

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tujuan dari penelitian ini di antaranya adalah untuk mengetahui pengaruh perlakuan GM terhadap kandungan larut air, gula pereduksi dan etanol. Pembahasan dari setiap tujuan tersebut akan dijelaskan dalam sub bab yang berbeda.

Data-data yang ditampilkan dalam grafik dan tabel adalah hasil olahan untuk memudahkan memahami fenomena yang terjadi dan kemudahan dalam pembahasan.

4.1 Pengaruh perlakuan GM terhadap kandungan terlarut dalam air

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah bambu. Sebelum digunakan bambu tersebut terlebih dahulu dipotong hingga membentuk balok kecil berukuran 2 x 2 x 2 cm lalu dikeringkan hingga mencapai berat kering. Bambu kering kemudian mengalami perlakuan GM dengan daya dan waktu tertentu. Setelah itu substrat direndam di dalam air demin selama 10 menit sambil digoyang dengan kecepatan 30 rpm. Kemudian substrat padat diambil dari substrat cair dan dikeringkan di oven hingga mencapai berat kering yang konstan.

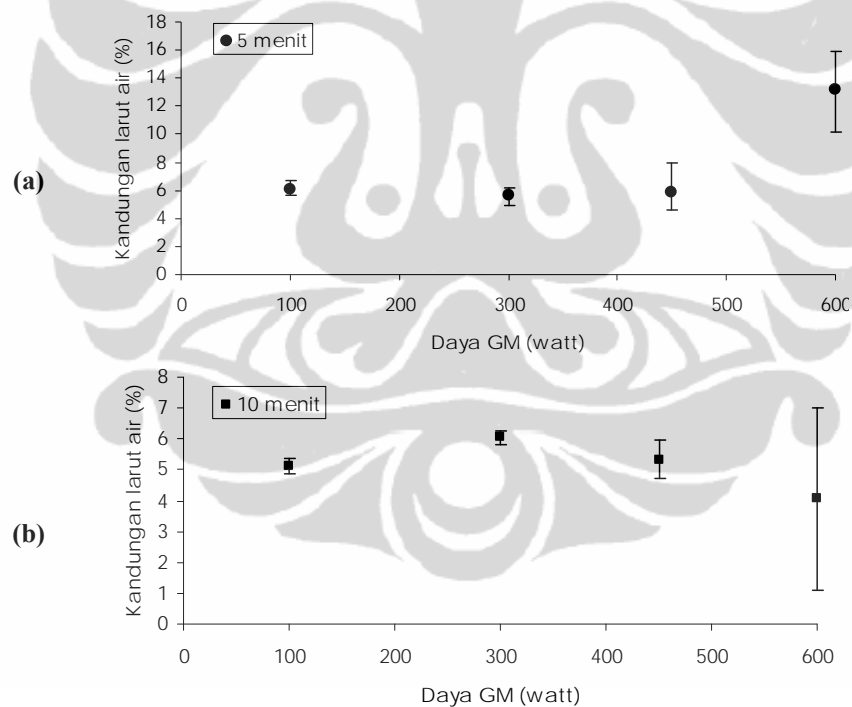
Perlakuan GM dianggap dapat menyebabkan terurainya sebagian polisakarida menjadi bahan gula monomer yang menjadi penyusunnya. Radiasi yang dipancarkan oleh GM akan diserap oleh bahan polisakarida dan diubah menjadi panas. Panas yang dihasilkan cukup besar hingga mampu memutuskan ikatan pada rantai polisakarida. Pembahasan rinci tentang bagaimana radiasi GM dapat memicu reaksi pemutusan ikatan tersebut akan dibahas pada sub sub bab 4.1.2.

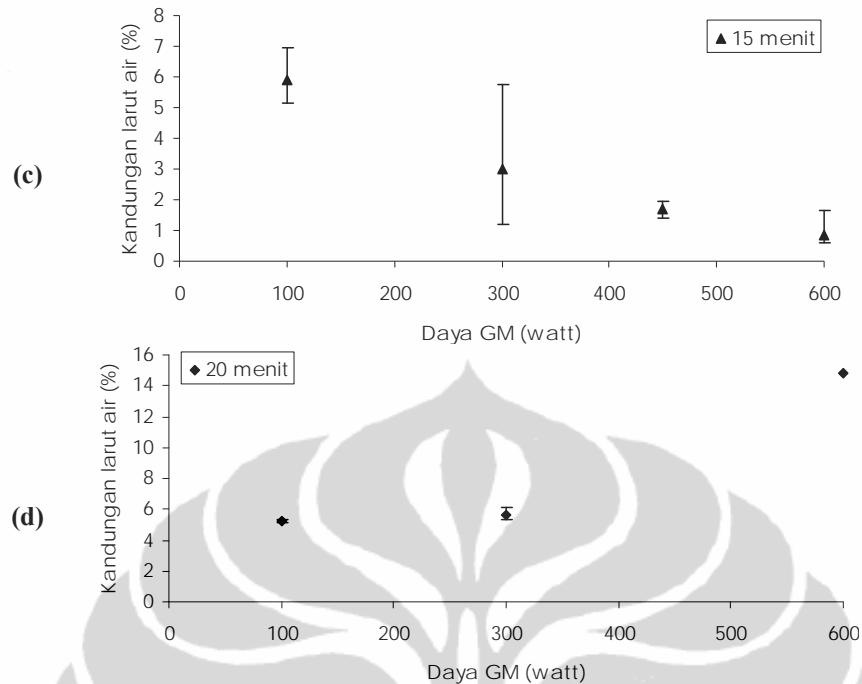
Gula monomer yang dihasilkan dari pemutusan rantai polisakarida memiliki sifat dapat larut dalam air. Dalam penelitian ini, seperti yang sudah dijelaskan sebelumnya, bambu yang telah mengalami perlakuan GM kemudian direndam dalam air dengan volume tertentu. Pada perendaman ini monomer yang terbentuk sebagai hasil dari perlakuan GM dianggap terlarut sempurna ke dalam air. Saat padatan bambu kemudian dipisahkan dari cairan dan dikeringkan, berat kering yang terukur akan lebih rendah dibanding berat kering sebelum bambu mengalami perlakuan GM.

Selisih antara kedua berat kering tersebut mengindikasikan terjadinya kehilangan berat pada bambu sebagai akibat melarutnya sebagian komposisi bahan tersebut. Kehilangan berat ini adalah parameter yang diukur untuk mengetahui pengaruh GM terhadap kandungan terlarut bambu dalam air. Data kehilangan berat yang diperoleh kemudian dikonversi menjadi persentase kandungan larut air yang menjadi bahan diskusi sub bab ini. Pengaruh berbagai variasi daya dan waktu perlakuan GM terhadap kandungan larut air akan di bahas pada sub sub bab 4.1.1.

4.1.1 Variasi perlakuan GM

Variabel yang dimanipulasi pada perlakuan GM untuk melihat pengaruhnya terhadap kandungan larut air adalah daya yang dibutuhkan untuk membangkitkan GM dan waktu perlakuan. Variasi daya yaitu 100, 300, 450, dan 600 watt. Sedangkan variasi waktu yaitu 5, 10, 15, dan 20 menit. Hubungan antara variasi daya GM terhadap persentase kandungan larut air dapat dilihat melalui Gambar 4.1 berikut.



