulan lain yaitu memiliki densitas seperti cairan dan viskositas seperti gas yang tentunya sangat ideal untuk suatu pelarut/solvent (lihat Tabel 2.2) (Muljana, H. et al., 2010a).

Tabel 2.1 Perbandingan sifat gas, cairan dan fluida superkritik (Muljana, Henky et al., 2010c)

Sifat	Gas	Fluida Superkritik	Cairan
ρ (kg m ⁻³)	1	100 – 800	1000
μ (Pa s)	0.001	0.005 – 0.01	0.05 – 0.1
\mathcal{D} (m ² s ⁻¹)	1.10 ⁻⁵	1.10 ⁻⁷	1.10 ⁻⁹

Saat ini penggunaan CO₂ di dalam proses perlakuan awal material lignoselulosa dan proses enzimatik mulai banyak digunakan terutama untuk beberapa jenis material lignoselulosa seperti jerami dari tanaman gandum (wheat straw), bagas tebu, beberapa jenis rumput-rumputan dan tongkol jagung (Alinia et al., 2010; Muratov & Kim, 2002; Narayanaswamy et al., 2011; Santos et al., 2011; Srinivasan & Ju, 2010).

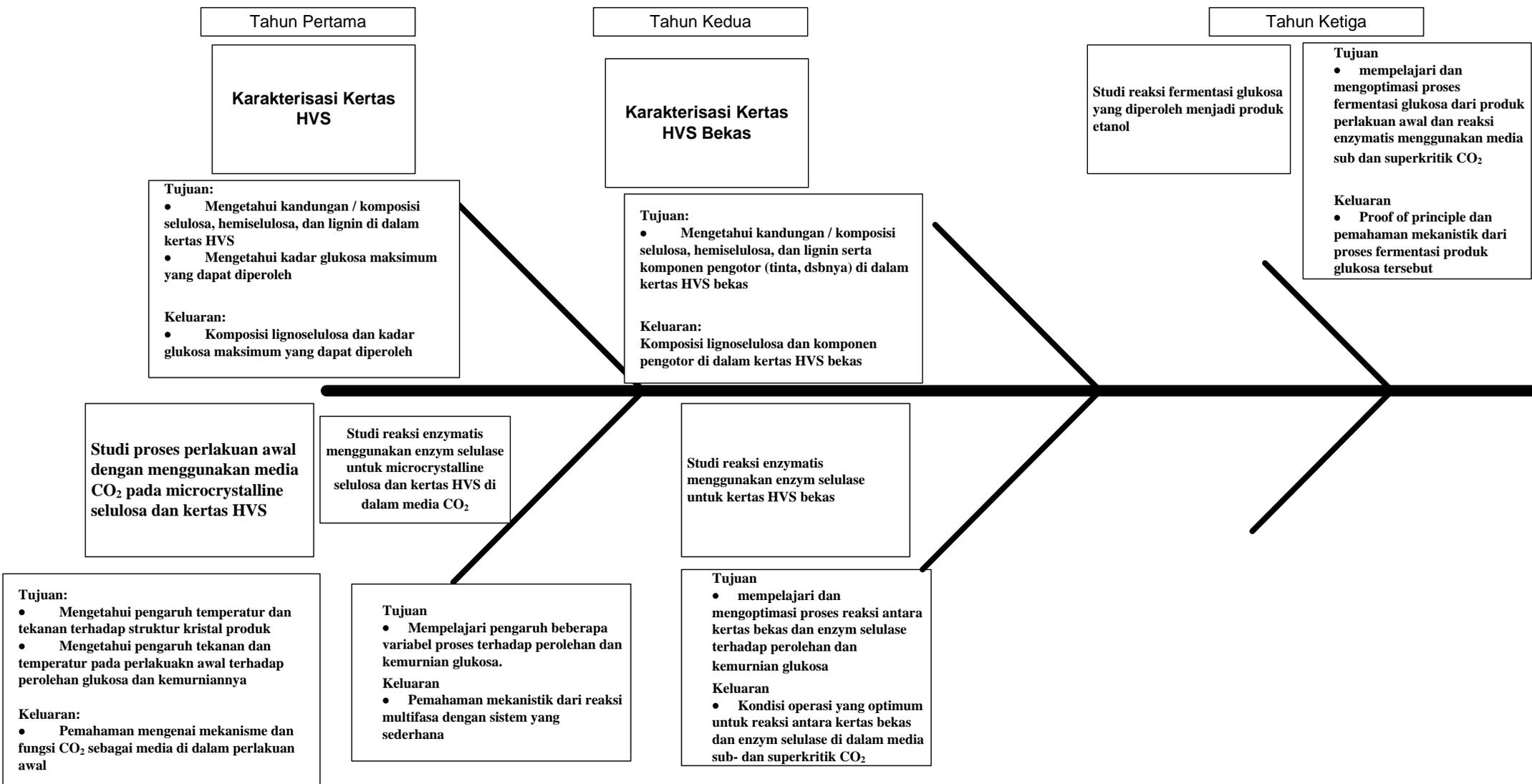
Penelitian yang dilakukan oleh Ana Luiza et al. menunjukkan bahwa setelah proses perlakuan awal bagas tebu dengan menggunakan media scCO₂ dan melakukan proses enzimatis dengan enzim selulase tanpa CO₂ pada temperatur 55°C dan waktu reaksi selama 8 jam, perolehan glukosa mencapai 72% berat untuk sampel bagas tebu tersebut (Santos et al., 2011). Chang Yeol Park et al., melaporkan peningkatan laju hidrolisis enzimatis selulosa menggunakan enzim selulase di dalam media superkritik CO₂ dimana reaksi tersebut dilangsungkan pada tekanan hingga 160 atm dan temperature 50 °C (Park et al., 2001).

Dari literatur-literatur yang sudah ada saat ini dapat dilihat bahwa proses perlakuan awal dan proses enzimatik dengan menggunakan media sub- dan superkritik CO₂ dapat meningkatkan perolehan dan kemurnian dari produk glukosa

yang dihasilkan sampai hampir 100% (Park et al., 2001). Hal ini menunjukkan potensi yang besar bagi pemanfaatan lebih jauh media sub- dan superkritik CO₂ di dalam proses konversi kertas HVS bekas menjadi bioetanol.

