



**UNIVERSITAS INDONESIA**

***PRETREATMENT* DAN HIDROLISIS TANDAN KOSONG KELAPA  
SAWIT (TKKS) DENGAN METODE *STEAMING* DAN ENZIMATIK**

**SKRIPSI**

**RUDY SURYA SITORUS**

**0806368105**

**FAKULTAS TEKNIK**

**DEPARTEMEN TEKNIK KIMIA**

**DEPOK**

**JUNI 2011**

## PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Saya mahasiswa Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Indonesia

Nama Mahasiswa : Rudy Surya Sitorus

NPM : 0806268105

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang saya buat dengan judul “*Pretreatment Dan Hidrolisis Tandan Kosong Kelapa Sawit Dengan Metode Steaming Dan Enzimatis*” adalah :

1. Dibuat dan diselesaikan sendiri dengan menggunakan hasil kuliah, tinjauan lapangan dan buku-buku serta jurnal-jurnal acuan yang tertera didalam referensi pada karya skripsi saya.
2. Bukan merupakan duplikasi karya tulis yang sudah dipublikasikan atau pernah dipakai untuk mendapatkan gelar sarjana dari universitas lain, kecuali bagian yang sumber informasinya dicantumkan sebagaimana mestinya.
3. Bukan merupakan karya terjemahan dari kumpulan buku atau jurnal acuan yang tertera didalam referensi pada karya skripsi saya.

Kalau terbukti saya tidak memenuhi apa yang dinyatakan diatas, maka karya skripsi saya ini batal.

Depok, 10 Juni 2011

Yang Membuat Pernyataan



Rudy Surya Sitorus


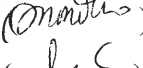

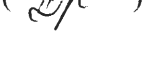
## HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :

Nama : Rudy Surya Sitorus  
NPM : 0806368105  
Program Studi : Teknik Kimia  
Judul Skripsi : *PRETREATMENT* DAN HIDROLISIS  
TANDAN KOSONG KELAPA SAWIT  
(TKKS) DENGAN METODE *STEAMING*  
DAN ENZIMATIK

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

### DEWAN PENGUJI

Pembimbing : Dr.-Ing. Misri Gozan., M.Tech (  )  
Penguji 1 : Prof. Anondho Wijanarko., M.Eng (  )  
Penguji 2 : Ir. Mahmud Sudibandriyo., M.Sc, P.hD (  )  
Penguji 3 : Dianursanti, ST., MT (  )

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 22 Juni 2011

## KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat dan rahmat-Nya, saya dapat menyelesaikan skripsi ini. Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Teknik Jurusan Teknik Kimia pada Fakultas Teknik Universitas Indonesia. Saya menyadari bahwa, tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyusunan skripsi ini, sangatlah sulit bagi saya untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, saya mengucapkan terima kasih kepada:

1. DR.Ing Misri Gozan.,M.Tech selaku dosen pembimbing yang telah menyediakan waktu, tenaga dan pikiran untuk mengarahkan saya dalam penyusunan skripsi ini.
2. Orang tua dan keluarga saya yang telah memberikan dukungan material dan moral.
3. Teman-teman mahasiswa/i dari jurusan Teknik Kimia UI, khususnya dari kelas ekstensi 2008 atas dukungan semangat dan bantuan informasi yang telah diberikan.
4. Teman-teman di laboratorium bioproses yang telah melakukan penelitian bersama- sama dalam suka dan duka.

Akhir kata, saya berharap Tuhan Yang Maha Esa berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu, khususnya bioproses.

Depok, 10 Juni 2011  
Penulis

Rudy Surya Sitorus

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI  
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertandatangan dibawah ini :

Nama : Rudy Surya Sitorus  
NPM : 0806368105  
Program Studi : Ekstensi  
Departemen : Teknik Kimia  
Fakultas : Teknik  
Jenis karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, meyetujui untuk diberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Non Eksklusif** (Non-Exclusive Royalty Free Right), atas karya ilmiah saya yang berjudul :

*“Pretreatment dan Hidrolisis Tandan Kosong Kelapa Sawit Dengan metode Steaming Dan Enzimatik”*.

Beserta perangkat ada yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengolah dalam bentuk pangkalan data (data base), merawat dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai Hak Cipta.

Demikian pernyataan, saya buat dengan sebenarnya.

Depok, 22 Juni 2011



Rudy Surya Sitorus

## ABSTRAK

Nama : Rudy Surya Sitorus

Judul Skripsi : *Pretreatment* dan Hidrolisis Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS)  
Dengan Metode *Steaming* Dan Enzimatik

Pengembangan bioetanol dari material lignoselulosa adalah dengan mengkonversi seluruh polisakarida yang ada menjadi monosakarida dengan memanfaatkan berbagai jenis enzim. Pada penelitian ini menggunakan metode *steaming* dan enzimatik. *Steaming* bertujuan untuk menghilangkan lignin yang dapat menghambat akses enzim dalam memecah polisakarida menjadi monosakarida, sehingga menyebabkan hidrolisis tidak optimal.

Rumusan masalah dalam seminar ini antara lain, mencari waktu optimum yang diperlukan untuk melakukan hidrolisis, ukuran terbaik dari TKKS agar diperoleh glukosa terbanyak dari hasil hidrolisis, suhu optimum hidrolisis, dan yang terakhir adalah komposisi enzim yang terbaik pada saat hidrolisis.

Metode pengujian pada penelitian ini meliputi uji komposisi (uji lignin dan uji selulosa) dan uji kadar glukosa. % Glukosa tertinggi yang diperoleh dari hidrolisis enzim selobiase adalah pada kondisi suhu 50°C, pH 5 dan ukuran TKKS 63µM dengan % yield sebesar 6.808% dari berat kering TKKS dan untuk enzim selulase pada kondisi 37°C, pH 5 dan ukuran TKKS 63µM dengan % yield sebesar 13.693% dari 0.5 gr berat kering TKKS. Dan untuk kombinasi kedua enzim, % Glukosa tertinggi yang diperoleh dari kombinasi enzim selulase dan enzim selobiase dengan perbandingan 2:1 yang memberikan % yield sebesar 23.561% dari 0.5 g berat kering TKKS.

Kata kunci : TKKS, Hidrolisis Enzimatik, Konversi, Bioetanol

## ABSTRACT

Name : Rudy Surya Sitorus

Thesis : Pretreatment and Hidrolysis Of Palm Empty Fruit Bunch By Steaming and Enzymatic

Development of bioethanol from lignocellulosic materials is to convert all existing polysaccharides into monosaccharides by utilizing various types of enzymes. In this study using Steaming and enzymatic methods. Steaming aims to remove lignin, which can inhibit the access of enzymes in the breakdown of polysaccharides into monosaccharides, thus causing hydrolysis is not optimal.

Formulation of the problem in this seminar, among others, to find the optimum time required to perform the hydrolysis, the best measure of glucose TKKS order to obtain most of the results of hydrolysis, the optimum temperature hydrolysis, and the last is the best composition of the enzyme during hydrolysis.

Testing methods in the study include composition test (test of lignin and cellulose test) and test glucose levels. % Highest Glucose obtained from the enzyme hydrolysis selobiase is at 50oC temperature conditions, pH 5 and 63μM TKKS size with the% yield of 6808% of dry weight for the enzyme cellulase TKKS and conditions 37 ° C, pH 5 and 63μM TKKS size with the% yield of 13 693 % of 0.5 g dry weight TKKS. And for the combination of the two enzymes, the highest% Glucose obtained from the combination of cellulase enzymes and enzyme selobiase a 2:1 which gives% yield of 23,561% from 0.5 g dry weight TKKS.

Keyword : Palm Empty Fruit Bunch, Hydrolysis of Enzimatic, Convection, Bioethanol

## DAFTAR ISI

JUDUL .....	i
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI .....	ii
PENGESAHAN .....	iii
KATA PENGANTAR .....	iv
PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI .....	v
ABSTRAK .....	vi
ABSTRACT .....	vii
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR GAMBAR .....	x
DAFTAR TABEL .....	xii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiii
<b>1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang Masalah .....	1
1.2 Perumusan Masalah .....	5
1.3 Tujuan Penelitian .....	6
1.4 Ruang Lingkup Penelitian .....	6
1.5 Batasan Masalah .....	7
1.6 Manfaat Penelitian .....	7
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>9</b>
2.1 Etanol .....	9
2.2 Reaksi Hidrolisis Enzimatis .....	12
2.3 Mekanisme Kerja Enzim .....	14
2.4 Lignoselulosa .....	15
2.4.1 Lignin .....	17
2.4.2 Selulosa .....	19
2.4.3 Hemiselulosa .....	22
<b>3. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>25</b>
3.1 Skema Penelitian .....	25
3.2 Variabel .....	26
3.3 Prosedur Percobaan .....	26
3.3.1 Tahapan Percobaan .....	26
3.3.2 Pengujian Komposisi .....	26
3.3.2.1 Pengujian Lignin .....	26
3.3.2.2 Pengujian Selulosa .....	27
3.3.2.3 Pengujian Total Gula .....	30



3.3.3 Tahapan Hidrolisis .....	31
<b>4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>33</b>
4.1 Pengujian Komposisi Kimia Tandan Kosong Kelapa Sawit .....	34
4.2 Pengujian Kadar Glukosa .....	34
4.2.1 Hubungan Waktu Hidrolisis Terhadap % Glukosa .....	34
4.2.2 Hubungan Ukuran TKKS Terhadap % Glukosa .....	37
4.2.3 Penentuan Suhu Optimum Pada Enzim Selobiase .....	39
4.2.4 Penentuan Optimalisasi pH Pada Enzim Selobiase .....	39
4.2.5 Penentuan Besarnya Hidrolisis Enzim Selulase .....	40
4.2.6 Penentuan Besarnya Hidrolisis Kombinasi Enzim .....	41
4.2.7 Aktivitas Enzim Selulase Dan Selobiase .....	42
4.2.8 Perbandingan Hasil Penelitian .....	44
<b>5. KESIMPULAN &amp; SARAN .....</b>	<b>46</b>
5.1 Kesimpulan .....	46
5.2 Saran .....	47
<b>DAFTAR REFERENSI .....</b>	<b>48</b>
<b>LAMPIRAN</b>	

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 1.1</b>	Luas dan produksi kelapa sawit di Indonesia .....	1
<b>Gambar 2.1</b>	Teori Mekanisme Kerja Enzim .....	14
<b>Gambar 2.2</b>	Tandan Kosong Kelapa Sawit .....	16
<b>Gambar 2.3</b>	Struktur Mikroskopi Dari Kayu .....	17
<b>Gambar 2.4</b>	Lignin .....	19
<b>Gambar 2.5</b>	Struktur Selobiosa .....	20
<b>Gambar 2.6</b>	Struktur Selulosa .....	20
<b>Gambar 2.7</b>	Model Molekul Selulosa .....	20
<b>Gambar 2.8</b>	Gula Penyusun Hemiselulosa .....	23
<b>Gambar 2.9</b>	Struktur Hemiselulosa .....	24
<b>Gambar 3.1</b>	Skema Penelitian .....	25
<b>Gambar 4.1.a</b>	Hubungan Waktu Hidrolisa dengan % Glukosa Pada .....	35
	suhu 27°C Dan Ukuran 63 µM Pada Berbagai pH (4,4.5, dan 5)	
<b>Gambar 4.1.b</b>	Hubungan Waktu Hidrolisa dengan % Glukosa Pada .....	36
	suhu 37°C Dan Ukuran 63 µM Pada Berbagai pH (4,4.5, dan 5)	
<b>Gambar 4.1.c</b>	Hubungan Waktu Hidrolisa dengan % Glukosa Pada .....	36
	suhu 50°C Dan Ukuran 63 µM Pada Berbagai pH (4,4.5, dan 5)	
<b>Gambar 4.2.a</b>	Ukuran TKKS vs % Glukosa Pada pH 4 Dan Jam .....	37
	ke-45 Diberbagai suhu (27,37 dan 50°C)	
<b>Gambar 4.2.b</b>	Ukuran TKKS vs % Glukosa Pada pH 4.5 Dan Jam .....	38
	ke-45 Diberbagai suhu (27,37 dan 50°C)	
<b>Gambar 4.2.b</b>	Ukuran TKKS vs % Glukosa Pada pH 4,5 Dan Jam .....	38

	ke-45 Diberbagai suhu (27,37dan 50°C)	
<b>Gambar 4.2.c</b>	Ukuran TKKS vs % Glukosa Pada pH 5 Dan Jam ..... ke-45 Diberbagai suhu (27,37dan 50°C)	38
<b>Gambar 4.3</b>	Penentuan Suhu Optimum Hidrolisis .....	39
<b>Gambar 4.4</b>	Hubungan pH Terhadap % Glukosa .....	40
<b>Gambar 4.5</b>	Ilustrasi Hubungan % Yield Glukosa Dengan pH .....	40
<b>Gambar 4.6</b>	Konversi TKKS menjadi Glukosa Dengan Enzim Selulase .....	41
<b>Gambar 4.7</b>	Besarnya % Glukosa Yang Dihasilkan pada Kombinasi ..... Enzim Selulase dan Selobiase	42
<b>Gambar 4.8</b>	Aktivitas Enzim Selulase Dan Selobiase diDalam TKKS .....	42
<b>Gambar 4.9</b>	Mekanisme Kerja Enzim .....	43
<b>Gambar 4.10</b>	Jenis Dan Aksi Enzim Selulase .....	43
<b>Gambar 4.11</b>	Aksi Enzim Selobiase .....	44

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 1.1</b>	Sifat-sifat Bioetanol Dan Gasoline .....	3
<b>Tabel 1.2</b>	Rincian Penelitian Sebelumnya .....	4
<b>Tabel 2.1</b>	Perbedaan Petroleum Dengan Etanol .....	10
<b>Tabel 2.2</b>	Program Pengembangan Dan Penggunaan Biofuel .....	11
	Dibeberapa Negara	
<b>Tabel 2.3</b>	Komponen Kimia Tandan Kosong Kelapa Sawit .....	16
<b>Tabel 4.1</b>	Hasil Uji Komposisi TKKS .....	34
<b>Tabel 4.2</b>	Perbandingan Hasil Penelitian .....	44

## DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1** Perhitungan Uji Komposisi Kimia
- Lampiran 2** Pembuatan Kurva Standar Dan Contoh Perhitungan Total Gula
- Lampiran 3** Hidrolisis Enzim Selobiase
- Lampiran 4** Hidrolisis Kombinasi Enzim
- Lampiran 5** Perhitungan Secara Teoritis Hidrolisis Selulase
- Lampiran 6** Gambar Tahap Proses Penelitian

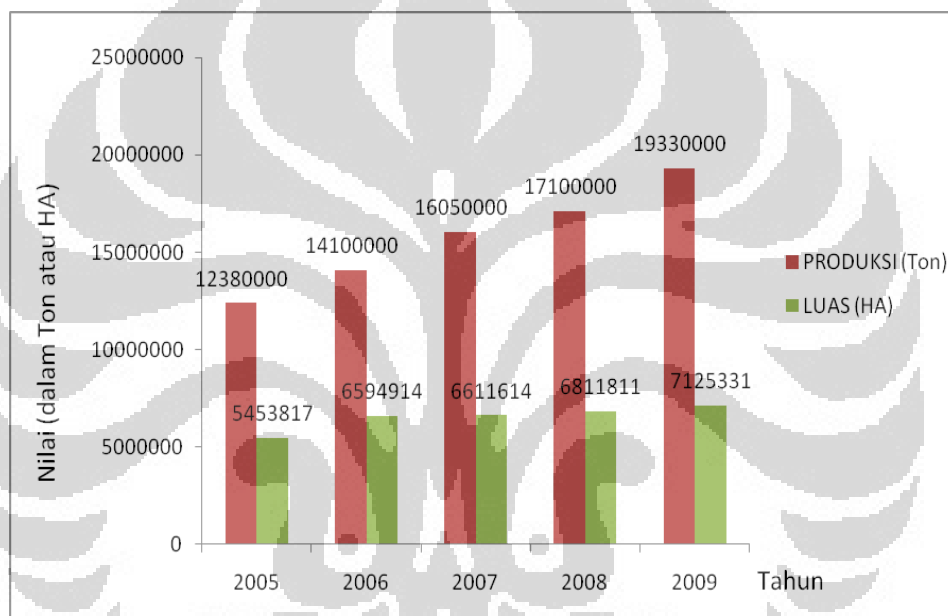


## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang Masalah

Indonesia terus memperluas lahan perkebunan kelapa sawit dan peningkatan produksi CPO. Kenaikan luas lahan dan produksi kelapa sawit dapat dilihat pada gambar 1.1 (Sumber : Pusat Penelitian Kelapa Sawit Indonesia, 2010).



Gambar 1.1 Luas dan produksi kelapa sawit di Indonesia ( Pusat Penelitian Kelapa Sawit Indonesia, 2010; <http://iopri.org/>)

Dalam gambar diatas, bahwa dalam waktu kurang dari 5 tahun terakhir produksi minyak kelapa sawit meningkat terus dari 1,2 juta ton (2005) menjadi 1,9 juta ton (2009). Peningkatan produksi minyak kelapa sawit ini, seiring dengan perluasan perkebunan kelapa sawit ditanah air.

Dalam proses kelapa sawit menjadi minyak (CPO), dapat dihasilkan limbah yang berupa cangkang, serat/ serabut TKKS, pelepah sawit dan batang sawit. Serat/ serabut TKKS dalam jumlah yang banyak itu dapat dimanfaatkan sebagai kompos atau bahan

baku bioetanol. Limbah Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS) yang dihasilkan bervariasi bergantung jenis kelapa sawit, usia pengunduhan dan cara memproses TBS (Tandan Buah Sawit) (Manurung, Christine Natalia, 2009) . Jika diambil asumsi 1 kg minyak kelapa sawit yang dihasilkan diperoleh dari 2 kg TKKS, maka diperkirakan jumlah limbah padat TKKS pada tahun 2009 dapat mencapai 3,8 juta ton.

Umumnya pabrik kelapa sawit mengolah TKKS dengan membakar TKKS untuk dijadikan kompos guna menghindari biaya transportasi pembuangan limbah TKKS. Komposisi dari tandan kosong kelapa sawit terdiri dari bahan selulosa 37%, hemiselulosa 27% dan lignin 15% (hambali et al., 2007). Selulosa yang dihasilkan bisa diubah menjadi sakarosa (glukosa dan pentosa) melalui proses hidrolisis enzimatik. Kedua jenis sakarosa tersebut bila difermentasi akan berubah menjadi alkohol yang biasa disebut sebagai bioetanol. Bioetanol yang sudah dimurnikan dapat digunakan untuk campuran bahan bakar premium karena memiliki kemiripan dengan premium.

Jika setengah saja dari keseluruhan selulosa dan hemiselulosa dapat diubah menjadi etanol, maka potensi etanol Indonesia dari TKKS pada tahun 2009 sekitar 6 juta ton (lebih dari  $6 \cdot 10^6$  kiloLiter/tahun). Bila harga etanol kualitas 99,8% di pasaran sekitar Rp. 14.000,-/liter, maka penjualan bioetanol dari TKKS bisa mencapai angka 13 Trilyun rupiah (<http://www.komporbioetanol.blogspot.com>).

Bioetanol merupakan bahan bakar yang ramah lingkungan dibandingkan minyak bumi dan batubara. Berdasarkan data dari Carbon Dioxide Information Analysis Center (2000), penggunaan bahan bakar fosil seperti batubara, minyak bumi dan gas bumi, emisi dari industri semen dan konversi lahan, merupakan sumber utama emisi CO<sub>2</sub> di dunia yakni mencapai 74 persen dari total emisi. Di Indonesia sendiri, emisi CO<sub>2</sub> merupakan penyumbang terbesar emisi Gas Rumah Kaca (GRK), hampir 70 persen.

Tabel 1.1 Sifat – Sifat Bioetanol dan Gasoline

NO	KETERANGAN	UNIT	BIOETANOL	Gasoline
1.	Sifat Termal			
	Nilai Kalori	kkal/liter	5.023,3	8.308,0
	Panas penguapan 20°C	kkal/liter	6,4	1,8
	Tekanan uap pada 38°C	Bar	0,2	0,8
	Angka oktan motor	MON	94,0	82,0
	Index Cetan	°C	3,0	10,0
	Suhu pembakaran sendiri	°C	363,0	221,0-260,0
	Perbandingan nilai bakar terhadap premium		0,6	1,0
2.	Sifat Kimia			
	C/H		4,0	6,7
	Keperluan udara (kg udara/kg bahan bakar)		9,0	14,8
3.	Sifat Fisika			
	Berat jenis	g/cm	0,8	0,7
	Titik didih	°C	78,0	32,0-185,0
	Kelarutan dalam air		Ya	Tidak

Sumber : Djojonegoro, W, 1981.

Brazil menjadi produsen etanol terbesar di dunia yang mengoperasikan sekitar 400 unit pabrik etanol dengan kapasitas produksi sekitar 16 juta KL/ tahun (Thells, 2004). Keberhasilan ini telah mengilhami pengembangan Bahan Bakar Nabati (BBN) di negara-negara lain. Secara umum proses produksi bioetanol dari material lignoselulose terbagi menjadi 4 tahap. Pertama, proses pendegradasian lignin (untuk mempermudah proses hidrolisis dan fermentasi) dengan melarutkan kristal



polisakarida dengan proses *steaming* pada suhu 120°C. Kedua, proses hidrolisis yaitu untuk memecah rantai polisakarida menjadi monosakarida dengan proses secara enzimatik. Ketiga, proses fermentasi untuk mengubah monosakarida menjadi etanol, dengan menggunakan *sacharomycess cerevisiae*. Tahap ke empat, proses pemurnian etanol umumnya dengan distilasi atau separasi (M, Samsuri, 2008). Penelitian yang akan dilakukan ini diharapkan dapat menentukan beberapa hal seperti, ukuran terbaik yang digunakan saat hidrolisis, waktu hidrolisis yang optimum, suhu dan pH optimum dari hidrolisis, jenis dan kombinasi enzim yang terbaik yang dapat digunakan untuk dapat dihasilkan % yield tertinggi. Dengan mengetahui semua karakteristik diatas, maka diharapkan dapat diperoleh model pengembangan bioetanol yang efektif dan optimal.