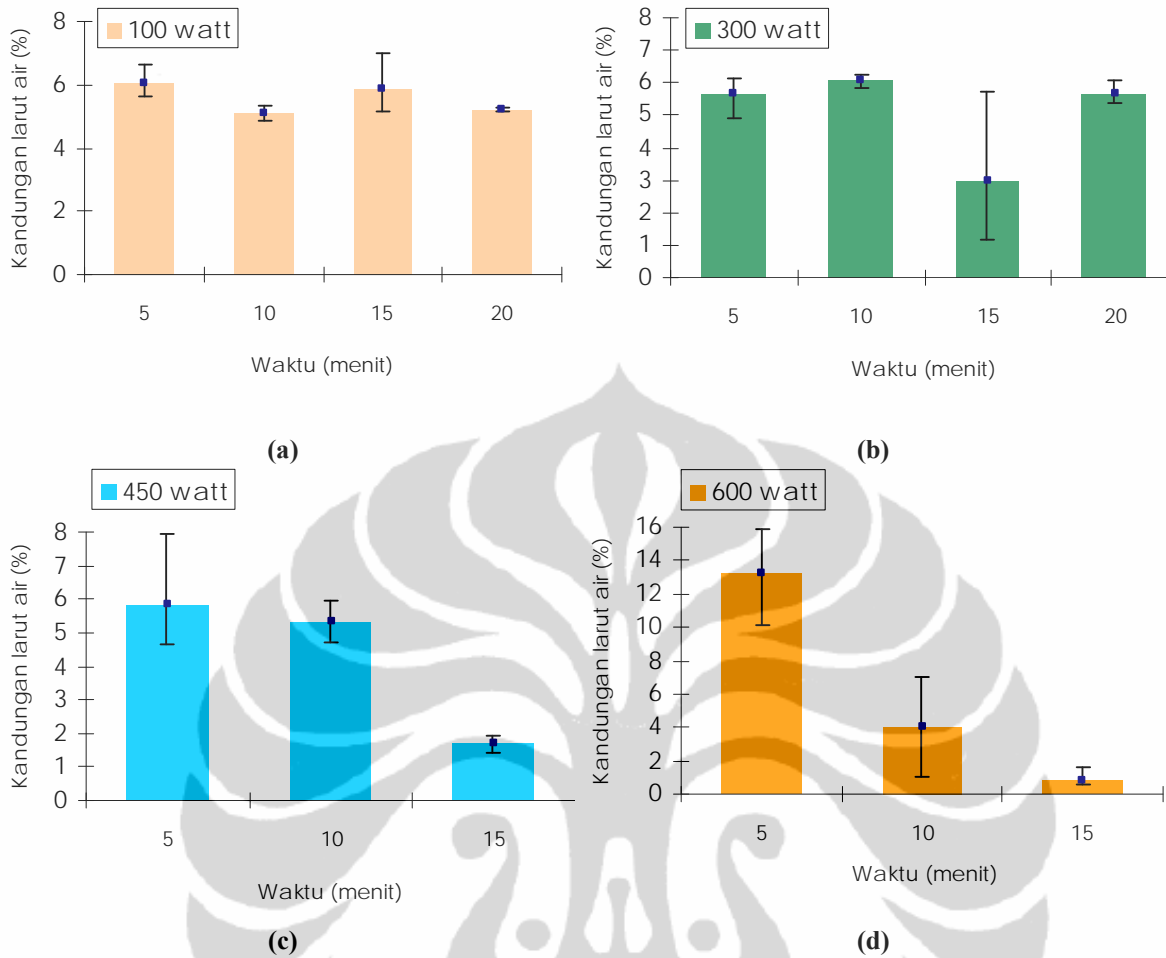


Gambar 4.1 Hubungan antara variasi daya GM terhadap persentase kandungan larut air dengan waktu perlakuan tertentu; (a) 5 menit, (b) 10 menit, (c) 15 menit, (d) 20 menit

Titik-titik yang membentuk grafik-grafik di atas adalah nilai rata-rata persentase kandungan larut air pada daya dan waktu perlakuan tertentu. Persentase kandungan larut air tertinggi berdasarkan Gambar 4.1 berada pada substrat bambu yang mengalami perlakuan GM 600 watt selama 5 menit dan 20 menit yaitu 13,2% dan 14,8%.

Berdasarkan hipotesis, semakin tinggi daya GM maka akan semakin banyak polisakarida yang terurai menjadi monomer sehingga semakin banyak pula zat yang dapat larut dalam air. Dengan demikian persentase kandungan larut air yang terukur pun semakin tinggi. Menurut Gambar 4.1, kecenderungan grafik yang mengikuti hipotesis tersebut berada pada Gambar 4.1 (a) dan (d) yaitu pada perlakuan GM selama 5, 10, dan 20 menit dengan daya yang bervariasi. Sedangkan pada perlakuan GM selama 15 menit penambahan daya justru semakin memperkecil persentase kandungan larut air.

Hubungan antara variasi waktu perlakuan GM pada daya tertentu terhadap persentase kandungan larut air dapat dilihat melalui Gambar 4.2 di bawah ini.



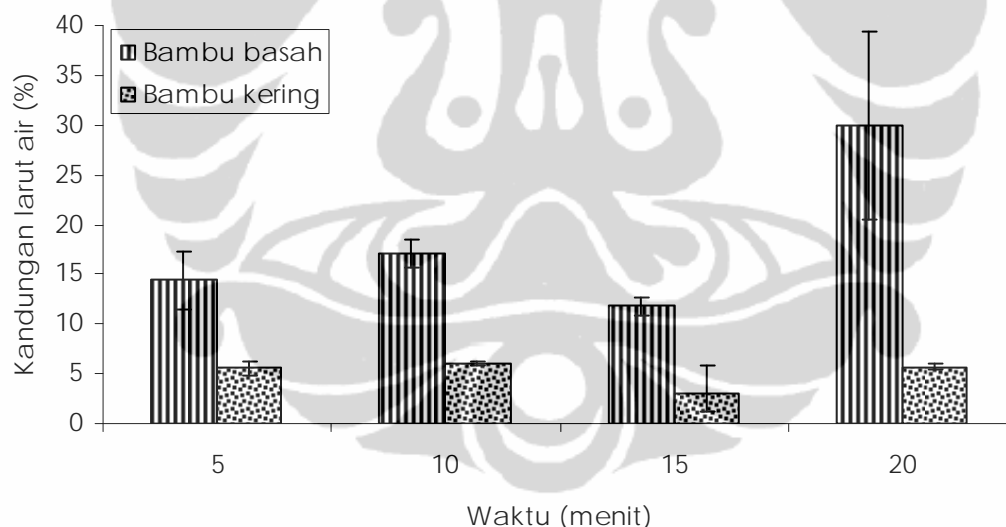
Gambar 4.2 Hubungan antara variasi waktu GM terhadap persentase kandungan larut air dengan daya GM tertentu; (a) 100 watt, (b) 300 watt, (c) 450 watt, (d) 600 watt

Sesuai dengan apa yang terlihat pada Gambar 4.2, perlakuan GM 100 watt dan 300 watt pada variasi waktu memiliki kecenderungan yang mendekati hipotesis. Sedangkan pada perlakuan GM 450 watt dan 600 watt, kecenderungan yang terbentuk justru berlawanan dengan hipotesis.

Selain lignin dan polisakarida, bambu juga memiliki kandungan yang dinamakan ekstraktif. Bahan ini adalah senyawa yang mudah larut dalam air dan pelarut organik. Berdasarkan hasil penelitian ini, dari bambu kering yang tidak mengalami perlakuan GM dan hanya direndam dalam air selama waktu tertentu diperoleh kandungan larut air sebesar 3,7%. Nilai ini lebih kecil jika dibandingkan dengan rata-rata kandungan larut air bambu kering yang mengalami perlakuan GM, yaitu 5,9%. Perbedaan ini menunjukkan bahwa perlakuan GM mampu meningkatkan persentase kandungan larut air bambu.

Dalam ilmu alam, radiasi GM umum digunakan sebagai pemicu terjadinya reaksi kimia. Berbeda dengan pemanasan konvensional, tingkat pemanasan oleh radiasi GM bergantung pada properti dielektrik molekul yang diradiasi. Properti ini menggambarkan kemampuan suatu bahan dalam mengubah energi elektromagnetik menjadi panas. Cairan dengan konstanta dielektrik yang tinggi mampu menyerap radiasi GM dengan baik sedangkan senyawa non-polar dan bahan dengan struktur kristal yang sangat teratur memiliki kemampuan serap yang lemah (Loupy, 2006).

Bambu adalah bahan lignoselulosa yang tersusun atas struktur kristal yang teratur. Berdasarkan teori yang dijelaskan pada paragraf sebelumnya, bambu memiliki kemampuan serap yang lemah akan radiasi GM. Keberadaan air ataupun senyawa polar cair lain di dalam struktur bambu adalah faktor yang memungkinkan terjadinya penyerapan radiasi GM sehingga pemanasan pun terjadi. Hal tersebut dapat dibuktikan melalui Gambar 4.3 di bawah ini yang memperlihatkan perbandingan persentase kandungan larut air hasil perlakuan GM 300 watt antara bambu kering dan bambu basah.



Gambar 4.3. Perbandingan kandungan larut air bambu kering dan basah

Bambu basah adalah bambu segar yang tidak mengalami proses pengeringan sebelum diberikan perlakuan GM. Berdasarkan grafik di atas, rata-rata kandungan larut air dari bambu yang telah dikeringkan terlebih dahulu berada pada rentang 5-8%. Sedangkan rata-rata kandungan larut air pada bambu basah (kadar air rata-rata 78%) berada pada rentang 11-30%.

Perbedaan ini menunjukkan bahwa radiasi GM dapat diserap dengan lebih baik oleh bambu yang memiliki kandungan air relatif lebih tinggi. Sehingga reaksi pemutusan ikatan polisakarida pun berjalan lebih efektif pada bambu tersebut.

Berdasarkan grafik-grafik yang telah dicantumkan di atas dan pembahasan yang menyertainya, perlakuan GM pada bambu dapat meningkatkan jumlah kandungan larut air. Apakah perlakuan tersebut dapat mengubah polisakarida menjadi monomer penyusunnya atau tidak, akan dibahas lebih lanjut pada sub bab berikutnya mengenai gula pereduksi.

Paragraf-paragraf di atas memaparkan bagaimana pengaruh perlakuan GM terhadap struktur bambu dengan kandungan larut air sebagai parameter yang diobservasi. Perlakuan GM terhadap bambu juga memberikan pengaruh pada kondisi fisik bambu. Hal ini akan dibahas pada sub sub bab 4.1.3 yang menampilkan citra SEM bambu yang telah mengalami perlakuan GM.

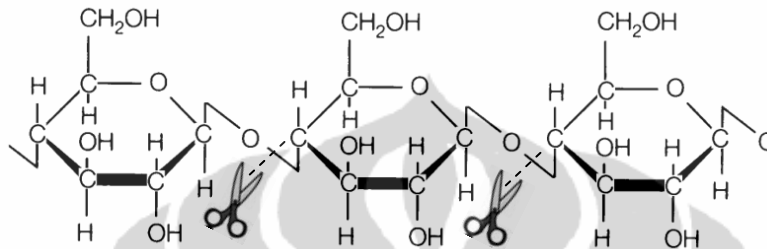
4.1.2 Energi ikatan dan radiasi GM

Paparan-paparan yang telah disampaikan pada tulisan ini menyatakan bahwa GM dapat memutuskan ikatan kimia polisakarida. Setiap ikatan kimia senyawa organik maupun anorganik memiliki entalpi pembentukan yang berbeda seperti yang tertera pada Tabel 4.1 berikut ini.

