

**KONVERSI LIMBAH KERTAS MENJADI ETANOL
MENGUNAKAN KOMBINASI ENZIM SELULASE
DAN SELOBIASE MELALUI SAKARIFIKASI DAN
FERMENTASI SERENTAK**

SKRIPSI

Oleh

YULIS ASWAR HERMAWAN
0404060667



**DEPARTEMEN TEKNIK KIMIA
FAKULTAS TEKNIK UNIVERSITAS INDONESIA
GENAP 2007/2008**

**KONVERSI LIMBAH KERTAS MENJADI ETANOL
MENGUNAKAN KOMBINASI ENZIM SELULASE
DAN SELOBIASE MELALUI SAKARIFIKASI DAN
FERMENTASI SERENTAK**

SKRIPSI

Oleh

YULIS ASWAR HERMAWAN
0404060667



**SKRIPSI INI DIAJUKAN UNTUK MELENGKAPI SEBAGIAN
PERSYARATAN MENJADI SARJANA TEKNIK**

**DEPARTEMEN TEKNIK KIMIA
FAKULTAS TEKNIK UNIVERSITAS INDONESIA
GENAP 2007/2008**



PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul,

**KONVERSI LIMBAH KERTAS MENJADI ETANOL MENGGUNAKAN
KOMBINASI ENZIM SELULASE DAN SELOBIASE MELALUI
SAKARIFIKASI DAN FERMENTASI SERENTAK**

Yang dibuat untuk melengkapi sebagian persyaratan menjadi Sarjana Teknik pada Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia, sejauh yang saya ketahui bukan merupakan tiruan atau duplikasi dari skripsi yang sudah dipublikasikan dan atau pernah dipakai untuk mendapatkan gelar kesarjanaan di lingkungan Universitas Indonesia maupun di Perguruan Tinggi atau Instansi manapun, kecuali bagian yang sumber informasinya dicantumkan sebagaimana mestinya.

Depok, 20 Juni 2008

Yulis Aswar Hermawan
0404060667



PENGESAHAN

Skripsi dengan judul,

**KONVERSI LIMBAH KERTAS MENJADI ETANOL MENGGUNAKAN
KOMBINASI ENZIM SELULASE DAN SELOBIASE MELALUI
SAKARIFIKASI DAN FERMENTASI SERENTAK**

dibuat untuk melengkapi sebagian persyaratan menjadi Sarjana Teknik pada Program Studi Teknik Kimia Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia. Skripsi ini akan diujikan pada sidang ujian skripsi pada tanggal 3 Juli 2008 dan dinyatakan memenuhi syarat/sah sebagai skripsi pada Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia.

Depok, 20 Juni 2008
Dosen Pembimbing I,

Dosen Pembimbing II,

Dr. Ing. Misri Gozan, M.Tech
NIP. 132 091 210

Ir. M. Samsuri MT
NIP. 860 000 003



UCAPAN TERIMA KASIH

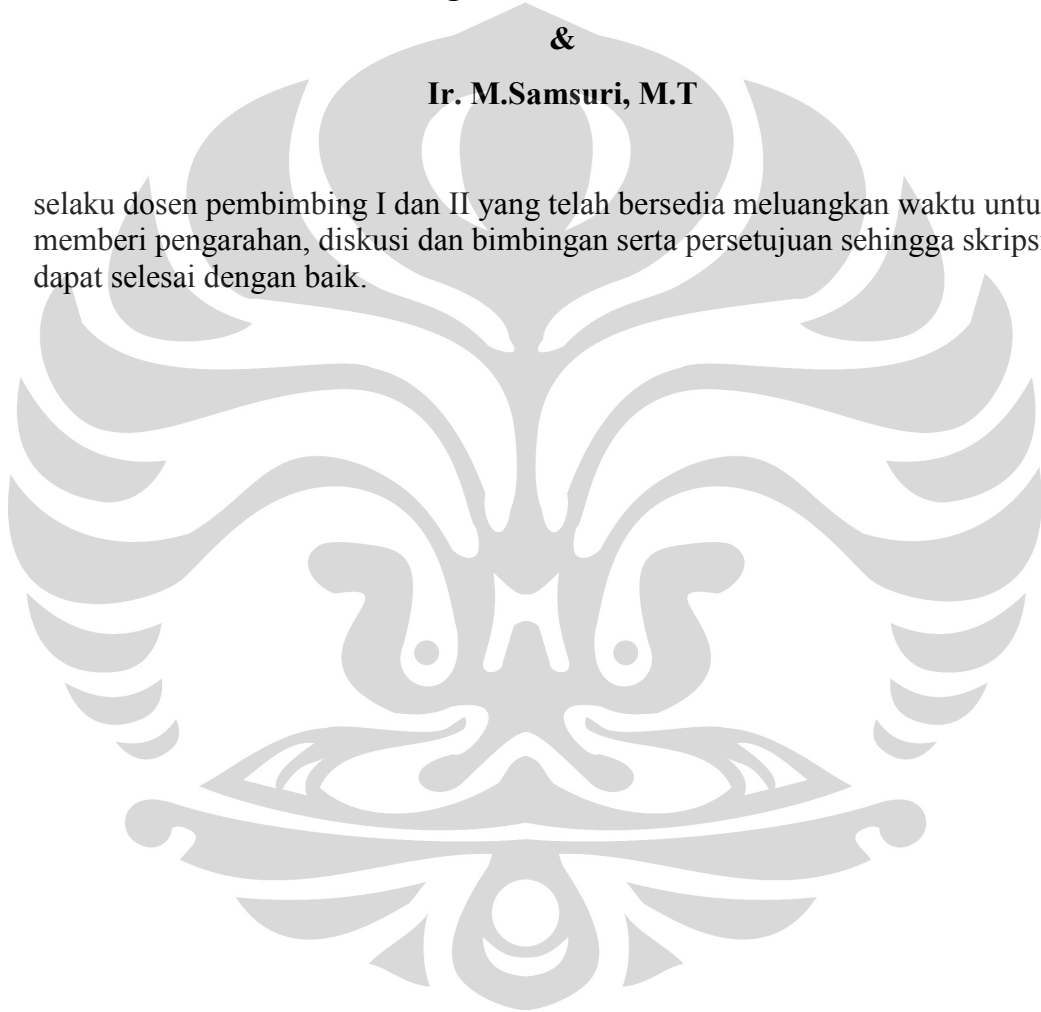
Penulis mengucapkan terima kasih kepada :

Dr. Ing Misri Gozan, M.Tech

&

Ir. M.Samsuri, M.T

selaku dosen pembimbing I dan II yang telah bersedia meluangkan waktu untuk memberi pengarahan, diskusi dan bimbingan serta persetujuan sehingga skripsi ini dapat selesai dengan baik.





ABSTRAK

Yulis Aswar Hermawan
0404060667
Departemen Teknik Kimia

Dosen Pembimbing :
Dr. Ing. Misri Gozan, M.Tech
Ir.M.Samsuri.M.T

KONVERSI LIMBAH KERTAS MENJADI ETANOL MENGGUNAKAN KOMBINASI ENZIM SELULASE DAN SELOBIASE MELALUI SAKARIFIKASI DAN FERMENTASI SERENTAK

Penggunaan bahan bakar fosil oleh manusia menimbulkan ancaman serius, yaitu jaminan ketersediaan bahan bakar fosil untuk beberapa dekade mendatang dan polusi akibat emisi pembakaran bahan bakar fosil ke lingkungan. Kesadaran terhadap ancaman tersebut telah mengintensifkan berbagai riset yang bertujuan menghasilkan sumber-sumber energi alternatif yang berkelanjutan dan lebih ramah lingkungan. Salah satu energi alternatif yang relatif murah ditinjau aspek produksinya dan relatif ramah lingkungan adalah pengembangan bioetanol dari limbah-limbah perkotaan yang mengandung banyak lignoselulosa seperti kertas (limbah kertas). Kertas mengandung sekitar 85% selulosa, 8% hemiselulosa, 5% lignin dan sisanya berupa senyawa abu.

Pada penelitian ini telah dilakukan percobaan untuk membuat etanol dari limbah kertas dengan proses Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak (SSF). Kombinasi enzim selulase + selobiase dan *yeast Saccharomyces cerevisiae* digunakan untuk hidrolisis dan fermentasi dalam proses SSF tersebut. Variasi kertas yang digunakan adalah koran, HVS tinta, HVS kosong dengan masing-masing pH 5. sedangkan variasi enzim yang digunakan adalah 0,2 gr ;0,3 gr ;0,5 gr. Proses SSF dilakukan dengan waktu inkubasi selama 6,12, 24, 36, 48, 72, 96 jam.

Perlakuan dengan enzim 0,2 gr , 0,3 gr , 0,5 gr yang masing – masing pH 5 menghasilkan konsentrasi etanol tertinggi berturut-turut 831,6 ppm pada HVS kosong, 831,56 ppm pada HVS kosong, 1531,33 ppm pada HVS tinta. Kandungan etanol yang terbaik dihasilkan oleh HVS tinta pada 0,5 gr enzim dengan kadarnya sebesar 5,17 %

**Kata kunci : Kertas, Selulosa, Selobiosa, Selulase, Selobiase, Etanol,
Sacharomyces cerevisiae, SSF**



ABSTRACT

Yulis Aswar Hermawan
0404060667

Department of Chemical Engineering

Counsellor :

Dr. Ing. Misri Gozan, M.Tech

Ir.M.Samsuri.M.T

THE CONVERSION OF WASTE PAPER TO ETHANOL USING THE COMBINATION CELLULOSE AND CELLUBIOSE ENZYM THROUGH THE SIMULTANEOUS PROCESS OF SACCHARIFICATION AND FERMENTATION

The use of fossil fuel by human can cause seriously threat likes available of fossil fuel for further decade and pollution to the environment by emission from fossil fuel. Consider of that threats, caused intensify many researches to produce sustainability alternative energy resources and more environments friendly. One of the sustainable alternative energy is relatively cheap production and environment friendly was development bio ethanol from waste residue. It does contain many lignocelluloses like paper (waste paper residue). Paper contains approximately 85% cellulose, 8% hemicelluloses, 5% lignin and the other such as ash compound.

This research deals with ethanol production from sugar cane paper using Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF) process. Cellulase and Cellobiose combination enzyme and *Saccharomyces cerevisiae* was used to hydrolyse and fermentation in SSF process. Variation of waste paper was used such as newspaper, ink HVS, and blank HVS. Which each other used pH 5, with it does used enzyme like 0,2 gr ; 0,3 gr ; 0,5 gr . The SSF process was done with 24, 48, 72, and 96 hour's incubation time for fermentation.

As a treatment enzyme 0,2 gr ; 0,3 gr ; 0,5 gr which its for pH 5 can be produce merely following is 831,6 ppm blank HVS, 831,56 ppm blank HVS , 1531,33 ppm pada ink HVS. The best result from them is ink HVS for 0,5 enzym, with percentage is 5,17%

**Key Word : Waste Paper, cellulosa, cellobiosa, Cellulase, Cellobiase, Ethanol,
Sacharomyces cerevisiae, SSF**



DAFTAR ISI

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	i
PENGESAHAN.....	ii
UCAPAN TERIMA KASIH.....	iii
ABSTRAK.....	iv
ABSTRACT.....	v
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 LATAR BELAKANG	1
I.2 RUMUSAN MASALAH	5
I.3 TUJUAN PENELITIAN	5
I.4 BATASAN MASALAH	5
I.5 SISTEMATIKA PENULISAN	6
BAB II	7
TINJAUAN PUSTAKA	7
II.1 KERTAS	7
II.2 REAKSI HIDROLISIS	9
II.3 FERMENTASI	9
II.4 SACCHAROMYCES CEREVISIAE	10
II.5 ENZIM	12
II.5.1 Enzim Selobiase	17
II.5.2 Enzim Selulase	18
II.6 Senyawa yang terkandung dalam lignoselulosie material	19
II.6.1 Selulosa	20
II.6.2 Lignin	21
II.6.3 Hemiselulosa	23
II.6.4 Etanol.....	25
II.7 PROSES SAKARIFIKASI DAN FERMENTASI SERENTAK (SSF).....	26
BAB III	28
METODE PENELITIAN.....	28
III.1 SKEMA PENELITIAN	28
III.2 BAHAN DAN ALAT	29
III.2.1 Bahan.....	29
III.2.2 Peralatan.....	29
III.3 PROSEDUR PENELITIAN DAN ANALISIS.....	30
III.3.1 Prosedur penelitian.....	30
III.3.2 Variabel Pengamatan	31
III.3.3 Analisis.....	31



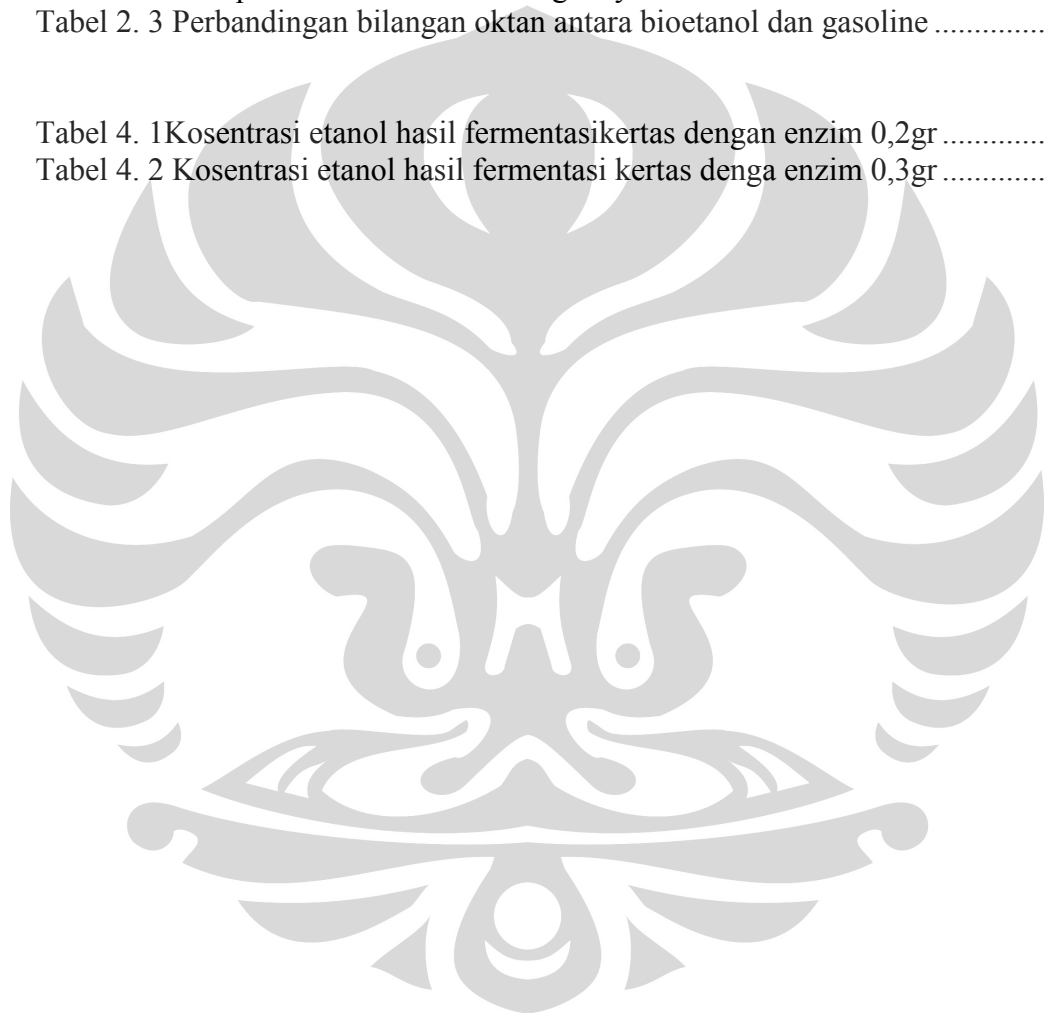
BAB IV	33
HASIL DAN PEMBAHASAN.....	33
IV.1 Pembahasan umum	33
IV.2 Hasil Penelitian Fermentasi Kertas Menjadi Etanol	35
IV.3 Pembahasan dan analisis hasil penelitian	35
IV.3.1 Pengaruh Kinerja Enzim yang Opimum dalam Mengkonversi menjadi Etanol	36
IV.3.2 Pengaruh Enzim selulase dan Selobiase terhadap Konversi Limbah Kertas Menjadi Etanol.....	41
BAB V.....	43
KESIMPULAN DAN SARAN.....	43
V. I Kesimpulan	43
IV.2 Saran	44
DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN.....	48
LAMPIRAN 1	48
LAMPIRAN 2	50





DAFTAR TABEL

Tabel 1.1. Cakupan Pelayan Perlimbahan di Indonesia tahun 2001	3
Tabel 1.2. Komposisi Limbah di Beberapa Kota Besar	4
Tabel 2.1. Klasifikasi <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	11
Tabel 2.2. Komposisi kertas dan kandungannya	20
Tabel 2.3. Perbandingan bilangan oktan antara bioetanol dan gasoline	26
Tabel 4.1. Kosentrasi etanol hasil fermentasi kertas dengan enzim 0,2gr	35
Tabel 4.2. Kosentrasi etanol hasil fermentasi kertas dengan enzim 0,3gr	35





DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Hidrolisis Selobiase.....	9
Gambar 2. 2 Deskripsi <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (bulat besar), disekitarnya terdapat <i>Escherichia coli</i> (batang kecil).....	11
Gambar 2. 3 Mekanisme reaksi enzim.....	13
Gambar 2. 4 Mekanisme kerja enzim.....	14
Gambar 2. 5 Diagram energi reaksi katalis.....	15
Gambar 2. 6 Mekanisme reaksi enzim dengan <i>competitive inhibitor</i>	16
Gambar 2. 7 Mekanisme reaksi enzim dengan <i>non-competitive inhibitor</i>	17
Gambar 2. 8 Aksi enzim selobiase.....	18
Gambar 2. 9 Mekanisme kerja selobiase.....	18
Gambar 2. 10 Jenis dan aksi enzim selulase[231].....	19
Gambar 2. 11 Struktur Selobiosa (Brunow <i>et al.</i> ,1995).....	20
Gambar 2. 12 Struktur selulosa.....	21
Gambar 2. 13 Struktur lignin (Brunow <i>et al.</i> ,2001).....	23
Gambar 2. 14Struktur hemiselulosa(Brunow et al;1995).....	24
Gambar 2. 15 Struktur monomer-monomer dari hemiselulosa.....	25
Gambar 2. 16 Skema reaksi dalam proses Simultaneous Sacharification and Fermentation(SSF).....	27
Gambar 3. 1 Diagram alir penelitian.....	28
Gambar 3. 2 Perkiraan grafik larutan standar untuk penentuan konsentrasi etanol.....	32
Gambar 4. 1Kurva hubungan waktu fermentasi dengan kosentrasi etanol.....	36
Gambar 4. 2 Kurva hubungan waktu fermentasi dengan kosentrasi etanol.....	37
Gambar 4. 3 Kurva hubungan waktu fermentasi dengan kosentrasi etanol.....	38
Gambar 4. 4 Kurva hubungan waktu fermentasi dengan kosentrasi etanol pada variasi jenis sampel.....	39
Gambar 4. 5 Kurva hubungan waktu fermentasi dengan kosentrasi etanol pada variasi jenis sampel.....	39
Gambar 4. 6 Kurva hubungan waktu fermentasi dengan kosentrasi etanol pada veariansi jenis sampel.....	40





BAB I

PENDAHULUAN

I.1 LATAR BELAKANG

Kontinuitas penggunaan bahan bakar fosil (*fossil fuel*) memunculkan dua ancaman serius, yang pertama adalah faktor ekonomi, berupa jaminan ketersediaan bahan bakar fosil untuk beberapa dekade mendatang, masalah suplai, harga, dan fluktuasinya. Sedangkan yang kedua adalah polusi akibat emisi pembakaran bahan bakar fosil ke lingkungan. Polusi yang ditimbulkan oleh pembakaran bahan bakar fosil memiliki dampak langsung maupun tidak langsung kepada kesehatan manusia. Polusi langsung dapat berupa gas-gas berbahaya, seperti CO, NO_x, dan UHC (*unburn hydrocarbon*), juga unsur metalik seperti timbal (Pb). Sedangkan polusi tidak langsung mayoritas berupa ledakan jumlah molekul CO₂ yang berdampak pada pemanasan global (*Global Warming Potential*). Kesadaran terhadap ancaman serius tersebut telah mengintensifkan berbagai riset yang bertujuan menghasilkan sumber-sumber energi (*energy resources*) yang lebih terjamin keberlanjutannya (*sustainable*) dan lebih ramah lingkungan (Berita Iptek, 2005).

Beberapa penelitian telah banyak dilakukan dan menghasilkan beberapa energi alternatif sebagai pengganti minyak bumi, diantaranya pengembangan batu bara cair, pengembangan biodisel dari produk turunan kelapa sawit, jarak pagar atau pengembangan bioetanol. Pengembangan bioenergi seperti bioetanol dari biomassa sebagai sumber bahan baku yang dapat diperbarui merupakan satu alternatif yang memiliki nilai positif dari aspek sosial dan lingkungan (Lynd *et al.*, 1991; Wyman, 1994).

Etanol yang mempunyai rumus kimia C₂H₅OH adalah zat organik dalam kelompok alkanol yang merupakan senyawa turunan air dan banyak digunakan untuk berbagai keperluan. Pada umumnya etanol diproduksi dengan cara fermentasi dengan bantuan mikroorganisme. Oleh karena itu sering disebut sebagai bioetanol. Selama ini, sebagian besar produk etanol digunakan untuk memenuhi kebutuhan dalam negeri antara lain dipergunakan sebagai bahan baku



atau bahan pembantu berbagai industri, seperti pengolahan rumput laut, industri minuman beralkohol, industri cat, industri farmasi, industri kosmetika, dan lain-lain. Namun ada juga produk etanol yang dihasilkan oleh industri dalam negeri yang diekspor ke negara lain seperti Jepang dan Filipina. Prospek pemanfaatan etanol ke depan diperkirakan akan lebih banyak diarahkan pada bahan bakar alternatif pengganti bahan bakar minyak (BBM). Hal ini terkait dengan semakin menipisnya cadangan bahan bakar minyak dunia termasuk Indonesia dan meningkatnya konsumsi bahan bakar.

Salah satu energi alternatif yang relatif murah ditinjau aspek produksinya dan relatif ramah lingkungan adalah pengembangan etanol yang sumbernya adalah dari limbah – limbah kertas yang sudah tidak terpakai lagi.

Sebagai contoh, masalah limbah yang tak pernah selesai di Jakarta. Ibu Kota dengan penduduk yang kian padat ini tentu diikuti pula dengan limbah yang kian menggunung. Kini saja penduduk DKI tercatat sebanyak 8,4 juta jiwa. Jumlah itu membengkak di saat aktivitas kerja mengental pada pagi hingga sore hari. Saat ini, produksi limbah Jakarta mencapai 6.925 ton per hari. Tahun 2005, produksi limbah diprediksi meningkat menjadi 10.220 ton per hari. Solusinya adalah limbah tersebut tidak cukup dibuang ditampung lalu dibakar. Limbah harusnya juga bisa dimanfaatkan lagi, istilah populernya 3R, yaitu *reduce*, *reuse* dan *recycle*. Konsep semacam ini bisa dimulai dari kegiatan paling sederhana, yaitu pemilahan limbah rumah tangga. Memisahkan mana limbah yang bisa didaur ulang (organik) dan yang tidak (non-organik) merupakan tahap awal dari pengelolaan limbah yang bijak.

Tabel I.1 menunjukkan jumlah limbah dari masing – masing daerah, dimana dari data tersebut tertera bahwa jumlah limbah di Jawa lebih baik dibandingkan dengan jumlah di daerah Sumatera.



Tabel 1 1. Cakupan Pelayanan Perlimbahan di Indonesia tahun 2001

Pulau	Jumlah Kota	Cakupan (%)
Sumatera	100	46
Jawa-Bali	148	28,4
Kalimantan	45	34,4
Sulawesi	62	36,5
Papua	10	67,4

Sumber: Arianto Wibowo, "Penangan Limbah Perkotaan Terpadu"

Dengan demikian munculah WTE (*waste-to-energy*) dimana WTE tersebut memberi pengaruh yang baik dalam mengatasi masalah ketersediaan energi. Tujuan dari kebijakan ini adalah menghipnotis limbah yang tidak terkelola tadi dirubah menjadi energi yang berguna.

Sebagai contoh, *inceneration plant* di Fukuoka, Jepang, bangunannya seperti museum. Tempat itu juga menjadi sentra ekonomi. Selain mengolah limbah dalam waktu kurang dari 24 jam, tempat tersebut, juga menjadi sarana pendidikan untuk anak sekolah yang ingin belajar tentang pengelolaan limbah dan kebersihan. Produk-produk hasil daur ulang juga diperjualbelikan dengan harga mahal. Pengolahan limbah secara benar, seperti di Fukuoka, tidak akan menimbulkan pencemaran. Tempat pengolahan limbah juga dapat dilengkapi sabuk hijau (*green belt*) di sekelilingnya yang berfungsi sebagai taman kota. Pengolahan limbah tersebut dapat dilakukan dengan beberapa teknologi. Teknologi *refused derived fuel* (RDF) mengolah limbah dengan jalan dipanaskan hingga 80 derajat celcius. Limbah itu kemudian dipilah, materi yang tidak dapat dimanfaatkan dihancurkan dan dibentuk briket (bahan bakar power plant). Teknologi lainnya adalah penggunaan incinerator. Dengan teknologi ini, semua limbah dibakar, energinya dimanfaatkan untuk listrik sedangkan arang dan abu sisa pembakaran digunakan sebagai bahan bangunan dan lain-lain.

WTE menjadikan limbah tidak lagi sebagai komoditas yang tidak berguna tapi justru sumber energi yang terbarukan. Sebagai perbandingan satu ton limbah dapat membangkitkan listrik sebesar 3,5 MW yang setara dengan 300 kg bahan bakar minyak.



Skripsi ini menjelaskan tentang proses pengolahan limbah kertas menjadi etanol.. Nilai oktan etanol mencapai sekitar 129 (bensin biasa 91 atau 92). Ini tentu bisa mengakomodasi kebutuhan mesin berasio kompresi tinggi. Untuk mengaplikasi Be pada mobil yang tadinya pakai bensin biasa, perlu penyesuaian jarum skep karburator lebih besar (30-40 persen). Selain itu, mesin mobil yang pakai etanol 30-100 persen, untuk starter butuh suhu yang sesuai (di bawah 13° C) dan ini tentu untuk menyesuaikan ketentuan standar emisi dari EPA.

Merujuk pada Tabel I.2, jumlah limbah kertas yang cukup besar membuat potensi produksi etanol juga besar. Hal ini diharapkan dapat membantu mengatasi solusi masalah limbah dan ketersediaan energi.

Tabel 1 2. Komposisi Limbah di Beberapa Kota Besar

	Jakarta	Makassar	Surabaya	Medan	Bandung	Rata-rata(%)
	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	
Makanan	66,41	85,6	65,6	16,2	63,55	59.47
Daun-daun	2.45	0.15	-	32	-	6.92
Tekstil	0,55	0	1,0	0	1,7	0.81
Kaca	1,6	0,3	1,0	2,3	1,45	1.33
Logam	1,12	2,3	1,0	3,5	0,95	1.77
Plastik& Karet	11,9	7,1	9,0	15,8	9,76	10.71
Kertas	10,11	4,5	13,3	17,5	10,42	11.17
Karton	3,12	0	4,9	0	0	1.68
Debu	2.74	0.05	3.4	12.7	12.16	6.21
Total organic	82.09	90.25	83.8	65.7	73.98	79.16
Total non organic	17.91	9.75	16.2	34.3	26.02	20.84

Sumber: www.tempointeraktif.com



I.2 RUMUSAN MASALAH

Meskipun dari kajian literatur di atas didapatkan bahwa limbah atau limbah kertas sangat potensial, namun belum banyak ditemukan kajian konversi limbah kertas menjadi etanol. Adapun juga enzim yang digunakan dalam penelitian ini adalah menggunakan kombinasi enzim selulase dan selobiase. Di samping itu, metode SSF yang selama ini dikembangkan di laboratorium Teknologi Bioproses belum pernah diujikan pada limbah kertas untuk menjadi bioetanol.

I.3 TUJUAN PENELITIAN

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk:

- Membandingkan beberapa jenis kertas untuk menghasilkan etanol.
- Menganalisa etanol yang dihasilkan dari limbah kertas dengan hidrolisis enzim selulase dan selobiase dengan memakai ragi *S.cerevisiae*.
- Mengetahui waktu inkubasi yang optimum dalam mengkonversi limbah kertas menjadi etanol.
- Mengetahui aktivitas enzim yang optimum.

I.4 BATASAN MASALAH

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah :

- Pada penelitian ini jenis limbah kertas yang diuji adalah hanya limbah kertas HVS tinta, HVS kosong dan kertas koran.
- Mengingat dugaan bahwa limbah kertas sangat kaya akan selulosa, ditambah dengan proses hidrolisis yang kurang sempurna menghasilkan selubiosa maka kombinasi enzim yang digunakan pada tahap penelitian ini selulase dan selobiase. Pengkajian manfaat enzim lain dalam konversi limbah kertas menjadi bioetanol tidak dilakukan dalam penelitian ini.
- Beberapa informasi dari hasil penelitian sebelumnya di laboratorium Teknologi Bioproses seperti pH optimum dan metode persiapan medium digunakan dalam penelitian ini tanpa menguji kesesuaiannya.



I.5 SISTEMATIKA PENULISAN

Sistematika penulisan skripsi ini adalah sebagai berikut:

BAB I PENDAHULUAN

Berisi latar belakang masalah, rumusan masalah yang dikaji, tujuan penelitian, batasan masalah, serta sistematika penulisan.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

Memberikan informasi mengenai hal – hal yang berkaitan dengan penelitian ini, seperti limbah kertas, etanol, enzim selulase dan selobiasae , ragi *S.cerevisiae*, proses sakarifikasi dan fermentasi serentak (SSF) serta perlakuan awal sebelum SSF.

BAB III METODOLOGI PENELITIAN.

Menjelaskan tahap – tahap penelitian yang dilakukan dari awal hingga akhir.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

Memaparkan hasil yang diperoleh selama penelitian serta pembahasan hasil yang diperoleh selama penelitian.

BAB V KESIMPULAN

Kesimpulan dari semua penelitian ini, berupa kondisi optimum dan metode yang digunakan untuk memperoleh *yield* tertinggi dalam menghasilkan etanol.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 KERTAS

Dalam hakekatnya manusia tidak bisa lepas dari kertas, ini dikarenakan bahwa kertas merupakan produk secara nyata sering kita pergunakan dalam kehidupan sehari – hari. Secara sederhana proses pembuatan kertas dimulai dengan menguliti bahan baku kertas, yaitu kayu gelondongan dengan menggunakan mesin debarker. Kemudian kayu tersebut dipotong-potong ke dalam ukuran yang kecil (kurang lebih ¼ inchi) di dalam *chipper*. Potongan-potongan kayu tersebut lalu dimasak bersama-sama sodium sulfide, sodium carbonate, dan sodium hidroksida di dalam *digester* untuk mendapatkan pulp atau bubur kertas.

Pulp kemudian dibersihkan dan diputihkan di dalam *bleacher* dan selanjutnya diaduk dengan bahan-bahan aditif seperti bahan pencelup, lem, resin, dan kanji di dalam *beater* untuk menghasilkan *furnish*. Setelah itu *furnish* masuk ke dalam *finishing roll* melalui *Fourdrinier machine* untuk diproses menjadi *continuous sheet of paper*.

Salah satu alternatif untuk mengatasi kelangkaan dan semakin mahalnya bahan baku kertas dari pulp asli (*virgin pulp*), yaitu dengan pemakaian kembali kertas bekas sebagai bahan baku kertas. Untuk memperoleh serat dari kertas bekas biasanya dilakukan melalui proses *deinking* yaitu proses penghilangan tinta dari serat. Proses penghilangan tinta secara konvensional dengan menggunakan bahan kimia akan berdampak terhadap lingkungan karena akan menghasilkan limbah. Dengan adanya kemajuan dibidang bioteknologi, memberikan alternatif baru dalam pengembangan industri pulp dan kertas. Enzim telah digunakan untuk *biopulping*, *biobleaching*, konversi *starch*, *waste water treatment*, *pitch* kontrol, dan banyak lainnya. Penggunaan enzim dalam proses penghilangan tinta menunjukkan kemampuan pengurangan penggunaan bahan kimia dan pengolahan air limbah. Keuntungan pemakaian enzim antara lain *drainage stock* lebih



cepat, mempercepat waktu penggilingan, derajat putih yang dihasilkan mendekati/melebihi derajat putih yang diperoleh dengan proses konvensional.

Kertas bekas dapat dikumpulkan dari berbagai sumber antara lain perkantoran, rumah tangga, pembuangan limbah, dan lain-lain. Kertas bekas merupakan salah satu sumber serat yang potensial dan mempunyai prospek ekonomis tinggi. Kertas bekas yang telah mengalami pengolahan merupakan bahan baku serat yang dikenal dengan istilah serat sekunder (*secondary fiber*). Penggunaan serat sekunder berkembang seiring dengan perkembangan teknologi, faktor ekonomis, dan keterbatasan sumber daya alam dalam penyediaan serat primer. Pemakaian serat dari kertas bekas atau serat sekunder untuk pembuatan lembaran kertas mempunyai beberapa keuntungan antara lain meningkatkan stabilitas dimensi, opasitas dan formasi yang lebih baik serta kecenderungan *curl* yang rendah. Sedangkan kerugiannya antara lain derajat putih dan kekuatan relatif lebih rendah, mengandung kontaminan yang beragam dan derajat giling yang tidak seragam, serta seratnya relatif pendek.

