



UNIVERSITAS INDONESIA

**KONVERSI BAGAS MENJADI ETANOL DENGAN
KOMBINASI PERLAKUAN AWAL DAN ENZIM DALAM
PROSES SAKARIFIKASI DAN FERMENTASI SEREMPAK
(SSF)**

DISERTASI

**M. SAMSURI
8405002021**

**FAKULTAS TEKNIK
DEPARTEMEN TEKNIK KIMIA
PROGRAM PASCA SARJANA TEKNIK KIMIA
DEPOK
NOVEMBER 2008**



UNIVERSITAS INDONESIA

**KONVERSI BAGAS MENJADI ETANOL DENGAN
KOMBINASI PERLAKUAN AWAL DAN ENZIM DALAM
PROSES SAKARIFIKASI DAN FERMENTASI SEREMPAK
(SSF)**

DISERTASI

**DIAJUKAN SEBAGAI SALAH SATU SYARAT
MEMPEROLEH GELAR DOKTOR BIDANG TEKNIK KIMIA**

**M. SAMSURI
8405002021**

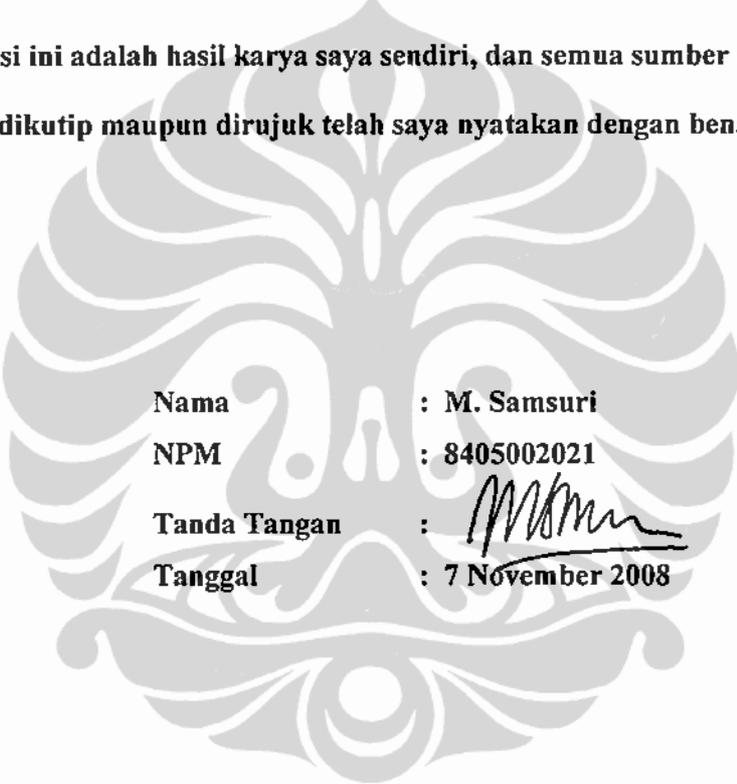
**FAKULTAS TEKNIK
DEPARTEMEN TEKNIK KIMIA
PROGRAM PASCA SARJANA TEKNIK KIMIA
DEPOK
NOVEMBER 2008**

PERNYATAAN ORISINALITAS DISERTASI

Disertasi dengan judul:

**KONVERSI BAGAS MENJADI ETANOL DENGAN KOMBINASI
PERLAKUAN AWAL DAN ENZIM DALAM PROSES SAKARIFIKASI
DAN FERMENTASI SEREMPAK (SSF)**

**Disertasi ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang
dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.**



Nama : M. Samsuri
NPM : 8405002021
Tanda Tangan : 
Tanggal : 7 November 2008

HALAMAN PENGESAHAN

Disertasi ini diajukan oleh

Nama : M. Samsuri
NPM : 8405002021
Program Studi : Teknik Kimia
Judul Disertasi : Konversi Bagas Menjadi Etanol Dengan Kombinasi
Perlakuan Awal Dan Enzim Dalam Proses Sakarifikasi
Dan Fermentasi Serempak (SSF)

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Doktor pada Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Indonesia.

DEWAN PENGUJI

Promotor : Prof. Dr. Ir. Muhammad Nasikin, M. Eng

Kopromotor : Dr. Ing. Ir. Misri Gozan, M.Tech

Prof. Dr. Ir. Bambang Prasetya

Tim Penguji : Prof. Dr. Ir. Martin Djamin, M.Sc

Dr. Ir. Setijo Bismo, DEA

Ir. Mahmud Sudibandriyo, M.Sc, Ph.D

Ariyanti Oetari, Ph.D

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur Alhamdulillah penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, karena atas rahmat dan karunia Allah penulis dapat menyelesaikan disertasi ini dengan baik. Sholawat teriring salam kepada Nabi Muhammad SAW sebagai panutan penulis dalam kehidupan sehari-hari selaku seorang muslim.

Secara khusus penulis juga mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. **Prof. Ir. Ir. Muhammad Nasikin, M.Eng** selaku promotor yang telah bersedia meluangkan waktu untuk menjadi guru dan memberi pengarahan, diskusi, bimbingan serta persetujuan sehingga disertasi ini dapat selesai dengan baik
2. **Dr. Ing. Ir. Misri Gozan, M. Tech** dan **Prof. Dr. Ir. Bambang Prasetya** yang telah bersedia meluangkan waktu untuk menjadi guru dan memberi pengarahan, diskusi, bimbingan serta persetujuan sehingga disertasi ini dapat selesai dengan baik semoga Allah membalasnya.

Selain itu penulis juga ingin mengucapkan terima kasih dan apresiasi yang mendalam kepada:

1. Para tim penguji **Prof. Dr. Martin Djamin, Ir. Mahmud Sudibandriyo, M.Sc, PhD, Dr. Ir. Setijo Bismo, DEA** dan **Aryanti Oetari, Ph.D** atas segala masukannya dalam penyusunan disertasi ini.
2. **Prof. Dr. Carunia Mulya Firdausy** dan **Dr. Fathoni Muchtadi, MA** dari **Kementerian Negara Riset dan Teknologi** dan seluruh staf pengelola Rintisan Program Pascasarjana KNRT selaku pihak yang bertanggung jawab dan membantu dalam memberikan beasiswa program doktoral melalui Kementerian Negara Riset dan Teknologi.
3. **Dr. Ir. Teguh Raharjo** dan **Ir. Hari Purwanto, M.Sc. DIC** selaku pimpinan saya di Kedeputan Bidang Program Riptek Kementerian Negara Riset dan Teknologi, yang telah memberikan kesempatan dan dukungan motivasi untuk menyelesaikan program doktoral ini.

4. **Prof. Widodo Wahyu Purwanto**, selaku ketua Departemen Teknik Kimia UI dan seluruh civitas akademik Teknik Kimia UI serta pegawai administrasi UI Mas Sri, Pak Masturo dan lain-lain.
5. **Prof. Dr. Takashi Watanabe** dan **Dr. Yoichi Honda** dari Laboratory of Biomass Conversion Kyoto University yang telah memberikan kesempatan untuk melakukan riset di Kyoto University.
6. **Prof. Dr. Lilik Hendrajaya**, **Dr. Ir. Bambang Sapto Pratomosunu**, **Dr. Ir. Any Sulaswaty** selaku pihak yang pernah bertanggung jawab dalam memberikan beasiswa melalui Kementerian Negara Riset dan Teknologi.
7. **Dr. Bambang Setiadi** dan **Prof. Dr. Bambang Sutjiatmo** dan Kepala Biro Umum KNRT atas dukungan dan rekomendasinya untuk melanjutkan studi.
8. **Ibu Tami Indiyanti** dan **Ibu Euis Hermiati**, **Ibu Wida** dan teman-teman dari Kimia LIPI dan Biomaterial LIPI yang telah membantu pelaksanaan penelitian dari sebelum dan selama saya menempuh program doctoral.
9. **Ratri Sugesti S. Dewi, S.Pd** sebagai istri yang tercinta yang senantiasa memberikan semangat, dukungan dan do'a dari segala sisi yang sulit untuk diungkapkan dengan kata-kata serta senantiasa mengurus anak-anak dengan penuh cinta dan kasih sayang.
10. Kedua anaku yang tercinta **Zahra Shinta Guanzho** dan **Zain Akhdan Hanan** dengan segala ketulusan senyumnya memberikan semangat kepada saya untuk segera menyelesaikan studi.
11. Mbah Nah, Mbah Man dan Mail selaku orang tua dan adik yang telah memberikan dukungan doa dan semangat sehingga saya mampu menyelesaikan S3 ini.
12. Pak Suldi, Bu Khodijah dan Dek Putri selaku mertua tercinta yang senantiasa memberikan suntikan semangat dan doa kepada saya.
13. Teman-teman tim rocker Pak Farid, Pak Edi, Pak Hari J, Pak Malikus, Pak Lukito, Pak Pram, Kang Toto, Irma, Yeni, Rini dan Lina sebagai teman berdiskusi. Pak Ipul selaku atasan langsung yang selalu memberikan peluang kepada saya untuk maju serta membantu diskusi-diskusi bahasa.
14. Teman-teman di AD-PTE dan Kedeputusan Bidang Program Riptek yang tidak saya sebut satu persatu namun tidak mengurangi rasa persaudaraan kita semua.

15. Mbak Tari yang selalu menjaga anak-anak dan memberi support, Gito, Ozi dan teman-teman sejawad yang telah memberikan semangat dan do'a untuk terselesaikan disertasi ini.
16. Kepada semua orang-orang yang membantu terlaksananya penelitian ini yang tidak dapat saya sebut satu persatu.

Depok, 7 November 2008
Penulis



M. Samsuri



HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : M. Samsuri
NPM : 8405002021
Program Studi: Teknik Kimia
Departemen : Teknik Kimia
Fakultas : Teknik Universitas Indonesia
Jenisa Karya : Disertasi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneksklusif (Non-exclusive Royalty-Free Right) atas karya ilmiah saya yang berjudul: **Konversi Bagas Menjadi Etanol Dengan Kombinasi Perlakuan Awal Dan Enzim Dalam Proses Sakarifikasi Dan Fermentasi Serempak (SSF)** beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Rolyati Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok
Pada tanggal : 7 November 2008
Yang menyatakan



M. Samsuri

ABSTRAK

Nama : M. Samsuri
Program Studi : Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Indonesia
Judul : Konversi Bagas Menjadi Etanol Dengan Kombinasi Perlakuan Awal Dan Enzim Dalam Proses Sakarifikasi Dan Fermentasi Serempak (SSF)

Salah satu prioritas dalam agenda jangka panjang pengembangan energi baru dan terbarukan yang tertuang dalam Agenda Riset Nasional (ARN) adalah pengembangan bioetanol dari material lignoselulosa. Masalah yang mendasar dalam proses peningkatan produksi etanol dari material lignoselulosa termasuk bagas adalah bagaimana mengkonversi secara menyeluruh polisakarida menjadi monosakarida dengan memanfaatkan enzim-enzim yang spesifik. Untuk material bagas, yang dimaksud konversi menyeluruh adalah konversi selulosa, xylan dan selobiosa. Selain itu, keberadaan lignin dalam bagas dapat menghambat akses enzim dalam memecah polisakarida menjadi monosakarida, sehingga menyebabkan produksi etanol tidak optimal.

Pada penelitian ini, telah dilakukan penelitian dengan teknologi proses baru untuk meningkatkan produksi etanol dari bagas melalui proses sakarifikasi dan fermentasi serempak (SSF). Penelitian yang dilakukan adalah mencakup proses menyeluruh perlakuan awal dengan beberapa jamur pelapuk putih (*Ceriporiopsis subvermispora*, *Lentinus edodes* dan *Pleurotus ostreatus*) dan *steaming*, hidrolisis menggunakan kombinasi multi enzim selulase, selobiase dan xylanase serta proses fermentasi dengan *Saccharomyces cerevisiae* AM 12 yang dilakukan secara serempak.

Kombinasi enzim selulase-selobiase, selulase-xylanase dan selulase-selobiase-xylanase meningkatkan produksi etanol dari bagas dalam proses SSF. Konsentrasi etanol tertinggi yang dihasilkan dengan kombinasi enzim selulase-selobiase, selulase-xylanase dan selulase-selobiase-xylanase berturut-turut 6,9 g/L, 8,6 g/L dan 9,8 g/L, sedangkan dengan enzim selulase saja sebesar 6,0 g/L. Persentase *ethanol yield* (berbasis berat bagas) yang dihasilkan dengan kombinasi enzim tersebut berturut-turut sebesar 13,9%, 17,2% dan 19,7%, sedangkan dengan enzim selulase saja sebesar 11,95%. Pencapaian hasil teori (*theoretical yield*) tertinggi dengan menggunakan kombinasi enzim selulase-selobiase-xylanase sebesar 49,5%, sedangkan dengan enzim selulase saja pencapaian hasil teori sebesar 42,0%.

Peningkatan produksi etanol dengan enzim selulase-selobiase membuktikan bahwa selain glukosa, selobiosa juga terbentuk dalam proses hidrolisis parsial selulosa oleh enzim selulase. Selobiosa yang terbentuk kemudian secara simultan dikonversikan menjadi glukosa oleh enzim selobiase, yang dibuktikan dengan peningkatan glukosa sebesar 16,2% setelah proses dihidrolisis dengan enzim selulase-selobiase. Selanjutnya glukosa yang terbentuk secara simultan dikonversi menjadi etanol oleh *S. cerevisiae*.

Selain itu, peningkatan jumlah etanol yang dihasilkan dengan kombinasi enzim selulase-selobiase-xylanase juga membuktikan bahwa reaksi multi enzim dengan masing-masing substrat yang spesifik dapat terjadi dalam proses SSF. Reaksi multi enzim tersebut yaitu reaksi hidrolisis selulosa dengan selulase menjadi glukosa, hidrolisis xylan dengan xylanase menjadi xylosa dan hidrolisis selobiosa menjadi glukosa dengan enzim selobiase. Selanjutnya secara simultan glukosa dan xylosa yang terbentuk dikonversi menjadi etanol dengan *S. cerevisiae*. Hal ini dibuktikan dengan menurunnya kadar selulosa dan hemiselulosa setelah proses SSF berlangsung yaitu dari 50% dan 20% menjadi 22% dan 10%.

Peningkatan sangat signifikan pada produksi etanol dari bagas dengan kombinasi enzim selulase-selobiase, selulase-xylanase dan selulase-selobiase-xylanase setelah dilakukan kombinasi perlakuan awal *C. subvermispota* dan *steaming* 180°C. Konsentrasi etanol yang dihasilkan dengan kombinasi enzim dan perlakuan awal tersebut berturut-turut sebesar 12,9 g/L, 13,5 g/L dan 18,2 g/L. Dengan persentase *ethanol yield* yang dihasilkan berbasis berat bagas sebesar 25,7%, 26,9% dan 36,4%.

Peningkatan etanol yang dihasilkan setelah perlakuan awal dengan *C. subvermispota* dan *steaming* disebabkan adanya proses biodegradasi lignin oleh *C. subvermispota* dan pelarutan kristal-kristal selulosa dan hemiselulosa selama proses perlakuan dengan *steaming* berlangsung. Hal ini dibuktikan dengan adanya penurunan kadar lignin sebesar 26,5%, selulosa sebesar 9,4% dan hemiselulosa 14,1% setelah kombinasi perlakuan awal *C. subvermispota* dan *steaming* pada suhu 180°C.

Ethanol yield tertinggi 36,4% dengan pencapaian *theoretical yield* sebesar 91,4%, yaitu dengan enzim selulase-selobiase-xylanase yang dikombinasikan dengan perlakuan awal *C. subvermispota* dan *steaming* 180°C. Pencapaian hasil teori ini meningkat sangat signifikan dibandingkan dengan etanol yang dihasilkan jika hanya menggunakan enzim selulase saja (42,03%). Peningkatan tersebut membuktikan bahwa kombinasi perlakuan awal *C. subvermispota* dan *steaming* yang dipadukan dengan hidrolisis multi enzim selulase-selobiase-xylanase sangat efektif dalam mengkonversi bagas menjadi etanol dalam proses SSF. Hal ini dibuktikan dengan menurunnya kadar selulosa dan hemiselulosa pada residu bagas setelah proses SSF berlangsung yaitu dari 50% dan 20% menjadi 4,5% dan 3,5%.

Kata kunci:

Bagas, *Ceriporiopsis subvermispota*, etanol, jamur pelapuk putih, selobiase, SSF, *steaming*, selulase, xylanase, *yeast*

ABSTRACT

Name : M. Samsuri
Study Program : Chemical Engineering, Faculty of Engineering, University of Indonesia
Title : Conversion Of Bagasse To Ethanol With Combination Pre-Treatments And Enzymes In Simultaneous Saccharification And Fermentation (SSF)

One of priority in the long term National Research Agenda for renewable energy development is bioethanol production from lignocellulosic materials. The problem in increasing ethanol production from lignocellulosic material, including bagasse, is how to convert completely polysaccharide to monosaccharide using specific enzymes. Complete conversion of bagasse includes how to convert cellulose, xylan and cellobiose. Another problem is the existence of lignin in bagasse, which makes it difficult for enzyme to access and, thus to convert polysaccharide to monosaccharide. It causes unoptimal ethanol production.

Novel technology to produce ethanol from bagasse by simultaneous saccharification and fermentation (SSF) was carried out. Experiments included pre-treatments of bagasse with several white rot fungi (*Ceriporiopsis subvermispora*, *Lentinus edodes* and *Pleurotus ostreatus*) and steaming; hydrolysis with combination cellulase, cellobiase and xylanase enzymes; followed by fermentation using *Saccharomyces cerevisiae* AM 12.

Combination of cellulase-cellobiase, cellulase-xylanase and cellulase-cellobiase-xylanase increased the ethanol production from bagasse. The highest ethanol concentration after hydrolysis with those enzymes were 6.9 g/L, 8.6 g/L and 9.8 g/L, respectively, compared to using cellulase only which was 6.0 g/L. The highest yield of ethanol (based on bagasse) with combination of those enzymes were 13.9%, 17.2% and 19.68%, while using cellulase only was 12.0%. The highest result of ethanol production in theoretical yield with combination of enzymes cellulase-cellobiase-xylanase is 49.5%, while using cellulase only 42.0%.

Beside glucose, the increase of ethanol production from bagasse with cellulase-cellobiase enzymes confirmed that cellobiose was also produced in partial hydrolysis of cellulose with cellulase enzyme. Cellobiose was then converted to glucose simultaneously with cellobiase enzyme, this was revealed by the increase of glucose content about 16.2% after hydrolysis with cellulase-cellobiase enzymes. And then glucose was converted to ethanol simultaneously with *S. cerevisiae*.

The increase of ethanol yields with combination of cellulase-cellobiase-xylanase enzymes confirmed that multi enzymes reaction took place on specific substrates. This multiple reactions includes hydrolysis of cellulose to glucose by cellulase,

hydrolysis of xylan to xylose by xylanase enzyme and hydrolysis of cellobiose to glucose by cellobiase enzyme. Then glucose and xylose were converted to ethanol simultaneously by *S. cerevisiae*. This phenomenon was revealed by weight loss of cellulose and hemicellulose of bagasse after SSF process from 50% and 20% to 22% and 10%, respectively.

The significance increase of the ethanol production was achieved after pre-treatment with combination of *C. subvermispora* and steaming 180°C. The highest ethanol production at combination of cellulase-cellobiase, cellulase-xylanase and cellulase-cellobiase-xylanase after pre-treatment *C. subvermispora* and steaming 180°C were 12.9 g/L, 13.5 g/L and 18.2 g/L, respectively. The highest yield of ethanol (based on bagasse) with those combination were 25.7%, 26.9% dan 36.4%, respectively.

The increase of ethanol yield after pre-treatment with *C. subvermispora* and steaming was caused by lignin biodegradation of bagasse with *C. subvermispora* and dissolution of cellulose and hemicellulose crystalline in steaming treatment process. This was revealed by lignin loss about 26.5%, cellulose loss about 9.4% and hemicellulose loss about 14.1% after pre-treatment with combination of *C. subvermispora* and steaming at 180°C.

The highest achievement of ethanol production in theoretical yield with combination cellulase-cellobiase-xylanase after pre-treatment with combination of *C. subvermispora* and steaming at 180°C was 91.4%. This was a very significant increase compared to the ethanol production in theoretical yield when using cellulase only (42.0%). This increase of ethanol yield revealed that combination of pre-treatment and hydrolysis of multi enzymes very effectively converting bagasse to ethanol in SSF. This phenomenon was confirmed by weight loss of cellulose and hemicellulose in bagasse after SSF process from 50% and 20% to 4.5% and 3.5%.

Key words:

Bagasse, cellulase, cellobiase, *Ceriporiopsis subvermispora*, ethanol, SSF, steaming, white rot fungi, xylanase, yeast

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
PERNYATAAN ORISINALITAS DISERTASI	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
UCAPAN TERIMA KASIH	iv
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR TABEL	xviii
DAFTAR ISTILAH	xx
DAFTAR LAMPIRAN	xxii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Perumusan Masalah	7
1.3 Tujuan Penelitian	8
1.4 Ruang Lingkup Penelitian	8
1.5 Batasan Masalah	9
1.6 Manfaat dan Nilai Kebaruan Penelitian	10
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Etanol	11
2.2 Kebijakan Pengembangan dan Produksi Bioetanol di Berbagai Negara	12
2.2.1 Amerika Serikat	14
2.2.2 Brazil	16
2.2.3 Kanada	17
2.2.4 Negara-Negara Eropa	18
2.2.5 Kebangkitan Negara Asia dalam Pengembangan Bioetanol	19
2.3 Kebijakan Pengembangan Etanol di Indonesia	22
2.4 Bagas Sebagai Bahan Baku Bioetanol	23
2.4.1 Selulosa	24

2.4.2	Hemiselulosa	27
2.4.3	Lignin	28
2.5	Proses Konversi Material Lignoselulosa Menjadi Etanol	30
2.6	Enzim	32
2.6.1	Enzim Selulase	37
2.6.2	Enzim Selobiase	38
2.6.3	Enzim Xylanase	39
2.7	Hidrolisis dengan Enzim	40
2.8	Fermentasi	42
2.9	Sakarifikasi dan Fermentasi Serempak (SSF)	44
2.10	Perlakuan Awal	46
2.10.1	Perlakuan secara Fisik	46
2.10.2	Perlakuan secara Kimia	47
2.10.3	Perlakuan secara Hayati	48
2.11	Status Penelitian Bioetanol Saat Ini	50
2.12	Penelitian Bioetanol di Indonesia	53
 BAB III METODOLOGI PENELITIAN		
3.1	Skema Penelitian	55
3.2	Variabel	56
3.3	Prosedur Penelitian	56
3.3.1	Persiapan Sampel	56
3.3.2	Perlakuan Awal	57
3.3.3	Persiapan SSF	58
3.3.4	Pengkondisian Selama SSF	58
3.3.5	Analisis	59
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		
4.1	Komposisi Kimia Bagas	61
4.2	Konversi Bagas Menjadi Etanol dengan Enzim Selulase	62
4.3	Konversi Bagas Menjadi Etanol dengan Enzim Selulase-Selobiase	67
4.4	Konversi Bagas Menjadi Etanol dengan Enzim Xylanase	73
4.5	Konversi Bagas Menjadi Etanol dengan Enzim Selulase-Xylanase	79
4.6	Konversi Bagas Menjadi Etanol dengan Enzim Selulase-Selobiase-Xylanase	85
4.7	Pengaruh Perlakuan Awal Jamur Pelapuk Putih Terhadap Konversi Bagas Menjadi Etanol	89
4.7.1	Pengaruh Perlakuan Jamur Pelapuk Putih Terhadap Konversi Bagas Menjadi Etanol dengan Enzim Selulase-Selobiase	89
4.7.2	Pengaruh Perlakuan Jamur Pelapuk Putih <i>C. subvermispora</i> Terhadap Konversi Bagas Menjadi Etanol dengan Enzim Selulase-Xylanase	94

4.7.3	Pengaruh Perlakuan Jamur Pelapuk Putih <i>C. subvermispora</i> Terhadap Konversi Bagas Menjadi Etanol dengan Enzim Selulase-Selobiase-Xylanase	97
4.8	Pengaruh Perlakuan Awal <i>Steaming</i> Terhadap Konversi Bagas Menjadi Etanol	99
4.8.1	Pengaruh Perlakuan Awal <i>Steaming</i> Terhadap Konversi Bagas Menjadi Etanol dengan Enzim Selulase-Selobiase	99
4.8.2	Pengaruh Perlakuan Awal <i>Steaming</i> Terhadap Konversi Bagas Menjadi Etanol dengan Enzim Selulase-Xylanase	102
4.8.3	Pengaruh Perlakuan Awal <i>Steaming</i> Terhadap Konversi Bagas Menjadi Etanol dengan Enzim Selulase-Selobiase-Xylanase	104
4.9	Pengaruh Kombinasi Perlakuan Jamur Pelapuk Putih dan <i>Steaming</i> Terhadap Konversi Bagas Menjadi Etanol	106
4.9.1	Pengaruh Kombinasi Perlakuan Jamur Pelapuk Putih dan <i>Steaming</i> Terhadap Konversi Bagas Menjadi Etanol dengan Enzim Selulase-Selobiase	106
4.9.2	Pengaruh Kombinasi Perlakuan Jamur Pelapuk Putih dan <i>Steaming</i> Terhadap Konversi Bagas Menjadi Etanol dengan Enzim Selulase-Xylanase	109
4.9.3	Pengaruh Kombinasi Perlakuan Jamur Pelapuk Putih dan <i>Steaming</i> Terhadap Konversi Bagas Menjadi Etanol dengan Enzim Selulase-Selobiase-Xylanase	112
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1	Kesimpulan	120
5.2	Saran	124
DAFTAR REFERENSI		
LAMPIRAN		

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1	Produksi Etanol Beberapa Negara Di Dunia 12
Gambar 2.2	Struktur Selobiosa 24
Gambar 2.3	Struktur Selulosa 25
Gambar 2.4	Struktur Hemiselulosa Untuk Hardwood Dan Softwood 28
Gambar 2.4	Struktur Lignin 29
Gambar 2.6	Tahapan Proses Produksi Bioetanol Dari Material Lignoselulosa Dengan Proses SHF Dan SSF 31
Gambar 2.7	Diagram Alir Proses Produksi Etanol Dari Material Lignoselulosa (Bagas) Dari Hulu Sampai Hilir 32
Gambar 2.8	Komponen Enzim Secara Umum 33
Gambar 2.9	Mekanisme Kerja Enzim 35
Gambar 2.10	Diagram Energi Reaksi Katalisis (A) Reaksi Biasa Tanpa Enzim (B) Reaksi Enzimatik 36
Gambar 2.11	Jenis Dan Aksi Enzim Selulase 38
Gambar 2.12	Aksi Enzim Selobiase 39
Gambar 2.13	Aksi Enzim Xylanase Dalam Memecah Xylan Menjadi Xylosa 40
Gambar 2.14	Skema Reaksi Dalam Proses Simultaneous Sacharification Dan Fermentation (SSF) 45
Gambar 2.15	Gambaran Proses Hidrolisis Enzim dan Fermentasi Pada Konversi Material Lignoselulosa Menjadi Etanol 54
Gambar 3.1	Skema Penelitian 55
Gambar 3.2	Ilustrasi Gambar Standar Penentuan Konsentrasi Etanol 60
Gambar 4.1	Komposisi Lignin, Selulose Dan Hemiselulosa Pada Bagas 61
Gambar 4.2	Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase Dengan Enzim Selulase Pada pH=5 (Konsentrasi Substrat 50 G/L Dan 10 FPU Enzim Selulase). 62
Gambar 4.3.	Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase Dengan Variasi pH (4, 4,5 Dan 5) Melalui Proses SSF 63
Gambar 4.4	Data Konsentrasi Glukosa Pada Bagas Setelah Dihidrolisis Dengan Enzim Selulase 64

Gambar 4.5.	Persentase Etanol Yang Dihasilkan Dari Bagas Berdasarkan Perhitungan Teoritis (Berdasarkan Berat Selulosa Dan Berat Bagas Murni)	66
Gambar 4.6.	Komposisi Lignin, Selulosa Dan Hemiselulosa Bagas Setelah Proses SSF Menggunakan Enzim Selulase	66
Gambar 4.7.	Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase Pada pH=5 Melalui Proses SSF	68
Gambar 4.8.	Konsentrasi Etanol Dari Bagas Setelah Proses SSF Dengan Enzim Selulase- Selobiase Dengan Variasi pH (4 S.D 6)	69
Gambar 4.9.	Perbandingan Produksi Bioetanol Dari Bagas Dengan Enzyme Selulase Serta Kombinasi Selulase-Selobiase (Konsentrasi Substrat 50 G/L, pH=5 Dan 10FPU-5FPU Selulase-Selobiase)	69
Gambar 4.10.	Komposisi Lignin, Selulosa Dan Hemiselulosa Bagas Setelah Proses SSF Menggunakan Enzim Selulase-Selobiase	72
Gambar 4.11.	Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Xylanase Dalam Proses SSF Pada pH=5.	74
Gambar 4.12.	Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Xylanase Dengan Variasi pH (4 S.D 6) Melalui Proses SSF	75
Gambar 4.13	Hidrolisis Hemiselulosa Bagas Menjadi Xilosa Menggunakan Enzim Xylanase Dengan Berbagai Variasi Enzim	76
Gambar 4.14	Persentase <i>Ethanol yield</i> Maksimal Dari Bagas Berdasarkan Perhitungan Teoritis (Berdasarkan Hemiselulosa Dan Bagas Murni)	77
Gambar 4.15.	Komposisi Lignin, Selulosa Dan Hemiselulosa Bagas Setelah Proses SSF Menggunakan Enzim Xylanase	78
Gambar 4.16.	Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Xylanase Dalam Proses SSF Pada pH=5.	80
Gambar 4.17.	Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Kombinasi Enzim Selulase-Xylanase Dengan Variasi Ph Melalui Proses SSF (Enzim Selulase-Xylanase 10FPU-5FPU)	80
Gambar 4.18.	Persentase <i>Ethanol yield</i> Maksimal Dari Bagas Berdasarkan Perhitungan Teoritis Dengan Enzim Selulase-Xylanase (Berdasarkan Hemiselulosa Dan Bagas Murni)	82
Gambar 4.19.	Komposisi Lignin, Selulosa Dan Hemiselulosa Bagas Setelah Proses SSF Menggunakan Enzim Selulase-Xylanase	84
Gambar 4.20	Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase-Xylanase Dalam Proses SSF Pada pH=5.	86

Gambar 4.21	Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Kombinasi Enzim Selulase-Xylanase Dengan Variasi pH 4; 4,5 Dan 5 Melalui Proses SSF (Konsentrasi Substrat 50g/L)	86
Gambar 4.22.	Komposisi Lignin, Selulosa Dan Hemiselulosa Bagas Setelah Proses SSF Menggunakan Enzim Selulase-Selobiase	88
Gambar 4.23	Pengaruh Perlakuan Jamur Pelapuk Putih Selama 6 Minggu Terhadap Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase	90
Gambar 4.24	Pengaruh Perlakuan <i>C. Subvermispora</i> Terhadap Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Xylanase	95
Gambar 4.25	Pengaruh Perlakuan Jamur Pelapuk Putih Terhadap Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selulase-Xylanase	97
Gambar 4.26	Hasil Foto SEM Struktur Permukaan Bagas (A) Struktur Permukaan Bagas Tanpa Perlakuan Awal (B) Struktur Permukaan Bagas Setelah Dilakukan Perlakuan Awal Dengan <i>C. Subvermispora</i>	100
Gambar 4.27	Pengaruh Perlakuan Dengan <i>Steaming</i> Terhadap Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase.	102
Gambar 4.28	Pengaruh Perlakuan Dengan <i>Steaming</i> Terhadap Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Xylanase.	104
Gambar 4.29.	Pengaruh Perlakuan Kombinasi <i>Steaming</i> Degan Jamur Pelapuk Putih Terhadap Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase-Xylanase	106
Gambar 4.30	Pengaruh Perlakuan Kombinasi <i>Steaming</i> 180 ⁰ C Degan <i>C. Subvermipora</i> Terhadap Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase.	110
Gambar 4.31	Pengaruh Perlakuan Kombinasi <i>Steaming</i> 180 ⁰ C Degan <i>C. Subvermipora</i> Terhadap Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Xylanase.	113
Gambar 4.32	Pengaruh Perlakuan Kombinasi <i>Steaming</i> 180 ⁰ C Degan <i>C. Subvermipora</i> Terhadap Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase-Xylanase.	114
Gambar 4.33	Komposisi Lignin, Selulosa Dan Hemiselulosa Bagas Setelah Proses SSF Menggunakan Enzim Selulase-Selobiase Dan Xylanase Dengan Kombinasi Perlakuan <i>Steaming</i> 180 ⁰ C Dan <i>C. Subvermispora</i>	116
Gambar 4.34	Diagram Alir Konversi Bagas Menjadi Etanol Dengan Kombinasi Perlakuan Awal (<i>C. Subvermispora</i> & <i>Steaming</i>) Dengan Multi Enzim (Selulase-Selobiase-Xylanase)	118

DAFTAR TABEL

		Halaman
Tabel 1.1	Luas Areal Tanaman Tebu Dan Produksi Gula Di Indonesia Tahun 2004	3
Tabel 2.1	Enzim Yang Membutuhkan Kofaktor Ion Logam Atau Koenzim	34
Tabel 3.1	Data Standar Kalibrasi Untu Penentuan Kadar Etanol	60
Tabel 4.1	Produksi Etanol Dengan Enzim Selulase Pada Beberapa Variasi Suhu	64
Tabel 4.2.	Persentase Etanol Yang Dihasilkan Dari Bagas Dengan Enzim Selulase Berbasis Bagas Murni Dan Kandungan Selulosa Bagas, Pada pH=5.	65
Tabel 4.3	Konsentrasi Glukosa (g/L) Setelah Proses Hidrolisis Bagas Dengan Menggunakan Kombinasi Selulase-Selulase Dengan Beberapa Variasi Pada pH=5	71
Tabel 4.4	Perbandingan Persentase Etanol Yang Dihasilkan Dari Bagas Dengan Enzim Selulase Dan Selulase-Selubiase Berbais Bagas Dan Selulosa	71
Tabel 4.5	Persentase <i>Ethanol Yield</i> Dari Bagas Setelah Proses SSF Dengan Enzim Xylanase (Data Berbasis Berat Bagas Murni Dan Xylan Bagas)	78
Tabel 4.6	Persentase <i>Ethanol Yield</i> Dari Bagas Menggunakan Enzim Selulase-Xylanase Data Berbasis Pada Bagas Dan Kandungan Holoselulosa (Selulosa & Hemiselulosa)	82
Tabel 4.7	Persentase <i>Ethanol Yield</i> Dari Bagas Menggunakan Enzim Selulase-Selubiase-Xylanase Data Berbasis Pada Bagas Dan Kandungan Holoselulosa (Selulosa & Hemiselulosa)	87
Tabel 4.8	Komposisi Kimia Bagas Setelah Perlakuan Dengan Jamur Pelapuk Putih	90
Tabel 4.9	Persentase <i>Ethanol Yield</i> Dari Bagas Menggunakan Enzim Selulase-Selubiase Dengan Perlakuan Beberapa Jamur Pelapuk Putih (Data Berbasis Pada Bagas Murni Dan Berbasis Pada Kandungan Selulosa Bagas)	93
Tabel 4.10.	Persentase <i>Ethanol Yield</i> Dari Bagas Menggunakan Enzim Selulase-Xylanase Setelah Perlakuan Dengan Jamur Pelapuk Putihdata Berbasis Pada Bagas Dan Kandungan Holoselulosa (Selulosa & Hemiselulosa)	96

Tabel 4.11	Persentase <i>Ethanol Yield</i> Dari Bagas Menggunakan Enzim Selulase-Selubiase-Xylanase Setelah Perlakuan Dengan Jamur Pelapuk Putih data Berbasis Pada Bagas Dan Kandungan Holoselulosa (Selulosa & Hemiselulosa)	98
Tabel 4.12	Komposisi Kimia Bagas Setelah Perlakuan Dengan <i>Steaming</i> Pada Beberapa Variasi Suhu	100
Tabel 4.13	Persentase <i>Ethanol Yield</i> Dari Bagas Menggunakan Enzim Selulase-Selubiase Dengan Perlakuan Beberapa Jamur Pelapuk Putih (Data Berbasis Pada Bagas Murni Dan Berbasis Pada Kandungan Selulosa Bagas)	101
Tabel 4.14	Persentase <i>Ethanol Yield</i> Dari Bagas Menggunakan Enzim Selulase-Xylanase Dengan Perlakuan <i>Steaming</i> Pada Suhu 180 ⁰ C (Data Berbasis Pada Bagas Murni Dan Berbasis Pada Kandungan Holoselulosa Bagas)	103
Tabel 4.15.	Persentase <i>Ethanol Yield</i> Dari Bagas Menggunakan Enzim Selulase-Selubiase-Xylanase Dengan Perlakuan <i>Steaming</i> Pada Suhu 180 ⁰ C (Data Berbasis Pada Bagas Murni Dan Berbasis Pada Kandungan Holoselulosa Bagas)	105
Tabel 4.16	Komposisi Kimia Bagas Setelah Perlakuan Awal Dengan <i>C. Subvermispora</i> Dan <i>Steaming</i> 180 ⁰ C	107
Tabel 4.17	Persentase <i>Ethanol Yield</i> Dari Bagas Menggunakan Enzim Selulase-Selubiase Dengan Perlakuan Kombinasi Jamur Pelapuk Putih & <i>Steaming</i> (Data Berbasis Pada Bagas Murni Dan Berbasis Pada Kandungan Selulosa Bagas)	108
Tabel 4.18	Persentase <i>Ethanol Yield</i> Dari Bagas Menggunakan Enzim Selulase-Xylanase Dengan Perlakuan Kombinasi Jamur Pelapuk Putih & <i>Steaming</i> (Data Berbasis Pada Bagas Murni Dan Berbasis Pada Kandungan Holoselulosa Bagas)	111
Tabel 4.19	Persentase <i>Ethanol Yield</i> Dari Bagas Menggunakan Enzim Selulase-Selubiase-Xylanase Dengan Perlakuan Kombinasi Jamur Pelapuk Putih & <i>Steaming</i> (Data Berbasis Pada Bagas Murni Dan Berbasis Pada Kandungan Holoselulosa Bagas)	115

DAFTAR ISTILAH

Sakarifikasi	: Proses konversi polisakarida menjadi monosakarida dengan menggunakan mikroorganisme atau enzim
Fermentasi	: Proses konversi monosakarida menjadi etanol dengan mikroorganisme
Enzim	: Zat biologis atau mikroorganisme yang digunakan untuk mengkonversi polisakarida menjadi monosakarida
Yeast	: Zat biologis atau mikroorganisme yang digunakan untuk mengkonversi monosakarida menjadi etanol
Perlakuan awal	: Proses perlakuan yang dilakukan sebelum proses sakarifikasi dan fermentasi dengan tujuan untuk mempermudah akses enzim terhadap polisakarida
Jamur pelapuk putih	: Merupakan mikroorganisme yang digunakan untuk perlakuan awal
<i>Steaming</i>	: Pemanasan larutan dengan menggunakan suhu diatas 100°C
Selulase	: Enzim untuk menghidrolisis selulosa menjadi glukosa
Selobiase	: Enzim untuk menghidrolisis selobiosa menjadi glukosa
Xylanase	: Enzim untuk menghidrolisis hemiselulosa menjadi xylosa
<i>S. cerevisiae</i> AM 12	: Yeast untuk mengkonversi glukosa dan xylosa menjadi etanol
Selulosa	: Polisakarida penyusun bagas yang tersusun dari rantai heksosa
Hemiselulosa	: Polisakarida penyusun bagas yang tersusun dari rantai pentosa
Glukosa	: Monosakarida dari selulosa
Xylosa	: Monosakarida dari xylan (hemiselulosa)
<i>C. subvermispora</i>	: Jenis jamur pelapuk putih yang berasal dari Austria dan telah dikoleksi di Jepang dan Indonesia
<i>L. edodes</i>	: Jenis jamur pelapuk putih yang berasal dari Jepang dan telah dikoleksi di Jepang dan Indonesia
<i>P. ostreatus</i>	: Jenis jamur pelapuk putih yang berasal dari Jepang dan telah dikoleksi di Jepang dan Indonesia

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1	Daftar Riwayat Hidup (Hasil Publikasi Ilmiah) 134
Lampiran 2	Grafik Standar Konversi Bagas Menjadi Etanol Dengan Enzim Selulase 137
Lampiran 3	Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase Pada pH = 4 137
Lampiran 4	Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase Pada pH = 4,5 137
Lampiran 5	Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase Pada pH = 5 138
Lampiran 6	Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase Pada pH = 6 138
Lampiran 7	Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase Pada pH = 5 Pada Suhu 35 ⁰ C 138
Lampiran 8	Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase Pada pH = 5 Pada Suhu 30 ⁰ C 139
Lampiran 9	Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase Pada pH = 5 Pada Suhu 40 ⁰ C 139
Lampiran 10	Grafik Standar Konversi Bagas Menjadi Etanol Dengan Enzim Selulase-Selobiase 139
Lampiran 11	Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase Pada pH = 4 140
Lampiran 12	Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase Pada pH = 4,5 140
Lampiran 13	Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase Pada pH = 5 140
Lampiran 14	Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase Pada pH = 6 141
Lampiran 15	Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase Pada pH= 5 Setelah Perlakuan Awal Dengan Jamur Pelapuk Putih <i>L. Edodes</i> 141
Lampiran 16	Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase Pada pH = 5 Setelah Perlakuan Awal Dengan Jamur Pelapuk Putih <i>P. Ostreatus</i> 141

Lampiran 17	Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase Pada pH = 5 Setelah Perlakuan Awal Dengan Jamur Pelapuk Putih <i>C. subvermispora</i>	142
Lampiran 18	Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase Pada pH = 5 Setelah Perlakuan Awal Dengan <i>Steaming</i> Pada Suhu 160 ⁰ C	142
Lampiran 19	Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase Pada pH = 5 Setelah Perlakuan Awal Dengan <i>Steaming</i> Pada Suhu 180 ⁰ C	142
Lampiran 20	Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase Pada pH = 5 Setelah Perlakuan Awal Dengan <i>Steaming</i> Pada Suhu 200 ⁰ C	143
Lampiran 21	Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase Pada pH = 5 Setelah Perlakuan Awal Dengan <i>Steaming</i> Pada Suhu 200 ⁰ C	143
Lampiran 22	Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase Pada pH = 5 Setelah Kombinasi Perlakuan Awal Dengan <i>C. subvermispora</i> Dan <i>Steaming</i> Pada Suhu 180 ⁰ C	143
Lampiran 23	Grafik Standar Konversi Bagas Menjadi Etanol Dengan Enzim Xylanase	144
Lampiran 24	Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Xylanase Pada pH = 4	144
Lampiran 25	Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Xylanase Pada pH = 4,5	144
Lampiran 26	Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Xylanase Pada pH = 5	145
Lampiran 27	Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Xylanase Pada pH = 6	145
Lampiran 28	Grafik Standar Konversi Bagas Menjadi Etanol Dengan Enzim Selulase-Xylanase	145
Lampiran 29	Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Xylanase Pada pH = 4	146
Lampiran 30	Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Xylanase Pada pH = 4,5	146
Lampiran 31	Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Xylanase Pada pH = 5	146
Lampiran 32	Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Xylanase Pada pH = 6	147

Lampiran 33	Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Xylanase Pada pH = 5 Setelah Perlakuan Awal Dengan Jamur Pelapuk Putih <i>C. subvermispora</i>	147
Lampiran 34	Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Xylanase Pada pH= 5 Setelah Perlakuan Awal Dengan <i>Steaming</i> Pada Suhu 180 ⁰ C	147
Lampiran 35	Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Xylanase Pada pH = 5 Setelah Kombinasi Perlakuan Awal Dengan Jamur Pelapuk Putih <i>C. subvermispora</i> Dan <i>Steaming</i> Pada Suhu 180 ⁰ C	148
Lampiran 36	Grafik Standar Konversi Bagas Menjadi Etanol Dengan Enzim Selulase-Selobiase-Xylanase	148
Lampiran 37	Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase-Xylanase Pada pH= 4	148
Lampiran 38	Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase-Xylanase Pada pH = 4,5	149
Lampiran 39	Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase-Xylanase Pada pH = 5	149
Lampiran 40	Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase-Xylanase Pada pH = 6	149
Lampiran 41	Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase-Xylanase Pada pH = 5 Setelah Perlakuan Awal Dengan Jamur Pelapuk Putih <i>C. subvermispora</i>	150
Lampiran 42	Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase-Xylanase Pada pH = 5 Setelah Perlakuan Awal Dengan <i>Steaming</i> Pada Suhu 180 ⁰ C	150
Lampiran 43	Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase-Xylanase Pada pH = 5 Setelah Kombinasi Perlakuan Awal Dengan Jamur Pelapuk Putih <i>C. subvermispora</i> Dan <i>Steaming</i> Pada Suhu 180 ⁰ C	150
Lampiran 44	Perhitungan Secara Teori Konversi Bagas Menjadi Etano	151

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Fenomena krisis energi yang dialami oleh bangsa Indonesia merupakan suatu kenyataan, karena konsumsi energi terutama sektor migas jauh lebih besar dibandingkan dengan produksinya. Masalah ini menjadi sebuah pekerjaan rumah bagi kita semua untuk memikirkan masa depan kebutuhan energi kita. Mengandalkan pasokan energi dari minyak bumi bukan merupakan sebuah solusi karena minyak bumi merupakan sumber energi yang tidak terbarukan (*unrenewable resources*), jika pasokan energi tersebut sebagian besar impor jelas sangat merugikan terutama dari sisi finansial negara yang berujung kerugian finansial rakyat Indonesia.

Sejenak mencermati kondisi energi dalam negeri, Indonesia merupakan negara anggota OPEC yang saat ini telah bergeser dari net-eksportir menjadi net-importir minyak bumi. Pada November 2004 jumlah minyak mentah yang diproduksi hanya 1 juta barel per-hari setara dengan 159 juta liter per-hari, sementara kebutuhan minyak mentah dalam negeri sebesar 1,350 juta barel per-hari setara dengan 215 juta liter per-hari. Minyak mentah ini diproses di dalam negeri untuk memenuhi total kebutuhan BBM dalam negeri sebesar 178 juta liter per hari. Sedangkan kekurangannya sekitar 39,98 juta L per-hari masih harus diimpor [1]. Total konsumsi BBM nasional sampai dengan semester 1 tahun 2008 sebesar 39,5 juta kilo liter, meningkat 10,94% dari perkiraan awal yang hanya sebesar 35,5 juta kilo liter [2]. Berdasarkan data tersebut, jelas sekali bahwa konsumsi BBM nasional sangat sulit untuk di tekan. Hal ini dapat dipahami karena faktanya populasi penduduk semakin meningkat sehingga kebutuhan energi juga meningkat.

Berdasarkan kenyataan tersebut, sangat dibutuhkan langkah yang dapat memberikan solusi dalam mengatasi masalah BBM nasional baik dari segi kebijakan oleh pemerintah ataupun langkah-langkah konkrit dari masyarakat industri dan masyarakat peneliti. Secara kebijakan pemerintah melalui

Kementerian Negara Riset dan Teknologi bersama seluruh LPND Ristek, Perguruan Tinggi dan lembaga penelitian lainnya telah menetapkan salah satu prioritas Penelitian, Pengembangan dan Penerapan IPTEK di bidang energi sampai tahun 2025 adalah penciptaan dan pemanfaatan sumber energi baru dan terbarukan yang tertuang dalam Jakstranas IPTEK 2005-2009 dan Buku Putih Litbangrap IPTEK 2005-2025 [3-4]. Kebijakan ini terus diperkuat berdasarkan hasil rakornas IPTEK pada tanggal 16-18 April 2008 di Palembang yang menghasilkan bahwa prioritas penelitian utama yang harus terus dikembangkan adalah bidang pangan, energi dan air atau lebih mudah diistilahkan sebagai FEW (*Food, Energy and Water*). Selain itu berdasarkan Peraturan Presiden No.5 tahun 2006 pada tahun 2025 diharapkan energi baru terbarukan mampu menyumbang 17% kebutuhan energi nasional dan 5% dari energi baru terbarukan tersebut adalah biofuel. Artinya sejak saat ini pengembangan energi baru terbarukan mulai dari hulu (aspek litbang) sampai dengan aspek hilir (proses komersialisasi) harus segera digalakkan agar amanat Perpres tersebut terpenuhi.

Untuk menindaklanjuti kebijakan tersebut, harus segera diupayakan langkah konkrit dalam pemenuhan kebutuhan energi dengan memanfaatkan sumber energi yang terbarukan (*renewable resources*). Beberapa Lembaga Penelitian Departemen (Lemigas, Litbang Pertanian dan lainnya), Perguruan Tinggi, LPND (LIPI, BPPT, BATAN dan lainnya) telah mengupayakan untuk mengembangkan energi alternatif seperti batu bara cair; Pengembangan energi surya; Pengembangan dan produksi biodiesel dari berbagai bahan baku (kelapa sawit, jarak pagar); pengembangan bioetanol dan lain-lain [5]. 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 [6-9].

Salah satu energi alternatif yang relatif murah ditinjau aspek produksinya dan relatif ramah lingkungan adalah pengembangan bioetanol dari limbah-limbah pertanian (biomassa) yang mengandung banyak lignoselulosa seperti bagas (limbah padat industri gula) atau tandan kosong kelapa sawit, jerawi padi, tongkol jagung dan lain sebagainya. Informasi terbaru perhitungan tekno-ekonomi

produksi bioetanol dari *softwood ethanol plant* ternyata biaya produksi dan distribusi berkisar antara 0.546-0.549USD/L [7]. Analisa tekno-ekonomi tersebut termasuk pertimbangan masalah kebutuhan energi dalam proses *steaming*. Biaya produksi bioetanol tersebut jika dikonversi dalam rupiah sekitar Rp 5.000/L. Artinya biaya tersebut cukup layak secara ekonomi jika etanol dimanfaatkan sebagai campuran premium, karena harga jual premium bersubsidi di Indonesia saat ini telah mencapai Rp 6.000.

Selain itu dari aspek bahan baku, Indonesia memiliki potensi limbah biomassa yang sangat melimpah seperti bagas. Industri gula khususnya di luar Jawa maupun di luar Jawa menghasilkan bagas yang cukup melimpah, seperti di PT. Gunung Madu Plantations, PT. Gula putih Mataram dan PT. Indo Lampung di Propinsi Lampung. Data lengkap Industri gula di Indonesia pada tahun 2004 terlihat pada Tabel I.

Tabel 1.1 Luas Areal Tanaman Tebu Dan Produksi Gula Di Indonesia Tahun 2004 [10]

Pabrik Gula	Propinsi	Luas tanam (ribu ha)	Produksi (ton/ha/tahun)	Rata-rata produksi (ton/ha)
PTP Nusantara II	Sumut	9.378,9	26,79	2,90
PTP Nusantara VII	Lampung	25.811,9	100,53	3,90
PT. Gunung Madu	Lampung	23.416,2	151,74	6,50
PT. Gula Putih Mataram	Lampung	18.909,3	93,26	4,90
PT. Sweet Indo Lampung	Lampung	14.395,5	71,02	4,90
PT. Indo Lampung Perkasa	Lampung	18.221,8	99,74	5,50
PT. PG. Rajawali II	Jawa Barat	20.197,1	84,84	4,20
PTP Nusantara IX	Jawa Tengah	27.999,2	121,95	4,40
PT. Madu Baru	DIY	4.799,8	24,68	5,10
PTP Nusantara X	Jawa Timur	54.625,2	287,11	5,30
PTP Nusantara XI	Jawa Timur	61.007,1	320,60	5,30
PT. PG. Rajawali I	Jawa Timur	20.259,7	105,74	5,20
PT. Kebon Agung	Jawa Timur	19.677,9	79,84	4,10
PTP Nusantara XIV	Sulsel	10.446,2	29,16	2,80
PT. PG. Rajawali III	Gorontalo	6.578,9	34,93	5,30
	Indonesia	335.724,7	1.631,92	4,90

Keuntungan lain dari pemanfaatan bioetanol adalah dapat digunakan untuk mensubstitusi langsung atau sebagai bahan campuran premium. Keuntungan substitusi langsung sebagai bahan bakar premium akan menurunkan emisi karbon dioksida. Sebagai contoh Peneliti dari Universitas Illinois meneliti bahwa pemanfaatan bioetanol mampu mengurangi emisi karbon dioksida 17-23% dengan memanfaatkan E-85 (premium 85% dan 15% etanol) [11].

Substitusi premium dengan etanol sebagai bahan bakar transportasi secara tidak langsung akan mengurangi emisi karbon dioksida. Konsep pengembangan bioenergi dengan memanfaatkan sumber material lignoselulosa akan mengurangi pemanasan global (*global warming*). Hal ini dimungkinkan karena dengan meningkatnya produksi bioetanol akan mendorong peningkatan penanaman tanaman penghasil biomas sehingga emisi karbon dioksida yang dihasilkan dari industri, kendaraan dan lainnya akan terfiksasi melalui proses fotosintesis dari tanaman penghasil biomas tersebut [12].

Konsep pengembangan bioenergi juga akan meningkatkan ekonomi lokal karena semakin banyak pelaku pertanian dan tumbuhnya industri-industri baru berbasis bioenergi. Tumbuhnya industri-industri baru di bidang bioenergi ini disebut sebagai revolusi industri abad 21, karena pada abad 20 industri petrokimia banyak didominasi oleh produk-produk hidrokarbon seperti etilena, propilena dan benzena [13].