Tabel 1.2 Rincian Penelitian Sebelumnya

NO	BAHAN / /METODE/ PRODUK	PROSES	HASIL	NAMA PENELITI
1.	TKKS /penambahan basa/ lignosulfonat	Isolasi lignin dari TKKS dengan variasi pada penambahan NaOH larutan pemasaknya dan variasi H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pada proses isolasinya dan menghasilkan Natrium lignosulfonat.	Rendemen lignin terbesar 19,95% diperoleh pada NaOH 10% dan H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 20%, terkecil 3,185% pada NaOH 0% dan H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 5%.	Suryani, Ani, (IPB'07 Bogor);
2.	TKKS/Fermentasi padat/ etanol	Sakarifikasi menggunakan metode fermentasi padat, yakni dengan menginokulasikan uspense spora <i>T.reesei</i> sebanyak 10%	Konsentrasi etanol paling tinggi yang dihasilkan pada fermentasi selama 72 jam sebesar 0,046 % dengan konversi gula menjadi etanol sebesar 47,32%.	Purwinda Iriani , (SITH'09 ITB)
3.	TKKS/ pembakaran/ Batako	Memfaatkan sisa pengolahan abu tandan kosong kelapa sawit (TKKS) sebagai	komposisi abu TKKS 10-50% diperoleh batako dengan sifat fisis yaitu penyerapan air (11,09-15,17)%, densitas (1,94-	Dian Triana Sari, (FMIPA'10 USU)

		bahan pengisi dalam pembuatan batako	1,69) gr/cm <sup>3</sup> , sedangkan sifat mekaniknya yaitu kekerasan (93-81,7)HB, kuat tekan (10,67-5,09) Mpa, impact/ketangguhan (2,53-0,69)x 10 <sup>4</sup> J/m <sup>2</sup> , kuat patah (0,91-0,51) Mpa.	
4.	TKKS & bagas tebu/ enzim ligninolitik dua galur jamur tiram /slude untuk pertumbuhan aktivitas lakase, Mn-P dan Li-P.	Pertumbuhan miselium FPP <i>Omphalina</i> sp dan <i>P. ostreatus</i> pada medium bagas tebu dan TKKS	Hasil analisis lignin dan selulosa,serta hemiselulosa TKKS berturut-turut ialah 27,52%, 51,4% dan 1,92%, sedangkan bagas tebu mengandung lignin, selulosa, dan hemiselulosa berturut-turut ialah 36,28%, 45,7% dan 8,59%.	Widiastuti et al, (Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia, Bogor' 07)
5.	Bagas/SSF/ bioetanol	Dengan steaming pada suhu 180°C dan enzimatik dengan beberapa deret enzim.	% Yield dari etanol yang berbasis bagas dan selulose dengan masa inkubasi 96 jam adalah 12% dan 23,9%.	M. Samsuri (FT UI'08)
6.	Jerami Padi & jagung	Hidrolisis enzimatik dengan <i>Trichoderma reesei</i> dan <i>Aspergillus niger</i> .	% Yield 0,338 IU/mL dan %Yield 0,308 IU/mL dengan masa inkubasi 4 hari	Nadiem Anwar, Arief widjaja FTI ITS'10)

Sumber : Beberapa jurnal penelitian

## 1.2 Perumusan Masalah

Dari latar belakang tersebut diperoleh informasi bahwa hingga saat ini TKKS lebih banyak dimanfaatkan sebagai kompos dan dibakar langsung dalam *furnace*/tungku. Belum banyak penggunaan TKKS sebagai bahan baku etanol, meskipun potensinya sangat tinggi. Untuk membuat etanol dari TKKS diperlukan informasi berikut yang belum didapatkan dari literatur yang tersedia.

- a. Berapakah ukuran terbaik TKKS agar diperoleh gula terbanyak dalam proses hidrolisis?
- b. Berapakah komposisi jumlah enzim selulase dan selobiase yang diperlukan dalam hidrolisis secara enzimatik?

- c. Berapakah pH dan temperatur optimum yang diperlukan untuk aktivitas enzim agar dapat menghasilkan gula terbanyak?
- d. Berapa lama waktu hidrolisis enzim yang diperlukan?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

Secara umum tujuan dari penelitian ini adalah untuk melihat konversi optimum dari TKKS menjadi gula dengan berbagai perlakuan.

Adapun tujuan khusus dari penelitian ini, yaitu :

- a. Untuk melihat ukuran terbaik terbaik TKKS agar diperoleh gula terbanyak dalam proses hidrolisis.
- b. Untuk melihat, berapakah jumlah enzim selulase dan selobiase yang diperlukan dalam hidrolisis secara enzimatik?
- c. Untuk melihat, berapakah pH dan temperatur optimum yang diperlukan untuk aktivitas enzim agar dapat menghasilkan gula terbanyak?
- d. Untuk melihat, berapa lama waktu hidrolisis enzim yang diperlukan?

### **1.4 Ruang Lingkup Penelitian**

- a. Melakukan analisa pengaruh enzim selulase, selobiase, dan kombinasinya terhadap produksi gula dari TKKS.
- c. Melakukan analisa uji komposisi terhadap ukuran TKKS yang digunakan (dengan metode dari SNI dan Jurnal).
- d. Analisa uji komposisi yang dilakukan adalah : pegujian lignin (metode klason; SNI 0492:2008, pengujian selulosa; SNI 0444:2009, pengujian total gula; metode antrone, AOAC, 1984).

## 1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini yaitu:

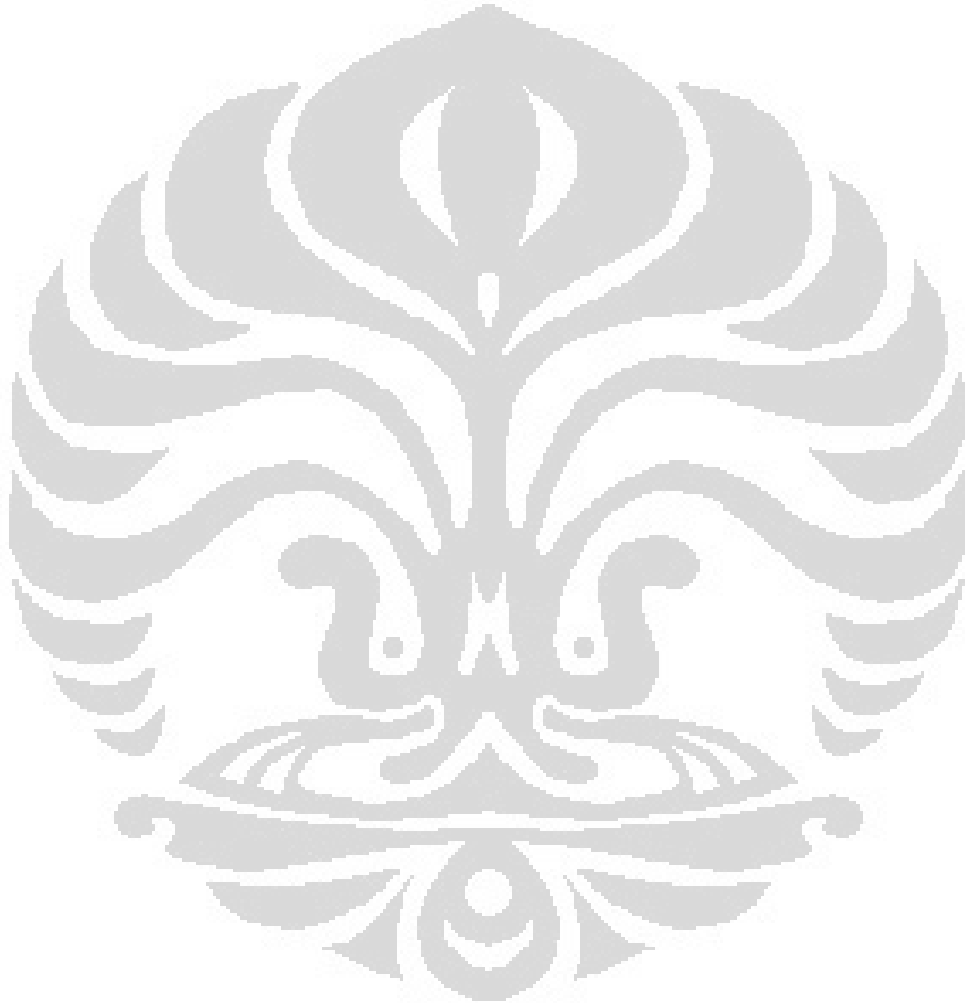
- a. Penelitian ini hanya dilakukan sampai tahap TKKS diubah menjadi gula.
- b. Waktu hidolisis pengambilan sampel uji pada jam ke- 3, 6, 9, 15, 21, 27,33, 39, 45 dan jam ke- 48.
- c. Enzim yang digunakan adalah enzim selulase dan selobiase murni dengan merk sigma aldrich.
- d. *Steaming* yang dimaksud dalam penelitian ini adalah perlakuan awal dengan melakukan pemanasan larutan TKKS pada suhu 120°C.
- e. Pengujian komposisi dari TKKS ini hanya meliputi uji lignin, uji selulosa, dan uji gula.
- f. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bioproses Departemen Teknik Kimia Universitas Indonesia (FTUI).

## 1.6 Manfaat Penelitian

Dalam penelitian ini adapun manfaat yang diharapkan adalah sebagai berikut :

- a. Secara ilmiah, penelitian ini diharapkan dapat membantu pemerintah sebagai solusi pengembangan Bahan Bakar Nabati (BBN) di tanah air. Dimana, kesediaan minyak bumi yang sekarang ini semakin menurun, dan harga minyak bumi yang semakin tinggi serta emisi dari minyak bumi yang tidak ramah terhadap lingkungan. Pengembangan BBN akan mencegah Indonesia dari krisis energi.
- b. Secara ekonomis, penelitian ini dapat menjawab dari masalah limbah TKKS yang melimpah di Indonesia dan pemanfaatan yang belum maksimal dari limbah TKKS ini, dengan asumsi yang telah dijelaskan sebelumnya.

- c. Segi lingkungan, jika pemerintah sukses dalam pengembangan bioetanol ditanah air, dan dapat dilakukan konversi secara besar-besaran dari BBM ke BBN maka pemerintah telah melakukan penghijauan udara dengan pengurangan emisi dari BBM.



## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Etanol

Bahan baku etanol dapat diperoleh dari berbagai bahan baku pertanian atau limbah pertanian dan perkebunan, antara lain seperti jagung, bagas, pati singkong, tandan kosong kelapa sawit, dll. Bioetanol sendiri dapat menggantikan fungsi bahan aditif seperti Metil Tersier Butil Eter (MTBE) dan Tetra Ethyl Lead (TEL) yang relatif kurang ramah lingkungan (M.Samsuri,2008). Bioetanol yang diperoleh dapat dicampurkan langsung dengan bensin dengan berbagai komposisi untuk dapat meningkatkan efisiensi pada mesin serta memberikan emisi gas buang yang lebih ramah lingkungan. Pencampuran etanol dengan bensin disebut *gasohol*, contohnya *gasohol* BE-10 artinya bahan bakar campuran antara bioetanol sebanyak 10% dan bensin premium sebanyak 90% (M.Samsuri,2008). Dimasa mendatang etanol murni dimungkinkan sebagai bahan bakar, jika telah dilakukan penyesuaian terhadap sistem permesinan. Dalam kelanjutan dari penelitian ini gula akan difermentasi oleh *S.cerevisiae* untuk dapat menghasilkan etanol. Adapun beberapa metode yang dapat digunakan untuk dapat menghasilkan etanol, yaitu :

1. Proses Fermentasi.

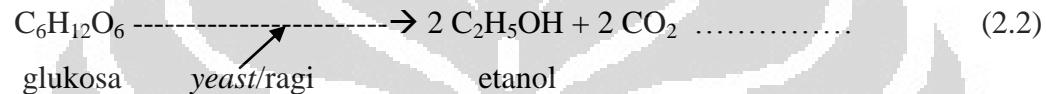
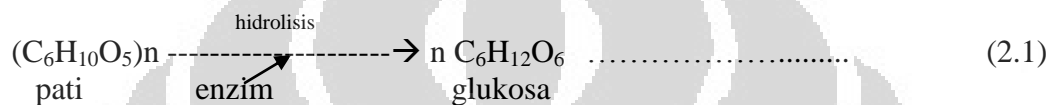
Menggunakan *S.cerevisiae* sebagai mikroba yang akan memfermentasi selama beberapa hari untuk dapat dihasilkan etanol

2. Sintesis Kimia

Melalui reaksi antara gas etilen dan uap air dengan asam sebagai katalis. Katalis yang digunakan seperti asam phospat dan asam sulfat.

Dinegara lain, produksi etanol telah dilakukan dengan jumlah cukup besar, dimana produksi terbesar terdapat di Amerika serikat dan Brazil. Pada tahun 2005 kedua negara ini telah menyumbangkan 35% kebutuhan etanol dunia. Dengan produksi masing-masing negara sekitar 43 juta gallon, diikuti China sebesar 1 juta gallon (8%), Uni Eropa sebesar 900 ribu gallon (7%) dan India sebesar 500 ribu gallon (4%). Indonesia pada tahun 2005 itu hanya dalam jumlah yang kecil kurang dari 0,01% (*The Indonesia Economic Intelligence*, 2010).

Pada tahun 2008 harga minyak mencapai nilai tertingginya yaitu 146,69 dolar AS per barrel. Pada pertengahan tahun 2011 ini harga minyak sekitar 100 dolar AS per barrel (<http://www.tambangnews.com/hargaminyak>). Dengan permasalahan mahalnnya harga minyak tersebut, serta pencemaran emisi yang tinggi dari pembakaran minyak, maka diharapkan diperoleh suatu bahan bakar pengganti minyak dengan *cost* yang rendah dan harga jual yang terjangkau serta ramah terhadap lingkungan. Untuk itu diharapkan bioetanol dapat menjawab persoalan ini. Reaksi yang terjadi pada proses produksi ethanol/bio-ethanol secara sederhana ditunjukkan pada reaksi 1 dan 2.



Tabel 2.1 Perbedaan Petroleum Dengan Etanol

Faktor Pembeda	Petroleum ( <i>gasoline</i> )	Etanol
Source	Non – Reversible	Reversible
Nilai Oktan	Rendah, sehingga dibutuhkan zat aditif imbale yang berbahaya	Tinggi, tidak perlu zat aditif, bahkan bisa digunakan sebagai aditif pengganti timbal pada <i>gasoline</i>
Emisi Buang	Berbahaya & <i>non biodegrable</i>	Tidak berbahaya karena semuanya <i>biodegrable</i> ,Penggabungan etanol kadar tinggi dapat mengurangi emisi nitrogen 20% serta dapat menurunkan Volatile Organic Compounds (VOCs) yaitu senyawa yang dapat menguap pada suhu rendah sampai 30% atau lebih. (VOCs bahan pemicu formasi lapisan ozone)Mampu mengurangi SO <sub>2</sub> Etanol mengurangi kadar CO pada bahan bakar dan 100% CO <sub>2</sub> dalam sekali <i>life cycle</i>

Sumber : Makalah Misri Gozan, 2010

Pati akan dihidrolisis secara enzimatik untuk mendapatkan glukosa, yang dengan proses peragian lebih lanjut maka akan diperoleh etanol. Etanol yang dihasilkan diharapkan memiliki kadar alkohol yang tinggi sekitar 99% lebih. Hal ini dimaksudkan agar tidak terdapat air pada mesin yang dapat membuat korosi mesin dan penyumbatan (kerak). Hal yang dikeluhkan bagi pengguna bioetanol adalah harus sering menguras tangki minyak karena sifat etanol yang mudah mengabsorpsi air.

Tabel 2.2 : Program Pengembangan & Penggunaan Biofuel di Beberapa Negara

NO	NEGARA	PROGRAM YANG DIJALANKAN
1.	Amerika Serikat	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mengeluarkan <i>Renewable Fuel Standard</i>.</li> <li>• Pada tahun 2012 ditargetkan menghasilkan sekitar 7,5 miliar gallon etanol.</li> <li>• Pengembangan etanol berbasis jagung.</li> <li>• Memperlakukan proteksi berupa tarif sebesar 2,5% plus 54 cents per gallon.</li> <li>• Insentif pajak sebesar \$0,01 per gallon.</li> </ul>
2.	Brazil	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mensyaratkan campuran etanol 25% dalam gasoline.</li> <li>• Memperlakukan proteksi berupa tarif sebesar 20%.</li> <li>• Kebijakan pajak khusus bagi industri etanol.</li> </ul>
3.	China	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Memberlakukan E-10 (campuran 10% etanol) di 5 propinsi.</li> <li>• Pengembangan etanol berbasis jagung.</li> </ul>
4.	India	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 5% etanol dalam seluruh gasoline.</li> <li>• Kebijakan membeli biodiesel.</li> <li>• Pemberlakuan tarif impor sebesar 186%.</li> </ul>
5.	Uni Eropa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Penggunaan biofuel 2% (2005) dan 5,75% (2010) dari total kebutuhan energi.</li> <li>• Pengenaan tarif impor sebesar \$87 cents per gallon.</li> </ul>
6.	Argentina	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Memberlakukan E-5 selama 5 tahun.</li> </ul>



7.	Kolombia	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Memberlakukan E-10 di 10 kota besar.</li> </ul>
8.	Venezuela	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Memberlakukan E-10 secara bertahap di seluruh wilayah Venezuela.</li> </ul>
9.	Jepang	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tujuan jangka panjang adalah menggantikan sekitar 20% kebutuhan minyak dengan <i>biofuel</i> atau <i>liquid natural gas</i> (LNG).</li> </ul>
10.	Kanada	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sebanyak 45% gasoline menjadi E-10 pada tahun 2010.</li> <li>• Pengenaan tarif impor sebesar \$19 cents per gallon.</li> </ul>
11.	Swedia	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Memberlakukan E-5 di seluruh negara.</li> </ul>
12.	Thailand	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Memberlakukan E-10 pada tahun 2007 di seluruh wilayah Thailand.</li> </ul>
13.	Indonesia	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pemanfaatan biofuel sebesar 2% energi mix pada tahun 2005-2010, 3% energi mix pada tahun 2011-2015, dan 5% energi mix pada tahun 2016-2025.</li> </ul>

Sumber : dari berbagai sumber, diolah *The Indonesia Economic Intelligence, 2010*

## 2.2 Reaksi Hidrolisis Enzimatis

Reaksi hidrolisis untuk dapat menghasilkan gula dapat dilakukan dengan 2 cara, yaitu dengan hidrolisis asam dan hidrolisis enzimatis. Hidrolisis enzimatis memiliki keuntungan dibandingkan dengan hidrolisis asam, diantaranya dapat menurunkan resiko korosi pada alat proses serta mengurangi kehilangan energi pada bahan bakar produksi. Dimana enzim memiliki kemampuan mengaktifkan senyawa lain secara spesifik dan dapat meningkatkan kecepatan reaksi yang akan meningkatkan konversi dari proses hidrolisis. Enzim memiliki ukuran yang sangat besar apabila dibandingkan dengan substrat atau gugus fungsional targetnya (M.Samsuri, 2008).

Penelitian ini menggunakan dua jenis enzim untuk dapat menghidrolisis TKKS. Enzim selulase digunakan untuk menghidrolisis selulosa menjadi glukosa. Karena strukturnya yang rigid, selulosa kristalin resisten terhadap aksi individual selulase.

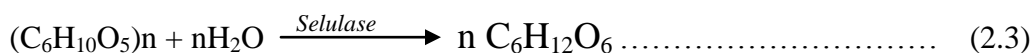
Konversi efektif dari selulase dimungkinkan oleh kerja sinergis dari ketiga subgroup selulase berikut:

1. Endo- $\beta$ -1,4-Dglukanase yang memecah ikatan internal glukosidik yang berada di antara rantai glukon yang runtuh.
2. Exo  $\beta$ -1,4-Dglukanase/ exo  $\beta$ -1,4-D-selobiohidrase yang memecah dimer selobiosa dari rantai glukon dan melepaskannya kedalam larutan.
3.  $\beta$ -glucosidase yang menyempurnakan hidrolisis selulosa menjadi glukosa dengan memecah selobiosa menjadi monomer glukosa.

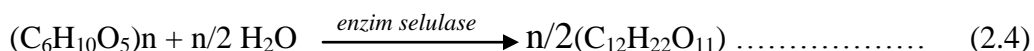
Selulase dapat dihasilkan dari mikroorganismenya diantaranya yaitu *Trichoderma resei*, *Trichoderma longbractium*, *Trichoderma harzianum*, *T. hamatum*, *T. koningii*, *T.pseudokongii*, *T. pilulifemm*, dan, *T. aureoviride*. Mikroorganismenya lainnya yang juga bisa memproduksi selulase adalah *Aspergillus terreus* (M, Samsuri, 2008).

Dan enzim lainnya yang dapat digunakan dalam proses hidrolisis untuk menghasilkan glukosa adalah enzim selobiase atau disebut juga enzim  $\beta$ -glucosidase. Enzim ini diperlukan karena keberadaan enzim selobiase dalam selulase hanya sedikit didominasi oleh enzim endoselulase dan enzim eksoselulase, sehingga sangat diperlukan penambahan dari luar enzim selobiase ini untuk dapat menghasilkan konversi glukosa yang tinggi pada saat hidrolisis. Enzim lain yang dapat juga ditambahkan pada proses hidrolisis yaitu enzim xylanase. Enzim ini berperan menghidrolisis hemiselulase menjadi xylosa atau gula xylosa. Namun penggunaan xylanase banyak digunakan untuk mengurangi pemakaian klorin dalam pemutih kertas, karena enzim ini bersifat termostabil dan tahan terhadap pH alkali.

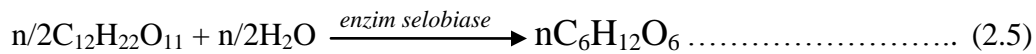
Secara teoritis reaksi hidrolisis selulase menjadi glukosa adalah sebagai berikut:



Sedangkan reaksi parsial selulosa menjadi selobiosa sebagai berikut:



Sedangkan reaksi hidrolisis selobiosa menjadi glukosa sebagai berikut

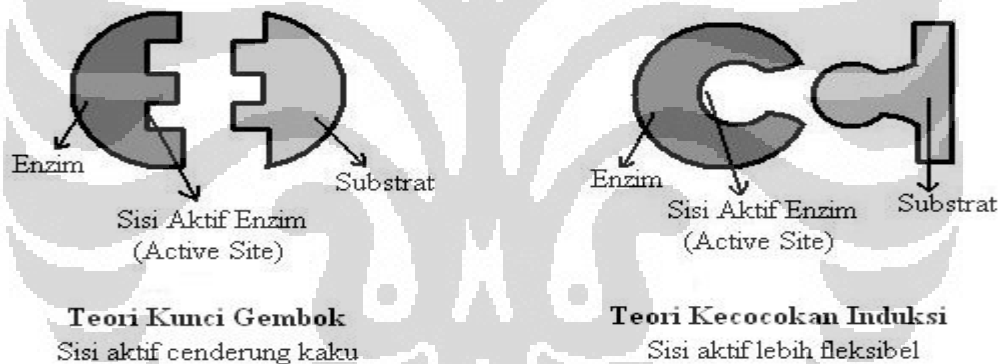


Secara teoritis reaksi hidrolisis hemiselulase khususnya xylan menjadi xylosa dapat ditulis sebagai berikut :



### 2.3 Mekanisme Kerja Enzim

Terdapat dua teori tentang mekanisme kerja dari enzim, yaitu teori kunci gembok (*Lock and Key Fisher hypothesis*) dan teori kecocokan induksi (*induce fit Koshland hypothesis*). Seperti terlihat pada gambar 2.1 dibawah ini.



Gambar 2.1 Teori Mekanisme Kerja Enzim ([http:// www.chemistry.org/materi\\_kimia/kimia.../struktur](http://www.chemistry.org/materi_kimia/kimia.../struktur))

Menurut hipotesis *lock and key* Fisher, sisi aktif mempunyai struktural yang kokoh dan struktur enzim tidak berubah selama proses pengikatan berlangsung. Fisher mengemukakan bahwa struktur suatu enzim yang ada hubungannya dengan substrat adalah komplemen seperti gembok dengan kuncinya. (gambar 2.1 kiri)

Sedangkan menurut Koshland dalam hipotesisnya *induce fit*, mengemukakan bahwa sisi aktif enzim menyesuaikan diri dengan substrat selama pembentukan kompleks enzim-substrat (gambar 2.1 kanan). Dimana faktor utama yang menentukan apakah

suatu enzim akan bekerja pada substrat tertentu adalah kestabilan masa transisi enzim-substrat selama proses pembentukan produk (Samsuri,M,2008)

#### 2.4. Lignoselulosa

Lignoselulosa merupakan senyawa yang terutama tersusun atas lignin, selulosa, dan hemiselulosa. Didalam kandungannya bervariasi tergantung pada jenis dan umur tanaman (khairil, 2009). Komponen ini merupakan sumber penting untuk menghasilkan produk bermanfaat seperti gula dari proses fermentasi, bahan kimia dan bahan bakar cair. Lignoselulosa bisa diperoleh dari bahan kayu, jerami, rumput-rumputan, limbah pertanian/hutan, limbah industri (kayu, kertas) dan bahan berserat lainnya.

Enzim pendegradasi lignoselulosa adalah selulase yang banyak digunakan dalam berbagai industri seperti industri makanan, farmasi, tekstil, detergen, dan sebagainya (Hidaka *et al*, 1998). Umumnya enzim yang digunakan saat ini masih impor. Enzim dapat diproduksi oleh kelompok bakteri, kapang maupun khamir.