Kertas koran merupakan salah satu jenis kertas yang banyak digunakan sebagai media massa cetak yang diterbitkan setiap hari dengan jumlah yang besar dan setelah dibaca biasanya langsung dibuang. Kertas koran mengandung sekitar 80-85 % pulp mekanis dan 15-20 % pulp kimia yang berfungsi untuk meningkatkan kekuatan kertas. Kertas koran dapat dibuat dari berbagai bahan baku diantaranya kertas koran bekas (ONP), campuran kertas bekas (MWP), CPO, campuran pulp dan kertas bekas. Pada kertas koran bekas, kontaminan utamanya adalah tinta cetak yang umumnya terdiri dari pigmen atau butiran tinta yang berperan sebagai pembawa warna berbentuk partikel padatan kecil, *vehicle* atau zat pembawa pigmen berfungsi mengalirkan pigmen tinta pada kertas selama pencetakan sehingga dapat berikatan dengan serat. *Vehicle* umumnya berupa resin, minyak nabati, dan larutan *volatile*.

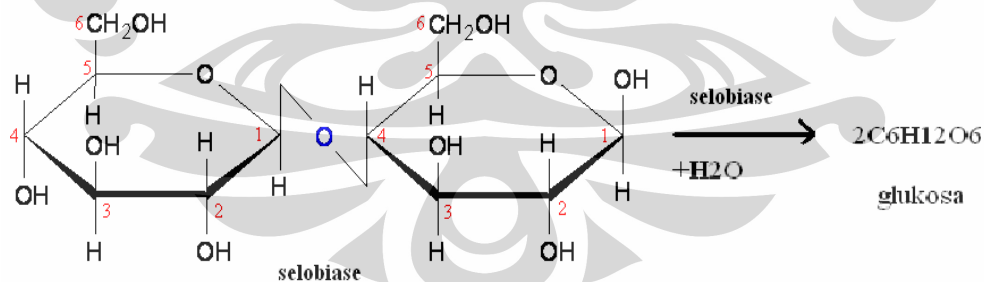
Proses cetak pada kertas koran umumnya dilakukan secara *offset* atau *letterpress*. Sistem pencetakan pada kertas memakai tinta dengan zat pembawa pigmen tidak mengering tetapi hanya diadsorpsikan pada serat dan dicetak pada kertas yang tidak disalut (*uncoated*). Zat pembawa pigmen tersebut dapat disabunkan dengan alkali untuk melepaskan pigmen sehingga partikel karbon pecah menjadi partikel-partikel halus yang



dapat dihilangkan secara efisien dengan proses *deinking* konvensional yakni cara *flotasi* atau *washing*. Dengan perkembangan dalam bidang bioteknologi, *biodeinking* semakin diminati dengan penggunaan enzim selulase dan hemiselulase untuk menghilangkan kontaminan tinta dari kertas bekas karena lebih ramah lingkungan dan tidak banyak limbah dari penggunaan bahan kimia.

II.2 REAKSI HIDROLISIS

Hidrolisis adalah suatu reaksi kimia dimana air bereaksi dengan substansi/zat lain untuk membentuk dua atau lebih senyawa baru. Reaksi ini melibatkan ionisasi air seperti halnya pemisahan komponen hidrolisis (hawley's Condensed Chemical Dictionary 12th Ed, 1993). Hidrolisis juga dikenal sebagai reaksi kation atau anion atau keduanya dengan air, dimana terjadi perubahan pada derajat keasaman/pH air. Reaksi hidrolisis merupakan kebalikan dari reaksi netralisasi. Hidrolisis merupakan proses transformasi kimia dimana suatu molekul, RX organik bereaksi dengan air, membentuk suatu ikatan karbon-oksigen baru dan memutus ikatan karbon-X pada molekul dasarnya, menghasilkan senyawa H^+X^- . Reaksi bersihnya merupakan tempat antara gugus X dengan gugus hidroksil (OH^-). Secara teoritis reaksi hidrolisis hemiselulosa khususnya selobiase dapat ditulis sebagai berikut:



Gambar 2. 1 Hidrolisis Selobiase

II.3 FERMENTASI

Fermentasi berasal dari kata *ferfere* yang artinya mendidihkan. Pada zaman dahulu para ahli berpendapat bahwa terbentuknya gas dari suatu cairan dianalogikan sebagai air mendidih, oleh karena itu proses tersebut dinamakan fermentasi. Reaksi pembentukan etanol terjadi karena adanya aktivitas ragi yang ada pada substrat. Ragi



akan menggunakan materi yang mengandung karbon seperti glukosa untuk proses respirasi. Proses ini menghasilkan energi bagi ragi tersebut.

Selanjutnya akan dijelaskan fase pertumbuhan dari Ragi :

1. Fase lambat (lag phase), fase ini bergantung pada perubahan lingkungan terutama dan perubahan kandungan nutrisi. Selama fase ini, massa sel-sel meningkat namun tidak terjadi pembelahan sel.

2. Fase cepat (log phase), pada fase ini terjadi pembelahan sel dan populasi berlipat ganda setiap waktu generasi. Sel akan tumbuh dan membelah diri secara eksponensial hingga jumlah maksimum. Jumlah sel yang terbentuk pada fase ini dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu :

- Kandungan nutrisi
- Temperatur
- Kadar oksigen
- Cahaya
- Keberadaan mikroorganisme lain
- Fase stasioner

3. Fase stasioner

Pada fase ini laju pembelahan sel sebanding dengan laju kematian sel, sehingga jumlah sel hidup tetap konstan. Fase ini terjadi akibat pengurangan sumber-sumber nutrisi atau penumpukan zat racun sebagai akhir metabolisme.

4. Fase kematian

Pada fase ini tidak ada lagi pembelahan sel dan sel-sel akan mati jika tidak dipindahkan ke media segar lainnya. Fase kematian juga terjadi secara eksponensial.

II.4 SACCHAROMYCES CEREVISIAE

Saccharomyces cerevisiae adalah salah satu spesies ragi (yeast) yang mempunyai peranan sangat penting dalam industri roti sebagai bahan pengembang dan sebagai fermentor dalam industri bir (minuman beralkohol). *S. cerevisiae* dapat berupa komponen lapisan putih tipis pada kulit beberapa buah-buahan yang berwarna gelap seperti buah zaitun (plum), letaknya diantara lapisan lilin pada kulit terluar buah tersebut.



Secara etimologis, “*saccharomyces*” berasal dan bahasa Yunani yang artinya “membentuk gula” sedangkan kata “*cerevisiae*” berasal dan bahasa Latin yang berarti “pada beer”. *S. cerevisiae* secara intensif paling sering diteliti sebagai organisme eukariotik dalam biologi sel dan molekular sedangkan sebagai model prokariotik adalah bakteri *Escherichia coli*. Ragi ini sering dipelajari siklus hidup selnya karena kulturnya yang mudah. Selnya berbentuk bulat seperti telur dengan diameter 5-10 mikrometer. Deskripsi *S. cerevisiae* dapat kita lihat pada Gambar 2.2. Reproduksiya adalah suatu proses yang dikenal dengan budding (bertunas).



Gambar 2. 2 Deskripsi *Saccharomyces cerevisiae* (bulat besar), disekitarnya terdapat *Escherichia coli*(batang kecil)

Pada Tabel 2. 1 ditunjukkan tentang klasifikasi *Saccharomyces cerevisiae*. Dan tabel tersebut kita dapat mengetahui bahwa kingdom yeast ini adalah fungi (jamur).

Tabel 2. 1 Klasifikasi *Saccharomyces cerevisiae*

Kingdom	Fungi
Filum :	<i>Ascomycota</i>
Subfilum :	<i>Saccharomycotina</i>
Kelas :	<i>Saccharomycetes</i>
Orde :	<i>Saccharomycetales</i>
Famili :	<i>Saccharomyetaceae</i>
Genus :	<i>Saccharomyces</i>
Spesies :	<i>S.cerevisiae</i>



Ada 2 bentuk sel *S. cerevisiae* yang bisa hidup dan tumbuh, yakni sebagai berikut:

- Sel haploid adalah sel yang mengalami siklus hidup mitosis dan pertumbuhan yang sederhana. Pada kondisi tekanan tinggi (high stress) umumnya sel ini akan mati.
- Sel diploid yaitu sel yang mengalami siklus hidup mitosis dan tumbuh tetapi di bawah kondisi stress bisa mengalami sporulasi memasuki siklus meiosis dan memproduksi spora haploid. Selanjutnya akan mengalami konjugasi membentuk kembali diploid.

Nama lain dan *S. cerevisiae* adalah sebagai berikut:

- *Brewer's yeast*
- *Top-fermenting yeast*. Disebut seperti itu karena selama proses fermentasi yeast ini naik ke bagian atas (top) vessel.
- *Ale yeast* adalah *top-fermenting yeast* yang digunakan dalam pembuatan beer.
- *Budding yeast*

S. cerevisiae adalah mikroorganisme yang umumnya paling sering digunakan dalam proses fermentasi. Kegunaannya diantaranya yakni untuk fermentasi wine, bir, roti dan produksi etanol.

II.5 ENZIM

Enzim merupakan suatu protein yang dapat mengkatalis dalam reaksi biokimia dan setiap enzim mempunyai kemampuan spesifik untuk mengubah molekul tertentu, enzim merupakan larutan koloid atau katalis organik yang dihasilkan mikroorganisme. Sebagai katalisator, enzim hanya meningkatkan kecepatan reaksi dan sangat spesifik untuk reaksi yang dikatalisanya. Enzim memiliki ukuran yang sangat besar dibanding gugus fungsional targetnya.

Enzim pertama kali ditemukan oleh Hans dan Eduard Buchner pada tahun 1897 ketika mereka sedang melakukan penelitian mengenai pembuatan ekstrak sel ragi untuk tujuan medis. Saat ini lebih dari 5000 enzim sudah dikenal. Penamaan enzim umumnya menggunakan tambahan akhiran *ase* pada nama substratnya. Seperti selulase yang menjadi katalis hidrolisis selulosa. Namun ada juga yang tidak seperti tripsin dan renin.

Seperti protein lainnya, struktur enzim bisa berupa :



- Suatu protein monomer yang mengandung hanya satu rantai polipeptida yang terdiri atas seratus atau lebih asam amino.
- Protein oligomer yang mengandung berbagai rantai polipeptida yang berbeda atau identik. Rantai-rantai polipeptida tersebut bereaksi bersama sebagai satu unit.

Dalam suatu reaksi enzimatik, molekul reaktan disebut sebagai substrat yang dengan bantuan enzim akan diubah menjadi molekul yang berbeda yang disebut produk. Ketika reaksi berlangsung, molekul substrat akan berikatan dengan sisi aktif pada enzim. Sisi aktif ini merupakan daerah pada struktur tiga dimensi enzim yang menjadi tempat berlangsungnya proses katalisis. Setelah molekul substrat ini berikatan dengan enzim, maka suatu molekul kompleks teraktifkan enzim-substrat terbentuk. Pada tahap ini energi molekul berada pada tahap maksimum sehingga pada akhirnya kompleks ini akan terpecah menjadi molekul produk dan molekul enzim. Sisi aktif pada enzim kemudian akan menjadi tidak terisi sehingga dapat menerima molekul substrat yang lain. Reaksi ini termasuk ke dalam reaksi katalisis karena dapat dilihat bahwa pada tahap akhir reaksi, molekul enzim yang berfungsi sebagai katalis tidak dikonsumsi selama reaksi berlangsung, dengan kata lain, molekul enzim ini terbentuk kembali pada tahap akhir reaksi. Mekanisme ini dapat dengan jelas terlihat pada Gambar 2.3 dimana enzim ditandai dengan E, Substrat S, produk dengan simbol P, dan kompleks enzim-substrat dengan simbol ES.



Gambar 2.3 Mekanisme reaksi enzim

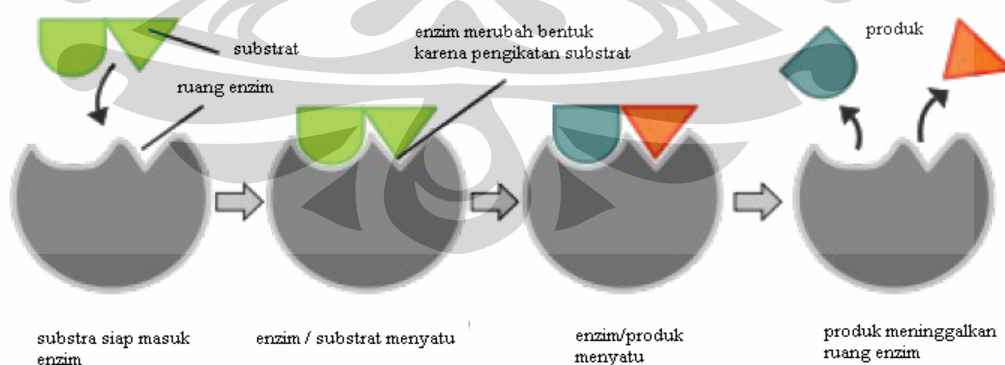
Mekanisme di atas merupakan kinetika reaksi enzim yang dikemukakan oleh Michaelis-Menten. Dalam kinetika ini, reaksi enzim terjadi dalam dua tahap yang melibatkan pembentukan kompleks enzim-substrat yang bersifat reversibel dan tahap pembentukan produk. Hampir semua proses dalam sel biologis memerlukan bantuan enzim agar reaksi tersebut dapat berjalan dengan laju yang signifikan pada temperatur sel makhluk hidup. Tanpa bantuan enzim, reaksi kimia tersebut dapat berjalan dengan sangat lambat atau bahkan tidak akan terjadi reaksi sama sekali. Enzim memiliki sifat yang



sangat spesifik terhadap molekul substrat tertentu. Sifat spesifik ini diakibatkan oleh struktur tiga dimensi molekul enzim yang tertentu sehingga hanya mampu mengakomodasi substrat dengan bentuk yang spesifik. Selain itu, spesifisitas enzim juga dipengaruhi oleh interaksi muatan, interaksi hidrofilik, dan interaksi hidrofobik yang terjadi antara sisi aktif enzim dengan substrat. Hal inilah yang menentukan jalur metabolisme yang terjadi dalam makhluk hidup.

Setiap jenis enzim memiliki temperatur, dan pH optimum yang berbeda-beda. Hal ini berkaitan erat dengan komposisi asam-asam amino yang menyusun enzim yang bersangkutan. Ketika enzim berada di luar pH dan temperatur optimumnya, maka aktifitas enzim akan terganggu atau bahkan rusak karena adanya perubahan struktur tiga dimensi. Perubahan ini dapat terjadi karena struktur tiga dimensi enzim ini hanya ditopang oleh interaksi-interaksi lemah antara residu-residu asam aminonya. Interaksi ini antara lain adalah interaksi elektrostatis, gaya London, gaya Van der Waals, interaksi hidrofilik, dan interaksi hidrofobik. Perubahan struktur tiga dimensi ini disebut sebagai proses *denaturasi*. Proses ini dapat terjadi secara reversibel maupun ireversibel tergantung pada jenis enzim yang bersangkutan.