Secara umum proses produksi bioetanol dari material lignoselulosa terbagi menjadi empat tahap. Pertama, proses perlakuan awal yaitu proses untuk mendegradasi lignin, melarutkan kristal polisakarida sehingga memperlancar proses reaksi hidrolisis dan fermentasi. Kedua, proses hidrolisis yaitu untuk memecah rantai polisakarida menjadi monosakarida. Ketiga, proses fermentasi untuk mengubah monosakarida menjadi etanol, umumnya proses fermentasi menggunakan *Sacharomycess cerevisiae* (*S. cerevisiae*). Keempat, proses pemurnian etanol umumnya dengan menggunakan distilasi atau separasi lainnya [14-15].

Proses konversi material lignoselulosa menjadi etanol masih banyak dilakukan dengan menggunakan *Separated Hydrolysis and Fermentation* (SHF), yaitu proses hidrolisis dan fermentasi dilakukan terpisah (menggunakan reaktor yang berbeda). Metode SHF ini masih banyak digunakan di Indonesia. Saat ini proses konversi berkembang dengan menggunakan *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF) atau kita sebut sebagai Sakarifikasi dan Fermentasi Serempak (SSF). Proses SSF dilakukan dengan menggunakan satu reaktor dalam proses hidrolisis dan fermentasinya. Keuntungan dari proses ini adalah polisakarida yang terkonversi menjadi monosakarida tidak kembali menjadi polisakarida, karena monosakarida yang dihasilkan tersebut langsung difermentasi menjadi etanol. Selain itu dengan menggunakan satu reaktor akan mengurangi biaya peralatan yang digunakan [16].

Proses hidrolisis pada produksi bioetanol umumnya dilakukan dengan metode konvensional, yaitu dengan menggunakan asam sulfat (H_2SO_4) atau asam klorida (HCl). Namun metode ini kurang ramah lingkungan karena penggunaan asam dalam proses tersebut. Selain itu biaya bahan kimia tersebut yang relatif mahal dan menimbulkan korosif pada reaktor yang digunakan. Pemanfaatan asam pada proses SSF juga akan sulit dilakukan karena penggunaan asam berlebih akan mengganggu kestabilan pH larutan [17].

Pengembangan teknologi bioproses dengan menggunakan enzim pada proses hidrolisisnya diyakini sebagai suatu proses yang lebih ramah lingkungan [18]. Jenis enzim yang digunakan sebagai zat penghidrolisis sebagai zat penghidrolisis tergantung pada substrat yang menjadi sasaran. Jika polisakarida banyak mengandung amilum maka enzim yang digunakan adalah amilase, jika banyak mengandung selulosa maka enzim yang digunakan adalah selulase. Berbicara material lignoselulosa maka komposisi terbesar dalam polisakarida adalah selulosa dan hemiselulosa. Umumnya pemanfaatan enzim selulase hanya mampu menghidrolisis selulosa menjadi glukosa pada hidrolisis sempurna. Namun demikian proses hidrolisis yang terjadi tidak semuanya sempurna, karena sebagian dari hidrolisis selulosa menjadi selobiosa yang merupakan bentuk dari disakarida yang dikenal sebagai hidrolisis parsial [19-21]. Selain itu jika kita hanya

mengandalkan enzim selulase saja maka yang dapat terkonversi menjadi monosakarida hanya selulosa [22-23]. Padahal berbagai penelitian melaporkan sekitar 20-25% komposisi karbohidrat pada material lignoselulosa termasuk bagas adalah hemiselulosa [24-26]. Oleh karena itu akan sangat diperlukan sebuah mekanisme untuk mengkonversi secara menyeluruh polisakarida menjadi monosakaridanya dengan memanfaatkan enzim-enzim yang spesifik untuk dipadukan dalam sebuah proses. Jika monosakarida yang terbentuk semakin banyak maka akan mampu meningkatkan produksi etanol dari material lignoselulosa (seperti bagas). Salah satu enzim yang mampu menghidrolisis selobiosa menjadi monosakaridanya adalah enzim selobiase [19]. Enzim xylanase merupakan enzim yang spesifik yang dapat dimanfaatkan untuk menghidrolisis hemiselulosa menjadi xylosa sebagai monosakarida dari hemiselulosa tersebut [27].

Pemanfaatan enzim untuk reaksi biokatalitik memiliki kelebihan dibandingkan dengan reaksi katalis biasa. Kemampuan dan karakteristik enzim untuk bereaksi dengan substratnya sangatlah spesifik, karena enzim hanya akan bereaksi dengan substrat tertentu. Karena reaksi sangat spesifik, prinsip reaksi antara enzim dengan substratnya dianalogikan seperti kunci dan gemboknya atau dikenal dengan istilah *lock and key* [28]. Sehingga dalam reaksi enzimatik tidak akan terjadi perebutan atau kompetisi antara satu enzim dengan enzim lain yang berbeda, karena sasaran substratnya juga berbeda. Karakteristik ini dikarenakan mekanisme reaksi enzimatik merupakan mekanisme reaksi organik seperti mekanisme nukleofilik dan elektrofilik [28].

Fenomena lain sejak diketahui keberadaan lignin dalam biomassa dapat menghambat akses enzim dalam memecah polisakarida menjadi monosakarida pada proses hidrolisis yang berdampak pada penurunan jumlah konversi etanol yang dihasilkan, sehingga sangat diperlukan suatu perlakuan (*treatment*) untuk mengoptimalkan konversi biomassa menjadi etanol [29].

Berdasarkan penelitian group kami salah satu perlakuan yang dapat menghancurkan lignin dengan minimum kehilangan polisakaridanya adalah

dengan menggunakan jamur pelapuk putih (*white rot fungi*) seperti *Ceriporiopsis subvermispora* dan *Lentinus edodes*. Keuntungan lain jamur ini termasuk jenis *edible mushroom*, sehingga dapat dimanfaatkan untuk industri makanan. Perlakuan dengan jamur dan penggunaan enzim dalam proses hidrolisisnya akan lebih memberikan nilai ekonomis disamping prosesnya yang lebih ramah lingkungan [30-31].

Selain dengan jamur pelapuk putih, perlakuan awal yang dapat mendegradasi, merelokasi dan mengkoagulasi lignin sehingga tidak mengganggu akses enzim terhadap polisakarida pada biomasa yang akan dikonversi menjadi monosakarida adalah dengan metode *steaming* [22, 31]. Selain itu perlakuan awal dengan *steaming* juga mampu melarutkan dan secara parsial merubah struktur kristal-krital selulosa dan hemiselulosa [22,31-34].

Beberapa hal perlu mendapatkan perhatian karena masih belum banyak diteliti, diantaranya adalah pemanfaatan enzim yang spesifik untuk mengkonversi disakarida (selobiosa) yang merupakan hidrolisis parsial selulosa menjadi glukosa dengan enzim selulase. Selain itu pemanfaatan enzim yang spesifik untuk mengkonversi hemiselulosa menjadi monosakaridanya (xylosa), polisakarida yang terbesar dalam hemiselulosa adalah xylan sehingga hasil hidrolisisnya adalah xylosa. Kombinasi antara proses hidrolisis dengan enzim-enzim yang spesifik dengan perlakuan awal terutama dengan jamur pelapuk putih, *steaming* dan kombinasi keduanya juga sangat penting untuk dilakukan. Jika hal ini dapat dilakukan dengan baik dan berhasil maka akan meningkatkan konversi bagas menjadi etanol.

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah di atas, maka yang menjadi masalah utama adalah perlunya upaya peningkatan konversi etanol dari bagas dengan menggunakan metode bioproses yang komprehensif yaitu kombinasi perlakuan awal dan enzim dalam proses sakarifikasi dan fermentasi serempak (SSF). Secara proses, di Indonesia umumnya metode SSF belum banyak digunakan. Jika ditinjau dari proses hidrolisisnya pemanfaatan kombinasi enzim selulase, selobiase dan

Universitas Indonesia

xylanase juga belum banyak diteliti. Sedangkan dari aspek proses perlakuan awal, kombinasi jamur pelapuk putih dan *steaming* dalam proses SSF juga masih belum dikembangkan.

Dengan demikian secara detail belum diketahui:

1. Pengaruh kombinasi enzim selulase, selobiase dan xylanase terhadap produksi etanol dari bagas;
2. Pengaruh perlakuan awal jamur pelapuk putih, *steaming* dan kombinasinya terhadap etanol yang dihasilkan juga perlu diketahui lebih lanjut;
3. Pengaruh kombinasi secara menyeluruh antara perlakuan awal dan enzim dalam proses SSF juga perlu diketahui lebih lanjut.

1.3 Tujuan Penelitian

Secara umum tujuan penelitian ini adalah meningkatkan konversi bagas menjadi etanol dengan menggunakan enzim selulase, selobiase, xylanase dan perlakuan awal menggunakan jamur pelapuk putih dan *steaming* termasuk kombinasinya dengan menggunakan proses sakarifikasi dan fermentasi serempak (SSF).

Tujuan secara khusus dalam penelitian ini adalah untuk mengetahui:

1. Pengaruh enzim selulase, selobiase, xylanase dan kombinasinya terhadap produksi etanol dari bagas;
2. Pengaruh perlakuan awal menggunakan jamur pelapuk putih dan *steaming* serta kombinasi keduanya terhadap etanol yang dihasilkan;
3. Pengaruh kombinasi secara menyeluruh antara perlakuan awal dan enzim dalam proses SSF terhadap etanol yang dihasilkan;
4. Pengaruh parameter-parameter seperti waktu inkubasi dan pH terhadap kuantitas etanol yang dihasilkan.

1.4 Ruang Lingkup Penelitian

1. Melakukan analisa pengaruh enzim selulase, selobiase dan xylanase dan kombinasinya terhadap produksi etanol dari bagas;
2. Melakukan analisa pengaruh perlakuan jamur pelapuk putih dan *steaming* dan kombinasinya terhadap kuantitas etanol yang dihasilkan;

Universitas Indonesia

3. Melakukan analisis pengaruh beberapa parameter seperti pH dan waktu inkubasi terhadap etanol yang dihasilkan;
4. Melakukan analisa-analisa komposisi lignin, selulosa, hemiselulosa pada bagas sebelum dan setelah perlakuan awal serta setelah proses SSF berlangsung;
5. Analisa-analisa yang digunakan adalah dengan metode klason lignin (*sulfuric acid method*) dan metode wise (*sodium klorat method*).

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Bagas yang dimaksud adalah ampas tebu dari industri gula di PT. Indo Lampung;
2. Enzim yang digunakan adalah enzim selulase, selobiase dan xylanase murni;
3. Yeast dalam penelitian ini adalah mikroorganisme yang berfungsi untuk melakukan fermentasi dari monosakarida menjadi etanol;
4. Yeast yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Sacharomyces cerevisiae* AM12 (*S. cerevisiae*);
5. Jamur pelapuk puith yang digunakan sebagai perlakuan awal hayati adalah *Pleurotus ostreatus* ATCC 66376 (*P. ostreatus*), *Lentinus edodes* IFO6654 (*L. edodes*) dan *Ceriperiopsis subvermispota* ATCC 90467 (*C. subvermispota*);
6. *Steaming* yang dimaksud dalam penelitian ini adalah perlakuan awal dengan melakukan pemanasan larutan bagas menggunakan suhu diatas 100°C;
7. *Steaming* yang digunakan adalah pada suhu 160°C, 180°C dan 200°C selama 60 menit;
8. Penelitian dilakukan di beberapa laboratorium: Laboratorium *Biomass Conversion* Kyoto University, Laboratorium Bioproses Departemen Teknik Kimia Universitas Indonesia, Laboratorium Konversi Biomasa UPT Biomaterial LIPI dan laboratorium Kimia LIPI.

1.6 Manfaat Dan Nilai Kebaruan Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah:

1. Secara ilmiah penelitian ini akan memecahkan satu problema dalam konversi lignoselulosa material menjadi Etanol, terutama kesulitan dalam mengkonversi hemiselulosa yang terkandung sekitar 20-25% dalam bahan lignocellulosic material sehingga akan lebih meningkatkan konversi bagas menjadi etanol. Kemudian upaya mengkonversi selobiosa yang merupakan efek dari hidrolisis parsial selulosa menjadi glukosa sehingga juga akan lebih meningkatkan konversi bagas menjadi etanol;
2. Kebaruan dalam penelitian ini seperti: pemanfaatan enzim selobiase yang dikombinasikan dengan enzim selulase, pemanfaatan enzim xylanase yang dikombinasikan dengan selulase dan selobiase (reaksi multi enzim), pemanfaatan kombinasi perlakuan awal jamur pelapuk putih dan *steaming*, kemudian kombinasi secara menyeluruh antara perlakuan awal (jamur pelapuk putih dan *steaming*) dengan multi enzim dalam proses SSF. Hasil penelitian ini akan menjadi tulisan-tulisan ilmiah yang dapat dipublikasikan seperti pada jurnal internasional atau nasional;
3. Penelitian ini juga akan sangat bermanfaat karena memanfaatkan limbah padat industri gula (bagas) terutama yang terdapat di Propinsi Lampung seperti di PT. Indo Lampung, PT. Gunung Madu Plantatian dan PT. Gula Putih Mataram;
4. Penelitian, pengembangan dan pemanfaatan energi dari sumber yang tidak dapat diperbarui termasuk pengembangan etanol dari bagas sangat sesuai dengan salah satu prioritas penelitian, pengembangan dan penerapan Iptek sampai tahun 2025 (6 Fokus RISTEK)) yaitu Penciptaan dan Pemanfaatan Energi Baru dan Terbarukan (EBT).

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Etanol

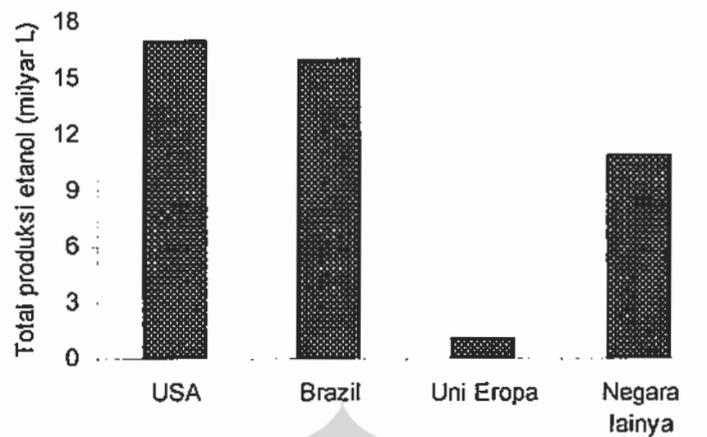
Etanol merupakan senyawa kimia dengan rumus molekul C_2H_5OH dan tergolong sebagai bagian dari senyawa hidrokarbon. Etanol banyak dihasilkan dari berbagai jenis bahan karbohidrat yang prosesnya ditemukan secara alamiah secara turun temurun yang akhirnya oleh para ilmuwan diistilahkan sebagai reaksi fermentasi. Karena proses alamiah dengan fermentasi menggunakan sejenis mikroba tertentu maka etanol sering disebut sebagai bioetanol atau istilah sekarang dikenal sebagai reaksi biokimia dalam teknik bioproses. Awalnya bahkan sampai sekarang Etanol banyak dimanfaatkan sebagai bahan campuran untuk minuman keras, kemudian berkembang sebagai bahan kosmetik. Saat ini etanol diharapkan sebagai salah satu dari sekian jenis bahan bakar alternatif. Etanol dapat diproduksi dari berbagai bahan baku pertanian atau limbah pertanian yang dapat diperbarui seperti pati singkong, jagung, bagas, tandan kosong kelapa sawit, jerami dan lain-lain [8].

Bioetanol di USA dan Eropa diproduksi sebagai bahan bakar baik itu sebagai energi bauran dengan bensin maupun sebagai bahan aditif. Bioetanol dapat menggantikan fungsi bahan aditif seperti Metil Tersier Butil Eter (MTBE) dan *Tetra Ethyl Lead* (TEL) yang relative kurang ramah lingkungan [8,34]. Bioetanol langsung dapat dicampurkan dengan bensin pada berbagai komposisi sehingga memberikan peningkatan efisiensi pada mesin serta memberikan emisi gas buang yang lebih ramah lingkungan. Hasil pencampuran etanol dengan bensin umumnya disebut sebagai gasohol, sebagai contoh gasohol BE-10 artinya bahan bakar campuran antara premium 90% volum, dengan bioetanol sebanyak 10%. Selain itu untuk jangka panjang sekitar 30-50 tahun yang akan datang diperkirakan bioetanol dapat langsung digunakan sebagai bahan bakar murni untuk kendaraan karena sistem permesinan telah disesuaikan dengan bahan bakar bioetanol [35].

Total produksi etanol dunia pada tahun 2005 sekitar 46 milyar L yang digunakan untuk bahan kosmetika, campuran minuman dan sebagian juga digunakan untuk campuran bahan bakar. Brazil dan USA adalah negara produsen etanol terbesar di dunia, sekitar 62% dari total produksi etanol dunia [35]. Pada tahun 2001 sampai 2005 total produksi etanol di USA meningkat dari 6,6 milyar L/tahun menjadi 13,8 milyar L/tahun [34-35]. Kondisi di Indonesia belum ada data terbaru produksi etanol. Jumlah produksi bioetanol di Indonesia pada tahun 2002 adalah sekitar 180 juta liter dengan derajat kualitas etanol teknis yang berkadar sekitar 95-97% [14]. Sebagian produksi tersebut yakni sekitar 62,5 juta liter diserap untuk kebutuhan dalam negeri, antara lain dipergunakan sebagai bahan industri *Carboxyl Methyl Cellulosa* (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 telah banyak digunakan sebagai pengganti bahan bakar minyak (*renewable energy resources*), baik sebagai campuran gasolin atau sebagai bahan bakar murni pengganti minyak.

2.2. Kebijakan Pengembangan Dan Produksi Bioetanol Di Berbagai Negara

Saat ini biofuel yang paling banyak dimanfaatkan adalah bioetanol yang diproduksi dari gula dan pati. Pada tahun 2005 kapasitas produksi bioetanol dunia saat ini mencapai 45 milyar L/tahun. Amerika dan Brazil menjadi negara produsen etanol terbesar dunia. Pada tahun 2005 produksi bioetanol amerika mencapai 18 milyar L/tahun sedangkan Brazil mencapai 17 milyar L/tahun. Negara lain yang merupakan negara produsen etanol adalah Uni Eropa terutama Prancis dan Spanyol sekitar 1.15 milyar L/tahun. Sisa dari total produksi etanol dunia, diproduksi oleh negara-negara lain di dunia seperti Kanada pada tahun 2005 produksinya mencapai 245 juta L [35-36]. Sedangkan negara-negara lainnya di dunia termasuk Asia dan Afrika produksinya relatif masih kecil yaitu hanya sekitar 12 mil L/tahun (Gambar 2.1).



Gambar 2.1 Produksi Etanol Beberapa Negara Di Dunia [35]

Produksi bioetanol tersebut umumnya berasal dari tanaman pertanian seperti jagung, tebu, gandum dan sorghum. Berkembangnya produksi etanol pada beberapa negara khususnya Amerika dan Brazil karena, dukungan dari aspek kebijakan dalam produksi bioetanol di negara tersebut sangat besar. Dukungan tersebut umumnya terbagi menjadi dua katagori yaitu sistem *top-down* dan *buttom-up*. Contoh sistem *top-down* di Amerika pemerintah membuat sebuah kebijakan yang menargetkan kepada industri untuk memproduksi bioetanol, jika tercapai target maka pemerintah akan memberikan insentf berupa keringan pajak dan insentfi-insentif lainnya. Sistem *buttom-up* sebagai contoh industri dan peneliti mengajukan pendanaan kepada pemerintah untuk pengembangan dan produksi bioetanol [37].

Di Indonesia saat ini telah melakukan model-model dukungan kebijakan dengan memfokuskan pengembangan energi baru terbarukan termasuk bioetanol sebagai salah satu prioritas dalam litbangrap IPTEK dan sistem inovasi nasional [3.4-5]. Implementasi dari kebijakan ini dengan diberikannya sistem insentif baik itu insentif dasar, terapan dan peningkatan kapasitas produksi khususnya untuk pengembangan dan produksi biofuel.

Dukungan serius dari pemerintah dan swasta diperlukan untuk mempromosikan industri bahan bakar berbasis bioetanol. Pembuatan undang-undang yang

Universitas Indonesia

memberikan insentif khusus dan tata guna lahan yang mengijinkan penanaman biomasa pada tanah pinggiran ataupun lahan marginal merupakan unsur penting dalam pengembangan energi ini.

Dinamika penerapan dan pengembangan etanol sebagai bahan bakar di setiap negara sangat bervariasi. Pengalaman negara-negara berikut ini menjadi sangat berharga bagi Indonesia untuk menentukan kebijakan-kebijakan dan program-program yang berkaitan dengan penggunaan etanol sebagai bahan bakar alternatif.

2.2.1 Amerika Serikat

Sebagai penghasil dan pengeksport jagung terkemuka di dunia, AS memproduksi bioetanol terutama dari jagung sebagai bahan bakunya dan menggunakan bahan bakar gas alam untuk pembangkit tenaga listrik yang digunakan dalam memproduksi bioetanol. Produksi bioetanol di Amerika mencapai angka 18 milyar liter [36].

Dipicu oleh keinginan untuk memperbaiki emisi gas buang yang lebih ramah lingkungan, pemerintah dan kongres meratifikasi *clean air act* pada tahun 1978 yang berimplikasi penggunaan bioetanol dalam bensin menggantikan aditif-aditif berbahaya seperti *Tetra Ethyl Lead* dan MTBE. Sejak 1978 AS menggunakan gasohol E10 secara besar-besaran dan konsumen dimudahkan untuk mendapatkan bahan bakar tersebut di tempat penjualan bahan bakar otomotif. Amerika dari produksi awal etanol yang pada tahun 1978-1980 di bawah 1 juta L/tahun, produksinya terus meningkat sampai akhir tahun 2005 produksi etanol di AS mencapai angka 18 milyar L/tahun. Pada tahun 2012 AS menargetkan produksi bioetanol sebesar 28.4 milyar L/tahun dengan target 5% akan diekspor [35].

Pada tahun 2006 AS menggunakan lebih dari 15 milyar galon bahan bakar kendaraan bermotor per-tahun, atau sekitar 12 % bahan bakar kendaraan bermotor yang terjual. Kebanyakan merupakan gasohol dengan campuran 10 % etanol (dikenal sebagai E-10), tetapi saat ini sedang dikembangkan secara komersial mobil-mobil jenis *Flexible-Fuel Vehicle* (FFV) dengan bahan bakar gasohol

dengan 85 % (disebut bahan bakar E10) dan campuran bioetanol–minyak diesel (oxydiesel). Chrysler, Ford dan General Motors, serta perusahaan mobil lainnya telah merekomendasikan penggunaan bahan bakar bioetanol dan diperkirakan sejak tahun 1980 mobil-mobil berbahan bakar bioetanol telah menempuh 2 triliun mil perjalanan di AS [38].

Etanol di AS sebagian besar diproduksi dari biji jagung dan diterapkan secara terdesentralisasi di beberapa negara bagian, sehingga mampu menciptakan lapangan kerja dan pasar lokal serta berjasa dalam menjaga perputaran uang dan investasi tetap berada dalam komunitas lokal. Ini merupakan kunci sukses penerapan etanol sebagai bahan bakar di AS melalui dukungan pemerintah lokal. Sebagai contoh, satu unit produksi Etanol yang dikelola oleh kelompok tani di negara bagian Minnesota mengolah 11,751 milyar ton biji jagung menjadi 33.990 gallon etanol dan 95 ton pakan ternak berprotein tinggi per-hari [39].

Pemakaian alkohol sebagai pengganti bahan bakar untuk mesin pembakaran internal telah diteliti dalam beberapa waktu. Departemen Energi Amerika melakukan penelitian terhadap pengaruh campuran etanol-indolin (gasolin) terhadap kinerja pada keadaan stabil dan karakteristik emisi mesin pembakar bunga api. Data yang diperoleh mengungkapkan bahwa campuran ini memberikan 2% peningkatan pada tenaga putaran mesin dan peningkatan efisiensi break thermal 1,7% dibandingkan dengan bahan bakar dasar indolin. Emisi CO tetap sama, sedangkan emisi NOx dan HC menurun dibandingkan dengan bahan bakar dasar indoline. Dari hasil yang diperoleh, disimpulkan bahwa untuk kondisi mesin yang sama, substitusi alkohol dalam bensin (10% – 15%v/v) akan berpengaruh sedikit terhadap kinerja mesin dan karakteristik emisi gas yang saat ini diawasi (CO, HC, dan NOx) [39].

Pada tahun 2006 Presiden Amerika mendeklarasikan visi energi Amerika tahun 2020 harus tidak tergantung pada impor minyak. Oleh karena itu percepatan pengembangan energi baru dan terbarukan terus ditingkatkan. Walaupun saat ini produksi bioetanol dari jagung, mulai tahun 2007 Amerika mulai melihat prospek

pengembangan material lignoselulosa karena material tersebut sangat melimpah. Sekitar 1,24 milyar ton biomas berbasis lignoselulosa dapat diproduksi setiap tahunnya. Produksi biomas tersebut sekitar 910 juta ton dari pertanian dan 330 juta ton dari sektor hutan. Untuk mencapai misi tersebut Amerika telah menyiapkan pendanaan sekitar US \$ 150 juta pada tahun 2007 [40].

2.2.2. Brazil

Brazil merupakan negara terkemuka dalam penggunaan etanol sebagai bahan bakar mobil. Di negara tersebut, dukungan pemerintah dan sektor swasta untuk mengembangkan industri bahan bakar alkohol telah dimulai sejak tahun 1975. Pendorong utama pengembangan industri etanol tersebut adalah keinginan untuk keluar dari ketergantungan pada pihak asing dalam bidang energi. Kenaikan harga minyak OPEC tahun 1973 telah meningkatkan beban hutang Brazil secara signifikan. Berbagai produk petroleum yang 80% harus diimpor, mempunyai kontribusi 42% untuk memenuhi kebutuhan energi di negara tersebut, dan nilainya lebih dari 50% terhadap volume perdagangan antar negara. Pemerintah Brazil mencanangkan program yang disebut Pro-Alcohol, yang mendorong sektor swasta untuk memainkan peran kunci dalam pengembangan teknologi produksi alkohol. Akibatnya, pada kurun waktu 1975–1980, 300 industri etanol swasta yang baru dibangun 90% modalnya merupakan bantuan Pemerintah [41].

Pada periode yang sama, 10 pusat penelitian teknologi regional bekerja sama dengan industri automobil domestik untuk membuat penyempurnaan efisiensi mesin berbahan bakar alkohol. Teknologi modifikasi mesin tersebut ditransfer ke 500 pabrik swasta di seluruh Brazil. Mulai tahun 1979 telah diproduksi kendaraan berbahan bakar alkohol secara massal. Usaha tersebut menunjukkan hasil yang bagus, dimana 250.000 kendaraan berbahan bakar alkohol murni dan 80.000 mobil berbahan bakar gasolin yang diubah dengan campuran 20% etanol-bensin telah berfungsi di sektor transportasi [41].

Walau dengan kemajuan tersebut, masalah tertentu menjadi jelas dan terbukti bahwa mesin berbahan bakar alkohol tidak memenuhi persyaratan operasional

dalam waktu yang lama dan terdapat keraguan serius apakah produksi etanol akan dapat memenuhi kebutuhan sektor transportasi. Pemerintah menyediakan paket bantuan bernilai satu milyar dolar, dan memberikan dukungan penelitian pada produsen mobil untuk membuat mesin berbahan bakar alkohol generasi kedua. Kebijakan tersebut telah meningkatkan omset penjualan mobil alkohol hingga 30%, dan peningkatan produksi alkohol hingga 62% [42].

Sebagai negara produsen gula terkemuka di dunia dan memiliki lahan beriklim tropis yang luas, Brazil mengembangkan produksi bioetanol terutama dari tebu. Meskipun terdapat kompetisi antara ekspor gula dan penggunaan tebu untuk kebutuhan etanol dalam negeri, pemerintah berhasil meregulasi dengan baik. Pada saat harga gula dunia jatuh, nira tebu langsung difermentasi menjadi bioetanol. Ketika harga gula dunia menjadi tinggi, produksi bioetanol sedikit ditekan. Oleh sebab itu, berbeda dengan AS yang menetapkan E10 pada awal penggunaan kembali bioetanol, sejak digunakan pada tahun 1978, Brazil secara berkala menetapkan kandungan bioetanol murni dalam bensin dengan batas maksimum 25 % untuk mobil berbahan bakar bensin. Pada saat yang sama, dikembangkan mobil nasional yang hanya menggunakan bioetanol 95 % (bioetanol teknis) [42].

Dewasa ini Brazil menjadi produsen sekaligus konsumen bioetanol terbesar di dunia, bahkan Brazil menjadi negara pengeksport alkohol terbesar di dunia sekitar 3.1 milyar L pada tahun 2006. Ekspor bioetanol dari Brazil kepada negara-negara Eropa, Korea bahkan Jepang. Bahkan kebijakan di Brazil pada tahun 2013 menargetkan produksi etanol sebesar 35.7 billion L dengan cara menciptakan minimal 77 pabrik baru dibidang bioetanol [36].

2.2.3 Kanada

Kanada ahir-akhir ini kembali muncul minat terhadap pengembangan industri untuk penyediaan bahan bakar bioetanol. Produksi bioetanol dan pemakaiannya diawali pada sektor pertanian di Ontario. Pengusaha pertanian dapat memproduksi etanol karena memiliki bahan baku. Praduksi bioetanol di Kanada pada tahun 2005 250 juta L . Bioetanol kemudian digunakan untuk bahan bakar diesel,

seperti truk, traktor dan gembungannya. Produksi etanol di tingkat pedesaan tersebut memberikan keuntungan terhadap petani, karena terjaminnya suplai bahan bakar; dapat memanfaatkan bijian yang masih basah ataupun yang tidak memenuhi standard mutu perdagangan, dapat potongan pajak investasi dan pajak bahan bakar [43]

Dukungan kebijakan dalam pengembangan bioetanol di Kanada sangat besar, yang dibuktikan dengan memberikan pendanaan sebesar CAD \$ 2.7 milyar (US\$ 2.34 milyar) untuk implementasi industri tanaman sebagai raw material biofuel (68 buku biofuel). Program tersebut juga termasuk program penanganan masalah perubahan iklim serta penciptaan proses produksi bioetanol yang lebih ramah lingkungan. Pengembangan teknologi produksi etanol difokuskan pada fasilitas pabrik etanol skala kecil yang dirancang dan dilengkapi dengan prosedur setahap demi setahap yang sesuai untuk calon penggunanya. Kanada, dengan area daratan yang luas dan pertanian yang potensial, mempunyai posisi penting dalam penyediaan bahan baku yang diperlukan untuk produksi etanol [44].

2.2.4 Negara-Negara Eropa

Sebagai anggota Uni Eropa harus mengikuti kebijakan utama Uni Eropa dalam bidang energi yaitu harus mengembangkan biofuel sebagai alternatif untuk bahan bakar transportasi (31 buku biofuel). Semangat pengembangan biofuel termasuk meningkatkan keamanan suplai energi dan menurunkan dampak lingkungan dari polusi akibat sektor transportasi. Kebijakan pengembangan biofuel lebih konkrit pada tahun 2010 biofuel harus menyumbangkan 5% dari total kebutuhan energi untuk transportasi. Saat ini negara-negara Uni Eropa mulai membuat kebijakan dalam mengembangkan biofuels khususnya etanol diantaranya Belgia, Republik Ceko, Prancis, Spanyol, Jerman, Yunani, Latvia, Lithuania dan Swedia. Selain itu pengembangan biofuel juga diharapkan mampu menumbuhkan industri baru dan mampu menyerap tenaga kerja baru 45-50 orang [45].

Negara-negara uni eropa mengembangkan berbagai program insentif untuk merangsang pertumbuhan industri etanol, dengan memberikan keringan pajak bagi industri bioenergi tersebut. Selain itu negara-negara uni eropa juga

mengalokasikan dana khusus untuk pengembangan biofuels. Seperti Swedia yang mengalokasikan dana sebesar US\$ 120 juta/tahun untuk riset dibidang biofuel. Inggris memiliki program insentif bagi industri-industri baru dibidang biofuel [46-47].

2.2.5 Kebangkitan Negara-Negara Asia Dalam Pengembangan Bioetanol

Sebagai pendatang baru dalam penggunaan bioetanol, negara-negara Asia yang memiliki cadangan biomasa besar menunjukkan kemajuan yang pesat dan diperkirakan dalam waktu dekat diprediksi akan mengalami peningkatan sampai 86 %. China, India dan Thailand mempelopori pengembangan bioetanol sebagai energi alternatif di Asia [48]. Secara umum, berikut ini gambaran kebangkitan negara-negara Asia dalam mengembangkan energi berbasis biomasa :

1. Dalam rangka jaminan ketersediaan energi primer, sejumlah negara Asia yang menjadi peserta dalam Second Biomass-Asia Workshop 13-15 Desember 2005 di Bangkok, dengan tingkat implementasi yang berbeda di masing-masing negara, telah menempatkan biomasa sebagai alternatif energi dalam Kebijakan Energi Nasional, dan mengantisipasi akan berakhirnya era minyak bumi dalam kurun waktu 2-3 dekade mendatang.
2. Baru-baru ini di Korea diadakan international symposium di bidang Bioenergy untuk membahas penelitian, pengembangan dan industrialisasi bionergi di Asia [49].
3. Jenis energi berbasis biomasa yang dikembangkan adalah bioetanol(ubikayu, tebu/molasses, sweet sorghum), biodiesel (minyak jarak, minyak sawit, minyak kelapa, minyak goreng bekas dan minyak dari tanaman lainnya) dan gasifikasi limbah pertanian.
4. Khusus bagi bioetanol (gasohol) dan biodiesel untuk transportasi, ada 4 pihak yang saling berkepentingan, yaitu: Pemerintah, konsumen, produsen mobil/ATPM dan produsen bioetanol/biodiesel.

2.2.5.1 India

Pada tahun 2000 Pemerintah India mulai menerapkan pemakaian "*Renewable bio-fuels*" dalam BBM bensin dan diesel. Biofuel yang terbaharukan adalah etanol yang diproduksi dalam negeri. Selain itu, dikembangkan pula biodiesel dari minyak biji-bijian non pangan.

Kementerian Perminyakan ditugaskan untuk melaksanakan tugas ini dengan membentuk satuan tugas yang terdiri dari Komisi Perencanaan, Perusahaan-perusahaan minyak, Pabrik Gula dan Etanol, Dept. Pertanian, Asosiasi Assembling Mobil, Perkeretaapian, dan berbagai lembaga penelitian.

a. Pencampuran BBM Bertahap mulai tahun 2002

Satuan Tugas Etanol mencanangkan program pencampurn bioetanol ke dalam BBM sebagai berikut :

- Februari 2003 : Campuran 5% etanol, diberlakukan dalam 9 negara bagian di India
- Januari 2004 : Campuran 5% etanol untuk seluruh negara bagian di India
- Januari 2005 : Campuran 10% etanol untuk 9 negara bagian di India
- Januari 2006 : Campuran 10% etanol untuk seluruh negara bagian di India.

Campuran dilakukan bertahap agar tersedia cukup waktu untuk membangun pabrik etanol beserta lahan pertaniannya. Saat ini India memproduksi 1,5 juta kL etanol. Pada target akhirnya, India akan mencampurkan etanol dalam BBM bensinnya sebanyak 20%, sehingga jumlah kebutuhannya akan dua kali lipat dari prediksi tahun 2006 [48]

b. Strategi produksi

Untuk mencapai tujuan tersebut, India menetapkan strategi sebagai berikut :

1. Peningkatan kapasitas pabrik Etanol yang sudah ada
2. Sebanyak 36 Kilang Etanol dilengkapi unit dehidrasi agar bisa menghasilkan etanol fuel-grade.
3. Pengembangan secondary juice/filtrat dan sirup dari pabrik gula selain molases, sweet sorghum dan sugar beet guna memperbesar produksi etanol.

4. Para petani dan pabrik gula berusaha keras agar dapat segera memenuhi kebutuhan etanol untuk bahan bakar di India.

c. Kebijakan pasar etanol

Dalam pemasaran etanol, India menempuh berbagai kebijakan sebagai berikut :

1. Pemerintah membeli etanol 99,5% Rp. 3.306 /liter dari kilang etanol.
 2. Kilang BBM membeli etanol franco kilang pada harga setara Rp. 4.344 /liter.
- Dengan adanya kebijakan yang memuaskan semua pihak tersebut, gasohol dapat dipasarkan pada harga yang cukup kompetitif terhadap harga gasolin [48].

2.2.5.2 Republik Rakyat Cina (RRC)

Pemerintah RRC mulai mencanangkan program bahan bakar etanol baru tiga tahun yang lalu dengan cara mencampur 10% etanol dalam gasoline. Pada saat itu total kapasitas produksi etanol di Propinsi Jilin, Henan, Heliongliang adalah 1.250.000 ton per tahun. Pada bulan November 2003, Propinsi Jilin mulai mengoperasikan satu pabrik baru berkapasitas 300.000 ton etanol/tahun menggunakan bahan baku jagung, karena Propinsi Jilin merupakan penghasil jagung terbesar di RRC. Dalam dua tahun terakhir, sebanyak 20.000 ton etanol fuel grade telah dicampurkan ke dalam BBM sebagai Gasohol (E10) dengan subsidi sebesar Rp. 1.700.000/ton FGE. Gasohol E-10 dijual ke masyarakat dengan harga Rp 3.400 per liter [36].

2.2.5.3 Thailand

Program etanol nasional pertama kali diresmikan oleh Raja Bhumibol Aduljadey pada 17 tahun yang lalu. Pada tahun 2000 Kabinet telah menyetujui suatu program yang terpadu untuk sosialisasi bahan bakar etanol di Thailand, dan Komite Etanol Nasional yang dibentuk telah menyetujui permohonan lisensi 8 produsen bahan bakar etanol, sedangkan 11 pemohon lainnya masih dipertimbangkan.

Pemerintah Thailand memiliki komitmen yang kuat untuk mempromosikan etanol sebagai bahan bakar alternatif. Hal ini tercermin dari berbagai kebijakan yang ada, antara lain (1) sedang dipertimbangkan pencabutan izin penggunaan MTBE (aditif bensin); (2) pembebasan pasar etanol secara nasional; (3) penyediaan budget

untuk kestabilan harga etanol; (4) pengenalan gasohol 91 dan diesohol; (5) pengembangan mobil berbahan bakar etanol serta penggunaan mobil berbahan bakar etanol pada instansi-instansi Pemerintah [48].

2.3. Kebijakan Pengembangan Etanol Di Indonesia

Indonesia telah menyadari permasalahan energi nasional baik jangka panjang maupun jangka pendek adalah menyiapkan sumber energi alternatif selain BBM untuk memenuhi kebutuhan masyarakat, transportasi dan industri. Langkah kebijakan untuk pengembangan energi baru dan terbarukan tertuang dalam Perpres No.5 tahun 2006 tentang Kebijakan Energi Nasional (KEN). Salah satu titik berat KEN adalah pengembangan biofuel sebagai energi alternatif termasuk bioetanol. Target pada tahun 2025 adalah 5% kebutuhan energi nasional dipenuhi oleh biofuel termasuk bioetanol [6].

Target capaian pengembangan biofuel sampai tahun 2009 adalah pengeksploasian tanaman yang berpotensi sebagai bahan baku biofuel. Tersedianya informasi pasar biofuel internasional dan nasional, pengembangan proses pembuatan biofuel berbahan baku minyak sawit dan jarak pagar yang optimal, serta diperolehnya informasi teknik fermentasi secara optimal untuk setiap bahan baku [5].

Sasaran tahun 2025 adalah dikuasanya teknologi proses, engineering design dan pembangunan pabrik *high/superior-performance biofuel*, produksi bioetanol dengan bahan baku lignoselulosa dari hasil samping tanaman, produksi bahan bakar etanol secara tepat guna pada skala kecil dan menengah. Hal ini didasarkan pada potensi biomassa di seluruh Indonesia bila dikonversi menjadi energi listrik akan mencapai 1,160 MWe yang terdiri dari bagas tebu, limbah kelapa sawit, limbah penggergajian kayu dan sekam padi. Pulau Sumatera mempunyai potensi biomassa paling tinggi yaitu 590 MWe, berasal dari bagas tebu (40%), limbah kelapa sawit (29%), sisanya dari limbah penggergajian kayu dan sekam padi. Potensi biomassa di Pulau Jawa sebesar 280 MWe yang didominasi oleh bagas tebu dan sekam padi. Kalimantan berpotensi sebesar 230 MWe dan Sulawesi 60 MWe. Potensi tersebut belum banyak dimanfaatkan karena masih rendahnya

Universitas Indonesia

pengembangan biofuel di Indonesia [5]. Pengembangan biofuel khususnya etanol dari material lignoselulosa diharapkan sudah dapat diproduksi minimal pada tahun 2016 untuk bauran energi transportasi [4-5].

2.4 Bagas Sebagai Bahan Baku Bioetanol

Tanaman tebu (*Saccharum officinarum*) terkategori tanaman berserat yang memiliki kandungan polisakarida yang cukup tinggi dan kandungan lignin yang relatif rendah sehingga pemanfaatan terbesar saat ini adalah untuk industri gula. Diperkirakan kandungan polisakarida pada tebu mencapai lebih dari 70% yang terbagi selulosa 50%-55% dan hemiselulosa 15%-20%. Kandungan lignin diperkirakan hanya sekitar 20-23% di luar itu adalah senyawa lain yang sering disebut sebagai senyawa abu. Polisakarida yang terkandung pada tebu terdiri dari berbagai macam monosakarida diantaranya glukosa, fruktosa, xylosa, mannososa, galactosa, arabinosa serta polisakarida lain, baik yang tergolong pentosa maupun hexosa sehingga tanaman ini dapat dikategorikan sebagai *lignocellulosic material* (material berbasis lignoselulosa). Diperkirakan kandungan monosakarida terbesar pada bagas adalah glukosa dan xylosa [50].

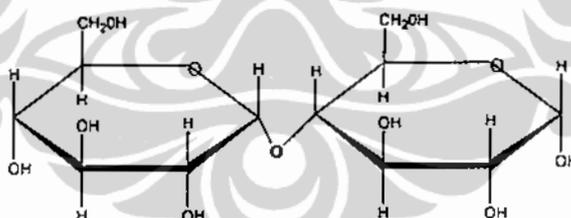
Potensi bagas di Indonesia cukup besar karena memiliki luas tanaman tebu cukup luas yaitu total sekitar 335.724,7 ha yang tersebar di wilayah Sumatera, Jawa dan Kalimantan [10]. Total biomas di Sumatera terdiri dari bagas tebu (40%), limbah kelapa sawit (29%), sisanya dari limbah penggergajian kayu dan sekam padi. Sedangkan total biomassa di Pulau Jawa sebesar didominasi oleh bagas tebu dan sekam padi [5].

Pada proses pengolahan tebu menjadi gula, tidak semua tebu terkonversi menjadi gula, masih ada residu padat yang diyakini masih memiliki kandungan karbohidrat khususnya selulosa cukup tinggi dan masih belum dimanfaatkan dengan optimal. Potensi bagas yang merupakan residu padat pada industri gula terutama industri-industri besar belum banyak dimanfaatkan.

Potensi bagas di PT. Gunung Madu Plantations, Lampung yang dihasilkan dari industri gula mencapai 100 ton/tahun. PT. Gula Putih Mataram dan PT. Indo Lampung diperkirakan juga memiliki kapasitas bagas yang sama. Selain itu di Pulau Jawa juga terdapat areal penanaman tebu di PT. Rajawali II di Jawa Barat dan PT. Rajawali II di Jawa Timur. Data industri gula berbasis tebu sebagaimana telah dijelaskan dalam Tabel 1.1.

2.4.1 Selulosa

Selulosa merupakan jenis polisakarida yang paling melimpah dan merupakan konstituen utama pada setiap struktur tanaman serta diproduksi juga oleh sebagian hewan dan sebagian kecil dari bakteri. Perbedaan terbesarnya adalah pada komposisi dan struktur anatomi dari dinding sel antara tumbuhan, hewan dan bakteri [51]. Kandungan selulosa pada kayu rata-rata 48%-50% sedangkan pada bagas berkisar antara 49%-55% [52]. Selulosa adalah polimer linier dari molekul D-glukosa yang merupakan ikatan bersama rantai β -1,4-*glycosidic*. Dua unit glukosa yang berdekatan terbentuk dari eliminasi pada 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 2.2.

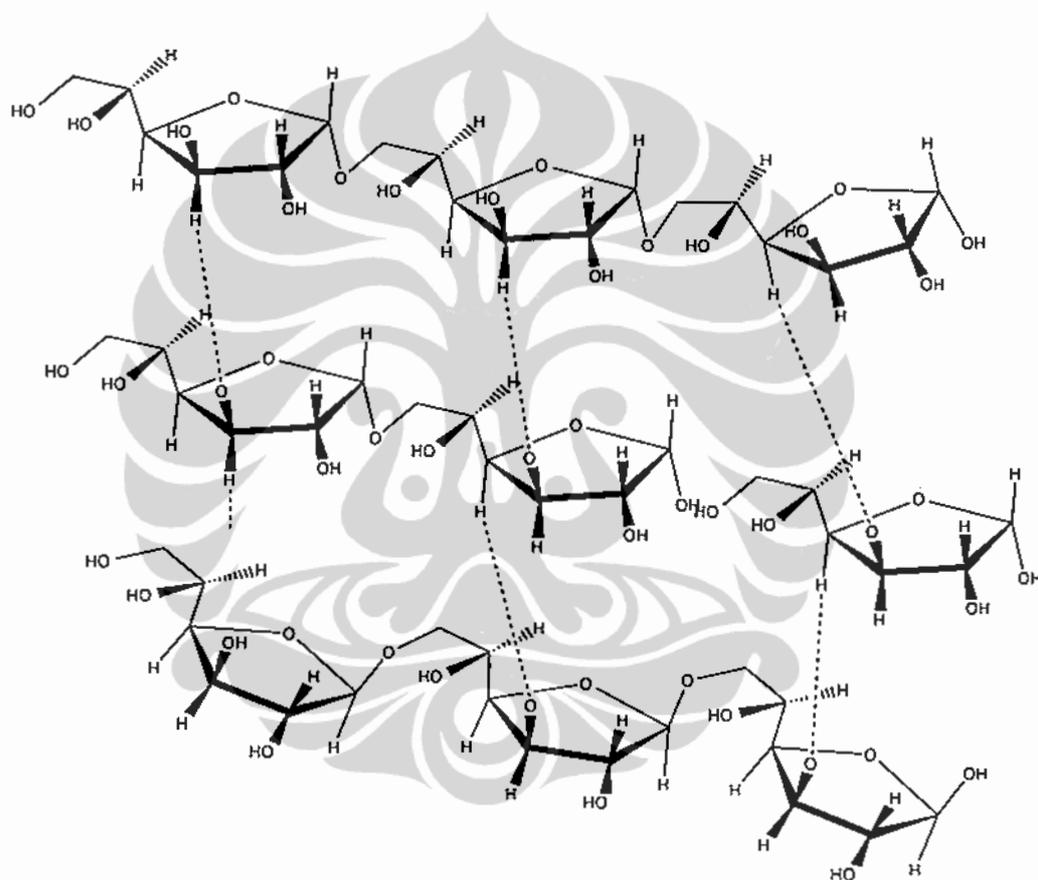


Gambar 2.2 Struktur Selobiosa [53]

Selulosa tersintesis di alam sebagai molekul individu (rantai lurus dari residu glukosil), sekitar 30 molekul individu selulosa bergabung membentuk unit yang lebih besar yang dikenal dengan nama fibril dasar (*protofibril*). Unit ini bergabung lagi membentuk unit yang lebih besar yang disebut dengan mikrofibril. Mikrofibril ini bergabung dan membentuk serat selulosa [54-55]. Karakteristik serat selulosa merupakan serat cukup halus, berstruktur linier, memiliki ikatan hidrogen intramolekul dan antarmolekul yang cukup tinggi. Akibatnya selulosa

tidak termoplastik dan sulit untuk diuraikan tanpa bantuan bahan kimia atau enzim.

Kristalin alami dari selulosa adalah suatu struktur dimana semua atom mempunyai posisi tetap dengan posisi tersendiri dari antar atom yang ada. Kumpulan kristalin merupakan kumpulan komponen molekul individu mikrofibril yang tersusun secara kuat untuk mencegah penetrasi dari enzim dan molekul yang lebih kecil seperti air.



Gambar 2.3 Struktur Selulosa [53].

Serat selulosa di alam sebenarnya tidak murni hanya kristalin, tetapi terdapat daerah lain yang disebut daerah *amorphous*. Total area permukaan selulosa lebih besar daripada area permukaan serat lain dalam dimensi yang sama. Efek dari heterogenya struktur serat, dapat menyebabkan sebagian kecil serat yang

terhidrasi oleh air ketika direndam dalam larutan dan beberapa pori-pori mikro dapat dipenetrasi oleh molekul yang lebih besar seperti enzim [53]. Struktur selulosa dapat dilihat pada gambar 2.3.

Derajat polimerisasi glukosa pada rantai selulosa berada pada *range* 7.500-15.000 untuk selulosa pada tanaman. Selain itu, glukosa pada rantai selulosa dapat berputar 180°C . Hal ini disebabkan karena gugus -OH yang membentuk dua jembatan H antara molekulnya sendiri (intramolekular) yang membentuk fibril dan dengan rantai tetangganya (intermolekular) akan membentuk mikrofibril [56-57].

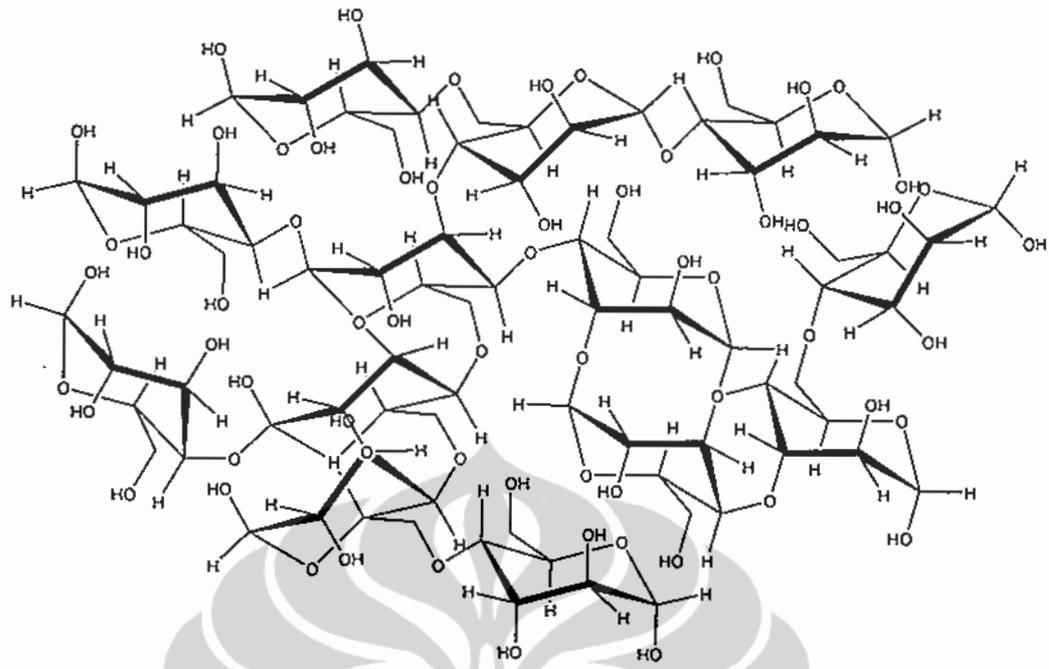
Gugus fungsi pada rantai selulosa adalah gugus fungsi hidroksil (-OH). Grup hidroksil mampu berinteraksi dengan grup -OH yang lainnya atau dengan grup O-, N-, S- membentuk ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen terdapat juga pada grup OH dari selulosa dan molekul air. Gugus hidroksil membuat permukaan selulosa menjadi sangat hidrofilik. Rantai selulosa mempunyai gugus -OH pada kedua ujungnya dan rantai selulosa sangat stabil karena adanya ikatan hidrogen sepanjang rantainya. Pada tumbuhan, rantai selulosa tersusun bersama-sama untuk membentuk kristalin mikrofibril pada tiap rantai selulosa dan saling berikatan satu dengan yang lainnya. Pada tiap kristal selulosa mengandung sepuluh rantai glukosa. Tujuh dari sepuluh kristal *polymorph* selulosa telah teridentifikasi, yaitu I α , I β , II, III_I, III_{II}, IV_I, IV_{II}. Di alam, selulosa I α dan I β adalah kristal yang paling banyak ditemukan [58-59].

Proses degradasi selulosa dapat dilakukan oleh mikroorganisme selulolitik yang berasal dari bakteri ataupun jamur. Degradasi sempurna selulosa akan melepaskan karbon dioksida (CO₂) dan air pada kondisi aerobik. Pada kondisi anaerobik, akan melepaskan karbon dioksida, metana, dan air [28-29]. 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 [20,54].