BAB III. METODE PENELITIAN

Tahapan-tahapan penelitian yang akan dilakukan mulai dari tahun pertama sampai tahun ketiga dapat dilihat pada Gambar 3.1. Fokus penelitian pada tahap pertama ini adalah melakukan karakterisasi komposisi dari kertas HVS, melakukan *proof of principle* proses perlakuan awal dan reaksi enzimatis antara kertas HVS di dalam media sub- dan superkritik CO₂, mempelajari pengaruh sejumlah variabel proses seperti konsentrasi enzim, pengaruh tekanan dan temperatur terhadap perolehan dan kemurnian produk glukosa yang dihasilkan. Detail lengkap serta rencana penelitian untuk tahun kedua dan ketiga dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Bagan Alir Penelitian

BAB IV. JADWAL PENELITIAN

Jadwal penelitian untuk setiap tahap adalah sebagai berikut :

Tabel 4.1 Jadwal penelitian

Kegiatan	TAHUN 1		TAHUN 2		TAHUN 3	
	Sem. I	Sem. II	Sem. III	Sem. IV	Sem. V	Sem. VI
<p>Tahap Karakterisasi Bahan</p> <p>1. Karakterisasi kertas HVS</p> <p>Tujuan:</p> <ul style="list-style-type: none"> Mengetahui kandungan / komposisi selulosa, hemiselulosa, dan lignin di dalam kertas HVS Mengetahui kadar glukosa maksimum yang dapat diperoleh <p>Keluaran:</p> <ul style="list-style-type: none"> Komposisi lignoselulosa dan kadar glukosa maksimum yang dapat diperoleh 						
<p>Tahap 1</p> <p>Studi proses perlakuan awal dengan menggunakan media CO₂ pada microcrystalline selulosa dan kertas HVS</p> <p>Tujuan:</p> <ul style="list-style-type: none"> Mengetahui pengaruh temperatur dan tekanan terhadap struktur kristal produk Mengetahui pengaruh tekanan dan temperatur pada perlakuan awal terhadap perolehan glukosa dan kemurniannya <p>Keluaran:</p> <ul style="list-style-type: none"> Pemahaman mengenai mekanisme dan fungsi CO₂ sebagai media di dalam perlakuan awal 						
<p>Tahap 2</p> <p>Studi reaksi enzimatik menggunakan enzim selulase untuk microcrystalline selulosa dan kertas HVS di dalam media CO₂</p> <p>Tujuan</p> <ul style="list-style-type: none"> Mempelajari pengaruh 						

<p>beberapa variabel proses terhadap perolehan dan kemurnian glukosa.</p> <p>Keluaran</p> <ul style="list-style-type: none"> • Pemahaman mekanistik dari reaksi multifasa dengan sistem yang sederhana 						
<p>Kegiatan</p>	<p>TAHUN 1</p>		<p>TAHUN 2</p>		<p>TAHUN 3</p>	
	<p>Sem. I</p>	<p>Sem. II</p>	<p>Sem. III</p>	<p>Sem. IV</p>	<p>Sem. V</p>	<p>Sem. VI</p>
<p>Tahap Karakterisasi Bahan</p> <p>1. Karakterisasi kertas HVS Bekas</p> <p>Tujuan:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mengetahui kandungan / komposisi selulosa, hemiselulosa, dan lignin serta komponen pengotor (tinta, dsbnya) di dalam kertas HVS bekas <p>Keluaran:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Komposisi lignoselulosa dan komponen pengotor di dalam kertas HVS bekas 						
<p>Tahap 3</p> <p>Studi reaksi enzimatis menggunakan enzim selulase untuk kertas HVS bekas</p> <p>Tujuan</p> <ul style="list-style-type: none"> • mempelajari dan mengoptimasi proses reaksi antara kertas bekas dan enzim selulase terhadap perolehan dan kemurnian glukosa <p>Keluaran</p> <ul style="list-style-type: none"> • Kondisi operasi yang optimum untuk reaksi antara kertas bekas dan enzim selulase di dalam media sub- dan 						

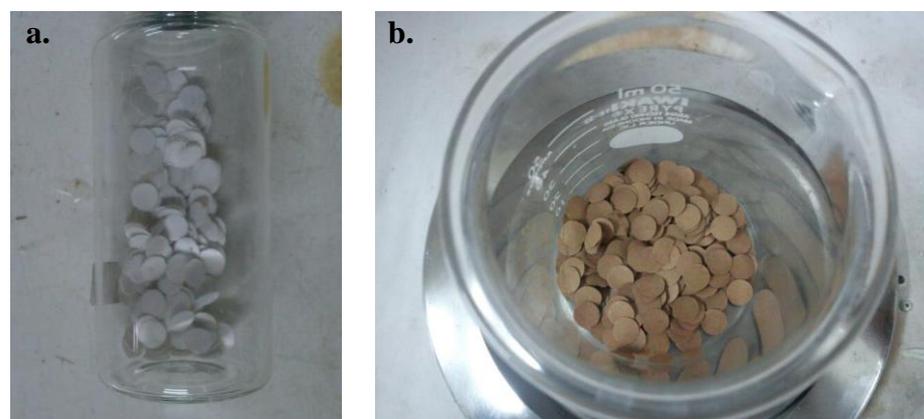
superkritik CO ₂						
Kegiatan	TAHUN 1		TAHUN 2		TAHUN 3	
	Sem. I	Sem. II	Sem. III	Sem. IV	Sem. V	Sem. VI
<p>Tahap 4</p> <p>Studi reaksi fermentasi glukosa yang diperoleh menjadi produk etanol</p> <p>Tujuan</p> <ul style="list-style-type: none"> mempelajari dan mengoptimasi proses fermentasi glukosa dari produk perlakuan awal dan reaksi enzimatis menggunakan media sub dan superkritik CO₂ <p>Keluaran</p> <ul style="list-style-type: none"> Proof of principle dan pemahaman mekanistik dari proses fermentasi produk glukosa tersebut 						

BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Perlakuan Awal Bahan

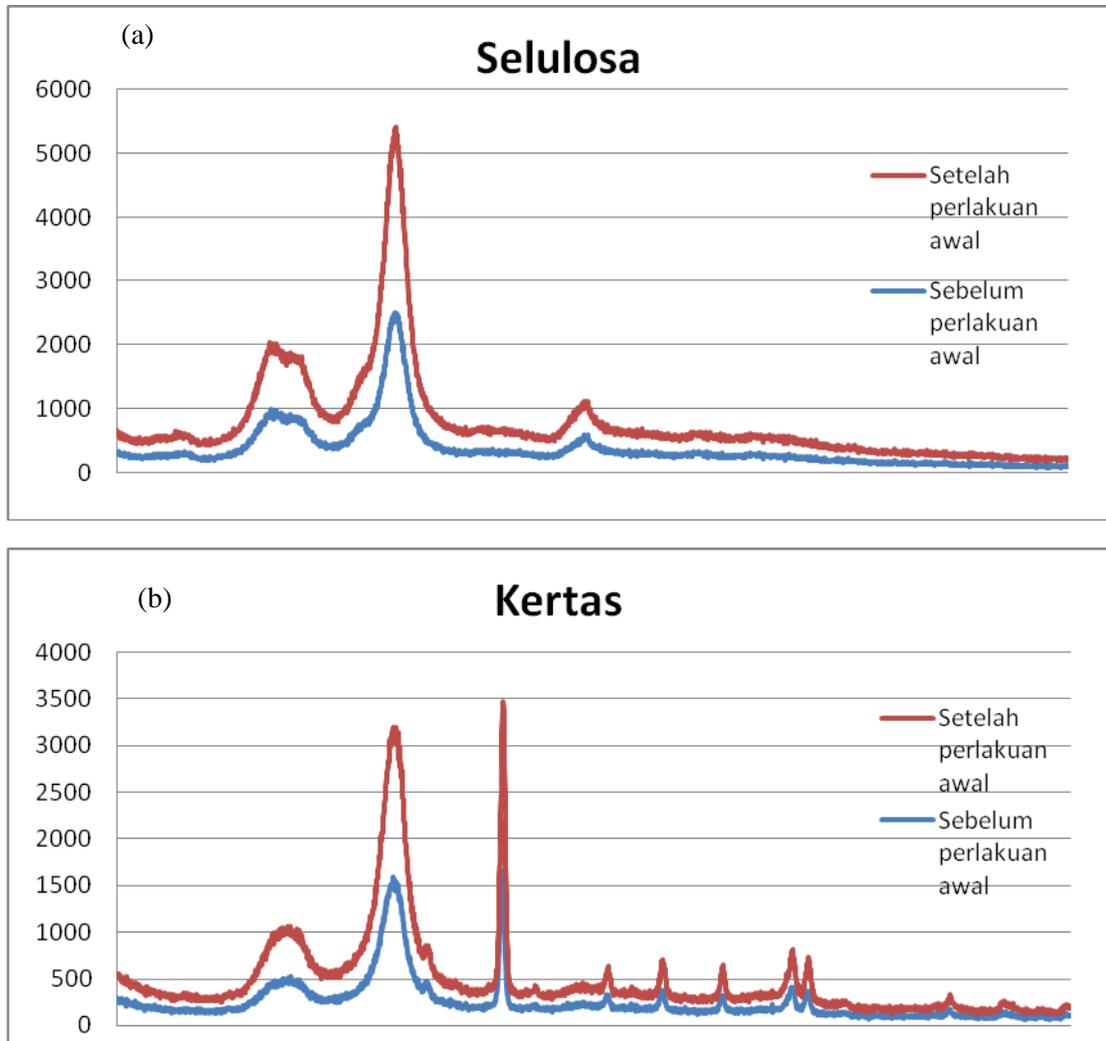
Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah kertas dan mikrokristalin selulosa. Kertas yang digunakan merupakan kertas A4 yang dihasilkan oleh Indah Kiat Pulp & Paper Corp. dengan merek dagang *e. paper*. Kertas A4 ini memiliki ukuran 210 mm x 297 mm dengan berat 70 gsm. Kertas ini dikecilkan ukurannya dengan menggunakan pembolong kertas hingga didapatkan kertas dengan diameter yang sama yaitu 0,5 mm. Kertas kemudian mengalami perlakuan awal dengan menggunakan fluida superkritik CO₂ dengan variasi temperatur sebesar 50°C, 75°C, dan 100°C dan juga variasi tekanan sebesar 80 bar, 120 bar, dan 150 bar. Pemilihan temperatur dan tekanan ini didasarkan pada temperatur dan tekanan CO₂ ketika berada dalam wujud fluida superkritik. Sedangkan untuk mikrokristalin selulosa, tidak dilakukan pengecilan ukuran dan pemilihan kondisi temperatur dan tekanan perlakuan awal dilihat dari hasil hidrolisis kertas yang paling baik yaitu pada temperatur 75°C dan tekanan 80 bar.

Perlakuan awal yang dilakukan tidak memberikan perubahan fisik yang terlihat nyata pada kertas dan mikrokristalin selulosa. Kertas dan mikrokristalin hasil perlakuan awal tetap berwarna putih dan tidak berubah bentuk. Hanya saja, kertas menjadi saling menempel dikarenakan penggunaan *magnetic stirrer* selama perlakuan awal dilakukan. Perubahan fisik terjadi pada saat perlakuan awal pada suhu 100°C. Kertas hasil perlakuan awal berubah menjadi berwarna coklat. Hal ini mungkin dikarenakan lignoselulosa mengalami proses karbonisasi. Keadaan kertas setelah diberi perlakuan awal dapat dilihat pada Gambar 5.1. Pada temperatur yang lebih rendah dari 100°C, walau secara fisik tidak berubah, berdasarkan literatur, terdapat perbedaan struktur dari selulosa pada saat sebelum dan sesudah dilakukan perlakuan awal. Oleh karena itu dilakukan analisa *X-Ray Diffraction* dan *Scanning Electron Microscopy* untuk mengetahui perubahan yang terjadi pada kristal dan permukaan dari bahan.



Gambar 5.1 Kertas diberi perlakuan awal pada temperatur di bawah 100°C (a) dan kertas diberi perlakuan awal pada temperatur 100°C (b)

5.2 Pengaruh perlakuan awal terhadap kristalinitas kertas dan mikrokrystalin selulosa



Gambar 5.2 Hasil analisis XRD mikrokrystalin selulosa (a) dan kertas (b)

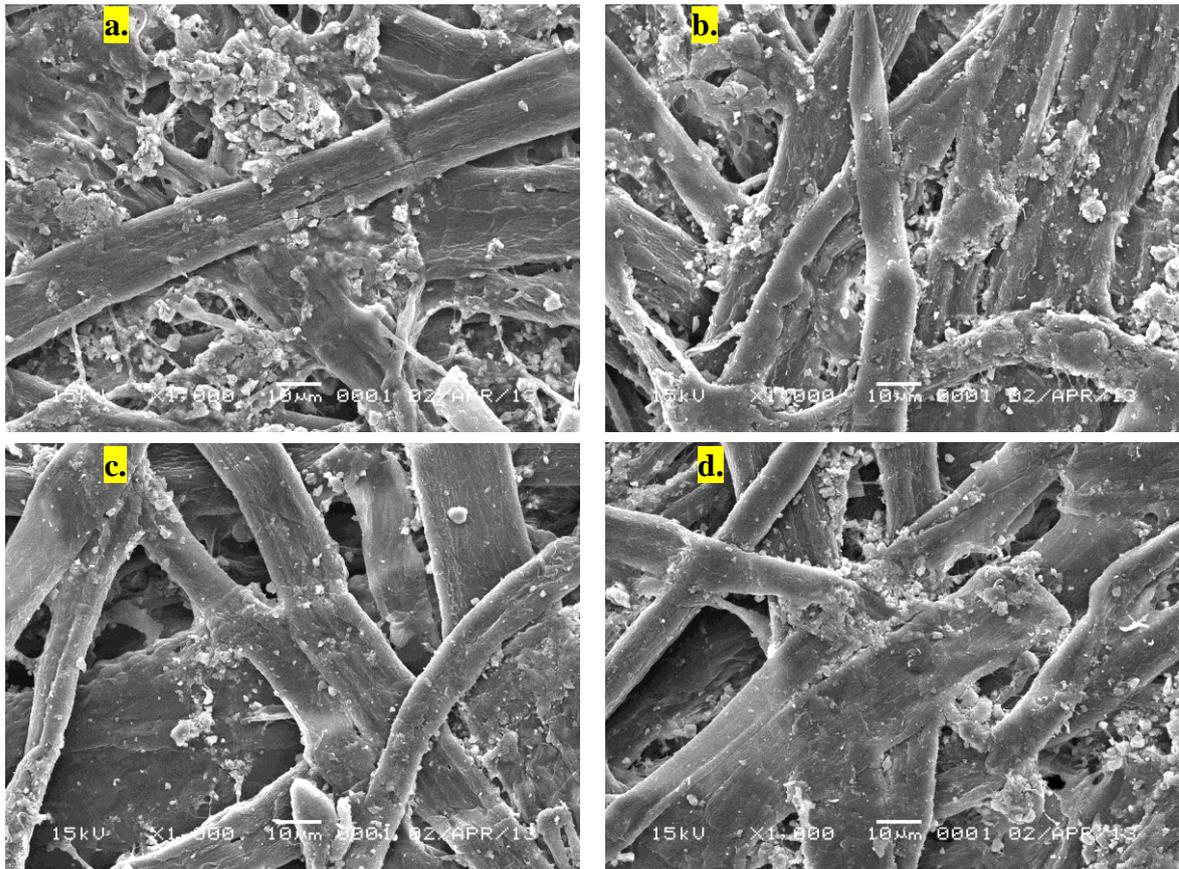
Sampel yang digunakan untuk analisis XRD adalah sampel kertas yang belum diberi perlakuan awal dan sampel kertas yang diberi perlakuan awal pada temperatur 50°C dan 150 bar. Pemilihan sampel ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh tekanan terhadap selulosa yang terdapat pada kertas. Analisa XRD juga dilakukan pada mikrokristalin selulosa dengan keadaan yang sama seperti pada kertas.