Mikroba yang umum digunakan adalah *Trichoderma reesei* (Sim and Oh, 1993). Selain itu juga telah diteliti produksi selulase dari jenis mikroba lain seperti *Scopulariopsis brevicaulis* TOF 1212 (Nakatani *et al*, 1998) dan *Ruminococcus albus* (Ohara *et al*, 1998). *Clostridium*, *Cellulomonas*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Neurospora*, *Fusarium*, *Aspergillus*, dan lain-lain juga menunjukkan adanya kemampuan aktivitas selulolitik dan hemiselulolitik yang tinggi pada proses fermentasi untuk menghasilkan gula (Chandel *et al*, 2007). Walaupun demikian, peluang untuk mengembangkan enzim dari mikroorganisme lain masih terbuka lebar.

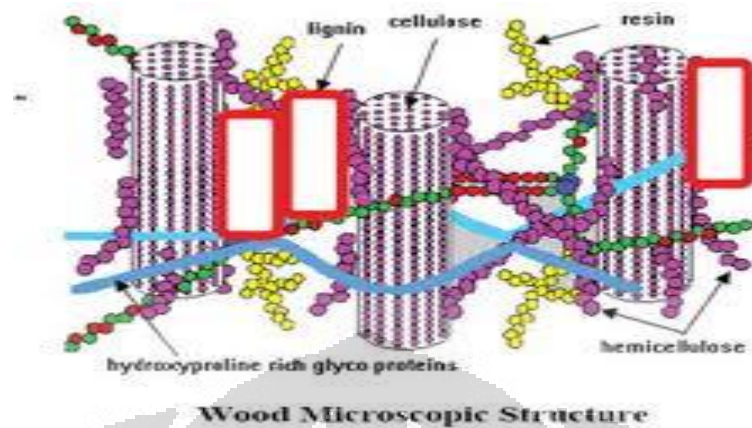


Gambar 2.2 Tandan Kosong Kelapa Sawit

Tabel 2.3 Komponen kimia tandan kosong kelapa sawit (persen berat kering)

Komposisi (%)	Tun Tedja Irawadi, 1991	Pratiwi., et al 1988 dalam Said 1994	Azemi., et al 1994 dalam said 1994	Darnoko.,et al 1995
Lemak	5,35	-	-	-
Protein	4,45	-	-	-
Selulosa	32,55	35,81	40	38,76
Lignin	28,54	15,70	21	22,23
Hemiselulosa	31,70	27,01	24	-
Sari	-	-	-	6,37
Pentosan	-	-	-	26,69
Holoselulosa	-	-	-	67,88
Abu	-	6,04	15	6,59
Pektin	-	-	-	12,85

Sumber : Heradewi, 2007



Gambar 2.3 Struktur mikroskopi dari kayu ([http://www.chemistry.org/materi\\_kimia/kimia.../struktur](http://www.chemistry.org/materi_kimia/kimia.../struktur))

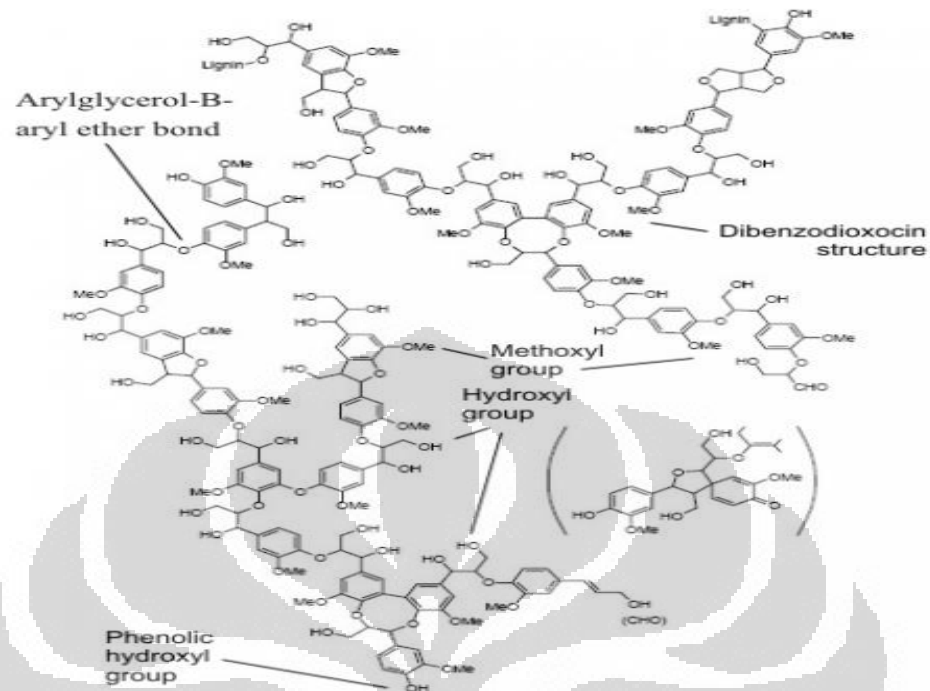
#### 2.4.1 Lignin

Lignin adalah polimer *tri-dimensional phenylpropanoid* yang dihubungkan dengan beberapa ikatan berbeda antara karbon ke karbon dan beberapa ikatan lain antara unit *phenylpropane* yang tidak mudah dihidrolisis. Di alam lignin ditemukan sebagai bagian integral dari dinding sel tanaman, terbenam di dalam polimer matrik dari selulosa dan hemiselulosa. Lignin adalah polimer dari unit *phenylpropene*. Komposisi lignin sendiri di alam sangat bervariasi tergantung pada spesies tanaman. Adapun pengelompokan seperti kayu lunak, kayu keras, dan rumput-rumputan, lignin dapat dibagi menjadi dua kelompok utama, yaitu: *guaiacyl lignin* dan *guaiacyl-syringyl lignin* (Gibbs, 1958). *Guaiacyl lignin* adalah produk polimerisasi yang didominasi oleh *coniferyl alcohol*, sedangkan *guaiacyl-syringyl lignin* tersusun atas beberapa bagian dari inti aromatic *guaiacyl* dan *syringyl*, bersama dengan sejumlah kecil unit *p-hydroxyphenyl*. Kayu lunak terutama tersusun atas unit *guaiacyl*, sedangkan kayu keras juga tersusun atas unit *syringyl* (M.Samsuri,2008). Kayu lunak ditemukan lebih resisten untuk didelignifikasi dengan ekstraksi basa daripada kayu keras. Hal ini menimbulkan dugaan bahwa *guaiacyl* lignin membatasi pemekaran (*swelling*) serat dan menghalangi serangan enzim pada *syringyl lignin*. Struktur yang lebih resisten dari *guaiacyl* lignin juga telah diobservasi di dalam study degradasi dari lignin

sintetis oleh fungi perombak lignin *Phanerochaeta chrysosporium* (Faix et al., 1985). Beberapa studi lignin terbaru menemukan bahwa terdapat struktur lignin yang bermacam-macam. Lignin seperti terdiri dari daerah *amorphous* dan bentuk-bentuk terstruktur seperti partikel tabung dan globul. Ada indikasi pula bahwa struktur kimia dan tri-dimensional lignin sangat dipengaruhi oleh matrik polisakarida. Simulasi dinamik menunjukkan bahwa gugus *hydroxyl* dan *methoxyl* di dalam prekursor lignin dan oligomer mungkin berinteraksi dengan mikrofibril selulosa sejalan dengan fakta bahwa lignin memiliki karakteristik hidrofobik.

Tipe ikatan utama lignin di dalam kayu spruce adalah ikatan (*linkage*) ether, aryl ether adalah yang utama. Sebagai  $\beta$  dimana ikatan *arylglycerol* tambahan, unit *phenylpropene* diikat oleh ikatan karbon-ke-karbon. Grup fungsional yang mempengaruhi reaktifitas lignin meliputi gugus *phenolic hydroxyl* bebas, *methoxyl*, *benzylic hydroxyl*, *benzyl alcohol*, *noncyclic benzyl ether* dan *carbonyl*. *Guaiacyl* lignin mengandung gugus *phenolic hydroxyl* daripada *syringyl*. Skema struktur dari lignin kayu lunak, termasuk struktur baru *dibenzodioxin*, diperlihatkan pada Gambar 2.4.

Lignin dapat terdegradasi dengan perlakuan *steaming* atau dengan menggunakan jamur pelapuk. Jamur pelapuk putih seperti *C.subvermispora*, *L.Edodes* dan *P. Ostreatus*. Dengan menggunakan jamur tersebut, maka akan terjadi biodegradasi lignin, karena jamur tersebut mampu menghasilkan enzim-enzim seperti lignin peroxidase (LiP), manganese-dependent peroxidase (MnP), dan laccase yang dapat memutus ikatan lignin dengan mengoksidasi senyawa berbasis fenol yang terdapat pada lignin, sehingga ikatannya akan rusak.



Gambar 2.4 Lignin ([http://www.chem-istry.org/materi\\_kimia/kimia.../struktur](http://www.chem-istry.org/materi_kimia/kimia.../struktur))

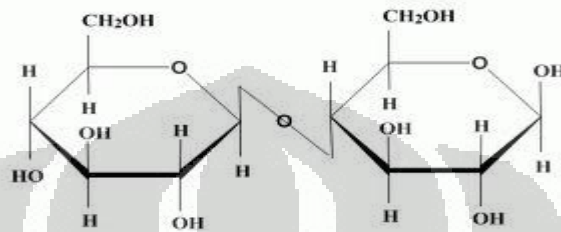
Dalam konversi biomassa gula menjadi etanol dengan proses hidrolisis dan fermentasi, kekuatan lignin menjadi penghalang dalam proses hidrolisisnya. Oleh karena itu perlu dilakukan suatu perlakuan untuk menghancurkan ikatan lignin yang sangat kuat tersebut. Perlakuan yang dimaksud dapat berupa *steaming* atau perlakuan dengan jamur pelapuk putih atau kombinasi kedua perlakuan. Perlakuan awal ini diharapkan dapat mengoptimalkan konversi polisakarida menjadi etanol, dengan cara menghilangkan lignin di dalam TKKS. Dan pada penelitian ini digunakan perlakuan awal dengan *steaming* pada suhu 120°C selama 3 jam.

#### 2.4.2 Selulosa

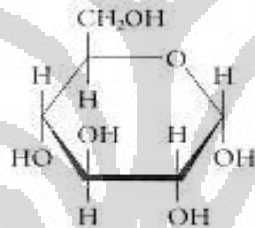
Selulosa adalah komponen utama yang mencapai 37% dari bobot kering TKKS (Hambali et.,al 2007). Selulosa sangat erat berasosiasi dengan hemiselulosa dan lignin. Isolasi selulosa membutuhkan perlakuan kimia yang intensif. Selulosa terdiri dari unit monomer D-glukosa yang terikat melalui  $\beta$ -1-4-glikosidik. Residu glukosa



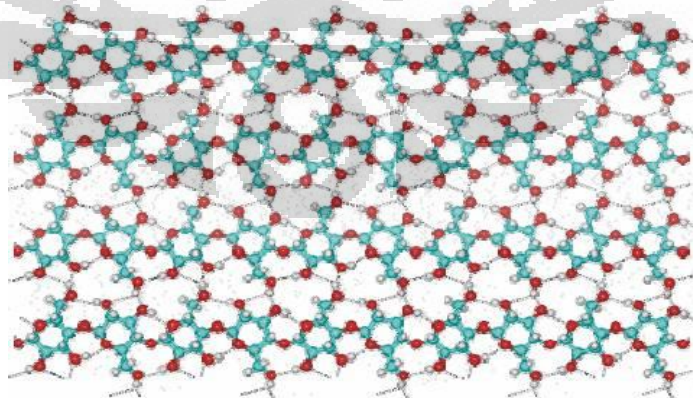
tersusun dengan posisi  $180^\circ$  berikatan antara satu dengan yang lain, dan selanjutnya pengulangan unit dari rantai selulosa yang terdiri dari dua buah selulose membentuk unit selobiosa (Gambar 2.4). Derajat polimerasi (DP) selulosa bervariasi antara 7000-15000 unit glukosa tergantung pada bahan asalnya (khairil, 2009)



Gambar 2.5 Struktur Selobiosa ([http://www.chemistry.org/materi\\_kimia/kimia.../struktur](http://www.chemistry.org/materi_kimia/kimia.../struktur))



Gambar 2.6 Struktur Selulosa ([http://www.chemistry.org/materi\\_kimia/kimia.../struktur](http://www.chemistry.org/materi_kimia/kimia.../struktur))



Gambar 2.7 Model molekul selulosa ([http://www.chemistry.org/materi\\_kimia/kimia.../struktur](http://www.chemistry.org/materi_kimia/kimia.../struktur))

Gugus fungsional dari rantai selulosa adalah gugus hydroxyl. Gugus -OH ini dapat berinteraksi satu sama lain dengan gugus -O, -N, dan -S, membentuk ikatan hydrogen. Ikatan -H juga terjadi antara gugus -OH selulosa dengan air. Gugus-OH selulosa menyebabkan permukaan selulosa menjadi hidrofilik. Rantai selulosa memiliki gugus-H di kedua ujungnya. Ujung -C1 memiliki sifat pereduksi. Struktur rantai selulosa distabilkan oleh ikatan hydrogen yang kuat disepanjang rantai. Di dalam selulosa alami dari tanaman, rantai selulosa diikat bersama-sama membentuk mikrofibril yang sangat terkristal (*highly crystalline*) dimana setiap rantai selulosa diikat bersama-sama dengan ikatan hidrogen. Proses degradasi selulosa dapat dilakukan oleh mikroorganisme selulolitik yang berasal dari bakteri maupun jamur. Dimana, degradasi sempurna selulosa akan melepaskan karbondioksida (CO<sub>2</sub>) dan air pada kondisi aerobik. Kondisi aerobik akan melepaskan karbondioksida (CO<sub>2</sub>), metana dan air. Mikroorganisme tersebut dapat mendegradasi selulosa karena menghasilkan enzim dengan spesifikasi yang berbeda yang saling kerjasama. Dimana enzim tersebut akan menghidrolisis ikatan β-1-4-glikosidik. Hidrolisis sempurna akan menghasilkan monomer selulosa yaitu glukosa, dan hidrolisis tak sempurna akan menghasilkan disakarida dari selulosa yaitu selobiosa, jika di hidrolisis lebih lanjut menjadi glukosa (Samsuri, M, 2008).

Selulosa tersintesis dalam 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 tergabung lagi membentuk unit yang lebih besar dengan mikrofibril. Mikrofibril ini bergabung dan membentuk serat selulosa. Serat selulosa memiliki karakteristik serat yang cukup halus, berstruktur linear dan memiliki ikatan hydrogen intramolekuler dan antar molekuler yang cukup tinggi. Akibatnya selulosa tidak termoplastik dan sulit untuk diuraikan tanpa bantuan bahan kimia atau enzim (M. Samsuri, 2008).

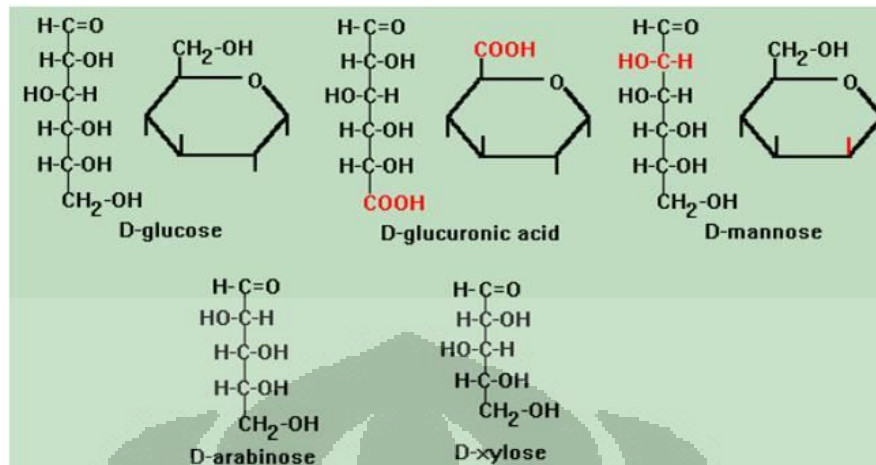
Serat selulosa dalam sebenarnya tidak murni hanya kristalin, tetapi terdapat daerah lain yang disebut daerah *amorphous*. Total area permukaan selulosa lebih besar

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.

Kristalin alami dari selulosa adalah 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 molekul enzim dan molekul yang lebih kecil seperti air.

### 2.4.3 Hemiselulosa

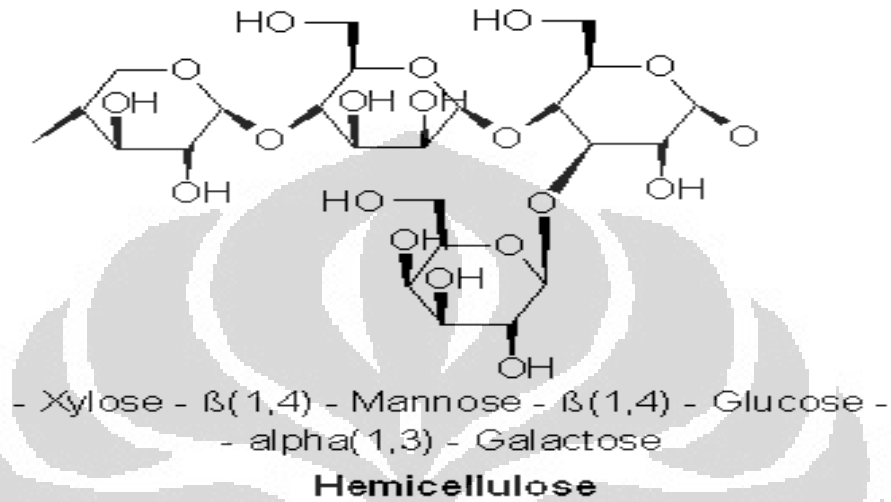
Hemiselulosa umumnya dikelompokkan berdasarkan residu gula utama yang menyusun rangkanya, seperti: *xylan*, *mannan*, *galactan*, dan *glucan*, dengan *xylan* dan *mannan* adalah gugus utama dari hemiselulosa (Gambar 2.6). Hemiselulosa umumnya dilaporkan berasosiasi secara kimia atau terikat-silang dengan polisakarida, protein, atau lignin. Xylan kemungkinan sebagai wilayah ikatan utama antara lignin dan karbohidrat lain. Hemiselulosa lebih mudah larut daripada selulosa, dan dapat diisolasi dari kayu dengan ekstraksi. Rata-rata derajat polimerisasi (DP) dari hemiselulosa bervariasi antara 70 dan 200 tergantung pada jenis kayu. Pada material lignoselulosa, secara umum monosakarida dari hemiselulosa yang terbanyak adalah xylosa. Hemiselulosa memiliki karakteristik yang berbeda dengan selulosa karena memiliki ikatan yang lebih kuat dan relatif lebih mudah untuk terhidrolisis menjadi monomernya. Oleh sebab itu diperlukan enzim dan *yeast* yang spesifik dalam mengkonversi hemiselulosa menjadi etanol



Gambar 2.8 Beberapa gula penyusun hemiselulosa ([http://www.chemistry.org/materi\\_kimia/kimia.../struktur](http://www.chemistry.org/materi_kimia/kimia.../struktur))

Hemiselulosa di dalam kayu keras dan tanaman semusim terutama tersusun atas *xylan* (15%-30%), sedangkan hemiselulosa kayu lunak tersusun atas galaktoglukomannan (15%-20%) dan *xylan* (7%-10%). Rasio molar antara xylosa: asam glukoronat: residu acetil adalah antara 10: 1: 7. Perbedaan hemiselulosa dengan selulosa yaitu hemiselulosa mudah larut dalam alkali tapi sukar larut dalam asam, sedangkan selulosa adalah sebaliknya. Hemiselulosa juga bukan merupakan serat-serat panjang seperti selulosa. Hasil hidrolisis selulosa akan menghasilkan D-glukosa, sedangkan hasil hidrolisis hemiselulosa akan menghasilkan D-xilosa dan monosakarida lainnya (Winarno, 1984). Menurut Hartoyo (1989), hemiselulosa tersusun dari gabungan gula-gula sederhana dengan lima atau enam atom karbon. Degradasi hemiselulosa dalam asam lebih tinggi dibandingkan dengan delignifikasi, dan hidrolisis dalam suasana basa tidak semudah dalam suasana asam (Achmad, 1980). Mac Donal dan Franklin (1969) menyatakan bahwa adanya hemiselulosa mengurangi waktu dan tenaga yang diperlukan untuk melunakkan selama proses mekanis dalam air. Hemiselulosa berfungsi sebagai pendukung dinding sel dan berlaku sebagai perekat antar sel tunggal yang terdapat didalam batang pisang dan tanaman lainnya. Hemiselulosa memiliki sifat non-kristalin dan bukan serat, mudah mengembang, larut dalam air, sangat hidrofolik, serta mudah larut dalam alkali. Kandungan hemiselulosa yang tinggi memberikan kontribusi pada ikatan antar serat, karena hemiselulosa

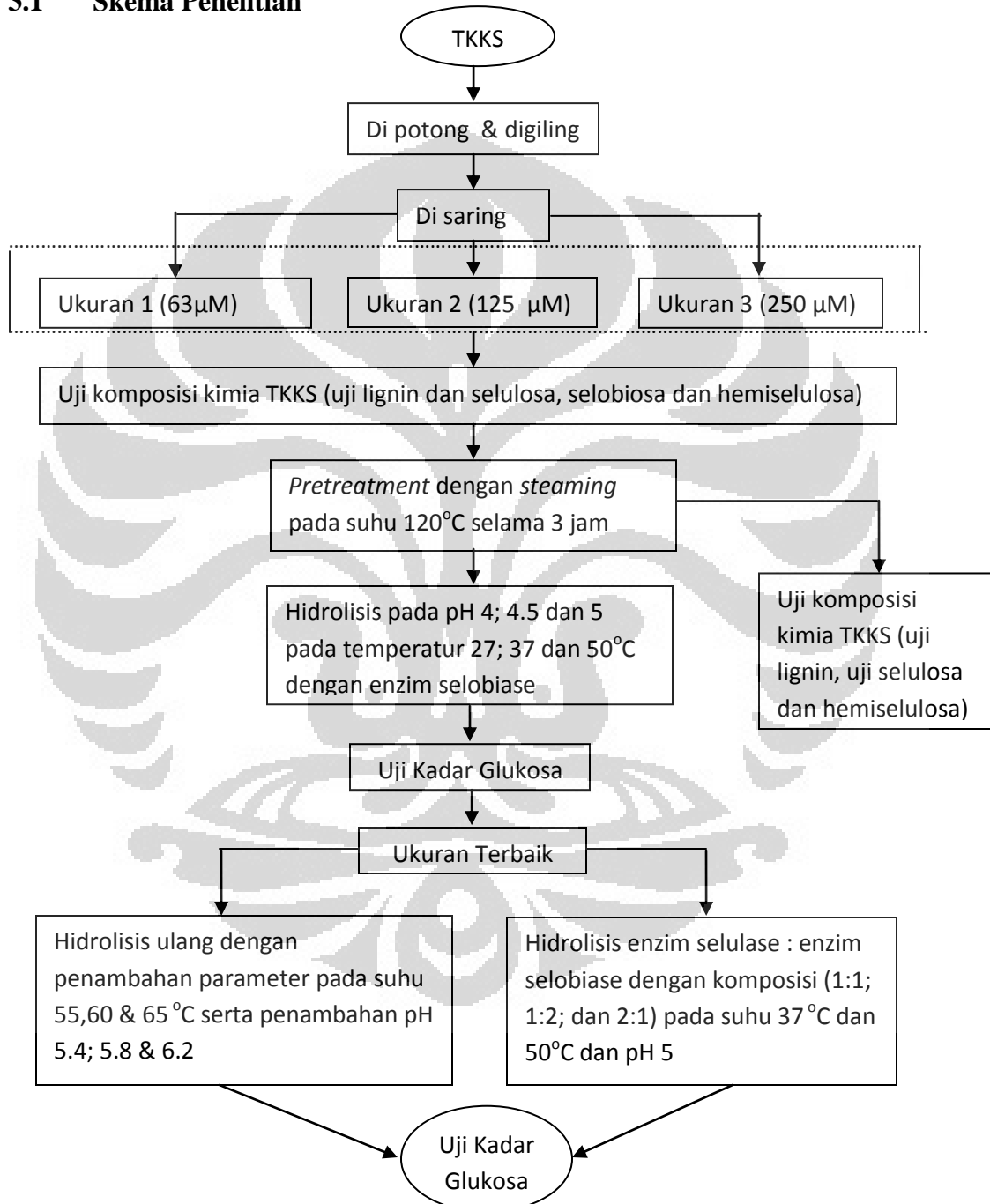
bertindak sebagai perekat dalam setiap serat tunggal. Pada saat proses pemasakan berlangsung, hemiselulosa akan melunak, dan pada saat hemiselulosa melunak, serat yang sudah terpisah akan lebih mudah menjadi berserabut (Indriany, 2005).