2.4.2 Hemiselulosa

Hemiselulosa merupakan rantai cabang dari polisakarida yang mengandung pentosa seperti D-xilosa dan L-arabinosa dan heksosa seperti D-glukosa, D-mannosa, D-galaktosa, 4-O-methylglucuronic dan turunan dari asetil. Hemiselulosa tidak membentuk daerah kristalin dan hal ini menyebabkan hemiselulosa menjadi lebih mudah dihidrolisis menjadi gula. Tetapi pentosa sangat sulit difermentasi menjadi etanol [51,60]. Derajat polimerisasi dari hemiselulosa berada pada kisaran dari 20 – 300, yakni lebih rendah dari selulosa. Struktur kimia dari hemiselulosa membuatnya sangat hidrofilik sehingga mudah menyerap air. Hal ini juga menjelaskan mengapa hemiselulosa sangat mudah dibedakan dengan selulosa. Hemiselulosa mempunyai ikatan kovalen dengan lignin dan ikatan hidrogen dengan selulosa, sehingga hemiselulosa bertindak sebagai perekat antara selulosa dengan lignin. Xylan adalah karbohidrat utama pada hemiselulosa, karena xylan merupakan grup utama yang menyusun rantai polimer hemiselulosa. Untuk mendegradasi xylan, dibutuhkan kerja sama dari beberapa enzim hidrolitik. Dua enzim yang berperan penting untuk memecah xylan menjadi xilosa adalah endo-1,4- β -xylanase dan xylan 1,4- β -xylosidase. Kedua enzim ini membentuk oligosakarida dari pemutusan ikatan xylan dan xylan oligosakarida akan memproduksi xilosa. Hemiselulosa pada *hardwood* (angiospermae) adalah *glucuronoxylan* dan pada *softwood* (gymnospermae) adalah *glucomannan* [53,61]. Perbedaan utama antara hemiselulosa dan selulosa adalah bahwa selulosa mempunyai cabang dengan rantai lateral yang pendek dan mengandung gula yang berbeda.

Pada material lignoselulosa, secara umum monosakarida dari hemiselulosa yang terbanyak adalah xilosa, termasuk juga pada bagas. Hemiselulosa memiliki karakteristik yang berbeda dengan selulosa karena memiliki ikatan yang lebih kuat dan relatif mudah untuk terhidrolisis menjadi monomernya. Oleh karena itu, diperlukan enzim dan *yeast* yang spesifik dalam mengkonversi hemiselulosa menjadi etanol. Struktur hemiselulosa yang terdiri dari rantai xylosa ditunjukkan dalam Gambar 2.4.



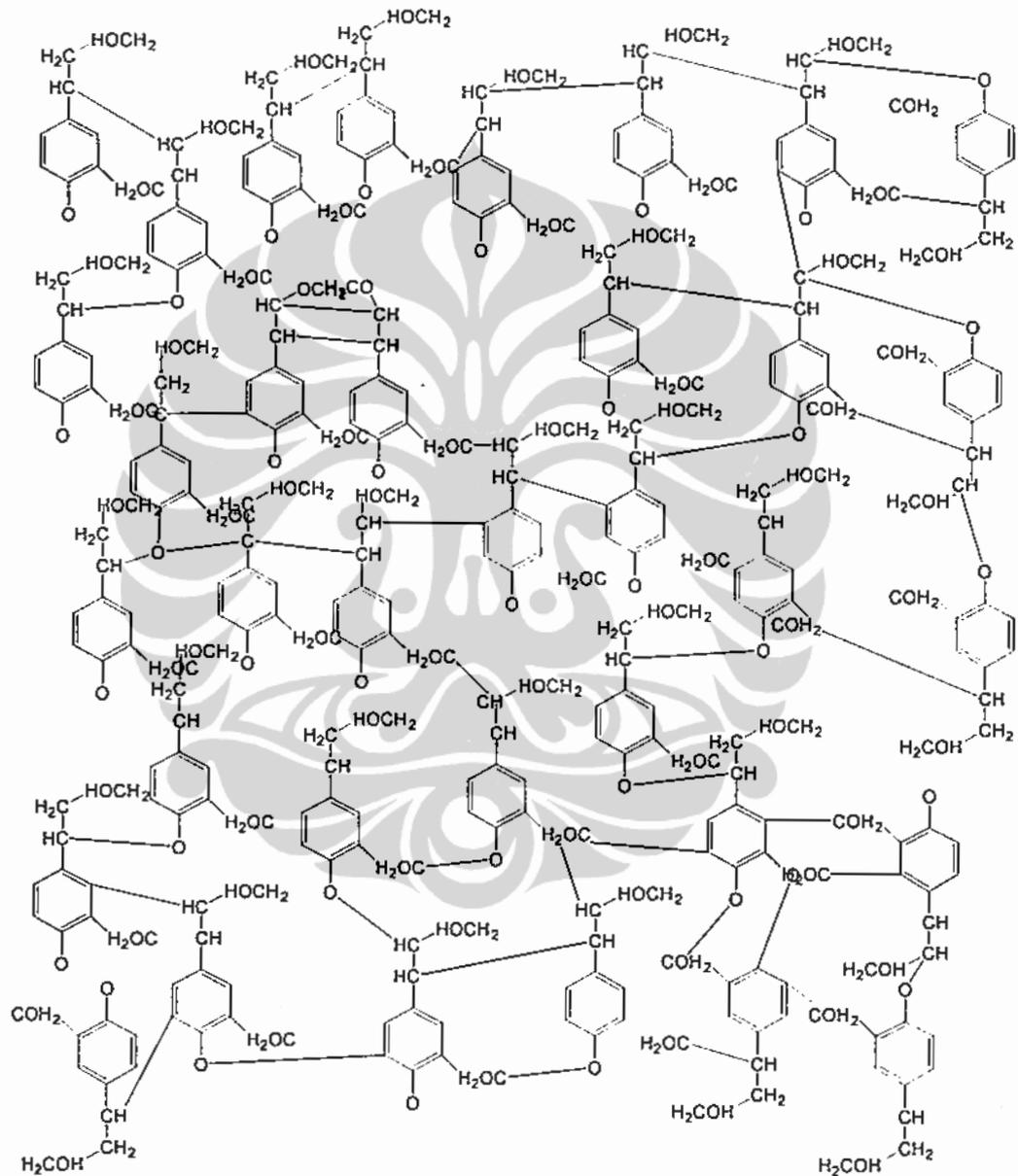
Gambar 2.4 Struktur Hemiselulosa Untuk *Hardwood* Dan *Softwood* [53]

2.4.3 Lignin

Selain polisakarida, salah satu komponen dalam dalam kayu dan biomasa adalah lignin yang jumlahnya pada kayu sekitar 25%-30% dan pada bagas berkisar 20-30%. 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* [51, 60, 62].

Secara hayati lignin dengan mudah dapat didegradasi oleh sebagian kecil organisme salah satunya adalah dengan jamur pelapuk putih karena mampu menghasilkan peroxy radical dan enzim lignolytic yang mampu mendegradasi lignin pada ikatan fenolnya [54]. Secara kimiawi lignin dapat didegradasi oleh Sodium klorat maka senyawa polifenol lignin akan rusak [96]. Pada proses

konversi biomasa menjadi etanol dengan proses hidrolisis dan fermentasi, kekuatan ikatan lignin menjadi penghalang dalam proses hidrolisisnya. Oleh karena itu, banyak diupayakan perlakuan untuk menghancurkan ikatan lignin seperti *steaming* dan perlakuan dengan jamur pelapuk putih untuk mengoptimalkan konversi polisakarida menjadi etanol [34, 63].



Gambar 2.5 Struktur Lignin Diadopsi Dari *Wood And Cellulosic Chemistry* [53]

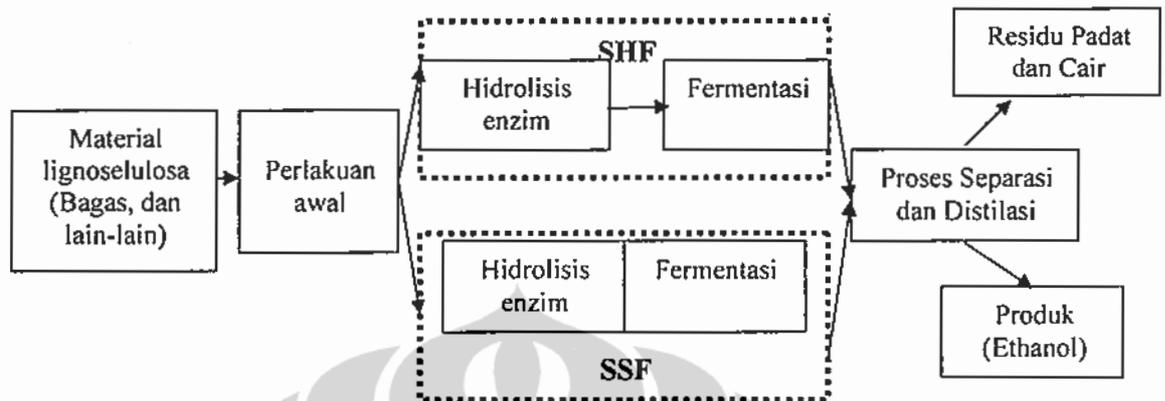
Pendegradasian lignin dapat terjadinya karena adanya enzim lignolitik dan *peroxyl radical* yang dapat memotong ikatan lignin. Enzim lignolitik yang dapat mendegradasi lignin diantaranya adalah lignin peroksidase (ligninase, LiP), mangan peroksidase (MnP), dan *laccase* [54, 62]. Lignin peroksidase pertama kali ditemukan pada jamur *Phanerochaete chrysosporium*. LiP mengkatalis senyawa aromatik nonfenolik, mengoksidasi senyawa amina, aromatik eter dan aromatik polisiklik. Mangan 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) atau 1- hydroxybenzotriazole. *Laccase* mengandung empat atom tembaga dalam satu molekul [61, 62, 64-65]. Secara umum struktur lignin yang cukup kompleks dapat dilihat pada Gambar 2.5.

2.5. Proses Konversi Material Lignoselulosa Menjadi Etanol

Etanol di dunia saat ini umumnya diproduksi dari turunan pati atau lebih spesifik lagi dari sukrosa, xylosa atau glukosa dan lain-lain [66]. Perkembangan terbaru etanol juga dapat dihasilkan dari biomassa yang memiliki kandungan karbohidrat yang cukup tinggi. Kandungan karbohidrat dihidrolisis dengan cepat menjadi menjadi monomer-monomer gula kemudian difermentasi menggunakan yeast seperti *Sacharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*) atau *Pichia stipities* (*P. stipities*) menjadi etanol [67].

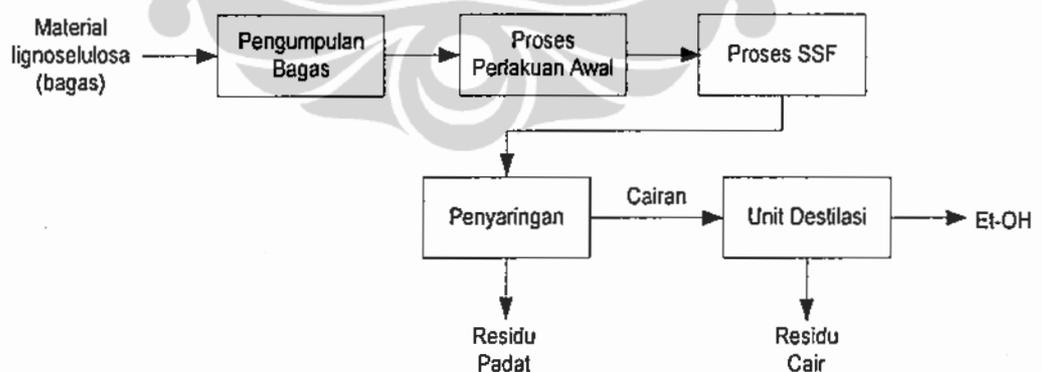
Secara umum proses produksi bioetanol dari material lignoselulosa terbagi menjadi empat tahap. Pertama, proses perlakuan awal atau perlakuan awal untuk mendegradasi atau mendekomposisi lignin dengan tujuan memperlancar proses reaksi hidrolisis dan fermentasi. Kedua, proses hidrolisis yaitu untuk memecah rantai polisakarida menjadi monosakarida, jika selulosa maka akan terkonversi menjadi glukosa dan jika substratnya xylan maka akan terkonversi menjadi xylosa [68-69]. Ketiga proses fermentasi untuk mengubah monosakarida menjadi etanol, biasanya proses fermentasi menggunakan yeast *S. cerevisiae*. Keempat proses pemurnian etanol umumnya dengan menggunakan distilasi. Secara skematik

tahapan proses produksi bioetanol dari material lignoselulosa termasuk bagas sebagaimana ditunjukkan dalam gambar 2.6 berikut:



Gambar 2.6 Tahapan Proses Produksi Bioetanol Dari Material Lignoselulosa dengan SHF dan SSF [14, 35].

Proses konversi material lignoselulosa menjadi etanol masih dilakukan dengan menggunakan *Separated Hydrolysis And Fermentation* (SHF), yaitu proses dimana hidrolisis dan fermentasi dilakukan terpisah (menggunakan reaktor yang berbeda). Metode SHF masih banyak digunakan di Indonesia. Saat ini proses konversi berkembang dengan menggunakan proses *simultaneous saccharification and fermentation* (SSF) atau kita sebut sebagai sakarifikasi dan fermentasi serempak (SSF).



Gambar 2.7 Diagram Alir Proses Produksi Etanol dari Material Lignoselulosa (Bagas) dari Hulu Sampai Hilir [78]

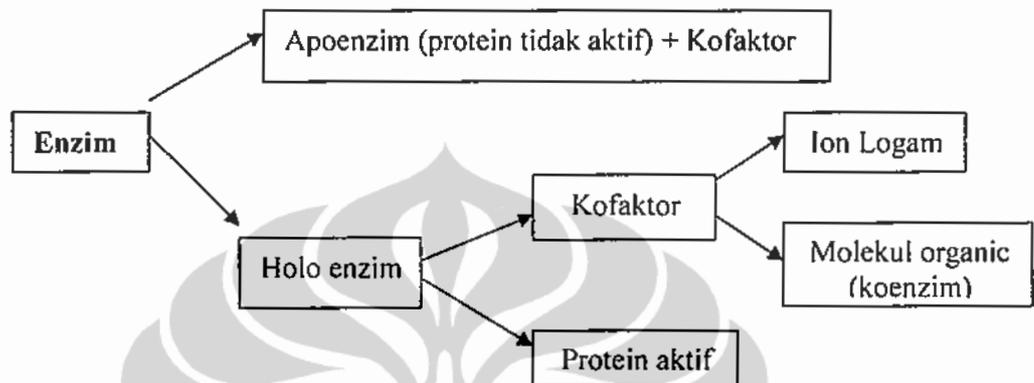
Proses SSF dilakukan dengan menggunakan satu reaktor untuk proses hidrolisis dan fermentasinya. Secara singkat diagram alir proses produksi bioetanol dari hulu sampai hilir dari lignoselulosic material dengan salah satu prosesnya menggunakan proses SSF dapat dilihat dalam diagram alir pada Gambar 2.7. Keuntungan dari proses ini adalah polisakarida yang terkonversi menjadi monosakarida tidak kembali menjadi polisakaridanya karena monosakaridanya langsung difermentasi menjadi etanol. Selain itu dengan menggunakan satu reaktor dalam prosesnya tentunya akan mengurangi biaya peralatan yang digunakan [16, 68-72].

2.6. Enzim

Enzim adalah katalis hayati atau biokatalis pada reaksi biokimia. Katalis sendiri didefinisikan sebagai suatu bahan atau zat yang meningkatkan kecepatan reaksi kimia dengan menurunkan energi aktivasi. Reaktan pada reaksi katalisis oleh enzim disebut substrat. Berbeda dengan katalis sintetik, enzim meningkatkan laju reaksi pada kondisi biasa atau fisiologis (pH normal, tekanan dan suhu) dengan selektifitas yang tinggi terhadap reaktan yang dikatalisis dan jenis reaksi. Sehingga di dalam suatu sel atau organisme hidup terdapat banyak enzim yang masing-masing suatu sel atau organisme hidup terdapat banyak enzim yang masing-masing mempunyai fungsi tersendiri. Sifat spesifik ini sangat penting dalam menjaga keharmonisan sistem dalam sel hidup. Bagaimana sel memilih substrat yang akan digunakan untuk sintesa atau degradasi biomolekul (misalnya lipid, polisakarida, asam nukleat ataupun protein), seberapa banyak jumlahnya, kapan dan dimana sangat ditentukan oleh enzim yang ada dalam sel tersebut.

Enzim sudah dimanfaatkan selama berabad-abad dalam proses fermentasi, meskipun keberadaan dan sifat aslinya baru diketahui secara jelas pada awal abad 20. Pada awalnya, proses fermentasi gula menjadi alkohol dianggap hanya dapat terjadi bila ada organisme hidup, dalam hal ini yeast. Kata enzim sendiri berasal dari bahasa greek "*enzyme*" yang berarti "di dalam yeast". Baru setelah Eduard Buchner (1897) melakukan eksperimen diketahui bahwa proses fermentasi dapat terjadi dengan penambahan ekstrak yeast tanpa melibatkan sel hidup. Hasil

penelitian tersebut menginspirasi peneliti untuk mengisolasi dan memurnikan enzim. Summer (1926) berhasil mengisolasi dan mengkarakterisasi urease dari ekstrak *Jack-bean* (sejenis kacang-kacangan). Kini banyak enzim murni berhasil diperoleh seperti enzim amilase, selulase, xylanase dan peroksidase yang struktur dan sifat-sifatnya dapat ditentukan [28, 53].



Gambar 2.8 Komponen enzim secara umum [28, 53]

Karakterisasi secara *in vitro* menunjukkan bahwa penyusun utama enzim adalah protein. Namun, sebagian enzim membutuhkan kofaktor (komponen non protein) agar aktifitas enzimnya berfungsi (Tabel 2.1). Dalam hal ini, komponen enzim yang tidak aktif disebut sebagai apoenzim, sedangkan komponen enzim aktif termasuk kofaktor disebut sebagai holoenzim. Kofaktor dapat berupa molekul organik, yang umumnya adalah vitamin atau turunannya dan disebut sebagai koenzim. Ada pula kofaktor yang berupa ion logam. Untuk lebih jelasnya komponen umum enzim ditunjukkan pada Gambar 2.8.

Secara tradisional nama umum suatu enzim adalah yang berbentuk substrat-ase atau jenis reaksi-ase, kecuali enzim proteolitik diakhiri dengan penambahan-in (misalnya tripsin). Sistem penamaan enzim *International Union of Biochemistry* menunjuk *International Enzyme Commission* (IEC) untuk mengkoordinir penertiban penamaan enzim. Enzim diklasifikasikan dalam enam kelompok utama, berdasarkan total reaksi yang dikatalisis yaitu:

1. Oxidoreductases (reaksi oksidasi/reduksi)
2. Transferase (transfer suatu atom atau grup antara dua molekul).

3. Hydrolase (reaksi hidrolisis)
4. Lyases (penghilangan satu grup dari substrat selain dengan cara hidrolisis)
5. Isomerases (reaksi isomerisasi)
6. Ligases (penggabungan dua molekul)

Tabel 2.1. Enzim Yang Membutuhkan Kofaktor Ion Logam dan Koenzim [28,53]

Kofaktor	Enzim
Ion Logam	
Ca ²⁺	α-amylase, collagenase, micrococcal lipase, micrococcal nuklease
Co ²⁺	Glukosa isomerase
Cu ²⁺	Catalase, peroksidase
Mg ²⁺	Deoksiribonuclease, DNA polimerase
Mn ²⁺	Arginase
Na ⁺	ATPase, phosphoenol piruvate
K ⁺	Phosphoenol piruvate
Zn ²⁺	Alkohol dehidrogenase, alkalin phosphatase, carboksiptidase
Koenzim	
Nicotinamid Nucleotides/NAD ⁺	Alkohol dehidrogenase, laktat dehidrogenase
Flavin adnin Dinukleotid/FAD	Glukosa oksidase
Thiamin pyurophosphat/TPP	Pyruvate decarboksilase
Pyrodaxal phosphate	Aspartat transaminase

Salah satu sifat unik enzim sebagai biokatalis adalah selektifitas yang sangat tinggi. Reaksi yang dikatalisa oleh enzim sangat spesifik produk dan spesifik substrat, bahkan juga spesifik stereokimia apabila substratnya tersedia dalam dua bentuk isomer. Beberapa enzim menunjukkan spesifik gugus, dimana aktif pada gugus substrat tertentu. Alkohol dehidrogenase, misalnya bertindak sebagai katalis untuk proses oksidasi dari berbagai substrat alkohol. Sebaliknya enzim lainnya bekerja sangat spesifik, misalnya glukokinase merupakan katalis dalam proses transfer fosfat dari ATP ke glukosa.

Berdasarkan teoritis interaksi tiga sisi (*three point interaction*) sifat selektif diatas memerlukan minimal tiga sisi interaksi yang berbeda antar enzim dengan substrat. Pertama, daerah penempelan substrat (*substrate binding site*), daerah katalitik (*catalytic site*) dan sisi lain yang memungkinkan interaksi dengan komponen lain di dalam sel. Setiap substrat menempel dengan enzim pada sisi tertentu untuk

membentuk substrat enzim kompleks dimana gugus aktif ditempatkan berdekatan satu sama lain dan juga dekat dengan sisi katalitik. Letak daerah penempelan substrat dengan sisi katalitik dari suatu struktur tiga dimensi enzim umumnya berdekatan dan biasa disebut sebagai sisi aktif [73-74].

Menurut hipotesis *lock and key* Fisher, sisi aktif mempunyai sifat struktural yang kokoh dan struktur enzim tidak berubah selama proses pengikatan berlangsung. Fischer mengemukakan bahwa struktur suatu enzim yang ada hubungannya dengan substrat adalah komplemen seperti suatu gembok dengan kuncinya (Gambar 2.9).



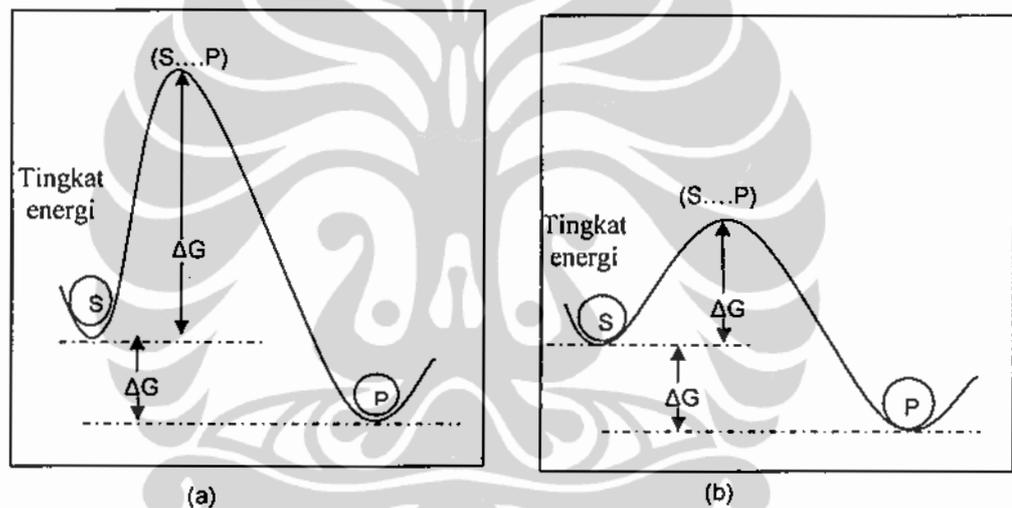
Gambar 2.9 Mekanisme Kerja Enzim [28]

Hipotesa gembok dan kunci ini bertanggung jawab pada spesifitas dari suatu enzim. Namun sekarang sudah banyak bukti percobaan yang menunjukkan bahwa terjadi perubahan banyak konformasi enzim selama proses pengikatan substrat. Koshland dalam hipotesa '*induce fit*' mengemukakan bahwa sisi aktif enzim menyesuaikan diri dengan substrat selama pembentukan kompleks enzim-substrat. Faktor utama yang menentukan apakah suatu enzim akan bekerja pada substrat tertentu untuk menghasilkan produk tertentu adalah kestabilan masa transisi enzim-substrat selama proses pembentukan produk [28, 53, 75-76].

Kenyataan bahwa enzim dapat bekerja di luar sistem sel hidup tanpa kehilangan aktivitasnya telah membuka peluang pemanfaatan enzim dalam industri dan kesehatan. Penggunaan enzim dalam industri mengalami perkembangan yang pesat karena enzim bekerja sangat spesifik dan efisien dan berfungsi pada suhu kamar sehingga hemat energi. Misalnya enzim glukosa isomerase yang diimmobilisasi digunakan untuk mengubah glukosa menjadi fruktosa yang lebih manis. Dalam beraktivitas, enzim juga membutuhkan beberapa tambahan

komponen kimia yang disebut dengan kofaktor. Kofaktor dapat berupa molekul anorganik seperti Fe^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} atau molekul organik kompleks yang disebut koenzim. Beberapa enzim membutuhkan baik koenzim maupun satu atau lebih ion logam bagi aktivitasnya [56, 77].

Diagram reaksi katalisis dengan enzim pada Gambar 2.10 menunjukkan energi yang dibutuhkan pada setiap tahap reaksi. 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 menurunkan energi aktivasi sehingga energi yang dibutuhkan untuk mencapai produk akhir lebih kecil dibandingkan reaksi tanpa enzim.



Gambar 2.10 Diagram Energi Reaksi Katalisis (a) Reaksi Biasa Tanpa Enzim (b) Reaksi Enzimatis [28, 53]

Inhibitor adalah molekul alami atau sintetik yang dapat menurunkan aktivitas enzim. Molekul yang bisa meningkatkan aktivitas enzim disebut aktivator. Inhibitor ada yang bersifat kompetitif dan non-kompetitif. Pada reaksi enzim dengan inhibitor kompetitif, molekul substrat bersaing dengan inhibitor untuk berikatan dengan molekul enzim, namun substrat tetap bereaksi dengan enzim hanya terganggu dengan keberadaan inhibitor. Hal ini terjadi apabila ada substrate lain yang dapat bereaksi dengan molekul enzim. Sedangkan pada reaksi

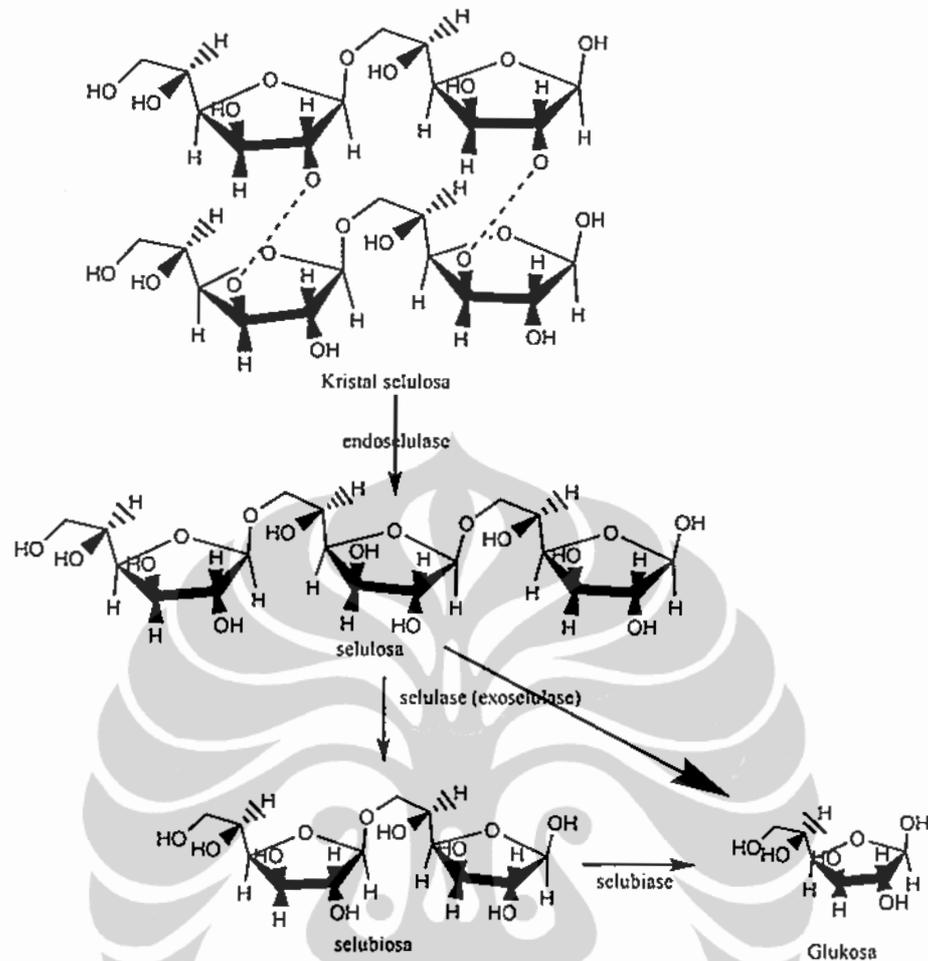
enzim dengan inhibitor non kompetitif tidak ada persaingan antara molekul substrat dengan inhibitor dalam berikatan dengan molekul enzim karena enzim memiliki *active site* dan *inhibitor site* dalam struktur molekulnya. Hal ini terjadi karena enzim memiliki karakter spesifikasi yang tinggi terhadap substrat tertentu. Fenomena ini berarti, satu enzim umumnya hanya dapat menjadi katalis untuk suatu reaksi yang terlibat dalam substrat tertentu dan tidak semua enzim dapat dipakai untuk semua substrat [78-79].

2.6.1 Enzim Selulase

Selulase adalah enzim kompleks yang memecah selulosa menjadi glukosa. Selulase terutama diproduksi oleh bakteri simbiotik dalam lambung hewan memamah biak pada golongan herbivora. Disisi lain secara umum hewan termasuk manusia tidak bisa memproduksi selulase dalam tubuhnya. Oleh karena itu, manusia tidak mendapatkan banyak energi yang terkandung dalam tumbuhan. Selulase dapat dihasilkan dari mikroorganisme diantaranya yaitu *Trichoderma reesei*, *Trichoderma longbrachiatum*, *Trichoderma harzianum*, *T. hamatum*, *T. koningii*, *T. pseudokoningii*, *T. pilulifemm*, dan *T. aureoviride*. Mikroorganisme lainnya yang juga bisa memproduksi selulase adalah *Aspergillus terreus* [80-82].

Enzim selulase memiliki spesifikasi untuk menkonversi selulosa menjadi glukosa. Komponen utama penyusun enzim selulase adalah endoselulase dan eksoselulase. Jenis enzim selulase yang membentuk enzim selulase kompleks adalah sebagai berikut :

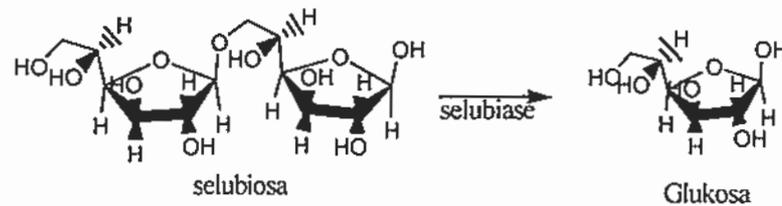
- Endoselulase yaitu enzim yang memecah ikatan internal untuk memutuskan struktur kristalin pada selulosa dan membuka rantai polisakarida.
- Eksoselulase adalah enzim yang membelah 2-4 unit dari akhir rantai yang diproduksi oleh endoselulase menghasilkan tetrasakarida atau disakarida dan menghasilkan monosakarida yaitu glukosa
- Beta-glukosidase atau selobiase yakni enzim yang menghidrolisis produk eksoselulase menjadi monosakarida, namun jumlah enzim ini relatif sedikit dalam selulase.



Gambar 2.11 Jenis Dan Aksi Enzim Selulase [53, 83]

2.6.2 Enzim Selobiase

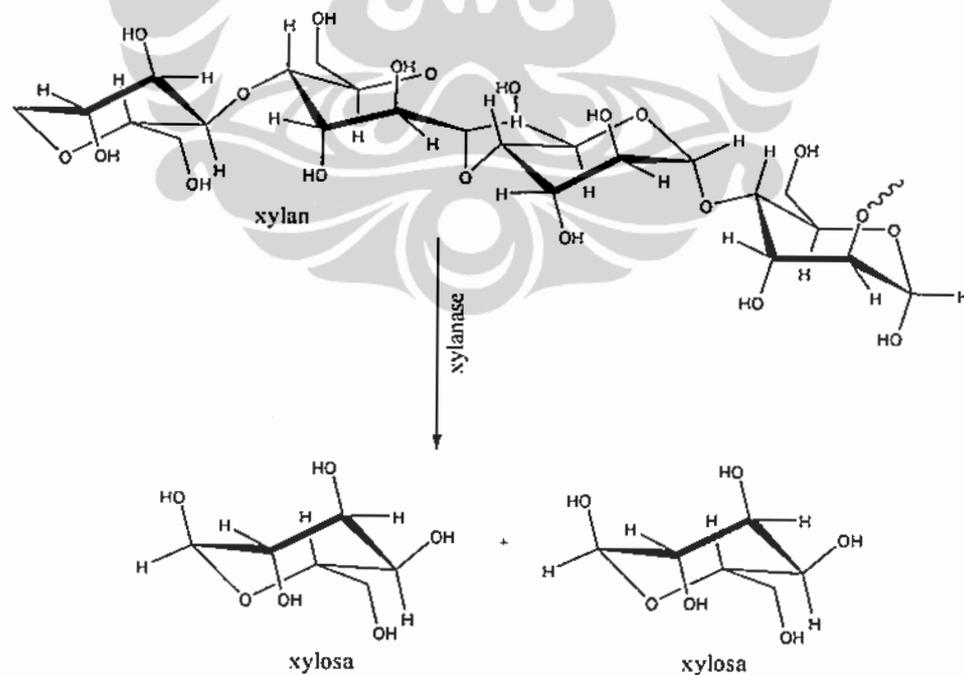
Enzim selobiase adalah enzim yang memecah selobiosa menjadi glukosa. Enzim ini disebut juga enzim beta-glukosidase. Selobiase sebenarnya ada dalam satu komponen enzim selulase yang kompleks yang berfungsi untuk memecah selobiosa menjadi glukosa. Namun semenjak diketahui bahwa keberadaan enzim selobiase dalam selulase hanya sedikit karena lebih didominasi oleh enzim endoselulase dan eksoselulase sehingga tidak cukup optimal jika hanya mengandalkan selobiase yang berada dalam selulase. Maka sangat penting untuk menambah enzim selobiase dalam sebuah reaksi enzimatik dari selulosa menjadi glukosa [20, 84]. Aksi enzim selobiase ketika menghidrolisis selobiosa menjadi glukosa dapat dilihat pada Gambar 2.12.



Gambar 2.12 Aksi Enzim Selubiase [53]

2.5.3 Enzim Xylanase

Enzim yang dapat memecah hemiselulosa disebut xylanase. Endo-1,4- β -xylanase (EC 3.2.1.8) atau disebut xylanase adalah enzim penghidrolisis xylan yang utama. Enzim ini menghidrolisis bagian kerangka utama xylan yaitu ikatan β -1,4-D-xylopiranosil [85-86]. Xylanase juga mengandung enzim β -xylosidase (*ekso- β -xylanase*) dan asetil *xylan esterase* yang merupakan sisi aktif daripada enzim xylanase. Dalam memecah hemiselulosa xylanase bersama dengan enzim-enzim lainnya, yaitu: α -arabinofuranosidase, α -metilglukosidase, dan ferulic acid esterase. Enzim-enzim tersebut bekerja secara sinergis dalam memecah polimer hemiselulosa menjadi xylosa. *Genus trichoderma* diketahui memproduksi semua enzim xylanolitik [29, 87].



Gambar 2.13 Aksi Enzim Xylanase Dalam Memecah Xylan Menjadi Xylosa [53]

Aksi enzim xylanase dalam memecah xylan menjadi xylosa diperlihatkan pada Gambar 2.13. Dengan kemampuan yang spesifik enzim xylanase banyak dimanfaatkan untuk mengkonversi xylan menjadi etanol secara terpisah dari selulosa.

2.7. Hidrolisis Dengan Enzim

Enzim memiliki kemampuan mengaktifkan senyawa lain secara spesifik dan dapat meningkatkan kecepatan reaksi kimia yang akan berlangsung lama apabila tidak menggunakan enzim. Enzim memiliki ukuran yang sangat besar apabila dibandingkan dengan substrat atau gugus fungsional targetnya. Beberapa enzim hanya terdiri dari polipeptida dan tidak mengandung gugus kimiawi selain residu asam amino [56, 88-89].

Hidrolisis enzimatik memiliki beberapa keuntungan dibandingkan dengan hidrolisis asam, diantaranya dapat menurunkan resiko korosi pada alat proses serta mengurangi kehilangan energi pada bahan bakar produksi. Kekurangan dari hidrolisis enzimatik ini adalah lajunya akan menurun seiring meningkatnya konsentrasi glukosa di dalam reaktor. Inhibisi oleh glukosa ini pada akhirnya akan menghentikan proses hidrolisis kecuali ada mekanisme khusus untuk mengambil glukosa yang terbentuk [29, 90].

Enzim yang digunakan untuk menghidrolisis selulosa menjadi glukosa adalah enzim selulase. Karena strukturnya yang rigid, selulosa kristalin resisten terhadap aksi individual selulase. Konversi efektif dari selulosa menjadi monosakarida hanya dimungkinkan oleh kerja sinergis dari ketiga subgroup selulase berikut [91-92] :

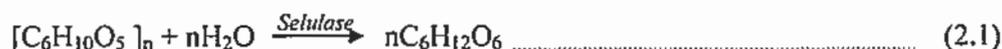
1. Endo- β -1,4-Dglukanase yang memecah ikatan internal glukosidik yang berada di antara rantai glukana yang utuh
2. Exo- β -1,4-D-glukanase/exo- β -1,4-D-selobiohidrolase yang memecah dimer selobiosa dari rantai glukana dan melepaskannya ke dalam larutan
3. β -glucosidase yang menyempurnakan hidrolisis selulosa menjadi glukosa dengan memecah selobiosa menjadi monomer glukosa

Endoglukanase diduga menyerang bagian tengah dari daerah yang kurang teratur dari selulosa, sementara selobiohidrolase menyerang area kristalin pada ujung rantai yang berlawanan. Aktivitas kedua tipe enzim ini disebut sinergisme endo-ekso. Suatu model endo-ekso yang telah disederhanakan adalah endoglukanase menghidrolisis selulosa secara internal, karenanya menghasilkan lebih banyak ujung bebas yang dapat diikat oleh selobiohidrolase dan memulai hidrolisis. Sinergisme yang diamati ini karena peningkatan substrat untuk selobiohidrolase. Selobiohidrolase juga bersikap progresif sepanjang rantai selulosa sehingga menghilangkan rantai selulosa dari mikrofibril dan memunculkan situs baru yang akan diserang endoglukanase. Selo-oligosakarida yang lebih kecil dihidrolisis lebih jauh oleh selobiohidrolase dan beta-glukosidase. Namun demikian proses hidrolisis yang terjadi tidak semuanya sempurna, karena ada sebagian dari selulosa yang terhidrolisis menjadi selobiosa yang merupakan bentuk dari disakarida. Proses tersebut dikenal sebagai hidrolisis parsial [19]. Selobiase sebenarnya ada dalam satu komponen enzim selulase yang kompleks yang berfungsi untuk memecah selobiosa menjadi glukosa. Namun semenjak diketahui bahwa keberadaan enzim selobiase dalam selulase hanya sedikit karena lebih didominasi oleh enzim endoselulase dan exoselulase sehingga tidak cukup optimal jika hanya mengandalkan selobiase yang berada dalam selulase. Penambahan dari eksternal enzim selobiase dalam sebuah reaksi enzimatik dari selulosa menjadi glukosa sangat dianjurkan [20, 93].

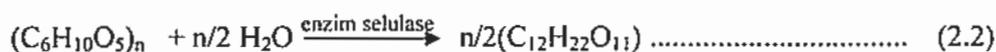
Enzim yang digunakan untuk menghidrolisis hemiselulosa menjadi xylosa adalah enzim xylanase. Xylanase merupakan enzim ekstraseluler yang dapat menghidrolisis xylan menjadi xilosa dan xilo-oligosakarida. Xylanase dapat dimanfaatkan untuk proses pemutih kertas, campuran pakan ternak, penjernihan sirup, pembuatan gula xilosa, dan sebagainya. Penggunaan xylanase untuk mengurangi pemakaian klorin dalam pemutih kertas telah memberikan peluang untuk aplikasi bioteknologi dan sekarang telah digunakan pada beberapa pabrik kertas [94-95]. Bahan enzim untuk proses pemutihan kertas dipilih xylanase yang bersifat termostabil dan tahan pada pH alkali [34, 96]. Enzim xylanase dapat diproduksi dari limbah tanaman pangan seperti limbah biji kedelai [97].

Universitas Indonesia

Secara teoritis reaksi hidrolisis selulosa menjadi glukosa adalah sebagai berikut:



Sedangkan reaksi hidrolisis parsial selulosa menjadi selobiosa sebagai berikut:



Sedangkan reaksi hidrolisis selobiosa menjadi glukosa sebagai berikut



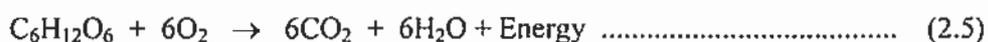
Secara teoritis reaksi hidrolisis hemiselulosa khususnya xylan menjadi xylosa dapat ditulis sebagai berikut:



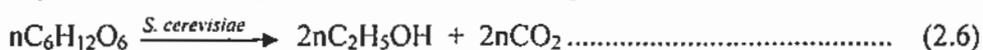
2.8 Fermentasi

Fermentasi berasal dari kata latin *ferfere* yang artinya mendidihkan. Hal ini dapat dianggap sebagai peninggalan ketika ilmu pengetahuan masih sangat awal sehingga terbentuknya gas dari suatu cairan kimia hanya dapat dianalogikan dengan proses air mendidih. Pada masa itu memang belum diketahui bahwa kejadian tersebut dapat pula terjadi oleh terbentuknya gas-gas lain dalam cairan. Salah satunya adalah CO₂ yang merupakan produk samping dari fermentasi, yaitu perubahan kimia dari senyawa organik dalam keadaan aerob atau anaerob melalui kerja enzim yang dihasilkan oleh mikroba menjadi suatu senyawa organik lainnya [51, 98].

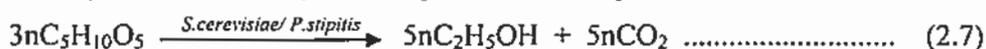
Reaksi pembentukan etanol terjadi karena adanya aktivitas dari *yeast* yang ada pada substrat. *Yeast* akan menggunakan materi yang mengandung karbon seperti glukosa untuk proses respirasi. Reaksi yang terjadi adalah sebagai berikut.



Dari reaksi di atas dapat dilihat bahwa reaksi tersebut memerlukan oksigen. Apabila kondisi ini tidak terpenuhi, artinya tidak ada oksigen, maka reaksi yang terjadi adalah reaksi pembentukan etanol sebagai berikut.



Sedangkan fermentasi xylosa menjadi etanol sebagai berikut:



Faktor yang berperan penting dalam proses ini adalah enzim yang berasal dari sel fungi uniseluler yang biasa disebut ragi atau *yeast*. Adapun penjelasan dari fase-fase pertumbuhan ragi adalah sebagai berikut:

1. Fase lambat

Fase ini bergantung pada perubahan lingkungan terutama dari perubahan kandungan nutrisi. Selama fase ini, massa sel-sel meningkat namun tidak terjadi pembelahan sel atau perubahan jumlah sel.

2. Fase cepat

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, antara lain: kandungan nutrisi, suhu, kadar oksigen, cahaya, dan keberadaan mikroorganisme lainnya.

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 pembentukan 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.

Ragi membutuhkan beberapa unsur sebagai nutrisi penunjang pertumbuhannya.

Unsur-unsur yang dibutuhkan antara lain:

1. Karbon: merupakan sumber energi utama ragi
2. Hidrogen: berfungsi sebagai pengatur pH untuk pertumbuhan ragi
3. Oksigen: merupakan faktor pertumbuhan yang penting bagi ragi karena tidak ada oksigen sama sekali yang akan menghambat pertumbuhan ragi
4. Nitrogen: merupakan penyusun sel ragi dan mengisi 10% dari berat kering ragi

5. Belerang: merupakan unsur yang berperan pada proses biosintesis pada sel ragi
6. Fosfor: berperan penting dalam pembentukan orthophosphate, yaitu senyawa yang berfungsi sebagai substrat dan kofaktor enzim.
7. K dan Mg: berperan dalam membangun lingkungan kation di sel ragi [32].

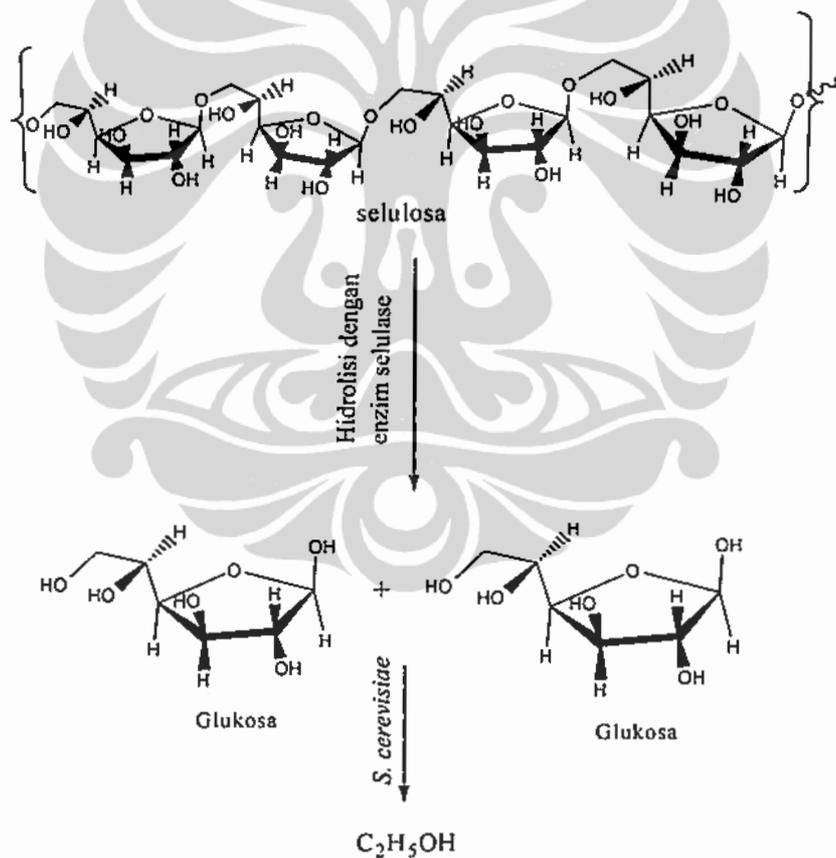
Ragi yang paling sering digunakan pada fermentasi glukosa menjadi etanol adalah *S. cerevisiae* karena jenis ini mampu menghasilkan produk yang cukup tinggi, toleran terhadap kadar alkohol tinggi (12-20% v/v) dan tahan terhadap kadar gula yang tinggi [32, 99-100]. Sedangkan ragi yang digunakan untuk proses fermentasi xylosa menjadi etanol adalah *S. Cerevisiae* yang telah direkombinan atau menggunakan *P. stipitis* [22, 113]. Namun jika menggunakan proses terpadu untuk mengkonversi glukosa dan xylosa menjadi etanol penggunaan yeast yang berbeda tentu harus menggunakan yeast dengan kondisi operasi yang relatif tidak berbeda. Oleh karena itu penggunaan satu yeast yang telah direkombinan akan mempermudah dalam proses konversi glukosa dan xylosa secara terpadu.

2.9 Sakarifikasi Dan Fermentasi Serempak (SSF)

Secara umum sintesis bioetanol yang berasal dari biomassa terdiri dari dua tahap utama, yaitu hidrolisis dan fermentasi. Pada metode terdahulu proses hidrolisis dan fermentasi dilakukan secara terpisah atau *Separated Hydrolysis and Fermentation* (SHF) dan yang terbaru adalah proses *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF). Satu diantara beberapa keuntungan dari proses SSF adalah hidrolisis dan fermentasi dilakukan dalam satu wadah atau reaktor sehingga dapat berlangsung secara efisien. Hidrolisis bertujuan untuk memecah polisakarida menjadi monosakarida sehingga dapat langsung difermentasi oleh yeast. Pada penelitian ini hidrolisis dilakukan secara biologis, yaitu menggunakan enzim. Enzim merupakan protein yang bersifat katalis, sehingga sering disebut biokatalis. Enzim memiliki kemampuan mengaktifkan senyawa lain secara spesifik dan dapat meningkatkan kecepatan reaksi kimia yang akan berlangsung lama apabila tidak menggunakan enzim. Enzim yang digunakan harus sesuai dengan polisakarida yang akan dihidrolisis [101].

SSF pertama kali dikenalkan oleh Takagi *et al* , 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 [16]. Secara singkat reaksi yang terjadi pada xylan menjadi xyloosa melalui proses *Simultaneous Saccharification dan Fermentation* (SSF) dapat dilihat pada Gambar 2.14.

Keuntungan dari proses ini adalah selulose yang terkonversi menjadi monosakarida tidak mengganggu reaksi hidrolisis karena langsung di difermentasi menjadi etanol. Selain itu dengan dalam proses SSF reaksi dilakukan dalam satu reaktor sehingga akan mengurangi biaya produksi.



Gambar 2.14 Skema Reaksi Dalam Proses Simultaneous Saccharification Dan Fermentation (SSF) [38]

2.10 Perlakuan Awal

Salah satu proses yang cukup penting dalam konversi material lignoselulosa adalah proses perlakuan awal sebelum SSF. Hal ini penting karena pada umumnya, proses hidrolisis untuk mengkonversi polisakarida, khususnya selulose dan xylan menjadi monosakarida seperti glukosa dan xyloza tidak berjalan dengan secara optimal. Faktor utama yang menyebabkan terhambatnya proses tersebut adalah polisakarida yang terkandung dalam biomassa terlindungi dan berikatan dengan lignin yang memiliki struktur dan ikatan yang sangat yang sangat kuat. Selain itu proses terkadang berjalan kurang lancar akibat adanya inhibitor-inhibitor yang ditimbulkan oleh ikatan lignin tersebut. Ini artinya keberadaan lignin sangat menghambat proses hidrolisis, sehingga diperlukan perlakuan awal tertentu sebelum SSF (*perlakuan awal*) untuk menghancurkan dan mendekomposisi ikatan lignin tersebut [102].

Beberapa perlakuan awal yang dapat digunakan adalah perlakuan secara fisik (*physical treatment*) seperti menggunakan pemanasan dengan suhu tinggi dan perlakuan secara biologis (*biological treatment*) seperti menggunakan jamur atau bakteri. Kombinasi antara perlakuan secara fisik dan biologi juga dapat dilakukan untuk meningkatkan hasil yang diperoleh [103-105].

2.10.1 Perlakuan secara fisik

Perlakuan pada material berbasis lignoselulosa sebelum proses SSF yang umum dilakukan adalah *milling*. Pada perlakuan ini, ukuran partikel dari biomassa diperkecil. Hal ini bertujuan untuk memperluas permukaan kontak pada saat hidrolisis. Perlakuan lain secara fisik yang cukup banyak dilakukan adalah dengan pemanasan pada suhu tinggi. Teknik ini banyak digunakan pada produksi etanol dari jagung dengan melakukan *steaming* pada suhu tinggi. Metode ini dilakukan dengan cara material berbasis lignoselulosa termasuk biomassa yang telah dipanaskan dalam tekanan yang tinggi, sehingga dengan pemanasan dan tekanan tinggi tersebut maka lignin yang membungkus selulosa dapat hancur.

Umumnya *steaming* dilakukan pada suhu 160-260°C dan tekanan 1-3 bar pada beberapa menit dan total waktu yang digunakan mulai dari pemanasan sampai titik suhu tertinggi dan kemudian diturunkan pada suhu dan tekanan kamar (*atmospheric*) sekitar 1 jam. Efek dari *steaming* adalah hancurnya jejaring lignin dan semakin banyak hemiselulosa dan inhibitor-inhibitor seperti furfural yang terlarut [52, 106]. Sehingga akan mempermudah proses hidrolisis pada tahap SSF. Namun proses *steaming* membutuhkan energi yang cukup banyak.

2.10.2 Perlakuan Secara Kimiawi

Perlakuan secara kimia dapat dilakukan dengan menggunakan asam seperti asam sulfat atau asam klorida, menggunakan ozon yang sering disebut sebagai ozonolisis. Selain itu perlakuan kimiawi juga dilakukan dengan penggunaan pelarut organik untuk melarutkan lignin. Pelarut yang biasa digunakan adalah metanol dan etanol. Perlakuan kimiawi juga dapat dilakukan dengan menggunakan hidrogen peroksida dan menggunakan NaOH yang dikenal dengan istilah alkalonolisis. Pada prinsipnya pada proses perlakuan awal dengan kimiawi polimer lignin dipecah menjadi fragmen yang mengandung satu atau dua cincin fenolik. Oksigen ekstra dan rantai samping di-*strip* dengan metode katalisis sehingga terbentuk gugus fenol yang jika direaksikan dengan metanol akan menghasilkan metil aril eter. Metil aril eter adalah campuran gasolin yang berfungsi untuk meningkatkan nilai oktan. Akan tetapi, proses ini tidak ramah lingkungan. Hal ini terkait dengan penggunaan senyawa seperti NaOH, asam sulfat, dan sulfur dioksida dalam prosesnya [14, 107].