Hasil analisis XRD untuk selulosa dan kertas memiliki kecenderungan yang sama yaitu material dari sampel semakin mendekati bentuk kristal setelah diberikan perlakuan awal. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 5.2. Peak yang dihasilkan setelah diberi perlakuan awal menjadi lebih tinggi dan curam dibandingkan dengan peak sebelum diberi perlakuan awal. Peak ini menandakan kekristalan dari suatu material. Padahal berdasarkan literatur, seharusnya kristal selulosa setelah diberi perlakuan awal mengalami penurunan yang ditandai dengan ukuran peak yang lebih rendah dan landai sehingga proses hidrolisis mudah dilakukan. Perlakuan awal yang dilakukan di dalam literatur berlangsung pada temperatur 60°C, tekanan 120 bar, dan waktu kontak dengan fluida super kritis selama 5 menit. Sedangkan analisis dilakukan pada perlakuan awal dengan temperatur 50°C, tekanan 150 bar dan waktu kontak dengan fluida super kritis selama 90 menit. Hal ini mungkin menyebabkan memberikan hasil yang berbeda pada selulosa dalam kertas dan mikrokristalin selulosa.

5.3 Pengaruh perlakuan awal terhadap morfologi kertas dan mikrokristalin selulosa

Untuk mengetahui pengaruh perlakuan awal terhadap morfologi dari bahan baku baik kertas maupun mikrokristalin selulosa maka beberapa sampel dianalisa dengan menggunakan Scanning Electron Microscope (SEM). Hasil SEM untuk kertas sebelum dan sesudah perlakuan awal dan mikrokristalin selulosa sebelum dan sesudah perlakuan awal dapat dilihat pada Gambar 5.3 dan Gambar 5.4.

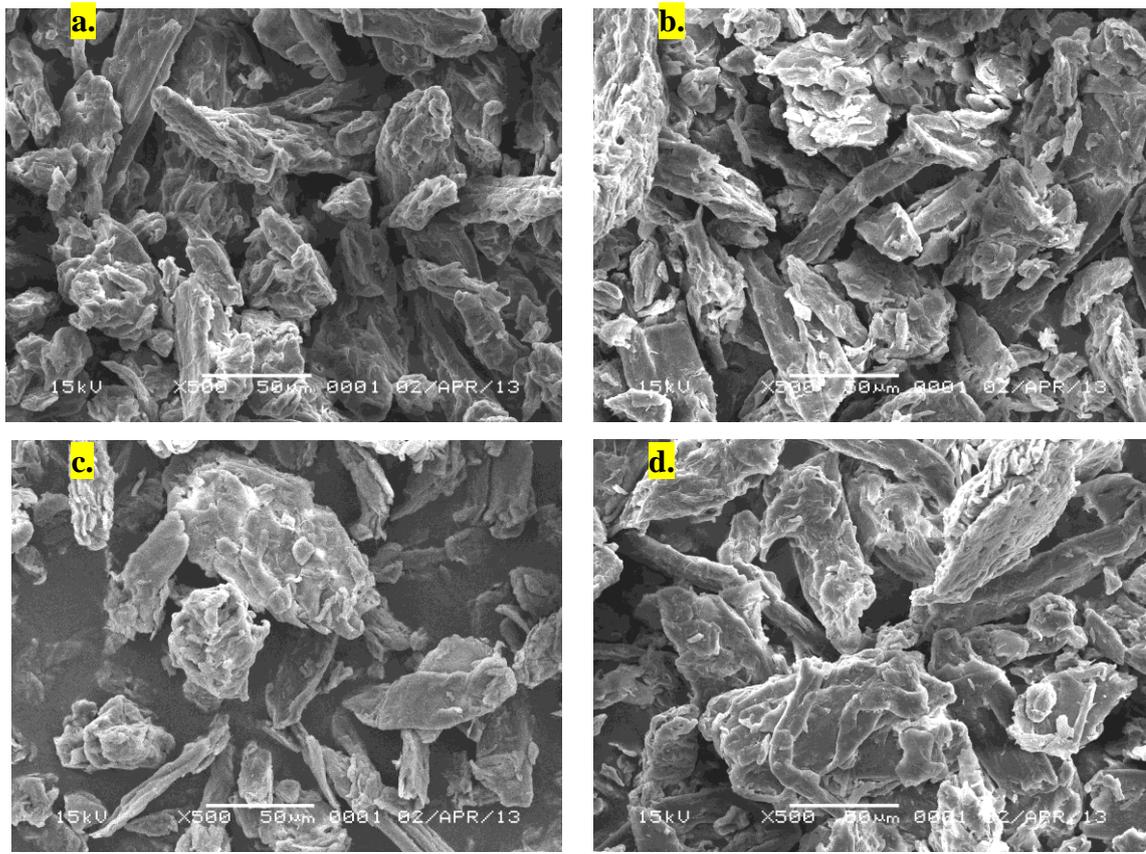
Pada Gambar 5.3 dapat dilihat bahwa serat yang terdapat pada sampel a tidak dapat terlihat jelas karena terdapat banyak pengotor di sekitar serat. Selain itu serat terlihat memiliki tekstur yang kasar dan memiliki banyak guratan pada serat. Pada sampel a juga terdapat banyak serat-serat kecil yang saling berhubungan. Setelah diberi perlakuan awal, dapat dilihat pada sampel b, c, dan d, pengotor di sekitar serat menjadi berkurang dan didapatkan serat yang lebih halus dibandingkan dengan sampel a. Selain itu serat-serat kecil yang saling berhubungan menjadi berkurang. Jika dilihat secara sekilas, sampel b memiliki tekstur serat yang paling halus. Perbandingan antara sampel c dan d tidak memiliki banyak perbedaan. Kedua sampel masih memiliki sejumlah pengotor di sekeliling serat. Hanya saja pada sampel d terdapat serat yang terlihat seperti patah.



Gambar 5.3 Hasil SEM pada sampel kertas yang belum diberi perlakuan awal (a), sampel kertas yang diberi perlakuan awal pada temperatur 75°C dan 80 bar (b), sampel kertas yang diberi perlakuan awal pada temperatur 50°C dan 80 bar (c), dan sampel kertas yang diberi perlakuan awal pada temperatur 50°C dan 150 bar (d).

Terdapat beberapa kemungkinan jenis pengotor yang menutupi serat. Pembuatan kertas memerlukan beberapa bahan aditif agar dihasilkan kertas yang diinginkan. Selain itu kertas merupakan lignoselulosa sehingga masih mengandung lignin walau dalam jumlah kecil. Berkurangnya pengotor ini merupakan hal yang baik karena proses permeabilitas enzim menjadi meningkat.