Gambar 2.9 Struktur Hemiselulosa ([http:// www.chemistry.org/materi\\_kimia/kimia.../struktur](http://www.chemistry.org/materi_kimia/kimia.../struktur))

## BAB 3 METODE PENELITIAN

### 3.1 Skema Penelitian



Gambar 3.1 Skema Penelitian

## 3.2 Variabel

Dalam penelitian ini yang digunakan sebagai variabel bebas adalah variasi ukuran, variasi suhu, variasi pH dan kombinasi enzim untuk mencari komposisi terbaik agar dapat menghidrolisis TKKS menjadi gula secara optimum. Sedangkan sebagai variabel terikatnya adalah gula yang dihasilkan dari TKKS pada proses hidrolisis

## 3.3 Prosedur Percobaan

### 3.3.1 Tahapan Percobaan

Sejumlah TKKS yang telah dikeringkan terlebih dahulu kemudian di potong dan digiling, lalu disaring untuk mendapatkan beberapa ukuran ( $63\mu\text{M}$ ,  $125\mu\text{M}$  dan  $250\mu\text{M}$ ) TKKS. Selanjutnya dilakukan pengujian komposisi dari TKKS yang meliputi uji lignin, uji selulosa dan uji gula. Dan tahap berikutnya dilakukan hidrolisis pada beberapa kondisi pH, suhu, kombinasi enzim dan ukuran dari TKKS untuk melihat batasan optimum dari hidrolisis enzimatik tersebut.

### 3.3.2 Pengujian Komposisi kimia

#### 3.3.2.1 Pengujian Lignin (Metode Klason, SNI 0492 :2008)

- a. Ditimbang ( $1\text{ gr} \pm 0.1\text{ gr}$ ) contoh TKKS yang telah dikeringkan di dalam oven pada temperatur  $108^{\circ}\text{C}$ .
- b. Diekstraksi contoh TKKS dengan alkohol-benzene dengan ratio 1:2 sebanyak 200 ml (SNI 1032:1989). Kemudian sampel hasil ekstraksi tersebut dipindahkan kedalam gelas piala 50 ml dan ditambahkan asam sulfat 72% sebanyak 15 ml. Penambahan di lakukan perlahan-lahan, sambil dilakukan pengadukan atau maserasi dengan batang pengaduk selama 2 sampai 3 menit.
- c. Setelah terdispersi sempurna, tutup gelas piala dengan kaca aroji dan biarkan pada bak perendam selama dua jam dan dilakukan pengadukan sekali-kali selama proses berlangsung.
- d. Dipindahkan sampel dalam gelas piala secara kuantitatif kedalam erlenmeyer 500 ml dibilas dengan menambahkan air suling sebanyak 360 ml. sehingga konsentrasi asam sulfat menjadi 3%.

- e. Dipanaskan larutan dalam erlenmeyer tersebut dengan menambahkan batu didih sebelumnya. Pemanasan dilakukan selama 4 jam dengan temperatur yang tidak terlalu tinggi (sekitar 125°C) dan gunakan refluks sebagai pendingin balik.
- f. Kemudian didekantasi larutan dan dipindahkan endapan secara kuantitatif kedalam corong dengan dilapisi kertas saring yang telah diketahui sebelumnya.
- g. Dicuci endapan lignin dengan air panas sampai bebas asam. (uji dengan kertas lakmus).
- h. Kemudian pindahkan endapan dalam kertas saring tersebut yang telah bebas asam ke dalam cawan penguapan yang telah konstan beratnya. Keringkan dalam oven pada suhu (105°C ± 3 °C) selama satu jam, dinginkan dalam desikator sekitar 15 menit dan timbang sampai berat konstan.
- i. Pengujian dilakukan secara *duplo*.

Penentuan kadar lignin dapat dihitung dengan rumus berikut :

$$L = A/B \times 100\% \dots\dots\dots (3.1)$$

Dimana :

L adalah nilai kadar lignin dinyatakan dalam persen (%)

A adalah endapan lignin. dinyatakan dalam gram (g)

B adalah berat contoh kering oven dinyatakan dalam gram (g)

### **3.3.2.2 Pengujian Selulosa (selulosa alfa & selulosa beta, dan gamma SNI 0444:2009)**

#### **a. Penentuan Pengujian Selulosa Alfa**

1. Disiapkan cawan penguapan yang telah didapat berat konstan dengan mengeringkan pada suhu 105°C ± 5°C.
2. Ditimbang dua contoh TKKS sebanyak 1,5 g ± 0,1 g dengan ketelitian 0,1 mg.



3. Disiapkan NaOH 17.5% sebanyak 75 ml (suhu NaOH harus  $25^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$  pada saat dimasukan dalam gelas piala 300 ml).
4. Diaduk sampel TKKS sampai terdispersi sempurna (hindari terjadinya gelembung selama proses pengadukan).
5. Dicuci pengaduk, jika ada pulp yang menempel dengan 25 mL NaOH 17,5%. Aduk suspensi dengan pengaduk selama 30 menit lalu tambahkan aquades 100 mL,
6. Diaduk suspensi kemudian disaring dan 10 mL - 20 mL filtrat pertama dibuang.
7. Disiapkan labu 100 mL untuk menampung filtrat berikutnya. Endapan yang didapat jangan dicuci dan dijaga pada saat penyaringan tidak terbentuknya gelembung.
8. Dipipet filtrat sebanyak 25 mL dan 10 mL larutan kromat 0,5 N ke dalam labu 250 mL. lalu tambahkan secara perlahan-lahan 50 mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$  sambil digoyangkan.
9. Dipanaskan larutan pada suhu  $125^{\circ}\text{C} - 135^{\circ}\text{C}$  tambahkan batu didih kedalamnya. Kemudian tambahkan 50 mL aquades dan didinginkan sampai suhu ruang. Ditambahkan 2-4 tetes indikator ferroin dan titrasi dengan larutan Ferro Ammonium Sulfat 0.1N sampai berwarna ungu ( $V_2$ ), dan sampel di uji secara duplo.
10. Dilakukan juga titrasi terhadap blanko ( $V_1$ ) dengan 12,5 mL larutan NaOH 17,5% dan 12,5 mL aquades.

Kandungan selulosa alfa dihitung menurut rumus sebagai berikut :

$$X = 100 - \frac{6,85 (V_2 - V_1) \times N \times 20}{A \times W} \dots\dots\dots (3.2)$$

Di mana :

X adalah selulosa alfa, dinyatakan dalam persen (%);

$V_1$  adalah volume titrasi blanko, dinyatakan dalam milliliter (mL);

$V_2$  adalah volume titrasi filtrat TKKS, dinyatakan dalam milliliter (mL)

N adalah normalitas larutan Ferro Ammonium Sulfat;

A adalah volume titrat TKKS yang dianalisa dinyatakan dalam milliliter (ml);

W adalah berat kering oven sampel TKKS pada pengujian alfa selulosa dinyatakan dalam gram (g).

**b. Penentuan Pengujian Selulosa Gamma**

1. Dipipet filtrat sebanyak 50 mL kedalam labu takar 100 mL (filtrat pada pengujian alfa selulosa pada langkah 7).
2. Ditambahkan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 3N sebanyak 50 mL, sehingga labu sudah terisi penuh, lalu dihomogenisasikan dengan membolak-balik lautan dalam labu takar tersebut
3. Kemudian pindahkan dalam Erlenmeyer 250 mL lalu dipanaskan pada suhu sekitar 70°C sampai 90°C selama beberapa menit untuk mengkoagulasi selulosa beta. Endapan dibiarkan sampai mengendap sempurna (sekitar satu malam), kemudian dekantasi dan saring untuk mendapatkan larutan jernih tersebut (filtrat).
4. Dipipet filtrat tersebut sebanyak 50 mL kedalam Erlenmeyer 250 mL lalu ditambahkan 10 mL larutan kalium dikromat 0,5 N dan ditambahkan secara perlahan-lahan 90 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat.
5. Kemudian tambahkan 50 mL aquades dan dinginkan sampai suhu ruang. Ditambahkan 2- 4 tetes indikator ferroin dan titrasi dengan larutan Ferro Ammonium Sulfat 0,1N sampai berwarna V<sub>4</sub>). sampel di uji secara duplo.
6. Dilakukan juga titrasi terhadap blanko (V<sub>3</sub>) dengan 12,5 mL larutan NaOH 17,5% , 12,5 mL aquades dan 25 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 3N.

Pada pengujian kandungan selulosa beta, maka harus menghitung terlebih dahulu kandungan selulosa gamma dan selulosa alfa, karena rumusan selulosa beta terkait dengan rumusan kandungan selulosa gamma dan selulosa alfa.

Adapun rumusan yang dihitung sebagai berikut :

$$Y = \frac{6,85 (V_4 - V_3) \times N \times 20}{25 \times W} \dots\dots\dots (3.3)$$

Dimana :

Y adalah selulosa alfa, dinyatakan dalam persen (%);

$V_3$  adalah volume titrasi blanko pada pengujian beta selulosa, dinyatakan dalam milliliter (mL);

$V_4$  adalah volume titrasi filtrat TKKS setelah pengendapan selulosa beta, dinyatakan dalam mililiter (mL).

W, adalah berat kering oven sampel TKKS pada pengujian beta selulosa dinyatakan dalam gram (g).

**c. Penentuan Kandungan Selulosa Beta**

$$Z = 100 - (X+Y) \dots\dots\dots (3.4)$$

Dimana:

Z adalah selulosa beta dinyatakan dalam persen (%).

X dan Y berturut-turut adalah sebagai selulosa alfa dan gamma.

**3.3.2.3 Pengujian Total Gula dengan Metode Antrone (AOAC, 1984)**

**a. Pembuatan Kurva Standar**

1. Timbang 200 mg glukosa standar dan larutkan kedalam labu takar 100 mL dengan, lalu dipipet dari larutan tersebut 10 mL dan diencerkan kembali dengan aquades ke dalam labu takar 100 mL.
2. Dari larutan tersebut pipet sebanyak 0,0 (blanko); 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 dan 1,0 mL larutan glukosa standar, lalu ditambahkan aquades sampai volume masing-masing tabung reaksi 1mL.
3. Ditambahkan dengan cepat 5 mL pereaksi antrone kedalam masing-masing tabung reaksi.
4. Tutup tabung reaksi dan campur larutan tersebut hingga merata.
5. Dipanaskan dalam waterbath suhu 100°C selama 12 menit.
6. Didinginkan dengan cepat kedalam air mengalir.
7. Dipindahkan kedalam kuvet dan ukur absorbansinya pada panjang gelombang 630 nm.

8. Dibuat kurva hubungan antara absorbansi dengan mg glukosa, yang dijadikan sebagai kurva standar.

**b. Pembuatan Larutan Antrone**

Ditimbang sebanyak 1 gram antrone dilarutkan dengan  $H_2SO_4$  97% dan ditepatkan kedalam labu takar 1L.

**c. Penetapan Sampel**

Sampel hasil hidrolisis dipipet dan disaring sebanyak 1 mL lalu diencerkan dengan aquades kedalam labu takar 100 mL. Selanjutnya dipipet 1 mL dan dilakukan tahap 3 sampai tahap 7 seperti pengujian kurva standar. Lalu di tentukan mg gula pereduksi (glukosa) didalam sampel dengan menggunakan persamaan  $Y = bX + a$ .

Dimana  $Y$  = absorbansi

$X$  = mg glukosa

Total gula (%) =  $\frac{\text{mg gula dari kurva standar} \times \text{FP} \times 100}{\text{mg sampel}}$  .....(3.5)

**3.3.3 Persiapan Hidrolisis**

Pada Tahap ini dilakukan dua tahap. Adapun tahap-tahap yang dilakukan sebagai berikut :

**a. Tahap Hidrolisis TKKS dengan Enzim Selobiase**

Pada tahap ini di timbang TKKS sebanyak 2,5 gr, lalu dimasukkan ke dalam Erlenmeyer. Selanjutnya disiapkan deret buffer sitrat, yaitu buffer pH 4, pH 4,5 dan buffer pH 5, untuk dimasukkan kedalam Erlenmeyer yang telah diisi oleh TKKS. Masing-masing buffer dimasukkan sebanyak 50 mL sesuai dengan kode yang telah dibuat. Sebagai contoh 27/5/63, artinya dimasukkan buffer pH 5 untuk ukuran 63 $\mu$ M pada suhu 27°C. Beberapa kode sampel yang digunakan yaitu 27/4/63; 27/4/125; 27/4/250; 27/4.5/63; 27/4.5/125; 27/4.5/250; 27/5/63; 27/5/125; 27/5 250; 37/4/63; 37/4/125; 37/4/250; 37/4.5/63; 37/4.5/125; 37/4.5/250; 50/4/63; 50/4/125; 50/4/250; 50/4.5/63; 50/4.5/125; 50/4.5/250; 50/5/63; 50/5/125; 50/5/250. Kemudian dipipet sejumlah enzim 0.5 mL dan

dimasukkan kedalam Erlenmeyer tersebut. diambil sejumlah sampel hasil hidrolisis pada masing periode waktu hidrolisis 3, 6, 9, 15, 21, 27, 33, 39, 45 dan 48 jam sebanyak 3 mL. Dipipet 1 mL sampel pada waktu hidrolisis tersebut kedalam labu takar 100 mL dan diencerkan hingga tanda batas dengan aquades. Sampel siap di uji kadar glukosa dengan metode antrone. Pada tahap hidrolisis ini digunakan parameter suhu (27, 37 dan 50°C), ukuran TKKS (63, 125, 250 µM) , larutan buffer (pH 4, 4.5, dan 5) dan waktu hidrolisis.

**b. Tahap Hidrolisis TKKS dengan Enzim Selobiase dan enzim Selulase**

Sama seperti tahap diatas, pada tahap ini kembali digunakan enzim selobiase murni dengan penambahan variasi suhu, yaitu suhu 55, 60 dan 65°C, dan penambahan variasi pH, yaitu pH 5,4 ; 5,8 dan 6,2. Pada saat yang sama, dilakukan hidrolisis dengan enzim selulase murni pada kondisi optimumnya, yaitu pada suhu 37°C pada pH 5 dengan ukuran TKKS 63 µM. Di saat yang sama juga dilakukan hidrolisis enzimatik dengan variasi suhu 37 dan 50°C dan variasi kombinasi enzim, tetapi pada tahap ini hanya digunakan sampel sebanyak 0,5 gram dan enzim yang digunakan sebanyak 0,05 gr dengan berbagai komposisi (enzim selulase : selobiase; 1:1 ; 1:2 ; 2:1).

## BAB 4

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1. Pengujian Komposisi Kimia Dari Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS)

Sebelum melakukan hidrolisis terhadap TKKS ini, ditentukan terlebih dahulu komposisi dari TKKS. Komposisi uji yang dilakukan antara lain, uji kadar lignin, uji kandungan selulosa dan hemiselulosa ( $\alpha$ , dan  $\gamma$  selulosa). Uji sebelum dilakukan steaming adalah sebagai berikut kadar lignin sebesar 24,58%, kadar selulosa ( $\alpha$ -selulosa) sebesar 37,53%, dan kadar hemiselulosa sebesar ( $\gamma$ -selulosa) 24,84%. Sedangkan hasil penelitian diperoleh hasil uji setelah dilakukan steaming pada suhu 110°C selama 3 jam, yaitu sebagai berikut, kadar lignin sebesar 21,43%, kadar selulosa ( $\alpha$ -selulosa) sebesar 44,54%, dan kadar hemiselulosa sebesar ( $\gamma$ -selulosa) 27,14%. Dengan komposisi kandungan selulosa yang cukup besar ini, maka dimungkinkan untuk dapat menghasilkan glukosa dengan jumlah yang cukup besar. Dalam menentukan kadar lignin digunakan metode klason yang telah ditulis ulang dalam SNI (SNI 0492:2008). Prinsip metode ini adalah menghilangkan ekstraktif dengan alkohol dan benzene, lalu menghilangkan karbohidrat dengan menambahkan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 72%, bagian yang tidak larut dalam H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 72% ini disaring, dikeringkan dan ditimbang dan ditentukan sebagai kadar lignin. Lignin secara fisik membungkus mikrofibril selulosa dalam suatu matriks hidrofobik dan terikat secara kovalen baik pada selulosa maupun hemiselulosa (Said, 1994). Lignin ada di dalam dinding sel maupun di daerah antar sel (lamela tengah) dan menyebabkan kayu menjadi keras dan kaku sehingga mampu menahan tekanan mekanis yang besar. Konsentrasi lignin tertinggi terdapat dalam dinding sel yaitu pada bagian lamela tengah dan akan semakin mengecil pada lapisan di dinding sekunder (Sjostrom, 1995). Untuk pengukuran kadar selulosa menggunakan metode SNI 0444, yang diukur sebagai  $\alpha$ -selulosa dengan prinsip sebagai bahan yang tidak larut dan tahan terhadap natrium hidroksida. Dan untuk hemiselulosa, yang diukur sebagai  $\gamma$ -selulosa, dengan prinsip sebagai bagian pulp yang tertinggal didalam larutannya.

Tabel 4.1 Hasil Uji Komposisi TKKS

PARAMETER UJI	METODE	KADAR (%) SEBELUM STEAMING	KADAR (%) SETELAH STEAMING
Uji lignin	Klason (SNI 0492;2008)	24,58%	21,43%
Uji selulosa	$\alpha$ Selulosa ( SNI 0444;2009)	37,53%	44,54%
Uji hemiselulase	$\gamma$ Selulosa ( SNI 0444;2009)	24,84%	27,14%

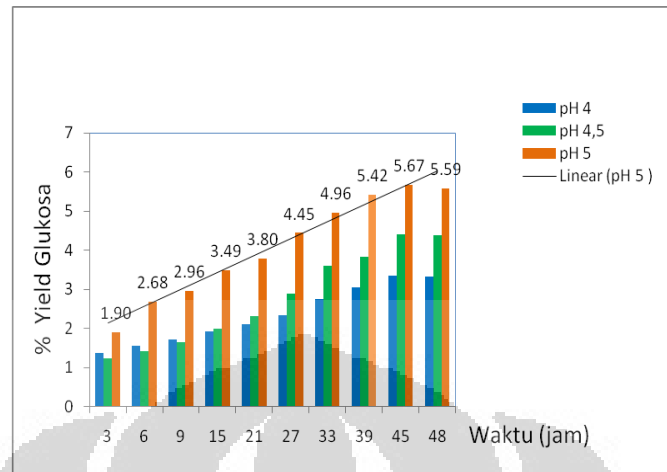
## 4.2 Pengujian Kadar Glukosa

Pada pengujian kadar glukosa digunakan metode Antrone. Prinsip pengujian ini adalah antrone bereaksi secara spesifik dengan karbohidrat dalam asam sulfat pekat menghasilkan warna biru yang khas. Dimana sebelumnya telah dilakukan *pretreatment* TKKS dengan *steaming* selama 3 jam dan dihidrolisis selama 48 jam dalam rentang waktu tertentu (setiap 3 atau 6 jam sekali) dilakukan pengambilan sampel untuk selanjutnya dilakukan pengujian kadar glukosa. Hasil yang diperoleh dari hidrolisis ini mewakili beberapa parameter, seperti waktu hidrolisis, ukuran TKKS, pH larutan hidrolisis, suhu hidrolisis, dan komposisi enzim. Dan selanjutnya di analisis hubungan antara parameter tersebut terhadap % glukosa yang dihasilkan.

### 4.2.1 Hubungan Antara Waktu Hidrolisis Terhadap Konsentrasi Glukosa (%)

#### Pada Hidrolisis Enzim Selobiase

Pengaruh waktu hidrolisis terhadap % glukosa yang dihasilkan dari proses hidrolisis, yang diwakili ukuran TKKS  $63\mu\text{M}$  pada berbagai suhu ( $27,37$  dan  $50^\circ\text{C}$ ) dan berbagai pH (4, 4.5, 5) dapat dilihat dari gambar 4.1a-4.1c.



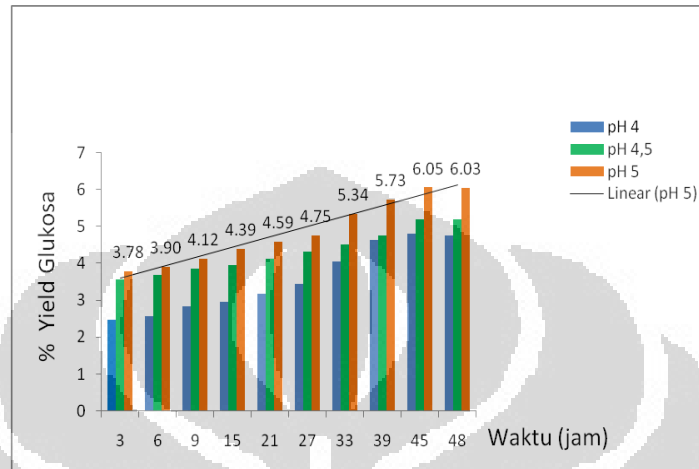
Gambar 4.1.a Hubungan Waktu Hidrolisis Dengan % Yield Glukosa Pada Suhu 27°C Dan Ukuran 63  $\mu$ M Pada Berbagai pH (4, 4.5, 5)

Dari gambar 4.1.a dapat dilihat bahwa waktu hidrolisis yang semakin lama akan menghasilkan % yield glukosa yang semakin tinggi (Surhaini, 2010). Namun demikian, pada suhu tertentu dihasilkan nilai % yield glukosa yang tetap. Hal ini dikarenakan enzim selobiase pada waktu lebih dari 45 jam telah menunjukkan penurunan aktivitasnya, sehingga hidrolisis TKKS menjadi glukosa juga terhenti. Pada kondisi suhu 27°C, pH 5, ukuran 63 $\mu$ M dan waktu hidrolisis ke-45 jam diperoleh hasil % yield glukosa tertinggi yaitu sebesar 5.668 % dari berat kering TKKS. Sedangkan pada waktu ke-48 jam hanya diperoleh % yield glukosa sebesar 5.587% dari berat kering TKKS tersebut. Namun demikian, untuk waktu hidrolisis belum dapat diperoleh kepastian tentang waktu optimum dari hidrolisis, perlu penambahan waktu hidrolisis yang lebih lama lagi untuk dapat memastikan waktu optimum dari hidrolisis enzimatik ini.