2.9.3 Perlakuan Secara Hayati

Perlakuan pada proses biologis dapat dilakukan dengan menggunakan mikroorganisme seperti jamur atau bakteri. Perlakuan dengan menggunakan jamur atau bakteri secara alamiah dapat menghancurkan lignin namun terkadang juga memakan selulosa yang ada pada material yang menjadi tempat tumbuhnya mikroorganisme tersebut. Walaupun demikian ada beberapa jamur atau bakteri yang cukup selektif, artinya mampu mendegradasi lignin namun sedikit dalam

kehilangan polisakaridanya seperti jamur pelapuk putih jenis *Ceriporiopsis subvermispora* [22].

Salah satu manfaat mikroorganisme seperti jamur pelapuk putih yang tumbuh secara alami di alam semesta ini adalah untuk mendegradasi lignin pada biomassa selain manfaat lain seperti jamurinya sendiri banyak yang dapat untuk dimakan (*edible mushroom*) [103, 108]. Pemanfaatan untuk kepentingan penelitian seperti untuk biodegradasi lignin tentu jamur pelapuk putih terlebih dahulu diisolat dari alam dan dikondisikan pada kondisi operasi optimum mikroorganisme tersebut.

Beberapa jenis bakteri yang umum digunakan dalam perlakuan awal secara hayati adalah *Clostridium*, *Cellulomonas*, *Bacillus*, *Thermomonospora*, *Ruminococcus*, *Bacteriodes*, *Erwinia*, *Acetovibrio*, *Microbispora* dan *Streptomyces*. Bakteri bakteri tersebut dapat menghasilkan enzim-enzim lignolitik seperti laccase dan mangan peroksida untuk mendegradasi lignin. Namun berdasarkan laporan dari beberapa penelitian penggunaan bakteri kemampuan mendegradasi lignin lebih rendah jika dibandingkan dengan menggunakan jamur. Selain itu penggunaan bakteri ini relatif lebih rumit dalam proses pembiakannya [29, 50, 109].

Jamur yang ditemukan di alam secara garis besar dapat dikelompokkan menjadi dua, yaitu jamur pelapuk coklat (*brown fungi*) dan jamur pelapuk putih (*white rot fungi*). Jamur pelapuk coklat umumnya selain menghancurkan atau mendegradasi lignin juga banyak mendegradasi selulosa sehingga jamur ini sangat tidak efektif untuk dipakai sebagai perlakuan awal [18]. Beberapa penelitian melaporkan bahwa perlakuan secara biologis dengan jamur pelapuk putih (*white rot fungi*) lebih efektif karena sangat banyak memakan lignin dan sedikit kehilangan selulosa [93, 110].

Beberapa contoh jamur pelapuk putih yang telah terpilih dan efektif menghasilkan enzim lignolitik sehingga mampu mendegradasi lignin antara lain: *Pleurotus ostreatus*, *Phanerochaete sordida*, *Pycnoporus cinnabarinus*, *Sporotricum pulverulentum*, *Cyathus strecoreus*, *Pleurotus chrysosporium*, *Ceriporiopsis subvermispora*, *Lentinus edodes*, *Pleurotus eryngi* dan *Corolus versicolor*. Di Indonesia juga telah ditemukan isolat jamur pelapuk putih yang dapat

Universitas Indonesia

mendegradasi lignin dengan sedikit kehilangan selulosa yaitu diberi kode CPN 01 dan PSM 01. Kedua isolat jamur tersebut telah diisolasi dan dipilih dari hutan tropis Indonesia [110]. Namun jamur jenis PSM01 dan CPN 01 kemampuan degradasi ligninnya masih relatif rendah jika dibandingkan dengan beberapa jamur yang telah banyak digunakan seperti *C. subvermispora* dan *L. edodes* [31, 33].

Penggunaan jamur pelapuk putih sebagai perlakuan awal secara hayati akan mengurangi dampak terhadap lingkungan karena mengurangi penggunaan bahan kimia [18, 53]. Selain itu, penggunaan jamur sebagai pendegradasi lignin (*lignin biodegradation*) sangat efisien karena akan mampu menghemat energi dalam proses konversinya, seperti telah dibuktikan pada konversi kayu menjadi etanol [100, 109]. Penghematan energi karena penggunaan perlakuan dengan jamur pelapuk putih tidak memerlukan pemanasan suhu tinggi dan tekanan yang digunakan adalah tekanan atmosferik. Dari aspek kesehatan penggunaan jamur pelapuk putih yang dapat dimakan (*edible mushroom*) seperti *Pleurotus ostreatus* tidak membahayakan bagi kesehatan [29].

Kemampuan jamur pelapuk putih seperti *C. subvermispora*, *L. edodes* dan *P. Ostreatus* dalam biodegradasi lignin disebabkan jamur ini mampu menghasilkan enzim-enzim seperti lignin peroxidase (LiP), manganese-dependent peroxidase (MnP), dan laccase [100]. Enzim-enzim ini mampu mengoksidasi senyawa-senyawa berbasis fenol yang terdapat pada lignin sehingga ikatannya akan rusak. Semakin banyak lignin yang terdegradasi maka hidrolisis akan semakin sempurna sehingga proses fermentasi untuk mengkonversi menjadi etanol akan optimal.

Ceriporiopsis subvermispora sebagai salah satu jamur yang memiliki selektifitas cukup baik dalam mendegradasi lignin karena jamur ini memiliki kecenderungan mampu mendegradasi lignin cukup baik dan sedikit kehilangan polisakaridanya [22]. Jamur ini awalnya diperoleh dari Austria namun telah banyak dikoleksi di berbagai negara melalui berbagai macam kerjasama penelitian. Salah satu jenis jamur yang saat ini masih dikoleksi di Jepang dan telah digunakan untuk berbagai kepentingan penelitian adalah *C. subvermispora* ATCC 90467. Beberapa

penelitian yang menggunakan jenis jamur ini seperti penelitian tentang biodegradasi lignin pada kayu untuk meningkatkan produksi etanol [22, 33].

Pleurotus ostreatus merupakan jamur pelapuk putih asli dari Jepang yang telah banyak dibudidayakan oleh petani jamur dengan nama shitake. Berbagai macam jenis jamur *P. ostreatus* dikembangkan untuk penelitian dan budidaya pertanian karena jamur ini telah menjadi milik publik. Jenis jamur yang masih dikoleksi khususnya di Laboratory Biomass Conversion, Kyoto University, Japan dan di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia untuk kepentingan penelitian yaitu *P. ostreatus* ATCC 66736. Jenis jamur ini juga mengandung enzim lignolitik seperti laccase, MnP dan LiP sehingga mampu mendegradasi lignin [22, 33].

Lentinus edodes juga merupakan jamur yang dapat dimakan dan telah dikembangkan secara luas di beberapa negara baik untuk kepentingan penelitian atau untuk budidaya pertanian jamur. Jamur ini juga banyak dikembangkan oleh petani jamur dengan nama hiratake, karena jamur ini juga asli dari Jepang. Untuk kepentingan penelitian jamur ini dikoleksi dengan berbagai jenis, namun yang cukup terkenal dan memiliki selektifitas cukup tinggi adalah *L. edodes* IFO6654. Sampai saat ini jamur ini masih dikoleksi dengan baik di Laboratory Biomass Conversion, Kyoto University, Japan dan di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia.

2.11 Status Penelitian Bioetanol Saat Ini

Beberapa penelitian di dunia melaporkan bahwa pengembangan bioetanol dari material lignoselulosa merupakan penelitian terkini yang cukup memberikan harapan. Penelitian tentang Sakarifikasi menggunakan enzim xylanase, selulase dengan treatment *ferulyl esterase* pada *wheat straw* untuk produksi bioetanol telah dilakukan. Penelitian ini terfokus pada pengembangan konversi biomasa berbasis lignoselulosa terutama *wheat straw* menjadi gula dengan proses sakarifikasi. Enzim yang digunakan pada penelitian ini adalah kombinasi selulase dan xylanase dengan perlakuan awal *ferulyl esterase*. Penelitian ini tidak melakukan konversi biomasa tersebut menjadi etanol, hanya sebatas konversi biomas menjadi gula

(monosakarida) sehingga dapat diprediksi kemungkinan etanol yang dihasilkan jika dilakukan proses fermentasi dengan yeast [85,111].

Penelitian lain melaporkan tentang produksi etanol dari karbohidrat berbasis non pati-yaitu wheat bran. Fokus penelitian ini memanfaatkan *wheat bran* untuk dikonversi menjadi gula dengan menggunakan enzim *amylolytic*. Gula yang terkonversi kemudian difermentasi menggunakan *S. cerevisiae* untuk mendapatkan etanol. Secara proses penelitian dalam skala laboratorium ini masih terfokus pada konversi karbohidrat menjadi gula baru dilakukan analisa konversi gula menjadi ethanol. Penelitian ini belum memanfaatkan proses sakarifikasi dan fermentasi serempak (SSF) [112].

Penelitian tentang hidrolisis asam pada hemiselulosa bagas untuk memproduksi xylosa, arabinosa, glukosa dan produk lainnya. Penelitian ini menekankan pencampuran asam pada proses hidrolisis hemiselulosa untuk mendapatkan produk xylosa, arabinosa, glukosa dan produk lainnya yang selanjutnya dapat dikonversi menjadi material lain seperti etanol. Asam yang digunakan adalah HCl dan H₂SO₄ [96].

Pada tahun 2004 juga telah dilakukan penelitian tentang detoksifikasi dan pencampuran asam pada hidrolisis material lignoselulosa untuk fermentasi proses. Fokus penelitian ini adalah melakukan proses detoksifikasi dan mencampurkan asam dalam proses hidrolisis biomas berbasis lignoselulosa sebelum dilakukan fermentasi. Proses fermentasi tidak dilakukan pada penelitian ini, sehingga hasil akhir yang diperoleh adalah konversi gula tersebut [60].

Rangkungan penelitian tentang teknologi terkini dalam perlakuan awal biomasa berbasis lignoselulosa juga telah dilakukan. Penelitian ini merupakan kajian teknologi perlakuan awal terkini untuk mendegradasi dan mengkonversi biomasa berbasis lignoselulosa. Diantara perlakuan awal yang dikaji adalah perlakuan awal secara biologis menggunakan jamur pelapuk putih, perlakuan secara fisik dengan menggunakan *water steam explosion* menggambarkan, perlakuan awal dengan menggunakan asam dan lain-lain [102].

Pada tahun 2002 juga telah dilakukan penelitian tentang perlakuan awal dengan menggunakan air panas untuk proses konversi sugar cane bagasse menjadi etanol. Penelitian ini terfokus pada pemanfaatan perlakuan awal menggunakan air panas untuk mengkonversi sugar cane bagasse menjadi ethanol. Namun hasil yang dilakukan belum menkonversi bagas menjadi etanol, namun lebih terfokus mengkonversi bagas menjadi monosakarida. Hal ini menunjukkan proses belum menggunakan SSF [106].

Hasil penelitian tentang perlakuan awal secara biologis dengan jamur pelapuk putih untuk proses *simultaneous saccharification and fermentation* (SSF) pada kayu cacah memfokuskan pada pemanfaatan jamur pelapuk putih dan etanolisis sebagai perlakuan awal proses SSF untuk mengkonversi ethanol dari kayu cacah menjadi etanol. Perlakuan awal dilakukan untuk mendegradasi lignin yang terkandung pada kayu cacah tersebut. Proses hidrolisis pada SSF tersebut menggunakan enzim selulase [26].

Rangkuman hasil penelitian tentang potensi secara global produksi bioetanol dari limbah tanaman juga telah dilaporkan. Penelitian ini menekankan pada potensi limbah tanaman untuk diproduksi menjadi bioetanol tanpa menyebutkan proses yang digunakan. Potensi tanaman seperti jagung, kedelai, padi dan lain-lain yang ada di dunia sangat melimpah sehingga potensial untuk dikonversi menjadi bioetanol [8].

Penelitian tentang produksi etanol dari material lignoselulosa dengan proses SSF menggunakan yeast *Kluyveromyces marxianus* CECT 10875 telah dilaporkan. Penelitian ini terfokus pada pemanfaatan material lignoselulosa (wheat straw, sweet sorghum bagasse, *Populus nigra*, *Eucalyptus globulus* dan *Brassica carinata*) untuk produksi bioethanol dengan proses SSF. Yeast yang digunakan adalah *K. marxianus* CECT 10875 [52].

Selanjutnya terakhir juga telah dilakukan penelitian mengenai evaluasi pemanfaatan xylosa pada gula untuk difermentasi dengan menggunakan *S. cerevisiae*. Penelitian ini memanfaatkan xylosa pada gula untuk dikonversi menjadi etanol dengan proses fermentasi menggunakan *S. cerevisiae* rekombinan

Universitas Indonesia

atau telah dilakukan proses *metabolic engineering* dengan mengkombinasikan gen *xylose isomerase*, *xylose isomerase*, *xylose isomerase*, *xylose isomerase* pada *S. cerevisiae* [113]. Selain itu penelitian lain melaporkan *S. cerevisiae* telah dilakukan *metabolic engineering* dengan mengkombinasikan gen *Pichia stipitis xylose reductase* dan *xylose reductase* yang dapat mengkonversi xylosa menjadi etanol [114].

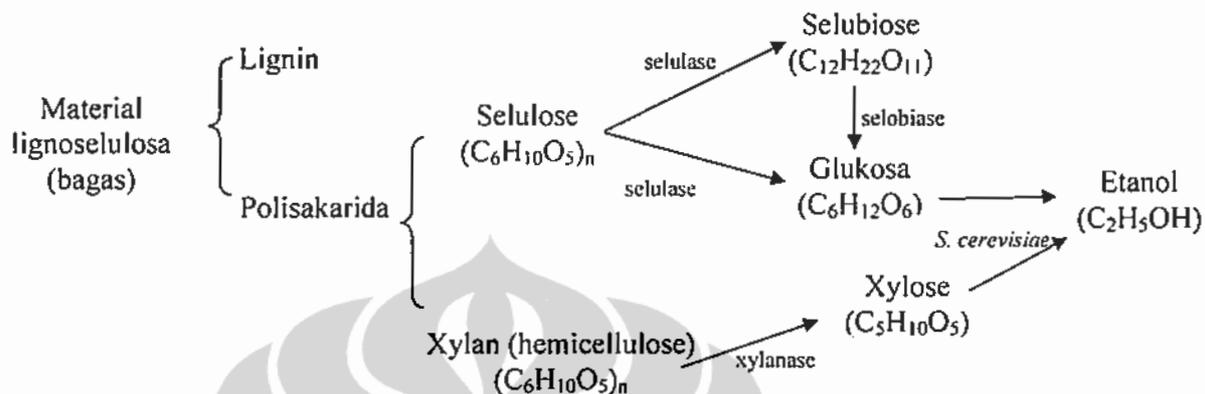
2.12 Penelitian Bioetanol Di Indonesia

Sesuai dengan amanat Peraturan Presiden No. 10 tentang kebijakan energi baru terbarukan dan Jakstranas IPTEK 2009, maka salah satu arah penelitian di Indonesia adalah riset dibidang biofuel. Berdasarkan agenda riset nasional target penelitian dan pengembangan bioetanol sampai tahun 2009 adalah pengekplorasian tanaman yang berpotensi sebagai bahan baku bioetanol dan diperolehnya informasi teknik fermentasi secara optimal untuk setiap bahan baku. Sedangkan target tahun 2025 adalah dikuainya teknologi proses, engineering design dan pembangunan pabrik high/superior-performance bioetanol, produksi bioetanol dengan bahan baku lignoselulosa dari hasil samping tanaman, produksi bahan bakar etanol secara tepat guna pada skala kecil dan menengah [3-4].

Jika mengamati secara singkat perkembangan penelitian di Indonesia, Penelitian-penelitian saat ini banyak dilakukan untuk memproduksi etanol dari pati seperti dari singkong dan pemanfaatan gula yang berasal dari molases dan nira aren [49]. Proses produksinya juga masih menggunakan sistem SHF dan perlakuan awal dengan asam. Pemanfaatan tebu selama ini masih terbatas pada konversi menjadi gula dan gula yang diperoleh difermentasi secara terpisah [4]. Sedangkan pemanfaatan bagas untuk produksi bioetanol belum pernah dilakukan.

Berdasarkan informasi ilmiah perkembangan riset bioetanol di dunia maupun di Indonesia serta melihat arah penelitian di Indonesia berdasarkan ARN, dapat disimpulkan bahwa penelitian mengenai produksi etanol dari bagas dengan sakarifikasi dan fermentasi serempak (SSF) dengan memanfaatkan kombinasi

enzim selulase, xylanase dan selobiase serta perlakuan awal menggunakan jamur pelapuk putih dan *steaming* masih belum dilakukan orang.



Gambar 2.15. Gambaran Proses Hidrolisis Enzim dan Fermentasi Pada Konversi Material Lignoselulosa Menjadi Etanol

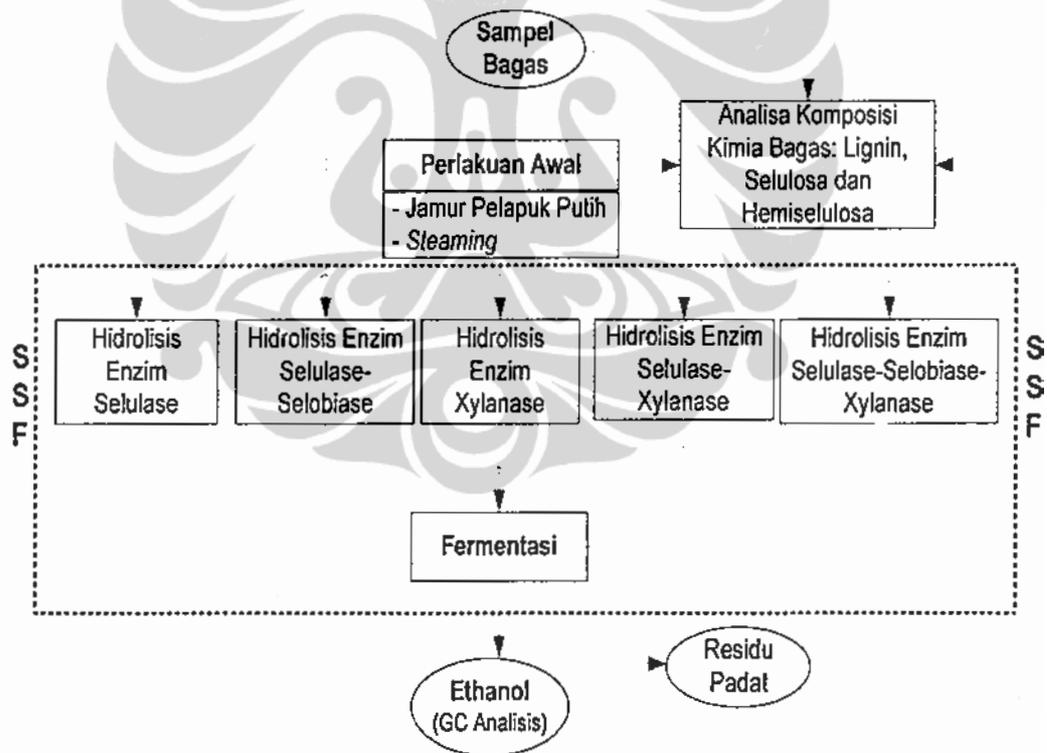
Oleh sebab itu penelitian yang dikembangkan dalam program doctoral ini memiliki arah penelitian untuk mengkonversikan bagas menjadi etanol secara terpadu mulai dari perlakuan awal, hidrolisis multi enzim serta proses hidrolisis dan fermentasi secara serempak. Jika mengacu pada diagram alir proses produksi etanol dari bagas sebagaimana ditunjukkan dalam Gambar 2.7, maka penelitian ini fokus pada proses perlakuan awal dan SSF. Secara singkat ilustrasi penelitian proses konversi material lignoselulosa (bagas) menjadi etanol dengan proses hidrolisis mutli enzim menggunakan enzim selulase, selobiase dan xylanase serta fermentasi menggunakan *S. cerevisiae* yang dilakukan secara simultan adalah dapat dilihat gambar 2.5.

BAB 3 METODE PENELITIAN

Sebagaimana telah dijelaskan pada bab 1 (satu) bahwa tujuan umum penelitian ini adalah meningkatkan konversi bagas menjadi etanol dengan menggunakan enzim selulase, selobiase, xylanase serta perlakuan awal menggunakan jamur pelapuk putih dan *steaming* termasuk kombinasinya dengan menggunakan proses sakarifikasi dan fermentasi serempak (SSF). Metode penelitian ini merupakan langkah sistematis untuk mencapai tujuan penelitian.

3.1 Skema Penelitian

Secara keseluruhan, rangkaian penelitian yang dilakukan untuk konversi bagas menjadi etanol dengan proses SSF dapat digambarkan sebagai berikut:



Gambar 3.1. Skema Penelitian

Secara singkat penelitian dilakukan dengan melakukan SSF dengan menggunakan enzim selulase, enzim xylanase, selulase-selobiase, selulase-xylanase dan selulase-selobiase-xylanase. Rangkaian proses SSF dengan variasi enzim diawali dengan menentukan pH optimum, jumlah enzim pada setiap proses. Selain itu juga dilakukan perlakuan awal dengan menggunakan jamur pelapuk putih (*P. ostreatus*, *L. edodes* dan *C. subvermispora*) dan perlakuan awal dengan *steaming*. Kemudian setelah semua proses SSF telah dilakukan maka setiap sampel diinjeksikan dalam Gas Cromatografi untuk menentukan jumlah etanol yang dihasilkan. Sebagai data pendukung juga dilakukan analisa komposisi kimia pada bagas sebelum dan sesudah proses SSF terutama lignin, selulosa dan hemiselulosa.

3.2 Variabel

Sebagai variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi pH, jumlah enzim, variasi suhu, kombinasi enzim, perlakuan dengan beberapa jamur pelapuk putih, perlakuan *steaming*, perlakuan dengan kombinasi perlakuan awal *steaming* dan jamur pelapuk putih serta waktu inkubasi.

Sedangkan sebagai variabel terikat dalam penelitian ini adalah etanol yang dihasilkan dari bagas dengan proses SSF.

3.3 Prosedur Percobaan

3.3.1 Persiapan sample

Bagas yang berasal dari PT. Gunung Madu Plantations, dihaluskan (kurang lebih 30-60 mesh) sehingga ukuran partikel lebih seragam. Proses penghalusan dilakukan dengan menggunakan mesin penghancur kayu. Kemudian sampel bagas yang telah dihaluskan, dikeringkan dengan oven selama 1 jam pada suhu 60-70°C sehingga kadar air maksimal 10% dan disimpan di tempat yang kering dalam keadaan tertutup.

3.3.2 Perlakuan Awal

3.3.2.1 Perlakuan awal dengan jamur pelapuk putih

Metode yang digunakan untuk melakukan perlakuan awal jamur pelapuk putih menggunakan metode standar mikrobiologi [22, 31, 62]. Proses perlakuan dengan jamur pelapuk putih sebagai berikut:

- Pemiakan jamur pelapuk putih

Jamur pelapuk putih jenis *Pleurotus ostreatus* ATCC 66376 (*P. ostreatus*), *Ceriporiopsis subvermispora* ATCC 90467 (*C. subvermispora*) dan *Lentinus edodes* IFO6654 (*L. edodes*) yang dikoleksi di Biomas Conversion Laboratory, Kyoto University, Japan kemudian melalui kerjasama riset di koleksi di Indonesia untuk selanjutnya digunakan dalam penelitian ini. Masing-masing jamur di-*preculture* pada 2% Potato-Dextrose Agar (Wako, Japan) dan dikondisikan pada suhu 28⁰C selama 5-10 hari. Sebelum dilakukan *preculture* PDA disterilisasi pada suhu 121⁰C selama 20 menit.

- Kultivasi jamur pada sample

20 ml air destilasi ditambahkan pada 5,0 g serbuk bagas dalam 300 glass Erlenmeyer, yang selanjutnya disebut sebagai bagas medium. Kemudian bagas medium disterilisasi pada suhu 121⁰C selama 30 menit. 4 potong jamur (ukuran kurang lebih 30 mm² setiap potong) yang telah di-*preculture* dimasukkan dalam bagas medium. Kultivasi disimpan pada suhu konstan kurang lebih 27⁰C dengan kelembaban 70% selama 8 minggu. Sampling dilakukan pada akhir minggu ke- 6 dan 8 minggu. Setelah dilakukan sampling, kemudian medium bagas yang sudah diperlakukan awal dengan jamur pelapuk putih dikeringkan pada suhu 60-70⁰C untuk mendapatkan kadar air maksimal 10%. Setelah itu sampel telah siap digunakan untuk proses penelitian selanjutnya.

3.3.2.2 Perlakuan awal dengan *steaming*

Sampel bagas dilakukan *steaming* dengan menggunakan peralatan *steaming* pada suhu 160⁰C dan 180⁰C selama 60 menit kemudian hasil *steaming* digunakan untuk proses SSF.

3.3.2.3 Perlakuan awal dengan *steaming*

Sampel bagas yang telah diperlakukan dengan jamur pelapuk putih kemudian dilakukan *steaming* pada suhu 180°C dan 160°C. Kemudian dilanjutkan dengan proses SSF.

3.3.3 Persiapan SSF

3.3.3.1 Enzim

Selulase (Sigma, USA), selobiase (Sigma, USA) dan xylanase (Sigma, USA) digunakan sebagai enzim pada proses hidrolisis dalam SSF. Sebelum digunakan enzim selalu disimpan dalam kulkas pendingin di bawah suhu 10°C.

3.3.3.2 Stock pembiakan *S. cerevisiae*

S. cerevisiae AM12 yang selanjutnya disebut *S. cerevisiae* di-*preculture* yang berasal dari koleksi *Laboratory Biomass Conversion*, Kyoto University, Japan digunakan dalam penelitian ini. *S. cerevisiae* di tumbuhkan sementara pada Potato Dextrose Agar (PDA) 2%, Agar (0,25 g), H₂O (50ml) dan diinkubasi selama 1-2 hari pada suhu 28 °C, kemudian digunakan sebagai yeast pada proses SSF.

1.3.3.3 Persiapan yeast inoculum

S. cerevisiae dari stock di-*preculture* pada 50 ml medium yang terdiri dari glukosa, 10 g l⁻¹ (Merk, Germany); yeast extract, 1,0 g l⁻¹ (Merk, Germany); KH₂PO₄, 0,1 g l⁻¹ (Merk, Germany); MgSO₄·7H₂O, 0,1 g l⁻¹ (Merk, Germany) dan (NH₄)₂SO₄, 0,1 g l⁻¹ (Merk, Germany) dimasukkan dalam 200 ml gelas kimia, kemudian diinkubasi pada suhu 30 °C selama 24 jam menggunakan orbital shaker dengan kecepatan 100 rpm.

3.3.4 Pengkondisian selama SSF

Medium untuk SSF sebanyak 5 ml terdiri dari sampel bagas (0,25 g), medium nutrisi (2,5 ml), 0,05 M Na-citrate buffer (Merk, Germany) dengan variasi pH 4; 4,5; 5.0 dan 6, selulase (10 FPU), dan 10% (v/v) yeast inoculum. Sampel, medium nutrisi dan buffer disterilisasi selama 121 °C dan 20 min pada autoclave, namun larutan enzim ditambahkan setelah proses sterilisasi. Medium nutrisi terdiri dari

1,0 g l⁻¹ (NH₄)₂PO₄ (Merk, Germany); 0,05 g l⁻¹ MgSO₄.7H₂O (Merk, Germany) dan 2 g l⁻¹ yeast extract (Merk, Germany). Kultivasi diambil dan dimasukkan dalam tabung reaksi sebanyak 5,0 ml kemudian disentrifugasi menggunakan orbital shaker pada kecepatan 100 rpm selama 96 jam pada suhu 35 °C. Cairan bersih sampel diambil dengan sampling 6, 12, 24, 48, 72 dan 96 jam dan diuji etanol yang dihasilkan.

Perlakuan yang sama juga dilakukan untuk pengkondisian selama SSF dengan menggunakan variasi enzim selulase (5, 10 dan 15 FPU), variasi enzim selulase-selobiase (10FPU-2.5FPU, 10FPU-5FPU dan 10FPU-10FPU), variasi enzim xylanase (2,5FPU, 5 FPU dan 10FPU), enzim selulase-xylanase (10FPU-5FPU) dan enzim selulase-selobiase-xylanase (10FPU-5FPU-5FPU).

3.3.5 Analisis

3.3.5.1 Analisis lignin, holoselulosa dan hemiselulosa

Analisa lignin dilakukan dengan metode klason lignin yang termodifikasi yaitu dengan prinsip menambahkan asam sulfat 72% pada sampel dan diaduk sampai hancur, di-autoclave pada suhu 121°C selama 30 menit, disaring dengan kertas saring jenis whitemen ukuran 41 mesh, dibungkus dengan aluminium foil, di-oven selama 1 jam dan ditimbang berat akhirnya.

Analisis selulosa dan hemiselulosa dilakukan dengan metode WISE yaitu sampel dicampur dengan natrium klorat (3 M), asam asetat (5 M) dan aquades, diinkubasi dengan menggunakan air panas pada suhu 80°C, didinginkan, difiltrasi dengan aquades dan terakhir dibilas dengan aseton (70%). Kemudian bagian padat dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 1-2 malam dan ditimbang beratnya. Analisa lignin, selulose dan hemiselulose dilakukan di laboratorium biomaterial LIPI.

3.3.5.2 Penentuan Konsentrasi Etanol

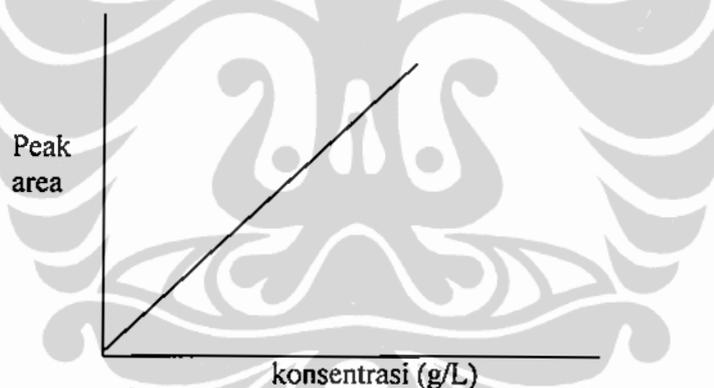
Konsentrasi etanol ditentukan dengan *Gas Chromatography* jenis SUPELCOWAX-10 (Supelco Inc., 0,53 mm i.d., 15 m, 0,5 mm, FID) pada suhu

50°C. Sebelum pengujian, sampel diambil 50 µl dan ditambah 200 µl *distilled water* (5 kali pengenceran). Standar kalibrasi yang digunakan adalah etanol dengan konsentrasi 2,5; 5; 7,5 dan 10 g/L yang dibuat dengan cara mengencerkan etanol

Tabel 3.1 Data Standar Kalibrasi Untuk Penentuan Kadar Etanol

Konsentrasi etanol (g/L)	Peak Area
0	0
2,5	a
5	b
7,5	c
10	d

Dari data pada Tabel di atas, dibuat ke dalam Gambar regresi linear sehingga diperoleh persamaan $y = ax + b$. Dimana y adalah *peak area* dan x adalah konsentrasi etanol. Gambar dari Tabel di atas adalah sebagai berikut:



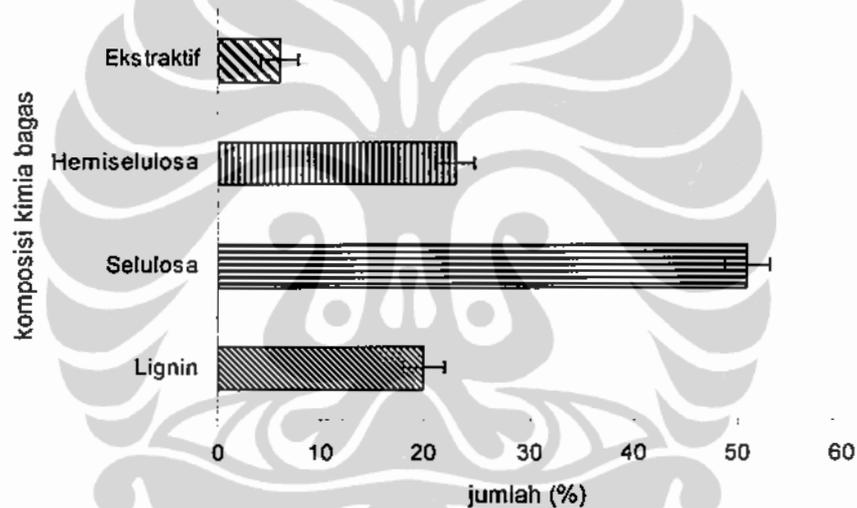
Gambar 3.2 Ilustrasi Gambar Standar Penentuan Konsentrasi Etanol

Berdasarkan Gambar dan persamaan $y = ax + b$ maka digunakan untuk menentukan konsentrasi etanol pada sampel. Peak area yang diperoleh dari sampel dimasukkan dalam persamaan tersebut sebagai komponen y , maka dengan regresi liner tersebut diperoleh nilai x sebagai konsentrasi etanol sampel. Karena sampel yang diinjeksikan dalam GC telah diencerkan 5 kali, maka konsentrasi etanol yang diperoleh dari sampel yang diinjeksikan tersebut di kalikan lima sebagai konsentrasi etanol dalam sampel yang sebenarnya.

BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Komposisi Bagas

Hasil analisis komposisi kimia bagas, menunjukkan kandungan selulosa sekitar 50%, sehingga untuk mengkonversi bagas menjadi etanol dengan proses sakarifikasi dan fermentasi serempak diperlukan pemanfaatan enzim selulase. Hasil detail kandungan komposisi kimia pada bagas (lignin, selulosa dan hemiselulosa) terlihat pada Gambar 4.1.



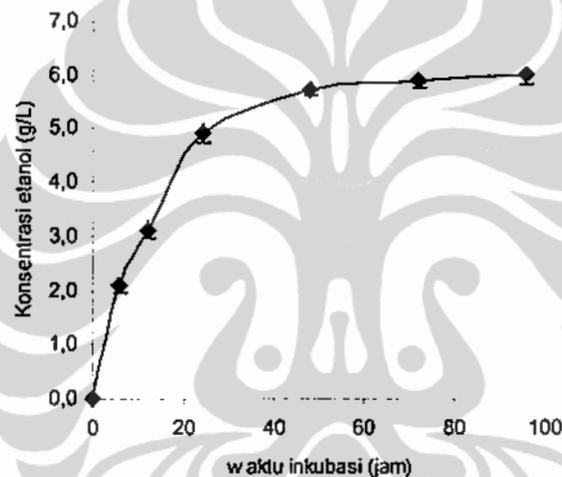
Gambar 4.1 Komposisi Lignin, Selulose dan Hemiselulosa Pada Bagas

Hasil analisis tersebut menunjukkan afirmasi dengan beberapa penelitian yang melaporkan bahwa kandungan lignin pada bagas berkisar antara 17-20%, selulosa 48-51%, hemiselulose 20-25% dan sisanya adalah senyawa ekstraktif [52]. Kim *et al*, juga melaporkan bahwa komposisi karbohidrat total (hemiselulosa dan selulosa) pada *sugar cane bagasse* sekitar 69% [8]. Hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa secara total komposisi karbohidrat secara total (selulosa dan hemiselulosa) sekitar 73%. Komposisi selulose pada bagas dapat

dihidrolisis menjadi monomer gula menggunakan enzim selulase. Besarnya kandungan selulosa pada bagas menunjukkan bahwa bagas sangat fisibel untuk dikonversi menjadi etanol.

4.2 Konversi Bagas Menjadi Etanol Dengan Enzim Selulase

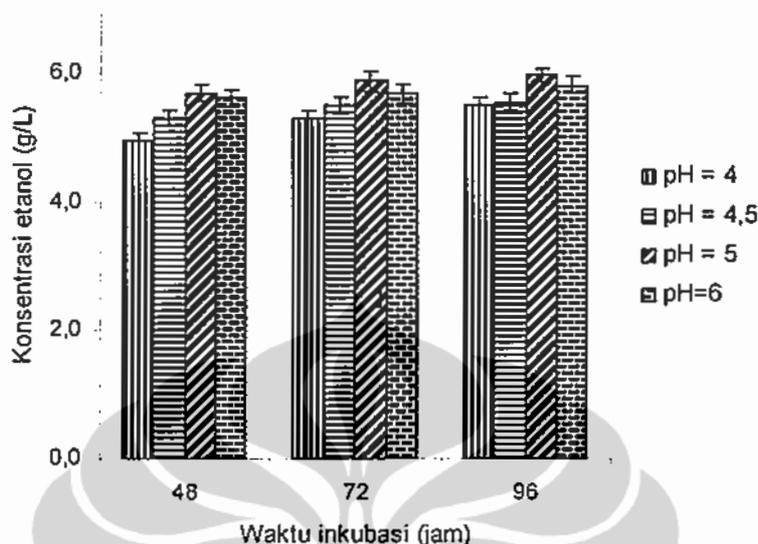
Produksi etanol dari bagas tertinggi dengan SSF menggunakan enzim selulase pada pH = 5 yaitu sekitar 6,0 g/L dari konsentrasi substrat 50g/L. Secara lengkap hasil penelitian produksi etanol dari bagas pada pH=5 dengan waktu inkubasi 0-96 jam ditunjukkan pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase Dengan Enzim Selulase Pada pH=5 (Konsentrasi Substrat 50 g/L dan 10 FPU Enzim Selulase).

Berdasarkan hasil penelitian dengan variasi pH sebelumnya, pH=5 menunjukkan hasil etanol yang tertinggi dibanding dengan pH lain (Gambar 4.3).. Derajat keasaman atau pH mempunyai pengaruh yang cukup penting dalam proses sakarifikasi dan fermentasi serempak (SSF). Penentuan pH optimum sangat penting, karena dalam prinsip reaksi bioproses pH larutan akan mempengaruhi kuantitas etanol yang akan dihasilkan, terutama pada proses hidrolisis enzim. Selain berpengaruh pada proses hidrolisis enzim, pH larutan akan mempengaruhi proses fermentasi glukosa menjadi etanol [13,70,108]. Penelitian Adrados *et al*, juga melaporkan bahwa pH=5 merupakan pH optimum untuk kerja enzim selulase

dan yeast *S. Cerevisiae* [112]. Hal ini terjadi karena pada pH=5, membuat enzim selulase dalam kondisi lebih stabil dan lebih aktif.

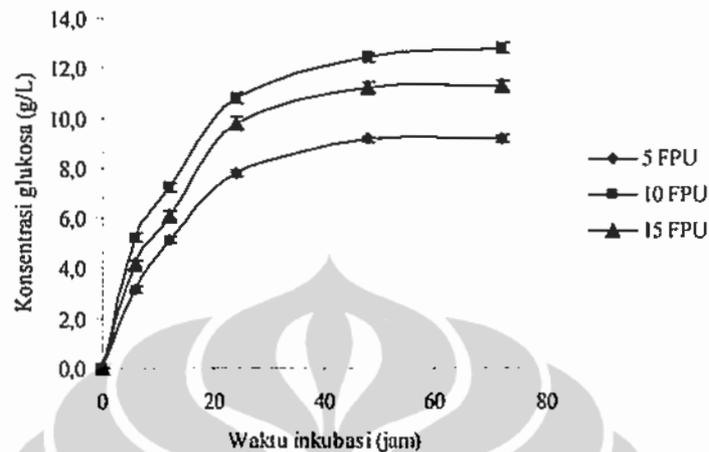


Gambar 4.3 Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase Dengan Variasi pH (4, 4,5 Dan 5) Melalui Proses SSF

Variasi jumlah enzim juga menunjukkan bahwa pada pH=5 dengan jumlah enzim 10 FPU (ekivalen dengan 4,6 mg) menghasilkan konsentrasi etanol yang paling tinggi. Penggunaan enzim 10 FPU didasarkan pada eksperimen yang hasilnya ditunjukkan pada Gambar 4.4. Berdasarkan hasil penelitian tersebut, ada fenomena bahwa penggunaan enzim 10 FPU menghasilkan glukosa lebih tinggi jika dibandingkan dengan 15 FPU dan 5 FPU pada konsentrasi substrat 50g/L. Fenomena ini membuktikan bahwa prinsip reaksi enzimatik, keseimbangan jumlah substrat dan jumlah enzim sangat menentukan. Penggunaan enzim yang berlebih akan mengakibatkan kelambanan proses karena aktifitas enzim akan menurun jika larutan substrat terlalu pekat. Demikian pula jika jumlah enzim terlalu sedikit maka akan mengakibatkan banyak substrat yang tidak tersentuh oleh sisi aktif enzim [85].

Hasil tersebut juga didukung oleh beberapa hasil penelitian yang menyatakan bahwa penggunaan 10 FPU enzim selulase efektif untuk mengkonversi 50g/L substrat yang berasal dari kayu, tongkol jagung, jagung, tebu dan lain-lain [22,

26,66,98]. Hal ini terjadi karena material-material tersebut mengandung komposisi selulosa terbesar jika dibandingkan dengan senyawa penyusun yang lain.



Gambar 4.4 Data Konsentrasi Glukosa Pada Bagas Setelah Dihidrolisis Dengan Enzim Selulase Dengan Beberapa Variasi

Selain faktor pH dan jumlah enzim, faktor yang mempengaruhi efektifitas kinerja enzim dan yeast adalah faktor suhu. Pada penelitian ini suhu operasi selama proses SSF dilakukan pada suhu 35°C. Penggunaan suhu 35°C tersebut, didasarkan pada hasil penelitian dengan variasi suhu, ternyata pada suhu 35°C diperoleh etanol yang tertinggi dibandingkan dengan yang lainnya. Lebih rinci hasil penelitian dengan variasi suhu, ditunjukkan pada Tabel 4.1. Berbagai studi melaporkan bahwa penggunaan enzim yang terkatagori sebagai enzim selulolitik dan lignoselulolitik seperti enzim selulase, laccase, xylanase, selobiase, mangan peroksidase akan stabil dan aktif pada suhu antara 30-40°C [20, 22, 29].

Tabel 4.1 Produksi Etanol Dengan Enzim Selulase Pada Beberapa Variasi Suhu

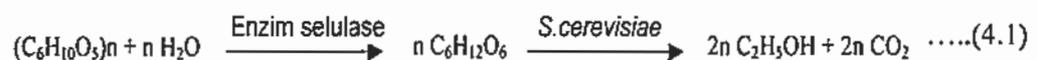
waktu inkubasi (jam)	Konsentrasi etanol (g/L)		
	suhu 30°C	Suhu 35°C	suhu 40°C
0	0,0	0,0	0,0
6	2,1	2,1	2,0
12	2,9	3,1	2,9
24	4,6	4,9	4,6
48	5,2	5,7	5,1
72	5,3	5,9	5,3
96	5,4	6,0	5,4

Jika produksi etanol yang dihasilkan dari eksperimen pada pH=5 tersebut dihitung persentase etanol yang dihasilkan berdasarkan bagas murni, maka maksimum persentase hasilnya sebesar 12,0%, sedangkan persentase hasil berbasis berat selulosa maksimum sebesar 23,9% (Tabel 4.2). Persentase berbasis berat bagas dihitung dengan cara membandingkan konsentrasi etanol yang dihasilkan dengan konsentrasi substratnya (50g/L). Sedangkan persentase hasil berbasis selulose dihitung dengan cara membandingkan konsentrasi etanol yang dihasilkan dengan hasil penelitian dengan konsentrasi substrat yang digunakan (50 g/L) dikalikan dua, karena jumlah selulose dalam substrat berdasarkan hasil analisis 50% atau setengahnya (Gambar 4.1) [70, 93].

Tabel 4.2. Persentase Etanol Yang Dihasilkan Dari Bagas Dengan Enzim Selulase Berbasis Berat Bagas Murni Dan Kandungan Selulosa Bagas

Waktu inkubasi (jam)	Ethanol yield (%)	
	berbasis berat bagas	berbasis berat selulosa
0	0,0	0,0
6	4,2	8,4
12	6,2	12,4
24	9,8	19,6
48	11,4	22,8
72	11,8	23,5
96	12,0	23,9

Maksimum etanol teoritis (*theoretical yield*) yang dihasilkan dari bagas berdasarkan bagas dan kandungan selulosa sebesar 28,8% dan 56,8% (Gambar 4.5). Perhitungan secara teoritis, didasarkan pada perhitungan stokiometri dengan reaksi sebagai berikut:



$$\text{Mr selulosa} = (162)n \text{ gram/mol}$$

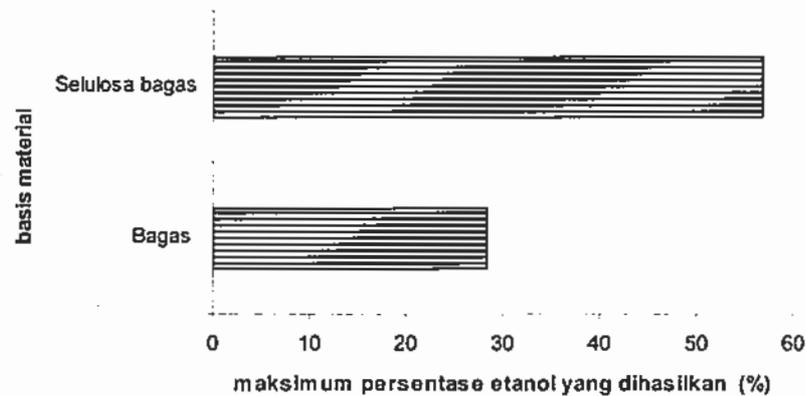
$$\text{Mr air} = (18) \text{ gram/mol}$$

$$\text{Mr glukosa} = (180) \text{ gram/mol}$$

$$\text{Mr etanol} = (46) \text{ gram/mol}$$

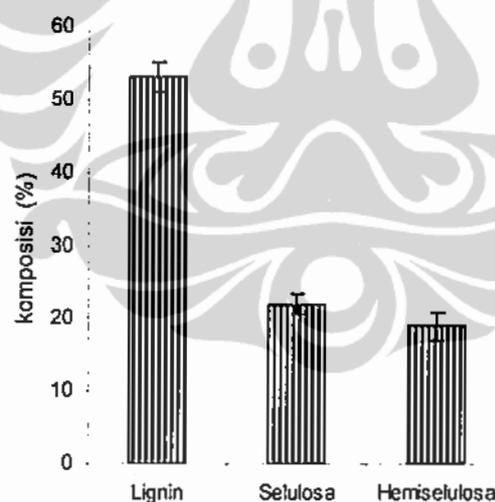
$$\text{Mr CO}_2 = (44) \text{ gram/mol}$$

$$\text{Densitas etanol} = 0,79 \text{ gram/mL}$$



Gambar 4.5. Persentase Etanol Yang Dihasilkan Dari Bagas Berdasarkan Perhitungan Teoritis (Berdasarkan Berat Selulosa Dan Berat Bagas Murni)

Berdasarkan hasil penelitian persentase *ethanol yield* dari bagas dengan enzim selulase sebesar 12,0% (berbasis berat bagas) atau 22,5% berbasis kandungan selulosa. Jika dibandingkan, hasil eksperimen adalah hanya sekitar 39% dari hasil perhitungan teoritis yang tercapai. Dalam eksperimen tersebut proses SSF hanya menggunakan enzim selulase.



Gambar 4.6. Komposisi Lignin, Selulosa Dan Hemiselulosa Bagas Setelah Proses SSF Menggunakan Enzim Selulase

Masih rendahnya konversi bagas menjadi etanol dikarenakan selulosa pada bagas masih belum mampu dikonversikan secara optimal oleh enzim selulase. Hal ini

dibuktikan dengan hasil analisa kandungan lignin, selulosa dan hemiselulosa bagas setelah proses SSF berturut-turut 53%, 22% dan 19% dan sisanya adalah zat ekstraktif (Gambar 4.6). Hasil penelitian menunjukkan bahwa komposisi lignin meningkat dalam larutan karena terjadinya penurunan komposisi selulosa. Berdasarkan hasil analisa diatas membuktikan bahwa belum semua selulosa pada bagas yang terkonversi menjadi etanol.

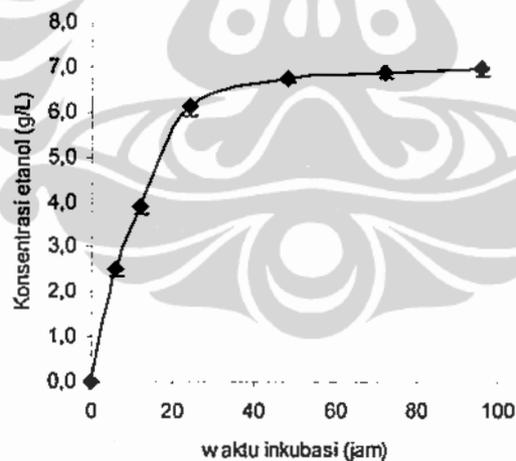
Rendahnya *ethanol yield* akibat dari belum optimalnya selulosa yang terkonversi disebabkan oleh karena bagas juga mengandung lignin yang dapat menghalangi akses enzim untuk melakukan proses hidrolisis. Banyak hasil riset melaporkan bahwa kandungan lignin dengan kekuatan ikatannya akan mempengaruhi akses enzim selulase terhadap selulosa [29, 102, 114-115]. Selain itu, pada proses hidrolisis selulosa, umumnya enzim selulase hanya mampu menghidrolisis selulosa menjadi glukosa pada kondisi hidrolisis yang sempurna. Sedangkan hidrolisis yang terjadi tidak semuanya sempurna, karena sebagian dari hidrolisis selulosa menjadi selobiosa, yang merupakan bentuk lain dari disakarida. Proses hidrolisis yang tidak sempurna tersebut dikenal juga sebagai hidrolisis parsial [19-21]. Lebih tidak menguntungkan lagi terbentuknya selobiosa, jika tidak segera terhidrolisis menjadi glukosa maka akan mengganggu proses hidrolisis selulosa [20-21]. Hal ini juga dibuktikan dari hasil penelitian tersebut kandungan selulosa yang tersisa setelah proses SSF sekitar 54%, namun pencapaian etanol dari teoritis baru sekitar 39%. Fenomena tersebut menunjukkan bahwa tidak semua selulosa menjadi glukosa yang secara simultan langsung difermentasi menjadi etanol dalam proses SSF. Oleh karena itu penambahan enzim selobiase pada proses hidrolisis selulosa dengan enzim selulase diyakini akan mampu meningkatkan etanol yang dihasilkan dari bagas dengan proses SSF.

4.3 Konversi Bagas Menjadi Etanol Dengan Enzim Selulase-Selobiase

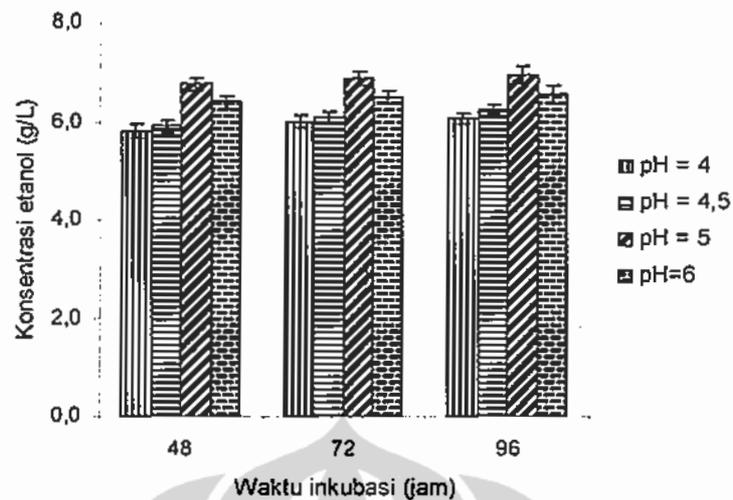
Untuk lebih meningkatkan konversi etanol dari bagas, telah dilakukan penelitian dengan mengkombinasikan enzim selulase dan enzim selobiase. Hal ini dilakukan dalam upaya membantu mempercepat proses hidrolisis selobiosa menjadi glukosa

dan secara simultan dikonversi menjadi etanol oleh *S. cerevisiae*. Sebagaimana telah dibahas sebelumnya, bahwa pada proses hidrolisis selulosa menjadi glukosa terjadi proses hidrolisis parsial selulosa menjadi selobiosa yang merupakan disakarida. Sedangkan selobiosa dapat dihidrolisis menjadi glukosa dengan menggunakan enzim spesifik yaitu enzim selobiase [20-21].

Produksi tertinggi etanol dari bagas dengan menggunakan enzim selulase-selobiase yaitu sekitar 6,9 g/L dari konsentrasi substrat 50 g/L (Gambar 4.7). Hasil tersebut terjadi pada pH = 5 dengan 10FPU-5FPU selulase-selobiase. Berdasarkan hasil penelitian tersebut ternyata pH=5 merupakan pH yang optimum. Hasil tersebut sama dengan pH optimum ketika produksi etanol menggunakan enzim selulase saja. Beberapa hasil penelitian juga melaporkan bahwa pH=5 merupakan pH optimum untuk kerja enzim selulase, dan yeast *S. Cerevisiae* [22,50,112]. Secara lengkap hasil penelitian produksi bioetanol dari bagas dengan variasi pH pada waktu inkubasi 48-96 jam dapat dilihat pada Gambar 4.8.