Dari hasil analisis SEM yang dilakukan dapat diketahui bahwa proses perlakuan awal kertas dengan fluida superkritik CO₂ dapat mengurangi jumlah pengotor yang melekat pada serat. Hanya saja, tidak dapat diketahui proses perlakuan awal yang paling baik karena tidak terdapat perbedaan yang signifikan di antara ketiga sampel b, c, dan d.



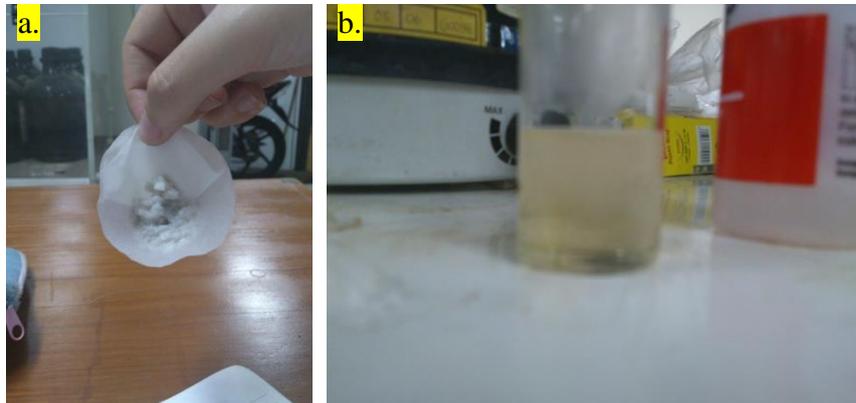
Gambar 5.4 Hasil SEM pada mikrokrystalin selulosa sebelum diberi perlakuan awal (a), sampel mikrokrystalin selulosa dengan perlakuan awal pada temperatur 75°C dan 80 bar (b), sampel mikrokrystalin selulosa dengan perlakuan awal pada temperatur 50°C dan 80 bar (c), dan sampel mikrokrystalin selulosa dengan perlakuan awal pada temperatur 50°C dan 150 bar (d).

Tidak seperti kertas, sampel mikrokrystalin selulosa yang digunakan tidak memiliki pengotor. Dapat dilihat pada Gambar 5.4, berdasarkan hasil analisis sampel a, mikrokrystalin tidak memiliki bentuk seperti kristal, melainkan berbentuk seperti serat-serat yang tidak saling berhubungan. Setelah diberikan perlakuan awal, dapat dilihat pada sampel b, c, dan d terdapat beberapa bagian dari selulosa yang memiliki bentuk dan tidak terlalu berserat. Bentuk ini mungkin yang menyebabkan struktur kristalin pada analisa XRD menjadi meningkat. Seperti pada hasil analisa SEM kertas, tidak dapat diketahui proses perlakuan awal yang paling baik karena tidak terdapat perbedaan yang signifikan di antara ketiga sampel tersebut (b,c,d).

5.4 Penelitian Utama

Penelitian utama dilakukan dengan menggunakan enzim untuk menguraikan polisakarida pada kertas menjadi monomer-monomernya. Setelah proses hidrolisis selesai dilakukan, kertas akan mengalami perubahan fisik menjadi seperti pulp. Pemisahan dilakukan dengan penyaringan menggunakan kertas saring kasar. Setelah disaring, residu kertas yang dapat dilihat pada Gambar 5.5a akan dibuang dan filtrate yang didapat akan ditambahkan dengan NaOH untuk inaktivasi enzim. Pada saat

NaOH dicampurkan ke dalam sampel, dapat dilihat pada Gambar 4.5b, larutan bagian atas dari filtrate akan menjadi keruh dan setelah dibiarkan selama beberapa jam, akan terbentuk endapan di bagian dasar botol sampel.



Gambar 5.5 Residu kertas hasil hidrolisis (a) dan Penambahan NaOH ke dalam filtrate (b)

5.5 Pengaruh variabel percobaan terhadap produk hidrolisis

Analisa kualitatif dan kuantitatif untuk produk hidrolisis akan dilakukan dengan menggunakan HPLC. Dari hasil analisa diketahui bahwa sampel mengandung monosakarida seperti glukosa, arabinosa, xilosa, dan fruktosa serta mengandung disakarida yaitu selobiosa (Tabel 5.1).

Tabel 5.1 Konsentrasi gula hasil hidrolisis (ppm)

Jenis Gula	P (bar)	80	120	150
	T (°C)			
Glukosa	50	0.65972	0.62664	0.66884
	75	0.70068	0.68172	0.63036
	100	0.63208	0.5786	0.5926
Arabinosa	50	1.452055	2.333195	1.243159
	75	1.950126	1.647542	2.004992
	100	1.146219	1.589218	1.55037
Fruktosa	50	0.48146	1.14959	0.126143
	75	1.292031	0.408125	0.304589
	100	0.772313	0.551441	0.629477
Xilosa	50	0	0	3.24758
	75	0	3.67619	4.07933
	100	0	3.43652	3.51665
Maltosa	50	0.31504	0.42468	0.67792
	75	0.47996	0.1684	0.29776
	100	0.47576	0.41008	0.53396

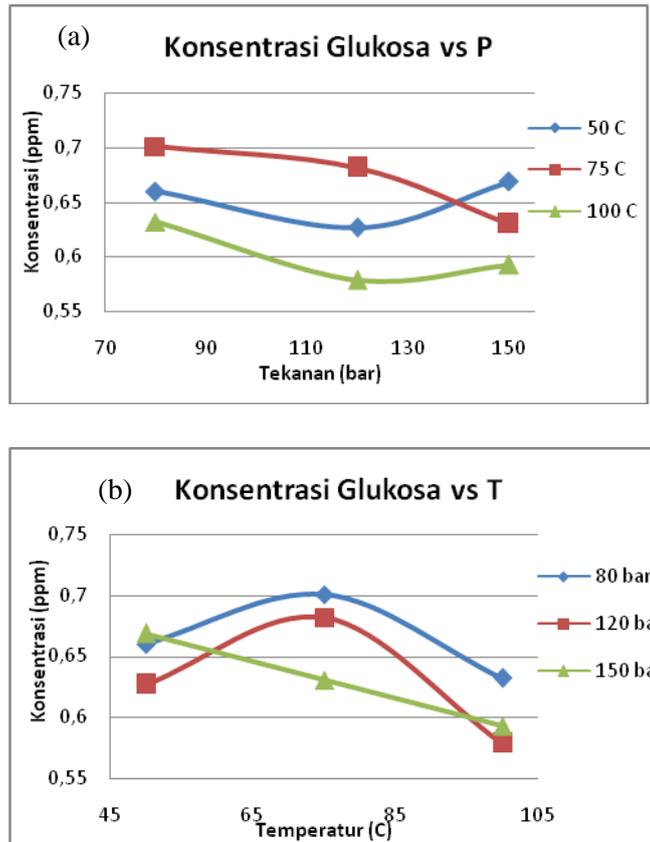
Hasil ini menunjukkan bahwa pada proses hidrolisis bukan hanya terjadi hidrolisis selulosa saja tetapi juga hidrolisis komponen hemiselulosa yang mengandung komponen gula 5 (pentosa) seperti arabinosa dan xylosa. Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan untuk mengecek apakah hidrolisis ini terjadi karena tekanan dan temperatur proses dengan menggunakan media superkritik atau akibat aktifitas enzimatis. Untuk itu perlu dilakukan penelitian dengan menggunakan enzim selulase dengan tingkat kemurnian yang tinggi.