Tabel 4.1. Energi beberapa ikatan kimia (www.chem.msu.edu, 2008)

Single Bonds	ΔH_f^* (kkal/mol)	Multiple Bonds	ΔH_f^* (kkal/mol)
H-H	104.2	C=C	146
C-C	83	N=N	109
N-N	38.4	O=O	119
O-O	35	C=N	147
F-F	36.6	C=O (CO ₂)	192
H-C	99	C=O (aldehyde)	177
H-N	93	C=O (ketone)	178
H-O	111	C=O (ester)	179
C-O	85.5	C=O (amide)	179

Selulosa adalah polimer berantai lurus yang tersusun atas ribuan molekul glukosa. Jika kita melihat kembali pada struktur selulosa (**Gambar 2.**), antar molekul glukosa dihubungkan dengan ikatan antara C dan O. Jika dianggap selulosa terdepolimerisasi menjadi glukosa, maka pemutusan antar ikatan seharusnya terjadi pada ikatan C-O tersebut.



Gambar 4.4. Pemutusan ikatan pada selulosa

Dari tabel di atas dapat dilihat bahwa pemutusan ikatan C-O membutuhkan energi sebesar 85,5 kkal/mol. Sehingga jika GM memang dapat memutuskan ikatan antar molekul glukosa maka seharusnya gelombang ini membawa energi dengan jumlah yang sama atau lebih. Namun menurut literatur, GM memiliki energi kuantum yang relatif lebih rendah dibanding gelombang lain yang juga memancarkan radiasi elektromagnet seperti sinar x-ray dan gamma yaitu hanya sebesar 0,037 kkal/mol (Taylor et al., 2005).

Saat ini ada beberapa teori yang berkembang untuk menjelaskan apa yang terjadi pada bambu dan bahan organik lainnya saat diberikan radiasi GM dengan intensitas tertentu. Teori yang paling mendekati adalah teori mengenai eksitasi pada level atom sebagai akibat dari penyerapan energi gelombang mikro seperti yang telah dijabarkan pada Bab II (Metaxas dan Meredith, 1993). Perlu ditekankan bahwa untuk pembahasan selanjutnya, perlakuan GM berarti rangkaian perlakuan tersebut dengan perlakuan perendaman dalam air demin.

Sekilas tampaknya GM tidak mungkin dapat memutuskan ikatan antar glukosa. Namun ternyata pemutusan ikatan kimia atau reaksi kimia lainnya tidak terjadi langsung karena pengaruh dari energi elektromagnet yang dibawa GM. Dalam konteks penelitian ini, air adalah medium yang menerima perpindahan energi dari GM. Energi yang diserap oleh air kemudian akan terdisipasi menjadi panas dengan jumlah yang cukup untuk memicu reaksi pemutusan ikatan C-O.

Hal ini dapat dibuktikan dengan melakukan kalkulasi energi yang terdisipasi menggunakan berbagai pendekatan seperti yang akan dijabarkan pada bagian berikut. Selain itu, perbedaan persentase kehilangan berat antara bambu basah dan kering merupakan bukti lain bahwa terjadi akumulasi energi yang dapat merusak ikatan struktur lignoselulosa.

Pengaruh paparan GM pada daya dan waktu perlakuan tertentu terhadap struktur lignoselulosa dapat dibuktikan secara teoritis melalui kalkulasi energi yang diserap oleh bambu sebagai bahan dielektrik.

Tabel berikut menunjukkan hasil kalkulasi menggunakan langkah-langkah persamaan yang telah di tulis di bagian penjabaran literatur. Kalkulasi dilakukan menggunakan daya gelombang mikrGM sebesar 300 watt dan frekuensi 2,45 GHz.

Tabel 4.2. Hasil kalkulasi energi gelombang mikro

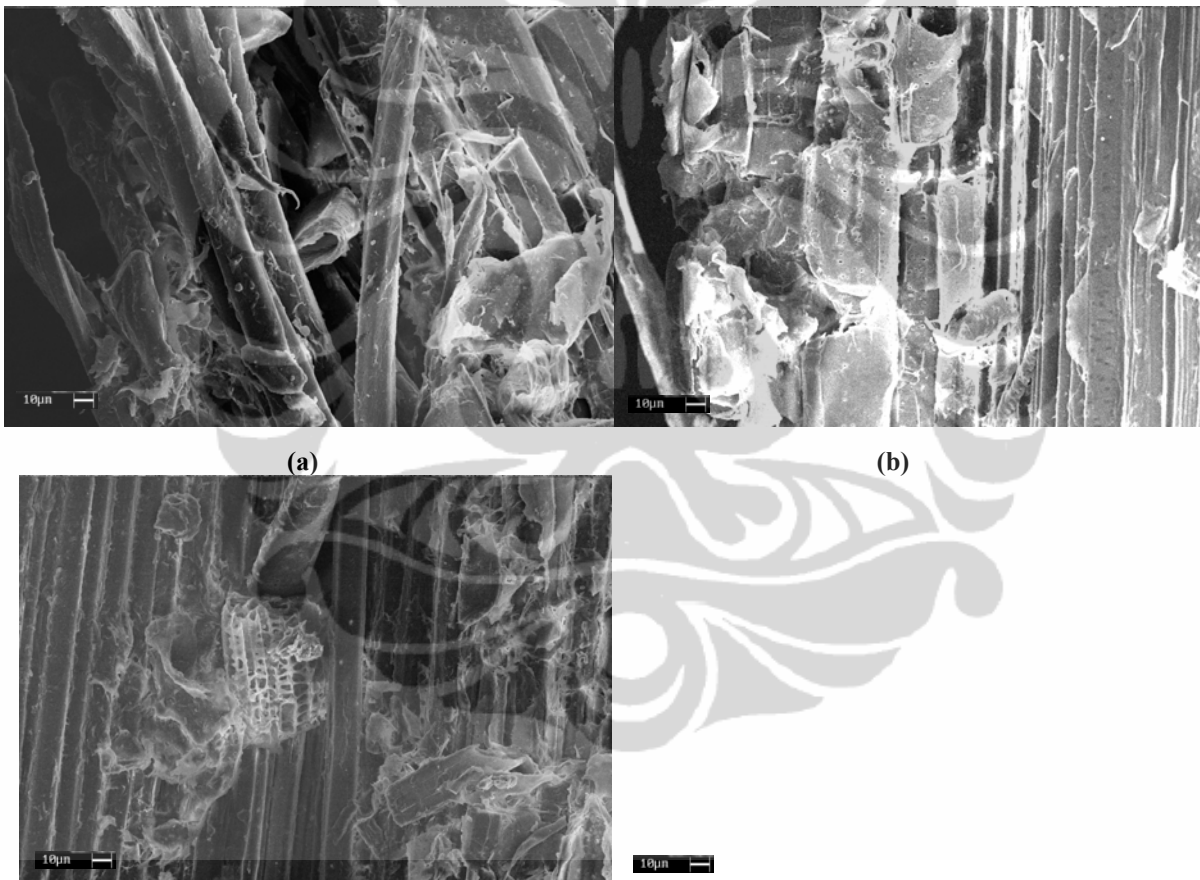
Besaran	Nilai	Rujukan
ε''_{eff}	1	Gambar
ε'	5	Gambar
$\tan \delta_{eff}$	0.2	Pers. (2.1)
V_L	0.1 L	
V_c	20 L	
v	0.005	Pers. (2.2)
Q-factor	1088.444	Pers. (2.3)
E_{max}	21.962 kV/m	Pers. (2.4)
ε_o	8.8×10^{-12} F/m	
P_{av}	1.892×10^5 kkal	Pers. (2.5)