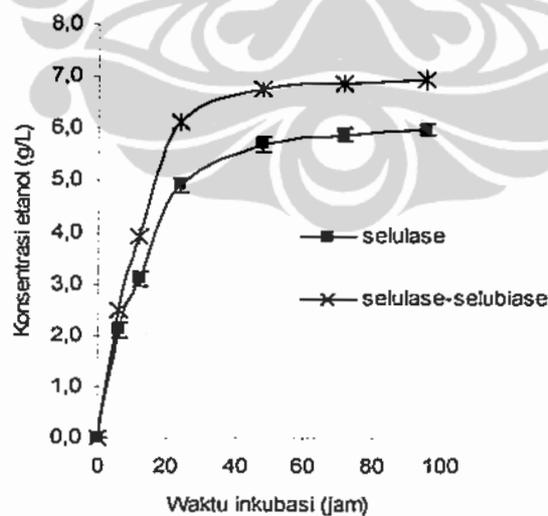


Gambar 4.7. Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase Pada pH=5 Melalui Proses SSF



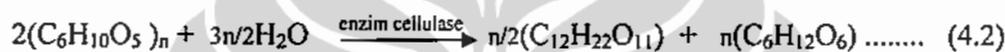
Gambar 4.8. Konsentrasi Etanol Dari Bagas Setelah Proses SSF Dengan Enzim Selulase- Selobiase Dengan Variasi pH (4 S.D 6)

Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa kombinasi enzim selulase dan selobiase ternyata meningkatkan produksi bioetanol. Produksi etanol tertinggi dengan kombinasi enzim selulase-selobiase adalah 6,9 g/L atau meningkat sekitar 16,2% jika dibandingkan dengan menggunakan enzyme selulase saja yaitu 6,0 g/L (Gambar 4.9). Peningkatan produksi etanol tersebut jelas dipengaruhi oleh penambahan enzim selobiase.



Gambar 4.9. Perbandingan Produksi Bioetanol Dari Bagas Dengan Enzyme Selulase Serta Kombinasi Selulase-Selubiase (Konsentrasi Substrat 50 g/L, pH=5 Dan 10FPU-5FPU Selulase-Selobiase)

Pengaruh enzim selobiase dalam meningkatkan produksi etanol dari bagas juga dibuktikan dengan data bahwa dalam proses hidrolisis selulosa bagas menjadi glukosa, jika menggunakan selulase-selobiase (10FPU-5FPU) ternyata glukosa yang dihasilkan sebesar 15,4 g/L jauh meningkat jika dibandingkan dengan hanya menggunakan enzim selulase saja sebesar 13,0 g/L (Table 4.3). Hal ini sekaligus membuktikan bahwa keberadaan selobiosa telah terhidrolisis oleh selobiase menjadi gula dan secara simultan dikonversi menjadi etanol oleh yeast. Penambahan enzim selobiase hanya dapat dilakukan bersamaan dengan enzim selulase, karena selobiosa hanya terjadi pada proses hidrolisis parsial selulosa dengan enzim selulase. Reaksi yang terjadi pada hidrolisis selulosa menjadi glukosa, selulosa menjadi selobiosa dan selobiase menjadi glukosa yang secara simultan dikonversikan menjadi etanol adalah sebagai berikut:



Selain itu hasil penelitian yang ditunjukkan pada Tabel 4.3 memperlihatkan kombinasi enzim selulase-selobiase 10FPU-5FPU menghasilkan konsentrasi glukosa tertinggi jika dibandingkan dengan variasi kombinasi yang lain. Hasil penelitian ini yang menjadi dasar mengapa kombinasi 10FPU-5FPU (selulase-selobiase) digunakan sebagai kombinasi dalam konversi bagas menjadi etanol melalui proses SSF. Fenomena tersebut terjadi dikarenakan pada kombinasi selulase-selobiase pada 10FPU-5FPU terjadi keseimbangan jumlah enzim dengan substrat sehingga proses hidrolisis mampu menghasilkan glukosa tertinggi. Hal ini penting karena penggunaan jumlah enzim yang berlebih atau kekurangan enzim akan mengganggu kecepatan dan ketepatan akses enzim pada masing-masing substratnya. Hal ini bukan dikarenakan perebutan antar enzim terhadap satu substrat, namun lebih kepada ketidak seimbangan antara substrat dengan enzim [21, 54-55, 93, 96,111].

Tabel 4.3 Konsentrasi Glukosa (g/L) Setelah Proses Hidrolisis Bagas Dengan Menggunakan Kombinasi Selulase-Selulase Dengan Beberapa Variasi Enzim Pada pH=5

waktu inkubasi (jam)	Konsentrasi glukosa (g/L) setelah proses hidrolisis bagas dengan menggunakan kombinasi selulase-selobiase:			
	10 FPU	10 FPU-10 FPU	10 FPU-5FPU	10 FPU-2.5FPU
0	0.0	0.0	0.0	0.0
6	5.2	6.2	6.5	6.2
12	7.2	9.2	9.3	9.2
24	10.8	13.2	13.7	13.0
48	12.4	14.1	15.0	14.0
72	12.8	14.9	15.2	14.6

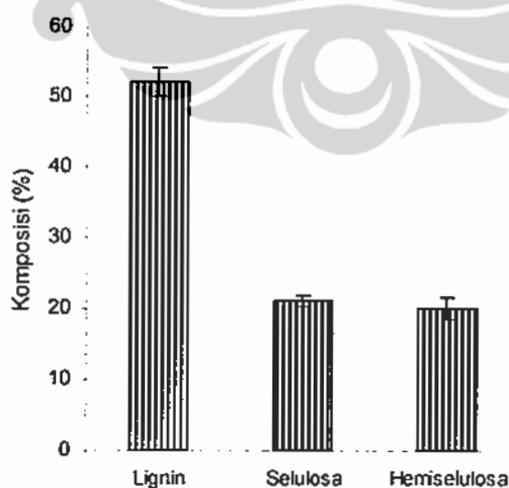
Untuk mengetahui seberapa besar persentase *ethanol yield* yang dihasilkan dari bagas dengan menggunakan enzim selulase-selobiase melalui proses SSFF, maka perlu dihitung etanol yang dihasilkan berbasis berat bagas dan selulosa. Jika hasil pada Gambar 4.6 tersebut dihitung persentase *ethanol yield* yang dihasilkan, maka persentase etanol tertinggi yang dihasilkan berbasis berat bagas sekitar 13,9% dan berbasis kandungan selulosa sekitar 27,7% (Tabel 4.4). Hasil tersebut menunjukkan adanya peningkatan persentase etanol yang dihasilkan, karena jika menggunakan enzim selulase saja hasil tertinggi hanya 12,0% (berbasis berat bagas), 23,9% berbasis berat selulosa.

Tabel 4.4 Perbandingan Persentase Etanol Yang Dihasilkan Dari Bagas Dengan Enzim Selulase Dan Selulase-Selobiase Berbasis Bagas Dan Selulosa

Waktu inkubasi (jam)	Etanol berbasis berat bagas (%) setelah dihidrolisis dengan:		Etanol berbasis berat selulosa (%) setelah dihidrolisis dengan:	
	Selulase	Selulase-Selobiase	Selulase	Selulase-Selobiase
0	0,0	0,0	0,0	0,0
6	4,2	5,0	8,4	10,0
12	6,2	7,8	12,4	15,6
24	9,8	12,2	19,6	24,4
48	11,4	13,5	22,8	27,0
72	11,8	13,7	23,5	27,5
96	12,0	13,9	23,9	27,7

Namun demikian jika hasil eksperimen tersebut dibandingkan dengan hasil maksimum secara teoritis yaitu 28.4% (berbasis berat bagas murni) 56,8% (berbasis berat selulosa murni), maka hasil ini masih belum mendekati hasil secara teoritis. Jika dihitung pencapaian hasil secara teoritis, hasil eksperimen adalah sekitar 49% dari hasil perhitungan teoritis yang tercapai. Hasil ini memang meningkat jika dibandingkan dengan enzim selulase saja baru sekitar 39% hasil teoritis yang tercapai, namun tentu untuk pencapaian secara teoritis masih kecil atau belum optimal.

Meningkatnya persentase *ethanol yield* yang dihasilkan semakin membuktikan bahwa penambahan enzim selobiose mampu mengkonversi selobiosa menjadi glukosa yang secara simultan dikonversi menjadi etanol dalam proses SSF sebagaimana dijelaskan pada reaksi 4.2 sampai 4.3. Hal ini dibuktikan dengan hasil analisa kandungan lignin, selulosa dan hemiselulosa bagas setelah proses SSF berturut-turut 53%, 21% dan 20% dan sisanya adalah zat ekstraktif (Gambar 4.10). Hasil tersebut menunjukkan penambahan enzim selulase tidak banyak berpengaruh pada penurunan kandungan selulosa pada bagas setelah SSF namun etanol yang dihasilkan meningkat. Ini artinya peningkatan etanol disebabkan oleh terkonversinya selobiosa menjadi glukosa dan secara simultan dikonversi menjadi etanol oleh *S. Cerevisae*.



Universitas Indonesia

Gambar 4.10. Komposisi Lignin, Selulosa Dan Hemiselulosa Bagas Setelah Proses SSF Menggunakan Enzim Selulase-Selobiase

Belum optimalnya etanol yang dihasilkan dengan enzim selulase-selobiase dikarenakan bagas mengandung lignin yang dapat menghalangi akses enzim untuk melakukan proses hidrolisis. Selain itu lignin juga memiliki ikatan hidrogen intra lignin dan ikatan hidrogen antara lignin dan polisakarida sehingga keberadaan lignin akan menjadi penghalang utama akses enzim pada selulosa [29, 32].

Banyak hasil riset melaporkan bahwa kandungan lignin dengan kekuatan ikatannya tersebut akan mempengaruhi akses dari pada enzim selulase terhadap selulosa [29, 115-116]. Beberapa hasil riset juga melaporkan bahwa untuk lebih memaksimalkan konversi Etanol dari lignocellulosic material maka perlu dilakukan perlakuan awal baik secara fisik, biologis dan kimiawi dengan tujuan untuk mendegradasi lignin yang terkandung sehingga akses enzim lebih sempurna [102,106, 115]. Selain itu juga komposisi kimia bagas juga mengandung hemiselulosa yang sebagian besar adalah xylan, yang keberadaanya juga menjadi penghambat akses enzim terhadap selulosa tersebut. Hal ini disebabkan adanya ikatan hidrogen antar kristal selulosa dan hemiselulosa, sehingga jika hemiselulosa tidak secara simultan juga dihidrolisis tentu akan menghalangi akses selulase untuk menghidrolisis selulosa [32, 53, 55]. Oleh karena itu menjadi hal yang sangat penting untuk menkonversi hemiselulosa pada bagas menjadi etanol secara simultan dengan pemanfaatan selulase.

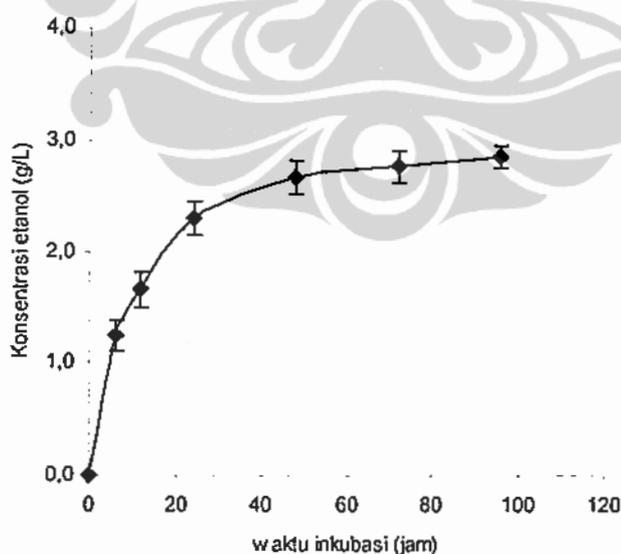
4.4 Konversi Bagas Menjadi Etanol Dengan Enzim Xylanase

Penelitian-penelitian menggunakan produksi etanol dari bagas dengan enzim selulitic seperti selulase dan selulase-selobiase pada prinsipnya hanya akan menkonversi kandungan selulosa pada bagas menjadi etanol. Sehingga perhitungan secara teoritis didasarkan pada perhitungan selulosa menjadi etanol secara stokiometri [53, 61]. Satu hal yang cukup memberikan peluang dalam peningkatan konversi bagas menjadi etanol adalah dengan memanfaatkan kandungan hemiselulosa pada bagas yang komposinya berdasarkan hasil penelitian sebesar 21% (Gambar 4.1). Oleh karena itu perhitungan secara

teoritisnya juga didasarkan pada konversi kandungan hemiselulosa bagas menjadi etanol. Sebagaimana diketahui komposisi bagas yang merupakan material lignoselulosa mengandung sekitar 50% selulosa, 19% lignin, 21% hemiselulosa dan sisanya zat ekstraktif (Gambar 4.1).

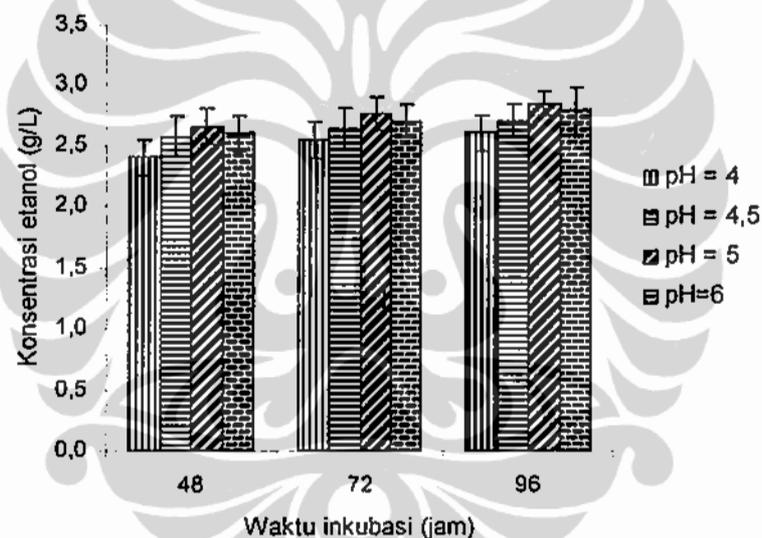
Berdasarkan komposisi tersebut maka kandungan hemiselulosa yang sebagian besar mengandung xylan tidak dapat dihidrolisis dengan enzim selulase, namun dapat dihidrolisis menggunakan enzim spesifik yaitu xylanase. Selain itu kandungan hemiselulosa pada bagas tersebut juga akan mengganggu proses hidrolisis selulosa karena adanya ikatan antar kristal hemiselulosa dengan selulosa dan lignin [53, 55]. Oleh karena itu pemanfaatan enzim xylanase ditujukan untuk mengkonversi kandungan hemiselulosa pada bagas. Beberapa penelitian melaporkan bahwa enzim xylanase dapat digunakan mengkonversi material lignoselulosa yang memiliki kandungan hemiselulosa cukup tinggi [85, 96].

Hasil penelitian menunjukkan bahwa produksi etanol tertinggi dari bagas dengan menggunakan enzim xylanase pada pH = 5 adalah sekitar 2,8 g/L dari konsentrasi substrat (50g/L), yang secara lengkap ditunjukkan pada Gambar 4.11.



Gambar 4.11. Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Xylanase Dalam Proses SSF Pada pH=5.

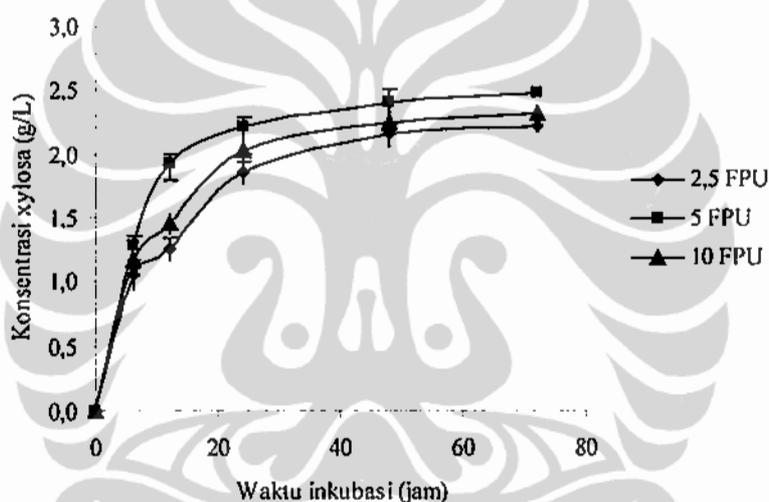
Penggunaan pH=5 didasarkan pada hasil penelitian dengan variasi pH ternyata pH=5 merupakan pH yang optimum (Gambar 4.12). Kondisi pH optimum yang dihasilkan sama dengan pH optimum konversi bagas menjadi etanol menggunakan enzim selulase atau selulase-selobiase yaitu pH=5 [70, 93]. Hal ini juga didukung oleh beberapa penelitian yang melaporkan bahwa pH=5 merupakan pH optimum untuk kerja enzim selulase, xylanase serta yeast *S. Cerevisiae* [22, 50, 112]. Hasil penelitian ini juga membuktikan bahwa pH = 5 adalah pH optimum untuk kerja enzim xylanase dalam mengkonversi hemiselulosa menjadi xylosa. Kemudian xylosa yang terbentuk dikonversikan menjadi etanol oleh yeast dalam proses SSF.



Gambar 4.12. Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Xylanase Dengan Variasi pH (4 s.d 6) Melalui Proses SSF

Hasil penelitian tersebut dilakukan dengan menggunakan penambahan jumlah enzim 5 FPU, hal ini didasarkan pada hasil penelitian dengan variasi enzim xylanase, penggunaan enzim 5 FPU menghasilkan konsentrasi xylosa tertinggi (Gambar 4.13). Jika diamati penggunaan enzim 5 FPU justru menghasilkan etanol lebih tinggi jika dibandingkan dengan enzim 10 FPU. Hal ini kembali terkait dengan kinerja enzim sangat ditentukan dengan keseimbangan larutan antara

jumlah enzim dan konsentrasi substrat [32, 53]. Berdasarkan data hasil analisis komposisi kimia bagas, jumlah hemiselulosa dalam bagas tidak terlalu besar yaitu sebesar 20% (Gambar 4.1), sehingga enzim yang diperlukan untuk reaksi hidrolisis juga tidak terlalu banyak. Penggunaan enzim yang terlalu sedikit juga tidak efektif, karena kekurangan jumlah enzim maka akan banyak substrat yang tidak terhidrolisis. Hal ini diperlihatkan dengan hasil xylosa yang relatif kecil jika menggunakan 2,5 FPU enzim xylanase. Selain itu hasil tersebut juga didukung dengan beberapa hasil penelitian yang menyatakan bahwa penggunaan 5 FPU enzim selulase efektif untuk mengkonversi 50g/L substrat dari hemiselulosa, karena terjadi keseimbangan antara enzim dan substrat [85, 88, 96].

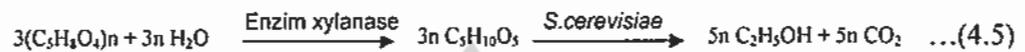


Gambar 4.13 Hidrolisis Hemiselulosa Bagas Menjadi Xilosa Menggunakan Enzim Xylanase Dengan Berbagai Variasi Enzim

Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa rata-rata etanol yang dihasilkan terus meningkat dengan bertambahnya waktu inkubasi dalam proses SSF tersebut. Namun setelah waktu inkubasi selama 48 jam maka etanol yang dihasilkan peningkatannya tidak signifikan atau cenderung konstan, bahkan ada yang mengalami penurunan. Fenomena ini menunjukkan bahwa untuk produksi etanol dengan proses SSF dengan perlakuan selama dua minggu bisa dikatakan mencapai titik optimum setelah waktu inkubasi 48 jam. Hal ini disebabkan penggunaan *S.*

cerevisiae merupakan yeast yang memiliki karakter dan kemampuan mengkonversi glukosa menjadi etanol lebih cepat daripada yeast yang lain [29, 80,87].

Maksimum etanol teoritis (*theoretical yield*) yang dihasilkan dari bagas berdasarkan bagas dan kandungan hemiselulosa sebesar 11,4% dan 56,8% (Gambar 4.14). Perhitungan secara teoritis, didasarkan pada perhitungan stokiometri dengan reaksi sebagai berikut:



Mr hemiselulosa = $(132)n$ gram/mol

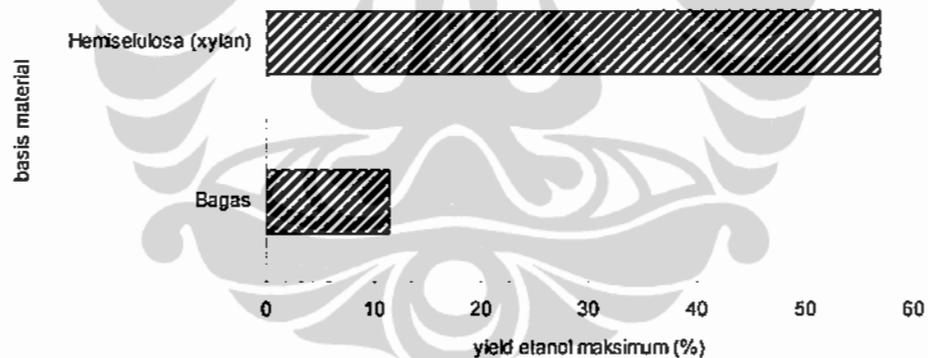
Mr air = (18) gram/mol

Mr xylosa = (150) gram/mol

Mr etanol = (46) gram/mol,

Mr CO_2 = (44) gram/mol dan

Densitas etanol = $0,79$ gram/mL



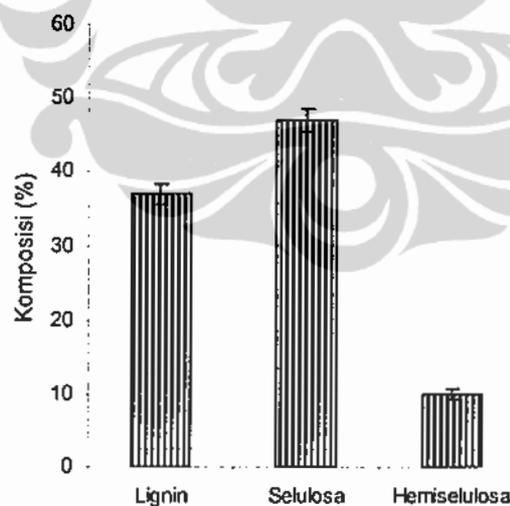
Gambar 4.14 Persentase *Ethanol Yield* Maksimal Dari Bagas Berdasarkan Perhitungan Teoritis (Berbasis Berat Hemiselulosa Dan Berat Bagas)

Berdasarkan hasil penelitian, persentase *ethanol yield* berdasarkan bagas murni maksimum sebesar 5,7% atau 28,4% berbasis berat hemiselulosa (Tabel 4.5). Jika dibandingkan dengan *theoretical yield*, berdasarkan eksperimen 50,0% hasil teoritis telah tercapai.

Tabel 4.5. Persentase *Ethanol Yield* Dari Bagas Setelah Proses SSF Dengan Enzim Xylanase (Data Berbasis Berat Bagas Murni Dan Xylan Bagas)

Waktu inkubasi (jam)	<i>Ethanol yield</i> (%)	
	Berbasis berat bagas	Berbasis berat hemiselulosa
0	0,0	0,0
6	2,5	12,4
12	3,3	16,5
24	4,6	22,9
48	5,3	26,6
72	5,5	27,6
96	5,7	28,4

Ethanol yield yang dihasilkan tersebut menunjukkan terkonversikannya hemiselulosa bagas menjadi etanol. Hal ini dibuktikan dengan hasil analisa kandungan lignin, selulosa dan hemiselulosa bagas setelah proses SSF berturut-turut 37%, 47% dan 10% dan sisanya adalah zat ekstraktif (Gambar 4.15). Berdasarkan hasil analisa tersebut membuktikan bahwa sekitar 50% hemiselulosa telah terkonversi menjadi etanol dan sekaligus menunjukkan bahwa belum semua hemiselulosa pada bagas yang terkonversi menjadi etanol.



Gambar 4.15. Komposisi lignin, selulosa dan hemiselulosa bagas setelah proses SSF menggunakan enzim xylanase

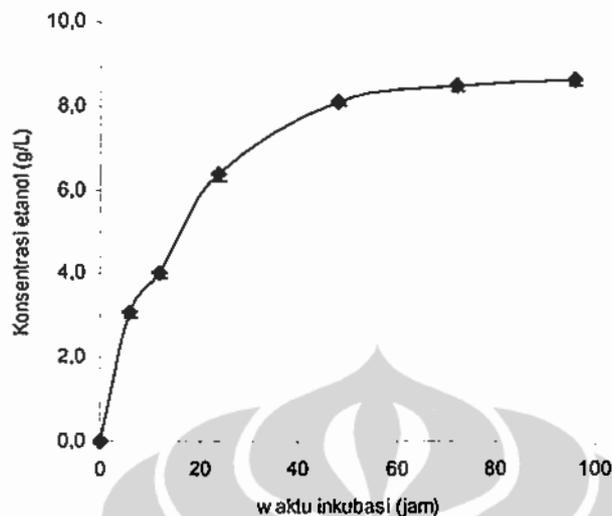
Belum optimalnya hasil tersebut, karena sebagaimana telah diketahui bagas juga mengandung lignin yang dapat menghalangi akses enzim untuk melakukan proses hidrolisis [29, 54, 68]. Namun demikian sebenarnya dengan pencapaian teoritis mencapai 50% dengan tanpa perlakuan awal tidak termasuk kecil. Hal ini disebabkan hemiselulosa bagas merupakan polisakarida mudah larut dalam air sehingga lebih memudahkan dalam proses hidrolisis [102, 114].

Pemanfaatan hemiselulosa secara terpisah dengan menggunakan enzim xylanase untuk dikonversikan menjadi etanol secara teoritis akan mengurangi nilai ekonomisnya, karena kandungan hemiselulosa dalam bagas relatif kecil jika dibandingkan dengan kandungan selulosa. Oleh karena itu tentu akan sangat menguntungkan jika dilakukan proses terintegrasi pemanfaatan selulosa dan hemiselulosa dengan menggunakan enzim selulase-xylanase.

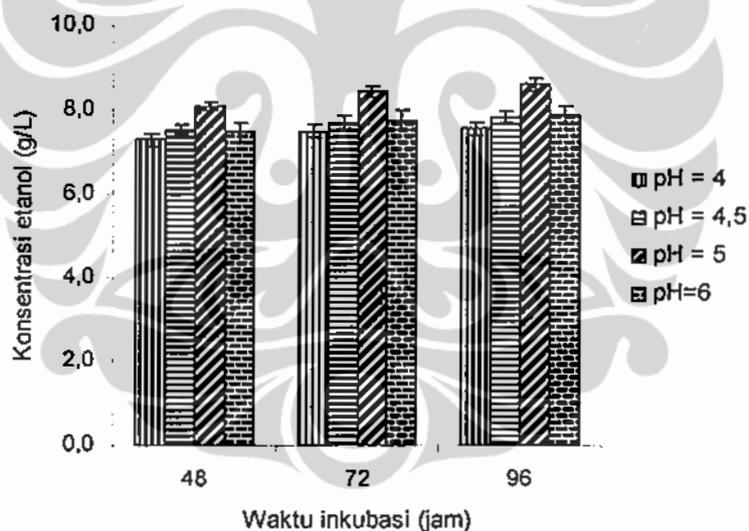
4.5 Konversi Bagas Menjadi Etanol Dengan Kombinasi Enzim Selulase-Xylanase

Proses terpadu untuk mengkonversi selulosa dan hemiselulosa pada bagase dilakukan dengan cara mengkombinasikan enzim-enzim yang spesifik untuk mengkonversi masing-masing polisakarida tersebut. Sebagaimana diketahui komposisi karbohidrat bagas yang merupakan material lignoselulosa mengandung sekitar 50% selulosa dan 21% hemiselulosa (Gambar 4.1). Jika proses ini berhasil maka proses konversis selulosa dan hemiselulosa dalam sakarifikasi dan fermentasi serempak akan sangat efektif.

Hasil penelitian menunjukkan kombinasi enzim selulase-xylanase mampu meningkatkan produksi etanol dari bagas. Konsentrasi etanol tertinggi pada pH=5 yaitu sekitar 8,6 g/L dari konsentrasi substrat 50 g/L (Gambar 4.16). Penggunaan pH=5 didasarkan pada hasil penelitian variasi pH, ternyata pH=5 merupakan pH yang optimum (Gambar 4.17). Selain itu hasil ini juga sesuai dengan hasil sebelumnya penggunaan enzim selulolitik (selulase dan selobiase) dan enzim hemilolitik (xylanase) optimum terjadi pada pH= 5 [68,93]. Beberapa penelitian juga melaporkan bahwa pH=5 merupakan pH optimum untuk kerja enzim selulase, xylanase serta yeast *S. cerevisiae* [22, 50,112].



Gambar 4.16. Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Xylanase Dalam Proses SSF Pada pH=5.

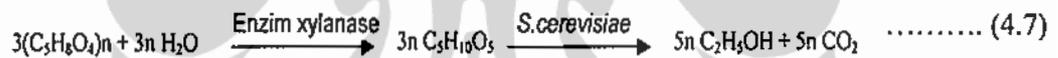


Gambar 4.17. Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Kombinasi Enzim Selulase-Xylanase Dengan Variasi Ph Melalui Proses SSF (Enzim Selulase-Xylanase 10FPU-5FPU)

Penggunaan enzim selulase-xylanase 10FPU-5FPU pada penelitian ini didasarkan pada hasil penelitian sebelumnya bahwa penambahan enzim selulase tertinggi dengan 10 FPU, sedangkan penggunaan enzim xylanase tertinggi dengan 5 FPU [30, 68, 93]. Setiap enzim akan menyerang masing-masing

substrat yang berbeda karena enzim merupakan biokatalis alamiah yang memiliki selektifitas tinggi. Penggunaan enzim sesuai dengan kondisi optimumnya penting karena pada kombinasi tersebut jumlah enzim dengan substrat yang akan dihidrolisis relatif seimbang. Penggunaan jumlah enzim yang berlebih atau kekurangan enzim akan mengganggu kecepatan dan ketepatan akses enzim pada masing-masing substratnya. Hal ini bukan dikarenakan perebutan antar enzim terhadap satu substrat, namun lebih kepada ketidak seimbangan antara substrat dengan enzim [55, 93, 105].

Berdasarkan perhitungan teoritis jika semua holoselulosa (selulosa dan hemiselulosa) terkonversi menjadi etanol maka *ethanol yield* maksimum berdasarkan hasil teoritis (*theoretical yield*) sebesar 39,80% berbasis berat bagas dan 56,86% berbasis berat holoselulosa (Gambar 4.18). Perhitungan teoritis tersebut berdasarkan stokiometri reaksi berikut:



Mr selulosa = (162)n gram/mol,

Mr hemiselulosa = (132)n gram/mol

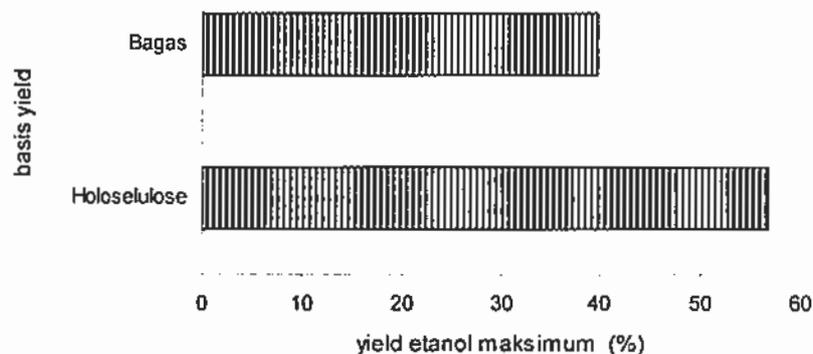
Mr air = (18) gram/mol

Mr xylosa = (150) gram/mol

Mr etanol = (46) gram/mol

Mr CO₂ = (44) gram/mol

Densitas etanol = 0,79 gram/mL



Gambar 4.18. Persentase *Ethanol yield* Maksimal Dari Bagas Berdasarkan Perhitungan Teoritis Dengan Enzim Selulase-Xylanase (Berbasis Berat Hemiselulosa Dan Berat Bagas Murni)

Hasil eksperimen, jika dihitung persentase *ethanol yield* dari bagas dengan kombinasi enzim selulase-xylanase, maka *ethanol yield* tertinggi yang dihasilkan sekitar 17,2 % berbasis berat bagas, dan 24,6% berbasis berat selulosa bagas (Tabel 4.6). Jika dihitung persentase pencapaian hasil teoritis, maka dengan dengan kombinasi enzim selulase-xylanase sekitar 43,2% hasil secara teoritis telah tercapai.

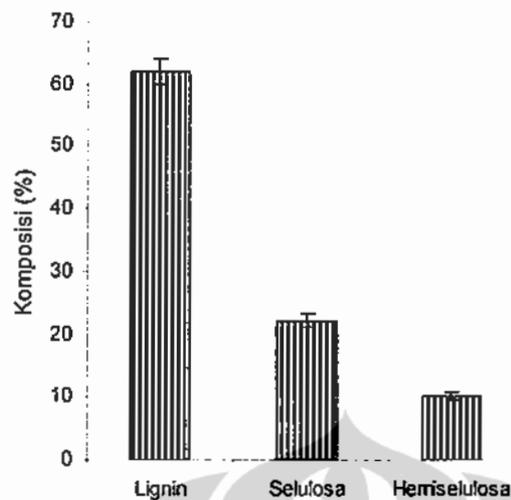
Tabel 4.6. Persentase *Ethanol Yield* Dari Bagas Menggunakan Enzim Selulase-Xylanase Data Berbasis Pada Bagas Dan Kandungan Holoselulosa (Selulosa & Hemiselulosa)

Waktu inkubasi (jam)	<i>Ethanol yield</i> (%) setelah hidrolisis dengan selulase-xylanase	
	Berbasis berat bagas (%)	Berbasis berat holoselulosa (%)
0	0,0	0,0
6	6,2	8,8
12	8,1	11,5
24	12,7	18,2
48	16,2	23,1
72	16,9	24,1
96	17,2	24,6

Hasil tersebut meningkat jika dibandingkan dengan pencapaian hasil secara teoritis jika hanya menggunakan enzim selulase saja yaitu sekitar 39%. Peningkatan tersebut dikarenakan dengan penggunaan enzim xylanase maka hemiselulosa terkonversi menjadi xylosa yang secara simultan dikonversikan menjadi etanol. Peningkatan tersebut juga sangat ekivalen karena walaupun komposisi hemiselulosa hanya 21% tapi pencapaian secara teoritis mencapai 50%, sehingga ketika dikombinasikan dengan enzim selulase maka konversi etanol menjadi meningkat. Hal ini juga sekaligus membuktikan bahwa setiap enzim akan bekerja dan bereaksi pada masing-masing substrat tidak terjadi perebutan substrat karena sifat enzim yang spesifik terhadap substrat. Selain itu dengan terkonversikannya hemiselulose, maka akses selulase untuk menghidrolisis selulosa semakin mudah. Hal ini disebabkan keberadaan hemiselulosa jika tidak segera dikonversikan menjadi xylosa dan secara simultan menjadi etanol akan mengganggu proses hidrolisis selulosa [32, 53, 55].

Dalam proses reaksi enzimatik dikenal dengan istilah inhibitor ada yang bersifat kompetitif dan non-kompetitif sebagaimana telah dijelaskan pada hal 37. Pada penelitian ini reaksi enzimatik yang terjadi bukan reaksi enzim dengan inhibitor kompetitif, karena enzim yang digunakan sangat spesifik dengan substrak yang akan diserang oleh enzim [78-79]. Hal ini disebabkan *active site* selulase akan menyerang substrat selulosa membentuk glukosa dan *active site* xylanase akan menyerang hemiselulosa membentuk xylosa.

Berdasarkan hasil eksperimen, pencapaian hasil teoritis yaitu sekitar 43,2% yang menunjukkan bahwa holoselulosa telah terkonversi menjadi etanol sebesar 43%. Hal ini dibuktikan dengan hasil analisa kandungan lignin, selulosa dan hemiselulosa bagas setelah proses SSF berturut-turut 63%, 22% dan 10% dan sisanya adalah zat ekstraktif (Gambar 4.19). Hasil tersebut menunjukkan penambahan enzim selulase dan xylanase mampu mengkonversi selulosa dan hemiselulosa selama SSF sehingga etanol yang dihasilkan meningkat.



Gambar 4.19. Komposisi Lignin, Selulosa Dan Hemiselulosa Bagas Setelah Proses SSF Menggunakan Enzim Selulase-Xylanase

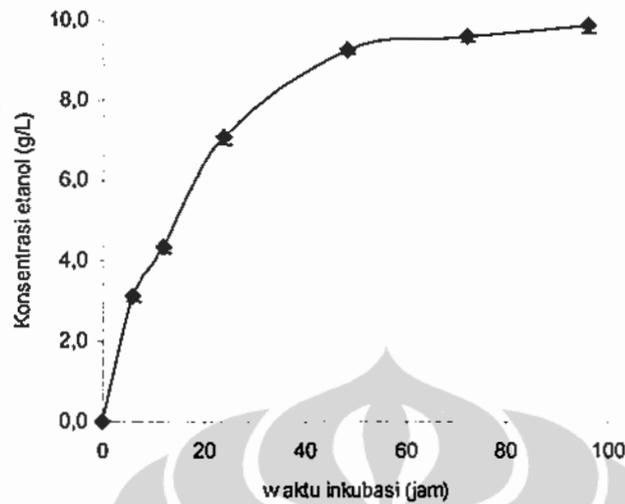
Jika diamati pencapaian secara teoritis tersebut belum mencapai 50% padahal holoselulosa yang terkonversi selama proses SSF sekitar 50%. Jika mengacu pada hasil penelitian sebelumnya, fenomena tersebut disebabkan pada konversi selulosa pada bagas menjadi bioetanol dengan menggunakan enzim selulase saja tanpa disertai dengan enzim selobiase hasilnya rendah. Sebagaimana diketahui terbentuknya selobiosa karena adanya hidrolisis parsial selulosa akan mengganggu proses hidrolisis itu sendiri [22, 93]. Oleh karena itu penggunaan enzim terpadu selulase-selobiase-xylanase sangat diperlukan karena semua substrat yang mungkin dapat dihidrolisis akan dihidrolisis dengan adanya tiga enzim tersebut. Selain itu memang keberadaan lignin sangat menghambat akses enzim untuk melakukan proses hidrolisis. Karena lignin memiliki ikatan intra lignin dan ikatan antar lignin dengan kristal-kristal selulosa dan hemiselulosa yang cukup kuat sehingga harus ada perlakuan awal untuk menghancurkan ikatan-ikatan tersebut [53, 61].

4.6 Konversi Bagas Menjadi Etanol Dengan Kombinasi Enzim Selulase-Selobiase-Xylanase

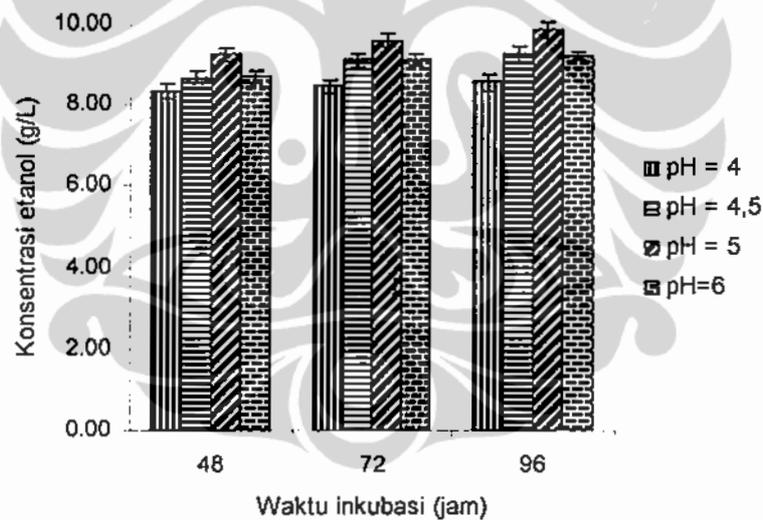
Optimalisasi konversi bagas menjadi etanol dilakukan dengan melakukan reaksi enzimatic hydrolysis terpadu untuk mengkonversi selulosa dan hemiselulosa pada bagase dalam proses SSF. Proses hidrolisis terpadu tersebut dilakukan dengan cara mengkombinasikan enzim-enzim yang spesifik untuk mengkonversi masing-masing polisakarida tersebut. Enzim-enzim tersebut adalah selulase, selobiase dan xylanase. Berdasarkan hasil analisa komposisi karbohidrat bagas yang merupakan material lignoselulosa mengandung sekitar 50% selulosa dan 20% hemiselulosa (Gambar 4.1). Pemanfaatan selulase adalah untuk mengkonversi selulosa menjadi glukosa, selobiosa yang terbentuk akan terhidrolisis dengan penggunaan enzim selobiase. Sedangkan enzim xylanase digunakan untuk mengkonversi xylan menjadi xylosa. Setelah itu glukosa dan xylosa yang terbentuk secara simultan akan difermentasi menjadi etanol.

Hasil penelitian menunjukkan kombinasi enzim selulase-selobiase-xylanase meningkatkan produksi etanol dari bagas. Konsentrasi etanol tertinggi pada pH=5 adalah 9,8 g/L dari konsentrasi substrat 50 g/L (Gambar 4.20). Hasil ini meningkat jika dibandingkan dengan konsentrasi etanol yang dihasilkan dengan enzim selulase (6,0 g/L), dengan enzim selulase-selobiase (6,9 g/L) serta dengan enzim selulase-xylanase (8,6 g/L). Peningkatan tersebut membuktikan bahwa masing-masing enzim bekerja dan mengkonversi masing-masing substratnya menjadi monosakarida tanpa terjadi perebutan substrat, karena memang sifat enzim yang spesifik terhadap substratnya.

Penggunaan pH=5 pada penelitian tersebut, berdasarkan pada hasil penelitian variasi pH, yang menunjukkan pH=5 merupakan pH yang optimum (Gambar 4.21). Selain itu hasil ini juga sesuai dengan hasil sebelumnya penggunaan enzim selulolitik (selulase dan selobiase) dan enzim hemilolitik (xylanase) optimum terjadi pada pH= 5 [35, 93]. Beberapa penelitian lain juga melaporkan bahwa pH=5 merupakan pH optimum untuk kerja enzim selulase, xylanase serta yeast *S. cerevisiae* [22, 50, 112].



Gambar 4.20 Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase-Xylanase Dalam Proses SSF Pada pH=5.



Gambar 4.21 Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Kombinasi Enzim Selulase-Selobiase-Xylanase Dengan Variasi pH 4; 4,5 Dan 5 Melalui Proses SSF (Konsentrasi Substrat 50g/L)

Pada penelitian tersebut digunakan penambahan enzim selulase-selobiase-xylanase 10FPU-5FPU-5FPU. Penggunaan kombinasi tersebut didasarkan pada hasil penelitian sebelumnya bahwa penambahan selulase-selobiase tertinggi dengan 10FPU-5FPU, sedangkan penggunaan enzim xylanase tertinggi dengan

5FPU [61,93]. Karakteristik dan kelebihan enzim adalah setiap enzim akan menyerang masing-masing substrat yang berbeda karena enzim merupakan biokatalis alamiah yang memiliki selektifitas tinggi. Penggunaan jumlah enzim yang berlebih atau kekurangan enzim akan mengganggu kecepatan dan ketepatan akses enzim pada masing-masing substratnya. Hal ini bukan dikarenakan perebutan antar enzim terhadap satu substrat, namun lebih kepada ketidakseimbangan antara substrat dengan enzim sehingga akan mengganggu pergerakan enzim dalam sebuah reaksi [21,55, 93, 96, 111].

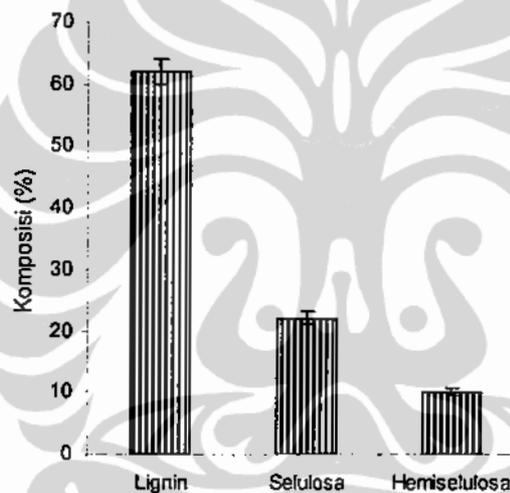
Tabel 4.7 Persentase *Ethanol Yield* Dari Bagas Menggunakan Enzim Selulase-Selobiase-Xylanase Data Berbasis Pada Bagas Dan Kandungan Holoselulosa (Selulosa & Hemiselulosa)

Waktu inkubasi (jam)	<i>Ethanol yield</i> (%) setelah hidrolisis dengan selulase-selobiase-xylanase	
	Berbasis berat bagas (%)	Berbasis berat holoselulosa (%)
0	0,0	0,0
6	6,3	8,9
12	8,7	12,4
24	14,1	20,2
48	18,5	26,4
72	19,2	27,4
96	19,7	28,1

Jika dihitung persentase *ethanol yield* dari bagas dengan kombinasi enzim selulase-selobiase-xylanase, etanol yang tertinggi yang dihasilkan sekitar 19,7 % berbasis berat bagas, dan 28,1% berbasis berat selulosa bagas (Tabel 4.7). Berdasarkan perhitungan teoritis jika semua holoselulosa (selulosa dan hemiselulosa) terkonversi menjadi etanol maka *ethanol yield* maksimum berdasarkan teoritis 39,8% berbasis berat bagas dan 56,7% berbasis berat holoselulosa (Gambar 4.18). Jika dihitung persentase pencapaian hasil teoritis, maka hasil eksperimen dengan kombinasi enzim selulase-selobiase-xylanase sekitar 49,6% hasil secara teoritis telah tercapai.

Pencapaian hasil teoritis ini meningkat jika dibandingkan dengan pencapaian hasil teoritis jika menggunakan enzim selulase 42,0% dan selulase-xylanase 43,2%.

Meningkatnya persentase *ethanol yield* yang dihasilkan semakin membuktikan bahwa penambahan enzim selobiase mampu menkonversi selobiosa menjadi glukosa yang secara simultan dikonversi menjadi etanol dalam proses SSF sebagaimana dijelaskan pada reaksi 4.2 sampai 4.3. Hal ini dibuktikan dengan hasil analisa kandungan lignin, selulosa dan hemiselulosa bagas setelah proses SSF berturut-turut 63%, 21% dan 10% dan sisanya adalah zat ekstraktif (Gambar 4.22). Hasil tersebut menunjukkan bahwa penambahan enzim selobiase tidak banyak berpengaruh kandungan selulosa pada bagas setelah SSF namun etanol yang dihasilkan meningkat. Ini artinya peningkatan etanol disebabkan oleh terkonversinya selobiosa menjadi glukosa dan secara simultan dikonversi menjadi etanol oleh *S. Cerevisae*.



Gambar 4.22. Komposisi Lignin, Selulosa Dan Hemiselulosa Bagas Setelah Proses SSF Menggunakan Enzim Selulase-Selobiase-Xylanase

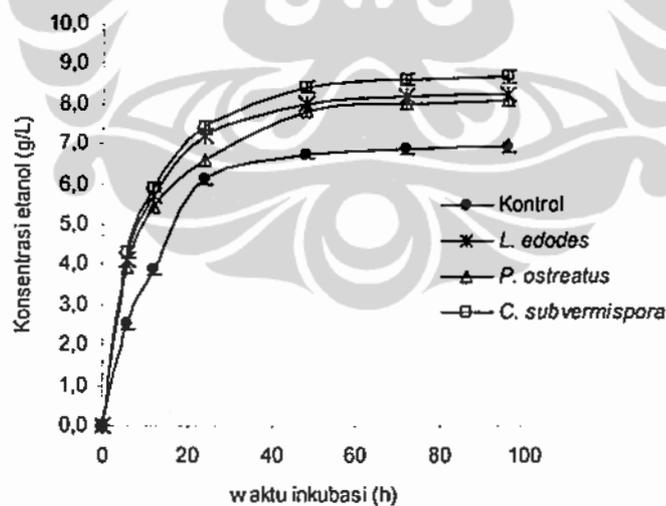
Jika melihat hasil penelitian tersebut, pencapaian hasil teoritis belum signifikan. Hal ini sekali lagi disebabkan dan membuktikan bahwa keberadaan lignin sangat menghambat akses enzim untuk melakukan proses hidrolisis. Karena lignin memiliki ikatan intra lignin dan ikatan antar lignin dengan kristal-kristal selulosa dan hemiselulosa [53, 61]. Beberapa hasil riset juga melaporkan bahwa untuk lebih memaksimalkan konversi etanol dari lignocellulosic material maka perlu dilakukan perlakuan awal baik secara fisik, biologis dan kimiawi dengan tujuan

untuk mendegradasi lignin yang terkandung sehingga akses enzim lebih sempurna [102,106, 115]. Oleh karena itu perlu dilakukan perlakuan awal untuk mendegradasi lignin sehingga etanol yang dihasilkan akan meningkat.

4.7 Pengaruh Perlakuan Jamur Pelapuk Putih Terhadap Konversi Bagas Menjadi Etanol

4.7.1 Pengaruh Perlakuan Jamur Pelapuk Putih terhadap Konversi Bagas Menjadi Etanol dengan Enzim Selulase-Selobiase

Perlakuan awal dengan jamur pelapuk putih ternyata meningkatkan etanol yang dihasilkan dari bagas dengan enzim selulase-selobiase. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi etanol maksimum yang dihasilkan dengan perlakuan *L. edodes* sebesar 8,2 g/L, perlakuan dengan *P. ostreatus* sebesar 8,1 g/L dan perlakuan dengan *C. subvermispora* 8,7 g/L (Gambar 4.23). Hasil ini jauh meningkat jika dibandingkan dengan kontrolnya (menggunakan enzim selulase-selobiase tanpa perlakuan awal) etanol yang dihasilkan sebesar 6,9 g/L.



Gambar 4.23 Pengaruh Perlakuan Jamur Pelapuk Putih Selama 6 Minggu Terhadap Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase

Peningkatan tersebut dikarenakan jamur pelapuk putih *L. edodes* dan *P. ostreatus* dan *C. subvermipora* mampu mendegradasi lignin, dengan minimum kehilangan selulosa pada bagas. Proses degradasi lignin yang diakibatkan perlakuan dengan jamur pelapuk putih dibuktikan dengan hasil analisa komposisi lignin yang ditunjukkan dengan adanya penurunan kandungan berat lignin setelah perlakuan awal dengan jamur pelapuk putih. Data penurunan komposisi lignin, selulosa dan hemiselulosa ditunjukkan dengan jelas pada Tabel 4.8.

Tabel 4.8. Komposisi Kimia Bagas Setelah Perlakuan Dengan Beberapa Jamur Pelapuk Putih

Komposisi kimia bagas	Tanpa perlakuan awal (%)	Setelah perlakuan <i>C. subvermispora</i>		Setelah perlakuan <i>P. ostreatus</i>		Setelah perlakuan <i>L. edodes</i>	
		Kompo-sisi (%)	Kehilang-an berat (%)	Kompo-sisi (%)	Kehilang-an berat (%)	Kompo-sisi (%)	Kehilang-an berat (%)
Lignin	20	16.9	15.7	17.1	14.5	17.2	14.0
Selulosa	51	49.5	2.9	48.5	4.9	49.1	3.7
Hemiselulosa	23	21.6	6.1	21.2	7.8	21.4	6.9

Peningkatan ini salah satunya disebabkan kemampuan jamur pelapuk putih mampu membongkar rantai lignin yang cukup kompleks yang dapat menghalangi atau memperlambat akses enzim pada proses hidrolisis sehingga dapat meningkatkan etanol yang dihasilkan dalam proses fermentasinya [22, 29]. Proses degradasi tersebut terjadi karena jamur pelapuk putih mampu menghasilkan enzim-enzim lignolitik seperti mangan peroksidase dan laccase. Enzim-enzim lignolitik mampu memutus ikatan antar lignin dengan selulosa sehingga akses enzim akan lebih mudah [22, 29, 79]. Perlakuan dengan jamur pelapuk putih tersebut dilakukan selama 6 minggu, hal ini dikarenakan berdasarkan hasil penelitian sebelumnya perlakuan dengan jamur pelapuk putih pada bagas selama 6 minggu menunjukkan bahwa etanol yang dihasilkan melalui SSF optimum pada kondisi tersebut [14, 34]. Banyak penelitian melaporkan bahwa perlakuan dengan jamur pelapuk putih merupakan teknologi masa depan yang cukup menjanjikan, karena efektif untuk meningkatkan konversi etanol dari material berbasis lignoselulosa seperti bagas, kayu, tongkol jagung, jerami dan lain-lain. [8, 54, 102,117].

Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa *C. subvermispora* mampu menghasilkan produksi yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan *P. ostreatus* dan *L. edodes*. Konsentrasi etanol yang dihasilkan dengan proses SSF menggunakan enzim selulase-selobiase dengan perlakuan *C. subvermispora* sebesar 8,7 g/L dari konsentrasi substrat 50 g/L. Etanol yang dihasilkan tersebut meningkat sekitar 25% dari etanol yang dihasilkan dengan enzim selulase-selobiase tanpa perlakuan dengan jamur pelapuk putih (6,9 g/L). Penelitian sebelumnya perlakuan dengan jamur pelapuk putih khususnya *C. subvermispora* ternyata mampu meningkatkan produksi etanol dengan enzim selulase sebesar 2,5 kali lebih tinggi jika dibandingkan dengan tanpa perlakuan jamur pelapuk putih [72]. *C. subvermispora* merupakan jamur yang cukup efektif dalam mendegradasi lignin dan juga mampu meningkatkan produksi etanol dari kayu [22, 79].