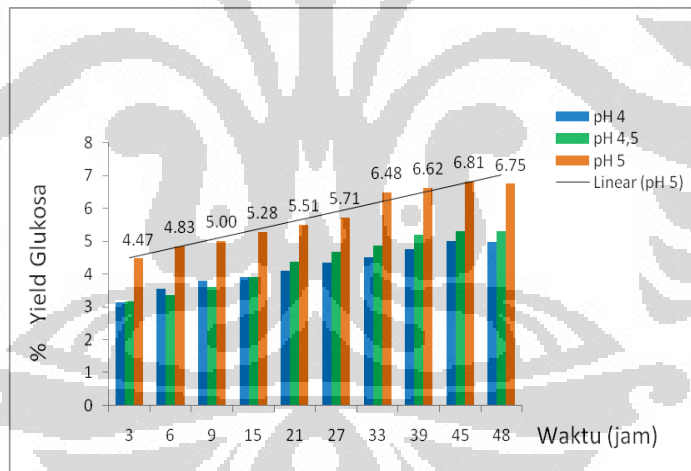
Pada gambar 4.1.b, sama halnya pada suhu 27 °C, pada 37°C dan 50 °C juga memberikan kesimpulan yang sama, yaitu semakin lama hidolisis secara enzimatik, maka akan dihasilkan % yield glukosa yang semakin besar pula. Hasil hidrolisis tertinggi pada kondisi 45 jam hidrolisis TKKS pada suhu 37°C dengan ukuran 63  $\mu$ M dengan berbagai pH (pH 4, 4.5, 5) dihasilkan % yield glukosa yang sebesar 6.055%



dari berat kering TKKS. Dan pada 48 jam hidrolisis glukosa yang dihasilkan hanya sebesar 6.035% dari berat kering TKKS.



Gambar 4.1.b Hubungan Waktu Hidrolisis Dengan % Yield Glukosa Pada Suhu 37°C Dan Ukuran 63  $\mu$ M Pada Berbagai pH (pH 4, 4.5, 5) Dengan Enzim Selobiase

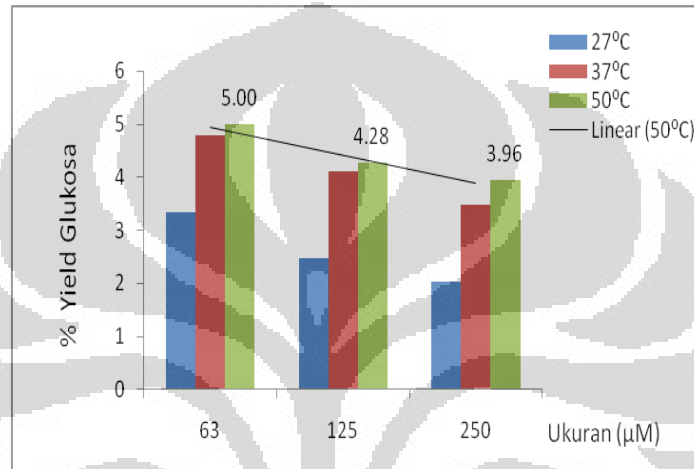


Gambar 4.1.c Hubungan Waktu Hidrolisis Dengan % Yield Glukosa Pada Suhu 50°C Dan Ukuran 63  $\mu$ M Pada Berbagai pH (4, 4.5, 5) Dengan Enzim Selobiase

Untuk suhu 50°C, diperoleh kesimpulan yang sama. Dan hasil % yield glukosa yang diperoleh pada kondisi ini dan waktu 45 jam hidrolisis tersebut adalah 6.808% glukosa dari basis berat kering. Sedangkan pada 48 jam waktu hidrolisis hanya diperoleh glukosa sebesar 6,747% dalam basis berat kering TKKS.

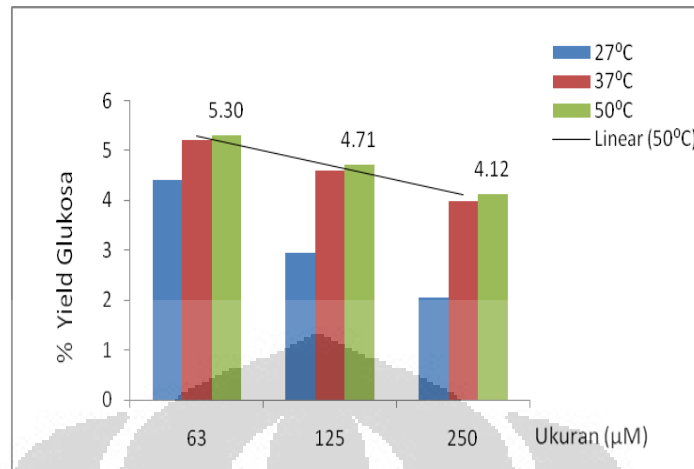
#### 4.2.2 Hubungan Antara Ukuran TKKS Terhadap Konsentrasi Glukosa (%) Pada Hidrolisis Enzim Selobiase

Selain waktu hidrolisis, faktor lain yang mempengaruhi konversi % glukosa adalah ukuran TKKS yang akan dihidrolisis. Untuk dapat melihat faktor ukuran TKKS terhadap % glukosa yang dihasilkan, dapat dilihat pada gambar 4.2 a-4.2c.

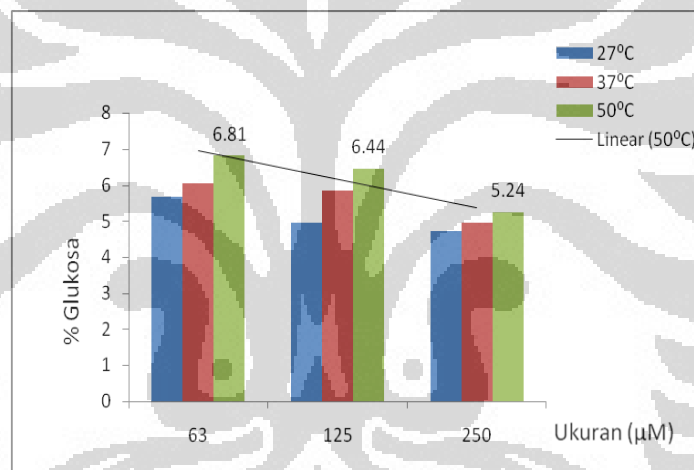


Gambar 4.2.a Ukuran TKKS Vs % Yield Glukosa Pada pH 4 Dan Jam ke-45 Di Berbagai Suhu (27,37,50°C) Dengan Enzim Selobiase

Pada kondisi pH 4 dan jam ke-45 untuk ukuran TKKS tertinggi terdapat pada ukuran TKKS 63µM dengan % yield glukosa sebesar 4,997% pada suhu 50 °C dari basis berat kering TKKS. % Yield glukosa tertinggi kedua yang diperoleh dari ukuran TKKS 125 µM sebesar 4,285% pada suhu 50 °C dari basis kering TKKS. Pada kondisi pH 4 terlihat bahwa ukuran TKKS yang semakin kecil akan memberikan % yield glukosa yang semakin tinggi. Hal ini karena enzim selobiase yang akan menghidrolisis TKKS akan lebih mudah.



Gambar 4.2.b Ukuran TKKS Vs % Yield Glukosa Pada pH 4.5 Dan Jam ke-45 Di Berbagai Suhu (27,37,50°C) Dengan Enzim Selobiase



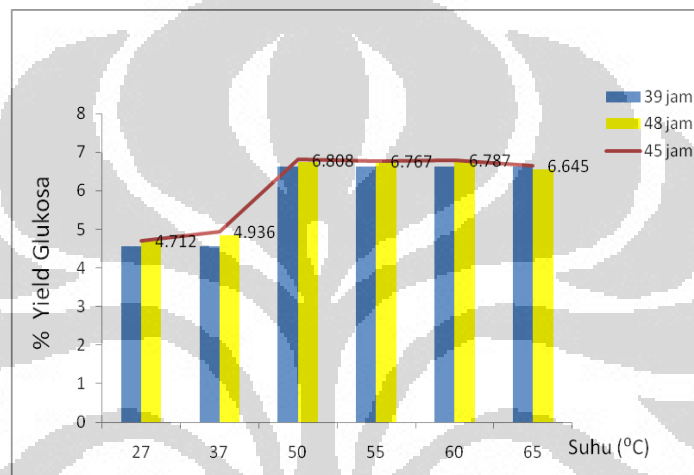
Gambar 4.2.c Ukuran TKKS Vs % Yield Glukosa Pada pH 5 Dan Jam ke-45 Di Berbagai Suhu (27,37,50°C) Dengan Enzim Selobiase

Berdasarkan gambar diatas dapat dilihat bahwa ukuran TKKS sangat berpengaruh terhadap besarnya % yield glukosa yang dihasilkan. Dimana semakin kecil ukuran dari TKKS maka akan dihasilkan % yield glukosa yang semakin tinggi. Hal ini terjadi karena ukuran partikel yang lebih kecil lebih mudah terhidrolisis. Dimana enzim lebih mudah bertumbukan dengan selulase didalam TKKS untuk kemudian dihidrolisis menjadi glukosa. Enzim yang digunakan pada pengukuran diatas adalah hanya enzim selobiase. Adapun urutan % yield glukosa yang dihasilkan dari yang

tertinggi ke terendah berdasarkan ukuran TKKS berturut-turut sebagai berikut  $63\mu\text{M}$ ,  $125\mu\text{M}$ , dan  $250\mu\text{M}$ .

#### 4.2.3 Penentuan Suhu Optimum Hidrolisis Pada Enzim Selobiase

Pada penentuan suhu optimum hidrolisis ini dapat dilihat pada gambar dibawah ini. Adapun variabel suhu hidrolisis yang digunakan pada penentuan suhu optimum pada penelitian ini yaitu suhu ruang ( $27^{\circ}\text{C}$ ),  $37^{\circ}\text{C}$ ,  $50^{\circ}\text{C}$ ,  $55^{\circ}\text{C}$  dan  $62^{\circ}\text{C}$ .



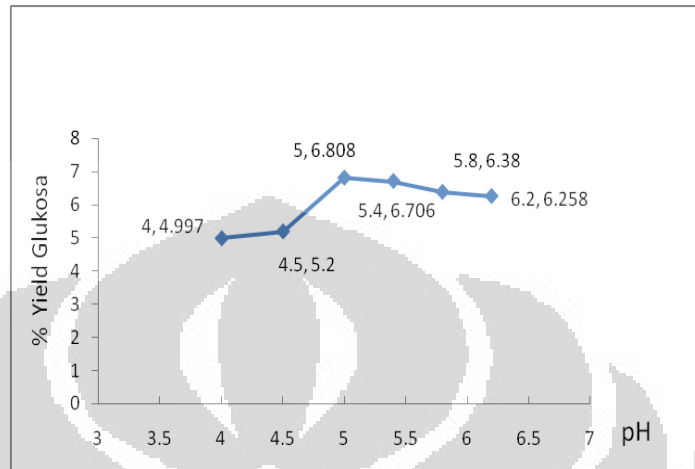
Gambar 4.3 Penentuan Suhu Optimum Hidrolisis

Dari gambar diatas dapat dilihat bahwa variabel tetap adalah ukuran TKKS  $63\mu\text{M}$  dan pH hidrolisis pada pH 5. Suhu hidrolisis yang semakin tinggi akan meningkatkan konversi TKKS menjadi glukosa, namun pada suhu tertentu enzim akan kehilangan aktivitasnya, sehingga memberikan % konversi yang stabil dan cenderung menurun. Hal ini dapat dilihat dari kurva diatas bahwa pada suhu  $65^{\circ}\text{C}$  telah memberikan % yield glukosa yang semakin turun, sehingga disimpulkan bahwa suhu optimum untuk enzim selobiase adalah suhu  $50^{\circ}\text{C}$ . Sesuai Jadi jika hidolisis terjadi diluar suhu optimumnya maka akan dihasilkan konversi glukosa yang lebih rendah (Dwira, Rahima, 2010)

#### 4.2.4 Penentuan Optimalisasi pH Pada Enzim Selobiase

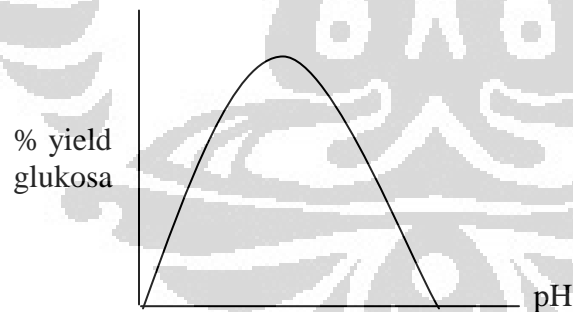
Pada penentuan optimalisasi pH dilakukan pada ukuran TKKS  $63\mu\text{M}$ , pada suhu  $50^{\circ}\text{C}$  (sebagai ariable tetap). Dan variable pH yang digunakan pada penelitian

ini yaitu pH 4; 4,5;5; 5,4; 5,8 dan 6,2. Penentuan pH optimum ini dapat dilihat pada gambar 4.4.



Gambar 4.4 Hubungan pH Terhadap % Glukosa

Pada gambar diatas penentuan pH optimum terdapat pada pH 5 yang memberikan konversi gula sebesar 6,808%. pH ini artinya enzim selobiase menunjukkan aktivitas tertingginya pada kondisi pH 5. Jika dilambangkan hubungan antara pH dengan % glukosa adalah seperti lonceng (Dwira, Rahima , 2010).

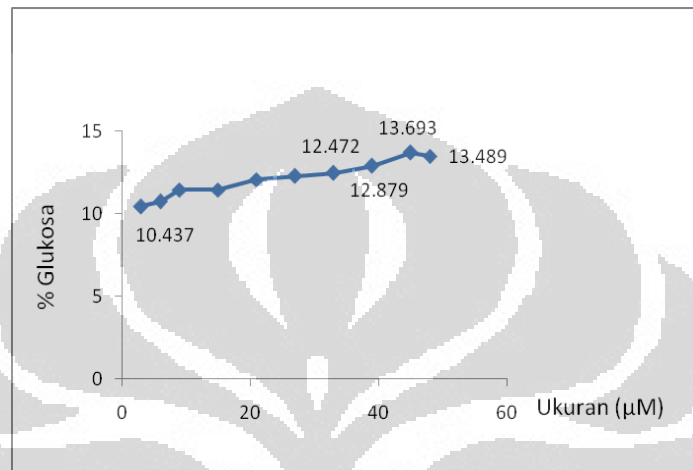


Gambar 4.5 ilustrasi hubungan antara pH dengan % yield glukosa

#### 4.2.5 Penentuan Besarnya Hidrolisis Enzim Selulose Didalam TKKS

Pada penelitian ini digunakan ukuran 63  $\mu$ M, pH 5 dan suhu 37°C untuk penentuan konversi TKKS menjadi Gula. Dan hasil % yield glukosa yang diperoleh dapat dilihat pada gambar 4.6. Dari gambar 4.6 pada penggunaan enzim selulase untuk menghidrolisis TKKS menjadi Glukosa memiliki konversi yang lebih tinggi

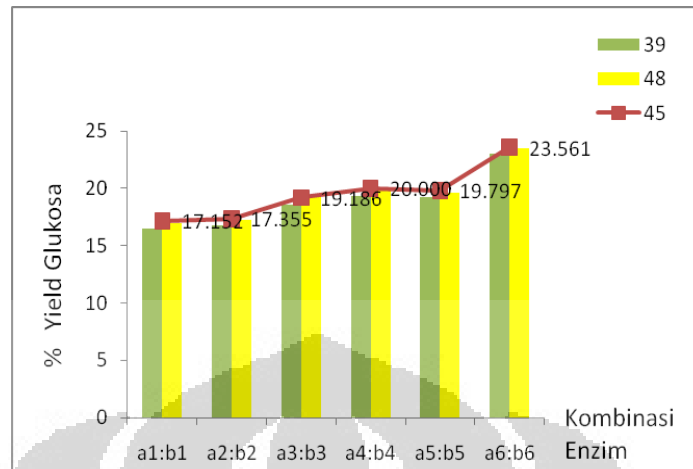
yaitu sebesar 13,693%, jika dibandingkan penggunaan enzim selobiase saja yang hanya sebesar 6,808% pada kondisi optimum masing-masing enzim. Namun diperlukan kombinasi keduanya agar dapat dihasilkan % yield glukosa yang semakin tinggi.



Gambar 4.6 Konversi TKKS menjadi Glukosa Dengan Enzim Selulase

#### 4.2.6 Penentuan Besarnya Hidrolisis Kombinasi Enzim Selulase Dan Enzim Selobiase Didalam TKKS

Pada penentuan besarnya hidrolisis kombinasi dua enzim ini dilakukan dengan dua variabel suhu dan tiga variabel kombinasi enzim. Suhu yang digunakan adalah suhu 37°C & 50°C. Dan kombinasi yang digunakan yaitu kombinasi enzim selulase:enzim selobiase ((1:1):(1:2):(2:1)). Dari kedua variabel suhu dan ketiga kombinasi enzim ini, maka akan dapat ditentukan berapa kondisi dan komposisi yang diperlukan untuk dapat menghasilkan % yield glukosa yang tertinggi pada kondisi yang optimum. Berdasarkan gambar diatas diperoleh kondisi optimum yaitu pada waktu hidrolisis jam ke-45 dengan % yield glukosa tertinggi terdapat pada kombinasi enzim selulase:selobiase dengan ratio 2:1. Hal ini dikarenakan didalam TKKS enzim yang digunakan untuk menghidrolisis memiliki kecukupan dengan substrat yang tersedia, dan disimpulkan juga bahwa masing-masing enzim ini bekerja secara spesifik ke substrat masing-masing dan tidak saling menghambat.



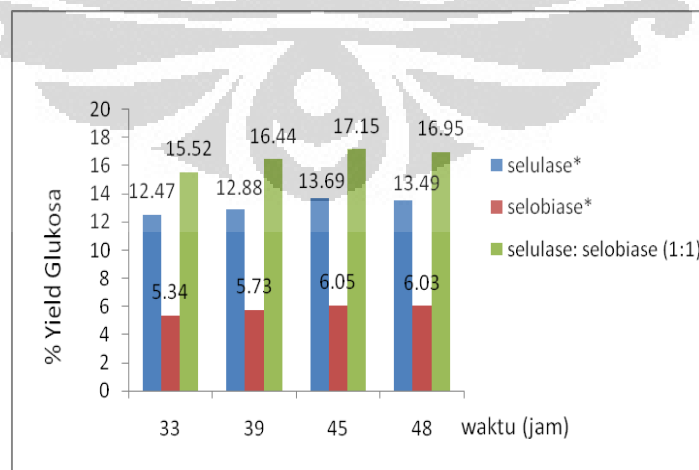
Gambar 4.7 Besarnya % Yield Glukosa Yang Dihasilkan Pada Kombinasi Enzim Selulase Dan Selobiase (selulase:selobiase)

Keterangan gambar :

- \* a1:b1 = Suhu 37°C, ukuran 63µM dan pH 5 (selulase : selobiase; 1:1)
- \* a2:b2 = Suhu 37°C, ukuran 63µM dan pH 5 (selulase : selobiase; 1:2)
- \* a3:b3 = Suhu 37°C, ukuran 63µM dan pH 5 (selulase : selobiase; 2:1)
- \* a4:b4 = Suhu 50°C, ukuran 63µM dan pH 5 (selulase : selobiase; 1:1)
- \* a5:b5 = Suhu 50°C, ukuran 63µM dan pH 5 (selulase : selobiase; 1:2)
- \* a6:b6 = Suhu 50°C, ukuran 63µM dan pH 5 (selulase : selobiase; 2:1)

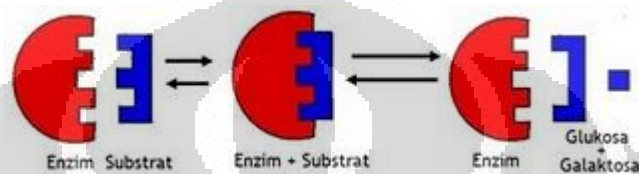
#### 4.2.7 Aktivitas Enzim Selulase Dan Selobiase Didalam TKKS

Dari hasil penelitian ini diperoleh data bahwa, enzim selulase dan selobiase yang menghidrolisis TKKS bekerja secara spesifik didalam substrat masing-masing, seperti terlihat didalam gambar 4.8

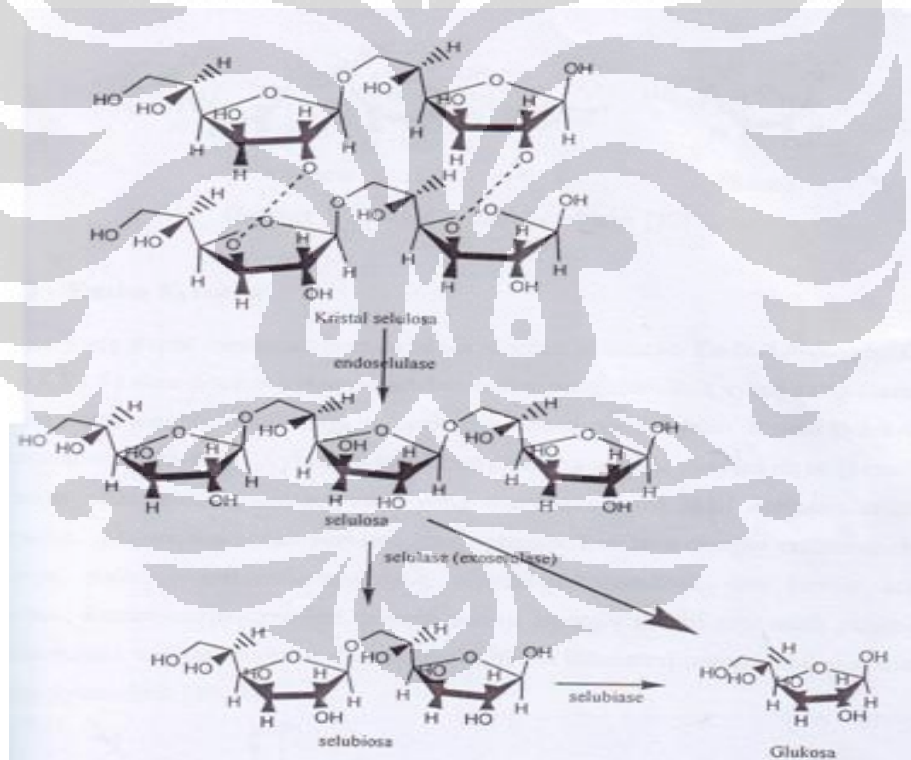


Gambar 4.8 Aktivitas Enzim Selulase dan Selobiase Didalam TKKS

Sesuai dengan tinjauan pustaka sebelumnya mengenai mekanisme enzim yang didasarkan dua teori, yaitu teori kunci gembok (*Lock and Key Fisher hypothesis*) dan teori kecocokan induksi (*induce fit Koshland hypothesis*) dimana disimpulkan bahwa enzim tidak akan berebut substrat yang lain selama proses hidrolisis (M. Samsuri, 2008) Enzim bekerja dengan mengikat substratnya membentuk kompleks enzim-substrat yang selanjutnya terpisah membentuk produk dan enzim.



Gambar 4.9 Mekanisme Kerja Enzim (<http://2.bp.blogspot.com>)

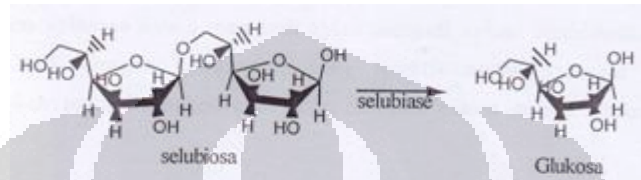


Gambar 4.10 Jenis Dan Aksi Enzim Selulase (M.Samsuri, 2008)

Dari gambar 4.9 dapat dilihat juga bagaimana enzim selulase menghidrolisis suatu material lignoselulosa untuk menghasilkan glukosa. Dimana komponen utama dari



penyusun selulase adalah endoselulase dan eksoselulase. Endoselulase bekerja memecah ikatan internal untuk memutuskan struktur kristalin pada selulosa dan membuka rantai polisakarida. Sedangkan eksoselulase bekerja membelah 2-4 unit dari akhir rantai yang diproduksi oleh endoselulase menghasilkan polisakarida dan monosakarida yaitu glukosa.