Mekanisme kerja enzim dapat ditunjukkan dengan model *lock and key* seperti yang terlihat pada Gambar 2.4

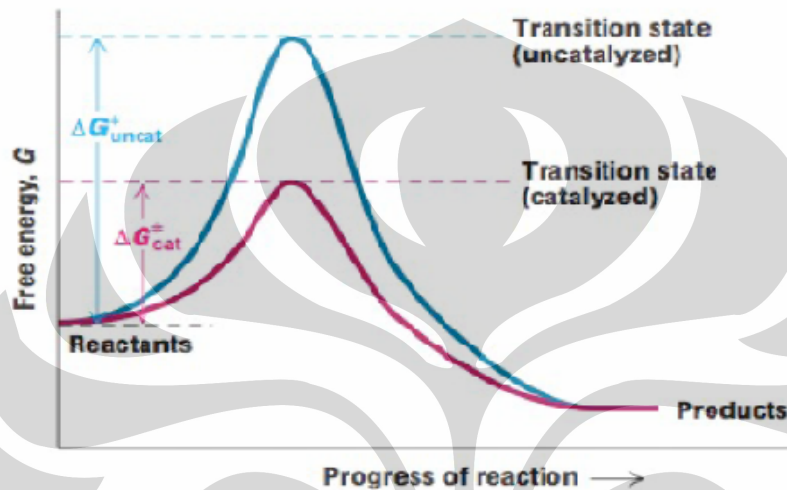


Gambar 2. 4 Mekanisme kerja enzim

Diagram reaksi katalisis dengan enzim pada Gambar 2.5 menunjukkan energi yang dibutuhkan pada setiap tahap reaksi. Pada reaksi tanpa enzim biasanya

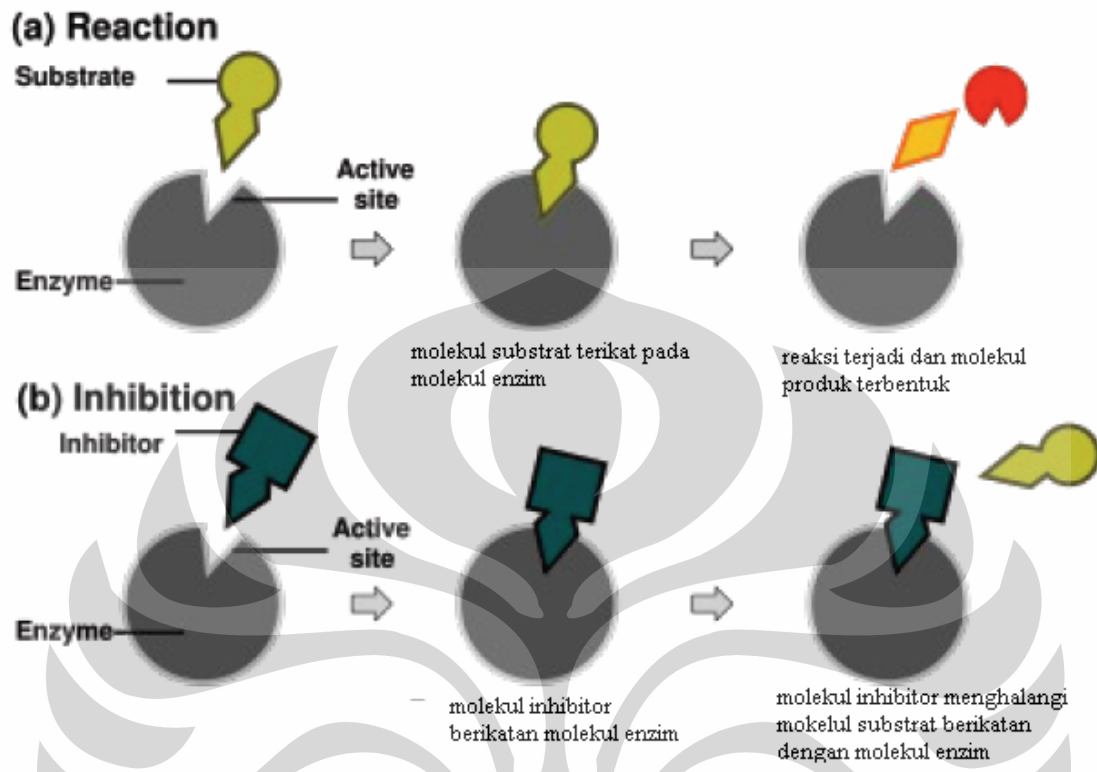


membutuhkan jumlah energi yang lebih besar untuk membentuk produk akhir daripada reaksi dengan menggunakan enzim. Hal ini dikarenakan penggunaan enzim dalam reaksi yang menurunkan energi aktivasi sehingga energi yang dibutuhkan untuk mencapai produk akhir lebih kecil dibandingkan reaksi tanpa enzim.

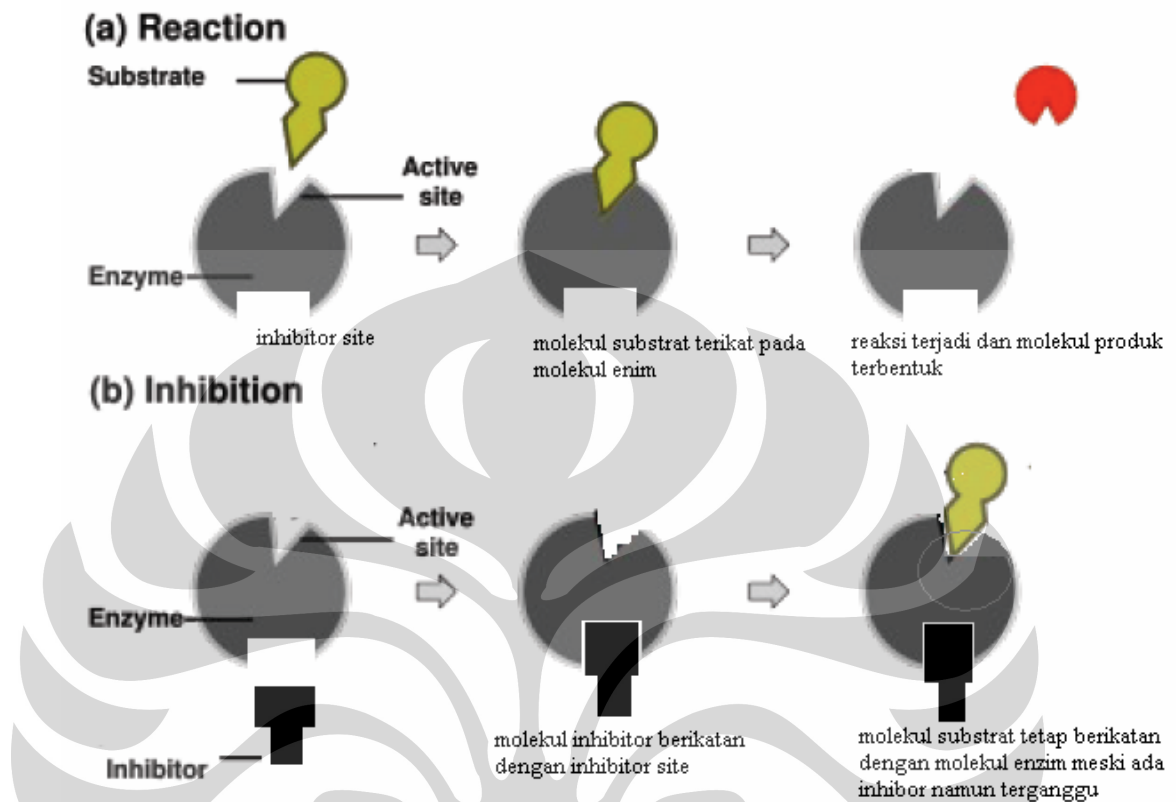


Gambar 2. 5 Diagram energi reaksi katalis

Aktivitas enzim dipengaruhi oleh molekul lain. Inhibitor adalah molekul alami atau sintetik yang dapat menurunkan aktivitas enzim sedangkan molekul yang bisa meningkatkan aktivitas enzim disebut aktivator. Inhibitor ada yang bersifat kompetitif dan non-kompetitif. Kedua inhibitor tersebut dapat menurunkan laju reaksi enzim. Pada reaksi enzim dengan inhibitor kompetitif, molekul substrat bersaing dengan inhibitor untuk berikatan dengan molekul enzim. Mekanisme reaksinya dapat dilihat pada Gambar 2.6. Sedangkan pada Gambar 2.7 ditunjukkan reaksi enzim dengan inhibitor non-kompetitif, tidak ada persaingan antara molekul substrat dengan inhibitor dalam berikatan dengan molekul enzim karena enzim memiliki *active site* dan *inhibitor site* dalam struktur molekulnya.



Gambar 2. 6 Mekanisme reaksi enzim dengan *competitive inhibitor*

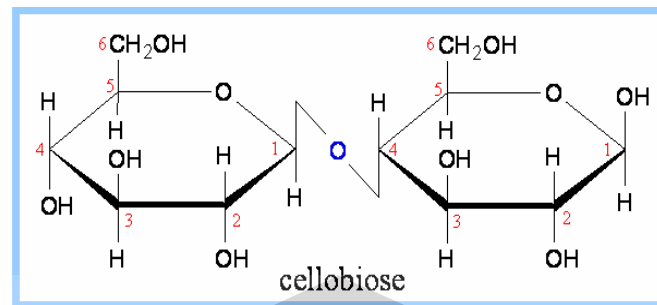


Gambar 2. 7 Mekanisme reaksi enzim dengan *non-competitive inhibitor*

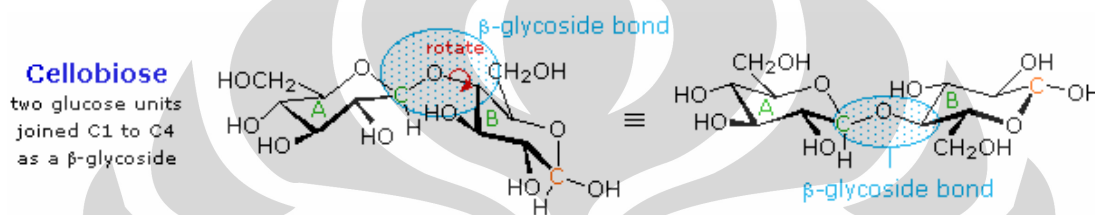
Enzim memiliki karakter spesififikasi yang tinggi. Hal ini berarti, satu enzim umumnya hanya dapat menjadi katalis untuk suatu reaksi yang terlibat dalam substrat tertentu. Tidak semua enzim dapat dipakai untuk semua substrat. Dalam beraktivitas, enzim juga membutuhkan beberapa tambahan komponen kimia yang disebut dengan kofaktor. Kofaktor ini dapat berupa molekul anorganik seperti Zn^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} atau molekul organik kompleks yang disebut koenzim. Pada beberapa enzim, diperlukan satu atau lebih ion logam maupun koenzim dalam melakukan aktivitasnya.

II.5.1 Enzim Selobiase

Enzim selobiase adalah enzim yang memecah selobiosa menjadi glukosa. Enzim ini disebut juga enzim beta-glukosidase. Selobiase digunakan sebagai salah satu komponen enzim selulase kompleks. Aksi enzim selobiase dapat dilihat pada Gambar 2.7 sedangkan mekanisme kerja selobiase ditunjukkan pada Gambar 2.8



Gambar 2. 8 Aksi enzim selobiase



Gambar 2. 9 Mekanisme kerja selobiase

II.5.2 Enzim Selulase

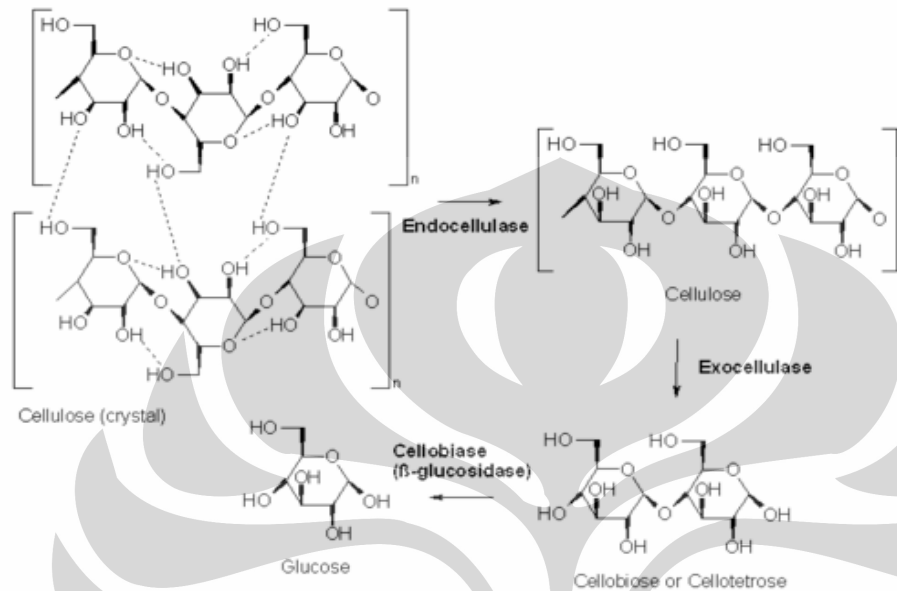
Selulase adalah enzim kompleks yang memecah selulosa menjadi glukosa. Selulase terutama diproduksi oleh bakteri simbiotik dalam lambung hewan memamah biak pada herbivora. Disisi lain banyak juga hewan termasuk manusia yang tidak bisa memproduksi selulase dalam tubuhnya. Oleh karena itu, manusia tidak mendapatkan banyak energi yang terkandung dalam tumbuhan. Selulase dapat dihasilkan dan mikroorganisme diantaranya yaitu *Trichoderma reesei*, *Trichoderma longbrachiatum*, dan *Trichoderma spp* yang terdiri dan *Trichoderma harzianum*, *T. hamatum*, *T. koningii*, dan *T Pseudokoningii*, *T. pilulfemm* dan *T. aureoviride*. Mikroorganisme lainnya yang juga bisa memproduksi selulase yakni *Aspergillus terreus* [23].

Tiga jenis enzim selulase yang membentuk enzim selulase kompleks adalah sebagai berikut:

- Endoselulase yaitu enzim yang memecah ikatan internal untuk memutuskan struktur kristalin pada selulos dan membuka rantai polisakarida.
- Eksoselulase adalah enzim yang membelah 2-4 unit dan akhir rantai yang diproduksi oleh endoselulase menghasilkan tetrasakarida atau disakarida.



- Selobiase atau beta-glukosidase yakni enzim yang menghidrolisis produk eksoselulase menjadi monosakarida.



Gambar 2. 10 Jenis dan aksi enzim selulase[231]

II.6 Senyawa yang terkandung dalam lignoselulosie material

Kertas memiliki kandungan selulosa sekitar 80%. Berdasarkan uraian yang disebutkan sebelumnya maka limbah kertas dapat diubah menjadi etanol. Proses yang harus dilalui limbah kertas adalah hidrolisis kertas menjadi glukosa kemudian difermentasi dengan ragi *Saccharomyces cerevisiae*.

Namun sebelum mencapai proses tersebut limbah kertas perlu menjalani proses *pretreatment* untuk mencapai hasil etanol yang maksimal. 1 kg limbah kertas dapat menghasilkan 4 mL etanol. Maka untuk daerah Jakarta saja limbah kertas dapat menghasilkan sekitar 2400 liter etanol.



Komposisi kertas dan kandungannya dapat dilihat pada tabel 2.2

Tabel 2. 2 Komposisi kertas dan kandungannya

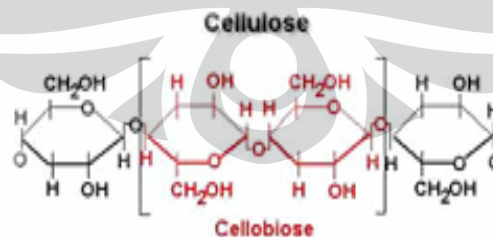
Sub Bagian kertas	% komposisi
Selulosa	85%
Hemiselulosa	8 %
Lignin	5 %
Senyawa abu	2 %

Sumber : CIC, 1990

II.6.1 Selulosa

Selulosa merupakan jenis polisakarida yang paling melimpah pada hampir setiap struktur tanaman. Kandungan selulosa pada kayu rata-rata 48%-50% sedangkan pada kertas berkisar antara 80%-90%. Selulosa merupakan jenis polisakarida yang sering ditemukan di tanaman serta diproduksi juga oleh sebagian binatang dan sebagian kecil dari bakteri.

Selulosa adalah polimer linier dari molekul D-glukosa. Unit ini adalah ikatan bersama dari rantai β -1,4-*glycosidic*. Dua unit glukosa yang berdekatan terbentuk dari eliminasi dari satu molekul air antara dua gugus hidroksil pada atom karbon 1 dan 4. Pengulangan dari rantai selulosa yang terdiri dari dua buah glukosa akan membentuk selobiosa. Struktur selobiosa dapat dilihat pada gambar 2.11.



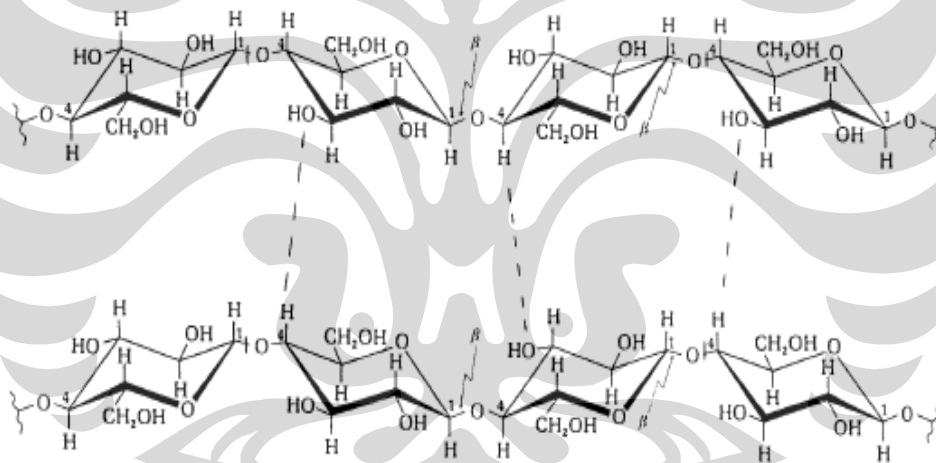
Gambar 2. 11 Struktur Selobiosa

Pada selulosa terdapat enam atom karbon yang membentuk cincin yang disebut pyranose. Unit pyranose tersebut dihubungkan oleh molekul oksigen tunggal, oksigen



tersebut menghubungkan atom karbon nomor satu dengan atom karbon nomor empat di pyranose selanjutnya.