Berikut ini akan dibahas mengenai tiap produk gula dan kecenderungan data yang dihasilkan di dalam percobaan ini.

5.5.1 Kandungan Glukosa pada produk hidrolisis

Pada penelitian ini, glukosa merupakan komponen yang paling penting karena semakin tinggi konsentrasi glukosa dalam sampel maka semakin besar peluang kertas untuk dijadikan sebagai bahan baku bietanol. Hanya saja, dapat dilihat pada Tabel 5.1, konsentrasi glukosa dalam sampel tidak lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrasi gula lainnya di dalam sampel. Selain itu tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara satu kondisi dengan kondisi yang lainnya. Tetapi jika dibandingkan di dalam grafik dapat dilihat pada Gambar 5.6, perbandingan konsentrasi glukosa terhadap tekanan memiliki kecenderungan yang sama pada temperatur 50°C dan 100°C yaitu akan mengalami penurunan pada tekanan 120 bar. Sedangkan pada temperatur 75°C, konsentrasi dari glukosa akan menurun seiring dengan meningkatnya tekanan. Sedangkan perbandingan konsentrasi terhadap temperatur memiliki kecenderungan yang sama pada tekanan 80 bar dan 120 bar yaitu akan mengalami peningkatan pada temperatur 75°C. Sedangkan pada tekanan 150 bar konsentrasi dari glukosa akan menurun seiring dengan meningkatnya temperatur.

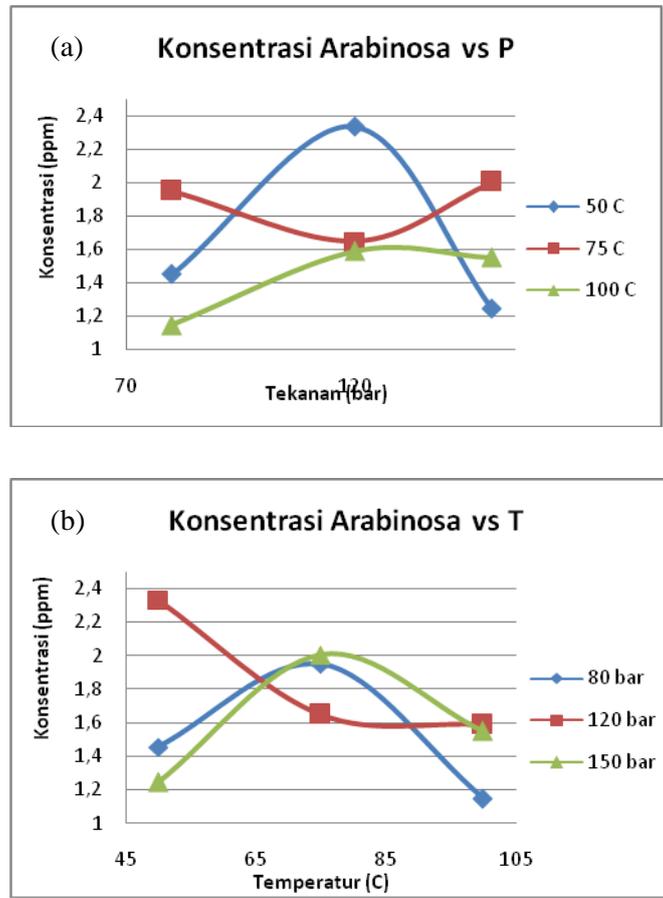
Berdasarkan literatur, terdapat tiga variasi yang mempengaruhi hasil dari glukosa setelah diberi perlakuan awal yaitu tekanan, waktu kontak, dan jenis dari bahan. Semakin tinggi tekanan yang diberikan pada waktu kontak selama lima menit pada ampas tebu akan menyebabkan penurunan kadar glukosa yang dihasilkan. Sedangkan pada waktu kontak selama 60 menit, kadar glukosa yang dihasilkan menjadi meningkat. Perlakuan awal pada kulit tebu dengan kondisi yang sama seperti pada ampas tebu memberikan hasil yang berbeda. Peningkatan tekanan dengan waktu kontak lima menit akan menaikkan kadar glukosa yang dihasilkan. Sedangkan peningkatan tekanan dengan waktu kontak 60 menit akan menurunkan kadar glukosa yang dihasilkan. Perlakuan awal pada kertas dengan variasi tekanan selama 90 menit tidak memberikan kecenderungan yang sama tetapi memiliki kadar glukosa yang tidak berbeda jauh dan tidak besar. Hal ini mungkin dikarenakan waktu kontak perlakuan awal yang tidak tepat untuk kertas. Selain itu mungkin terdapat penyimpangan yang dilakukan selama penelitian dilakukan.



Gambar 5.6 Perbandingan konsentrasi glukosa terhadap tekanan (a) dan temperatur (b)

5.5.2 Arabinosa

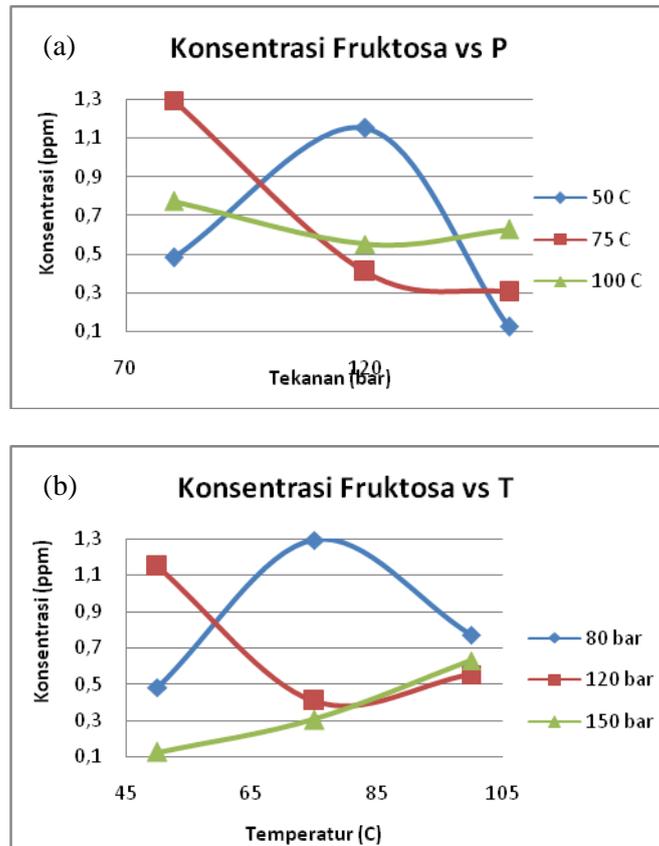
Pada penelitian ini, kadar arabinosa yang terdapat pada sampel hasil hidrolisis memiliki hasil tertinggi kedua setelah xilosa. Arabinosa merupakan pentosa yang berasal dari hidrolisis hemiselulosa. Hidrolisis yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan enzim selulase yang bekerja secara spesifik. Selain itu, kadar hemiselulosa dalam kertas sangatlah kecil hingga mendekati nol. Hidrolisis hemiselulosa dapat dilakukan dengan menggunakan asam, secara termal pada temperatur 150°C dan 230°C, menggunakan uap bertekanan tinggi dengan temperatur di bawah 240°C, dan dengan menggunakan fluida super kritik air. Semakin tinggi temperatur dan semakin lama waktu hidrolisis yang dilakukan akan menaikkan kadar monomer hemiselulosa yang dihasilkan walau terdapat kemungkinan monomer hemiselulosa terurai menjadi senyawa furfural. Pada Gambar 5.7 dapat dilihat tidak terdapat kecenderungan meningkatnya kadar arabinosa terhadap meningkatnya temperatur.