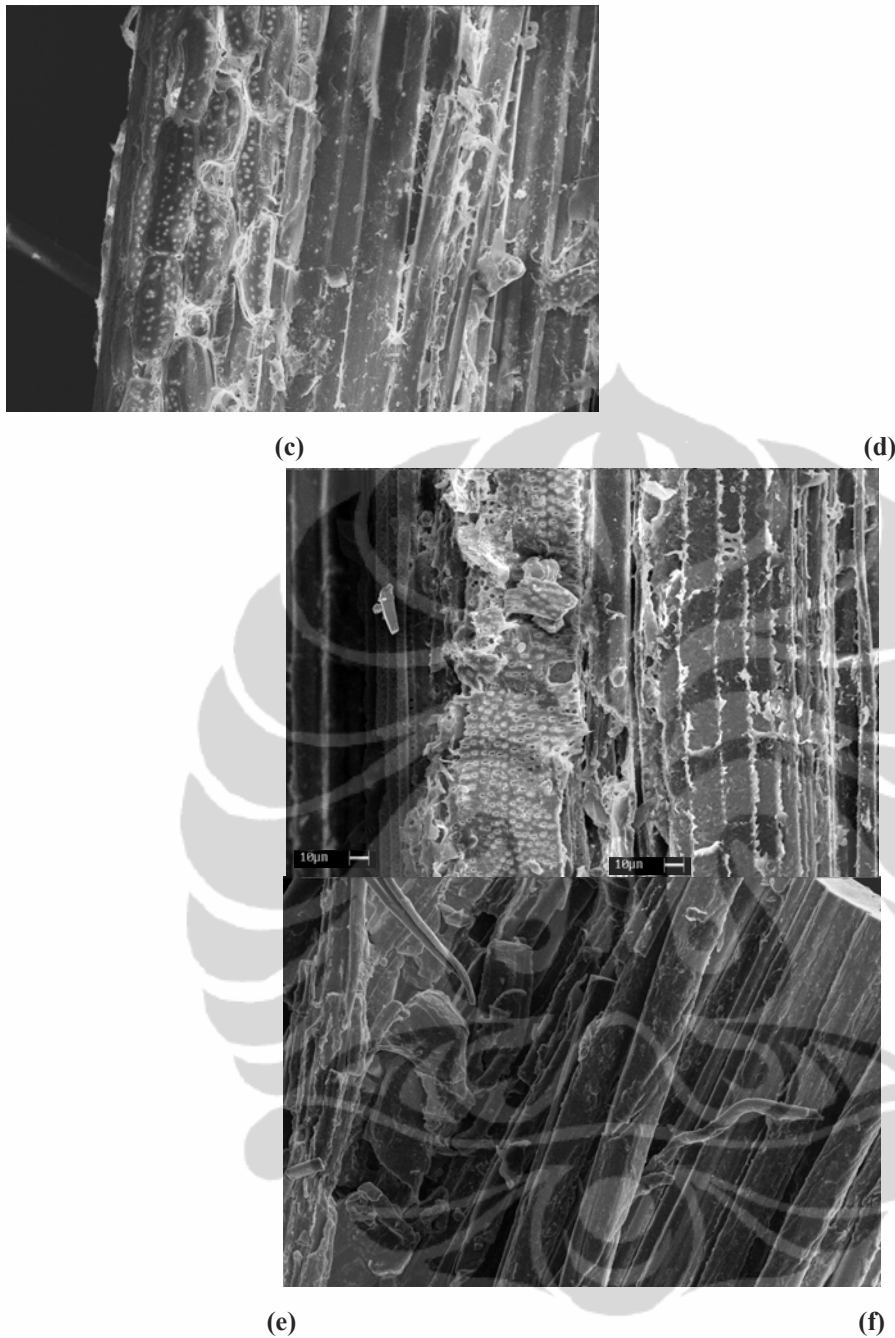
Perhitungan dengan menggunakan beberapa asumsi yang telah dijabarkan pada sub bab 2.2.1 menghasilkan nilai energi, P_{av} **1.892×10^5 kkal**, yang secara teori cukup untuk memutus ikatan C-O yang menggabungkan molekul-molekul glukosa pada selulosa. Nilai energi yang sebenarnya mungkin saja lebih tinggi karena pada kondisi aktual *moisture content* bambu lebih tinggi dari 20%. Nilai tersebut juga mungkin saja lebih rendah karena besaran-besaran yang digunakan tidak sepenuhnya merupakan

properti bambu. Dengan demikian, perlu dilakukan serangkaian penelitian untuk lebih membuktikan kecukupan energi yang terdisipasi.

4.1.3 Pengaruh perlakuan GM terhadap struktur fisik bambu

Aktivitas air akibat paparan gelombang mikro merupakan salah satu teori yang mungkin untuk menjelaskan terjadinya perubahan pada struktur bambu. Panas yang dihasilkan dari gesekan-gesekan antar molekul, cukup untuk menguapkan sebagian air yang terikat di dalam struktur bambu. Uap yang terbentuk kemudian meningkatkan tekanan internal struktur yang pada akhirnya akan sangat besar hingga mampu melubangi dinding bambu. Fenomena ini dapat dilihat pada foto SEM serat bambu yang telah diberi perlakuan paparan gelombang mikro dengan daya 300 watt pada variasi waktu paparan.





Gambar 4.5. Foto SEM (perbesaran 500x) serat bambu setelah perlakuan GM 300 watt: (a) 0 menit; (b) 5 menit; (c) 10 menit; (d) 15 menit; (e) 20 menit; (f) perlakuan H₂SO₄ 5%

Perbedaan waktu paparan memberikan pengaruh yang berbeda terhadap perubahan struktur bambu terutama dari segi ukuran dan jumlah lubang yang terbentuk seperti yang terlihat pada gambar di atas. Fenomena ini efektif terjadi hanya jika air berada dalam bentuk cair karena molekul air dapat bergerak dengan bebas dan jarak antar molekul relatif dekat. Jika air berada dalam bentuk padat, molekul-molekul air

membentuk struktur kristal yang kaku dan tidak dapat bergerak dengan bebas. Sedangkan jika air berada dalam bentuk gas atau uap, maka jarak antar molekul relatif jauh sehingga tidak memungkinkan terjadinya gesekan antar molekul dan tidak ada panas yang dihasilkan. Hal inilah yang menyebabkan mengapa setelah digunakan selama waktu tertentu substrat yang diberi perlakuan terasa sangat panas sedangkan ruangan oven gelombang mikro tidak (www.colorado.edu, 2008).



4.2 Pengaruh perlakuan GM terhadap gula pereduksi

Sub bab 4.1 telah membahas dengan rinci pengaruh variasi daya dan waktu perlakuan GM terhadap kandungan larut air bahan bambu. Pada bagian tersebut juga telah dipaparkan teori yang paling mendekati untuk menjelaskan fenomena apa yang terjadi pada bambu saat mengalami radiasi GM.

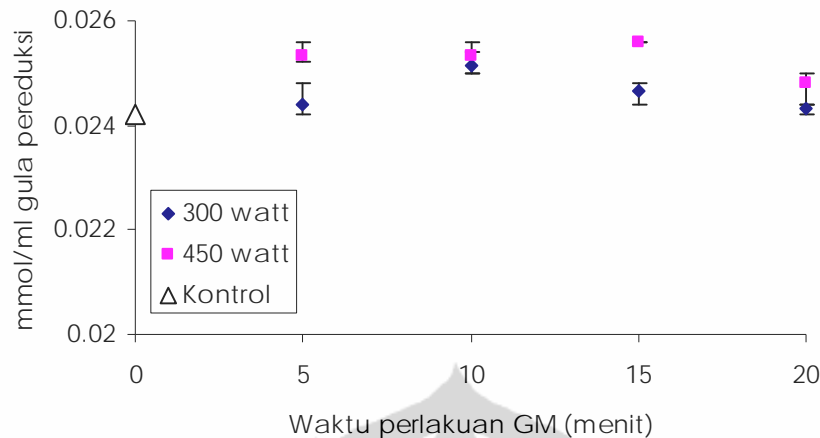
Telah disebutkan juga pada sub bab sebelumnya bahwa radiasi GM, yang kemudian terdisipasi menjadi panas, mampu menguraikan polisakarida menjadi monomer penyusunnya. Bagian ini akan memaparkan hasil penelitian yang dilakukan untuk membuktikan hipotesis tersebut serta memperlihatkan bagaimana pengaruh variasi perlakuan GM terhadap jumlah monomer yang dihasilkan.

Untuk membuktikan bahwa perlakuan GM akan menguraikan polisakarida menjadi monomernya, perlu dilakukan suatu analisa penentuan kandungan gula. Substrat bambu yang telah mengalami perlakuan GM kemudian dilarutkan ke dalam air dan dipanaskan dalam air mendidih selama waktu tertentu. Setelah itu, pada substrat cairan dilakukan prosedur analisa gula seperti yang telah dijelaskan di Bab III.

Monomer gula yang terbentuk sebagai hasil penguraian polisakarida tidak hanya glukosa. Pentosa dan monomer gula lainnya bisa saja terbentuk sebagai hasil penguraian hemiselulosa. Sehingga dalam substrat yang dihasilkan dari perlakuan GM mungkin terdapat lebih dari satu jenis monomer gula.

Proses analisa yang dilakukan pada penelitian ini tidak spesifik untuk monosakarida tertentu melainkan akan mendeteksi keberadaan monomer gula secara keseluruhan. Analisa ini melibatkan beberapa tahap reaksi redoks antara gula dan senyawa-senyawa yang terdapat dalam reagent yang digunakan. Dalam reaksi tersebut, gula akan mereduksi salah satu pereaksi sehingga disebut sebagai gula pereduksi.

Variabel yang diubah-ubah pada perlakuan GM untuk melihat pengaruhnya terhadap gula pereduksi adalah daya GM yaitu 300 watt dan 450 watt serta waktu perlakuan yaitu 5, 10, 15, dan 20 menit. Gambar 4.5 di bawah ini memperlihatkan hubungan antara waktu perlakuan GM pada daya tertentu dengan jumlah gula pereduksi yang dihasilkan.