Lebih jauh lagi jika ditinjau dari aspek kehilangan berat lignin, selulosa dan hemiselulosa, setelah perlakuan dengan jamur pelapuk putih selama enam minggu ternyata sudah terjadi kehilangan berat pada lignin, selulosa dan hemiselulosa. Namun yang cukup menarik persentase kehilangan berat lignin lebih besar jika dibandingkan dengan kehilangan berat selulosanya. Rata-rata kehilangan berat pada lignin setelah perlakuan dengan beberapa jamur pelapuk putih selama enam minggu sekitar 14,0%-17,7%. Persentase kehilangan berat lignin terbesar terjadi pada bagas setelah ditreatment dengan *C. subvermispora* sebesar 15,7%. Rata-rata kehilangan berat selulosaa setelah diperlakukan dengan jamur pelapuk putih selama dua minggu adalah 2,9% – 4,9%. Persentase kehilangan berat terbesar terjadi pada bagas setelah dilakukan treatment dengan *P. ostreatus* (4,9%) persentase terkecil setelah diperlakukan dengan jamur *C. subvermispora* sebesar 2,9%. Hasil ini menunjukkan bahwa semua jenis jamur yang digunakan memiliki selektifitas yang baik karena rata-rata persentase kehilangan berat lignin lebih besar jika dibandingkan dengan persentase kehilangan berat holoselulosa dan α -selulosanya. Dari beberapa jenis jamur pelapuk putih yang digunakan *C. subvermispora* memiliki selektifitas yang lebih baik untuk melakukan degradasi pada bagas selama dua minggu jika dibandingkan dengan jamur pelapuk putih

yang lain, karena kehilangan berat lignin yang terjadi relatif lebih besar dan kehilangan berat selulosanya relatif lebih kecil [30-31,62, 79].

Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa rata-rata etanol yang dihasilkan terus meningkat dengan bertambahnya waktu inkubasi dalam proses SSF tersebut. Namun setelah waktu inkubasi selama 48 jam maka etanol yang dihasilkan peningkatannya tidak signifikan atau cenderung konstan. Fenomena ini menunjukkan bahwa untuk produksi etanol dengan proses SSF dengan perlakuan selama dua minggu bisa dikatakan mencapai titik optimum setelah waktu inkubasi 48 jam. Balesteros *et al.*, 2004 melaporkan bahwa kerja enzim dan yeast khususnya *S. cerevisiae* optimal dengan jangka waktu inkubasi 48 – 96 jam tergantung treatment yang dilakukan, namun untuk yeast *Kluyveromyces marxianus* (*K. marxianus*) akan optimum setelah 72 jam [52]. Artinya hasil penelitian tersebut lebih efektif untuk menghasilkan etanol karena kondisi waktu inkubasi optimum terjadi pada kondisi 48 jam. Hal ini disebabkan penggunaan *S. cerevisiae* merupakan yeast yang memiliki karakter dan kemampuan mengkonversi glukosa menjadi etanol lebih cepat daripada yeast yang lain [29, 50, 55, 87].

Jika dihitung persentase *ethanol yield* yang dihasilkan dari bagas berdasarkan bagas murni, *ethanol yield* tertinggi setelah perlakuan dengan *C. subvermispora*, *L. edodes* dan *P. ostreatus* berturut-turut 17, 4%, 16,5% dan 16,2% (Tabel 4.6). Persentase tertinggi *ethanol yield* yang dihasilkan berbasis kandungan selulosa bagas setelah perlakuan dengan *C. subvermispora*, *L. edodes* dan *P. ostreatus* berturut-turut 34, 7%, 32,9% dan 32,4% (Tabel 4.9). Hasil tersebut meningkat jika dibandingkan dengan *ethanol yield* dari bagas dengan enzim selulase-selobiase tanpa perlakuan sebesar 13,9% (berbasis berat bagas) dan 27,7% (berbasis kandungan selulosa bagas). Hasil tertinggi ditunjukkan oleh *ethanol yield* setelah perlakuan dengan *C. subvermispora* 17,4% (berbasis berat bagas) dan 34,7% (berbasis berat selulosa bagas).

Tabel 4.9. Persentase *Ethanol Yield* Dari Bagas Menggunakan Enzim Selulase-Selobiase Dengan Perlakuan Beberapa Jamur Pelapuk Putih (Data Berbasis Pada Bagas Murni Dan Berbasis Pada Kandungan Selulosa Bagas)

Waktu inkubasi (jam)	<i>Ethanol yield</i> (%) berbasis berat bagas setelah perlakuan awal dengan				<i>Ethanol yield</i> (%) berbasis kandungan selulosa bagas setelah perlakuan awal dengan			
	Kontrol	<i>L. edodes</i>	<i>P. ostreatus</i>	<i>C. subvermispora</i>	Kontrol	<i>L. edodes</i>	<i>P. ostreatus</i>	<i>C. subvermispora</i>
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
6	5,0	8,2	7,8	8,6	10,0	16,4	15,7	17,2
12	7,8	11,4	10,8	11,8	15,6	22,8	21,6	23,6
24	12,2	14,4	13,2	14,8	24,4	28,8	26,4	29,6
48	13,5	16,0	15,6	16,8	27,0	32,0	31,2	33,6
72	13,7	16,4	16,0	17,2	27,5	32,8	32,0	34,4
96	13,9	16,5	16,2	17,4	27,7	32,9	32,4	34,7

Jika dibandingkan dengan hasil secara teoritis yaitu 28,4% (berbasis berat bagas murni) 56,8% (berbasis berat selulosa bagas), maka pencapaian *ethanol yield* setelah perlakuan dengan *C. subvermispora* sebesar 61,02% dari teoritis. Namun demikian hasil ini masih jauh lebih kecil jika dibandingkan dengan konversi maksimum secara teoritis yaitu. Artinya perlakuan dengan jamur pelapuk putih saja belum optimal dalam mengkonversi bagas menjadi Etanol. Penelitian lain melaporkan bahwa *ethanol yield* tertinggi dari kayu melalui proses SSF dengan perlakuan *C. subvermispora* yang dikombinasikan dengan etanolisis diperoleh hasil sebesar 62% dari hasil teoritis (*theoretical yield*) [22]. Hasil penelitian kami menunjukkan hasil yang lebih efektif karena etanol diproduksi dengan perlakuan *C. subvermispora* tanpa proses etanolisis, karena proses etanolisis dilakukan dengan mencampurkan etanol sebagai stimulan.

Pencapaian *ethanol yield* secara teoritis dengan perlakuan *C. subvermispora* (61,0%) tersebut meningkat sekitar 12,96% jika dibandingkan dengan pencapaian *ethanol yield* secara teoritis dengan enzim selulase-selobiase tanpa perlakuan jamur pelapuk putih (48,9%), dan juga meningkat sekitar 21% jika dibandingkan dengan pencapaian *ethanol yield* secara teoritis dengan enzim selulase saja (42,0%).

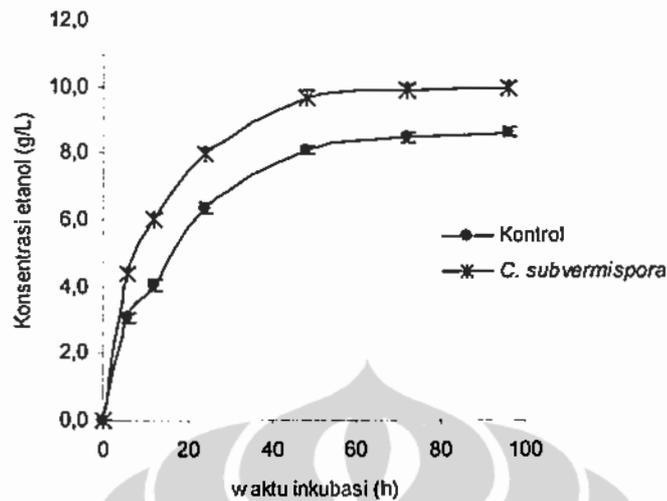
Namun demikian hasil tersebut belum memuaskan karena pencapaian secara teoritis baru 61,0% artinya proses hidrolisis masih terhambat dengan adanya ikatan ligin pada bagas tersebut. Hal ini juga membuktikan bahwa perlakuan awal dengan hayati menggunakan jamur pelapuk putih tidak serta merta mampu mendegradasi lignin secara keseluruhan.

4.7.2 Pengaruh Perlakuan Jamur Pelapuk Putih *C. subvermispora* terhadap konversi etanol dari bagas dengan enzim selulase-xylanase

Berdasarkan hasil penelitian, perlakuan awal dengan jamur pelapuk putih *C. Subvermispora* mampu meningkatkan etanol yang dihasilkan dari bagas dengan enzim selulase-xylanase. Penggunaan *C. subvermispora*, karena berdasarkan penelitian sebelumnya telah terbukti memberikan hasil yang lebih signifikan dibanding dengan jamur yang lain [93]. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi etanol maksimum yang dihasilkan dengan perlakuan *C. subvermispora* 9,9 g/L (Gambar 4.24). Hasil meningkat jika dibandingkan dengan kontrolnya (menggunakan enzim selulase-xylanase tanpa perlakuan) etanol yang dihasilkan sebesar 8.6 g/L.

Peningkatan tersebut selaras dengan penelitian sebelumnya perlakuan dengan jamur pelapuk putih khususnya *C. subvermispora* ternyata mampu meningkatkan produksi etanol dengan enzim selulase sebesar 2,5 kali lebih tinggi jika dibandingkan dengan tanpa perlakuan jamur pelapuk putih [72]. Selain itu *C. subvermispora* mampu meningkatkan konversi etanol dari bagas dengan enzim selulase-selobiase [93].

Peningkatan etanol yang dihasilkan setelah dilakukan perlakuan awal dengan jamur pelapuk putih *C. subvermispora* sebagaimana telah dijelaskan sebelumnya, disebabkan kemampuan *C. Subvermispora* mendegradasi lignin lebih besar dengan sedikit kehilangan polisakaridanya, yang ditunjukkan dengan kehilangan berat lignin sebesar 15.7% sedangkan kehilangan berat selulosa sebesar selulosa 2.9% dan hemiselulosa 6,1% (Tabel 4.8).



Gambar 4.24 Pengaruh Perlakuan *C. subvermisporea* Terhadap Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Xylanase

Sebagaimana diketahui *C. subvermisporea* memiliki selektifitas yang lebih baik untuk melakukan degradasi pada bagas jika dibandingkan dengan jamur pelapuk putih yang lain, karena kehilangan berat lignin yang terjadi relatif lebih besar dan kehilangan berat selulosanya relatif lebih kecil [54-55, 112]. Peningkatan etanol yang diakibatkan oleh proses degradasi lignin tersebut, salah satunya disebabkan kemampuan jamur pelapuk putih menghasilkan enzim lignolitik yang mampu memutus dan mendekomposisi ikatan antara lignin-polisakarida sehingga akan meningkatkan akses enzim pada proses hidrolisis sehingga dapat meningkatkan etanol yang dihasilkan dalam proses fermentasinya [29]. Selain *C. subvermisporea* menghasilkan enzim lignolitic jenis lacase yang mampu membongkar struktur hydroxyl-benzilpropanoid, carbonyl-propanoid yang mengikat pada hemiselulosa, sehingga mempermudah akses enzim xylanase terhadap hemiselulosa bagas [62].

Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa rata-rata etanol yang dihasilkan terus meningkat dengan bertambahnya waktu inkubasi dalam proses SSF tersebut. Namun setelah waktu inkubasi selama 48 jam maka etanol yang dihasilkan peningkatannya tidak signifikan atau cenderung konstan. Fenomena ini membuktikan bahwa waktu inkubasi 48 jam merupakan waktu yang optimum.

Universitas Indonesia

Hal yang sama juga terjadi pada produksi etanol dengan enzim selulase, selulase-selobiase, bahwa waktu inkubasi 48 jam etanol yang dihasilkan relatif optimum [93]. Hal ini disebabkan penggunaan *S. cerevisiae* merupakan yeast yang memiliki karakter dan kemampuan mengkonversi glukosa menjadi etanol lebih cepat daripada yeast yang lain, karena yeast ini memiliki sisi aktif yang relatif stabil [29, 60,87].

Tabel 4.10. Persentase *Ethanol Yield* Dari Bagas Menggunakan Enzim Selulase-Xylanase Setelah Perlakuan Dengan Jamur Pelapuk Putihdata Berbasis Pada Bagas Dan Kandungan Holoselulosa (Selulosa & Hemiselulosa)

Waktu inkubasi	<i>Ethanol yield</i> (%) berbasis berat bagas setelah perlakuan awal dengan		<i>Ethanol yield</i> (%) berbasis holoselulosa bagas setelah perlakuan awal dengan	
	Kontrol	<i>C. subvermispora</i>	Kontrol	<i>C. subvermispora</i>
0	0,0	0,0	0,0	0,0
6	6,2	8,8	8,8	17,6
12	8,1	12,0	11,5	24,0
24	12,7	15,9	18,2	31,9
48	16,2	19,3	23,1	38,6
72	16,9	19,8	24,1	39,5
96	17,2	19,9	24,6	28,4

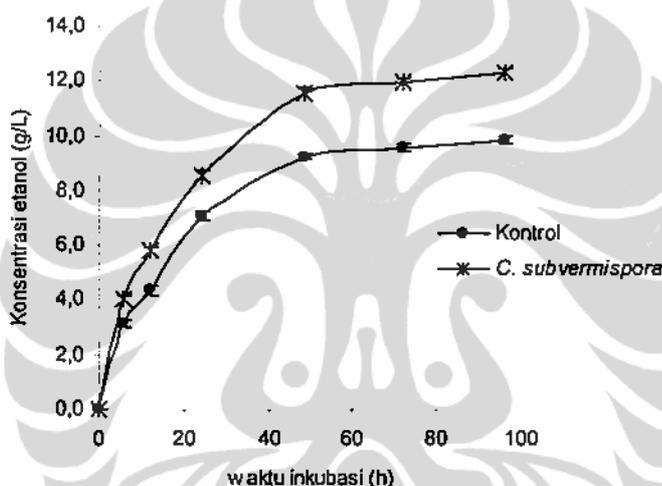
Berdasarkan hasil penelitian tersebut, jika dihitung persentase *ethanol yield* yang dihasilkan dari bagas berdasarkan bagas murni, *ethanol yield* tertinggi setelah perlakuan dengan *C. subvermispora* sebesar 19,9% berbasis berat bagas dan 28,4% berbasis berat holoselulosa (Tabel 4.10). Hasil tersebut meningkat jika dibandingkan dengan *ethanol yield* dari bagas dengan enzim selulase-xylanase tanpa perlakuan sebesar 17,2% (berbasis berat bagas) dan 24,6% (berbasis kandungan selulosa bagas).

Maksimum etanol yang dihasilkan dari bagas berdasarkan perhitungan teoritis (*theoretical yield*) yaitu 39,8% (berbasis berat bagas murni) 56,8% (berbasis berat selulosa bagas). Jika hasil penelitian berdasarkan eksperimen tersebut dibandingkan dengan hasil secara teori, maka sekitar 50% hasil teoritis telah tercapai jika menggunakan enzim selulase-xylanase dengan perlakuan awal jamur pelapuk putih.

Universitas Indonesia

4.7.3 Pengaruh Perlakuan Jamur Pelapuk Putih *C. subvermispora* Terhadap Konversi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase-Xylanase

Berdasarkan hasil penelitian, perlakuan awal dengan jamur pelapuk putih meningkatkan etanol yang dihasilkan dari bagas dengan enzim selulase-selobiase-xylanase. Konsentrasi etanol maksimum yang dihasilkan dari bagas dengan perlakuan dengan *C. subvermispora* 12,3 g/L (Gambar 4.25). Hasil meningkat jika dibandingkan dengan kontrolnya (menggunakan enzim selulase-selulase-xylanase tanpa perlakuan) etanol yang dihasilkan sebesar 9,8 g/L.



Gambar 4.25 Pengaruh Perlakuan Jamur Pelapuk Putih Terhadap Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selulase-Xylanase

Peningkatan tersebut, sekali lagi membuktikan bahwa jamur pelapuk putih *C. subvermipora* mempermudah akses tiga enzim selulase, selobiase dan xylanase terhadap substratnya. Karena sebagian ikatan lignin yang menghambat akses enzim telah terdegradasi oleh *C. subvermispora*. Hal ini sekali lagi dibuktikan dengan adanya kehilangan berat lignin lebih besar dibandingkan kehilangan berat polisakaridanya setelah perlakuan dengan *C. Subvermispora* (Tabel 4.8). Hal ini terjadi karena salah satu kelebihan *C. subvermispora* disebut salah satu jamur pelapuk putih yang mampu mendegradasi lignin pada proses biopulping dengan mendekomposisi ikatan aryl ether pada lignin yang menghubungkan dengan

polisakarida [62]. Pada penelitian sebelumnya perlakuan dengan jamur pelapuk putih khususnya *C. subvermispora* ternyata mampu meningkatkan produksi etanol dengan enzim selulase dan enzim selulase-selobiase [93].

Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa rata-rata etanol yang dihasilkan terus meningkat dengan bertambahnya waktu inkubasi dalam proses SSF tersebut. Namun setelah waktu inkubasi selama 48 jam maka etanol yang dihasilkan peningkatannya tidak signifikan atau cenderung konstan. Fenomena ini menunjukkan bahwa untuk produksi etanol dengan proses SSF dengan perlakuan selama dua minggu bisa dikatakan mencapai titik optimum setelah waktu inkubasi 48 jam. Hal yang sama juga terjadi pada produksi etanol dengan enzim selulase, selulase-selobiase, selulase-xylanase. Hal ini sekali lagi membuktikan bahwa waktu inkubasi 48 jam etanol yang dihasilkan relatif optimum [69, 93]. Hal ini disebabkan penggunaan *S. cerevisiae* merupakan yeast yang memiliki karakter dan kemampuan mengkonversi glukosa menjadi etanol lebih cepat dari pada yeast yang lain, karena yeast ini memiliki sisi aktif yang relatif stabil [22, 29, 50, 87].

Tabel 4.11. Persentase *Ethanol Yield* Dari Bagas Menggunakan Enzim Selulase-Selobiase-Xylanase Setelah Perlakuan Dengan Jamur Pelapuk Putih data Berbasis Pada Bagas Dan Kandungan Holoselulosa (Selulosa & Hemiselulosa)

Waktu inkubasi (jam)	<i>Ethanol yield</i> (%) berbasis berat bagas setelah perlakuan awal dengan		<i>Ethanol yield</i> (%) berbasis holoselulosa bagas setelah perlakuan awal dengan	
	Kontrol	<i>C. subvermispora</i>	Kontrol	<i>C. subvermispora</i>
0	0,0	0,0	0,0	0,0
6	6,3	8,1	8,9	16,2
12	8,7	11,6	12,4	23,2
24	14,1	17,1	20,2	34,2
48	18,5	23,1	26,4	46,2
72	19,2	23,9	27,4	47,8
96	19,7	24,6	28,1	49,1

Berdasarkan hasil penelitian tersebut, jika dihitung persentase *ethanol yield* yang dihasilkan dari bagas berdasarkan bagas murni, *ethanol yield* tertinggi setelah perlakuan dengan *C. subvermispora* sebesar 24.6% berbasis berat bagas dan

49,1% berbasis berat holoselulosa (Tabel 4.11). Hasil tersebut meningkat jika dibandingkan dengan *ethanol yield* dari bagas dengan enzim selulase-selobiase-xylanase tanpa perlakuan sebesar 19,68% (berbasis berat bagas) dan 28.11% (berbasis kandungan selulosa bagas).

Jika dibandingkan dengan hasil secara teoritis yaitu 39,8% (berbasis berat bagas murni) 56,8% (berbasis berat selulosa bagas), maka setelah perlakuan dengan *C. subvermispora* sebesar 61,7% dari teoritis telah tercapai. Hasil tersebut meningkat jika dibandingkan dengan pencapaian teoritis jika menggunakan enzim selulase-selobiase-xylanase tanpa perlakuan awal 49,5%. Perlakuan dengan jamur pelapuk putih tidak serta merta mendegradasi ikatan lignin, namun setidaknya dengan perlakuan jamur pelapuk putih terutama *C. Subvermispora* memberikan dampak yang signifikan terhadap etanol yang dihasilkan. Beberapa penelitian melaporkan bahwa beberapa alternatif perlakuan awal untuk meningkatkan konversi Etanol dari lignocelulosic material salah satunya dapat menggunakan *steam pre-treatment* atau diistilahkan perlakuan awal dengan *steaming* [50, 102].

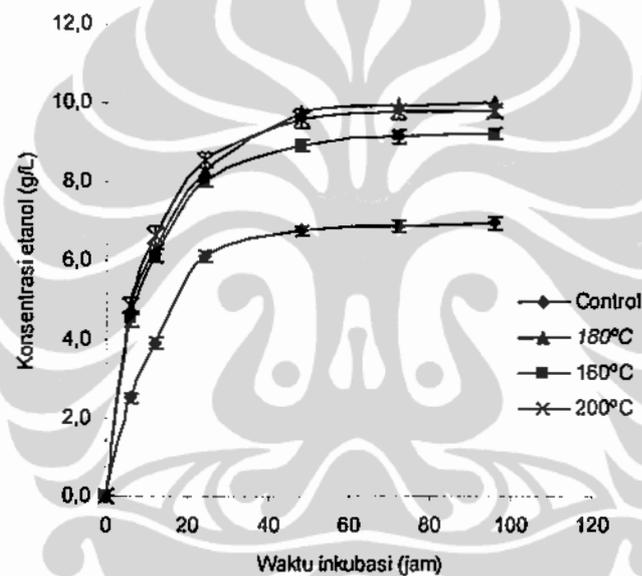
4.8 Pengaruh Perlakuan *Steaming* Terhadap Konversi Bagas Menjadi Etanol

4.8.1 Pengaruh Perlakuan Awal *Steaming* terhadap Konversi Bagas Menjadi Etanol dengan Enzim Selulase-Selobiase

Perlakuan dengan menggunakan *steaming* pada suhu tinggi ternyata mampu meningkatkan produksi bioetanol. Hasil etanol tertinggi ditunjukkan setelah proses *steaming* pada suhu 180°C adalah 9,7 g/L (Gambar 4.26). Hasil ini meningkat hampir dua kali jika dibandingkan dengan tanpa *steaming* yaitu 6,9 g/L.

Berdasarkan hasil penelitian tersebut, produksi etanol tertinggi setelah dilakukan perlakuan awal dengan *steaming* pada suhu 180°C sebesar 9,7 g/L. Peningkatan ini disebabkan dengan proses *steaming* akan membantu memecah ikatan lignin pada polisakarida bagas [80]. Perlakuan dengan *steaming* juga mampu

melarutkan, menkoagulasi dan secara parsial merubah struktur kristal-kristal selulosa dan hemiselulosa sehingga akan mempermudah akses enzim untuk memecah selulosa dan hemiselulosa menjadi monosakarida [29, 52, 126]. Hal ini dibuktikan dengan hasil analisis komposisi kimia bagas yang menunjukkan menurunkan kandungan berat lignin, selulosa dan hemiselulosa (Tabel 4.12). Perlakuan dengan *steaming* pada suhu 180°C dapat menurunkan kandungan lignin sebesar 20,5%, dengan menurunnya kandungan lignin berarti telah terjadi degradasi lignin sehingga memudahkan akses enzim selulase dan selubiase untuk menghidrolisis selulosa dan selubiosa.



Gambar 4.26. Pengaruh Perlakuan Dengan *Steaming* Terhadap Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selubiase.

Tabel 4.12 Komposisi Kimia Bagas Setelah Perlakuan Dengan *Steaming* Pada Beberapa Variasi Suhu

Komposisi kimia bagas	Tanpa <i>steaming</i> (%)	Setelah <i>steaming</i> 160°C		Setelah <i>steaming</i> 180°C		Setelah <i>steaming</i> 200°C	
		Komposisi (%)	Kehilangan berat (%)	Komposisi (%)	Kehilangan berat (%)	Komposisi (%)	Kehilangan berat (%)
Lignin	20	15,9	20,5	15,7	21,5	15,6	21,8
Selulosa	51	48,2	5,6	47,5	6,9	47,1	7,7
Hemiselulosa	22	19,9	9,6	19,8	10,0	19,4	11,8

Hasil analisa tersebut menunjukkan bahwa *steaming* mampu mendegradasi lignin, melarutkan kristal-kristal selulosa dan hemiselulosa yang ditunjukkan dengan adanya penurunan komposisi lignin dan holoselulosa (selulosa dan hemiselulosa). Dengan terdegradasinya lignin dan semakin banyak kristal holoselulosa yang terlarut maka akses enzim akan lebih mudah sehingga etanol yang dihasilkan akan semakin meningkat. Selain itu *steaming* pada suhu diatas 180°C akan mengakibatkan rusaknya struktur selulosa dan hemiselulosa dan semakin banyak terbentuk senyawa inhibitor dan melarutkan inhibitor-inhibitor seperti furfural dalam reaksi enzimatik [106, 118]. Hal ini dibuktikan dalam penelitian ini setelah *steaming* pada suhu 200°C lignin, selulosa dan hemiselulosa yang hilang semakin tinggi, namun etanol yang dihasilkan tidak jauh berbeda dengan setelah dilakukan *steaming* pada suhu 180°C. Beberapa penelitian juga melaporkan bahwa perlakuan *steaming* pada suhu 180°C dapat meningkatkan produksi etanol dari biomas sekitar 25% dari biomas yang digunakan [52].

Tabel 4.13 Persentase *Ethanol Yield* Dari Bagas Menggunakan Enzim Selulase-Selobiase Dengan Perlakuan Beberapa Jamur Pelapuk Putih (Data Berbasis Pada Bagas Murni Dan Berbasis Pada Kandungan Selulosa Bagas)

Waktu inkubasi (jam)	<i>Ethanol yield</i> (%) berbasis berat bagas setelah perlakuan awal dengan:				<i>Ethanol yield</i> (%) berbasis berat selulosa bagas setelah perlakuan awal dengan:			
	Kontrol	180°C	160°C	200°C	Kontrol	180°C	160°C	200°C
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
6	5,0	9,6	9,1	9,7	10,0	19,1	18,1	19,4
12	7,8	12,6	12,2	13,2	15,6	25,2	24,4	26,5
24	12,2	16,4	16,0	17,1	24,4	32,9	31,9	34,1
48	13,5	19,4	17,8	19,1	27,0	38,8	35,6	38,3
72	13,7	19,8	18,3	19,5	27,5	39,7	36,5	39,0
96	13,9	20,0	18,4	19,5	27,7	39,9	36,8	39,0

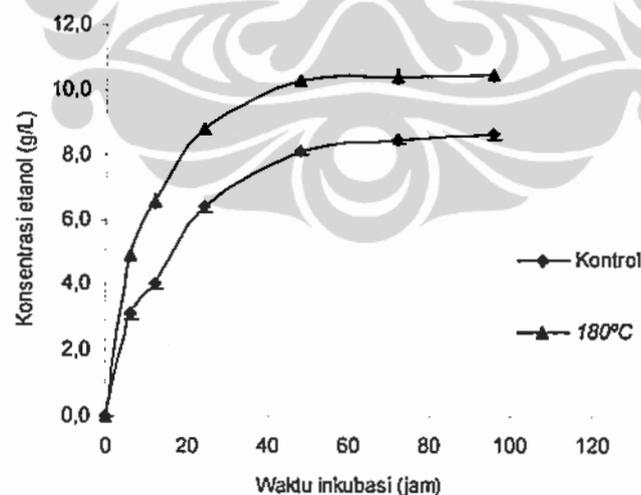
Jika dihitung persentase *ethanol yield* dari bagas dengan perlakuan *steaming*, etanol yang tertinggi yang dihasilkan berbasis berat bagas sekitar 20,0% dengan suhu 180°C; 18,3% dengan suhu 160°C, (Tabel 4.13). Jika konversi dihitung berbasis pada selulosa murni konversi maksimum 39,9% dengan suhu 180°C; 36,8% dengan suhu 16°C (Tabel 4.7). Hasil ini masih belum cukup besar jika dibandingkan dengan konversi maksimum secara teoritis yaitu 28,4% (berbasis

berat bagas murni) 56,8% berbasis berat selulosa murni. Jika dihitung persentase pencapaian hasil teoritis, maka dengan dengan perlakuan *steaming* 180°C sekitar 70.0% hasil secara teoritis telah tercapai.

Berdasarkan hasil penelitian tersebut, bahwa pencapaian hasil teoritis baru sekitar 70.0%, artinya belum semua selulosa pada bagas terkonversi menjadi etanol. Untuk lebih mengoptimalkan etanol yang dihasilkan maka perlu dilakukan perlakuan dengan *steaming* yang dikombinasikan dengan jamur pelapuk putih.

4.8.2 Pengaruh Perlakuan Awal *Steaming* terhadap Konversi Bagas Menjadi Etanol dengan Enzim Selulase-Xylanase

Perlakuan dengan menggunakan perlakuan *steaming* pada suhu tinggi ternyata mampu meningkatkan produksi bioetanol menggunakan enzim selulase-xylanase. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dengan melakukan *steaming* pada suhu 180°C dan adalah 10,4 g/L (Gambar 4.27). Hasil ini meningkat jika dibandingkan dengan produksi etanol dengan enzim selulase-xylanase tanpa *steaming* yaitu 8,6 g/L. Penggunaan *steaming* pada suhu 180°C dikarenakan pada penelitian sebelumnya *steaming* pada suhu tersebut menghasilkan etanol tertinggi [93].



Gambar 4.27. Pengaruh Perlakuan Dengan *Steaming* Terhadap Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Xylanase.

Peningkatan etanol yang dihasilkan yang disebabkan perlakuan dengan *steaming* pada suhu 180°C sebagaimana telah dijelaskan sebelumnya, karena *steaming* mampu mendegradasi dan mengkoagulasi lignin, melarutkan kristal-kristal selulosa dan hemiselulosa yang ditunjukkan dengan adanya penurunan komposisi lignin sebesar 21,5%, selulosa sebesar 6,9% dan hemiselulosa sebesar 10,0% (Tabel 4.12). Dengan terdegradasinya lignin dan semakin banyak kristal holoselulosa yang terlarut maka akses enzim akan lebih mudah sehingga etanol yang dihasilkan akan semakin meningkat. Selain itu *steaming* pada suhu di atas 180°C akan mengakibatkan rusaknya struktur selulosa dan hemiselulosa dan semakin banyak terbentuk senyawa inhibitor dan melarutkan inhibitor-inhibitor seperti furfural dalam reaksi enzimatik [106, 118]. Peningkatan ini disebabkan dengan proses *steaming* maka membantu memecah ikatan lignin pada polisakarida bagas [80]. Perlakuan dengan *steaming* juga mampu melarutkan dan menkoagulasi kristal-kristal selulosa dan hemiselulosa sehingga akan mempermudah akses enzim serta mampu melarutkan inhibitor-inhibitor reaksi enzimatik seperti furfural, asam asetat dan lain-lain [106]. Berdasarkan penelitian sebelumnya, perlakuan dengan *steaming* juga meningkatkan produksi etanol dari bagas dengan enzim selulase dan selulase-selobiase [93].

Tabel 4.14 Persentase *Ethanol Yield* Dari Bagas Menggunakan Enzim Selulase-Xylanase Dengan Perlakuan *Steaming* Pada Suhu 180°C (Data Berbasis Pada Bagas Murni Dan Berbasis Pada Kandungan Holoselulosa Bagas)

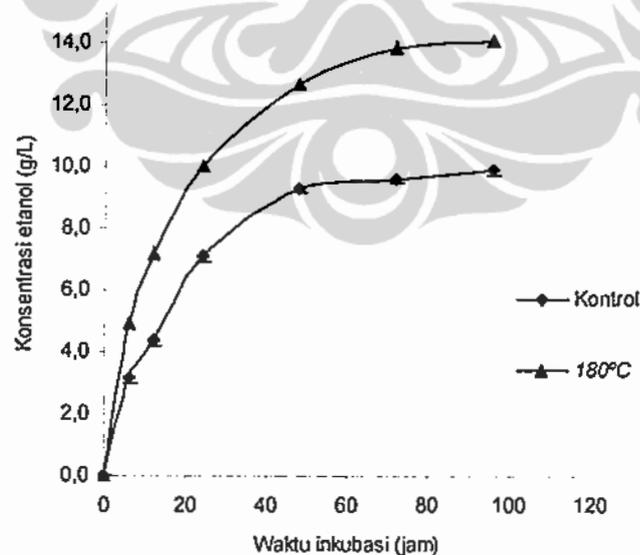
Waktu inkubasi	<i>Ethanol yield</i> (%) berbasis berat bagas setelah perlakuan awal dengan:		<i>Ethanol yield</i> (%) berbasis berat selulosa bagas setelah perlakuan awal dengan:	
	Kontrol	180°C	Kontrol	180°C
0	0,0	0,0	0,0	0,0
6	6,2	9,8	8,8	14,0
12	8,1	13,1	11,5	18,7
24	12,7	17,6	18,2	25,2
48	16,2	20,5	23,1	29,3
72	16,9	20,8	24,1	29,7
96	17,2	20,9	24,6	29,8

Jika dihitung persentase *ethanol yield* dari bagas dengan perlakuan *steaming* 180°C, etanol yang tertinggi yang dihasilkan berbasis berat bagas sekitar 20,9%

dan berbasis berat holoselulosa sebesar 29,8% (Tabel 4.14). Hasil ini masih belum cukup besar jika dibandingkan dengan konversi maksimum secara teoritis yaitu 39,8% (berbasis berat bagas murni) 56,8% berbasis berat holoselulosa. Jika dihitung persentase pencapaian hasil teoritis, maka produksi etanol menggunakan enzim selulase-xylanase dengan dengan perlakuan *steaming* 180°C sekitar 52,4% hasil secara teoritis telah tercapai. Berdasarkan hasil penelitian tersebut, artinya belum semua holoselulosa pada bagas terkonversi menjadi etanol.

4.8.3 Pengaruh Perlakuan Awal *Steaming* Terhadap Konversi Bagas Menjadi Etanol Dengan Enzim Selulase-Selobiase-Xylanase

Perlakuan dengan menggunakan perlakuan *steaming* pada suhu tinggi ternyata mampu meningkatkan produksi bioetanol menggunakan enzim selulase-selobiase-xylanase. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dengan melakukan *steaming* pada suhu 180°C etanol tertinggi yang dihasilkan adalah 14,0 g/L (Gambar 4.28). Hasil ini meningkat jika dibandingkan dengan produksi etanol dengan enzim selulase-xylanase tanpa *steaming* yaitu 8,6 g/L. Penggunaan *steaming* pada suhu 180°C dikarenakan pada penelitian sebelumnya *steaming* pada suhu tersebut menghasilkan etanol tertinggi[93].



Gambar 4.28. Pengaruh Perlakuan Dengan *Steaming* Terhadap Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase-Xylanase.

Meningkatnya etanol yang dihasilkan tersebut disebabkan dengan perlakuan *steaming* sebagaimana telah dijelaskan pada pengaruh *steaming* terhadap konversi bagas menjadi etanol dengan enzim selulase-selobiase, selulase-xylanase [70, 93]. Penyebabnya yaitu kemampuan *steaming* mendegradasi lignin, melarutkan kristal-kristal selulosa dan hemiselulosa yang ditunjukkan dengan adanya penurunan kadar lignin, selulosa dan hemiselulosa pada Tabel 12.

Jika dihitung persentase *ethanol yield* dari bagas dengan perlakuan *steaming* 180°C, etanol yang tertinggi yang dihasilkan berbasis berat bagas sekitar 28,0% dan berbasis berat holoselulosa sebesar 40,0% (Tabel 4.15). Hasil ini masih belum cukup besar jika dibandingkan dengan konversi maksimum secara teoritis yaitu 39,8% (berbasis berat bagas murni) 56,8% berbasis holoselulose. Jika dihitung persentase pencapaian hasil teoritis, maka produksi etanol menggunakan enzim selulase-selulase-xylanase dengan dengan perlakuan *steaming* 180°C sekitar 70,5% hasil secara teoritis telah tercapai.

Tabel 4.15. Persentase *Ethanol Yield* Dari Bagas Menggunakan Enzim Selulase-Selobiase-Xylanase Dengan Perlakuan *Steaming* Pada Suhu 180°C (Data Berbasis Pada Bagas Murni Dan Berbasis Pada Kandungan Holoselulosa Bagas)

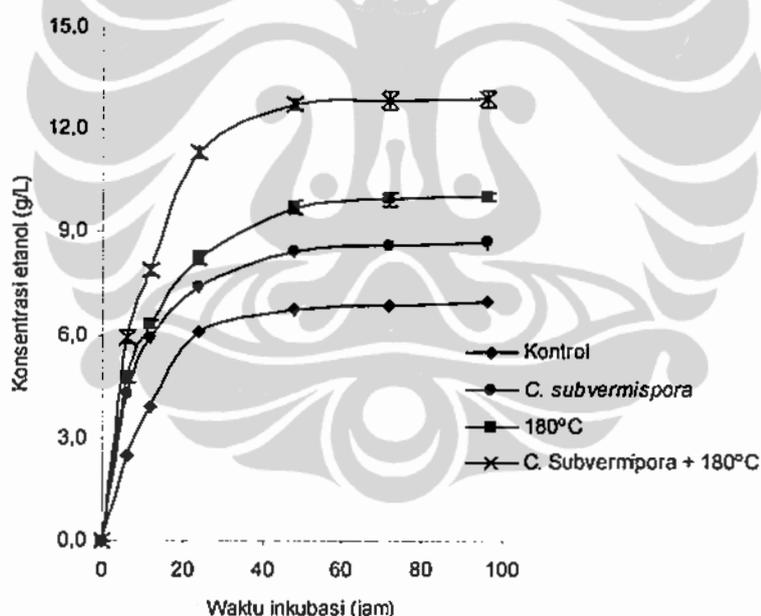
Waktu inkubasi (jam)	<i>Ethanol yield</i> (%) berbasis berat bagas setelah perlakuan awal dengan:		<i>Ethanol yield</i> (%) berbasis berat selulosa bagas setelah perlakuan awal dengan:	
	Kontrol	180°C	Kontrol	180°C
0	0,0	0,0	0,0	0,0
6	6,3	9,8	8,9	14,0
12	8,7	14,3	12,4	20,5
24	14,1	20,0	20,2	28,6
48	18,5	25,3	26,4	36,2
72	19,2	27,6	27,4	39,5
96	19,7	28,0	28,1	40,1

Berdasarkan hasil penelitian tersebut, bahwa pencapaian hasil teoritis baru sekitar 70.5%, artinya belum semua holoselulosa pada bagas terkonversi menjadi etanol. Untuk lebih mengoptimalkan etanol yang dihasilkan maka perlu dilakukan perlakuan dengan *steaming* yang dikombinasikan dengan jamur pelapuk putih.

4.9 Pengaruh Kombinasi Perlakuan Jamur Pelapuk Putih Dan *Steaming* Terhadap Konversi Bagas Menjadi Etanol

4.9.1 Pengaruh Kombinasi Perlakuan dengan jamur pelapuk putih & *Steaming* terhadap Konversi Bagas Menjadi Etanol dengan Enzim Selulase-Selobiase

Kombinasi perlakuan jamur pelapuk putih dan *steaming* ternyata dapat meningkatkan secara signifikan pada konversi bagas menjadi Etanol dengan enzim selulase-selobiase. Hal ini ditunjukkan dari hasil penelitian, produksi etanol dari bagas dengan enzim selulase-selobiase dengan kombinasi perlakuan awal *steaming* pada suhu 180°C dan *steaming* tertinggi sebesar 12,9 g/L (Gambar 4.29). Hasil ini menunjukkan peningkatan jika dibandingkan dengan hanya menggunakan perlakuan *C. subvermispora* (8,7 g/L) dan perlakuan dengan 180°C (10,0 g/L). Peningkatan signifikan jika dibandingkan dengan hasil etanol dari bagas dengan enzim selulase-selobiase tanpa perlakuan awal (6,9 g/L).



Gambar 4.29 Pengaruh Perlakuan Kombinasi *Steaming* Dengan Jamur Pelapuk Putih Terhadap Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase.

Peningkatan etanol yang dihasilkan setelah kombinasi *steaming* dan *C. subvermispora* disebabkan oleh kemampuan biodegradasi lignin oleh jamur pelapuk putih dan kemampuan degradasi fisik serta pelarutan kristal-kristal

selulosa dan hemiselulosa selama proses *steaming* pada suhu 180°C berlangsung sehingga akses enzim selulase-selobiase akan lebih mudah [63]. Hal ini dibuktikan dengan penurunan yang signifikan kadar lignin, selulosa dan hemiselulosa setelah perlakuan dengan *C. subvermispota* dan *steaming* 180°C (Tabel 16). Penurunan kadar lignin sebesar 26,5%, selulosa sebesar 9,4% dan hemiselulosa 14,1%.

Tabel 4.16. Komposisi Kimia Bagas Setelah Perlakuan Awal Dengan *C. subvermispota* Dan *Steaming* 180°C

Komposisi kimia bagas	Tanpa perlakuan awal (%)	Setelah perlakuan dengan <i>C. subvermispota</i> dan <i>steaming</i> 180C	
		Komposisi (%)	Kehilangan berat (%)
Lignin	20	14,7	26,5
Selulosa	51	46,2	9,4
Hemiselulosa	22	18,9	14,1

Hasil tersebut diperkuat dengan beberapa penelitian yang menyatakan bahwa perlakuan dengan jamur pelapuk putih khususnya *C. subvermispota* dapat mendegradasi lignin dengan minimum kehilangan selulosanya sehingga akses enzim selulase yang digunakan dapat efektif menghidrolisis selulosa yang telah terbebas dari ikatan bungkusan ikatan lignin [29, 55, 119]. Pada proses biodegradasinya jamur pelapuk putih mampu menghasilkan enzim-enzim lignolitik seperti *lignin peroxidase* (LiP), *manganese-dependent peroxidase* (MnP), dan *laccase* [80]. Enzim-enzim yang dihasilkan ini akan membantu enzim selulolitik yaitu selulase-selobiase yang digunakan untuk menghidrolisis selulosa menjadi glukosa sehingga secara simultan langsung dapat difermentasi menjadi etanol.

Beberapa hasil penelitian yang lain juga melaporkan bahwa perlakuan dengan *steaming* mampu mendegradasi dan mengkoagulasi lignin serta mampu melarutkan dan menkoagulasi kristal-kristal selulosa dan hemiselulosa sehingga akan mempermudah akses enzim serta melarutkan inhibitor-inhibitor reaksi enzimatik seperti furfural dan asam asetat sehingga mampu meningkatkan produksi etanol [29, 52, 80, 120].

Berdasarkan beberapa alasan tersebut, menunjukkan bahwa baik *steaming* maupun perlakuan dengan jamur pelapuk putih mampu meningkatkan produksi etanol dari kayu dan biomas. Pada penelitian ini, peningkatan etanol yang dihasilkan setelah kombinasi perlakuan dengan *C. subvermispora* dan *steaming* membuktikan bahwa penggabungan dua kekuatan perlakuan awal tersebut ternyata efektif karena secara bersamaan seluruh faktor yang dapat mendegradasi lignin bekerja dengan baik, sehingga mengurangi hambatan enzim dalam melakukan kinerja hidrolisis.

Jika dihitung persentase *ethanol yield* dari bagas dengan kombinasi perlakuan *steaming* 180°C dan *C. subvermispora*, etanol yang tertinggi yang dihasilkan sekitar 25,7 % berbasis berat bagas, dan 51,5% berbasis berat selulosa bagas (Tabel 4.17). Hasil ini telah mendekati jika dibandingkan dengan konversi maksimum secara teoritis yaitu apabila semua kandungan selulosa terkonversi menjadi etanol, maka hasilnya 28,4% berbasis berat bagas dan 56,8% berbasis berat selulosa bagas. Jika dihitung persentase pencapaian hasil teoritis, maka dengan dengan kombinasi perlakuan *steaming* 180°C dan *C. subvermispora* sekitar 90,5% hasil secara teoritis telah tercapai.

Tabel 4.17 Persentase *Ethanol Yield* Dari Bagas Menggunakan Enzim Selulase-Selobiase Dengan Perlakuan Kombinasi Jamur Pelapuk Putih (*C. Subvermispora*) & *Steaming* (Data Berbasis Pada Bagas Murni Dan Berbasis Pada Kandungan Selulosa Bagas)

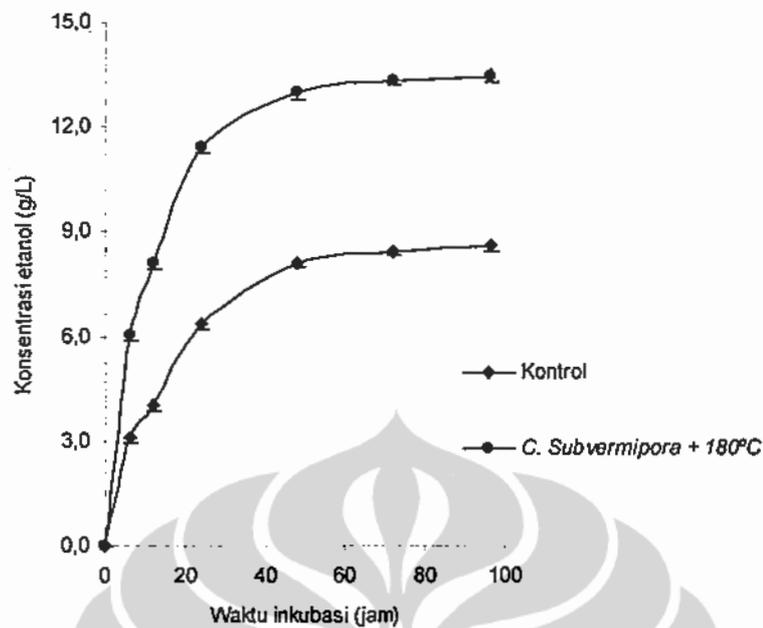
Waktu inkubasi (jam)	<i>Ethanol yield</i> (%) berbasis berat bagas setelah perlakuan awal dengan:				<i>Ethanol yield</i> (%) berbasis berat selulosa bagas setelah perlakuan awal dengan:			
	Kontrol	CS	180°C	CS + 180°C	Kontrol	CS	180°C	CS + 180°C
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
6	5,0	8,6	9,6	11,9	10,0	17,2	19,1	23,8
12	7,8	11,8	12,6	15,8	15,6	23,6	25,2	31,5
24	12,2	14,8	16,4	22,6	24,4	29,6	32,9	45,2
48	13,5	16,8	19,4	25,5	27,0	33,6	38,8	50,9
72	13,7	17,2	19,8	25,6	27,5	34,4	39,7	51,3
96	13,9	17,4	20,0	25,7	27,7	34,7	39,9	51,4

CS : *C. subvermispora*

Pencapaian hasil etanol dari bagas dengan enzim selulase-selobiase yang dikombinasikan perlakuan *steaming* dan *C. subvermispota* karena telah mencapai 90,5% hasil teoritis. Artinya tinggal 10% lagi selulosng belum terkonversi menjadi etanol. Hal ini dapat dipahami karena dalam lignocellulosic material banyak mengandung inhibitor-inhibitor seperti adanya furfural, ion-ion logam berat, kandungan lignin, xylan dan lain-lain [52,121,122]. Hal ini tentu akan mengakibatkan terganggunya proses hidrolisis selulosa dan hemiselulosa menjadi glukosa dan xylosa. Beberapa penelitian melaporkan bahwa pada proses hidrolisis material lignoselulosa dengan enzim selulolitik akan dipengaruhi oleh adanya inhibitor-inhibitor seperti adanya zat ekstrakive (*acidinic resins, taninic dan perepena acids*), asam asetat, kandungan lignin, furfural bahkan ion logam berat [60, 122,].

4.9.2 Pengaruh Kombinasi Perlakuan dengan jamur pelapuk putih & *Steaming* terhadap Konversi Bagas Menjadi Etanol dengan Enzim Selulase-Xylanase

Kombinasi perlakuan jamur pelapuk putih dan *steaming* ternyata dapat meningkatkan secara signifikan pada konversi bagas menjadi etanol dengan enzim selulase-xylanase. Hal ini ditunjukkan dari hasil penelitian, produksi etanol dari bagas dengan enzim selulase-xylanase dengan kombinasi perlakuan awal *steaming* pada suhu 180°C dan *C. subvermispota* tertinggi sebesar 12,9 g/L (Gambar 4.30). Hasil ini menunjukkan peningkatan jika dibandingkan dengan produksi etanol dengan enzim selulase-xylanase tanpa perlakuan awal (8,6 g/L), dengan perlakuan *C. subvermispota* (9,9 g/L), dengan perlakuan *steaming* 180°C (10,4 g/L).



Gambar 4.30. Pengaruh Perlakuan Kombinasi *Steaming* 180°C Degan *C. subvermipora* Terhadap Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Xylanase.

Peningkatan etanol yang dihasilkan setelah kombinasi *C. subvermipora* dan *steaming* 180°C disebabkan oleh kemampuan biodegradasi lignin oleh jamur pelapuk putih dan kemampuan degradasi fisik dan terlarutnya kristal-kristal selulosa dan hemiselulosa bagas selama proses perlakuan awal *steaming* pada suhu 180°C berjalan [34,63]. Fenomena ini dibuktikan dengan adanya penurunan kadar lignin sebesar sebesar 26,5%, selulosa sebesar 9,4% dan hemiselulosa 14,1% (Tabel 12). Fenomena ini juga terjadi pada peningkatan produksi etanol dari bagas dengan enzim selulase-selobiase [123].

Perlakuan dengan jamur pelapuk putih khususnya *C. subvermipora* dapat mendegradasi lignin dengan minimum kehilangan selulosanya sehingga akses enzim selulase yang digunakan dapat efektif menghidrolisis selulosa yang telah terbebas dari ikatan bungkusan ikatan lignin [59,62]. Pada proses biodegradasinya jamur pelapuk putih mampu menghasilkan enzim-enzim lignolitik seperti lignin peroxidase (LiP), manganese-dependent peroxidase (MnP), dan laccase [80, 88, 102, 124]. Enzim-enzim yang dihasilkan ini akan

Universitas Indonesia

membantu enzim selulosa dan xylanase untuk menghidrolisis selulosa dan xylan menjadi glukosa dan xylosa sehingga secara simultan langsung dapat difermentasi menjadi etanol.

Penggunaan *steaming* akan membantu memecah ikatan lignin pada polisakarida bagas [80]. Perlakuan dengan *steaming* juga mampu melarutkan dan menkoagulasi kristal-kristal selulosa dan hemiselulosa sehingga akan mempermudah akses enzim [106]. Penggabungan dua kekuatan perlakuan awal tersebut ternyata efektif karena secara bersamaan seluruh faktor yang dapat mendegradasi lignin bekerja dengan baik, sehingga mengurangi hambatan enzim dalam melakukan kinerja hidrolisis.

Tabel 4.18 Persentase *Ethanol Yield* Dari Bagas Menggunakan Enzim Selulase-Xylanase Dengan Perlakuan Kombinasi Jamur Pelapuk Putih & *Steaming*(Data Berbasis Pada Bagas Murni Dan Berbasis Pada Kandungan Holoselulosa Bagas)

Waktu inkubasi (jam)	<i>Ethanol yield</i> (%) berbasis berat bagas setelah perlakuan awal dengan:		<i>Ethanol yield</i> (%) berbasis berat holoselulosa bagas setelah perlakuan awal dengan:	
	Kontrol	<i>C. subvermispora</i> + 180° C	Kontrol	<i>C. subvermispora</i> + 180° C
0	0,0	0,0	0,0	0,0
6	6,2	12,1	8,8	17,3
12	8,1	16,2	11,5	23,2
24	12,7	22,8	18,2	32,6
48	16,2	26,0	23,1	37,1
72	16,9	26,7	24,1	38,1
96	17,2	26,9	24,6	38,4

Jika dihitung persentase *ethanol yield* dari bagas dengan kombinasi perlakuan *steaming* 180°C dan *C. subvermispora*, etanol yang tertinggi yang dihasilkan sekitar 26,9 % berbasis berat bagas, dan 38,4% berbasis berat selulosa bagas (Tabel 4.18). Hasil ini masih belum cukup besar jika dibandingkan dengan konversi maksimum secara teoritis yaitu 39,8% (berbasis berat bagas murni) 56,8% berbasis holoselulose. Konversi teoritis maksimum terjadi apabila semua holoselulosa bagas terkonversi menjadi etanol. Jika dihitung persentase pencapaian hasil teoritis, maka etanol yang dihasilkan dengan enzim selulase-

xylanase setelah kombinasi perlakuan *steaming* 180°C dan *C. subvermispora* sekitar 67,6% hasil secara teoritis telah tercapai.