Gambar 5.7 Perbandingan konsentrasi fruktosa terhadap tekanan (a) dan temperatur (b)

5.5.3 Fruktosa

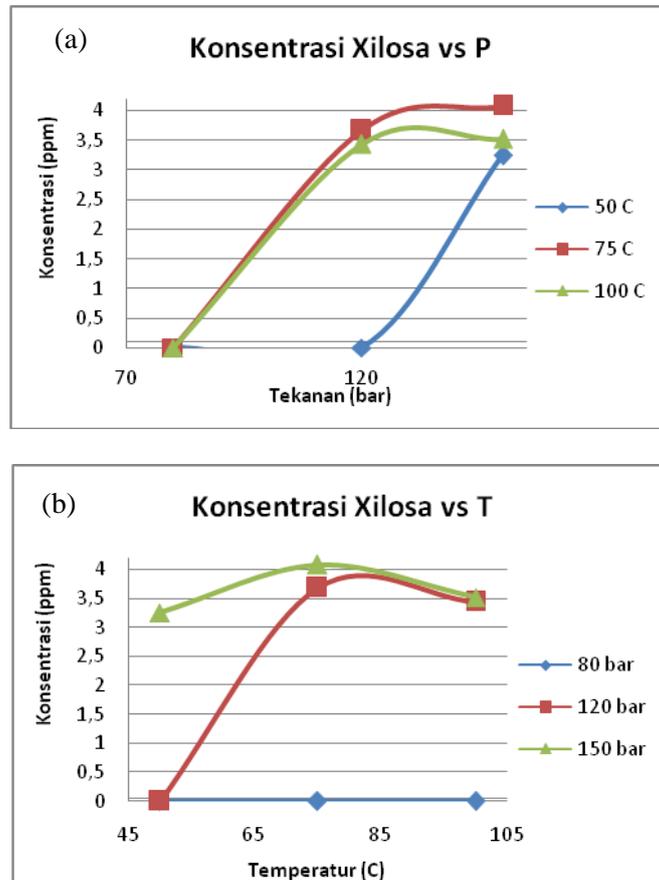
Fruktosa merupakan monosakarida yang banyak ditemukan di berbagai jenis tumbuhan dan buah-buahan. Berbeda dengan glukosa yang merupakan gula aldehyd, fruktosa merupakan gula keton. Pada Gambar 5.8 dapat dilihat perbandingan konsentrasi fruktosa terhadap tekanan dan temperatur.



Gambar 5.8 Perbandingan konsentrasi fruktosa terhadap tekanan (a) dan temperatur (b)

5.5.4 Xilosa

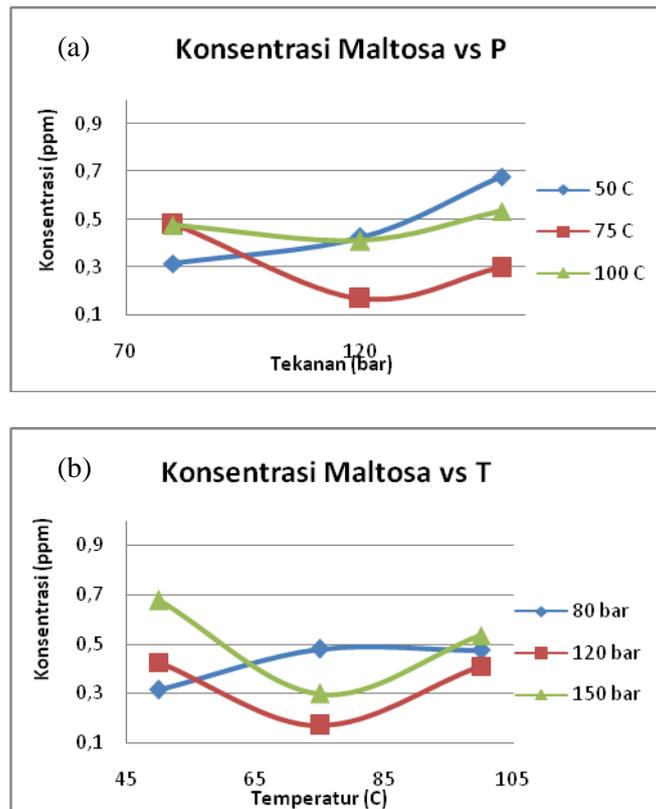
Sama seperti arabinosa, xilosa merupakan monomer dari hemiselulosa. Xilosa hasil hidrolisis memiliki kadar paling tinggi dibandingkan dengan gula lainnya walaupun di beberapa kondisi, tidak terdapat xilosa. Dapat dilihat pada Gambar 5.9, kehadiran xilosa dimulai pada temperatur 75°C dan tekanan 120 bar. hanya saja terjadi penurunan kadar xilosa pada temperatur 100°C dan kadar xilosa tertinggi terjadi pada kondisi temperatur 75°C dan tekanan 150 bar.



Gambar 5.9 Perbandingan konsentrasi xilosa terhadap tekanan (a) dan temperatur (b)

5.5.5 Maltosa

Maltosa merupakan disakarida yang dihasilkan dari hidrolisis pati. Sedangkan hidrolisis yang dilakukan pada material lignoselulosa akan menghasilkan disakarida berupa selobiosa. Maltosa memiliki ikatan α -1,4 glikosidik sedangkan selobiosa memiliki ikatan β -1,4 glikosidik. Pada analisis ini, tidak dilakukan analisis pada larutan standart selobiosa karena tidak terdapatnya bahan. Dengan asumsi peak dari maltosa hampir sama dengan peak dari selobiosa dapat dilihat pada Gambar 5.10 perbandingan konsentrasi disakarida yang dihasilkan terhadap tekanan dan temperatur.



Gambar 5.10 Perbandingan konsentrasi maltosa terhadap tekanan (a) dan temperatur (b)

BAB VI. KESIMPULAN

Pada penelitian ini telah dilakukan serangkaian percobaan dimana pengaruh perlakuan awal dengan menggunakan media superkritik CO₂ terhadap perolehan produk hidrolisis secara enzymatis telah dilakukan. Perlakuan awal dilakukan dengan variasi temperatur pada 50° C, 75° C, dan 100° C serta variasi tekanan pada 80 bar, 120 bar, dan 150 bar. Dari hasil yang diperoleh dapat dilihat bahwa perlakuan awal pada bahan baku tidak merubah struktur kristal dan morfologi bahan baku secara signifikan akan tetapi memberikan perbedaan hasil terhadap kandungan dan komposisi gula yang dihasilkan. Produk hidrolisis dengan kadar glukosa sebesar 10,9 % - 26,7 % berat/berat dapat diperoleh dengan kondisi percobaan tersebut. Dengan demikian maka perlakuan awal dengan menggunakan superkritik CO₂ ini memiliki peranan yang penting dan memiliki potensi untuk dikembangkan lebih lanjut di dalam proses hidrolisis material lignoselulosa khususnya adalah kertas dan kertas bekas.