Gambar 4.5 Hubungan antara variasi waktu perlakuan GM terhadap jumlah gula pereduksi

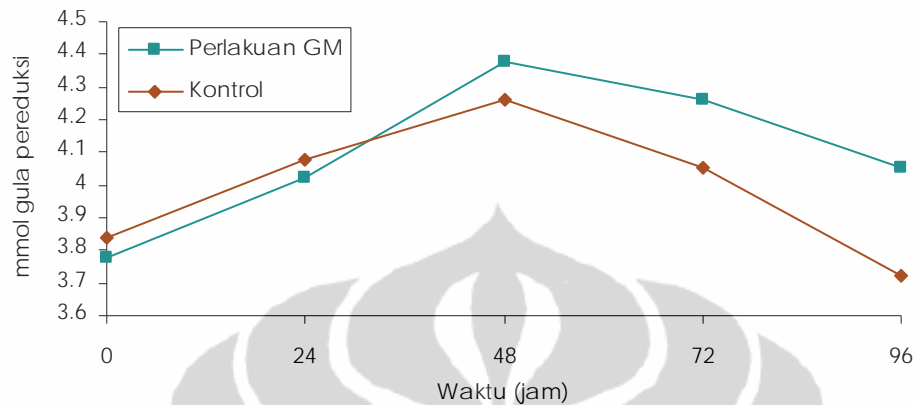
Secara garis besar, pada sub bab 4.1 diperoleh kesimpulan bahwa pengaruh variasi daya dan waktu perlakuan GM terhadap kandungan larut sesuai dengan hipotesis. Semakin tinggi daya dan waktu perlakuan GM maka semakin besar persentase kandungan larut air. Hipotesis lain yang juga mendasari penelitian ini yaitu, perlakuan GM akan menghasilkan monomer gula yang menjadi bagian dari kandungan larut air. Dengan demikian, jika penambahan daya dan waktu perlakuan GM semakin meningkatkan kandungan larut air maka seharusnya hal yang sama juga berlaku pada jumlah gula pereduksi.

Dari Gambar 4.5 dapat dilihat bahwa secara umum penambahan waktu perlakuan GM akan semakin meningkatkan jumlah gula pereduksi yang larut dalam air. Begitu juga dengan peningkatan daya, jumlah gula yang terbentuk pada substrat yang diberi perlakuan GM 450 watt lebih tinggi dibanding perlakuan GM 300 watt dan kontrol.

Selain mengobservasi jumlah gula pereduksi yang terkandung dalam substrat setelah mengalami perlakuan GM, pada penelitian ini juga dilakukan pengamatan tentang pengaruh perlakuan GM terhadap jumlah gula pereduksi hasil hidrolisis enzim. Tujuannya adalah untuk mengetahui bagaimana pengaruh perlakuan GM terhadap kinerja enzim *cellulase* dalam menghidrolisis selulosa menjadi glukosa.

Ke dalam substrat bambu yang telah mengalami perlakuan GM 300 watt selama 10 menit ditambahkan enzim *cellulase* dengan jumlah tertentu. Reaksi hidrolisis enzim kemudian dibiarkan berlangsung hingga 96 jam dengan sampel diambil sekali dalam 24 jam. Bersamaan dengan eksperimen ini, ke dalam substrat bambu yang tidak diberikan perlakuan GM juga ditambahkan enzim *cellulase* dengan jumlah yang sama. Perubahan

jumlah gula pereduksi selama 96 jam hidrolisis enzim pada kedua substrat tersebut dapat dilihat pada Gambar 4.6 berikut.



Gambar 4.6 Perubahan jumlah gula pereduksi pada substrat selama 96 jam hidrolisis enzim

Terlihat dari Gambar 4.6 pada jam ke-0 dan jam ke-24 jumlah gula yang terbentuk pada substrat yang telah mengalami perlakuan GM lebih rendah dibanding kontrol. Keadaan ini berbalik pada jam ke-48 hingga jam ke-96. Namun demikian, secara keseluruhan perlakuan GM dapat meningkatkan jumlah gula yang dihasilkan dari hidrolisis enzim cellulase. Artinya, perlakuan GM dapat meningkatkan efektivitas kinerja enzim dalam reaksi hidrolisis.

Fenomena menarik lain yang dapat dilihat pada Gambar 4.6 yaitu kecenderungan jumlah gula pereduksi yang semakin meningkat dari jam ke-0 hingga jam ke-48 kemudian turun pada jam ke-72 hingga jam ke-96. Hal ini menunjukkan bahwa di dalam substrat hidrolisis terjadi reaksi yang memanfaatkan gula yang terbentuk sebagai sumber energi sehingga jumlahnya pun berkurang. Namun demikian, hipotesis tersebut belum dapat dibuktikan karena tidak dilakukan prosedur analisa untuk menentukan reaksi apa yang sebenarnya terjadi dalam substrat tersebut.

4.3 Pengaruh perlakuan GM terhadap etanol

Perlakuan GM mampu meningkatkan jumlah kandungan zat bambu yang dapat larut dalam air. Hal itu terjadi karena radiasi GM mengubah struktur polisakarida menjadi monomer gula yang menyusunnya. Kesimpulan tersebut diperkuat dengan dilakukannya analisa gula pereduksi pada substrat yang telah mengalami perlakuan GM. Jumlah gula yang terbentuk juga semakin meningkat dengan adanya perlakuan GM.

Kesimpulan-kesimpulan yang telah diperoleh pada dua bagian sebelumnya akan semakin diperkuat pada sub bab ini. Gula pereduksi yang diperoleh dari perlakuan GM kemudian dikonversi menjadi etanol melalui proses SSF maupun fermentasi biasa. Jika perlakuan GM dapat meningkatkan kandungan larut air yang dibuktikan dengan meningkatnya jumlah gula dalam substrat, maka pemberian perlakuan tersebut juga seharusnya dapat meningkatkan jumlah etanol yang dihasilkan.

Telah disebutkan sebelumnya bahwa monomer gula yang terbentuk sebagai hasil penguraian polisakarida tidak hanya satu jenis. Namun untuk mempermudah pembahasan maka semua monomer gula pereduksi dianggap sebagai glukosa. Hanya gula ini yang dapat dikonversi oleh *S. Cerevisiae* menjadi etanol melalui reaksi fermentasi berikut ini.



Eksperimen untuk melihat pengaruh perlakuan GM terhadap etanol dibagi menjadi dua variasi yang masing-masing terdiri atas tiga kombinasi perlakuan yang berbeda. Kedua variasi kemudian akan dibandingkan di akhir sub bab ini.

4.3.1 Variasi dalam produksi etanol

Tahapan produksi etanol terbagi menjadi tiga jenis kombinasi perlakuan yang berbeda. Kombinasi tersebut dirangkum dalam Tabel 4.2 berikut. K1-K3 merupakan simbol yang mewakili kombinasi-kombinasi perlakuan yang dilakukan pada penelitian ini.

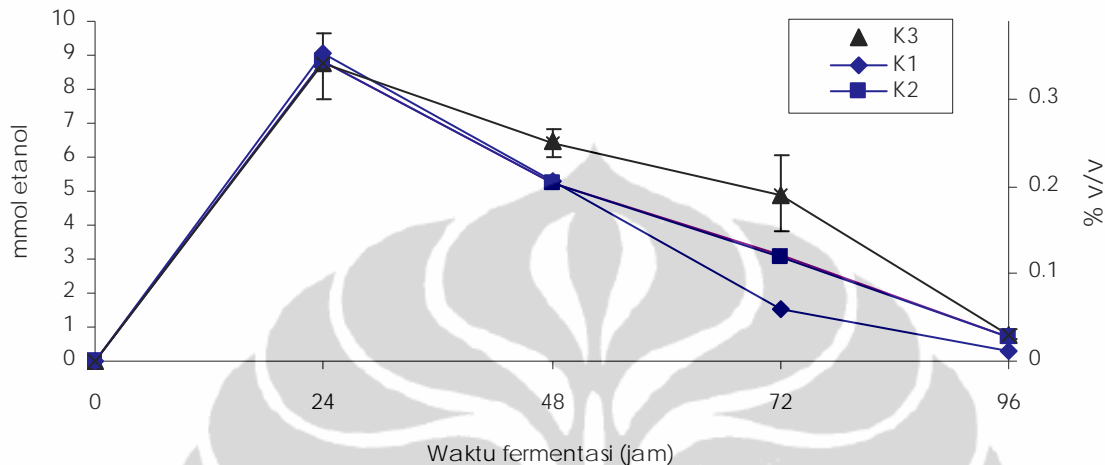
Tabel 4.2 Kombinasi perlakuan produksi etanol

Perlakuan	K1	K2	K3
GM 300 watt;10 menit	✓	✗	✓
Muatan enzim 0.008 gr	✗	✓	✓
Fermentasi	✓	✓	✓

K1 adalah kombinasi antara perlakuan GM 300 watt selama 10 menit dan fermentasi (tanpa penambahan enzim). K2 adalah proses SSF bambu yang tidak mengalami perlakuan GM. Sedangkan K3 adalah kombinasi antara perlakuan awal perlakuan GM 300 watt selama 10 menit dan SSF dengan muatan enzim sebesar 0.008 gram. K1 dan K2 berfungsi sebagai kontrol bagi K3. Untuk menyederhanakan penulisan,

masing-masing kombinasi tersebut akan ditulis dalam bentuk simbol seperti yang telah dijelaskan.

Perbandingan jumlah etanol yang dihasilkan dari ketiga kombinasi tersebut dapat dilihat melalui Gambar 4.7 berikut.



Gambar 4.7 Perbandingan jumlah etanol dari substrat K1, K2, dan K3

Gambar 4.7 memperlihatkan dengan jelas bahwa substrat K3 menghasilkan etanol dengan jumlah yang lebih besar dibanding K1 dan K2. Konsentrasi tertinggi substrat K3 dicapai pada jam ke-24 sebesar 9,67 mmol atau 0,38% v/v. Ketiga kombinasi tersebut, seperti terlihat pada gambar di atas, memiliki kecenderungan yang hampir sama. Jumlah etanol meningkat dari jam ke-0 hingga jam ke-24 namun kemudian turun hingga hampir mencapai nol di jam ke-96.