Proses degradasi selulosa dapat dilakukan oleh mikroorganisme selulolitik yang berasal dari bakteri ataupun jamur. Degradasi lengkap selulosa akan melepaskan karbon dioksida (CO₂) dan air pada kondisi aerobik. Pada kondisi anaerobik, akan melepaskan karbon dioksida, metana, dan air (Be'guin & Aubert, 1994). Mikroorganisme tersebut dapat mendegradasi selulosa karena menghasilkan enzim dengan spesifikasi berbeda yang saling bekerja sama. Enzim tersebut akan menghidrolisis ikatan β -1,4-*glycosidic* pada selulosa. Hidrolisis sempurna selulosa akan menghasilkan monomer selulosa yaitu glukosa, dan hidrolisis tak sempurna akan menghasilkan disakarida dari selulosa yang disebut selobiosa (Brunow *et al.*, 1995). Struktur selulosa dapat dilihat pada gambar 2.12



Gambar 2. 12 Struktur selulosa

II.6.2 Lignin

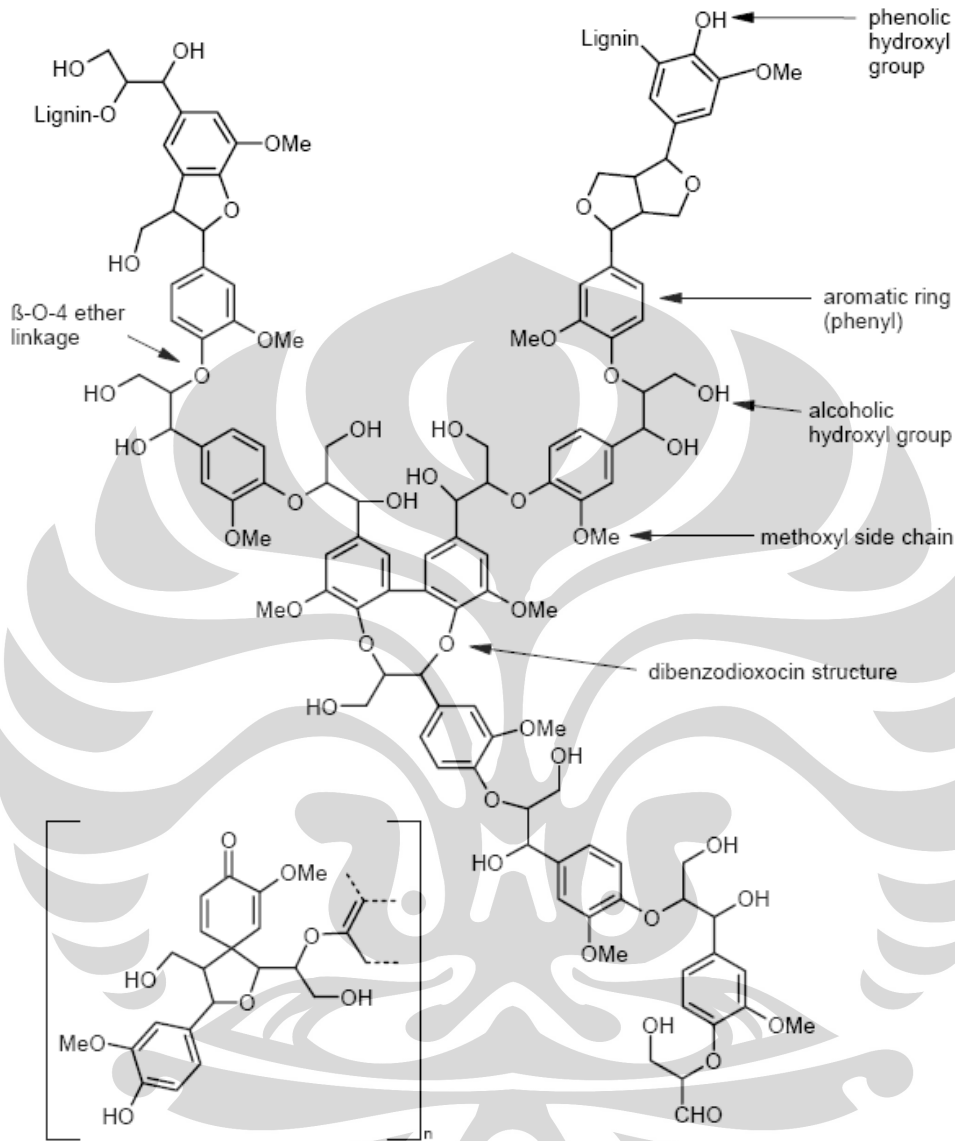
Lignin adalah bahan yang mempersulit proses hidrolisis selulosa. Kandungan lignin pada kayu sekitar 25-30%. Lignin merupakan polimer kompleks yang cukup besar dari fenil-propana dan kelompok metoksi. Substansi polifenolik non karbohidrat melapisi dinding sel dan berfungsi seperti semen dengan lignin yang lainnya. Polimer fenil-propana pada lignin terdiri dari unit *guaiacyl* (G) dari prekursor *trans-coniferyl-alcohol*,



unit *syringyl* (S) dari *trans-sinapyl-alcohol*, dan *p-hydroxyphenyl* (H) dari prekursor *trans-p-coumaryl-alcohol* (Gibbs, 1958).

Keberadaan lignin membuat reaksi hidrolisis pada selulosa tidak berjalan maksimal. Oleh karena itu perlu dilakukan proses pre-treatment untuk menghilangkan lignin, seperti *steaming*.

Pendegradasian lignin dapat terjadinya karena adanya enzim lignolitik yang dapat memotong ikatan lignin. Enzim lignolitik yang dapat mendegradasi lignin diantaranya adalah lignin peroksidase (ligninase, LiP), manganese peroksidase (MnP), dan laccase (Hatakka, 2001). Lignin peroksidase pertama kali ditemukan pada jamur *Phanerochaete chrysosporium*. LiP mengkatalis senyawa aromatik nonfenolik, mengoksidasi senyawa amina, aromatik eter dan aromatik psiklik. Manganese peroksidase (MnP) mengoksidasi senyawa fenolik menjadi radikal fenoksi oleh oksidasi Mn(II) menjadi Mn(III) dengan H₂O₂ sebagai oksidannya. *Laccase* mengoksidasi senyawa fenolik menjadi radikal fenoksil, diamin dan senyawa inorganik. Mediator *laccase* adalah 2,2'-azinobis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate) (ABTS) atau 1- hydroxybenzotriazole. *Laccase* mengandung empat atom tembaga dalam satu molekul. Secara umum struktur lignin yang cukup kompleks dapat dilihat pada gambar 2.13.



Gambar 2. 13 Struktur lignin (Brunow *et al.*,2001)

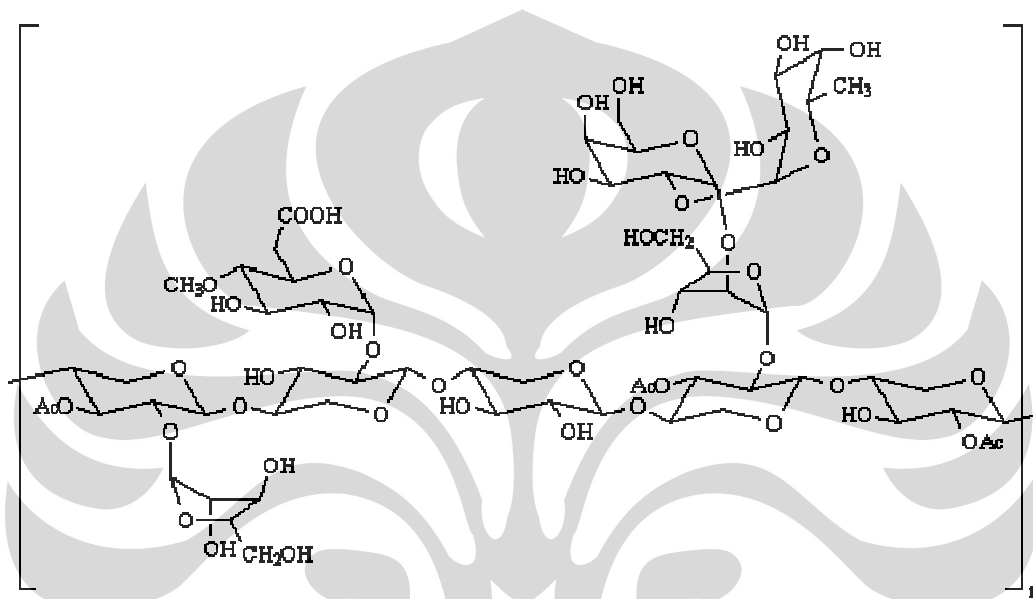
II.6.3 Hemiselulosa

Suatu polisakarida selain selulosa yang juga banyak terdapat pada tanaman ialah hemiselulosa yang merupakan gabungan monomer-monomer gula jenis pentosa. Gula yang merupakan monomer-monomer hemiselulosa diantaranya xylosa, arabinosa, manosa dan lain-lain. monosakarida dari hemiselulosa yang terbanyak adalah xylosa.



Hemiselulosa memiliki karakteristik yang berbeda dengan selulosa karena memiliki ikatan yang lebih kuat dan relatif sulit untuk terhidrolisis menjadi monomernya.

Secara sederhana hemiselulosa yang merupakan gabungan dari monomer xylosa dapat dilihat pada gambar 2.14.



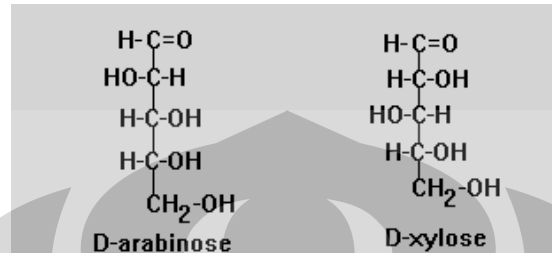
Gambar 2. 14 Struktur hemiselulosa (Brunow et al; 1995)

Hemiselulosa memiliki struktur yang lebih kompleks dibandingkan dengan selulosa. Oleh karena itu sistem enzim yang dibutuhkan untuk mendegradasi ke dalam monomer gula juga kompleks.

Hemiselulosa juga dapat ditemukan di dinding primer dan sekunder dalam setiap jenis biomassa. Galactoglucomannans dan arabinoglucuronoxylans adalah komponen utama dari tanaman kayu lunak. Glucuronoxylans dan sedikit glucomannans mendominasi pada jenis tanaman kayu keras. Arabinoglucuronoxylan dan glucuronoxylan, keduanya secara kolektif disebut xylan, terkandung sebanyak 7-12% pada kayu lunak dan 15-30% pada kayu keras. Masalah penting yang berkaitan dalam pemanfaatan hemiselulosa adalah ikatan antara lignin dengan hemiselulosa. Ikatan ester dan eter terjadi antara gugus hidroksil pada hemiselulosa dan x-karbonil pada fenil



propana dari lignin. Ikatan inilah yang menyebabkan kesulitan dalam proses menghilangkan lignin.



Gambar 2. 15 Struktur monomer-monomer dari hemiselulosa

II.6.4 Etanol

Etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) adalah golongan senyawa alcohol yang memiliki 2 atom karbon. Etanol merupakan salah satu alternatif bahan bakar pengganti bahan bakar minyak yang kian lama kian menipis. Produksi etanol yang pada umumnya dapat dibuat secara sintesis dari minyak bumi



Etanol juga dapat dibuat melalui proses fermentasi biomassa yang tersusun dan karbohidrat atau fraksi glukosa. Material yang umum digunakan sebagai bahan mentah umumnya adalah tanaman yang berkadar glukosa tinggi seperti jagung, singkong atau ubi, kelapa sawit, jerami dan lain-lain. Etanol yang diproduksi dari biomassa dan digunakan sebagai campuran bahan bakar lebih dikenal dengan istilah Bioetanol (Kim *et al*, 2003).

Bioetanol memiliki nilai oktan lebih tinggi dari gasoline sehingga dapat menggantikan fungsi bahan aditif seperti *Methyl Testier Butyl Ether* (MTBE) dan *Tetra Ethyl Lead* (TEL) yang kurang ramah lingkungan (Tabel 2.3).

Bioetanol juga langsung dapat dicampurkan dengan bensin pada berbagai komposisi sehingga memberikan peningkatan efisiensi serta memberikan emisi gas buang yang lebih ramah lingkungan. Pencampuran etanol dengan bensin ini sering disebut sebagai gasohol, seperti gasohol BE-10 artinya bahan bakar campuran antara premium 90% volume, dengan bioetanol sebanyak 10%.



Tabel 2. 3 Perbandingan bilangan oktan antara bioetanol dan gasoline

No	Jenis bahan bakar	Bilangan oktan
1	Bioetanol	108
2	Gasoline	87-98

Sumber: *Visionengineer, 2004*

Di Indonesia, berdasarkan data Departemen Perindustrian dan Perdagangan tahun 2002 menunjukkan bahwa jumlah produksi bioetanol di Indonesia adalah sekitar 180 juta liter dengan derajat kualitas etanol teknis yang berkadar sekitar 95-97%. Sebagian produksi tersebut yakni sekitar 62,5 juta liter diserap untuk kebutuhan dalam negeri, antara lain dipergunakan sebagai bahan industri *Carboxy Methyl Cellulose (CMC)*, Industri pengolahan rumput laut, industri minuman beralkohol, industri cat, industri farmasi, industri kosmetika dan lain-lain. Di negara-negara penghasil etanol terbesar di dunia seperti Brasil dan USA, etanol sudah banyak digunakan sebagai pengganti bahan bakar minyak (*renewable energy resources*), baik sebagai *gasoline* (campuran minyak) atau sebagai murni bahan bakar pengganti minyak

II.7 PROSES SAKARIFIKASI DAN FERMENTASI SERENTAK (SSF)

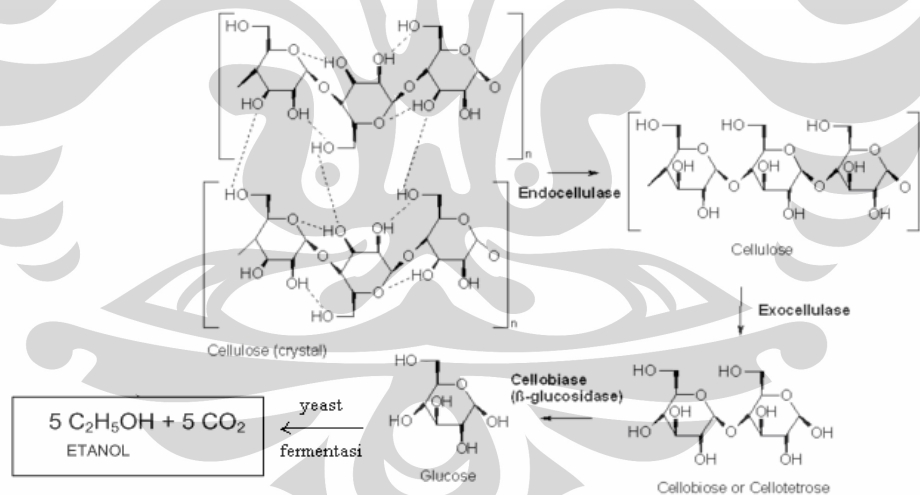
Material berbasis lignoselulosa (*lignocellulosic material*) memiliki substrat yang cukup kompleks karena didalamnya terkandung lignin, polisakarida, zat ekstraktif, dan senyawa organik lainnya (Costello *et al.*, 1998). Bagian terpenting dan terbanyak dalam material lignoselulosa adalah polisakarida, khususnya selulosa yang terbungkus oleh lignin dengan ikatan yang cukup kuat. Dalam konversi biomassa seperti kertas menjadi etanol, bagian yang terpenting adalah polisakaridanya. Karena polisakarida tersebut yang akan dihidrolisis menjadi monosakarida seperti glukosa, sukrosa, xilosa, arabinosa dan lain-lain sebelum dikonversi menjadi etanol.

Proses hidrolisis umumnya digunakan pada industri etanol adalah menggunakan hidrolisis dengan asam (*acid hydrolysis*) dengan menggunakan asam sulfat (H_2SO_4) atau dengan menggunakan asam klorida (HCl) (Lee *et al.*, 1997). Proses hidrolisis dapat juga dilakukan dengan menggunakan enzim yang sering disebut dengan *enzymatic hydrolysis*



menggunakan enzim jenis selulase atau yang lain. Keuntungan dari hidrolisis dengan enzim dapat mengurangi penggunaan asam sehingga dapat mengurangi efek negatif terhadap lingkungan. Kemudian setelah proses hidrolisis dilakukan fermentasi menggunakan *yeast* seperti *S. cerevisiae* atau *P. stipitis* untuk mengkonversi menjadi etanol. Proses hidrolisis dan fermentasi ini akan sangat efisien dan efektif jika dilaksanakan secara berkelanjutan tanpa melalui tenggang waktu yang lama, hal ini yang sering dikenal dengan istilah *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF).