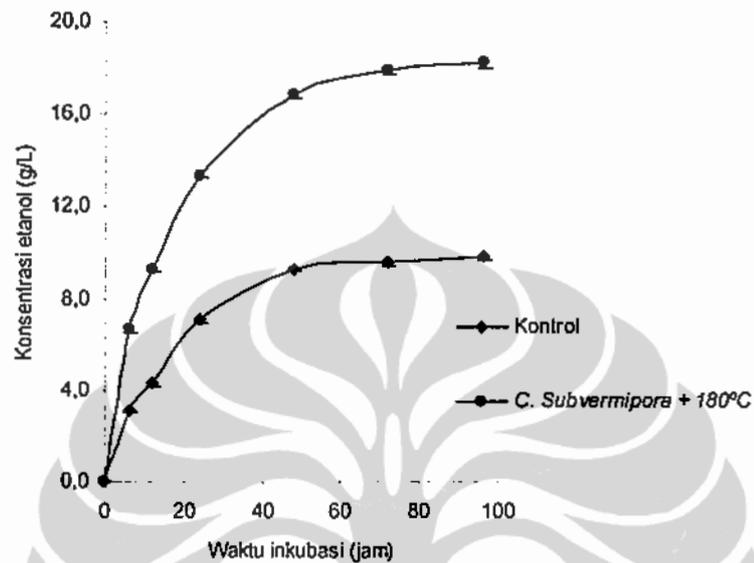
Pencapaian hasil etanol dari bagas dengan enzim selulase-xylanase yang dikombinasikan perlakuan *steaming* dan *C. subvermispora* karena baru mencapai 67,47% hasil teoritis. Hal ini disebabkan karena penggunaan enzim selulase tanpa diikuti dengan enzim selobiase maka selobiosa yang terjadi akibat hidrolisis parsial selulosa menjadi glukosa belum terkonversi menjadi etanol [20, 93]. Selain itu lignocellulosic material banyak mengandung inhibitor-inhibitor seperti adanya furfural, ion-ion logam berat, kandungan lignin, xylan dan lain-lain [52, 112, 122]. Musato, melaporkan bahwa pada proses hidrolisis lignocellulosic material dengan enzim selulolitik akan dipengaruhi oleh adanya inhibitor-inhibitor seperti adanya zat ekstraktif (*acidinic resins, taninic dan perepena acids*), asam asetat, kandungan lignin, furfural bahkan ion logam berat [60].

4.9.3 Pengaruh Kombinasi Perlakuan dengan jamur pelapuk putih & *Steaming* terhadap Konversi Bagas Menjadi Etanol dengan Enzim Selulase-Selobiase-Xylanase

Hasil yang cukup signifikan terjadi setelah kombinasi perlakuan jamur pelapuk putih dan *steaming* dapat meningkatkan konversi bagas menjadi etanol dengan enzim selulase-selobiase-xylanase. Hal ini ditunjukkan dari hasil penelitian, produksi etanol dari bagas dengan enzim selulase-selobiase-xylanase dengan kombinasi perlakuan awal *steaming* pada suhu 180°C dan *C. subvermispora* tertinggi sebesar 18,18 g/L (Gambar 4.31). Hasil ini menunjukkan peningkatan yang cukup signifikan jika dibandingkan dengan produksi etanol dengan enzim selulase-selobiase-xylanase tanpa perlakuan awal (9,84 g/L), dengan perlakuan *C. subvermispora* (12,28 g/L), dengan perlakuan *steaming* 180°C (14,02 g/L).

Peningkatan etanol yang dihasilkan akibat kombinasi *C. subvermispora* dan *steaming* juga terjadi pada penelitian sebelumnya ketika menggunakan enzim selulase-selobiase dan selulase-xylanase. Peningkatan tersebut sebagaimana telah dijelaskan sebelumnya, disebabkan oleh kemampuan biodegradasi lignin oleh jamur pelapuk putih dan kemampuan degradasi fisik serta pelarutan kristal

polisakarida bagas sehingga mempermudah akses enzim untuk bereaksi dengan holoselulosa bagas [34,63]. Hal ini dibuktikan dengan adanya penurunan kadar lignin sebesar 26,5%, selulosa sebesar 9,4% dan hemiselulosa 14,1% (Tabel 12).

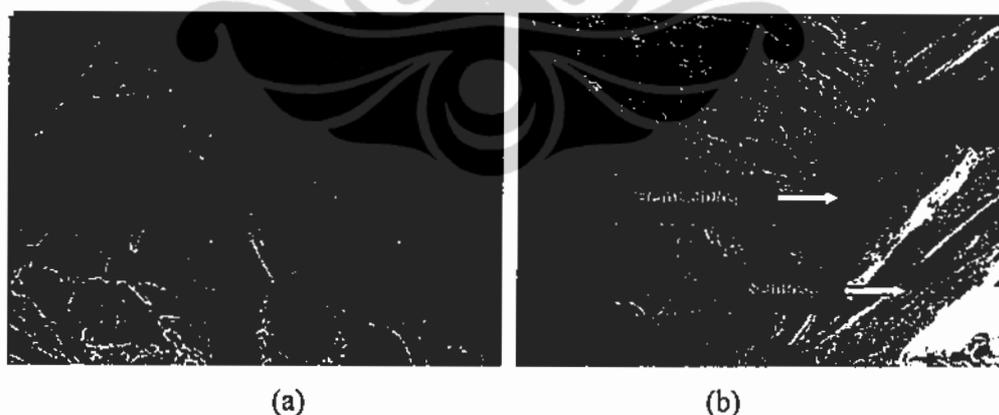


Gambar 4.31 Pengaruh Perlakuan Kombinasi *Steaming* 180°C Dengan *C. subvermipora* Terhadap Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase-Xylanase.

Kombinasi *C. subvermipora* dan *steaming* Peningkatan etanol yang dihasilkan setelah kombinasi *steaming* dan *C. subvermipora* 180°C juga mampu meningkatkan produksi etanol dari bagas dengan enzim selulase, selulase-selobiase [123]. Selain itu kombinasi tersebut juga memberikan peningkatan terhadap etanol yang dihasilkan dari bagas dengan enzim selulase-xylanase. Hasil ini membuktikan keterpaduan kombinasi cukup efektif dalam membantu akses enzim terhadap substratnya. Hal ini disebabkan oleh kemampuan biodegradasi lignin oleh jamur pelapuk putih dan kemampuan degradasi fisik oleh *steaming* pada suhu 180°C [63, 68, 93]. Perlakuan dengan jamur pelapuk putih khususnya *C. subvermipora* dapat mendegradasi lignin dengan minimum kehilangan selulosanya sehingga akses enzim selulase yang digunakan dapat efektif menghidrolisis selulosa yang telah terbebas dari ikatan bungkusan ikatan

lignin [29, 54-55, 122]. Pada proses biodegradasinya jamur pelapuk putih mampu menghasilkan enzim-enzim lignolitik seperti lignin peroxidase (LiP), manganese-dependent peroxidase (MnP), dan laccase [80, 100, 102]. Enzim-enzim yang dihasilkan ini akan membantu enzim selulosa dan xylanase untuk menghidrolisis selulosa dan xylan menjadi glukosa dan xyloza sehingga secara simultan langsung dapat difermentasi menjadi etanol.

Secara fisik terjadinya proses degradasi lignin dan perubahan struktur selulosa dan hemiselulosa akibat proses kombinasi perlakuan awal *C. subvermispora* dan *steaming* dibuktikan dengan hasil analisis *Scanning Electron Microscopy* (SEM) yang memperlihatkan terjadi perubahan struktur permukaan pada bagas. Hal ini tampak jelas bahwa setelah dilakukan kombinasi perlakuan awal *C. subvermispora* dan *steaming* struktur permukaan bagas terlihat lebih halus (Gambar 4.32). Hal ini disebabkan setelah proses perlakuan awal tersebut terjadi proses relokasi dan degradasi struktur lignin serta secara parsial juga merubah struktur selulosa dan hemiselulosa. Sehingga dengan demikian maka akses enzim terhadap selulosa dan hemiselulosa lebih mudah [126]. Struktur yang tampak lurus dan teratur adalah sebagai struktur selulosa, sedangkan struktur yang tidak teratur adalah sebagai hemiselulosa, sedangkan struktur yang telah banyak mengalami degradasi atau relokasi adalah lignin [126-127].



Gambar 4.32 Hasil Foto SEM Struktur Permukaan Bagas (A) Struktur Permukaan Bagas Tanpa Perlakuan Awal (B) Struktur Permukaan Bagas Setelah Dilakukan Perlakuan Awal Dengan *C. subvermispora* dan *steaming* 180°C

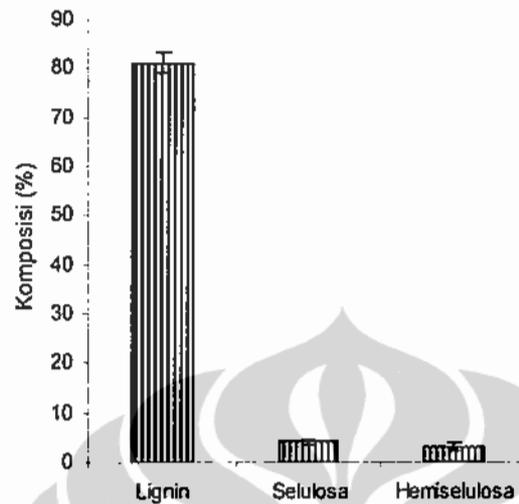
Beberapa penelitian melaporkan penggunaan *steaming* membantu memecah ikatan lignin pada polisakarida bagas dengan memutus ikatan senyawa phenol pada lignin dan memecah kristal-kristal makromolekuler polisakarida khususnya hemiselulosa [55, 59, 65, 80]. Perlakuan dengan *steaming* juga mampu melarutkan dan menkoagulasi kristal-kristal selulosa dan hemiselulosa sehingga akan mempermudah akses enzim. Selain itu *steaming* pada suhu diatas 180°C juga akan melarutkan inhibitor-inhibitor reaksi enzimatik seperti furfural, asam laktat dan lain-lain [106]. Penggabungan dua kekuatan perlakuan awal tersebut ternyata efektif karena secara bersamaan seluruh faktor yang dapat mendegradasi lignin bekerja dengan baik, sehingga mengurangi hambatan enzim dalam melakukan kinerja hidrolisis.

Tabel 4.19 Persentase *Ethanol Yield* Dari Bagas Menggunakan Enzim Selulase-Selobiase-Xylanase Dengan Perlakuan Kombinasi Jamur Pelapuk Putih & *Steaming*(Data Berbasis Pada Bagas Murni Dan Berbasis Pada Kandungan Holoselulosa Bagas)

Waktu inkubasi (jam)	<i>Ethanol yield</i> (%) berbasis berat bagas setelah perlakuan awal dengan:		<i>Ethanol yield</i> (%) berbasis berat holoselulosa bagas setelah perlakuan awal dengan:	
	Kontrol	<i>C. subvermispora</i> + 180°C	Kontrol	<i>C. subvermispora</i> + 180°C
0	0,0	0,0	0,0	0,0
6	6,3	13,3	8,9	19,0
12	8,7	18,6	12,4	26,6
24	14,1	26,7	20,2	38,2
48	18,5	33,7	26,4	48,1
72	19,2	35,7	27,4	51,0
96	19,7	36,4	28,1	51,9

Jika dihitung persentase *ethanol yield* dari bagas dengan kombinasi perlakuan *steaming* 180°C dan *C. subvermispora*, etanol yang tertinggi yang dihasilkan sekitar 36,4 % berbasis berat bagas, dan 51,9% berbasis berat selulosa bagas (Tabel 4.19). Hasil ini cukup signifikan jika dibandingkan dengan konversi maksimum secara teoritis yaitu 39,8% (berbasis berat bagas murni) 56,8% berbasis holoselulose. Konversi teoritis maksimum terjadi apabila semua holoselulosa bagas terkonversi menjadi etanol. Jika dihitung persentase pencapaian hasil teoritis, maka etanol yang dihasilkan dengan enzim selulase-

xylanase setelah kombinasi perlakuan *steaming* 180°C dan *C. subvermispota* sekitar 91,4% hasil secara teoritis telah tercapai.



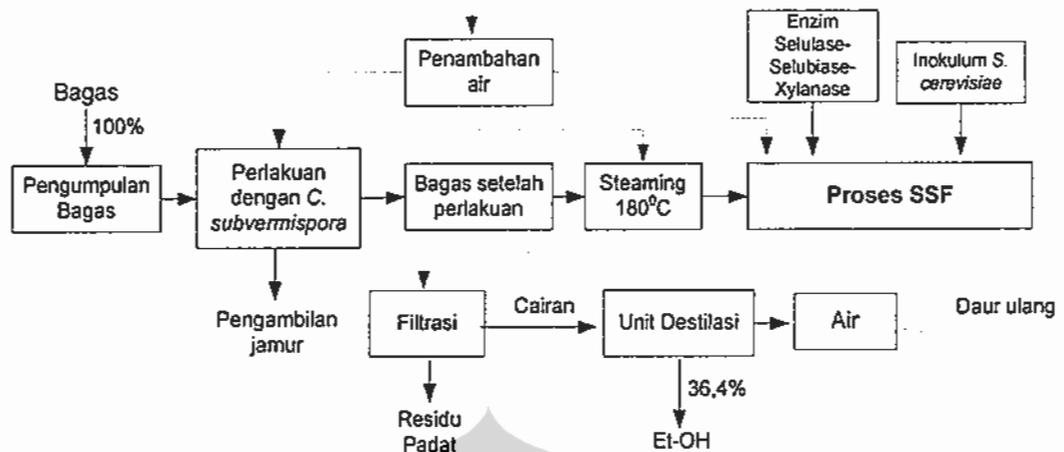
Gambar 4.33. Komposisi Lignin, Selulosa Dan Hemiselulosa Bagas Setelah Proses SSF Menggunakan Enzim Selulase-Selobiase Dan Xylanase Dengan Kombinasi Perlakuan *Steaming* 180°C Dan *C. subvermispota*

Berdasarkan hasil penelitian tersebut, artinya 91,4% selulosa dan hemiselulosa telah terkonversi menjadi etanol, dan sekitar 8,6% yang belum terkonversi menjadi etanol. Hal ini dibuktikan dengan hasil analisa kandungan lignin, selulosa dan hemiselulosa bagas setelah perlakuan dengan *C. subvermispota* dan *steaming* 180°C berturut-turut 81%, 5% dan 4% dan sisanya adalah zat ekstraktif (Gambar 4.33). Hasil penelitian menunjukkan bahwa komposisi lignin meningkat dalam larutan karena terjadinya penurunan komposisi selulosa dan hemiselulosa. Berdasarkan hasil analisa diatas membuktikan bahwa sebagian besar selulosa dan hemiselulosa telah terkonversi menjadi etanol, walaupun masih ada yang belum terkonversi.

Pencapaian hasil etanol dari bagas dengan enzim selulase-selobiase xylanase yang dikombinasikan perlakuan *steaming* dan *C. subvermispota* belum mencapai 99% teoritis karena memang lignocellulosic material banyak mengandung inhibitor-inhibitor seperti adanya furfural, ion-ion logam berat, kandungan lignin, xylan dan lain-lain [52, 58]. Musato juga melaporkan bahwa pada proses hidrolisis

lignocelulosic material dengan enzim selulolitik akan dipengaruhi oleh adanya inhibitor-inhibitor seperti adanya zat ekstraktif (*acidinic resins, taninic dan perepena acids*), asam asetat, kandungan lignin, furfural bahkan ion logam berat [60]. Namun demikian hasil ini sudah cukup signifikan karena beberapa penelitian melaporkan pencapaian secara teoritis masih dibawah 90%. Konversi etanol dari bagas melalui SSF dengan perlakuan jamur pelapuk putih dan ethanolis hanya mencapai 62% theoretical yield [22]. Produksi etanol dari material lignoselulosa dengan SFF menggunakan *K. marxianus* hanya sekitar 72% theoretical yield [52]. Produksi etanol dari tebu melalui SSF dengan menggunakan pemanasan pada suhu diatas 200⁰C mampu mengkonversi xylan menjadi etanol sebesar 90% [106]. Produksi etanol dengan menggunakan SSF dikombinasikan dengan perlakuan awal *steaming* dan campuran asam sulfat pencapaian hasil teoritis sebesar 76% [87]. Selain itu perlakuan awal dapat membuat efisien proses produksi etanol dari material lignoselula karena dengan perlakuan awal etanol yang dihasilkan meningkat yang disebabkan semakin mudahnya akses enzim terhadap substrat, sehingga teknologi perlakuan awal selalu menjadi teknologi masa depan [127]. Hal ini sekaligus membuktikan bahwa kombinasi enzim selulase-selobiase-xylanase dengan perlakuan awal *C. cerevisiae* dan *steaming* pada suhu 180⁰C mampu meningkatkan produksi etanol dari bagas dan merupakan teknologi proses baru dalam konversi bagas menjadi etanol.

Produksi bioetanol dengan cukup signifikan dengan menggunakan kombinasi enzim selulase-selobiase-xylanase setelah dilakukan perlakuan awal dengan jamur pelapuk putih dan *steaming* dengan proses SSF diharapkan dapat segera diaplikasikan dalam sebuah industri. Sebagai ilustrasi sederhana gambaran proses untuk konversi bagas menjadi etanol dengan kombinasi perlakuan awal dan multi enzim tersebut ditunjukkan dalam Gambar 4.36.



Gambar 4.36 Diagram Alir Konversi Bagas Menjadi Etanol Dengan Kombinasi Perlakuan Awal (*C. subvermisporea* & *Steaming*) Dengan Multi Enzim (Selulase-Selobiase-Xylanase)

Hasil penelitian yang telah dilakukan tersebut hanya pada aspek proses perlakuan awal dan SSF sehingga untuk menghasilkan hasil sebagaimana digambarkan dalam diagram alir singkat tersebut maka untuk lebih komprehensif sebelum pararel proses aplikasi dalam industri juga harus terus dilakukan penelitian lanjutan. Pertama, penelitian mengenai proses separasi yang efektif untuk menghasilkan etanol dengan kemurnian tinggi (99,9%) seperti pemanfaatan membran bioreaktor atau distilasi dengan menambahkan zeolit. Kedua, perlu dilakukan suatu proses peningkatan produksi dan disain reaktor yang tepat dengan memperhitungkan aspek kinetika dan termodinamika reaksinya, teknoekonomi secara menyeluruh sehingga proses yang dilakukan akan lebih bernilai ekonomis. Ketiga, penelitian mengenai analisis dan proses separasi terhadap kemungkinan terjadinya produk samping yang berguna seperti furfural sehingga bisa meningkatkan nilai tambah produk yang dihasilkan. Keempat, untuk menghasilkan produk dengan minimum residu (*zero waste*) maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kemungkinan konversi residu padat menjadi biogas atau menjadi bahan kimia yang lain. Kelima, penelitian jangka panjang dengan menemukan dan memanfaatkan mikroorganisme yang memiliki kemampuan menyeluruh dari aspek kemampuan mendegradasi lignin (mengandung enzim lignolitik), mengkonversi selulosa dan hemiselulosa

(memiliki enzim selulolitik dan hemilolitik) serta mampu mengkonversi monosakarida menjadi etanol akan lebih mengefisienkan dalam penggunaan enzim, jamur pelapuk putih dan yeast secara bersamaan cukup digantikan oleh satu mikroorganisme. Selain itu penelitian-penelitian mengenai perlakuan awal yang lain seperti penggunaan *microwave* dan kombinasi terbaik dengan perlakuan awal yang lain juga perlu dilakukan untuk lebih meningkatkan konversi etanol yang dihasilkan.



Universitas Indonesia

BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan di atas, maka dapat disimpulkan bahwa secara umum penelitian telah berhasil meningkatkan konversi bagas menjadi etanol dengan menggunakan enzim selulase, selobiase, xylanase dan perlakuan awal menggunakan jamur pelapuk putih dan *steaming* termasuk kombinasinya dengan menggunakan proses sakarifikasi dan fermentasi serempak (SSF). *Ethanol yield* tertinggi yang dihasilkan adalah 36,4% dengan pencapaian etanol secara teori sebesar 91,4% yaitu dengan enzim selulase-selobiase-xylanase yang dikombinasikan dengan perlakuan awal *C. subvermispora* dan *steaming* 180°C. Pencapaian hasil teori ini meningkat sangat signifikan dibandingkan dengan etanol yang dihasilkan jika hanya menggunakan enzim selulase saja (42.03%). Peningkatan tersebut menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan awal *C. subvermispora* dan *steaming* yang dipadukan dengan hidrolisis multi enzim selulase-selobiase-xylanase sangat efektif dalam mengkonversi bagas menjadi etanol dalam proses SSF. Hal ini dibuktikan dengan menurunnya kadar selulosa dan hemiselulosa pada residu bagas setelah proses SSF berlangsung yaitu dari 50% dan 20% menjadi 4,5% dan 3,5%.

Secara lebih rinci, dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Penggunaan kombinasi enzim selulase, selobiase dan xylanase juga meningkatkan *ethanol yield*, seperti ditunjukkan sebagai berikut:

Enzim	Konsentrasi etanol (g/L)	<i>Ethanol yield</i> berbasis berat bagas (%)	Pencapaian <i>theoretical yield</i> (%)
Selulase	6,0	12,0	42,0
Xylanase	2,8	5,7	50,0
Selulase-selobiase	6,9	13,9	48,8
Selulase-xylanase	8,6	17,2	43,2
Selulase-selobiase-xylanase	9,8	19,7	49,6

2. Adanya peningkatan jumlah etanol yang dihasilkan dengan kombinasi enzim selulase-selobiase tersebut membuktikan bahwa selain glukosa, selobiosa juga terbentuk dalam proses hidrolisis parsial selulosa oleh enzim selulase. Selobiosa yang terbentuk secara simultan dikonversikan oleh selobiase menjadi glukosa yang dibuktikan dengan peningkatan glukosa sebesar 16,2% setelah dihidrolisis dengan enzim selulase-selobiase. Glukosa yang terbentuk kemudian secara simultan dikonversi menjadi etanol oleh *S. cerevisiae*.
3. Selain itu, peningkatan jumlah etanol yang dihasilkan dengan kombinasi enzim selulase-selobiase-xylanase juga membuktikan bahwa reaksi multi enzim dengan masing-masing substrat yang spesifik dapat terjadi dalam proses SSF. Reaksi multi enzim tersebut yaitu reaksi hidrolisis antara selulosa dengan selulase menjadi glukosa dan selobiosa, hidrolisis hemiselulosa (xylan) dengan xylanase menjadi xylosa dan hidrolisis selobiosa dengan selobiase menjadi glukosa. Xylosa dan glukosa yang terbentuk kemudian dikonversi menjadi etanol dengan *S. cerevisiae*. Hal ini dibuktikan dengan menurunnya kadar selulosa dan hemiselulosa setelah proses SSF berlangsung yaitu dari 50% dan 20% menjadi 22% dan 10%.
4. Perlakuan jamur pelapuk putih *C. subvermispota*, *steaming* pada suhu 180°C dan kombinasi keduanya ternyata meningkatkan produksi etanol dari bagas dengan enzim selulase-selobiase, selulase-xylanase dan selulase-selobiase-xylanase. Pengaruh perlakuan tersebut disebabkan dengan adanya proses biodegradasi lignin oleh *C. subvermispota*, degradasi lignin secara fisik dan pelarutan kristal-kristal selulosa dan hemiselulosa selama proses perlakuan dengan *steaming* berlangsung. Hal ini dibuktikan dengan adanya penurunan kadar lignin sebesar 26,5%, selulosa sebesar 9,4% dan hemiselulosa 14,1% setelah kombinasi perlakuan awal *C. subvermispota* dan *steaming* pada suhu 180°C.
5. Rata-rata maksimum konsentrasi etanol, persentase *ethanol yield* berbasis berat bagas dan pencapaian etanol dari teoritis setelah diperlakukan dengan jamur pelapuk putih *C. subvermispota* adalah sebagai berikut:

Enzim	Konsentrasi etanol (g/L)	<i>Ethanol yield</i> berbasis berat bagas (%)	Pencapaian <i>theoretical yield</i> (%)
Selulase-selobiase	8,7	17,4	61,0
Selulase-xylanase	9,9	19,9	49,9
Selulase-selobiase-xylanase	12,3	24,6	61,7

6. Rata-rata maksimum konsentrasi etanol, persentase *ethanol yield* berbasis berat bagas dan pencapaian *theoretical yield* setelah diperlakukan dengan *steaming* 180°C adalah sebagai berikut:

Enzim	Konsentrasi etanol (g/L)	<i>Ethanol yield</i> berbasis berat bagas (%)	Pencapaian <i>theoretical yield</i> (%)
Selulase-selobiase	10,0	20,0	70,2
Selulase-xylanase	10,4	20,9	52,4
Selulase-selubias-xylanase	14,0	28,0	70,5

7. Rata-rata maksimum konsentrasi etanol, persentase *ethanol yield* berbasis berat bagas dan pencapaian etanol dari *theoretical yield* setelah diperlakukan dengan kombinasi *C. subvermispora* dan *steaming* 180°C adalah sebagai berikut:

Enzim	Konsentrasi etanol (g/L)	<i>Ethanol yield</i> berbasis berat bagas (%)	Pencapaian <i>theoretical yield</i> (%)
Selulase-selobiase	12,9	25,7	90,5
Selulase-xylanase	13,5	26,9	67,6
Selulase-selubias-xylanase	18,2	36,4	91,4

8. Produksi tertinggi etanol dari bagas dilakukan pada pH 5 karena berdasarkan variasi pH, pada pH 5 selalu diperoleh hasil yang optimal sehingga pH optimum pada penelitian ini adalah 5.
9. Waktu inkubasi 48 jam adalah waktu inkubasi optimum karena setelah 48 jam dalam proses SSF peningkatan konsentrasi etanol dari bagas tidak signifikan.

5.2 SARAN

Penelitian ini tentunya masih jauh dari sempurna, dan penyempurnaannya secara terbuka dapat dilakukan oleh para peneliti, mahasiswa lain atau penulis sendiri. Beberapa saran yang dapat dijadikan acuan untuk lebih menyempurnakan tulisan ini baik dari segi keilmuan maupun tahapan komersial adalah:

1. Proses SSF yang dilakukan dalam penelitian ini menggunakan yeast *S. cerevisiae* dan menitik beratkan pada pemanfaatan enzim, untuk lebih meningkatkan konversi penelitian terus dilakukan penelitian proses degradasi lignin sehingga pencapaian secara teoritis mencapai diatas 95%;
2. Dari aspek perlakuan awal juga perlu dilakukan perlakuan awal yang lain yang lebih mudah dan efisien untuk diterapkan dalam industri seperti perlakuan awal dengan *microwave*;
3. Perlu penelitian yang lebih lanjut dari aspek modifikasi penggunaan enzim dengan menggunakan mikroorganisme yang mampu menghasilkan enzim lignolitik, selulolitik dan hemilolitik sehingga akan lebih efisien;
4. Perlu penelitian yang lebih mendalam dan mendasar tentang biodegradasi lignin akan terbentuk senyawa apa dan bagaimana strukturnya, penelitian mengenai aspek kinetika mulai dari proses sterilisasi, SSF dan proses separasinya;
5. Perlu penelitian lebih lanjut dari aspek pemanfaatan residu bagas setelah proses SSF seperti pemanfaatan untuk biogas;
6. Perlu penelitian lebih lanjut mengenai bagaimana proses separasi yang terbaik seperti menggunakan membran bioreaktor atau dengan distilasi dengan menggunakan campuran zeolit;
7. Perlu dilakukan penelitian lanjutan yang lebih mengarah pada proses scaling up untuk proses industrialisasi. Sehingga dapat pula diperhitungkan aspek teknoekonominya.
8. Perlu dikembangkan penelitian lebih lanjut mengenai pemanfaatan residu cair untuk dimanfaatkan menjadi bahan kimia lainnya seperti furfural sehingga hasil samping produksi bioetanol;

9. Produksi etanol dengan proses SSF juga dapat dikembangkan dengan menggunakan bahan baku lainnya seperti pemanfaatan limbah-limbah pertanian lain seperti jerami, tandan kosong kelapa sawit, tongkol jagung atau membuat tanaman industri untuk produksi bioetanol.



DAFTAR REFERENSI

- [1] _____ BP Stastical Review of World Energy, June 2004, www.bp.com
- [2] Heriyono, "Pemerintah Sulit Menekan Penghematan Konsumsi BBM", Investor Daily, Juli 2008
- [3] Kementerian Negara Riset dan Teknologi. "Kebijakan strategis pembangunan nasional Ilmu Pengetahuan dan Teknologi (JAKSTRANAS IPTEK) 2005-2009". Jakarta, Agustus 2008
- [4] Kementerian Negara Riset dan Teknologi. "Buku putih penelitian, pengembangan dan penerapan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi 2005-2025". Jakarta, Agustus 2006
- [5] Dewan Riset Nasional. "Agenda Riset Nasional 2006-2009". Jakarta, Agustus 2006.
- [6] Peraturan Presiden No. 6 Tahun 2006. "Kebijakan Energi Nasional", Departemen Energi dan Sumber Daya Mineral, Jakarta
- [7] Wingren, A., Galbe M, Zacchi G. Energy considerations for a SSF-based soft wood ethanol plant. *Bioresource Technology* 2007; 323: 144-153.
- [8] Kim S, Dale BE. Global potential bioethanol production from wasted crops and crop residues. *Biomass and Bioengineering* 2004; 26: 361-375.
- [9] Wyman, CE. Ethanol from lignocellulosic biomass: Technology, economics, and opportunities. *Bioresource Technology* 1995; 50: 3-6.
- [10] Dewan Gula Nasional. 2004. *Produksi Gula Nasional*, Jakarta, Indonesia
- [11] Hansen, A.C., Zhang, Q., Lyne, P.W.L. 2005. Ethanol-diesel fuel blends (review). *Bioresource technology*, 96: 277-285
- [12] Millan J D. Bioethanol production: status and prospects. *Renewable Energy* 1997; 10: 295-302.
- [13] Watanabe T. Biomass Conversion, *International Seminar on Sustainable Humanosphere*, Cibinong, Indonesia 2007; 21-23 September
- [14] Samsuri M, Gozan M, Prasetya B, Nasikin M. Pre-treatment and enzymatic hydrolysis of lignocellulosic material for ethanol production (paper review). *Proceedings First Indonesia-Korea Biotechnology Symposium*. Jakarta, Indonesia 2007; 30-31 January, p-0-7A.
- [15] Kargi F, Shuler M. *Bioprocess engineering*. Prentice Hall International Series in the Physical and Chemical Engineering Sciences. Second Edition. USA 2002.
- [16] Takagi M, Abe S, Suzuki S, Emert G H, Yata N. A method for production of ethanol directly from cellulose using cellulase and yeast. *Proceedings of Bioconversion Symposium, Delhi* 1997; 551-571.
- [17] Messner K, and Srebotnik E. Biopulping: An overview of developments in an environmentally safe paper-making technology. *FEMS Microbiology Reviews* 1994; 13: 351-364.
- [18] Pan X, Arato C, Gilkes N, Gregg D, Mabee W, Xiao S, Zhang Z, Saddler J. Biorefining of softwoods using Ethanol organosolve pulping: Preliminary

- evaluation of process streams for manufacture of fuel-grade ethanol and co-products. *Biotechnology and Bioengineering* 2004; 90: 473-481.
- [19] Himmel ME, Adney W S, Baker J O, Nieves R A, Thomas S R. Cellulases: Structure, function, and applications. In *Handbook on bioethanol-Production and utilization*. Syman, C.E. Washington DC: Taylor & Francis 1996; 143-161.
- [20] Bako K B, Koutinas N, Nemestothy L, Gubicza, Webb C. Continuous enzymatic cellulose hydrolysis in a tubular membrane bioreactor. *Enzyme and Microbial Technology* 2006; 38: 155-161
- [21] Hilden L, Johansson G, Pettersson G, Li J, Ljungquist P, Henriksson G. Do the extracellular enzyme cellobiase dehydrogenase and manganese peroxidase form a pathway in lignin biodegradation. *European Biochemical Societies* 2000; 477: 79-83
- [22] Itoh H, Wada M, Honda Y, Kuwahara M, Watanabe T. Bioorganosolve pre-treatments for simultaneous saccharification and fermentation of beech wood by Ethanolysis and white rot fungi. *Journal of Biotechnology* 2003; 103: 273-280
- [23] Eriksson KL. 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* 1998; 33-51.
- [24] Van Soest P.J, Robertson J B, Lewis B A. Methods of dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 1997; 74: 3583-3597
- [25] Stenberg K, Tengbork C, Galbe M, Zacchi G, Palmovist E, Hahn-Hagerdal B. Recycling of process streams in ethanol production from softwoods based on enzymatic hydrolysis. *Applied Biochemical Biotechnology* 1998; 70/72: 697-708.
- [26] Samsuri M, Gozan M., Prasetya B, Nasikin M. Enzymatic Hydrolysis of Lignocellulosic Bagasse for Bioethanol Production. *The 4th Indonesian Biotechnology Conference, Bogor, Indonesia* 2008; 5-7 August, p.53.
- [27] Cantarella M, Cantarella L, Gallifuoco A, Spera A, Alfani F. Comparison of different detoxification methods for steam-exploded poplar wood as a substrats for the bioproduction of ethanol in SHF dan SSF. *Process Biochemisty* 2004; 39: 1533-1542.
- [28] Segel I H. *Enzyme Kinetics, behavior and analysis of rapid equilibrium and steady-state enzyme system*. A Wiley Interscience Publication, New York, USA 1974.
- [29] Sun Y, Cheng J. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: review. *Bioresource Technology* 2002; 83: 1-11.
- [30] Samsuri, M., Prasetya, B., Hermiati, E. 2004. Biodegradasi bagasse oleh jamur pelapuk putih dan potensi pemanfaatannya untuk etanol. *Prosiding seminar nasional XIII, Kimia dalam industri dan lingkungan, Jaringan kerjasama kimia Indonesia, Yogyakarta, 14-15 desember, 405-410.*
- [31] Samsuri M, Prasetya B, Hermiati E, Indiyanti T, Honda Y, Watanabe T. Effects of fungal treatment on bagasse for ethanol and chemical production. In *Towards ecology and economy harmonization of tropical forest resources. Bali, Indonesia Proceeding of the 6th International Wood Science Symposium* 2004; 288-294.

- [32] Lehninger, Nelse D L, Cox M M. Principles of biochemistry. New York, USA 2005.
- [33] Berg, C. 2001. World ethanol production. The distillery and bioethanol network. Available at [www.distill.com/world ethanol production.htm](http://www.distill.com/world_ethanol_production.htm).
- [34] Gozan M, Samsuri M, Hermansyah H, Utami T S, Arbianti R, Dianursanti, Wulan P.PDK, Prasetya B, Nasikin M, Watanabe M. Pengaruh pelapukan jamur putih pada proses produksi bioetanol dari bagas. Prosiding Seminar Nasional Diversifikasi Sumber Energi Untuk Mendukung Kemajuan Industri Dan System Kelistrikan Nasional, Surakarta, 24 Maret 2007, p.D-31
- [35] Scheper T, Olsen L. Biofuels. Advances in biochemical engineering and biotechnology. Springer, 2007.
- [36] Lichts FO. World Ethanol Biofuels Report 2006 ; 48
- [37] Guldbrand L. Report pursuant to Directive 2003/30/EC. Memorandum M2006/2879/E. Stockholm, Sweden 2006.
- [38] EBB 2006. Statistic–The EU biodiesel industry. European Biodiesel Board, Brussel, Belgium. Available on line at <http://www.ebb-eu.org>, last visited 12 mar 2007
- [39] CRFA 2006. Canadian renewable fuel statistics, Canadian Renewable Fuels Assosiation, Ottawa ON, Canada. Available on line at [http:// www.greenfuels.org](http://www.greenfuels.org), last visited 12 march 2007
- [40] REA. US fuel ethanol production capacity. Renewable Fuels Assosiation, Washington DC, USA. 2006.
- [41] AFTA. Brazilian alcohol: A review of production, subsidies and incentives. Assosiation for Fair Trade in Alcohol, Brussel, Belgium. 2000
- [42] Moreira JR, Gooldenberg J. Energy Policy, USA 1999.
- [43] USDOE. State and federal incentives and laws. Alternative Fuels Data Center, US Departement of Energy Office of Energy Efficiency and Renewable Energy, Rockville MD, USA 2006.
- [44] US Gov. Energy Policy Act of 2005. Public law 109-58, 109th Congress, Washington, USA 2005.
- [45] USDA. Biomass as feedstock for a bioenergy and bioproduct industry. US Department of Agriculture Agricultural Research Service, Washington DC, USA 2005.
- [46] CEC. Commission staff working paper: Inventory of public aid granted to different energy source. Commission of the European Communities (CEC), Brussels, Belgium 2002.
- [47] Anon. UK report to European Commission London, UK 2006.
- [48] Berg C. World fuel ethanol analysis and outlook. F.O. Lichts, Ratzeburg, Germany 2006.
- [49] Gozan M, Samsuri M, Prasetya B, Nasikin M. Current status of Research and Implementation of Bioenergy in Indonesia. International Symposium Bionergy and Korea Conference, DJ Convention Center, Gwangju, Korea, 8-9 April 2008.
- [50] Martin C, Galbe M, Wahlbom C F. Ethanol production from enzymatic hydrolizates of sugar cane bagasse using recombinant xylose-utilising *Saccharomyces cerevisiae*, Enzyme. Microbial Technology 2002; 31: 274-282.

- [51] Lynd L R, Bothast R J, Wyman D E. Fuel Ethanol from cellulosic biomass. *Science* 1991; 251: 1318-1323.
- [52] Ballesteros M, Oliva J M, Negro M J, Manzanares P, Ballesteros, I. Ethanol from lignocellulosic material by a simultaneous saccharification and fermentation process (SFS) with *Kluyveromyces marxianus* CET 1087, *Process Biochemistry* 2004; 39: 1843-1848.
- [53] Hon D.N.S, Shiraishi N. Wood and cellulosic chemistry, Kyoto University, Kyoto, Japan 2004.
- [54] Watanabe T, Teranishi H, Honda Y, Kuwahara M. A selective lignin-degrading fungus, *Ceriporiopsis subvermispota*, produces alkylitaconates that inhibit the production of a cellulolytic active oxygen species, hydroxyl radical in the presence of iron and H₂O₂. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2002; 297: 918-923
- [55] Watanabe T, Samsuri M, Amirta R, Rahmawati N, Syafwina, Prasetya B, Tanabe T, Ohashi Y, Watanabe T, Honda Y, Kuwahara M, Okano K. Lignin-degrading fungi as a biotechnological tool for biomass conversion. Kyoto, Report of sustainable development of tropical forest resources 2006; 167-173.
- [56] Anne, Belinda. Biotechnology in ethanol Production. *Journal of Biotechnology* 2004, 25; 243-251
- [57] Maeda M, Itoh A, Kawase Y. Kinetics for aerobic biological treatment of o-cresol containing wastewaters a slurry bioreactor: biodegradation by utilizing waste activated sludge. *Biochemical Engineering Journal* 2005; 22: 97-103.
- [58] Aktar M, Kirk T K, Blanchette RA. 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. 1996.*
- [59] Yu Z, Zhang H. Pre-treatments of cellulose pryrolysate for ethanol production by *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia* sp, YZ-1 and *Zymomonas mobilis*. *Biomass and Bioenergy* 2003; 24: 257-262
- [60] Mussato, S.I., Roberto, I, C. 2004. Alternatives for detoxification of diluted-acid lignocellulosic hydrolysates for use in fermentative processes (review). *Bioresource Technology*, 93: 1-10
- [61] Hon S, David N. Chemical modification of lignocellulosic materials. *Clemson University, Clemson, South Carolina. 2004.*
- [62] Watanabe T, Shirai N, Okada H, Honda Y, Kuwaha M. Production and chemiluminescent free radical reactions of glycoxal in lipid peroxidation of linoleic acid by the ligninolytic enzyme, manganese peroxidase. *Euro Journal Biochemical* 2001; 267: 4222-4231
- [63] Samsuri M, Gozan M, Prasetya B, Nasikin M., Watanabe T. Pengaruh *steaming* pada proses produksi bioetanol dari bagas. *Prosiding Seminar Nasional Diversifikasi Sumber Energi Untuk Mendukung Kemajuan Industri Dan System Kelistrikan Nasional, Surakarta, 24 Maret 2007, p. D21.*
- [64] Blanchette R.A, Burnes T A, Eerdmans M, Akhtar M. Evaluating isolates of *Phanerochaete chrysosporium* dan *Ceriporiopsis subvermispota* for use in biological pulping processes. *Holzforschung* 1992; 46: 105-115

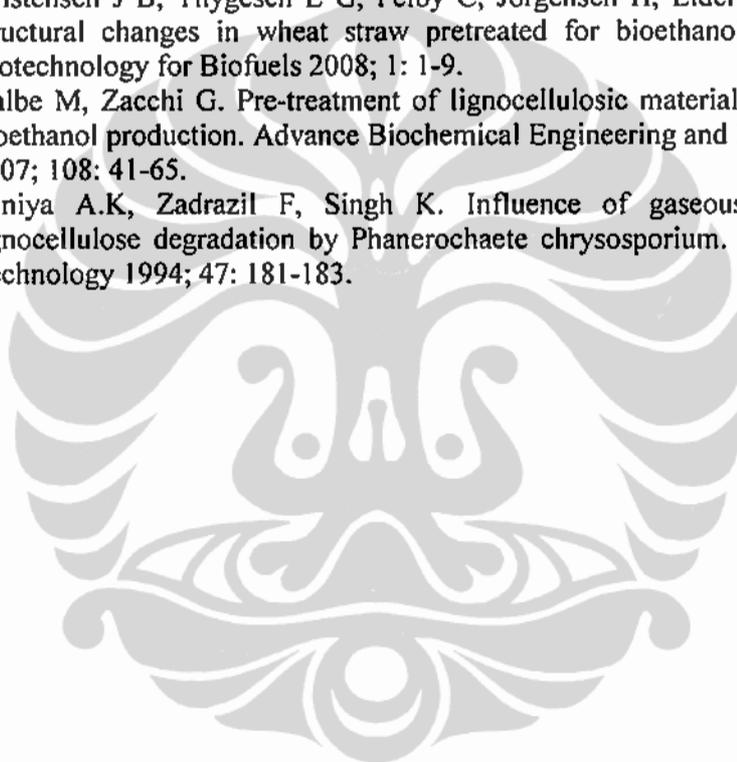
- [65] Kapich, A.N., Jensen, K.A., Hammel, K.E. 1999. Peroxyl radicals are potential agents of lignin biodegradation. *FEBS letters*, 461: 115-119
- [66] Gong, C. S., Cao, N. J., Du, J., dan Tsao, G. T. (1999). Ethanol production from renewable resources. *Advance Biochemical Engineering Biotechnol.* 65, 207-241.
- [67] Wyman, C.E., 1994. Ethanol from lignocellulosic biomass: Technology, economics, and opportunities. *Bioresource technology.* 50, 3-6.
- [68] Samsuri M, Gozan M, Mardias, Baiquni M., Hermansyah H, Wijanarko A, Prasetya B, Nasikin M. Pemanfaatan hemicellulose bagas untuk produksi etanol dari bagas melalui sakarifikasi dan fermentasi serempak dengan enzim xylanase, *Makara Seri Teknologi* 2007, 11 (April), 17-24.
- [69] Samsuri M, Gozan M, Prasetya B, Nasikin M. Enzymatic and acid hydrolysis of bagasse for etanol production by simultaneous saccharification and fermentation. *The 10th International Conference On Quality In Research.* Depok, Indonesia, 4-6 Desember 2007, EPE-20;1-6.
- [70] Samsuri M, Gozan M, Prasetya B, Nasikin M. Sakarifikasi dan fermentasi bagas menjadi etanol menggunakan enzim selulase dan selobiase. *Jurnal Teknologi*, XXI (September) 2007; 209-215
- [71] Samsuri M, Mardias R, Gozan M, Prasetya B, Nasikin M. Produksi bioetanol dari bagas dengan enzim selulase. *Proceedings of SRKP, UNDIP*, 25-26 July 2007, p. D6.
- [72] Samsuri M. Pengaruh perlakuan jamur pelapuk putih pada produksi etanol dari bagas melalui proses sakarifikasi dan fermentasi serempak. Thesis, Program pasca sarjana teknik kimia, UI, Depok, 2006, halaman 52-55.
- [73] Borjesson J, Peterson R, Tjerneld F. Enhanced enzymatic conversion of softwood lignocellulose by poly(ethylene glycol) addition. *Enzyme and Microbial Technology* 2007; 40:754-762.
- [74] Campo I, Alegra I, Zazpe M, Echeverria M, Echeverria M. Diluted acid hydrolysis Pre-treatment of agri-food wastes for bioethanol production. *Industrial Crops and Products* 2006; 24: 214-221.
- [75] Nobel RD. Analysis of enzyme catalysis under batch conditions. *Chemical Engineering Journal* 1990; 44: 47-50.
- [76] Wald S, Wilke C R, Blanch H W. Kinetics of the enzymatic hydrolysis of cellulose. *Biotechnology Bioengineering* 1984; 26: 221-230.
- [77] Nguyen QA. Economic analysis of integrating a biomass to Etanol plant into a pulp/saw mill. In: Sessler JN, Editor. *Bioconversion of forest and agricultural residues.* Wallingford: CAB International 1993; 321-340
- [78] Zong L Y. Chemical modification of lignocellulosic materials: reactivity and accessibility of cellulose, hemicellulose and lignins. New york 1996; 35-95.
- [79] Watanabe T, Shirai N, Okada H, Honda Y, Kuwahara M. Formation of acyl radical in lipid peroxidation of linoleic acid by manganese-dependent peroxidase from *Ceriporiopsis subvermispora* and *Bjerkandera adusta*, *Euro Journal Biochemistry* 2000; 264: 4222-4231.
- [80] Lee J. Biological conversion of lignocellulosic biomass to ethanol. *Journal of Biotechnology* 1997; 56: 1-24
- [81] Okano K, Iida Y, Samsuri M, Prasetya B, Usagawa T, Watanabe T. Comparison of *in vitro* digestibility and chemical composition among

- sugarcane bagasses treated by four white rot fungi. *Animal Science Journal* 2006; 77: 308-313
- [82] Prasetya B, Idiyanti T, Goenadi D.H, Siagian R.M, Watanabe T, Kuwahara M. Production of ligninolytic enzymes of white-rot fungi from Indonesian tropical rainforest and their bleachability on the kraft pulp of *Accasia Mangium*; Proceeding of First International Wood Science Seminar Kyoto, 6-7 Desember 1996
- [83] Kennedy J.F, Philips G.O, Williams PA. *Wood dan Cellulosics*. Ellis Horwood-Publishers 1997; 664.
- [84] Samsuri M, Gozan M, Yulius A, Prasetya B, Nasikin M, Watanabe T. Ethanol production from bagasse: Effect of using mixed enzymes, Pretreatment with steam and white rot fungi in simultaneous saccharification and fermentation (SSF). *ACGC Chemical Research Communication* 2008; 22: 34-43.
- [85] Tabka MG, Gimbert I H, Monod F, Asther M, Sigoillot J C. Enzymatic saccharification of wheat straw for bioethanol production by combined cellulase-xylanase and feruloyl esterase treatment. *Journal Microbiology* 2006; 121:322-331.
- [86] Ruiz-Arribas A, JM, Fernandez-Abalos P, Sanches AL, Gardu, Santamaria R I. Over production, purification and biochemical characterization of xylanase I (xys 1) from *Streptomyces halstedii* JM8. *Applied Environmental Microbiology* 1995; 61: 2414-2419.
- [87] Sassner P, Galbe M, Zacchi G. Bioethanol production based on simultaneous saccharification and fermentation of steam-pretreated *salix* at high dry-matter content. *Enzyme and Microbial Technology* 2006; 39: 756-762.
- [88] Hamelinck C.N, Hooijdonk G, Faaij A. Ethanol from lignocellulosic biomass: techno-economic performance in short, middle and long term. *Biomass and Bioenergy* 2005; 28: 384-410.
- [89] Enoki M, Watanabe T, Nakagame T, Koller K, Messner K, Honda Y, Kuwahara M. Extracellular lipid peroxidation of selective white rot fungus, *Ceriporiopsis subvermispora*. *FEMS Microbial Letters* 1999; 180: 205-211
- [90] Bollok M, Reczey K, Zacchi G. Simultaneous saccharification dan fermentation of steam-pretreated spruce to ethanol. *Applied Biochemical Biotechnology* 2000; 17: 255-259
- [91] Costello R, Chum H. Biomass, bioenergi dan carbon management. In "Bioenergi '98: Expanding Bioenergi Partnerships" (D. Wichert, ed.) 1998; pp. 11-17.
- [92] Eklund R, Zacchi G. Simultaneous saccharification dan fermentation of steam-pretreated willow. *Enzyme Microbiology Technology* 1995; 86: 69-80.
- [93] Samsuri M, Gozan M, Prasetya B, Nasikin M, Watanabe T. Ethanol production from bagasse with combination of cellulase-cellobiase in simultaneous saccharification and fermentation using white rot fungi treatment. *Journal of Chemical and Natural resources engineering* 2008; 3: 20-32.

- [94] Bourbonnais R, Paice M G, Freiermuth B, Bodie E, Borneman S. Reactives of various mediators and laccases with kraft pulp and lignin model compounds. *Applied Environmental Microbiology* 1997; 63:4632.
- [95] Beg QK, Kapoor M, Mahajan L, Hoondal G S. Microbial xylanases and their industrial applications. *J. Applied Microbiology Biotechnology* 2001; 56:326-338.
- [96] Lavarack B P, Griffin GJ, Rodman D. The acid hydrolysis of sugarcane bagasse hemicellulose to produce xylose, arabinose, glucose and other products. *Biomass and Bioenergy*, 2002; 23: 367-380
- [97] Richana R, Lestina P. Produksi xylanase untuk biokonversi limbah biji kedelai. *Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian* 2005.
- [98] Krishna S H, Janardhan T, Reddy G, Chowdary V. 2001. Simultaneous saccharification and fermentation of lignocellulosic waste to Ethanol using thermotolerant yeast. *Bioresource Technology* 2005; 77:193-196.
- [99] Samsuri M, Gozan M, Wijanarko A, Hermansyah H, Wulan PPK, Dianursanti, Prasetya B, Nasikin M. Hydrolysis of bagasse by cellulase and xylanase for bioethanol production in simultaneous saccharification and fermentation. *Proceedings of Regional Symposium on Chemical engineering. Yogyakarta. Indonesia, 4-5 Desember 2007, p.B1-16.*
- [100] Ramos J, Rojas T. Enzymatic and fungal treatments on Sugarcane bagasse for the production mechanical pulp. *J. Agriculture Food Chemistry* 2004; 52: 5057-5062
- [101] Mamma D, Koullas D, Fountoukidis G, Kekos D, Macris B J, Koukios E. Bioethanol from sweet sorghum: Simultaneous Saccharification dan fermentation of carbohydrates by a mixed microbial culture. *Process Biochemistry* 1995; 31: 377-381.
- [102] Mosier N, Wyman C, Dale B, Elander E, Lee Y, Holtzapple M, Ladisch M. Features of promising technologies for Pre-treatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology* 2005; 96: 673-686
- [103] Prasetya B, Samsuri M, Hermiati E, Indiyanti T, Watanabe T, Utilization potential of biomass residue from mushroom production for chemical production. *Proceeding of the 6th Intern Wood Science Symposium* 2004; p.377.
- [104] Okano K, Kitagawa M, Sasaki Y, Watanabe T. Conversion of Japanese redcedar (*Cryptomeria japonica*) into a feed for ruminants by white-rot basidiomycetes. *Animal Feed Science and Technology* 2005; 120: 235-243.
- [105] Mosai S, Wolfaardt J F, Prior B A, Christov L P, Evaluation of selected white-rot fungi for biosulfite pulping. *Bioresources Technology* 1999; 68: 89-93.
- [106] Laser M, Schulman D, Allen S G, Lichwa J, Antal M J, Lynd L R. A comparison of liquid hot water dan steam Pre-treatments of sugar cane bagas for bioconversion to etanol. *Bioresources Technology* 2002; 81: 33-44.
- [107] Stenberg K, Galbe M, Zacchi G. The influence of lactic acid formation on the simultaneous saccharification and fermentation (SSF) of softwood to ethanol, *Enzyme Microbial Technology* 2000; 26: 71-79

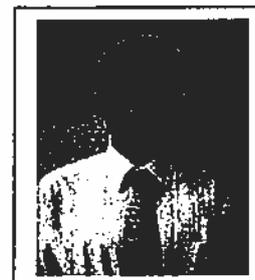
- [108] Okano K, Ida Y, Samsuri M, Prasetya B, Watanabe T. Bioconversion of sugarcane bagasse into feed ruminants using white rot fungi. In Towards ecology and economy harmonization of tropical forest resources. Bali, Indonesia. Proceeding of the 6th Intern Wood Science Symposium 2005; p.52.
- [109] Ferraz A, Rodriguez J, Freer J, Baeza J. Biodegradation of *Pinus radita* softwood by white rot and brown rot fungi. World Journal Microbial Biotechnology 2002; 17: 31-34.
- [110] Goenadi D H, Prasetya B. Lignin degradation selectivity of selected white rot fungal isolated native of tropical environment. Proceeding of First International Wood Science Seminar Kyoto 1996.
- [111] Tonon S, Brown MT, Luchi F, Mrdanola A, Stoppato A, Ulgiati S. An integrated assessment of energy conversion process by means of thermodynamic, economic and environmental parameters. Engineering Journal 2006; 31: 149-163.
- [112] Adrados B P, Choteborska P, Galbe M, and Zacchi G. Ethanol production from non-strach carbohydrastes of wheat bran. Bioresource Technology 2005; 96: 843 – 850
- [113] Kuyper M, Harog M M, Toirkens M J, Almering M J, Winkler A A, van Dijken J P, Pronk J T. Metabolic engineering of a xylose-isomerase-exspressing *Saccharomyces cerevisiae* strain for rapid anaerobic xylose fermentation. FEMS Yeast Research 2004; 5; 399-409
- [114] Kuyper M, Toirkenns M J, Diderich JA, Winkler A A, Dijken J P, Pronk JT. Evolutionary engineering of mixed-sugar utilization by a xylose-fermenting *Saccharomyces cerevisiae* strain. Yeast Research 2005; 5: 925-934.
- [115] Arague E, Parra C, Freer J, Contreras D, Rodriguez J, Mendonca R, Baeza J. Evaluation of organosolv Pre-treatment for the conversion of *Pinus radiata* D. Don to Etanol. Enzyme Microbial Technology 2007; 123: 114-125.
- [116] Blanchette RA, Burnes T A, Eerdmans M M, Akhtar M. Evaluating isolates of phanerochaete chrysosporium dan *Ceriporiopsis subvermispora* for use in biological pulping processes. Holzforschung 1992; 46: 105-115
- [117] Davis L, Jeon Y J, Svenson C, Rogers P, Pearce J, Peiris P. Evaluation of wheat stillage for ethanol production by recombinant *Zymomonas mobilis*. Biomass and Bioenergy 2005; 29: 49-59.
- [118] Chai W, Uden P. An alternatif method combined with different detergent strengths in the analysis of neutral detergent fibre. Animal Feed Science dan Technology 1998; 74: 281-288.
- [119] Brunow G, Karhunen P, Lundquist K, Olson S, Stomberg R. Investigation of Lignin Models of the Biphenyl Type by X-Ray Crystallography dan NMR Spectroscopy, Journal Chemical Crystallogly 1995; 25, 1-10.
- [120] Ferraz A, Rodriguez J, Freer J, Baeza J. Biodegradation of *Pinus radita* softwood by white rot and brown rot fungi. World Journal of Microbiology and Biotechnology 2001; 17: 31-34.
- [121] Green F. Inhibition of decay fungi using cotton cellulose hydrolysis as a model for wood decay. International Biodegradation 2000; 46: 77-82.
- [122] Gozan M, Samsuri M, Hermansyah H, Prasetya B, Nasikin M. Combination of cellulase and cellobiase for bioetanol production from bagasse and waste

- paper through simultaneous saccharification and fermentation. 10th World renewable energy congress-WRECX, Scottish Exhibition and Conference Centre, Glasgow, 21-24 July 2008.
- [123] Samsuri M, Gozan M, Yulius A, Prasetya B, Nasikin M, Watanabe T. Ethanol production from bagasse by simultaneous saccharification and fermentation (SSF) with *steaming* and white rot fungi pre-treatments. IDOSI Journal (submitted), August 2008.
- [124] Roberto I C, Lacs, Barbosa M F S, Mancilha I M. Utilization of sugar cane bagasse hemicellulosic hydrolysate by *pichia stipitis* for the production of ethanol. *Process Biochemistry* 1991; 26: 15-21
- [125] Messner K, Srebotnik E. *Biopulping*: An overview of developments in an environmentally safe paper-making technology. *FEMS Microbiology Reviews* 1994; 13: 351-364.
- [126] Kristensen J B, Thygesen L G, Felby C, Jorgensen H, Elder T. Cell-wall structural changes in wheat straw pretreated for bioethanol production. *Biotechnology for Biofuels* 2008; 1: 1-9.
- [127] Galbe M, Zacchi G. Pre-treatment of lignocellulosic material for efficient bioethanol production. *Advance Biochemical Engineering and Biotencology* 2007; 108: 41-65.
- [128] Puniya A.K, Zadrazil F, Singh K. Influence of gaseous phases on lignocellulose degradation by *Phanerochaete chrysosporium*. *Bioresources Technology* 1994; 47: 181-183.