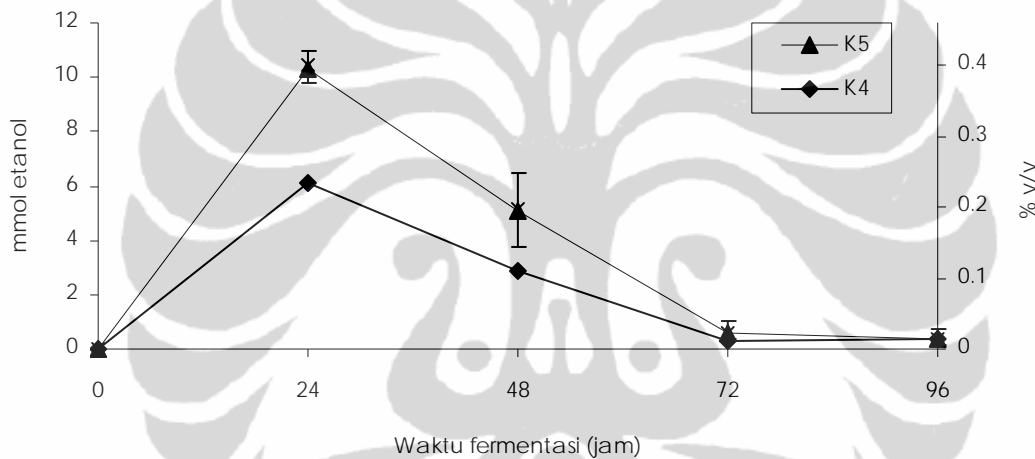
Perbedaan hasil antara K1 dan K2 serta antara K2 dan K3 merupakan bukti tambahan bahwa perlakuan GM dapat meningkatkan jumlah gula yang terbentuk terutama jika dilihat pada jam ke-0 fermentasi. Selain itu perbedaan antara K2 dan K3 juga menunjukkan bahwa kinerja enzim *cellulase* lebih baik pada substrat yang telah mengalami perlakuan GM.

Selain kombinasi perlakuan K1 hingga K3, dilakukan juga variasi lain dengan perbedaan utama terletak pada waktu perlakuan GM. Jika pada K1 dan K3 waktu perlakuan GM adalah 10 menit, maka pada kombinasi yang akan dijelaskan berikut ini waktu perlakuan GM adalah 15 menit. Keterangan mengenai kombinasi tersebut dapat dilihat melalui Tabel 4.3 di bawah ini.

Tabel 4.3 Kombinasi perlakuan produksi etanol variasi yang kedua

Perlakuan	K4	K5
GM 300 watt;15 menit	✓	✓
Muatan enzim 0.008 gr	✗	✓
Fermentasi	✓	✓

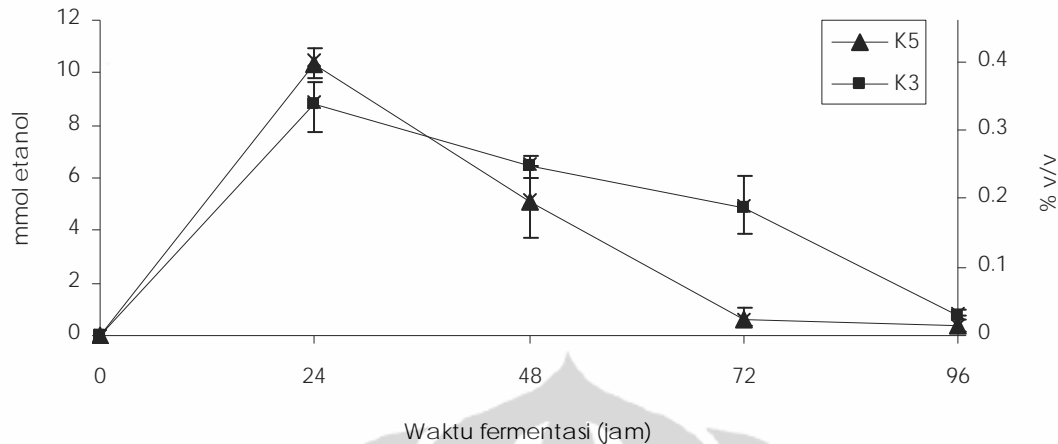
K4 adalah kombinasi antara perlakuan GM 300 watt selama 15 menit dan fermentasi (tanpa penambahan enzim). Sedangkan K5 adalah kombinasi antara perlakuan awal perlakuan GM 300 watt selama 15 menit dan SSF dengan muatan enzim sebesar 0.008 gram. Perbedaan hasil dari kombinasi K4 dan K5 ditampilkan melalui Gambar 4.8 berikut ini.



Gambar 4.8 Perbandingan jumlah etanol dari substrat K4 dan K5

Di antara K4 dan K5, seperti terlihat pada gambar di atas, jumlah etanol pada substrat K5 lebih tinggi dibanding K4 dari jam ke-24 hingga jam ke-96. Puncak jumlah etanol K5 berada pada nilai 10,3 mmol atau 0,4% v/v. Sama halnya dengan apa yang terjadi pada K1-K3, jumlah etanol pada K4 dan K5 juga mencapai nilai tertinggi pada jam ke-24 dan terus turun setelahnya.

Substrat K3 dan K5 mengalami kombinasi perlakuan yang hampir sama yaitu perlakuan GM dan SSF. Bedanya adalah pada K3 perlakuan GM berlangsung selama 10 menit sedangkan pada K5 perlakuan terjadi selama 15 menit. Kedua kombinasi tersebut memberikan hasil etanol yang berbeda seperti ditampilkan melalui Gambar 4.9.



Gambar 4.9 Perbandingan jumlah etanol dari substrat K3 dan K5

Menurut apa yang terlihat pada Gambar 4.9, jumlah mol etanol pada substrat K5 lebih tinggi dibanding substrat K3. Perbedaan jumlah mol etanol kedua substrat pada jam tersebut mencapai 15%. Hal ini terjadi karena pada substrat K5, jumlah gula pereduksi yang berada di dalam substrat cairan di awal fermentasi lebih tinggi dibanding substrat K3. Namun hal tersebut hanya terjadi pada jam ke-0. Pada jam ke-48 hingga jam ke-96 jumlah etanol pada substrat K5 lebih rendah dibanding K3.

Fasa pertumbuhan bakteri terbagi menjadi empat tahap yaitu fasa lambat, fasa cepat, fasa diam, dan fasa kematian. Fasa-fasa tersebut jika digambarkan dalam sebuah grafik akan terlihat seperti pada Gambar 2.17. Idealnya, grafik perubahan jumlah etanol dalam suatu substrat fermentasi akan mengikuti diagram pertumbuhan bakteri. Penelitian-penelitian terdahulu tentang produksi etanol dari bahan baku yang berbeda umumnya menghasilkan perubahan jumlah etanol yang mengikuti diagram tersebut. Namun grafik-grafik perubahan jumlah etanol yang dihasilkan dari penelitian ini tidak demikian adanya.

Seluruh etanol yang dihasilkan dari berbagai kombinasi perlakuan menunjukkan kecenderungan yang sama. Titik tertinggi jumlah etanol berada pada jam ke-24 dan terus turun setelahnya. Jika ragi tidak lagi melakukan fermentasi gula menjadi etanol, jumlah etanol dalam substrat seharusnya tetap.

Penurunan konsentrasi etanol ini menunjukkan bahwa terjadi reaksi yang mengubah etanol menjadi produk lain. Berdasarkan apa yang telah dijabarkan di Bab II pergantian metabolisme ragi dari anaerob menjadi aerob adalah teori yang paling mungkin untuk menjelaskan fenomena tersebut.

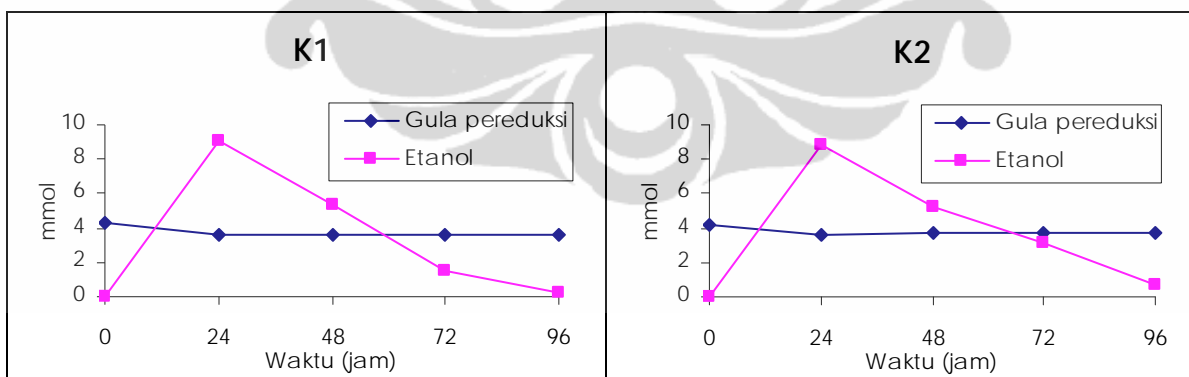
Fermentasi glukosa menjadi etanol adalah reaksi yang “melelahkan” bagi ragi karena menggunakan energi yang relatif tinggi. Ragi melakukan fermentasi agar mampu bertahan hidup dalam kondisi tanpa oksigen. Di awal metabolismenya secara anaerob di suatu media yang kaya akan sumber karbon, ragi membanjiri lingkungannya dengan etanol untuk membatasi kompetisi dengan bakteri lain dalam memperoleh makanan.