SSF pertama kali dikenalkan oleh Takagi (Takagi *et al*,1977) yaitu kombinasi antara hidrolisis menggunakan enzim dengan fermentasi gula menjadi etanol secara simultan. Proses SSF sebenarnya hampir sama dengan dengan proses yang terpisah antara hidrolisis dengan enzim dan proses fermentasi, hanya dalam proses SSF hidrolisis dan fermentasi dilakukan dalam satu reaktor. Secara singkat reaksi yang terjadi melalui proses *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF) dapat dilihat pada gambar 2.16



Gambar 2. 16 Skema reaksi dalam proses Simultaneous Saccharification and Fermentation(SSF)

Keuntungan dari proses ini adalah polisakarida yang terkonversi menjadi monosakarida tidak kembali menjadi polisakarida karena monosakarida langsung difermentasi menjadi etanol. Selain itu dengan menggunakan satu reaktor dalam prosesnya akan mengurangi biaya peralatan yang digunakan.

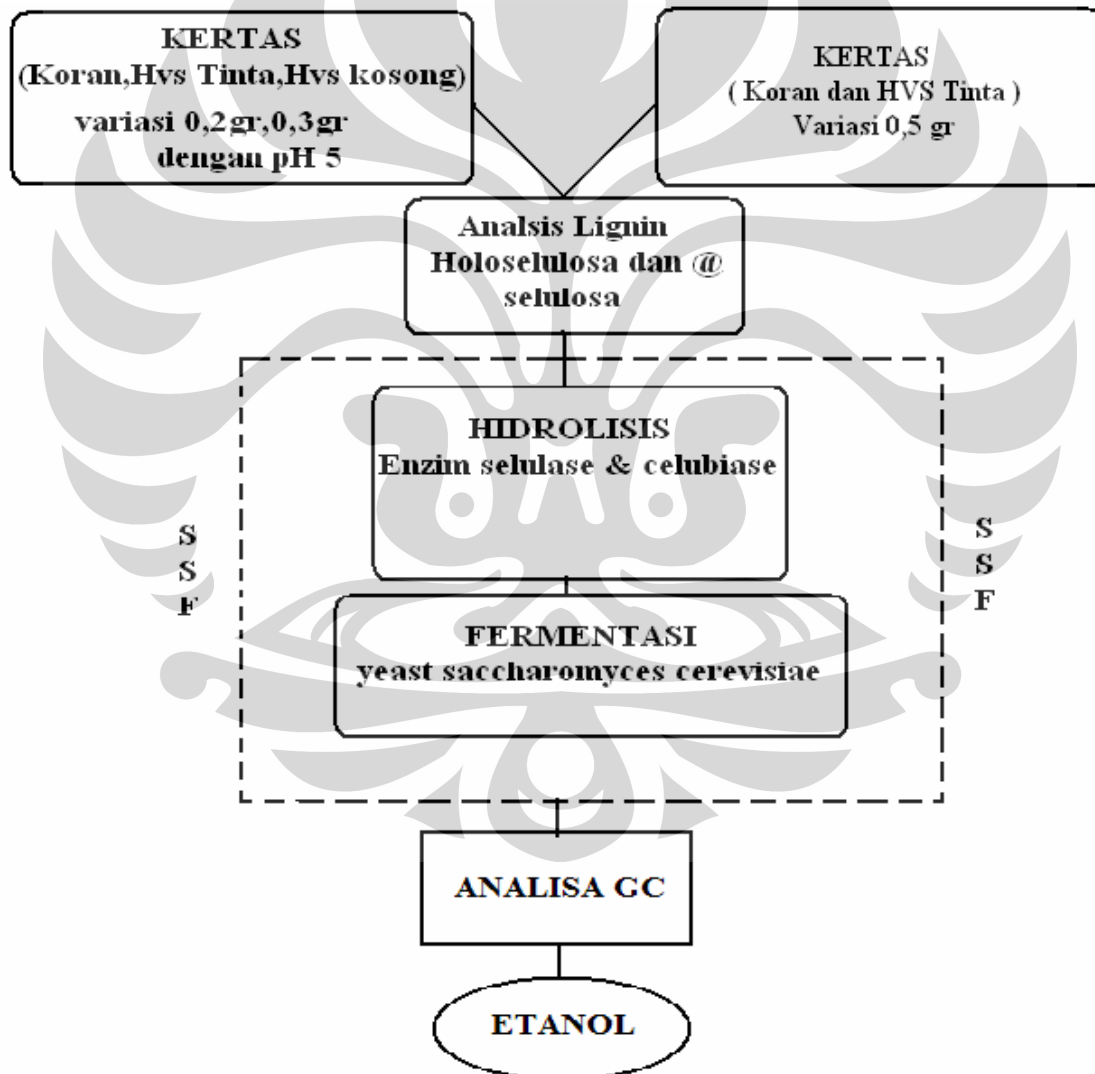


BAB III

METODE PENELITIAN

III.1 SKEMA PENELITIAN

Penelitian ini akan menggunakan proses Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak atau *Simultaneous Sacharification dan Fermentation* (SSF) menggunakan enzim selulase dan selobiase untuk proses hidrolisis dan ragi *S. cerevisiae* untuk proses fermentasi dengan skema sebagai berikut:



Gambar 3. 1 Diagram alir penelitian



III.2 BAHAN DAN ALAT

III.2.1 Bahan

1. Bahan Sampel dan medium:

- Kertas
- Potato Dekstro Agar (PDA) (PA)
- Aquades
- *Saccaromyces Cerevisiae*
- Enzim selulase
- Enzim selobiase
- NaOH
- Na_2SiO_3 buffer (PA)
- Chelating agent jenis DTPA (*diethylen triamin penta acetic acid*)
- Agar (PA)
- Glukosa (PA)
- Yeast extract (PA)
- KH_2PO_4 (PA, wako)
- $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (PA)
- $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (PA)

III.2.2 Peralatan

- Tabung reaksi
- Alat centrifuge
- Tabung centrifuge
- Clean Bench
- Autoclave
- Inkubator
- Shaker
- Gelas kimia
- Labu Erlenmeyer



- Ampule
- GC dan alat injeksi
- Pipet ukur
- Cawan porselin
- Timbangan

III.3 PROSEDUR PENELITIAN DAN ANALISIS

III.3.1 Prosedur penelitian

Dibawah ini terdapat beberapa tahapan prosedur penelitian untuk pembuatan etanol dari kertas dengan hidrolisis enzim melalui proses SSF adalah:

1. Persiapan Sampel

Limbah kertas akan dipotong kecil-kecil. Alat yang digunakan dapat berupa *paper feeder* konvensional atau penghancur kertas yang dibuat sendiri menggunakan pisau pemotong.

2. Sterilisasi Alat dan Medium

Mensterilisasi alat dan medium sampel yang akan digunakan dalam proses SSF dengan cara dipanaskan dalam *autoclave* selama 15-20 menit. Semua prosedur dilakukan di dalam *transfer box*.

3. Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak (SSF)

Proses ini menggabungkan antara hidrolisis enzim dengan fermentasi yang dilakukan dalam satu reaktor atau *vessel*. Proses ini menggunakan enzim selulase dan selobiase dan *yeast Saccharomyces cerevisiae*.

- *Stock* pembiakan *S. cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae AM12 di-*preculture* pada *Potato Dextrose Agar* (PDA) 2%, Agar (0,25 g), Aquades (50mL) dan diinkubasi selama 3-4 hari pada suhu kamar, kemudian digunakan sebagai *yeast* pada proses SSF.

- Persiapan *yeast inoculum*

S. cerevisiae AM12 *fresh* dari *stock* pembiakan di-*preculture* pada 300 ml medium (glukosa, 3 g l⁻¹; *yeast extract* ; 0,3 g L⁻¹; KH₂PO₄, 0,03 g L⁻¹; MgSO₄.7H₂O,



0,03 g L⁻¹; dan (NH₄)₂SO₄, 0,03 g L⁻¹) dalam 100 ml erlenmeyer. Sebelum di inokulasi, medium di *autoclave* selama 20 menit, kemudian diinkubasi pada suhu 35⁰C dan 120 rpm selama 24 jam menggunakan *shaker*.

- Pengkondisian selama SSF

Medium untuk SSF sebanyak 100 mL terdiri dari sampel kertas (5 g), *nutrients* medium (80 ml), 10 mL Na-citrate *buffer* (pH 5), enzim selulase dan selobiase (0,2 gr) , enzim selulase dan selobiase (0,3 gr), enzim selulase dan selobiase (0,5gr) dan 10 mL *yeast inoculum*. Sampel, *nutrients* medium dan *buffer* disterilisasi selama 20 menit pada *autoclave*. Namun enzim ditambahkan tanpa sterilisasi. *Nutrients* medium terdiri dari 1,0 g L⁻¹ (NH₄)₂ HPO₄; 0,05 g L⁻¹ MgSO₄.7H₂O dan 2 g L⁻¹ *yeast extract*. Kultivasi diambil dan dimasukkan dalam *micro sentrifuge tube*. Cairan bersih dari sampel diambil dengan sampling 6, 12, 24, 36, 48, 72 dan 96 jam dan dilakukan pengujian konsentrasi etanol yang dihasilkan.

Proses ini menggabungkan antara hidrolisis enzim dengan fermentasi yang dilakukan dalam satu reaktor atau *vessel*. Proses ini menggunakan enzim selulase dan selobiase dan *yeast Saccharomyces cerevisiae*.

III.3.2 Variabel Pengamatan

- Variabel Bebas :
 - Kertas Koran, HVS tinta, Hvs kosong
 - Konsentrasi enzim 0,2 , 0,3 , 0,5gr
 - Waktu 6, 12, 24, 36, 48, 72, 96 jam
- Variabel Terikat : Jumlah etanol

III.3.3 Analisis

1. Analisis lignin, holoselulosa dan α-selulosa

Lignin dianalisis dengan metode klason lignin yang termodifikasi yaitu dengan menambahkan asam sulfat 72% pada sampel dan diaduk sampai hancur, di-*autoclave*

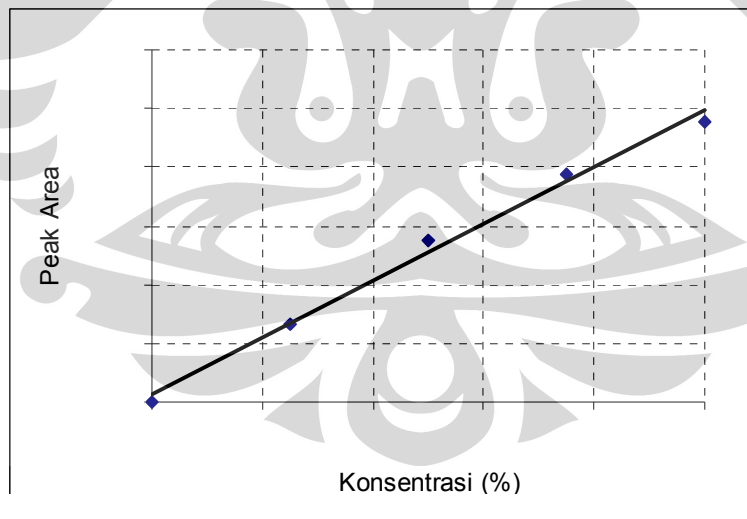


pada suhu 121 °C selama 30 menit, disaring dengan kertas saring, dibungkus dengan alumunium voil, di-oven selama 1 jam dan ditimbang berat akhirnya.

Analisis holoselulosa dan α -selulosa dianalisis dengan metode wise yaitu sampel dicampur dengan natrium klorat, asam asetat dan aquades, diinkubasi dengan menggunakan air panas pada suhu 80°C, didinginkan, difiltrasi dengan aquades dan terakhir dibilas dengan aseton. Kemudian bagian padat dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 1-2 malam dan ditimbang beratnya.

2. Penentuan Konsentrasi Etanol

Konsentrasi etanol ditentukan dengan Gas Kromatografi (GC) jenis SUPELCOWAX-10 (Supelco Inc., 0,53 mm i.d., 15 m, 0,5 mm, FID) pada temperature 50°C. Sebelum sampel diinjeksi kedalam GC terlebih dahulu mengukur larutan standar yang akan digunakan sebagai dasar perhitungan konsentrasi etanol. Dari data tersebut dapat dibuat grafik seperti pada Gambar 3.2



Gambar 3. 2 Perkiraan grafik larutan standar untuk penentuan konsentrasi etanol

Dari grafik tersebut didapatkan persamaan untuk menentukan konsentrasi etanol dari sampel yaitu $y = ax + b$, dengan y adalah *peak area* dan x adalah konsentrasi etanol, b merupakan konstanta.



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Bab ini akan dijelaskan mengenai pembahasan pelaksanaan penelitian pada proses pembuatan etanol dari kertas. Pembahasan dan analisa akan berdasarkan pada proses pembuatan etanol dari kertas dengan hidrolisis enzim selulase dan selobiase serta fermentasi menggunakan yeast *Saccharomyces cerevisiae* yang dilakukan secara serentak.

IV.1 Pembahasan umum

Dalam sepuluh tahun terakhir, produksi kertas mengalami peningkatan yang signifikan. Dampak peningkatan produksi ini adalah meningkatnya jumlah limbah kertas bekas. Penanganan limbah kertas bekas yang selama ini dilakukan adalah dengan penimbunan dan pembakaran.

Kedua metode penanganan ini agaknya perlu dipertimbangkan kembali berkaitan dengan keterbatasan lingkungan untuk menimbun limbah dan dampak negatif dari pembakaran terhadap lingkungan dan kesehatan. Pembakaran limbah seperti kertas akan menghasilkan partikulat diantaranya karbon berporositas tinggi. Karena berporositas tinggi, maka partikulat karbon dapat mengadsorpsi molekul senyawa karsinogenik yang sangat berbahaya jika masuk ke tubuh manusia melalui sistem pernafasan.

Salah satu penanganan limbah kertas adalah mengubahnya menjadi etanol selulosa yang terkandung dalam kertas dapat diubah menjadi etanol melalui proses hidrolisis dan diikuti dengan fermentasi yang dilakukan dengan menggunakan ragi (yeast) *Saccaromyces cereviae*. Proses ini dikenal dengan *Simultaneous Sacharification and Fermentation (SSF)*

Kertas yang digunakan untuk penelitian ini berupa potongan – potongan yang sangat kecil dan terdiri dari tiga macam kertas yaitu kertas HVS kosong, kertas HVS



tinta, koran. Pada umumnya dilakukan perlakuan awal seperti pemakaian jamur *Lentinus edodes* karena dengan tujuan untuk mendegradasi jaringan lignin yang kuat pada kertas. Jaringan lignin ini harus didegradasi karena mempersulit akses zat penghidrolisis dalam memecah selulosa. Adapun perlakuan awal dapat dilakukan secara fisis, biologis maupun kimiawi. Namun pada penelitian kali ini tidak melakukan perlakuan awal terlebih dahulu, karena menurut hasil dari analisa lignin yang didapatkan bahwa kandungan lignin dalam kertas tersebut tidak begitu besar. Maka tidak diperlukan untuk pendegradasi jaringan lignin di dalamnya.

Pada penelitian ini sakarifikasi menggunakan dua enzim yaitu selobiase dan selulase. Enzim selobiase akan memecahkan selobiosa yang merupakan disakarida menjadi glukosa. Penambahan enzim selobiase bertujuan agar glukosa yang dihasilkan dari proses sakarifikasi lebih besar daripada hanya menggunakan enzim selulase saja. Glukosa – glukosa yang terbentuk kemudian melalui proses fermentasi untuk diubah menjadi etanol. Pada penelitian ini, fermentasi menggunakan yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Ragi ini dikembangkan pada medium Potato Dextrose Agar (PDA). Pada fermentasi tidak hanya dibutuhkan glukosa dan yeast (ragi) tetapi juga dipengaruhi faktor – faktor lain meliputi suhu fermentasi, pH yang tepat, adanya air serta nutrisi untuk pertumbuhan yeast. Suhu fermentasi pada penelitian ini dilakukan pada suhu kamar (25⁰C) serta pH 5 yang dipakai penelitian ini. Penelitian ini hanya memakai satu variasi yaitu pH 5, karena menurut hasil dari penelitian sebelumnya didapatkan pH 5 yang paling optimum, maka dari itu menurut (Samsuri, 2008) untuk mempersempit variasi hanya menggunakan pH 5.

Ragi membutuhkan beberapa unsur untuk pertumbuhannya yakni karbon, hidrogen, fosfor, magnesium, kalium dan sulfur. Oleh karena ragi *S.cerevisiae* melakukan fermentasi pada kondisi anaerob maka wadah fermentasi harus ditutup rapat untuk mencegah masuknya gas oksigen dari lingkungan. Dalam penelitian ini kedap udara tabung reaksi dari oksigen diupayakan dengan penutup aluminium foil dan plastik. Sisa oksigen yang terjebak di dalam tabung dianggap tidak terlalu berarti mengingat *S.cerevisiae* bukan anaerobic obligatif.