Lampiran 1

DAFTAR RIWAYAT HIDUP (HASIL PUBLIKASI)



NAMA LENGKAP : M. Samsuri, MT.
NIP : 860 000 003
TEMPAT/TGL. LAHIR : Tanjung Ratu, 14 Januari 1979
JENIS KELAMIN : Laki-laki
AGAMA : Islam
PENDIDIKAN TERAKHIR : S2-Teknik Kimia (Konversi Biomasa)
ALAMAT RUMAH : Gang. Kunci Kp. Pondok Benda Kel. Jati Rasa
 Kel. Jati Rasa Kec. Jati Asih Kota Bekasi

I. PENDIDIKAN

No	Tingkat	Nama Pendidikan	Jurusan	STTB Tanda Lulus/Ijazah Tahun	Tempat	Keterangan
1	2	3	4	5	6	
1	SD	MI Jauharotul Alimin	-	1991	Lampung Tengah	-
2	SLTP	MTs Jauharotul Mualimin	-	1994	Lampung Tengah	-
3	SLTA	MAN I Metro	IPA	1997	Lampung Tengah	
4	Sarjana (S-1)	Universitas Lampung	Kimia	2001	Bandar Lampung	Lulusan Terbaik dengan IPK = 3,8 (skala 4)
4	Pascasarjana (S-2)	Universitas Indonesia- Fakultas Teknik	Teknik Kimia	2006	Depok	IPK = 3,58 (skala 4) sangat memuaskan

II. PUBLIKASI ILMIAH (SELAMA S3)

A. JURNAL INTERNASIONAL

1. Samsuri M, Gozan M, Hermansyah H, Prasetya B, Nasikin M, Watanabe T. Ethanol production from bagasse with combination of cellulase-cellubiase in simultaneous saccharification and fermentation using white rot fungi treatment. *Journal of Chemical and Natural Resources Engineering* 2008; 3: 20-32.

2. Samsuri M, Gozan M, Yulius A, Prasetya B, Nasikin M, Watanabe T. Ethanol production from bagasse by simultaneous saccharification and fermentation (SSF) with *steaming* and white rot fungi pre-treatments. IDOSI Journal (submitted), August 2008

B. JURNAL NASIONAL

1. Samsuri M, Gozan M, Mardias, Baiquni M., Hermansyah H, Wijanarko A, Prasetya B, Nasikin M. Pemanfaatan hemicellulose bagas untuk produksi etanol dari bagas melalui sakarifikasi dan fermentasi serempak dengan enzim xylanase, Makara Seri Teknologi 2007, 11 (April), 17-24.
2. Samsuri M, Gozan M, Prasetya B, Nasikin M. Sakarifikasi dan fermentasi bagas menjadi etanol menggunakan enzim selulase dan selobiase. Jurnal Teknologi, XXI (September) 2007; 209-215.

C. SEMINAR INTERNASIONAL

1. Samsuri M, Gozan M., Prasetya B, Nasikin M. Enzymatic Hydrolysis of Lignocellulosic Bagasse for Bioethanol Production. The 4th Indonesian Biotechnology Conference, Bogor, Indonesia 2008; 5-7 August, p.53.
2. Gozan M, Samsuri M, Hermansyah H, Prasetya B, Nasikin M. Combination of cellulase and cellobiase for bioethanol production from bagasse and waste paper through simultaneous saccharification and fermentation. 10th World Renewable Energy Congress-WRECX, Scottish Exhibition and Conference Centre, Glasgow, 21-24 July 2008.
3. Samsuri M, Gozan M, Prasetya B, Nasikin M. Pre-treatment and enzymatic hydrolysis of lignocellulosic material for ethanol production (paper review). Proceedings First Indonesia-Korea Biotechnology Symposium. Jakarta, Indonesia 2007; 30-31 January, p-0-7A.
4. Gozan, M., Samsuri, M., Prasetya, B., Nasikin, M. Current status of research and implementation of bioenergy in Indonesia. International Symposium Bionergy and Kore Conference, DJ Convention Center, Gwangju, Korea, 8-9 April 2008.
5. Samsuri M, Gozan M, Wijanarko A, Hermansyah H, Wulan PPDK, Dianursanti, Prasetya B, Nasikin M. Hydrolysis of bagasse by cellulase and xylanase for bioethanol production in simultaneous saccharification and fermentation. Proceedings of Regional Symposium on Chemical engineering. Yogyakarta. Indonesia, 4-5 Desember 2007, p.B1-16.
6. Samsuri M, Gozan M, Prasetya B, Nasikin M. Enzymatic and acid hydrolysis of bagasse for etanol production by simultaneous saccharification and fermentation. The 10th International Conference On Quality In Research. Depok, Indonesia, 4-6 Desember 2007, EPE-20;1-6.

D. SEMINAR NASIONAL

1. Samsuri M, Gozan M, Prasetya B, Nasikin M., Watanabe T. Pengaruh *steaming* pada proses produksi bioetanol dari bagas. Prosiding Seminar Nasional Diversifikasi Sumber Energi Untuk Mendukung Kemajuan

- Industri Dan System Kelistrikan Nasional, Surakarta, 24 Maret 2007, p. D21.
2. Gozan M, Samsuri M, Hermansyah H, Utami T S, Arbianti R, Dianursanti, Wulan P.PDK, Prasetya B, Nasikin M, Watanabe M. Pengaruh pelapukan jamur putih pada proses produksi bioetanol dari bagas. Prosiding Seminar Nasional Diversifikasi Sumber Energi Untuk Mendukung Kemajuan Industri Dan System Kelistrikan Nasional, Surakarta, 24 Maret 2007, p.D-31
 3. Samsuri M, Mardias R, Gozan M, Prasetya B, Nasikin M. Produksi bioetanol dari bagas dengan enzim selulase. Proceedings of SRKP, UNDIP, 25-26 July 2007, p. D6.

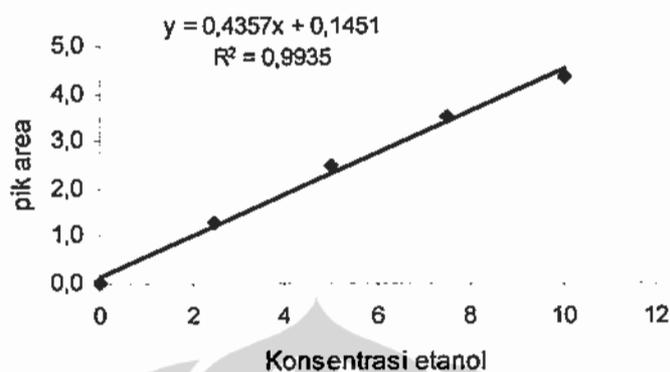
Demikian daftar riwayat hidup ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila dikemudian hari terdapat keterangan yang tidak benar saya bersedia dituntut di muka pengadilan serta bersedia menerima segala tindakan yang diambil oleh pemerintah.

Jakarta, 7 November 2008
Yang Membuat,



M. Samsuri

Lampiran 2
Grafik Standar Konversi Bagas Menjadi Etanol Dengan Enzim Selulase



Lampiran 3
Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase Pada Ph = 4

waktu inkubasi (jam)	Pick area sampel		Konsentrasi etanol sampel (5x pengenceran) (g/L)		konsentrasi etanol sampel (g/L)		Rata rata (g/L)	stdv
	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	rata rata	
0	0,000	0,000	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,302	0,319	0,36	0,40	1,80	2,00	1,90	0,14
12	0,407	0,389	0,60	0,56	3,00	2,80	2,90	0,14
24	0,527	0,509	0,88	0,84	4,38	4,18	4,28	0,14
48	0,571	0,581	0,98	1,00	4,89	5,00	4,95	0,08
72	0,606	0,610	1,06	1,07	5,29	5,33	5,31	0,03
96	0,633	0,615	1,12	1,08	5,60	5,40	5,50	0,14

Lampiran 4
Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase Pada pH = 4,5

waktu inkubasi (jam)	Pick area sampel		Konsentrasi etanol sampel (5x pengenceran) (g/L)		konsentrasi etanol sampel (g/L)		Rata rata (g/L)	stdv
	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	rata rata	
0	0,000	0,000	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,311	0,328	0,38	0,42	1,90	2,10	2,00	0,14
12	0,398	0,416	0,58	0,62	2,90	3,11	3,01	0,15
24	0,575	0,561	0,99	0,95	4,93	4,77	4,85	0,11
48	0,616	0,601	1,08	1,05	5,40	5,23	5,31	0,12
72	0,633	0,617	1,12	1,08	5,60	5,42	5,51	0,13
96	0,621	0,637	1,09	1,13	5,46	5,64	5,55	0,13

Lampiran 5**Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase Pada pH = 5**

waktu inkubasi (jam)	Pick area sampel		Konsentrasi etanol sampel (5x pengenceran) (g/L)		konsentrasi etanol sampel (g/L)		Rata rata (g/L)	stdv
	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	rata rata	
0	0,000	0,000	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,319	0,337	0,40	0,44	2,00	2,20	2,10	0,14
12	0,407	0,425	0,60	0,64	3,00	3,21	3,11	0,15
24	0,563	0,581	0,96	1,00	4,80	5,00	4,90	0,14
48	0,634	0,650	1,12	1,16	5,61	5,79	5,70	0,13
72	0,648	0,667	1,15	1,20	5,77	5,99	5,88	0,16
96	0,659	0,672	1,18	1,21	5,90	6,05	5,98	0,11

Lampiran 6**Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase Pada pH = 6**

waktu inkubasi (jam)	Pick area sampel		Konsentrasi etanol sampel (5x pengenceran) (g/L)		konsentrasi etanol sampel (g/L)		Rata rata (g/L)	stdv
	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	rata rata	
0	0,000	0,000	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,319	0,306	0,40	0,37	2,00	1,85	1,93	0,11
12	0,398	0,415	0,58	0,62	2,90	3,10	3,00	0,14
24	0,560	0,576	0,95	0,99	4,76	4,95	4,86	0,13
48	0,627	0,644	1,11	1,14	5,53	5,72	5,62	0,14
72	0,633	0,651	1,12	1,16	5,60	5,80	5,70	0,14
96	0,659	0,643	1,18	1,14	5,90	5,72	5,81	0,13

Lampiran 7**Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase Pada pH = 5 Pada Suhu 35^oC**

waktu inkubasi (jam)	Pick area sampel		Konsentrasi etanol sampel (5x pengenceran) (g/L)		konsentrasi etanol sampel (g/L)		Rata rata (g/L)	stdv
	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	rata rata	
0	0,000	0,000	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,319	0,337	0,40	0,44	2,00	2,20	2,10	0,14
12	0,407	0,425	0,60	0,64	3,00	3,21	3,11	0,15
24	0,563	0,581	0,96	1,00	4,80	5,00	4,90	0,14
48	0,634	0,650	1,12	1,16	5,61	5,79	5,70	0,13
72	0,648	0,667	1,15	1,20	5,77	5,99	5,88	0,16
96	0,659	0,672	1,18	1,21	5,90	6,05	5,98	0,11

Lampiran 8

Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase Pada pH = 5 Pada Suhu 30°C

waktu inkubasi (jam)	Pick area sampel		Konsentrasi etanol sampel (5x pengenceran) (g/L)		konsentrasi etanol sampel (g/L)		Rata rata (g/L)	stdv
	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	rata rata	
0	0,000	0,000	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,318	0,336	0,40	0,44	1,98	2,19	2,09	0,15
12	0,408	0,389	0,60	0,56	3,02	2,80	2,91	0,16
24	0,563	0,533	0,96	0,89	4,80	4,45	4,63	0,25
48	0,608	0,583	1,06	1,00	5,31	5,02	5,17	0,21
72	0,623	0,598	1,10	1,04	5,48	5,20	5,34	0,20
96	0,626	0,603	1,10	1,05	5,52	5,26	5,39	0,18

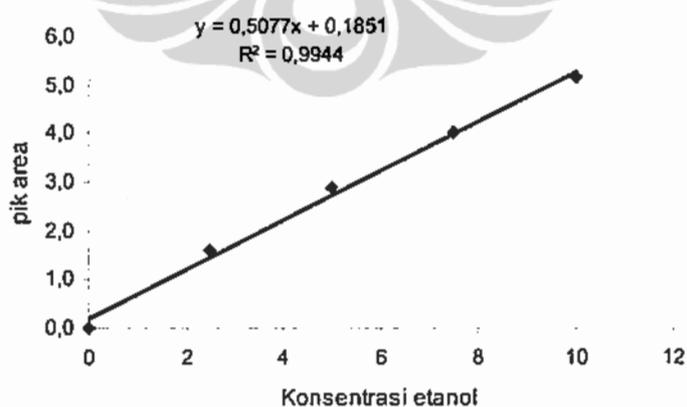
Lampiran 9

Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase Pada pH = 5 Pada Suhu 40°C

waktu inkubasi (jam)	Pick area sampel		Konsentrasi etanol sampel (5x pengenceran) (g/L)		konsentrasi etanol sampel (g/L)		Rata rata (g/L)	stdv
	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	rata rata	
0	0,000	0,000	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,311	0,332	0,38	0,43	1,90	2,15	2,03	0,18
12	0,410	0,390	0,61	0,56	3,04	2,81	2,93	0,16
24	0,555	0,529	0,94	0,88	4,70	4,40	4,55	0,21
48	0,602	0,582	1,05	1,00	5,24	5,01	5,13	0,16
72	0,623	0,596	1,10	1,04	5,49	5,18	5,34	0,22
96	0,624	0,603	1,10	1,05	5,50	5,26	5,38	0,17

Lampiran 10

Grafik Standar Konversi Bagas Menjadi Etanol Dengan Enzim Selulase-Selobiase



Lampiran 11**Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase Pada pH = 4**

waktu inkubasi (jam)	Pick area sampel		Konsentrasi etanol sampel (5x pengenceran) (g/L)		konsentrasi etanol sampel (g/L)		Rata rata (g/L)	stdv
	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	rata rata	
0	0,000	0,000	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,337	0,352	0,44	0,48	2,20	2,38	2,29	0,13
12	0,441	0,459	0,68	0,72	3,40	3,60	3,50	0,14
24	0,607	0,624	1,06	1,10	5,30	5,50	5,40	0,14
48	0,642	0,659	1,14	1,18	5,70	5,90	5,80	0,14
72	0,659	0,675	1,18	1,22	5,90	6,08	5,99	0,13
96	0,667	0,680	1,20	1,23	5,99	6,14	6,07	0,11

Lampiran 12**Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase Pada pH = 4,5**

waktu inkubasi (jam)	Pick area sampel		Konsentrasi etanol sampel (5x pengenceran) (g/L)		konsentrasi etanol sampel (g/L)		Rata rata (g/L)	stdv
	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	rata rata	
0	0,000	0,000	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,340	0,355	0,45	0,48	2,24	2,41	2,33	0,12
12	0,446	0,459	0,69	0,72	3,45	3,60	3,53	0,11
24	0,616	0,637	1,08	1,13	5,40	5,65	5,53	0,18
48	0,651	0,667	1,16	1,20	5,80	5,99	5,90	0,13
72	0,668	0,683	1,20	1,23	6,00	6,17	6,09	0,12
96	0,695	0,683	1,26	1,23	6,31	6,17	6,24	0,10

Lampiran 13**Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase Pada pH = 5**

waktu inkubasi (jam)	Pick area sampel		Konsentrasi etanol sampel (5x pengenceran) (g/L)		konsentrasi etanol sampel (g/L)		Rata rata (g/L)	stdv
	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	rata rata	
0	0,000	0,000	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,372	0,355	0,52	0,48	2,60	2,41	2,51	0,13
12	0,494	0,476	0,80	0,76	4,00	3,80	3,90	0,14
24	0,668	0,685	1,20	1,24	6,00	6,20	6,10	0,14
48	0,725	0,740	1,33	1,37	6,66	6,83	6,75	0,12
72	0,752	0,735	1,39	1,35	6,97	6,77	6,87	0,14
96	0,759	0,739	1,41	1,36	7,05	6,82	6,94	0,16

Lampiran 14

Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase Pada pH = 6

waktu inkubasi (jam)	Pick area sampel		Konsentrasi etanol sampel (5x pengenceran) (g/L)		konsentrasi etanol sampel (g/L)		Rata rata (g/L)	stdv
	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	rata rata	
0	0,000	0,000	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,340	0,355	0,45	0,48	2,24	2,41	2,33	0,12
12	0,446	0,459	0,69	0,72	3,45	3,60	3,53	0,11
24	0,668	0,656	1,20	1,17	6,00	5,86	5,93	0,10
48	0,711	0,694	1,30	1,26	6,49	6,30	6,39	0,13
72	0,719	0,702	1,32	1,28	6,59	6,39	6,49	0,14
96	0,726	0,703	1,33	1,28	6,67	6,40	6,53	0,19

Lampiran 15Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase Pada pH= 5
Setelah Perlakuan Awal Dengan Jamur Pelapuk Putih *L. Edodes*

waktu inkubasi (jam)	Pick area sampel		Konsentrasi etanol sampel (5x pengenceran) (g/L)		konsentrasi etanol sampel (g/L)		Rata rata (g/L)	stdv
	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	rata rata	
0	0,000	0,000	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,494	0,511	0,80	0,84	4,00	4,20	4,10	0,14
12	0,633	0,652	1,12	1,16	5,60	5,82	5,71	0,16
24	0,764	0,781	1,42	1,46	7,10	7,30	7,20	0,14
48	0,834	0,851	1,58	1,62	7,90	8,10	8,00	0,14
72	0,849	0,868	1,62	1,66	8,08	8,30	8,19	0,16
96	0,853	0,871	1,62	1,67	8,12	8,33	8,23	0,15

Lampiran 16Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase Pada pH = 5
Setelah Perlakuan Awal Dengan Jamur Pelapuk Putih *P. Ostreatus*

waktu inkubasi (jam)	Pick area sampel		Konsentrasi etanol sampel (5x pengenceran) (g/L)		konsentrasi etanol sampel (g/L)		Rata rata (g/L)	stdv
	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	rata rata	
0	0,000	0,000	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,476	0,497	0,76	0,81	3,80	4,04	3,92	0,17
12	0,624	0,607	1,10	1,06	5,50	5,30	5,40	0,14
24	0,729	0,712	1,34	1,30	6,70	6,51	6,61	0,13
48	0,834	0,816	1,58	1,54	7,90	7,70	7,80	0,14
72	0,834	0,851	1,58	1,62	7,90	8,10	8,00	0,14
96	0,842	0,860	1,60	1,64	8,00	8,20	8,10	0,14

Lampiran 17

Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase Pada pH = 5
Setelah Perlakuan Awal Dengan Jamur Pelapuk Putih *C. subvermispora*

waktu inkubasi (jam)	Pick area sampel		Konsentrasi etanol sampel (5x pengenceran) (g/L)		konsentrasi etanol sampel (g/L)		Rata rata (g/L)	stdv
	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	rata rata	
0	0,000	0,000	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,529	0,511	0,88	0,84	4,40	4,20	4,30	0,14
12	0,668	0,652	1,20	1,16	6,00	5,82	5,91	0,13
24	0,800	0,781	1,50	1,46	7,52	7,30	7,41	0,16
48	0,886	0,868	1,70	1,66	8,50	8,30	8,40	0,14
72	0,903	0,886	1,74	1,70	8,70	8,50	8,60	0,14
96	0,912	0,890	1,76	1,71	8,80	8,55	8,68	0,18

Lampiran 18

Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase Pada pH = 5
Setelah Perlakuan Awal Dengan *Steaming* Pada Suhu 160°C

waktu inkubasi (jam)	Pick area sampel		Konsentrasi etanol sampel (5x pengenceran) (g/L)		konsentrasi etanol sampel (g/L)		Rata rata (g/L)	stdv
	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	rata rata	
0	0,000	0,000	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,529	0,550	0,88	0,93	4,40	4,65	4,53	0,18
12	0,668	0,687	1,20	1,24	6,00	6,22	6,11	0,16
24	0,849	0,832	1,62	1,58	8,08	7,88	7,98	0,14
48	0,912	0,929	1,76	1,80	8,80	9,00	8,90	0,14
72	0,929	0,951	1,80	1,85	9,00	9,25	9,13	0,18
96	0,938	0,956	1,82	1,86	9,10	9,30	9,20	0,14

Lampiran 19

Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase Pada Ph = 5
Setelah Perlakuan Awal Dengan *Steaming* Pada Suhu 180°C

waktu inkubasi (jam)	Pick area sampel		Konsentrasi etanol sampel (5x pengenceran) (g/L)		konsentrasi etanol sampel (g/L)		Rata rata (g/L)	stdv
	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	rata rata	
0	0,000	0,000	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,572	0,550	0,98	0,93	4,90	4,65	4,78	0,18
12	0,701	0,687	1,28	1,24	6,38	6,22	6,30	0,11
24	0,849	0,873	1,62	1,67	8,08	8,35	8,22	0,19
48	0,982	1,008	1,92	1,98	9,60	9,90	9,70	0,21
72	0,999	1,020	1,96	2,01	9,80	10,04	9,92	0,17
96	1,008	1,022	1,98	2,01	9,90	10,06	9,98	0,11

Lampiran 20

Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase Pada pH = 5
Setelah Perlakuan Awal Dengan *Steaming* Pada Suhu 200°C

waktu inkubasi (jam)	Pick area sampel		Konsentrasi etanol sampel (5x pengenceran) (g/L)		konsentrasi etanol sampel (g/L)		Rata rata (g/L)	stdv
	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	rata rata	
0	0,000	0,000	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,581	0,555	1,00	0,94	5,00	4,70	4,85	0,21
12	0,706	0,738	1,29	1,36	6,44	6,80	6,62	0,25
24	0,899	0,877	1,73	1,68	8,65	8,40	8,53	0,18
48	0,964	0,994	1,88	1,95	9,40	9,74	9,57	0,24
72	1,005	0,985	1,97	1,93	9,87	9,64	9,76	0,16
96	1,002	0,986	1,97	1,93	9,83	9,65	9,74	0,13

Lampiran 21

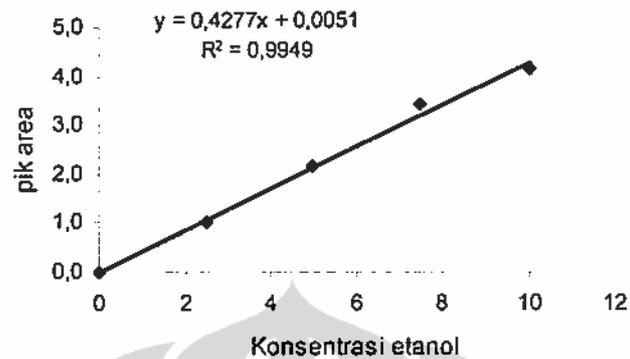
Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase Pada pH = 5 Setelah
Perlakuan Awal Dengan *Steaming* Pada Suhu 200°C

waktu inkubasi (jam)	Pick area sampel		Konsentrasi etanol sampel (5x pengenceran) (g/L)		konsentrasi etanol sampel (g/L)		Rata rata (g/L)	stdv
	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	rata rata	
0	0,000	0,000	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,581	0,555	1,00	0,94	5,00	4,70	4,85	0,21
12	0,706	0,738	1,29	1,36	6,44	6,80	6,62	0,25
24	0,899	0,877	1,73	1,68	8,65	8,40	8,53	0,18
48	0,964	0,994	1,88	1,95	9,40	9,74	9,57	0,24
72	1,005	0,985	1,97	1,93	9,87	9,64	9,76	0,16
96	1,002	0,986	1,97	1,93	9,83	9,65	9,74	0,13

Lampiran 22

Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase Pada pH = 5 Setelah
Kombinasi Perlakuan Awal Dengan *C. subvermispora* Dan *Steaming* Pada Suhu 180°C

waktu inkubasi (jam)	Pick area sampel		Konsentrasi etanol sampel (5x pengenceran) (g/L)		konsentrasi etanol sampel (g/L)		Rata rata (g/L)	stdv
	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	rata rata	
0	0,000	0,000	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,651	0,677	1,16	1,22	5,80	6,10	5,95	0,21
12	0,842	0,822	1,60	1,55	8,00	7,77	7,89	0,16
24	1,119	1,141	2,24	2,29	11,18	11,43	11,31	0,18
48	1,243	1,265	2,52	2,57	12,60	12,85	12,73	0,18
72	1,247	1,278	2,53	2,60	12,64	13,00	12,82	0,25
96	1,250	1,281	2,54	2,61	12,68	13,04	12,86	0,25

Lampiran 23**Grafik Standar Konversi Bagas Menjadi Etanol Dengan Enzim Xylanase****Lampiran 24****Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Xylanase Pada pH = 4**

waktu inkubasi (jam)	Pick area sampel		Konsentrasi etanol sampel (5x pengenceran) (g/L)		konsentrasi etanol sampel (g/L)		Rata rata (g/L)	stdv
	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	rata rata	
0	0,000	0,000	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,233	0,249	0,20	0,24	1,01	1,19	1,10	0,13
12	0,276	0,285	0,30	0,32	1,50	1,60	1,55	0,07
24	0,319	0,337	0,40	0,44	2,00	2,20	2,10	0,14
48	0,346	0,363	0,46	0,50	2,30	2,50	2,40	0,14
72	0,358	0,377	0,49	0,53	2,44	2,66	2,55	0,16
96	0,363	0,380	0,50	0,54	2,50	2,70	2,60	0,14

Lampiran 25**Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Xylanase Pada pH = 4,5**

waktu inkubasi (jam)	Pick area sampel		Konsentrasi etanol sampel (5x pengenceran) (g/L)		konsentrasi etanol sampel (g/L)		Rata rata (g/L)	stdv
	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	rata rata	
0	0,000	0,000	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,239	0,255	0,22	0,25	1,08	1,26	1,17	0,13
12	0,272	0,289	0,29	0,33	1,46	1,65	1,56	0,13
24	0,321	0,346	0,40	0,46	2,02	2,30	2,16	0,20
48	0,359	0,380	0,49	0,54	2,46	2,70	2,58	0,17
72	0,365	0,386	0,50	0,55	2,52	2,76	2,64	0,17
96	0,372	0,389	0,52	0,56	2,60	2,80	2,70	0,14



Lampiran 26

Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Xylanase Pada pH = 5

waktu inkubasi (jam)	Pick area sampel		Konsentrasi etanol sampel (5x pengenceran) (g/L)		konsentrasi etanol sampel (g/L)		Rata rata (g/L)	stdv
	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	rata rata	
0	0,000	0,000	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,244	0,261	0,23	0,27	1,14	1,33	1,24	0,13
12	0,285	0,304	0,32	0,36	1,60	1,82	1,65	0,16
24	0,335	0,354	0,44	0,48	2,18	2,40	2,29	0,16
48	0,367	0,386	0,51	0,55	2,55	2,76	2,66	0,15
72	0,377	0,394	0,53	0,57	2,66	2,86	2,76	0,14
96	0,386	0,399	0,55	0,58	2,77	2,92	2,84	0,10

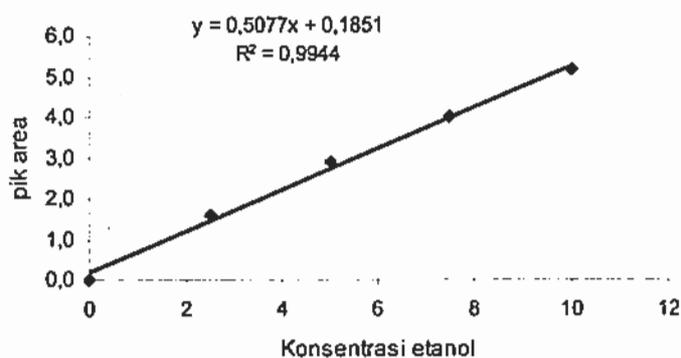
Lampiran 27

Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Xylanase Pada pH = 6

waktu inkubasi (jam)	Pick area sampel		Konsentrasi etanol sampel (5x pengenceran) (g/L)		konsentrasi etanol sampel (g/L)		Rata rata (g/L)	stdv
	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	rata rata	
0	0,000	0,000	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,241	0,257	0,22	0,26	1,10	1,28	1,19	0,13
12	0,276	0,293	0,30	0,34	1,50	1,70	1,60	0,14
24	0,329	0,351	0,42	0,47	2,11	2,36	2,24	0,18
48	0,363	0,380	0,50	0,54	2,50	2,70	2,60	0,14
72	0,372	0,389	0,52	0,56	2,60	2,80	2,70	0,14
96	0,376	0,399	0,53	0,58	2,65	2,92	2,78	0,19

Lampiran 28

Grafik Standar Konversi Bagas Menjadi Etanol Dengan Enzim Selulase-Xylanase



Lampiran 29**Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Xylanase Pada pH = 4**

waktu inkubasi (jam)	Pick area sampel		Konsentrasi etanol sampel (5x pengenceran) (g/L)		konsentrasi etanol sampel (g/L)		Rata rata (g/L)	stdv
	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	rata rata	
0	0,000	0,000	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,372	0,396	0,52	0,58	2,60	2,88	2,74	0,20
12	0,448	0,431	0,70	0,66	3,48	3,28	3,38	0,14
24	0,649	0,666	1,16	1,20	5,78	5,98	5,88	0,14
48	0,790	0,771	1,48	1,44	7,40	7,18	7,29	0,16
72	0,790	0,807	1,48	1,52	7,40	7,60	7,50	0,14
96	0,794	0,813	1,49	1,53	7,45	7,66	7,56	0,15

Lampiran 30**Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Xylanase Pada pH = 4,5**

waktu inkubasi (jam)	Pick area sampel		Konsentrasi etanol sampel (5x pengenceran) (g/L)		konsentrasi etanol sampel (g/L)		Rata rata (g/L)	stdv
	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	rata rata	
0	0,000	0,000	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,311	0,328	0,38	0,42	1,90	2,10	2,00	0,14
12	0,398	0,416	0,58	0,62	2,90	3,11	3,01	0,15
24	0,575	0,561	0,99	0,95	4,93	4,77	4,85	0,11
48	0,616	0,601	1,08	1,05	5,40	5,23	5,31	0,12
72	0,633	0,617	1,12	1,08	5,60	5,42	5,51	0,13
96	0,621	0,637	1,09	1,13	5,46	5,64	5,55	0,13

Lampiran 31**Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Xylanase Pada pH = 5**

waktu inkubasi (jam)	Pick area sampel		Konsentrasi etanol sampel (5x pengenceran) (g/L)		konsentrasi etanol sampel (g/L)		Rata rata (g/L)	stdv
	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	rata rata	
0	0,000	0,000	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,422	0,405	0,64	0,60	3,18	2,98	3,08	0,14
12	0,506	0,487	0,83	0,78	4,14	3,92	4,03	0,16
24	0,710	0,688	1,30	1,25	6,48	6,23	6,36	0,18
48	0,854	0,843	1,63	1,60	8,14	8,01	8,08	0,09
72	0,886	0,869	1,70	1,66	8,50	8,31	8,45	0,13
96	0,903	0,885	1,74	1,70	8,70	8,49	8,60	0,15

Lampiran 32

Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Xylanse Pada pH = 6

waktu inkubasi (jam)	Pick area sampel		Konsentrasi etanol sampel (5x pengenceran) (g/L)		konsentrasi etanol sampel (g/L)		Rata rata (g/L)	stdv
	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	rata rata	
0	0,000	0,000	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,407	0,391	0,60	0,56	3,01	2,82	2,92	0,13
12	0,450	0,425	0,70	0,64	3,50	3,21	3,36	0,21
24	0,685	0,666	1,24	1,20	6,20	5,98	6,09	0,16
48	0,784	0,812	1,47	1,53	7,33	7,65	7,49	0,23
72	0,806	0,834	1,52	1,58	7,58	7,91	7,75	0,23
96	0,816	0,844	1,54	1,60	7,70	8,02	7,86	0,23

Lampiran 33Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Xylanse Pada pH = 5 Setelah Perlakuan Awal Dengan Jamur Pelapuk Putih *C. subvermispora*

waktu inkubasi (jam)	Pick area sampel		Konsentrasi etanol sampel (5x pengenceran) (g/L)		konsentrasi etanol sampel (g/L)		Rata rata (g/L)	stdv
	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	rata rata	
0	0,000	0,000	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,537	0,520	0,90	0,86	4,50	4,30	4,40	0,14
12	0,678	0,659	1,22	1,18	6,11	5,90	6,01	0,15
24	0,851	0,828	1,62	1,57	8,10	7,84	7,97	0,18
48	0,975	0,999	1,90	1,96	9,52	9,80	9,66	0,20
72	0,996	1,015	1,95	2,00	9,77	9,98	9,88	0,15
96	1,001	1,022	1,96	2,01	9,82	10,06	9,94	0,17

Lampiran 34Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Xylanse Pada pH= 5 Setelah Perlakuan Awal Dengan *Steaming* Pada Suhu 180°C

waktu inkubasi (jam)	Pick area sampel		Konsentrasi etanol sampel (5x pengenceran) (g/L)		konsentrasi etanol sampel (g/L)		Rata rata (g/L)	stdv
	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	rata rata	
0	0,000	0,000	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,582	0,561	1,00	0,95	5,01	4,77	4,89	0,17
12	0,701	0,729	1,28	1,34	6,38	6,70	6,54	0,23
24	0,921	0,904	1,78	1,74	8,90	8,71	8,81	0,13
48	1,031	1,045	2,03	2,07	10,17	10,33	10,25	0,11
72	1,037	1,064	2,05	2,11	10,24	10,55	10,40	0,22
96	1,043	1,065	2,06	2,11	10,30	10,56	10,43	0,18

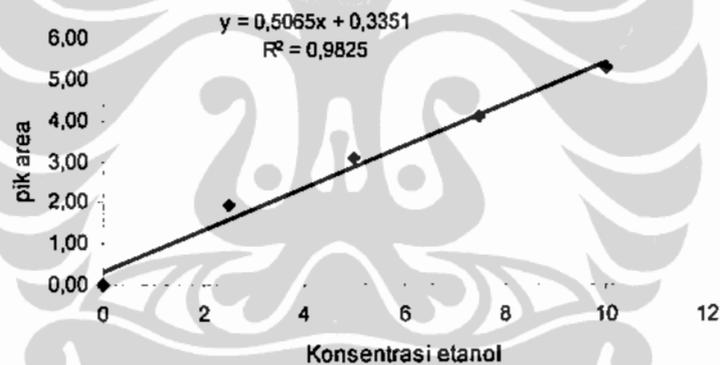
Lampiran 35

Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Xylanase Pada pH = 5 Setelah Kombinasi Perlakuan Awal Dengan Jamur Pelapuk Putih *C. subvermispora* Dan *Steaming* Pada Suhu 180°C

waktu inkubasi (jam)	Pick area sampel		Konsentrasi etanol sampel (5x pengenceran) (g/L)		konsentrasi sampel (g/L)		Rata rata (g/L)	stdv
	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	rata rata	
0	0,000	0,000	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,661	0,684	1,18	1,24	5,92	6,18	6,05	0,18
12	0,842	0,861	1,60	1,64	8,00	8,21	8,11	0,15
24	1,130	1,149	2,26	2,30	11,30	11,52	11,41	0,16
48	1,287	1,265	2,62	2,57	13,10	12,85	12,98	0,18
72	1,298	1,315	2,65	2,69	13,23	13,43	13,33	0,14
96	1,304	1,330	2,66	2,72	13,30	13,60	13,45	0,21

Lampiran 36

Grafik Standar Konversi Bagas Menjadi Etanol Dengan Enzim Selulase-Selobiase-Xylanase

**Lampiran 37**

Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase-Xylanase Pada pH= 4

waktu inkubasi (jam)	Pick area sampel		Konsentrasi etanol sampel (5x pengenceran) (g/L)		konsentrasi etanol sampel (g/L)		Rata rata (g/L)	stdv
	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	rata rata	
0	0,000	0,000	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,391	0,413	0,56	0,62	2,82	3,08	2,95	0,18
12	0,492	0,511	0,80	0,84	3,98	4,20	4,09	0,16
24	0,718	0,696	1,32	1,26	6,58	6,32	6,45	0,18
48	0,881	0,861	1,69	1,64	8,45	8,21	8,33	0,17
72	0,891	0,872	1,71	1,67	8,56	8,34	8,45	0,16
96	0,903	0,877	1,74	1,68	8,70	8,40	8,55	0,21

Lampiran 38

Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase-Xylanase Pada pH = 4,5

waktu inkubasi (jam)	Pick area sampel		Konsentrasi etanol sampel (5x pengenceran) (g/L)		konsentrasi etanol sampel (g/L)		Rata rata (g/L)	stdv
	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	rata rata	
0	0,000	0,000	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,405	0,425	0,60	0,64	2,98	3,21	3,10	0,16
12	0,532	0,511	0,89	0,84	4,44	4,20	4,32	0,17
24	0,738	0,712	1,36	1,30	6,80	6,50	6,65	0,21
48	0,912	0,890	1,76	1,71	8,80	8,55	8,68	0,18
72	0,948	0,929	1,84	1,80	9,21	9,00	9,11	0,15
96	0,964	0,940	1,88	1,82	9,40	9,12	9,26	0,20

Lampiran 39

Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase-Xylanase Pada pH = 5

waktu inkubasi (jam)	Pick area sampel		Konsentrasi etanol sampel (5x pengenceran) (g/L)		konsentrasi etanol sampel (g/L)		Rata rata (g/L)	stdv
	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	rata rata	
0	0,000	0,000	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,427	0,407	0,65	0,60	3,24	3,01	3,13	0,16
12	0,534	0,513	0,89	0,84	4,46	4,22	4,34	0,17
24	0,753	0,767	1,40	1,43	6,98	7,14	7,06	0,11
48	0,940	0,961	1,82	1,87	9,12	9,36	9,24	0,17
72	0,970	0,990	1,89	1,94	9,47	9,70	9,59	0,16
96	0,990	1,015	1,94	2,00	9,70	9,98	9,84	0,20

Lampiran 40

Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase-Xylanase Pada pH = 6

waktu inkubasi (jam)	Pick area sampel		Konsentrasi etanol sampel (5x pengenceran) (g/L)		konsentrasi etanol sampel (g/L)		Rata rata (g/L)	stdv
	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	rata rata	
0	0,000	0,000	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,380	0,405	0,54	0,60	2,70	2,98	2,84	0,20
12	0,495	0,481	0,80	0,77	4,01	3,86	3,94	0,11
24	0,753	0,731	1,40	1,34	6,98	6,72	6,85	0,18
48	0,913	0,891	1,76	1,71	8,81	8,56	8,69	0,18
72	0,930	0,949	1,80	1,84	9,01	9,22	9,12	0,15
96	0,954	0,942	1,86	1,83	9,28	9,14	9,21	0,10

Lampiran 41

Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase-Xylanse Pada pH = 5 Setelah Perlakuan Awal Dengan Jamur Pelapuk Putih *C. subvermispora*

waktu inkubasi (jam)	Pick area sampel		Konsentrasi etanol sampel (5x pengenceran) (g/L)		konsentrasi etanol sampel (g/L)		Rata rata (g/L)	stdv
	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	rata rata	
0	0,000	0,000	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,503	0,492	0,82	0,80	4,11	3,98	4,05	0,09
12	0,642	0,659	1,14	1,18	5,70	5,90	5,80	0,14
24	0,903	0,879	1,74	1,68	8,70	8,42	8,56	0,20
48	1,138	1,163	2,28	2,34	11,40	11,68	11,54	0,20
72	1,175	1,199	2,36	2,42	11,82	12,10	11,96	0,20
96	1,206	1,224	2,44	2,48	12,18	12,38	12,28	0,14

Lampiran 42

Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase-Xylanse Pada pH = 5 Setelah Perlakuan Awal Dengan *Steaming* Pada Suhu 180°C

waktu inkubasi (jam)	Pick area sampel		Konsentrasi etanol sampel (5x pengenceran) (g/L)		konsentrasi etanol sampel (g/L)		Rata rata (g/L)	stdv
	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	rata rata	
0	0,000	0,000	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,582	0,561	1,00	0,95	5,01	4,77	4,89	0,17
12	0,784	0,755	1,47	1,40	7,33	7,00	7,17	0,23
24	1,026	1,006	2,02	1,98	10,11	9,88	10,00	0,16
48	1,259	1,239	2,56	2,51	12,78	12,55	12,67	0,16
72	1,335	1,363	2,73	2,80	13,66	13,98	13,82	0,23
96	1,358	1,376	2,78	2,82	13,92	14,12	14,02	0,14

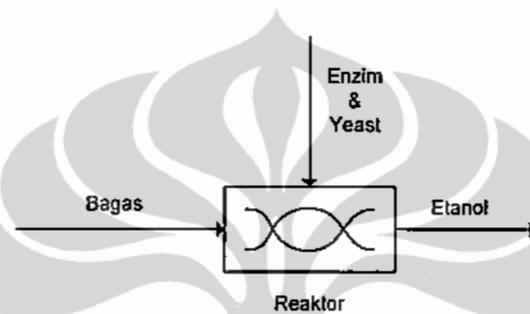
Lampiran 43

Produksi Etanol Dari Bagas Dengan Enzim Selulase-Selobiase-Xylanse Pada pH = 5 Setelah Kombinasi Perlakuan Awal Dengan Jamur Pelapuk Putih *C. subvermispora* Dan *Steaming* Pada Suhu 180°C

waktu inkubasi (jam)	Pick area sampel		Konsentrasi etanol sampel (5x pengenceran) (g/L)		konsentrasi sampel (g/L)		Rata rata (g/L)	stdv
	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	Percob 1	Percob 2	rata rata	
0	0,000	0,000	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,738	0,713	1,36	1,30	6,80	6,52	6,66	0,20
12	0,947	0,965	1,84	1,88	9,20	9,41	9,31	0,15
24	1,321	1,299	2,70	2,65	13,50	13,24	13,37	0,18
48	1,625	1,602	3,40	3,34	16,98	16,72	16,85	0,18
72	1,710	1,693	3,59	3,55	17,96	17,76	17,86	0,14
96	1,738	1,721	3,66	3,62	18,28	18,08	18,18	0,14

Lampiran 44 Perhitungan Secara Teori Konversi Bagas Menjadi Etanol

Perhitungan secara teoritis dilakukan dengan melakukan asumsi 100% bagas sebanyak 100 gram akan diubah menjadi etanol dengan hidrolisis enzim. Proses yang digunakan adalah SSF dengan yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Diketahui bagas terdiri dari 50% selulosa, 20% hemiselulosa, maka hanya selulosa dan hemiselulosa yang dapat terkonversi menjadi etanol.



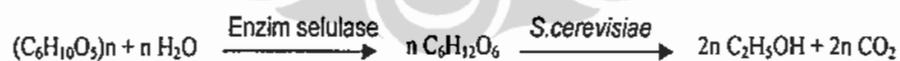
Gambar 1. Ilustrasi sederhana reaktor untuk konversi Etanol dari bagas dengan asumsi sistem batch dan tidak ada akumulasi di dalam sistem

Maka konversi etanol dari bagas secara teoritis adalah sebagai berikut:

A. Selulosa

Jumlah selulosa dalam bagas = 50% x 100 gr = 50 gram

Reaksi yang terjadi secara sempurna



Mr selulosa = (162)n gram/mol

Mr air = (18) gram/mol

Mr glukosa = (180) gram/mol

Mr etanol = (46) gram/mol

Mr CO₂ = (44) gram/mol

Densitas etanol = 0,79 gram/mL

$$\text{Mol selulosa} = \frac{\text{berat selulosa}}{\text{Mr selulosa}} = \frac{50 \text{ gr}}{(162)n \text{ gr/mol}} = 0,309/n \text{ mol selulosa}$$

$$\text{Mol air (minimal)} = (0,309/n)n \text{ mol} = 0,309 \text{ mol}$$

$$\text{Massa air (minimal)} = 0,309 \text{ mol} \times 18 \text{ gr/mol} = 5,562 \text{ gr}$$

$$\text{Volume air (minimal)} = \frac{5,562 \text{ gram air.}}{1 \text{ gram/ml}} = 5,562 \text{ mL air}$$

Jadi Massa air (minimal) yang dibutuhkan untuk mengkonversi 50 gram Selulosa yang terkandung dalam 100 gram bagas adalah 5,562 gram = 5,562 mL.

Kemudian,

$$\text{Mol glukosa} = n \times \text{mol selulosa} = n \times (0,309/n) \text{ mol glukosa} = 0,309 \text{ mol.}$$

$$\text{Mol etanol yang terbentuk adalah} = \frac{2n}{1} \times 0,309/n \text{ mol glukosa} = 0,618 \text{ mol}$$

etanol

$$\text{Mol CO}_2 = \text{mol etanol} = 0,618 \text{ mol.}$$

$$\text{Berat etanol yang dihasilkan} = 0,618 \text{ mol} \times 46 \text{ gram/mol} = 28,428 \text{ gram etanol.}$$

$$\text{Berat CO}_2 \text{ yang dihasilkan} = 0,618 \text{ mol} \times 44 \text{ gram/mol} = 27,192 \text{ gram}$$

$$\text{Volume etanol yang dihasilkan} = \frac{28,428 \text{ gram etanol.}}{0,79 \text{ gram/ml}} = 35,984 \text{ mL}$$

$$\text{Yield etanol (berbasis selulosa) adalah} = \frac{28,428 \text{ gram etanol.}}{50 \text{ gr}} \times 100 \% =$$

$$56,856 \%$$

Konversi Etanol dari Selulosa (berbasis bagas) =

$$\frac{28,428 \text{ gr etanol}}{100 \text{ gr bagas}} \times 100 \% = 28,43 \%$$

B. Hemiselulosa

$$\text{Jumlah hemiselulosa (xilan) dalam bagas} = 20\% \times 100 \text{ gr} = 20 \text{ gr}$$

Reaksi yang terjadi



$$\text{Mr hemiselulosa} = (132)n \text{ gram/mol}$$

$$\text{Mr air} = (18) \text{ gram/mol}$$

Mr xylosa = (150) gram/mol

Mr etanol = (46) gram/mol

Mr CO₂ = (44) gram/mol

Densitas etanol = 0,79 gram/mL

$$\text{Mol xilan (hemicelulose)} = \frac{\text{berat hemicelulosa}}{\text{Mr selulosa}} = \frac{20 \text{ gr}}{(132)n \text{ gr/mol}} = 0,152/n$$

mol xilan

$$\text{Mol air (minimal)} = 3n/3 \times (0,152/n) \text{ mol} = 0,152 \text{ mol}$$

$$\text{Massa air (minimal)} = 0,152 \text{ mol} \times 18 \text{ gr/mol} = 2,736 \text{ gr}$$

$$\text{Volume air (minimal)} = \frac{2,736 \text{ gram air.}}{1 \text{ gram/ml}} = 2,736 \text{ mL air}$$

Jika melihat reaksi, maka massa air (minimal) yang dibutuhkan untuk mengkonversi 20 gram xilan yang terkandung dalam 100 gram bagas adalah 2,736 gram = 2,736 mL.

$$\text{Mol xylosa} = 3n/3 \times \text{mol hemicelulosa} = 0,152/n \text{ mol glukosa}$$

$$\text{Mol etanol yang terbentuk adalah} = \frac{5n}{3} \times 0,152/n \text{ mol glukosa} = 0,253 \text{ mol}$$

etanol

$$\text{Mol CO}_2 = \text{mol etanol} = 0,253 \text{ mol.}$$

$$\text{Berat etanol yang dihasilkan} = 0,253 \text{ mol} \times (46) \text{ gram/mol} = 11,638 \text{ gram etanol.}$$

$$\text{Berat CO}_2 \text{ yang dihasilkan} = 0,253 \text{ mol} \times (44) \text{ gram/mol} = 11,132 \text{ gram}$$

$$\text{Volume etanol yang dihasilkan} = \frac{11,368 \text{ gram etanol.}}{0,79 \text{ gram/ml}} = 14,389 \text{ mL}$$

$$\text{Yield etanol (berbasis xilan) adalah} = \frac{11,368 \text{ gram etanol.}}{20 \text{ gr}} \times 100\% = 56,84\%$$

$$\text{Konversi etanol dari xilan (berbasis bagas)} = \frac{11,368 \text{ gr etanol.}}{100 \text{ gr bagas}} \times 100\% =$$

11,368 %

C. Berbasis Selulosa dan Hemiselulosa (Holoselulosa)

Perhitungan kombinasi selulosa dan hemiselulosa (holoselulosa) digunakan sebagai acuan untuk membandingkan yield etanol jika menggunakan enzim selulase-xylanase atau selulase-Selobiase dan xylanase. Yield etanol secara teori dihitung berdasarkan gabungan reaksi selulosa dan hemiselulosa menjadi glukosa dan xylosa tersebut, maka hasil perhitungan secara teori sebagai berikut:

$$\text{Yield etanol (berbasis cellulosa) adalah} = \frac{28,428 \text{ gram etanol.}}{50 \text{ gr}} \times 100 \%$$

$$= 56,856 \%$$

$$\text{Yield etanol (berbasis xilan) adalah} = \frac{11,368 \text{ gram etanol.}}{20 \text{ gr}} \times 100 \% = 56,84 \%$$

$$\text{Yield etanol (berbasis holoselulosa) =} \\ \frac{\text{yield etanol selulosa} + \text{yield etanol xylan}}{\text{komposisi holoselulosa (selulosa+xylan)}} \times 100 \%$$

$$\text{Yield etanol (berbasis xilan) adalah} = \\ \frac{(28,428+11,368) \text{ gram etanol.}}{(50+20) \text{ gr}} \times 100 \% = 56,84 \%$$

Konversi Etanol dari Celulosa (berbasis bagas) =

$$\frac{28,428 \text{ gr etanol}}{100 \text{ gr bagas}} \times 100 \% = 28,43 \%$$

$$\text{Konversi etanol dari xilan (berbasis bagas) =} \frac{11,368 \text{ gr etanol.}}{100 \text{ gr bagas}} \times 100 \%$$

$$= 11,368 \%$$

Konversi etanol dari holoselulosa (berbasis bagas) =

$$\frac{\text{yield etanol selulosa} + \text{yield etanol xylan}}{\text{jumlah bagas}} \times 100 \%$$

Konversi Etanol dari Holoselulosa (berbasis bagas) =

$$\frac{(28,428 + 11,368) \text{ gr etanol}}{100 \text{ gr bagas}} \times 100 \%$$

$$= 39,89 \% \text{ (Maksimum konversi etanol)}$$