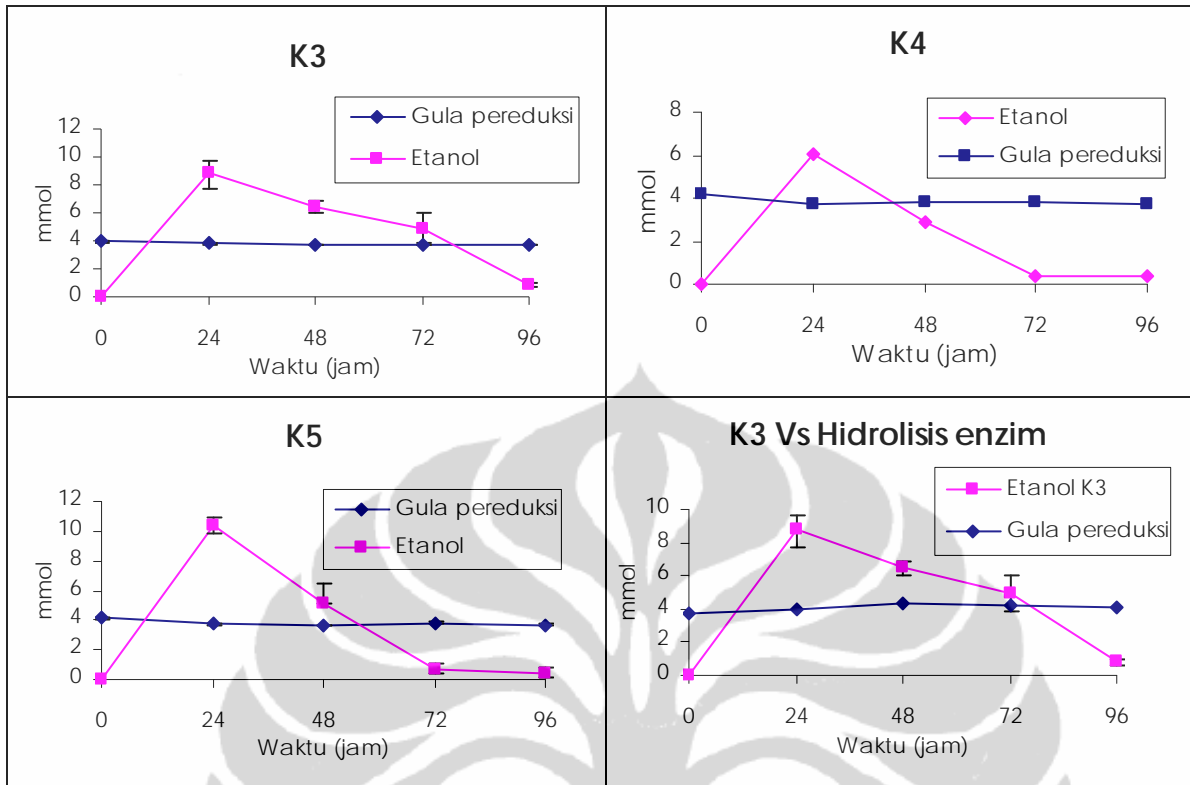
Di saat oksigen kembali tersedia, metabolisme ragi akan bertukar dari fermentasi menjadi respirasi. Ragi akan mendaur ulang etanol yang terbentuk menjadi asam asetat. Reaksi daur ulang etanol ini lebih “disukai” ragi karena membutuhkan energi yang relatif lebih sedikit dibanding fermentasi.

4.3.2 Hubungan antara gula pereduksi dan etanol

Pembahasan-pembahasan di atas telah memaparkan bagaimana pengaruh perlakuan GM terhadap kandungan larut air, gula pereduksi, dan etanol. Dapat dilihat bahwa hasil penelitian ini secara garis besar sesuai dengan hipotesis awal yang telah dibentuk. Namun, pembahasan tersebut belum memperlihatkan bagaimana hubungan antara gula pereduksi dan etanol selama proses fermentasi.

Reaksi fermentasi secara stoikiometris akan mengubah setiap 1 mol glukosa menjadi 2 mol etanol. Di bawah ini terdapat beberapa grafik yang memperlihatkan perbandingan jumlah mol gula pereduksi dan etanol dalam substrat K1-K5 selama waktu fermentasi.





Gambar 4.10 Perbandingan jumlah etanol dan gula pereduksi dalam substrat K1-K5 selama fermentasi

Dari gambar di atas dapat dilihat bahwa antara gula pereduksi jam ke-0 dan etanol di jam ke-24 terbentuk hubungan yang stoikiometris. Namun hubungan tersebut tidak lagi terbentuk di jam ke-48 hingga jam ke-96. Jumlah etanol terus turun meskipun jumlah gula cenderung stabil. Hal ini mengindikasikan bahwa ragi tidak lagi memanfaatkan gula untuk metabolisme sel melainkan menggunakan etanol sebagai sumber energi.

Hubungan antara jumlah gula pereduksi dengan etanol yang terbentuk juga dapat dilihat melalui neraca massa perubahan kandungan gula total substrat bambu. Kepada substrat bambu yang akan diberikan perlakuan GM, dilakukan prosedur analisa untuk menentukan total kandungan gula awal substrat tersebut. Kemudian setelah substrat tersebut mengalami serangkaian perlakuan seperti perlakuan GM dan SSF, kembali dilakukan prosedur analisa untuk menentukan total kandungan gula akhirnya. Selisih antara kedua nilai tersebut merupakan total gula yang terpakai selama proses fermentasi. Jumlah etanol yang terbentuk secara stoikiometris pun dapat dihitung dan dibandingkan dengan jumlah etanol yang nyata terbentuk.

Tabel 4.4 di bawah ini menampilkan data selisih gula sebagai hasil pengurangan total gula awal dan total gula akhir substrat bambu dengan yang mengalami kombinasi perlakuan K1 hingga K5.

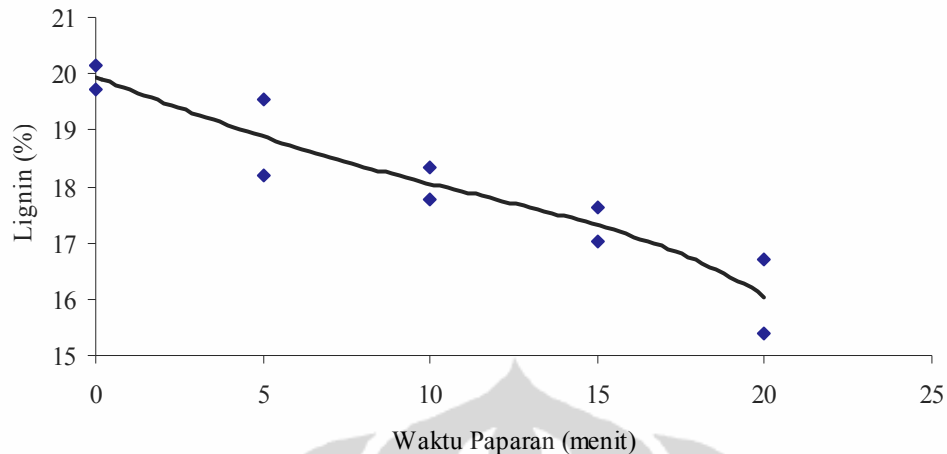
Tabel 4.4 Data selisih gula pada substrat K1-K5

Variasi	Ulangan	Selisih gula (mmol)	Total etanol stoikiometris (mmol)	Total etanol hasil penelitian (mmol)
K1		3.5	7	9.08
K2		3	6	8.84
K3	1	3	6	8.97
	2	4.25	8.5	7.76
	3	4.25	8.5	9.66
K4		2.75	5.5	6.06
K5	1	5.25	10.5	10.97
	2	5.75	11.5	10.25
	3	3.75	7.5	9.80

Data yang tertera pada tabel di atas menunjukkan bahwa hanya K3 dan K5 yang sesuai dengan hasil perhitungan stoikiometris. Sementara K1, K2, dan K4, jumlah etanol yang terukur lebih tinggi dari jumlah etanol hasil perhitungan. Ketidaksesuaian tersebut mungkin disebabkan oleh kesalahan dalam proses analisa atau dalam pengukuran jumlah etanol yang ada di dalam substrat cair bambu.

4.4 Pengaruh paparan gelombang mikro terhadap kadar lignin bambu

Penentuan kadar lignin serat bambu setelah diberi perlakuan paparan gelombang mikro menggunakan metode Klason Lignin dilakukan untuk memperkuat bukti bahwa radiasi GM mampu merusak struktur lignoselulosa. Hasil yang diperoleh membuktikan hal tersebut, bahwa setelah diberi perlakuan persentase massa lignin berkurang hingga 5%. Gambar 4.7 berikut memperlihatkan hubungan antara waktu perlakuan GM dengan kadar lignin yang masih tersisa di bambu.