IV.2 Hasil Penelitian Fermentasi Kertas Menjadi Etanol

Data yang diperoleh dari hasil analisis GC (kromatografi gas) kemudian diolah sehingga diperoleh konsentrasi etanol hasil penelitian seperti yang ditunjukkan pada Tabel 4.1 yaitu pada enzim selulose dan selobiose 0,2gr dan Tabel 4.2 yaitu pada enzim selulase dan selobiase 0,3gr dibawah ini :

Tabel 4. 1Kosentrasi etanol hasil fermentasi kertas enzim 0,2 gr

Waktu (jam)	Konsentrasi (ppm)		
	Koran	HVS	HVS tinta
6	208,8	1,41	160,3
12	562,01	616,61	652,84
24	649,09	831,56	554,61
36	677,85	714,26	361,62
48	760,54	826,05	621,32
72	338,1	615,05	362,69
96	5,55	579,35	0

Tabel 4. 2 Kosentrasi etanol hasil fermentasi kertas enzim 0,3 gr

Waktu (jam)	Konsentrasi(ppm)		
	Koran	Hvs	Hvs tinta
6	17,34	6,65	600,88
12	242,43	546,28	603
24	513,43	737,51	713,47
36	714,26	16,99	542,43
48	434,65	0	460,55
72	0	0	0
96	0	0	0

IV.3 Pembahasan dan analisis hasil penelitian

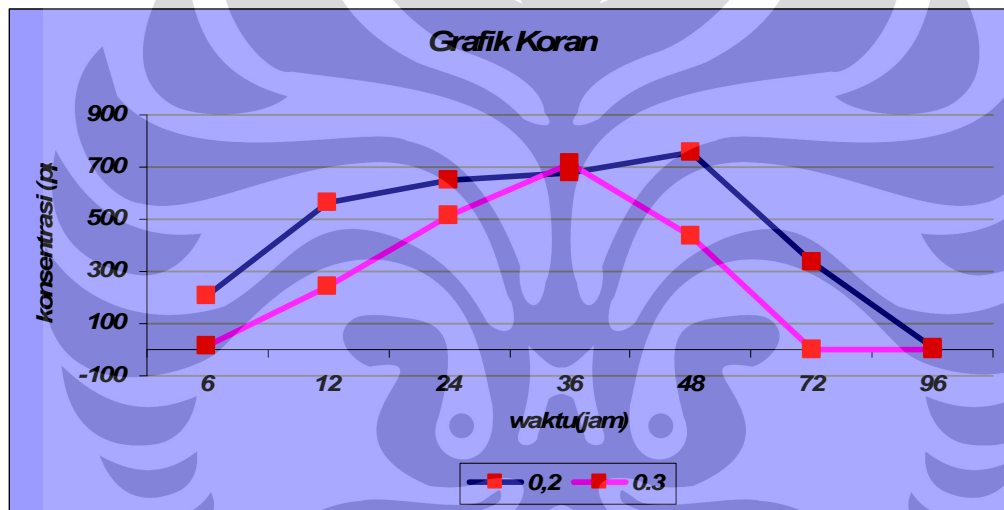
Secara garis besar fermentasi kertas dilakukan dengan beberapa variasi meliputi variasi sampel kertas dan waktu inkubasi (lama fermentasi) selama 6, 12, 24, 36, 48, 72, 96 jam.



IV.3.1 Pengaruh Kinerja Enzim yang Optimum dalam Mengkonversi menjadi Etanol

Penelitian ini juga dilakukan variasi dengan perbedaan jenis sampel. Kertas yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya adalah kertas koran, HVS tinta, HVS kosong. Derajat keasaman (pH) untuk sistem ini adalah 5.

Kurva yang menunjukkan hubungan antara lamanya fermentasi dengan konsentrasi (kadar) etanol yang dihasilkan pada kertas koran dengan pH 5 dapat dilihat pada Gambar 4.1 sebagai berikut :

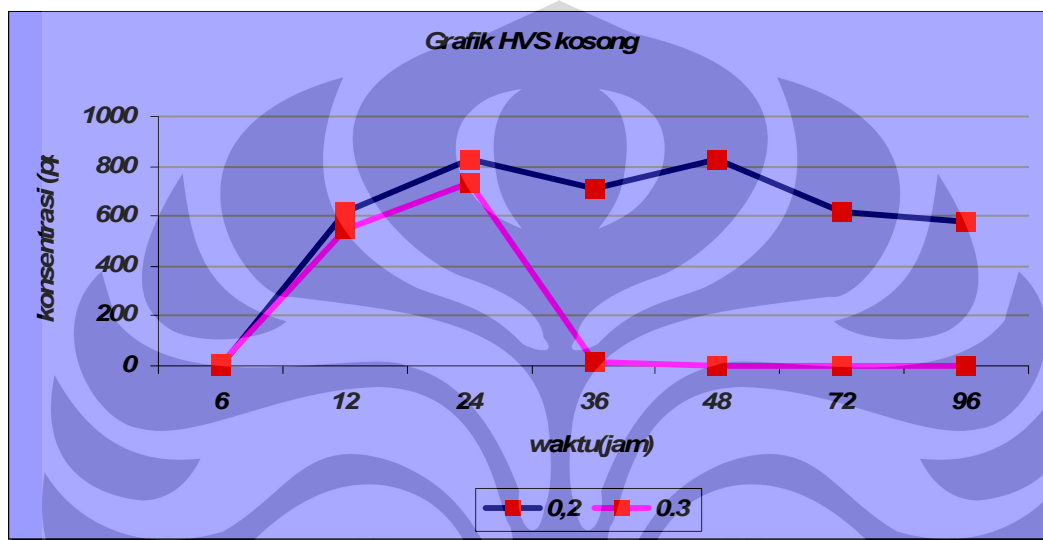


Gambar 4. 1Kurva hubungan waktu fermentasi dengan konsentrasi etanol

Pada Gambar 4.1 ditunjukkan bahwa jenis sampel kertas koran dengan perbandingan aktivitas enzim 0,2 dan 0,3 gr. Dengan hasil yang paling optimum adalah dialami pada aktivitas enzim 0,2 gr yaitu sebesar 760,5 ppm dengan waktu inkubasinya pada jam ke-48. Sedangkan peringkat kedua dicapai oleh aktivitas enzim 0,3 gr yaitu sebesar 714,3 ppm dengan waktu inkubasinya pada jam ke-36. Dari data tersebut aktivitas enzim 0,2 gr lebih menghasilkan konsentrasi etanol lebih tinggi dibandingkan memakai aktivitas enzim 0,3 gr.



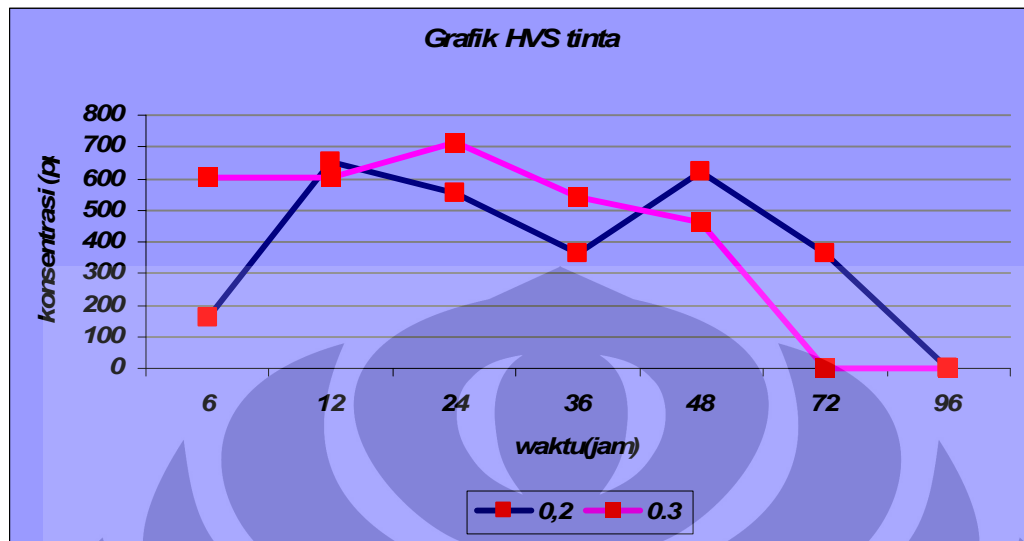
Dengan adanya kurva selain koran terdapat juga kurva perbandingan antara aktivitas enzim 0,2 dan 0,3 gr. Kurva ini yang menunjukkan hubungan antara lamanya fermentasi dengan konsentrasi (kadar) etanol yang dihasilkan pada kertas HVS dengan pH 5 dapat dilihat pada gambar 4.2 sebagai berikut :



Gambar 4. 2 Kurva hubungan waktu fermentasi dengan kosentrasi etanol

Pada grafik diatas terlihat bahwa aktivitas enzim tertinggi dialami pada 0,2 gr yaitu sebesar 831,6 ppm dan diikuti dengan peringkat kedua dialami pada 0,3 gr yaitu sebesar 737,5 ppm dan keduanya sama – sama mencapai konsentrasi tertinggi pada jam ke- 24. Konsentrasi etanol yang lebih tinggi dialami oleh aktivitas enzim 0,2 gr.

Kurva yang menunjukkan hubungan antara lamanya fermentasi dengan konsentrasi kadar etanol yang dihasilkan pada kertas HVS bertinta dengan pH 5 dapat dilihat pada gambar 4.3 sebagai berikut :



Gambar 4. 3 Kurva hubungan waktu fermentasi dengan kosentrasi etanol

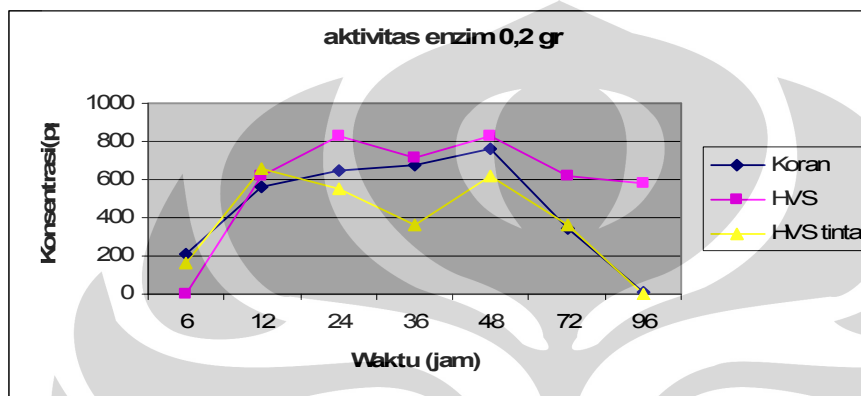
Pada Gambar 4.3 ditunjukkan bahwa jenis sampel kertas HVS bertinta dengan perbandingan aktivitas enzim 0,2 dan 0,3 gr. Dengan hasil yang paling optimum adalah dialami pada aktivitas enzim 0,3 gr yaitu sebesar 713,4 ppm dengan waktu inkubasinya pada jam ke-24. sedangkan peringkat kedua dicapai oleh aktivitas enzim 0,2 gr yaitu sebesar 652,8 ppm dengan waktu inkubasinya pada jam ke-12. Data diatas yang menghasilkan etanol lebih tinggi adalah aktivitas enzim 0,3 gr.

Dari ketiga perbandingan variasi aktivitas enzim ketiga kertas tersebut terlihat bahwa waktu optimum yang dialami kertas HVS dengan HVS bertinta tergolong lebih cepat dibandingkan dengan dengan kertas koran. Sebagai contoh yaitu pada kertas koran dapat dilihat pada jam ke-36 baru mengalami fasa optimum, apabila dibandingkan dengan kertas HVS kosong dan HVS bertinta mereka sudah mengalami kenaikan pada jam ke – 12.

Pada awal Bab IV ini telah dipaparkan bahwa penelitian ini tidak memakai perlakuan awal (*pretreatment*) baik secara biologis dengan menggunakan jamur pelapuk putih *Lentinus edodes* maupun secara penambahan asam kuat dan proses steaming. Kesemua perlakuan awal ini bertujuan menghancurkan jaringan lignin yang kuat pada kertas, namun penelitian ini tidak memerlukan hal tersebut, dikarenakan kandungan

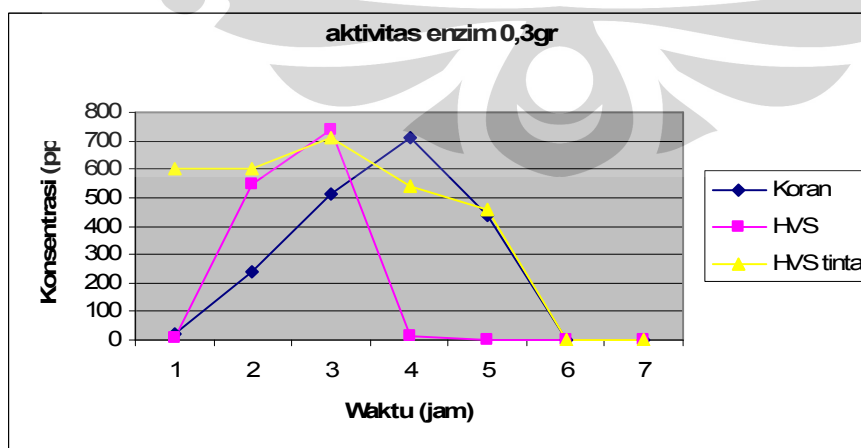


lignin yang terdapat pada ketiga kertas itu tidak terlalu mempengaruhi kinerja dalam mengakses keberadaan selulosa dan mengubahnya menjadi glukosa. Sehingga kerja enzim dalam menghasilkan konsentrasi etanol akan lebih tinggi. (Lihat analisa Lignin pada daftar lampiran dibelakang)



Gambar 4. 4 Kurva hubungan waktu fermentasi dengan kosentrasi etanol pada variasi jenis sampel

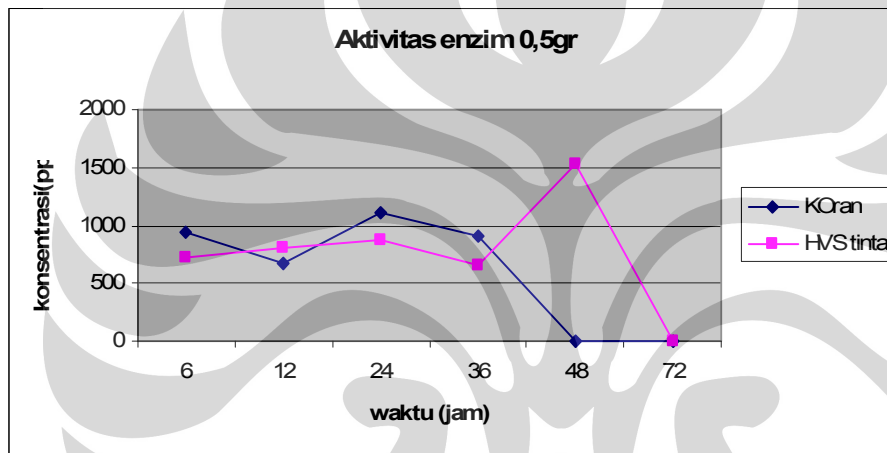
Perbedaan konsentrasi etanol yang dihasilkan kertas koran, HVS kosong, HVS tinta dapat dilihat pada Gambar 4.4. ketiga sampel kertas yang tanpa dilakukan perlakuan awal tersebut menunjukkan hal yang cukup baik yaitu dapat dilihat bahwa kertas HVS memiliki kondisi atau menghasilkan konsentrasi etanol yang paling tinggi. Konsentrasi etanol tertinggi pada kertas HVS yaitu sebesar 831,6 ppm pada jam ke – 24. Sedangkan kertas koran lebih rendah yakni hanya 760,5 ppm pada jam ke- 48.



Gambar 4. 5 Kurva hubungan waktu fermentasi dengan kosentrasi etanol pada variasi jenis sampel



Perbedaan konsentrasi etanol yang dihasilkan kertas koran, HVS kosong, HVS tinta dapat dilihat pada Gambar 4.5. Ketiga sampel kertas yang tanpa dilakukan perlakuan awal tersebut menunjukkan hal yang cukup menarik yaitu dapat dilihat bahwa kertas HVS memiliki kondisi atau menghasilkan konsentrasi etanol yang lebih tinggi. Konsentrasi etanol tertinggi pada kertas HVS yaitu sebesar 831,56 ppm pada jam ke-24, sedangkan kertas koran lebih rendah yakni hanya 760,54 ppm pada jam ke-48.



Gambar 4. 6 Kurva hubungan waktu fermentasi dengan konsentrasi etanol pada variasi jenis sampel

Dalam penelitian sebelumnya telah didapatkan bahwa perbandingan hasil konsentrasi etanol dari berbagai macam kertas, ternyata kertas HVS bertinta dengan HVS kosong tidak memiliki perbedaan yang berarti, maka dalam penelitian berikutnya praktikan menyempitkan cakupan kertas yaitu menjadi hanya kertas koran dan kertas HVS bertinta saja.

Selain itu, telah diketahui juga bahwa akhir – akhir ini masyarakat sekitar khususnya pada ibukota, banyak sekali limbah – limbah atau limbah kertas pada jenis koran maupun kertas HVS bertinta yang terbuang tanpa adanya penanganan terlebih dahulu, maka sangat efektif bila dalam pengkonversiannya menggunakan kedua jenis kertas tersebut.