Gambar 4.11 Aksi Enzim Selobiase (M.Samsuri, 2008)

Keberadaan enzim selobiase didalam selulase ternyata sangat sedikit, karena didominasi oleh enzim endoselulase dan eksoselulase sehingga tidak optimal jika hanya mengandalkan selobiase didalam selulase. Jadi sangat penting untuk menambah selobiase murni didalam proses hidrolisis enzimatik (M.Samsuri, 2008) Enzim selobiase adalah enzim yang memecah selobiosa menjadi glukosa. Aksi enzim selobiase dapat dilihat dari gambar 4.10

#### 4.2.8 Perbandingan Hasil Penelitian

Tabel 4.2 Perbandingan Hasil Penelitian

BAHAN BAKU	METODE PENELITIAN	HASIL PENELITIAN	NAMA PENELITI (tahun publikasi)
Bonggol jagung	Sakarifikasi dan fermentasi	9,97% etanol dari berat kering bonggol	Said Zul Amraini (2008)
Jerami padi	Hidrolisis enzimatik dan fermentasi	24,8% etanol dari berat kering jerami	Kuhad dan Singh, (1993)

Pohon cemara	Hidrolisis enzimatis dan fermentasi	31,0% etanol dari berat kering batang cemara	Kuhad dan Singh, (1993)
Buah Bintaro	Hidrolisis enzimatis dan fermentasi	65,81% etanol dari berat kering buah	Greg Iman, Tony Handoko
Bagas	Hidrolisis enzimatis	19,7% etanol dari berat kering bagas	M. Samsuri (2008)
TKKS	Sakarifikasi dan fermentasi	14,6% TKKS dari berat kering TKKS	Purwinda, Iriani (2009)
<b>TKKS</b>	<b>Hidrolisis enzimatis</b>	<b>23,56% TKKS dari berat kering TKKS</b>	<b>Sitorus Rudy (2011)</b>

Sumber : Dari Berbagai Peneliti

Dari hasil diatas jelas bahwa pengembangan bioetanol dengan basis bahan lignoselulosa sedang banyak dilakukan penelitian, guna mendapatkan *pilot plant* yang dapat diterapkan dikemudian hari di negeri ini. Pada tabel diatas, juga disimpulkan bahwa penelitian TKKS yang dilakukan ini memiliki potensi yang cukup besar untuk dapat dilakukan model pengembangan pada penelitian berikutnya, karena hasil dari penelitian ini cukup menjanjikan, karena hasil konversi yang cukup tinggi dan ketersediaan dari bahan baku yang sangat melimpah dinegeri ini.

## BAB 5

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, maka penelitian ini dapat membuat beberapa kesimpulan. Dan penelitian ini juga telah dapat menjawab berbagai persoalan dari perumusan masalah yang dibuat. Secara umum kesimpulan dari penelitian ini adalah hidrolisis yang dilakukan secara enzimatik dengan enzim selulase dan enzim selobiase telah berhasil dilakukan, walaupun belum mendapatkan konversi yang optimum dari hidrolisis TKKS menjadi glukosa jika dibandingkan perhitungan secara teoritis.

Secara khusus penelitian ini menyimpulkan, antara lain :

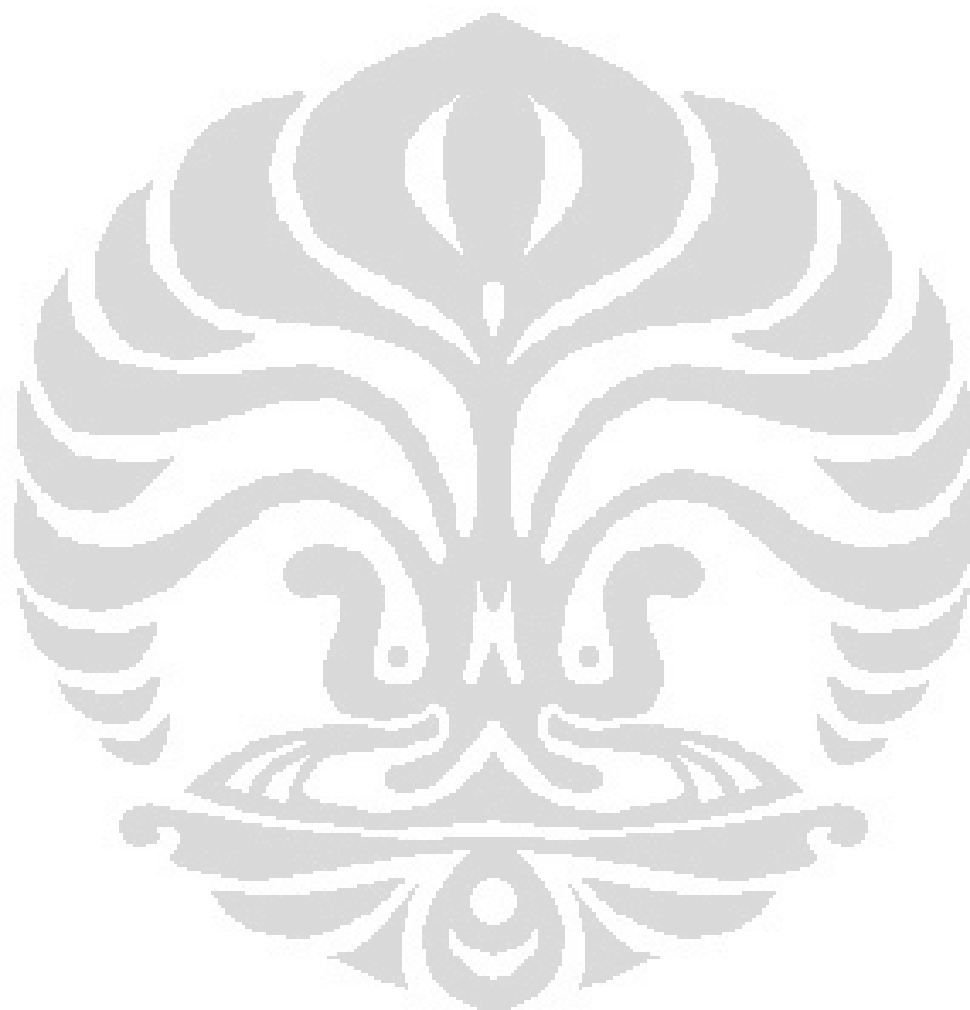
- a. Pengaruh ukuran terhadap % yield glukosa yang dihasilkan adalah ukuran yang semakin kecil akan memberikan % yield glukosa yang semakin tinggi. Dalam penelitian ini digunakan ukuran 63  $\mu\text{M}$ , 125  $\mu\text{M}$  dan 250  $\mu\text{M}$ . Maka, jika diurutkan berdasarkan hasil % yield glukosa yang terbesar adalah berturut-turut sebagai berikut 63  $\mu\text{M}$ , 125  $\mu\text{M}$ , 250  $\mu\text{M}$ .
- b. Pengaruh suhu hidrolisis terhadap % yield glukosa yang dihasilkan adalah suhu yang semakin tinggi akan memberikan % yield glukosa yang semakin tinggi, namun pada suatu hidrolisis terdapat suhu optimum dari aktivitas masing - masing enzim yang digunakan. Pada pengaruh suhu hidrolisis ini kondisi suhu optimum untuk enzim selobiase adalah 50°C dan selulase 37°C.
- c. Pengaruh pH buffer larutan hidrolisis terhadap % yield glukosa yang dihasilkan adalah pH larutan buffer akan mempengaruhi kinerja dari aktivitas enzim itu sendiri, dimana masing-masing enzim memiliki aktivitas yang berbeda pada larutan buffer yang berbeda. Untuk pengaruh pH buffer terhadap % yield glukosa yang dihasilkan pada penelitian ini digunakan beberapa deret buffer seperti buffer pH 4; 4,5; 5; 5,4; 5,8, dan 6,2. dan diperoleh pH buffer yang optimum

untuk hidrolisis dengan enzim selobiase adalah pada pH 5. Karena pada pH buffer ini memberikan % yield glukosa tertinggi.

- d. Pengaruh waktu hidrolisis terhadap % yield glukosa yang dihasilkan adalah waktu hidrolisis yang semakin lama dapat memberikan % yield glukosa yang besar, namun seperti halnya pada pengaruh suhu dan pH buffer, pengaruh waktu hidrolisis juga terdapat nilai optimum. Pada penelitian ini diperoleh nilai optimum dari waktu hidrolisis yaitu selama 45 jam hidrolisis. Namun perlu dilakukan penambahan waktu hidrolisis, agar dapat diperoleh waktu hidrolisis optimum yang lebih jelas.
- e. % Yield yang tertinggi yang dihasilkan pada kondisi optimum dari hidrolisis enzim selobiase adalah sebesar 6,808% dari 2,5 gr berat kering TKKS.
- f. % Yield yang dihasilkan pada hidrolisis enzim selulase pada kondisi optimumnya adalah sebesar 13,693% dari 0,5 gr berat kering TKKS.
- g. Kombinasi enzim selulase dan enzim selobiase yang memberikan % yield tertinggi adalah pada kombinasi 2:1 (enzim selulase : selobiase) dengan % yield sebesar 23,561% dari 0,5 gr berat kering TKKS.

## 5.2 Saran

Penelitian ini tentu masih terdapat kekurangannya dan juga diperlukan penyempurnaan, seperti dalam penentuan metode penelitian atau parameter - parameter yang lebih spesifik untuk dapat menjawab optimalisasi dari penggunaan enzim agar dapat menghasilkan % yield glukosa yang optimum pada kondisi yang optimum. Terutama perlu dilakukan penambahan waktu hidrolisis, agar dapat diperoleh waktu optimum hidrolisis yang lebih jelas. Selanjutnya untuk dapat digunakan bahan sebagai bahan bakar bioetanol, maka diperlukan proses penelitian lebih lanjut, seperti melakukan fermentasi glukosa menjadi etanol.



## DAFTAR REFERENSI

- Arief Widjaja, Nadiem Anwar . (2010). *Optimasi Hidrolisis Enzim Selulase untuk Hidrolisis Jerami Padi*. Surabaya : FTI ITS.
- Assosiation of Oficial Analysis Chemis [AOAC]. (1984). *Official Methods of Analysis of the Aoac*. Gaithersburg, United States: AOAC International.
- Badan Standarisasi Nasional Indonesia. (2008). *Pulp dan Kayu-Cara Uji Lignin Metode Klakson*. Jakarta: Standarisasi Nasional Indonesia 0492.
- Badan Standarisasi Nasional Indonesia. (2008). *Pulp-Cara Uji Kadar Selulosa alfa, beta dan gamma*. Jakarta: Standarisasi Nasional Indonesia 0444.
- Eka Putri, Lilly Surraya. (2008). *Konversi Pati Ganyong menjadi Bioetanol Melalui Proses Hidrolisis Dan Fermentasi*. Tangerang: UIN.
- Euis Hermiati., et al. (2010). *Pemanfaatan Biomassa Lignoselulosa Ampas Tebu Untuk Produksi Bioetanol*. Bogor: IPB.
- Gerhauser & Abdullah. (2008). *Pirolisis Tandan Kosong Sawit dengan Katalis ZSM-5. Menjadi Bio-oil*. Riau: Unri.
- Gozan M. (2010) *Pemanfaatan Tandan Kosong Kelapa Sawit Sebagai Bahan Baku Bioetanol Dengan Metode Enzimatik*. Depok: FT UI.
- Harga minyak 2011*. (2011). <http://www.tambangnews.com>
- Iriani, Purwinda. (2009). *Kajian Awal Biokonversi Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS) Menjadi Etanol Melalui Sakrifikasi dan Fermentasi Alkoholik*. Bandung: STIH-ITB.
- Jardoyo. (2011). *Harga bioetanol 2011*. <http://www.komporbioetanol.blogspot.com>
- Keenan, Kleinfelter dan Wood. (1979). *Kimia Untuk Universitas Jilid I*. (A. Hadyana Pudjaatmaka, Penerjemah). Jakarta: Erlangga.
- Khairil. (2009). *Cara Pembuatan Etanol*. <http://www.isroiworldpress.com>.
- Manurung, E. (2000). *Pembangunan Perkebunan Kelapa Sawit di Indonesia, Ancaman Terhadap Hutan Alam*. Bogor: Direktorat Jenderal Perkebunan RI.
- Nur Putri, Yeny. (2007) *Mempelajari Pengaruh Tape Ketan (Oryza sativa glutinosa) Terhadap Daya Terima Konsumen*. Bogor : IPB.

Pusat Penelitian Kelapa Sawit. (2010). *Luas area dan produksi kelapa sawit di Indonesia*. Bogor : PPKS.

Samsuri M. (2008). *Konversi Bagas Menjadi Etanol Dengan Kombinasi Perlakuan Awal Dan Enzim Dalam Proses Sakarifikasi Dan Fermentasi Serempak (SSF)*. Depok: FT UI.

Samsuri M, Gozan M, Prasetya B, Nasikin M. (September 2007). *Sakarifikasi dan Fermentasi Bagas Menjadi Etanol Menggunakan Enzim Selulase dan Selobiase*. Depok : Jurnal Teknologi XXI, FT UI.

Simanjuntak Riswan. (2009). *Studi Pembuatan Etanol Dari Limbah Gula (molase)*. Fakultas Pertanian. Medan: USU.

Surhaini. (2010). *Pengaruh pH Dan Lama Fermentasi Oleh Enzim Selulase Dalam Proses Hidrolisis Untuk Meningkatkan Nilai Gizi Eceng Gondok*. Jambi : Universitas Jambi.

Suryani, Ani. (2007) *Produksi Lignosulfonat Berbasis Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS) dan Lindi Hitam Pabrik PULP*. Bogor : IPB

Trisanti Anindyawati. (2009). *Prosepek Enzim dan Limbah Lignoselulosa Untuk Produksi Bioetanol*. Bandung: Pusat Penelitian Bioteknologi UPI.

Triana D. (2009). *Pembuatan Dan Karakteristik Batako Menggunakan Abu TKKS*. Medan : FMIPA USU.

Widyaastuti, et al. (2007). *Optimasi Pertumbuhan dan Aktivitas Enzim Lignolitik *Omphalina sp* Dan *Pleurotus* Pada Fermentasi Padat*. Bogor: Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia.

## LAMPIRAN 1

### 1. Uji Kompisisi TKKS

#### 1.1 Uji Kadar Lignin

\*Kadar lignin ditentukan oleh rumusan berikut:

$$L = A/B \times 100 \% \dots\dots\dots (3.1)$$

\*Untuk perlakuan sebelum *steaming*:

$A_1$  = endapan lignin sebelum *steaming* = 0,247 gram

$B_1$  = Berat sampel kering TKKS = 1,005 gram ;  $L$  = % Lignin

Sehingga:  $L_1 = A_1/B_1$

$$L_1 = 0,247/1,005 \times 100\% = 24,58\%$$

Jadi kadar lignin sebelum *steaming* sebesar 24,58%

\*Untuk perlakuan *steaming*:

$A_2$  = endapan lignin sesudah *steaming* = 0,196 gram

$B_2$  = Berat Sampel kering TKKS = 1,003 gram

Sehingga:  $L_2 = A_2/B_2$

$$L_2 = 0,215/1,003 \times 100\% = 21,43\%$$

Jadi kadar lignin setelah *steaming* sebesar 21,43%

#### 1.2 Uji Kadar Selulosa

Uji kadar  $\alpha$ - Selulosa dirumuskan sebagai berikut :

$$X = 100 - \frac{6,85 (V_2 - V_1) \times N \times 20}{A \times W} \dots\dots\dots (3.2)$$

$A$  = 25 ml = vol filtrat TKKS

$W$  = 1,5 gram = berat kering TKKS

$V_1$  = 0 ml = vol.titrasi blanko

$V_2$  = 171 ml = vol titrasi TKKS sampai menjadi ungu

$X_1$  = kadar selulosa sebelum *steaming* ;  $X_2$  = kadar selulosa setelah *steaming*



\*Maka kadar  $\alpha$ -selulosa didalam TKKS sebelum *steaming* adalah:

$$X_1 = 100 - \frac{6,85 (V_2 - V_1) \times N \times 20}{AXW}$$

$$X_1 = 100 - \frac{6,85 (171-0) \text{ mL} \times 0,1 \text{ N} \times 20}{25 \text{ mL} \times 1,5 \text{ gram}} = 37,53\%$$

Jadi kadar  $\alpha$ -selulosa didalam TKKS sebelum *steaming* adalah  $X_1 = 37,53\%$

\*Untuk kadar  $\alpha$ -selulosa didalam TKKS setelah *steaming* adalah :

$$V_1 = 0 \text{ ml} = \text{vol.titrasi blanko}$$

$$V_2 = 151,8 \text{ ml} = \text{vol titrasi TKKS sampai menjadi ungu}$$

$$X_2 = 100 - \frac{6,85 (151,8-0) \text{ mL} \times 0,1 \text{ N} \times 20}{25 \text{ mL} \times 1,5 \text{ gram}} = 44,54\%$$

Jadi kadar  $\alpha$ -selulosa didalam TKKS sebelum *steaming* adalah  $X_1 = 44,54\%$

### 1.3 Uji Kadar HemiSelulosa

Uji kadar  $\alpha$ - Selulosa dirumuskan sebagai berikut :

$$Y = \frac{6,85 (V_4 - V_3) \times N \times 20}{25 \times W} \dots\dots\dots (3.3)$$

\* Kondisi sebelum *steaming* :

$$V_3 = 0 \text{ ml} = \text{vol.titrasi blanko}$$

$$V_4 = 68 \text{ ml} = \text{vol titrasi TKKS sampai menjadi ungu}$$

$Y_1$  = kadar selulosa sebelum *steaming*

$$Y_1 = \frac{6,85 (68-0) \text{ mL} \times 0,1 \text{ N} \times 20}{25 \text{ mL} \times 1,5 \text{ gram}}$$

$$Y_1 = 24,84\%$$

\* Kondisi setelah *steaming*

$$Y_2 = \frac{6,85 (74,3-0) \text{ mL} \times 0,1 \text{ N} \times 20}{25 \text{ mL} \times 1,5 \text{ gram}}$$

$$Y_2 = 27,14$$

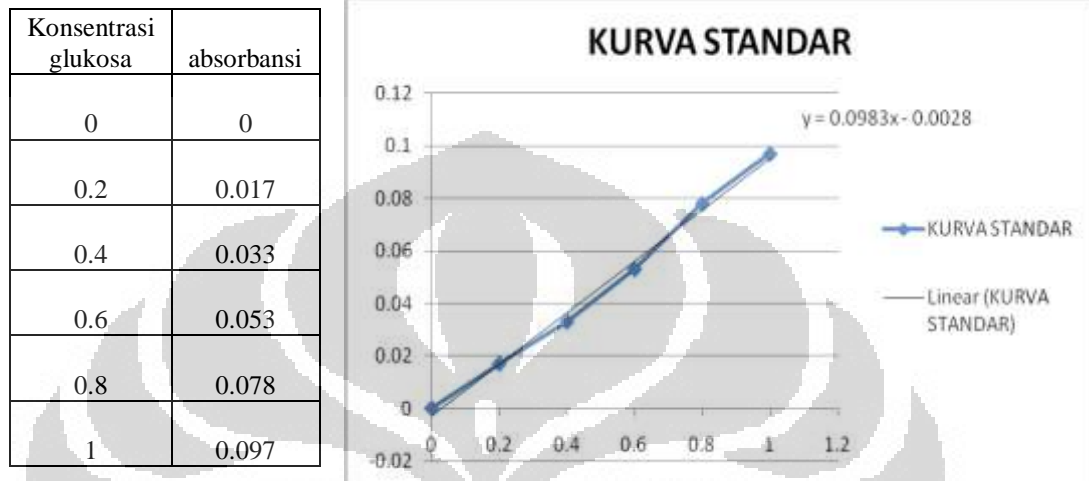
$$V_3 = 0 \text{ ml} = \text{vol.titrasi blanko}$$

$$V_4 = 74,3 \text{ ml} = \text{vol titrasi TKKS sampai menjadi ungu}$$

$Y_2$  = kadar selulosa setelah *steaming*

## LAMPIRAN 2

### 2.1. Pembuatan Kurva Standar Dan Contoh Perhitungan Total gula (%)



Gambar 2.1 Kurva Standar

### 2.2 Contoh perhitungan

Pada suhu  $27^{\circ}\text{C}$ , waktu hidrolisis jam ke-45 dan ukuran  $63\mu\text{M}$  sebanyak 2.5 gr. Diperoleh data,  $U_1 = 0.79$ , dari kurva standar  $Y = 0.0983X - 0.0028$ . \*Dari persamaan nilai  $Y = \text{absorbansi}$ ;  $X = \text{mg glukosa}$ , maka untuk  $A_1$ ,  $0.79 = 0.0983X - 0.0028$ , maka  $X = 3.343\text{mg}$  glukosa. Dengan faktor pengenceran (FP) 100 kali, maka:

$$\begin{aligned}\text{Total gula (\%)} &= \frac{\text{mg gula dari kurva standar} \times \text{FP} \times 100}{\text{mg glukosa}} \\ &= \frac{0.832 \times 100 \times 100\%}{2500}\end{aligned}$$

Total gula (%) = 3.328% berat kering TKKS

## LAMPIRAN 3

### 3 Hidrolisis Enzim Selobiase

#### 3.1 Pada suhu 27°C, pH 4 dan ukuran 63µM

PARAMETER (waktu, suhu, pH dan ukuran)	ENZIM SELOBIASE (27/4/63)						Rata-rata Kadar Gula (%)
	Absorbansi		mg Gula		Total Gula (%)		
	u1	u2	u1	u2	u1	u2	
waktu hidrolisis (jam ke-)							
3	0.032	0.03	0.354	0.334	1.416	1.335	1.375
6	0.037	0.034	0.405	0.374	1.620	1.497	1.558
9	0.039	0.04	0.425	0.435	1.701	1.742	1.721
15	0.043	0.046	0.466	0.496	1.864	1.986	1.925
21	0.048	0.05	0.517	0.537	2.067	2.149	2.108
27	0.056	0.053	0.598	0.568	2.393	2.271	2.332
33	0.064	0.066	0.680	0.700	2.718	2.800	2.759
39	0.071	0.073	0.751	0.771	3.003	3.084	3.044
45	0.079	0.08	0.832	0.842	3.329	3.369	3.349
48	0.078	0.08	0.822	0.842	3.288	3.369	3.329

#### 3.2 Pada suhu 27°C, pH 4 dan ukuran 125µM

PARAMETER (waktu, suhu, pH dan ukuran)	ENZIM SELOBIASE (27/4/125)						Rata-rata Kadar Gula (%)
	Absorbansi		mg Gula		Total Gula (%)		
	u1	u2	u1	u2	u1	u2	
waktu hidrolisis (jam ke-)							
3	0.026	0.025	0.293	0.283	1.172	1.131	1.152
6	0.029	0.027	0.323	0.303	1.294	1.213	1.253
9	0.03	0.032	0.334	0.354	1.335	1.416	1.375
15	0.035	0.037	0.385	0.405	1.538	1.620	1.579
21	0.039	0.041	0.425	0.446	1.701	1.782	1.742
27	0.048	0.046	0.517	0.496	2.067	1.986	2.026
33	0.052	0.05	0.557	0.537	2.230	2.149	2.189
39	0.055	0.053	0.588	0.568	2.352	2.271	2.311
45	0.059	0.057	0.629	0.608	2.515	2.433	2.474
48	0.058	0.057	0.619	0.608	2.474	2.433	2.454