Di dalam penelitian lanjutan akan dilakukan percobaan dengan kondisi tekanan dan temperatur pada proses perlakuan awal yang lebih tinggi, dan juga akan digunakan enzim dengan tingkat kemurnian yang lebih tinggi (*analytical grade*). Selain itu, proses enzymatis akan dilakukan di dalam media sub/superkritik CO₂ untuk dapat lebih meningkatkan perolehan glukosa dan meningkatkan laju reaksi.

DAFTAR PUSTAKA

- Alinia, R., Zabihi, S., Esmaeilzadeh, F., & Kalajahi, J. F. (2010). Pretreatment of wheat straw by supercritical co₂ and its enzymatic hydrolysis for sugar production. *Biosystems Engineering*, *107*, 61-66.
- Cheng, J. J., & Timilsina, G. R. (2011). Status and barriers of advanced biofuel technologies: A review. *Renewable Energy*, *36*, 3541-3549.
- Corredor, D. Y. (2008). Pretreatment and enzymatic hydrolysis of lignocellulosic biomass. Pdf. Department of Biological and Agricultural Engineering. Manhattan, Kansas, KANSAS STATE UNIVERSITY.
- Foyle, T., Jennings, L., & Mulcahy, P. (2007). Compositional analysis of lignocellulosic materials: Evaluation of methods used for sugar analysis of waste paper and straw. *Bioresource Technology*, *98*, 3026-3036.
- Franceschin, G., Favaron, C., & Bertuco, A. (2010). Waste paper as carbohydrate source for biofuel production an experimental investigation. *Chemical Engineering Transactions*, *20*, 279-284.
- Gírio, F. M., Fonseca, C., Carvalheiro, F., Duarte, L. C., Marques, S., & Bogel-Lukasik, R. (2010). Hemicelluloses for fuel ethanol: A review. *Bioresource Technology*, *101*, 4775-4800.
- Girisuta, B. (2007). Levulinic acid from lignocellulosic biomass. Chemical Engineering Department. Groningen, University of Groningen. **Doctoraal**.
- Girisuta, B., Janssen, L., & Heeres, H. J. (2007). Kinetic study on the acid-catalyzed hydrolysis of cellulose to levulinic acid. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, *46*, 1696-1708.
- Grethlein, H. E. (1984). Pretreatment for enhanced hydrolysis of cellulosic biomass. *Biotechnology Advances*, *2*, 43-62.
- <http://www.eia.gov/>. Retrieved 15 Februari 2013, from <http://www.eia.gov/>.
- KÄdÄr, Z., Szengyel, Z., & RÄczey, K. (2004). Simultaneous saccharification and fermentation (ssf) of industrial wastes for the production of ethanol. *Industrial Crops and Products*, *20*, 103-110.
- Kemmere, M. F. (2005). Supercritical carbon dioxide for sustainable polymer processes. In M. F. Kemmere & T. Meyer (Eds.). *Supercritical carbon dioxide : In polymer reaction engineering* (pp. 1 - 14). Weinheim: Wiley - VCH.
- Marques, S., Alves, L., Roseiro, J. C., & GÄrio, F. M. (2008). Conversion of recycled paper sludge to ethanol by shf and ssf using pichia stipitis. *Biomass and Bioenergy*, *32*, 400-406.
- Muljana, H., Picchioni, F., Heeres, H. J., & Janssen, L. (2010a). Green starch conversions: Studies on starch acetylation in densified co₂. *Carbohydrate Polymers*, *82*, 653-662.
- Muljana, H., Picchioni, F., Heeres, H. J., & Janssen, L. (2010b). Process-product studies on starch acetylation reactions in pressurised carbon dioxide. *Starch-Starke*, *62*, 566-576.
- Muljana, H., Picchioni, F., Heeres, H. J., & Janssen, L. P. B. M. (2010c). Starch modification in supercritical co₂, University of Groningen.
- Muratov, G., & Kim, C. (2002). Enzymatic hydrolysis of cotton fibers in supercritical co₂. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, *7*, 85-88.

Nalawade, S. P., Picchioni, F., & Janssen, L. (2006). Supercritical carbon dioxide as a green solvent for processing polymer melts: Processing aspects and applications. *Progress in Polymer Science*, *31*, 19-43.

Narayanaswamy, N., Faik, A., Goetz, D. J., & Gu, T. (2011). Supercritical carbon dioxide pretreatment of corn stover and switchgrass for lignocellulosic ethanol production. *Bioresource Technology*, *102*, 6995-7000.

Park, C., Ryu, Y., & Kim, C. (2001). Kinetics and rate of enzymatic hydrolysis of cellulose in supercritical carbon dioxide. *Korean Journal of Chemical Engineering*, *18*, 475-478.

Pejo, E. T., Oliva, J. M., & Ballesteros, M. (2008). Realistic approach for full scale bioethanol production from lignocellulose : A review. *Journal of Scientific and Industrial Research*, *67*, 874 - 884.

Santos, A. L. F., Kawase, K. t. Y. F., & Coelho, G. L. V. (2011). Enzymatic saccharification of lignocellulosic materials after treatment with supercritical carbon dioxide. *The Journal of Supercritical Fluids*, *56*, 277-282.

Schacht, C., Zetzl, C., & Brunner, G. (2008). From plant materials to ethanol by means of supercritical fluid technology. *The Journal of Supercritical Fluids*, *46*, 299-321.

Shi, J., Ebrik, M., Yang, B., & Wyman, C. E. (2009). The potential of cellulosic ethanol production from municipal solid waste: A technical and economic evaluation.

Srinivasan, N., & Ju, L.-K. (2010). Pretreatment of guayule biomass using supercritical carbon dioxide-based method. *Bioresource Technology*, *101*, 9785-9791.

Torii, N., Okai, A., Shibuki, K., Aida, T. M., Watanabe, M., Ishihara, M., Tanaka, H., Sato, Y., & Smith Jr, R. L. (2010). Production of d-glucose from pseudo paper sludge with hydrothermal treatment. *Biomass and Bioenergy*, *34*, 844-850.

Ververis, C., Georghiou, K., Danielidis, D., Hatzinikolaou, D. G., Santas, P., Santas, R., & Corleti, V. (2007). Cellulose, hemicelluloses, lignin and ash content of some organic materials and their suitability for use as paper pulp supplements. *Bioresource Technology*, *98*, 296-301.

Wang, M., Li, Z., Fang, X., Wang, L., & Qu, Y. (2012). Cellulolytic enzyme production and enzymatic hydrolysis for second-generation bioethanol production.

Wang, M., Wang, J., & Tan, J. X. (2011). Lignocellulosic bioethanol: Status and prospects. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects*, *33*, 612-619.