Dari gambar 4.6 dapat dilihat hubungan waktu dengan hasil konsentrasi etanol yang dihasilkan pada pH 5, dan ternyata memang kedua jenis limbah kertas tersebut memiliki potensi yang sangat luar biasa. Namun bila lebih diperhatikan lebih lanjut limbah kertas HVS bertinta memiliki potensi konsentrasi etanol lebih tinggi dibandingkan dengan limbah kertas koran. Hal tersebut dikarenakan bahwa limbah HVS bertinta memiliki kandungan selulosa yang lebih tinggi daripada limbah kertas koran.

Hasil tertinggi dari limbah kertas HVS bertinta sekitar 1531,3 ppm pada jam ke - 48 sedangkan limbah kertas koran berkisar 1111,1 ppm pada jam ke-24. Jelas terlihat bahwa terdapat perbedaan yang berarti dalam perbedaan konsentrasi etanol yang dihasilkan.

IV.3.2 Pengaruh Enzim selulase dan Selobiase terhadap Konversi Limbah Kertas Menjadi Etanol

Penggunaan enzim selulase dan selobiase sangat berpengaruh pada konversi kertas menjadi etanol. Konversi etanol yang dihasilkan dengan penggunaan enzim selulase dan selobiase lebih tinggi daripada hanya penggunaan enzim selulase saja. (Sun dan Cheng, 2002). Seperti dijelaskan sebelumnya, bahwa enzim berperan dalam proses sakarifikasi. Enzim selulase dapat memecah selulosa pada kertas menjadi glukosa dan selobiase berfungsi memecahkan selobiosa yang merupakan disakarida menjadi glukosa. Enzim merupakan protein yang memiliki sifat katalis (biokatalis) yang memiliki kemampuan mengaktifkan senyawa lain secara spesifik dan dapat meningkatkan kecepatan reaksi kimia. Reaksi kimia ini akan berjalan lambat jika tidak menggunakan enzim. Enzim dapat mempercepat reaksi kimia karena enzim bekerja dengan menurunkan energi aktivasi dari reaksi tersebut.

Enzim selulase sebenarnya mengandung selobiase. Seperti penjelasan pada Bab II mengenai selulase, enzim ini memiliki 3 komponen yakni endo- β -glukonase yang menyerang polimer selulosa secara acak dan membentuk ujung rantai yang baru, komponen kedua yaitu ekso - β -glukonase yang mengubah produk dari endo- β -



glukonase menjadi selobiosa (diasakarida) dan komponen ke-3 adalah β –glukosidase atau selobiase yang berfungsi untuk memecah selobiosa menjadi glukosa.

Berdasarkan hasil dari kelompok penelitian ini , konsentrasi etanol cukup tinggi yang dihasilkan pada kondisi aktivitas enzim 0,2 dan 0,3 gr dengan enzim selulase dan selobiase berturut – turut adalah 831,56 ppm dan 737,51 ppm yang keduanya sama – sama pada jam ke-24 dan berasal dari HVS kosong. Namun karena kertas HVS kosong kurang efektif untuk dikonversi karena penggunaannya yang cukup mahal dibanding dengan kertas lain, itu tidak menutupi kekurangan yang akhir – akhir ini semakin menumpuknya limbah kertas di negara kita ini. Maka untuk pengujian pada aktivitas enzim 0,5 gr menghasilkan konsentrasi etanol yang tertinggi adalah kertas HVS bertinta dengan waktu inkubasi pada jam ke- 48 sebesar 1531,33 ppm atau sekitar 3,01 %.

Dari analisis lignin didapatkan kandungan selulosa pada kertas HVS tinta sebesar 58,33% , jadi dari hasil analisis perhitungan didapatkan kandungan etanol yang terdapat pada setiap 5 gr kertas HVS tinta sebesar 3,06 % . Maka kandungan etanol dalam selulosa kertas adalah sebesar 5,3 % (Untuk lebih jelas dapat dilihat di halaman lampiran). Secara umum dalam penelitian ini hasil etanol yang didapat sudah cukup baik, tetapi masih tergolong rendah. Rendahnya hasil ini disebabkan oleh proses SSF tidak berjalan dengan optimal karena penelitian ini suhu yang digunakan untuk proses SSF adalah suhu kamar. Menurut Grohmann, 1993, pada temperatur 30⁰C atau suhu kamar enzim selulase hanya melakukan hidrolisis dengan 50% aktifitas kemampuannya. Selain itu hal - hal yang dapat menghambat pembentukan etanol adalah etanol memiliki sifat toksik yang dapat menghambat enzim.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V. I Kesimpulan

Dari penelitian ini yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Penggunaan enzim selulase dan selobiase secara serentak pada produksi bioetanol dari limbah kertas menghasilkan konsentrasi etanol lebih tinggi daripada dengan penggunaan enzim selulase saja.
2. Dapat dibuktikan bahwa hasil etanol dengan menggunakan kombinasi enzim lebih tinggi yaitu : 5,3 % sedangkan apabila menggunakan enzim selulase saja menghasilkan 5,0%
3. Waktu inkubasi yang paling optimum sekitar jam ke- 24 sampai jam ke – 48.
4. Kertas yang paling ekonomis dalam pengkonversian menjadi etanol adalah kertas HVS tinta dengan aktivitas enzim 0,5 gr. Konsentrasi etanol yang dihasilkan limbah kertas HVS bertinta sekitar 1531,33 ppm pada jam ke -48 atau sekitar 17,9%
Maka dapat disimpulkan bahwa penggunaan yang paling optimum adalah pada limbah kertas HVS bertinta dengan kondisi penggunaan aktivitas enzim 0,5 gr



IV.2 Saran

Penelitian ini masih sangat jauh dari sempurna. Maka dari itu butuh penyempurnaan dari berbagai pihak yang dapat dilakukan oleh para peneliti dan mahasiswa lainnya. Beberapa saran dari penulis untuk menyempurnakan tulisan ini meliputi hal – hal berikut :

1. Diperlukan penelitian pada proses *pretreatment* terlebih dahulu yaitu seperti pemberian jamur pelapuk putih, penambahan asam kuat HCl , dan pemanasan khusus agar hasil etanol yang dihasilkan lebih baik.
2. perlunya penelitian mengenai kualitas etanol sebagai zat produk dari hasil penelitian baik secara teknik maupun ekonomi.
3. penggunaan enzim selulase , selobiase dan xylanase secara serentak sehingga tidak hanya selulosa yang dapat dipecah menjadi glukosa , hemiselulosa yang terkandung pada limbah kertas pun dapat didegradasi agar diperoleh konsentrasi etanol yang lebih tinggi.



DAFTAR PUSTAKA

- Aktar, M.; Kirk, T.K.; Blanchette, R.A. 1996. Biopulping an overview of consortia research. Proc. of the 6 th Con. on Biotech. in the Pulp dan Paper Industry: Advances in Applied dan Fundamental Research. Facultas-Universitatsverlag. Vienna, Australia.
- Hendra Taruna.2004.” Studi Awal Pemanfaatan Limbah Kertas HVS Sebagai Bahan Baku Dalam Proses Pembuatan Ethanol”. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Proses Kimia VII. Jakarta
- Berita Iptek, 12 Juli 2005. <http://www.energi.lipi.go.id>
- Be’guin, P, Aubert, JP (1994). *The biological degradation of cellulose*. FEMS Microbiol Rev 13:25–58.
- Tuia, Davis (2005) “How green is WTE?”, Waste Mangement World, Maret 2005.
- Wibawa, Susanto. 2001 *Indonesia Tidak Lagi Negara Minyak*, Jawa Pos, 20 Juli.
- Itoh. H., Wada. M., Honda. Y., Kuwahara. M., Watanabe. T., 2003. *Bioorganosolve pretreatments for simultaneous saccharification and fermentation of beech wood by etanolysis and white rot fungi*. J. Biotechnol. 103, 273-280.
- Carrasco, J.E.; Saiz, M.C.; Navarro., A.; Soriano, P.; Saef, F. and Martinez, M. (1994) *Effect of dilute acid and steam explosion pretreatments on the cellulose structure and kinetics of cellulosic fraction hydrolysis by dilute acids in lignocellulosic materials*. Applied biochemistry and biotechnology. 45/46, 23-34.
- Ghani, B. A. and Richard, P.A.D. 1990 *Enzymatic hydrolysis of lignocellulose: 64 contribution of β -glucosidase*. Asean Food J. 5(2): 51-70.
- Visionengineer*, “perbandingan bilangan oktan bioetanol dan gasoline”. 2004
- US DOE. 2003. *Advanced bioethanol technology*. Website: www.ott.doe.gov/biofuels/, US Department of Energy, Office of Energy Efficiency and Renewable Energy, Office of Transportation Technologies, Washington DC, USA.



- Grohmann, K. 1993. *Simultaneous saccharification and fermentation of cellulosic substrates to ethanol*. Biotechnol. Agric. Ser. 9: 183-209.
- Lee, S. S., J. K. Ha, H. S. Kang, T. McAllister, and K.-J. Cheng. 1997. *Overview of energy metabolism, substrate utilization and fermentation characteristics of ruminal anaerobic fungi*. Korean J. Anim. Nutr. Feedstuffs 21:295–314.
- Mansfield SD, Mooney C, Saddler JN (1999) *Substrate and enzyme characteristics that limit cellulose hydrolysis*. Biotechnology Progress 15: 804-816.
- Amsal, Tino. “Pemanfaatan Limbah Pisang untuk Pembuatan Etanol.” Skripsi, Program Sarjana Fakultas Teknik UI, Depok, 2005.
- Anonim, 1990, CIC : Kertas dan Pulp, Jakarta.
- Ballesteros, I., Ballesteros, M., Cabañas, A., Carrasco, J., Martin, C., Negro, M. J., Saez, F. and Saez R. 1991. *Selection Of Thermotolerant Yeast For Simultaneous Saccharification And Fermentation (SSF) Of Cellulose To Ethanol*. Appl. Biochem. Biotechnol. 28/29: 307-315.
- Blanchette, R.A., Burnes, T.A., Eerdmans, M.M., Akhtar, M., 1992. *Evaluating Isolates Of Phanerochaete Chrysosporium And Ceriporiopsis Subvermispora For Use In Biological Pulping Process*. Holzforschung 46, 105-115.
- Bollok, M., Reczey, K., Zacchi, G. (2000). *Simultaneous saccharification dan fermentation of steam-pretreated spruce to etanol*. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 17, 255-259
- Buckle (1985), didalam Sijabat, H. R. (2001). *Pemanfaatan Air Kelapa Sebagai Media Dasar Pertumbuhan untuk Memproduksi Etanol oleh S. cerevisiae*. Fakultas Teknologi Pertanian IPB, Bogor.
- Brunow, G., Karhunen, P., Lundquist, K., Olson, S. dan Stomberg, R. (1995). *Investigation of Lignin Models of the Biphenyl Type by X-Ray Crystallography dan NMR Spectroscopy*, *J. Chem. Crystallogr.* 25, 1-10.
- Cantarella, M., Cantarella, L., Gallifuoco, A., Spera, A., Alfani, F., (2004). *Comparison of different detoxification methods for steam-exploded poplar wood as a substrat for the bioproduction of etanol in SHF dan SSF*. *Process biochem.* 39, 1533-1542.
- Castello, R., dan Chum, H. (1998). *Biomass, bioenergi dan carbon management*. In “Bioenergi '98: *Expanding Bioenergi Partnerships*” (D. Wichert, ed.). pp. 11-17.



- Eggert, C., Temp, U., Dean, J.F. and Eriksson, K.-E. (1996a). *A fungal metabolite mediates degradation of non-phenolic lignin structures and synthetic lignin by laccase*. FEBS Lett. 391:144-148.
- Eriksson, K.L. (1998). Past successes dan future possibilities for biotechnology in the pulp dan paper industry. Proc. 7th. Inter. Con. Biotechnology in the Pulp dan Paper Industry. Vol A. Canada
- Fardiaz, S. (1992). *Mikrobiologi Pangan*. Gramedia Pustaka Utama Jakarta
- Lynd, L.R., Bothast, R.J., Wyman, D.E. 1991. Fuel etanol from cellulosic biomass. Science 251 :1318-1323.
- Martin, C., Galbe, M., Nilvebrant, N.O., Jonsson, L.J., 2002. Comporoson of the fermentability of enzymatic hydrolyzates of surgarcane bagas pretreated by steam
- Millan, J.D. 1997. Bioetanol production: status dan prospects. Renewable Eng. 10, 295-302.
- Sjostrom, Eero. Kimia Kayu edisi 2. Gajah Mada University Press, 1998
- Wyman, C.E., 1994. Etanol from ligcellulosic biomass: Teachnology, economics, and opportunites. Biores. Technol. 50, 3-6.
- Walker, Graeme M. *Yeast Physiologi and Bioetechnology*. John Wiley ad Sons. Nem York, 1998

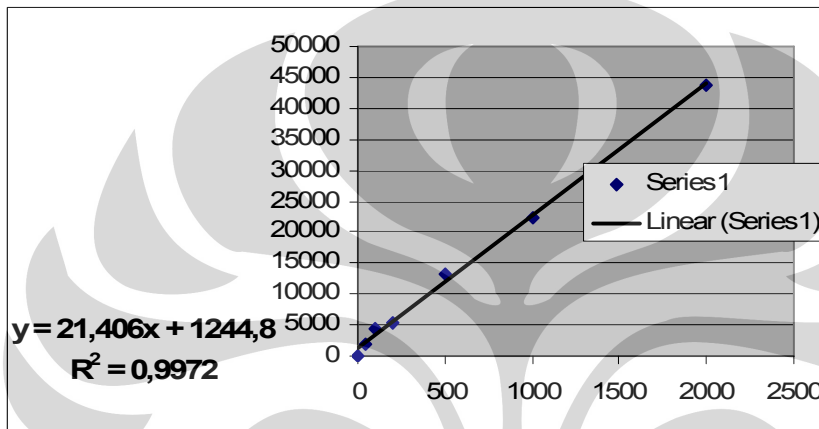


LAMPIRAN

Lampiran 1

CONTOH PENGOLAHAN (PERHITUNGAN) DATA KONSENTRASI ETANOL

1. Setelah dilakukan kalibrasi terhadap beberapa konsentrasi etanol, maka diperoleh kurva kalibrasi dengan persamaan garis sebagai berikut :



$$y = 21,406x + 1244,8$$

dimana :

y = luas peak

x = % volume etanol

2. Kemudian dilakukan penginjeksian sample dan diperoleh data luas peak. Data tersebut disubsitusikan ke dalam persamaan di atas maka didapatkan % volume dari sample.

Contoh : data luas peak = y = 24876

$$24876 = 21,406 x + 1244,8 \text{ maka } x = \frac{(24876 - 1244,8)}{21,406} = 1103,95 \text{ ppm}$$

3. Dari hasil pengujian analisa lignin dengan menggunakan analisa *wise*, terdapat beberapa kandungan di dalamnya :



Jenis Kertas	Lignin	Hemilulosa	Selulosa	Residu
Koran	1,66	31,19	49,14	8,01
HVS tinta	1,33	30,26	58,33	10,08
HVS kosong	1,21	30,26	60,51667	18,01

4. Perhitungan Kadar Etanol dalam Kertas HVS tinta:

Dari sampel telah diketahui volume 100ml , dengan kandungan tertinggi sebesar 1531,33 ppm

Jadi kadar etanol dalam 5 gr kertas HVS tinta :

$$1531,33 \text{ ppm} \times 100\text{ml} \times 10^{-3} = 153,13 \text{ mg etanol}$$

Maka :

$$\frac{0,1531 \text{ gr}}{5 \text{ gr}} \times 100\% = 3,06 \%$$

Bila kadar etanol dalam selulosa yaitu :

$$m = \frac{3,06}{58} \times 100\% \\ = 5,17 \%$$



Lampiran 2

KESELURUHAN DATA KONSENTRASI ETANOL ANG DIPEROLEH :

1. Penggunaan Enzim Selulase dan Selobiase

Aktivitas Enzim 0,2 gr

waktu	konsentrasi (ppm)		
	koran	hvs	hvs tinta
6	208,8	1,41	160,3
12	562,01	616,61	652,84
24	649,09	831,56	554,61
36	677,85	714,26	361,62
48	760,54	826,05	621,32
72	338,1	615,05	362,69
96	5,55	579,35	0

Aktivitas Enzim 0,3 gr

waktu	konsentrasi		
	koran	Hvs	hvs tinta
6	17,34	6,65	600,88
12	242,43	546,28	603
24	513,43	737,51	713,47
36	714,26	16,99	542,43
48	434,65	0	460,55
72	0	0	0
96	0	0	0

Aktivitas Enzim 0,5 gr

Waktu (jam)	Konsentrasi (ppm)	
	Koran	HVS Tinta
6	936,36	719,08
12	673,7	814,99
24	1111,05	866,17
36	907,47	662,42
48	0	1531,33
72	0	0