#### 3.3 Pada suhu 27°C, pH 4 dan ukuran 250µM

PARAMETER (waktu, suhu, pH dan ukuran)	ENZIM SELOBIASE (27/4/250)						Rata-rata Kadar Gula (%)
	Absorbansi		mg Gula		Total Gula (%)		
	u1	u2	u1	u2	u1	u2	
waktu hidrolisis (jam ke-)							
3	0.019	0.017	0.222	0.201	0.887	0.806	0.846
6	0.023	0.021	0.262	0.242	1.050	0.968	1.009
9	0.026	0.027	0.293	0.303	1.172	1.213	1.192
15	0.029	0.031	0.323	0.344	1.294	1.375	1.335
21	0.032	0.033	0.354	0.364	1.416	1.457	1.436
27	0.036	0.038	0.395	0.415	1.579	1.660	1.620
33	0.04	0.041	0.435	0.446	1.742	1.782	1.762
39	0.043	0.045	0.466	0.486	1.864	1.945	1.904
45	0.046	0.048	0.496	0.517	1.986	2.067	2.026
48	0.045	0.047	0.486	0.507	1.945	2.026	1.986

3.4 Suhu 27°C, pH 4.5 dan ukuran 63µM

PARAMETER (waktu, suhu, pH dan ukuran)	ENZIM SELOBIASE (27/4.5/63)						Rata-rata Kadar Gula (%)
	Absorbansi		mg Gula		Total Gula (%)		
	u1	u2	u1	u2	u1	u2	
waktu hidrolisis (jam ke-)							
3	0.028	0.027	0.313	0.303	1.253	1.213	1.233
6	0.031	0.033	0.344	0.364	1.375	1.457	1.416
9	0.036	0.039	0.395	0.425	1.579	1.701	1.640
15	0.047	0.045	0.507	0.486	2.026	1.945	1.986
21	0.055	0.053	0.588	0.568	2.352	2.271	2.311
27	0.069	0.067	0.730	0.710	2.922	2.840	2.881
33	0.087	0.084	0.914	0.883	3.654	3.532	3.593
39	0.091	0.092	0.954	0.964	3.817	3.858	3.837
45	0.105	0.106	1.097	1.107	4.387	4.427	4.407
48	0.103	0.107	1.076	1.117	4.305	4.468	4.387

3.5 Suhu 27°C, pH 4.5 dan ukuran 125µM

PARAMETER (waktu, suhu, pH dan ukuran)	ENZIM SELOBIASE (27/4.5/125)						Rata-rata Kadar Gula (%)
	Absorbansi		mg Gula		Total Gula (%)		
	u1	u2	u1	u2	u1	u2	
waktu hidrolisis (jam ke-)							
3	0.026	0.024	0.293	0.273	1.172	1.091	1.131
6	0.029	0.027	0.323	0.303	1.294	1.213	1.253
9	0.032	0.03	0.354	0.334	1.416	1.335	1.375
15	0.037	0.036	0.405	0.395	1.620	1.579	1.599
21	0.041	0.042	0.446	0.456	1.782	1.823	1.803
27	0.047	0.045	0.507	0.486	2.026	1.945	1.986
33	0.056	0.053	0.598	0.568	2.393	2.271	2.332
39	0.064	0.062	0.680	0.659	2.718	2.637	2.678
45	0.07	0.069	0.741	0.730	2.962	2.922	2.942
48	0.069	0.07	0.730	0.741	2.922	2.962	2.942

3.6 Suhu 27°C, pH 4.5 dan ukuran 250µM

PARAMETER (waktu, suhu, pH dan ukuran)	ENZIM SELOBIASE (27/4.5/250)						Rata-Rata Kadar Gula (%)
	Absorbansi		mg Gula		Total Gula (%)		
	u1	u2	u1	u2	u1	u2	
waktu hidrolisis (jam ke-)							
3	0.021	0.02	0.242	0.232	0.968	0.928	0.948
6	0.024	0.025	0.273	0.283	1.091	1.131	1.111
9	0.028	0.026	0.313	0.293	1.253	1.172	1.213
15	0.031	0.03	0.344	0.334	1.375	1.335	1.355
21	0.033	0.035	0.364	0.385	1.457	1.538	1.497
27	0.038	0.039	0.415	0.425	1.660	1.701	1.681
33	0.041	0.043	0.446	0.466	1.782	1.864	1.823
39	0.043	0.045	0.466	0.486	1.864	1.945	1.904
45	0.045	0.05	0.486	0.537	1.945	2.149	2.047
48	0.048	0.051	0.517	0.547	2.067	2.189	2.128

## 3.7 Suhu 27°C, pH 5 dan ukuran 63µM

PARAMETER (waktu, suhu, pH dan ukuran)	ENZIM SELOBIASE (27/5/63)						Rata-rata Kadar Gula (%)
	Absorbansi		mg Gula		Total Gula (%)		
	u1	u2	u1	u2	u1	u2	
waktu hidrolisis (jam)							
3	0.045	0.043	0.486	0.466	1.945	1.864	1.904
6	0.065	0.061	0.690	0.649	2.759	2.596	2.678
9	0.072	0.068	0.761	0.720	3.044	2.881	2.962
15	0.084	0.082	0.883	0.863	3.532	3.451	3.491
21	0.091	0.09	0.954	0.944	3.817	3.776	3.797
27	0.109	0.104	1.137	1.086	4.549	4.346	4.448
33	0.121	0.117	1.259	1.219	5.038	4.875	4.956
39	0.132	0.129	1.371	1.341	5.485	5.363	5.424
45	0.135	0.138	1.402	1.432	5.607	5.729	5.668
48	0.133	0.136	1.381	1.412	5.526	5.648	5.587

## 3.8 Suhu 27°C, pH 5 dan ukuran 125µM

PARAMETER (waktu, suhu, pH dan ukuran)	ENZIM SELOBIASE (27/5/125)						Rata-rata Kadar Gula (%)
	Absorbansi		mg Gula		Total Gula (%)		
	u1	u2	u1	u2	u1	u2	
waktu hidrolisis (jam)							
3	0.036	0.033	0.395	0.364	1.579	1.457	1.518
6	0.041	0.039	0.446	0.425	1.782	1.701	1.742
9	0.044	0.042	0.476	0.456	1.904	1.823	1.864
15	0.058	0.054	0.619	0.578	2.474	2.311	2.393
21	0.065	0.061	0.690	0.649	2.759	2.596	2.678
27	0.084	0.082	0.883	0.863	3.532	3.451	3.491
33	0.098	0.094	1.025	0.985	4.102	3.939	4.020
39	0.109	0.105	1.137	1.097	4.549	4.387	4.468
45	0.121	0.117	1.259	1.219	5.038	4.875	4.956
48	0.118	0.116	1.229	1.209	4.916	4.834	4.875

## 3.9 Suhu 27°C, pH 5 dan ukuran 250µM

PARAMETER (waktu, suhu, pH dan ukuran)	ENZIM SELOBIASE (27/5/250)						Rata-rata Kadar Gula (%)
	Absorbansi		mg Gula		Total Gula (%)		
	u1	u2	u1	u2	u1	u2	
waktu hidrolisis (jam)							
3	0.028	0.026	0.313	0.293	1.253	1.172	1.213
6	0.034	0.031	0.374	0.344	1.497	1.375	1.436
9	0.037	0.039	0.405	0.425	1.620	1.701	1.660
15	0.044	0.042	0.476	0.456	1.904	1.823	1.864
21	0.059	0.057	0.629	0.608	2.515	2.433	2.474
27	0.086	0.084	0.903	0.883	3.613	3.532	3.573
33	0.099	0.098	1.036	1.025	4.142	4.102	4.122
39	0.108	0.11	1.127	1.148	4.509	4.590	4.549
45	0.114	0.112	1.188	1.168	4.753	4.671	4.712
48	0.112	0.113	1.168	1.178	4.671	4.712	4.692

## 3.10 Suhu 37°C, pH 4 dan ukuran 63µM

PARAMETER (waktu, suhu, pH dan ukuran)	ENZIM SELOBIASE (37/4/63)						
	Absorbansi		mg Gula		Total Gula (%)		Rata-rata kadar gula (%)
	u1	u2	u1	u2	u1	u2	
waktu hidrolisis (jam ke-)							
3	0.059	0.057	0.629	0.608	2.515	2.433	2.474
6	0.062	0.059	0.659	0.629	2.637	2.515	2.576
9	0.068	0.066	0.720	0.700	2.881	2.800	2.840
15	0.071	0.069	0.751	0.730	3.003	2.922	2.962
21	0.076	0.074	0.802	0.781	3.207	3.125	3.166
27	0.081	0.083	0.852	0.873	3.410	3.491	3.451
33	0.095	0.098	0.995	1.025	3.980	4.102	4.041
39	0.11	0.112	1.148	1.168	4.590	4.671	4.631
45	0.114	0.116	1.188	1.209	4.753	4.834	4.793
48	0.115	0.113	1.198	1.178	4.793	4.712	4.753

## 3.11 Suhu 37°C, pH 4 dan ukuran 125µM

PARAMETER (waktu, suhu, pH dan ukuran)	ENZIM SELOBIASE (37/4/125)						
	Absorbansi		mg Gula		Total Gula (%)		Rata-rata Kadar gula (%)
	u1	u2	u1	u2	u1	u2	
waktu hidrolisis (jam ke-)							
3	0.063	0.061	0.669	0.649	2.678	2.596	2.637
6	0.069	0.069	0.730	0.730	2.922	2.922	2.922
9	0.072	0.074	0.761	0.781	3.044	3.125	3.084
15	0.075	0.076	0.791	0.802	3.166	3.207	3.186
21	0.079	0.08	0.832	0.842	3.329	3.369	3.349
27	0.084	0.083	0.883	0.873	3.532	3.491	3.512
33	0.087	0.088	0.914	0.924	3.654	3.695	3.674
39	0.091	0.088	0.954	0.924	3.817	3.695	3.756
45	0.097	0.099	1.015	1.036	4.061	4.142	4.102
48	0.096	0.096	1.005	1.005	4.020	4.020	4.020

## 3.12

## Suhu 37°C, pH 4 dan ukuran 125µM

PARAMETER (waktu, suhu, pH dan ukuran)	ENZIM SELOBIASE (37/4/250)						
	Absorbansi		mg Gula		Total Gula (%)		Rata-rata kadar gula (%)
	u1	u2	u1	u2	u1	u2	
waktu hidrolisis (jam ke-)							
3	0.041	0.043	0.446	0.466	1.782	1.864	1.823
6	0.046	0.045	0.496	0.486	1.986	1.945	1.965
9	0.053	0.052	0.568	0.557	2.271	2.230	2.250
15	0.059	0.062	0.629	0.659	2.515	2.637	2.576
21	0.064	0.066	0.680	0.700	2.718	2.800	2.759
27	0.074	0.076	0.781	0.802	3.125	3.207	3.166
33	0.075	0.076	0.791	0.802	3.166	3.207	3.186
39	0.076	0.077	0.802	0.812	3.207	3.247	3.227
45	0.081	0.084	0.852	0.883	3.410	3.532	3.471
48	0.08	0.083	0.842	0.873	3.369	3.491	3.430

## 3.13 Suhu 37°C, pH 4.5 dan ukuran 63µM

PARAMETER (waktu, suhu, pH dan ukuran)	ENZIM SELOBIASE (37/4.5/63)						
	Absorbansi		mg Gula		Total Gula (%)		Rata-rata Kadar Gula (%)
	u1	u2	u1	u2	u1	u2	
waktu hidrolisis (jam ke-)							
3	0.084	0.086	0.883	0.903	3.532	3.613	3.573
6	0.087	0.089	0.914	0.934	3.654	3.736	3.695
9	0.092	0.092	0.964	0.964	3.858	3.858	3.858
15	0.095	0.094	0.995	0.985	3.980	3.939	3.959
21	0.098	0.099	1.025	1.036	4.102	4.142	4.122
27	0.103	0.104	1.076	1.086	4.305	4.346	4.326
33	0.109	0.107	1.137	1.117	4.549	4.468	4.509
39	0.115	0.113	1.198	1.178	4.793	4.712	4.753
45	0.129	0.121	1.341	1.259	5.363	5.038	5.200
48	0.128	0.121	1.331	1.259	5.322	5.038	5.180

## 3.14 Suhu 37°C, pH 4.5 dan ukuran 125µM

PARAMETER (waktu, suhu, pH dan ukuran)	ENZIM SELOBIASE (37/4.5/125)						
	Absorbansi		mg Gula		Total Gula (%)		Rata-rata Kadar Gula (%)
	u1	u2	u1	u2	u1	u2	
waktu hidrolisis (jam ke-)							
3	0.083	0.081	0.873	0.852	3.491	3.410	3.451
6	0.087	0.088	0.914	0.924	3.654	3.695	3.674
9	0.09	0.089	0.944	0.934	3.776	3.736	3.756
15	0.094	0.096	0.985	1.005	3.939	4.020	3.980
21	0.098	0.099	1.025	1.036	4.102	4.142	4.122
27	0.102	0.104	1.066	1.086	4.264	4.346	4.305
33	0.105	0.107	1.097	1.117	4.387	4.468	4.427
39	0.109	0.108	1.168	1.127	4.671	4.509	4.590
45	0.112	0.11	1.148	1.148	4.590	4.590	4.590
48	0.11	0.111	1.148	1.158	4.590	4.631	4.610

## 3.15 Suhu 37°C, pH 4.5 dan ukuran 250µM

PARAMETER (waktu, suhu, pH dan ukuran)	ENZIM SELOBIASE (37/4.5/250)						
	Absorbansi		mg Gula		Total Gula (%)		Rata-rata Kadar gula (%)
	u1	u2	u1	u2	u1	u2	
waktu hidrolisis (jam ke-)							
3	0.062	0.061	0.659	0.649	2.637	2.596	2.678
6	0.065	0.064	0.690	0.680	2.759	2.718	2.820
9	0.067	0.068	0.710	0.720	2.840	2.881	2.901
15	0.069	0.07	0.730	0.741	2.922	2.962	2.942
21	0.071	0.07	0.751	0.741	3.003	2.962	3.125
27	0.074	0.077	0.781	0.812	3.125	3.247	3.471
33	0.089	0.091	0.934	0.954	3.736	3.817	3.837
39	0.092	0.094	0.964	0.985	3.858	3.939	3.878
45	0.094	0.093	0.985	0.975	3.939	3.898	3.980
48	0.095	0.096	0.995	1.005	3.980	4.020	4.000

## 3.16 Suhu 37°C, pH 5 dan ukuran 63µM

PARAMETER (waktu, suhu, pH dan ukuran)	ENZIM SELOBIASE (37/5/63)						Rata-rata Kadar Gula(%)
	Absorbansi		mg Gula		Total Gula (%)		
	u1	u2	u1	u2	u1	u2	
waktu hidrolisis (jam ke-)							
3	0.089	0.091	0.934	0.954	3.736	3.817	3.776
6	0.092	0.094	0.964	0.985	3.858	3.939	3.898
9	0.098	0.099	1.025	1.036	4.102	4.142	4.122
15	0.106	0.104	1.107	1.086	4.427	4.346	4.387
21	0.109	0.111	1.137	1.158	4.549	4.631	4.590
27	0.115	0.113	1.198	1.178	4.793	4.712	4.753
33	0.128	0.129	1.331	1.341	5.322	5.363	5.343
39	0.139	0.137	1.443	1.422	5.770	5.689	5.729
45	0.145	0.147	1.504	1.524	6.014	6.096	6.055
48	0.143	0.148	1.483	1.534	5.933	6.136	6.035

## 3.17 Suhu 37°C, pH 5 dan ukuran 125µM

PARAMETER (waktu, suhu, pH dan ukuran)	ENZIM SELOBIASE (37/5/125)						Rata-rata Kadar Gula (%)
	Absorbansi		mg Gula		Total Gula (%)		
	u1	u2	u1	u2	u1	u2	
waktu hidrolisis (jam ke-)							
3	0.082	0.08	0.863	0.842	3.451	3.369	3.410
6	0.087	0.085	0.914	0.893	3.654	3.573	3.613
9	0.094	0.095	0.985	0.995	3.939	3.980	3.959
15	0.098	0.099	1.025	1.036	4.102	4.142	4.122
21	0.103	0.105	1.076	1.097	4.305	4.387	4.346
27	0.109	0.106	1.137	1.107	4.549	4.427	4.488
33	0.116	0.115	1.209	1.198	4.834	4.793	4.814
39	0.123	0.128	1.280	1.331	5.119	5.322	5.221
45	0.14	0.142	1.453	1.473	5.811	5.892	5.851
48	0.137	0.143	1.422	1.483	5.689	5.933	5.811

## 3.18 Suhu 37°C, pH 5 dan ukuran 250µM

PARAMETER (waktu, suhu, pH dan ukuran)	ENZIM SELOBIASE (37/5/250)						Rata-rata Kadar gula (%)
	Absorbansi		mg Gula		Total Gula (%)		
	u1	u2	u1	u2	u1	u2	
waktu hidrolisis (jam ke-)							
3	0.068	0.069	0.720	0.730	2.881	2.922	2.901
6	0.085	0.09	0.893	0.944	3.573	3.776	3.674
9	0.089	0.092	0.934	0.964	3.736	3.858	3.797
15	0.092	0.097	0.964	1.015	3.858	4.061	3.959
21	0.095	0.098	0.995	1.025	3.980	4.102	4.041
27	0.099	0.104	1.036	1.086	4.142	4.346	4.244
33	0.107	0.117	1.117	1.219	4.468	4.875	4.671
39	0.11	0.109	1.148	1.137	4.590	4.549	4.570
45	0.119	0.118	1.239	1.229	4.956	4.916	4.936
48	0.117	0.116	1.219	1.209	4.875	4.834	4.855



## 3.19 Suhu 50°C, pH 4 dan ukuran 63µM

PARAMETER (waktu, suhu, pH dan ukuran)	ENZIM SELOBIASE (50/4/63)						Rata-rata Kadar Gula (%)
	Absorbansi		mg Gula		Total Gula (%)		
	u1	u2	u1	u2	u1	u2	
waktu hidrolisis (jam ke-)							
3	0.075	0.073	0.791	0.771	3.166	3.084	3.125
6	0.085	0.084	0.893	0.883	3.573	3.532	3.552
9	0.089	0.092	0.934	0.964	3.736	3.858	3.797
15	0.092	0.094	0.964	0.985	3.858	3.939	3.898
21	0.097	0.099	1.015	1.036	4.061	4.142	4.102
27	0.104	0.104	1.086	1.086	4.346	4.346	4.346
33	0.109	0.107	1.137	1.117	4.549	4.468	4.509
39	0.115	0.113	1.198	1.178	4.793	4.712	4.753
45	0.119	0.121	1.239	1.259	4.956	5.038	4.997
48	0.118	0.121	1.229	1.259	4.916	5.038	4.977

## 3.20 Suhu 50°C, pH 4 dan ukuran 125µM

PARAMETER (waktu, suhu, pH dan ukuran)	ENZIM SELOBIASE (50/4/125)						Rata-rata Kadar Gula (%)
	Absorbansi		mg Gula		Total Gula (%)		
	u1	u2	u1	u2	u1	u2	
waktu hidrolisis (jam ke-)							
3	0.052	0.05	0.557	0.537	2.230	2.149	2.189
6	0.059	0.058	0.629	0.619	2.515	2.474	2.494
9	0.063	0.061	0.669	0.649	2.678	2.596	2.637
15	0.068	0.067	0.720	0.710	2.881	2.840	2.861
21	0.074	0.075	0.781	0.791	3.125	3.166	3.145
27	0.08	0.086	0.842	0.903	3.369	3.613	3.491
33	0.092	0.09	0.964	0.944	3.858	3.776	3.817
39	0.101	0.098	1.056	1.025	4.224	4.102	4.163
45	0.103	0.102	1.076	1.066	4.305	4.264	4.285
48	0.102	0.102	1.066	1.066	4.264	4.264	4.264

## 3.21 Suhu 50°C, pH 4 dan ukuran 250µM

PARAMETER (waktu, suhu, pH dan ukuran)	ENZIM SELOBIASE (50/4/250)						Rata-rata Kadar Gula (%)
	Absorbansi		mg Gula		Total Gula (%)		
	u1	u2	u1	u2	u1	u2	
waktu hidrolisis (jam ke-)							
3	0.061	0.06	0.649	0.639	2.596	2.555	2.576
6	0.069	0.068	0.730	0.720	2.922	2.881	2.901
9	0.073	0.072	0.771	0.761	3.084	3.044	3.064
15	0.075	0.078	0.791	0.822	3.166	3.288	3.227
21	0.08	0.082	0.842	0.863	3.369	3.451	3.410
27	0.084	0.085	0.883	0.893	3.532	3.573	3.552
33	0.089	0.088	0.934	0.924	3.736	3.695	3.715
39	0.091	0.088	0.954	0.924	3.817	3.695	3.756
45	0.094	0.095	0.985	0.995	3.939	3.980	3.959
48	0.093	0.093	0.975	0.975	3.898	3.898	3.898

## 3.22 Suhu 50°C, pH 4.5 dan ukuran 63µM

PARAMETER (waktu, suhu, pH dan ukuran)	ENZIM SELOBIASE (50/4.5/63)						Rata-rata Kadar Gula (%)
	Absorbansi		mg Gula		Total Gula (%)		
	u1	u2	u1	u2	u1	u2	
waktu hidrolisis (jam ke-)							
3	0.076	0.074	0.802	0.781	3.207	3.125	3.166
6	0.081	0.078	0.852	0.822	3.410	3.288	3.349
9	0.087	0.085	0.914	0.893	3.654	3.573	3.613
15	0.094	0.092	0.985	0.964	3.939	3.858	3.898
21	0.11	0.099	1.148	1.036	4.590	4.142	4.366
27	0.114	0.11	1.188	1.148	4.753	4.590	4.671
33	0.117	0.117	1.219	1.219	4.875	4.875	4.875
39	0.121	0.129	1.259	1.341	5.038	5.363	5.200
45	0.126	0.129	1.310	1.341	5.241	5.363	5.302
48	0.127	0.128	1.320	1.331	5.282	5.322	5.302

## 3.23 Suhu 50°C, pH 4.5 dan ukuran 125µM

PARAMETER (waktu, suhu, pH dan ukuran)	ENZIM SLOBIASE (50/4.5/125)						Rata-rata Kadar Gula (%)
	Absorbansi		mg Gula		Total Gula (%)		
	u1	u2	u1	u2	u1	u2	
waktu hidrolisis (jam ke-)							
3	0.055	0.053	0.588	0.568	2.352	2.271	2.311
6	0.061	0.06	0.649	0.639	2.596	2.555	2.576
9	0.063	0.065	0.669	0.690	2.678	2.759	2.718
15	0.069	0.073	0.730	0.771	2.922	3.084	3.003
21	0.079	0.082	0.832	0.863	3.329	3.451	3.390
27	0.085	0.084	0.893	0.883	3.573	3.532	3.552
33	0.092	0.09	0.964	0.944	3.858	3.776	3.817
39	0.095	0.099	0.995	1.036	3.980	4.142	4.061
45	0.112	0.114	1.168	1.188	4.671	4.753	4.712
48	0.109	0.113	1.137	1.178	4.549	4.712	4.631

## 3.24 Suhu 50°C, pH 4.5 dan ukuran 250µM

PARAMETER (waktu, suhu, pH dan ukuran)	ENZIM SELOBIASE (50/4.5/250)						Rata-rata Kadar Gula (%)
	Absorbansi		mg Gula		Total Gula (%)		
	u1	u2	u1	u2	u1	u2	
waktu hidrolisis (jam ke-)							
3	0.045	0.043	0.486	0.466	1.945	1.864	1.904
6	0.051	0.061	0.547	0.649	2.189	2.596	2.393
9	0.053	0.055	0.568	0.588	2.271	2.352	2.311
15	0.061	0.06	0.649	0.639	2.596	2.555	2.576
21	0.068	0.069	0.720	0.730	2.881	2.922	2.901
27	0.079	0.077	0.832	0.812	3.329	3.247	3.288
33	0.086	0.087	0.903	0.914	3.613	3.654	3.634
39	0.092	0.091	0.964	0.954	3.858	3.817	3.837
45	0.098	0.099	1.025	1.036	4.102	4.142	4.122
48	0.095	0.097	0.995	1.015	3.980	4.061	4.020

3.25 Suhu 50°C, pH 5 dan ukuran 63µM

PARAMETER (waktu, suhu, pH dan ukuran)	ENZIM SELOBIASE (50/5/63)						Rata-rata Kadar Gula (%)
	Absorbansi		mg Gula		Total Gula (%)		
waktu hidrolisis (jam ke-)	u1	u2	u1	u2	u1	u2	
3	0.108	0.106	1.127	1.107	4.509	4.427	4.468
6	0.117	0.115	1.219	1.198	4.875	4.793	4.834
9	0.121	0.119	1.259	1.239	5.038	4.956	4.997
15	0.128	0.126	1.331	1.310	5.322	5.241	5.282
21	0.133	0.132	1.381	1.371	5.526	5.485	5.506
27	0.137	0.138	1.422	1.432	5.689	5.729	5.709
33	0.155	0.158	1.605	1.636	6.421	6.543	6.482
39	0.159	0.161	1.646	1.666	6.584	6.665	6.625
45	0.163	0.166	1.687	1.717	6.747	6.869	6.808
48	0.162	0.164	1.677	1.697	6.706	6.787	6.747

3.26 Suhu 50°C, pH 5 dan ukuran 125µM

PARAMETER (waktu, suhu, pH dan ukuran)	ENZIM SELOBIASE (50/5/125)						Rata-rata Kadar Gula (%)
	Absorbansi		mg Gula		Total Gula (%)		
waktu hidrolisis (jam ke-)	u1	u2	u1	u2	u1	u2	
3	0.101	0.1	1.056	1.046	4.224	4.183	4.203
6	0.109	0.107	1.137	1.117	4.549	4.468	4.509
9	0.115	0.115	1.198	1.198	4.793	4.793	4.793
15	0.119	0.118	1.239	1.229	4.956	4.916	4.936
21	0.127	0.126	1.320	1.310	5.282	5.241	5.261
27	0.134	0.135	1.392	1.402	5.567	5.607	5.587
33	0.149	0.148	1.544	1.534	6.177	6.136	6.157
39	0.151	0.15	1.565	1.554	6.258	6.218	6.238
45	0.154	0.157	1.595	1.626	6.380	6.503	6.442
48	0.156	0.154	1.615	1.595	6.462	6.380	6.421

3.27 Suhu 50°C, pH 5 dan ukuran 250µM

PARAMETER (waktu, suhu, pH dan ukuran)	ENZIM SELOBIASE (50/5/250)						Rata-rata Kadar Gula (%)
	Absorbansi		mg Gula		Total Gula (%)		
waktu hidrolisis (jam ke-)	u1	u2	u1	u2	u1	u2	
3	0.07	0.086	0.741	0.903	2.962	3.613	3.288
6	0.076	0.089	0.802	0.934	3.207	3.736	3.471
9	0.085	0.092	0.893	0.964	3.573	3.858	3.715
15	0.089	0.094	0.934	0.985	3.736	3.939	3.837
21	0.093	0.099	0.975	1.036	3.898	4.142	4.020
27	0.099	0.104	1.036	1.086	4.142	4.346	4.244
33	0.119	0.107	1.239	1.117	4.956	4.468	4.712
39	0.123	0.113	1.280	1.178	5.119	4.712	4.916
45	0.125	0.127	1.300	1.320	5.200	5.282	5.241
48	0.126	0.124	1.310	1.290	5.241	5.160	5.200

## 3.28 Suhu 50°C, pH 5.4 dan ukuran 63 µM

PARAMETER (waktu, suhu, Ph dan ukuran)	ENZIM SELOBIASE (50/5.4/63)						Rata-rata Kadar Gula (%)
	Absorbansi		mg Gula		Total Gula (%)		
waktu hidrolisis (jam ke-)	u1	u2	u1	u2	u1	u2	
3	0.108	0.106	1.127	1.107	4.509	4.427	4.468
6	0.114	0.115	1.188	1.198	4.753	4.793	4.773
9	0.118	0.119	1.229	1.239	4.916	4.956	4.936
15	0.125	0.126	1.300	1.310	5.200	5.241	5.221
21	0.13	0.132	1.351	1.371	5.404	5.485	5.445
27	0.132	0.135	1.371	1.402	5.485	5.607	5.546
33	0.147	0.149	1.524	1.544	6.096	6.177	6.136
39	0.149	0.148	1.544	1.534	6.177	6.136	6.157
45	0.158	0.166	1.636	1.717	6.543	6.869	6.706
48	0.158	0.164	1.636	1.697	6.543	6.787	6.665

## 3.29 Suhu 50°C, pH 5.8 dan ukuran 63 µM

PARAMETER (waktu, suhu, Ph dan ukuran)	ENZIM SELOBIASE (50/5.8/63)						Rata-rata Kadar Gula (%)
	Absorbansi		mg Gula		Total Gula (%)		
waktu hidrolisis (jam ke-)	u1	u2	u1	u2	u1	u2	
3	0.104	0.106	1.086	1.107	4.346	4.427	4.387
6	0.113	0.11	1.178	1.148	4.712	4.590	4.651
9	0.117	0.119	1.219	1.239	4.875	4.956	4.916
15	0.129	0.127	1.341	1.320	5.363	5.282	5.322
21	0.132	0.135	1.371	1.402	5.485	5.607	5.546
27	0.136	0.138	1.412	1.432	5.648	5.729	5.689
33	0.146	0.147	1.514	1.524	6.055	6.096	6.075
39	0.149	0.15	1.544	1.554	6.177	6.218	6.197
45	0.155	0.153	1.605	1.585	6.421	6.340	6.380
48	0.153	0.154	1.585	1.595	6.340	6.380	6.360

## 3.30 Suhu 50°C, pH 6.2 dan ukuran 63µM

PARAMETER (waktu, suhu, Ph dan ukuran)	ENZIM SELOBIASE (50/6.2/63)						Rata-rata Kadar Gula (%)
	Absorbansi		mg Gula		Total Gula (%)		
waktu hidrolisis (jam ke-)	u1	u2	u1	u2	u1	u2	
3	0.103	0.106	1.076	1.107	4.305	4.427	4.366
6	0.11	0.11	1.148	1.148	4.590	4.590	4.590
9	0.114	0.116	1.188	1.209	4.753	4.834	4.793
15	0.117	0.119	1.219	1.239	4.875	4.956	4.916
21	0.121	0.124	1.259	1.290	5.038	5.160	5.099
27	0.127	0.125	1.320	1.300	5.282	5.200	5.241
33	0.138	0.139	1.432	1.443	5.729	5.770	5.750
39	0.143	0.146	1.483	1.514	5.933	6.055	5.994
45	0.15	0.152	1.554	1.575	6.218	6.299	6.258
48	0.15	0.151	1.554	1.565	6.218	6.258	6.238

## 3.31 Suhu 55°C, pH 5 dan ukuran 63µM

PARAMETER (waktu, suhu, pH dan ukuran) waktu hidrolisis (jam ke-)	ENZIM SELOBIASE (55/5/63)						Rata-rata Kadar Gula (%)
	Absorbansi		mg Gula		Total Gula (%)		
	u1	u2	u1	u2	u1	u2	
3	0.11	0.113	1.148	1.178	4.590	4.712	4.651
6	0.12	0.122	1.249	1.270	4.997	5.078	5.038
9	0.128	0.129	1.331	1.341	5.322	5.363	5.343
15	0.139	0.14	1.443	1.453	5.770	5.811	5.790
21	0.143	0.145	1.483	1.504	5.933	6.014	5.974
27	0.148	0.15	1.534	1.554	6.136	6.218	6.177
33	0.157	0.158	1.626	1.636	6.503	6.543	6.523
39	0.159	0.161	1.646	1.666	6.584	6.665	6.625
45	0.163	0.164	1.687	1.697	6.747	6.787	6.767
48	0.161	0.164	1.666	1.697	6.665	6.787	6.726

## 3.32 Suhu 60°C, pH 5 dan ukuran 63µM

PARAMETER (waktu, suhu, pH dan ukuran) waktu hidrolisis (jam ke-)	ENZIM SELOBIASE (60/5/63)						Rata-rata Kadar Gula (%)
	Absorbansi		mg Gula		Total Gula (%)		
	u1	u2	u1	u2	u1	u2	
3	0.113	0.115	1.178	1.198	4.712	4.793	4.753
6	0.119	0.118	1.239	1.229	4.956	4.916	4.936
9	0.128	0.126	1.331	1.310	5.322	5.241	5.282
15	0.135	0.134	1.402	1.392	5.607	5.567	5.587
21	0.143	0.145	1.483	1.504	5.933	6.014	5.974
27	0.149	0.147	1.544	1.524	6.177	6.096	6.136
33	0.158	0.156	1.636	1.615	6.543	6.462	6.503
39	0.159	0.161	1.646	1.666	6.584	6.665	6.625
45	0.163	0.165	1.687	1.707	6.747	6.828	6.787
48	0.163	0.165	1.687	1.707	6.747	6.828	6.787

## 3.33 Suhu 65°C, pH 5 dan ukuran 63µM

PARAMETER (waktu, suhu, pH dan ukuran) waktu hidrolisis (jam ke-)	ENZIM SELOBIASE (65/5/63)						Rata-rata Kadar Gula (%)
	Absorbansi		mg Gula		Total Gula (%)		
	u1	u2	u1	u2	u1	u2	
3	0.112	0.11	1.168	1.148	4.671	4.590	4.631
6	0.118	0.116	1.229	1.209	4.916	4.834	4.875
9	0.126	0.124	1.310	1.290	5.241	5.160	5.200
15	0.129	0.127	1.341	1.320	5.363	5.282	5.322
21	0.135	0.138	1.402	1.432	5.607	5.729	5.668
27	0.139	0.14	1.443	1.453	5.770	5.811	5.790
33	0.152	0.153	1.575	1.585	6.299	6.340	6.319
39	0.159	0.161	1.646	1.666	6.584	6.665	6.625
45	0.16	0.161	1.656	1.666	6.625	6.665	6.645
48	0.159	0.158	1.646	1.636	6.584	6.543	6.564

## LAMPIRAN 4

### 4. Hidrolisis Kombinasi Enzim

#### 4.1 Enzim Selulase

Contoh perhitungan : Pada suhu 37°C, waktu hidrolisis jam ke-45, pada pH 5 dan ukuran 63µM sebanyak 2.5 gr. Diperoleh data,  $U_1 = 0.064$ , dari kurva standar  $Y = 0.0983X - 0.0028$ . Dari persamaan nilai  $Y = \text{absorbansi}$ ;  $X = \text{mg glukosa}$ , maka untuk  $U_1$ ,  $0.064 = 0.0983X - 0.0028$ , maka  $X = 0.680$  mg glukosa. Dengan faktor pengenceran (FP) = 100, maka:

$$\text{Total gula (\%)} = \frac{\text{mg gula dari kurva standar} \times \text{FP} \times 100}{\text{mg glukosa}}$$

$$\% \text{ Total gula} = \frac{0.680 \times 100 \times 100\%}{500 \text{ mg}} = 13.591\%$$

PARAMETER (waktu, suhu, pH dan ukuran)	ENZIM SELULASE (37/5/63)						
	Absorbansi		mg Gula		Total Gula (%)		Rata-rata Kadar Gula (%)
	u1	u2	u1	u2	u1	u2	
waktu hidrolisis (jam ke-)							
3	0.048	0.049	0.517	0.527	10.336	10.539	10.437
6	0.05	0.05	0.537	0.537	10.743	10.743	10.743
9	0.053	0.054	0.568	0.578	11.353	11.556	11.455
15	0.054	0.053	0.578	0.568	11.556	11.353	11.455
21	0.056	0.057	0.598	0.608	11.963	12.167	12.065
27	0.057	0.058	0.608	0.619	12.167	12.370	12.269
33	0.059	0.058	0.629	0.619	12.574	12.370	12.472
39	0.061	0.06	0.649	0.639	12.981	12.777	12.879
45	0.064	0.065	0.680	0.690	13.591	13.795	13.693
48	0.063	0.064	0.669	0.680	13.388	13.591	13.489

## 4.2 Kombinasi Enzim selulase : Enzim selobiase (1:2), suhu 37°C dan pH 5

PARAMETER (waktu, suhu, pH dan ukuran)	ENZIM SELULOSE : ENZIM SELOBIOSE (1:2) SUHU 37						
	Absorbansi		mg Gula		Total Gula (%)		Rata-rata Kadar Gula (%)
	u1	u2	u1	u2	u1	u2	
waktu hidrolisis (jam ke-)							
3	0.057	0.057	0.608	0.608	12.167	12.167	12.167
6	0.059	0.062	0.629	0.659	12.574	13.184	12.879
9	0.061	0.063	0.649	0.669	12.981	13.388	13.184
15	0.063	0.062	0.669	0.659	13.388	13.184	13.286
21	0.067	0.067	0.710	0.710	14.201	14.201	14.201
27	0.07	0.072	0.741	0.761	14.812	15.219	15.015
33	0.078	0.079	0.822	0.832	16.439	16.643	16.541
39	0.08	0.079	0.842	0.832	16.846	16.643	16.745
45	0.082	0.083	0.863	0.873	17.253	17.457	17.355
48	0.081	0.083	0.852	0.873	17.050	17.457	17.253

## 4.3 Kombinasi Enzim selulase :Enzim selobiase (1:1), suhu 37°C dan pH 5

PARAMETER (waktu, suhu, pH dan ukuran)	ENZIM SELULOSE : ENZIM SELOBIOSE (1:1) SUHU 37						
	Absorbansi		mg Gula		Total Gula (%)		Rata-rata Kadar Gula (%)
	u1	u2	u1	u2	u1	u2	
waktu hidrolisis (jam ke-)							
3	0.053	0.054	0.568	0.578	11.353	11.556	11.455
6	0.056	0.058	0.598	0.619	11.963	12.370	12.167
9	0.059	0.059	0.629	0.629	12.574	12.574	12.574
15	0.061	0.062	0.649	0.659	12.981	13.184	13.082
21	0.065	0.064	0.690	0.680	13.795	13.591	13.693
27	0.07	0.072	0.741	0.761	14.812	15.219	15.015
33	0.074	0.073	0.781	0.771	15.626	15.422	15.524
39	0.077	0.079	0.812	0.832	16.236	16.643	16.439
45	0.081	0.082	0.852	0.863	17.050	17.253	17.152
48	0.081	0.08	0.852	0.842	17.050	16.846	16.948

## 4.4 Kombinasi Enzim selulase :Enzim selobiase (2:1), suhu 37°C dan pH 5

PARAMETER (waktu, suhu, pH dan ukuran)	ENZIM SELULOSE : ENZIM SELOBIOSE (2:1) SUHU 37						
	Absorbansi		mg Gula		Total Gula (%)		Rata-rata Kadar Gula (%)
	u1	u2	u1	u2	u1	u2	
waktu hidrolisis (jam ke-)							
3	0.06	0.062	0.639	0.659	12.777	13.184	12.981
6	0.062	0.063	0.659	0.669	13.184	13.388	13.286
9	0.068	0.069	0.720	0.730	14.405	14.608	14.507
15	0.07	0.072	0.741	0.761	14.812	15.219	15.015
21	0.072	0.074	0.761	0.781	15.219	15.626	15.422
27	0.077	0.077	0.812	0.812	16.236	16.236	16.236
33	0.085	0.084	0.893	0.883	17.864	17.660	17.762
39	0.088	0.089	0.924	0.934	18.474	18.678	18.576
45	0.091	0.092	0.954	0.964	19.084	19.288	19.186
48	0.092	0.091	0.964	0.954	19.288	19.084	19.186

4.5 Kombinasi Enzim selulase : Enzim selobiase (1:1), suhu 50°C dan pH 5

PARAMETER (waktu, suhu, pH dan ukuran)	ENZIM SELULOSE : ENZIM SELOBIOSE (1:1) SUHU 50						
	Absorbansi		mg Gula		Total Gula (%)		Rata-rata Kadar Gula (%)
	u1	u2	u1	u2	u1	u2	
waktu hidrolisis (jam ke-)							
3	0.064	0.062	0.680	0.659	13.591	13.184	13.388
6	0.067	0.065	0.710	0.690	14.201	13.795	13.998
9	0.069	0.068	0.730	0.720	14.608	14.405	14.507
15	0.07	0.071	0.741	0.751	14.812	15.015	14.914
21	0.073	0.074	0.771	0.781	15.422	15.626	15.524
27	0.077	0.078	0.812	0.822	16.236	16.439	16.338
33	0.087	0.085	0.914	0.893	18.271	17.864	18.067
39	0.093	0.091	0.975	0.954	19.491	19.084	19.288
45	0.095	0.096	0.995	1.005	19.898	20.102	20.000
48	0.095	0.094	0.995	0.985	19.898	19.695	19.797

4.6 Kombinasi Enzim selulase : Enzim selobiase (2:1), suhu 50°C dan pH 5

PARAMETER (waktu, suhu, pH dan ukuran)	ENZIM SELULOSE : ENZIM SELOBIOSE (2:1) SUHU 50						
	Absorbansi		mg Gula		Total Gula (%)		Rata-rata Kadar Gula (%)
	u1	u2	u1	u2	u1	u2	
waktu hidrolisis (jam ke-)							
3	0.079	0.081	0.832	0.852	16.643	17.050	16.846
6	0.083	0.083	0.873	0.873	17.457	17.457	17.457
9	0.089	0.087	0.934	0.914	18.678	18.271	18.474
15	0.091	0.093	0.954	0.975	19.084	19.491	19.288
21	0.093	0.096	0.975	1.005	19.491	20.102	19.797
27	0.097	0.099	1.015	1.036	20.305	20.712	20.509
33	0.106	0.107	1.107	1.117	22.136	22.340	22.238
39	0.111	0.111	1.148	1.158	22.950	23.154	23.052
45	0.114	0.112	1.188	1.168	23.764	23.357	23.561
48	0.113	0.112	1.178	1.168	23.561	23.357	23.459

4.7 Kombinasi Enzim selulase : Enzim selobiase (1:2), suhu 50°C dan pH 5

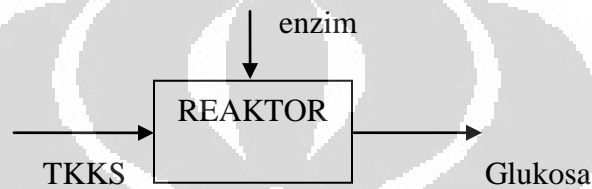
PARAMETER (waktu, suhu, pH dan ukuran)	ENZIM SELULOSE : ENZIM SELOBIOSE (1:2) SUHU 50						
	Absorbansi		mg Gula		Total Gula (%)		Rata-rata Kadar Gula (%)
	u1	u2	u1	u2	u1	u2	
waktu hidrolisis (jam ke-)							
3	0.063	0.062	0.669	0.659	13.388	13.184	13.286
6	0.066	0.065	0.700	0.690	13.998	13.795	13.896
9	0.069	0.068	0.730	0.720	14.608	14.405	14.507
15	0.071	0.071	0.751	0.751	15.015	15.015	15.015
21	0.074	0.074	0.781	0.781	15.626	15.626	15.626
27	0.076	0.078	0.802	0.822	16.033	16.439	16.236
33	0.086	0.085	0.903	0.893	18.067	17.864	17.965
39	0.092	0.091	0.964	0.954	19.288	19.084	19.186
45	0.094	0.095	0.985	0.995	19.695	19.898	19.797
48	0.093	0.094	0.975	0.985	19.491	19.695	19.593



## LAMPIRAN 5

### 5.1 Perhitungan Secara Teoritis Hasil Hidrolisis TKKS Menjadi Glukosa Dengan Bantuan Enzim

Perhitungan secara teoritis dilakukan dengan mengasumsikan 100% TKKS sebanyak 0.5 gram terhidrolisis sempurna untuk hidrolisis dengan enzim selulase. Dari hasil uji komposisi pada penelitian ini diketahui bahwa TKKS mengandung 45% selulosa.



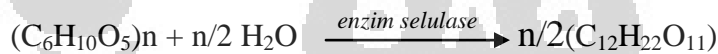
Gambar 1. Ilustrasi Sederhana, Reaktor Untuk Konversi TKKS menjadi Glukosa

Dari Ilustrasi diatas, maka hidrolisis TKKS menjadi Glukosa adalah sebagai berikut:

### 5.2 Selulosa

Jumlah Selulosa dalam TKKS = 45% x 0,5 gram = 0,225 gram

Reaksi yang terjadi secara sempurna



Mr selulosa = (162)n gram/mol

Mr glukosa = 180 gram/mol

$$\text{Mol selulosa} = \frac{\text{Berat selulosa}}{\text{Mr selulosa}} = \frac{0,225 \text{ gram}}{(162)n \text{ gram/mol}} = 0,00139/n \text{ mol}$$

Mol glukosa = n x mol selulosa = n x 0,00139/n mol = 0,00139 mol

gram glukosa = 0.00139 mol x 180 gram/mol = 0.2502 gram

$$\text{Yield glukosa (basis berat kering TKKS)} = \frac{\text{gram glukosa}}{\text{gram sampel}} = \frac{0,2502 \text{ gram}}{0,5 \text{ gram}} = 50,04\%$$

Jadi secara teoritis % yield yang dihasilkan dari hidrolisis dengan enzim selulase adalah 50,04%.

## LAMPIRAN 6

### GAMBAR TAHAP PROSES PENELITIAN

#### 1. Uji Komposisi TKKS

##### 1.1 Uji Kadar Lignin TKKS



Gambar 1.1a. Penentuan Kadar Lignin (refluks)



Gambar 1.1.b Penentuan Kadar Lignin (penyaringan)



Gambar 1.1c Lignin pada TKKS

## 1.2 Uji Kadar Selulosa



Gambar 1.2 a Penentuan Kadar  $\alpha$ -Selulosa (titrasi)

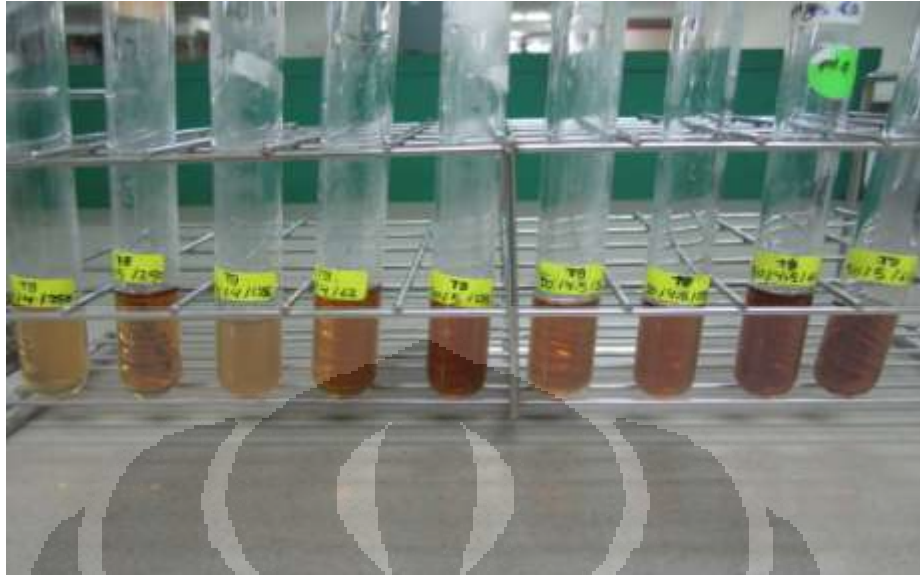


Gambar 1.2 b Penentuan Kadar  $\gamma$ -Selulosa (pengendapan 1 malam)



Gambar 1.2.c Penentuan Kadar  $\gamma$ -Selulosa (titrasi)

## 2. Hidrolisis TKKS



Gambar 2.1 Hidrolisis TKKS secara Enzimatis Dengan Enzim Selobiase Pada Waktu Hidrolisis jam ke-45



Gambar 2.2 Spektrofotometer untuk Penentuan Kadar Glukosa Berdasarkan Absorbansi yang diperoleh