Gambar 4.11 Persentase lignin substrat bambu setelah diberi paparan gelombang mikro 300 watt dengan variasi waktu

Gambar di atas menunjukkan bahwa semakin lama waktu paparan gelombang mikro maka semakin besar jumlah lignin yang terpolimerisasi. Ini secara tidak langsung menjelaskan bahwa semakin lama waktu paparan maka semakin besar energi gelombang mikro yang diserap oleh air yang terkandung di dalam serat bambu sehingga ikatan yang terputus atau rusak semakin banyak.

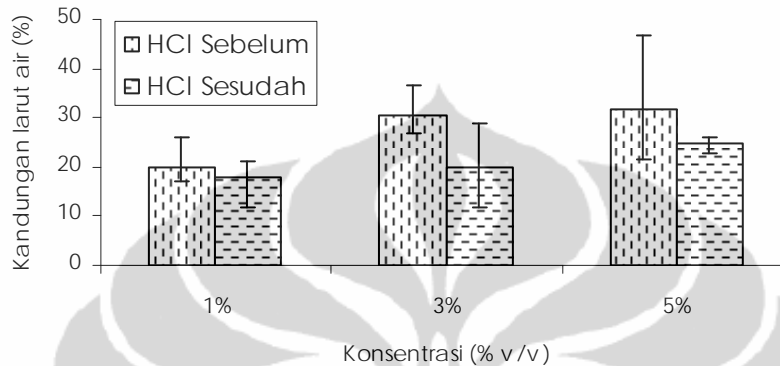
4.5 Pengaruh asam dan basa

Perlakuan dengan asam adalah teknologi yang sudah terbukti dapat menghidrolisis lignoselulosa agar lebih mudah diakses oleh enzim. Metode ini juga telah digunakan pada produksi bioetanol skala pabrik (Nguyen, 2003). Pengkombinasian perlakuan paparan gelombang mikro dengan asam/basa dimaksudkan untuk melihat pengaruhnya terhadap kehilangan berat bambu. Kombinasi ini diyakini akan meningkatkan persentase kehilangan berat bambu.

Kombinasi perlakuan paparan gelombang mikro dan asam/basa dibagi menjadi dua jenis. Yang pertama adalah meletakkan perlakuan asam/basa di depan sebelum perlakuan paparan gelombang mikro. Yang kedua adalah kebalikan dari yang pertama. Pembagian ini dimaksudkan untuk mengobservasi perlakuan mana yang memiliki pengaruh yang lebih besar pada kehilangan berat bambu.

Asam meningkatkan suseptibilitas selulosa pada hidrolisis enzim karena sifatnya yang dapat merusak struktur lignin. Pada temperatur, tekanan dan konsentrasi tertentu, asam juga dapat menghidrolisis seluruh hemiselulosa yang membungkus selulosa

menjadi monomer penyusunnya (Taherzadeh dan Karimi, 2008). Kombinasi perlakuan asam dengan perlakuan GM pada energi dan waktu paparan tertentu meningkatkan persentase kehilangan berat bambu seperti terlihat pada Gambar 4.8. Semakin tinggi konsentrasi asam yang digunakan maka semakin tinggi pula persentase kehilangan berat yang terukur.



Gambar 4.12 Kandungan larut air pada bambu basah dengan kombinasi perlakuan asam dan perlakuan GM 300 watt selama 10 menit

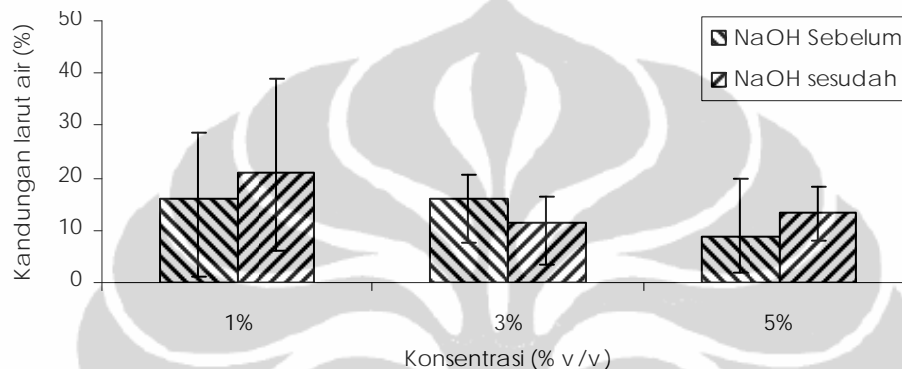
Perbedaan antara kedua grafik di atas adalah, grafik pertama menampilkan persentase kehilangan berat pada bambu yang telah diberi perlakuan asam sebelum perlakuan GM. Sedangkan grafik yang kedua adalah kebalikannya. Perlakuan HCl sebelum paparan gelombang mikro memberikan kehilangan berat yang lebih besar, sekitar 7%, dibanding jika dilakukan dengan arah sebaliknya.

Analisa terbaik untuk menjelaskan ini adalah dengan mengaitkan properti HCl sebagai senyawa polar. Setelah bambu direndam di dalam larutan HCl selama waktu tertentu dan kemudian diberi perlakuan GM, substrat padatan masih mengandung sisa-sisa HCl dan juga molekul-molekul air yang masih terikat pada struktur. Pada saat substrat dipapar dengan radiasi GM, molekul-molekul HCl dan air mengalami fenomena *dipolar polarisation* secara bersamaan. Akibatnya densitas molekul yang mengalami rotasi lebih rapat sehingga panas yang terdisipasi menjadi lebih besar.

Jumlah energi yang lebih besar akan semakin memperkuat terjadinya reaksi pemutusan ikatan kimia pada lignoselulosa. Hasil ini menunjukkan bahwa perlakuan dengan HCl memperkuat pengaruh paparan gelombang mikro terhadap struktur bambu. Terbukti dari data kehilangan berat pada eksperimen perlakuan HCl 5% sebelum

perlakuan paparan gelombang mikro, yaitu 31%, sedangkan kehilangan berat pada eksperimen dengan perlakuan GM saja hanya sebesar 18%.

Pengaruh basa terhadap kehilangan berat juga diobservasi karena menurut hasil penelitian yang dilakukan oleh Zhu et al. (2006), kombinasi gelombang mikro dengan basa dapat meningkatkan yield xylosa dari hidrolisis enzim. Sama halnya dengan pengaruh asam, eksperimen perlakuan basa juga dilakukan sebelum dan sesudah perlakuan GM. Hasilnya dapat dilihat melalui Gambar 4.10 dan 4.11 berikut.

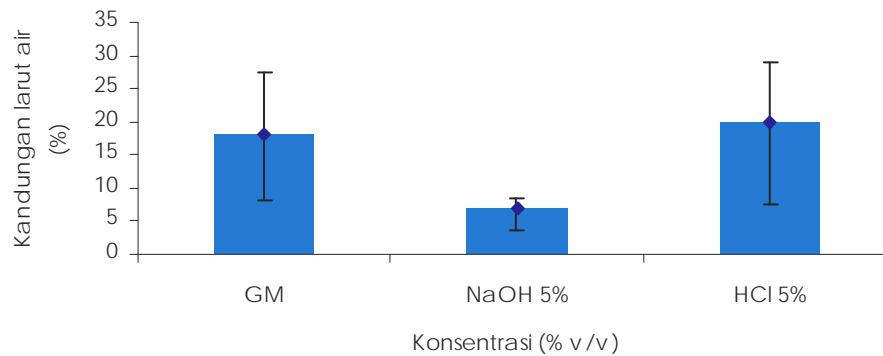


Gambar 4.13 Kandungan larut air pada bambu basah dengan kombinasi perlakuan basa dan perlakuan GM 300 watt selama 10 menit

Fenomena menarik lain yang ditemukan dari rangkaian penelitian ini adalah, peningkatan konsentrasi NaOH ternyata tidak meningkatkan persentase kehilangan berat bambu. Semakin besar konsentrasi NaOH, kehilangan berat bambu pada perlakuan NaOH sebelum perlakuan GM atau sebaliknya justru semakin kecil.

Perlakuan GM tidak memberikan pengaruh yang signifikan pada proses perlakuan dengan HCl jika dibandingkan dengan pengaruh perlakuan HCl pada perlakuan GM. Hal ini didukung oleh data hasil eksperimen bahwa pada substrat bambu yang hanya diberikan perlakuan HCl saja (konsentrasi 5%) kehilangan berat rata-rata bambu adalah sebesar 20%. Sedangkan substrat bambu yang diberikan perlakuan HCl 5% setelah perlakuan GM mengalami kehilangan berat rata-rata hanya sebesar 25%.

Meskipun demikian, perlakuan GM dengan daya 300 watt selama 10 menit pada substrat bambu memberikan hasil yang lebih kurang sama dengan perlakuan HCl 5%. Perbandingan antara pengaruh perlakuan GM dan perlakuan asam/basa terhadap kandungan larut air bambu dapat dilihat melalui Gambar di bawah ini.



Gambar 4.13 Kandungan larut air pada bambu basah dengan kombinasi perlakuan basa dan perlakuan GM 300 watt selama 10 menit

Gambar 4.13 di atas menunjukkan bahwa perlakuan GM 300 watt menghasilkan kandungan larut air yang setara dengan yang diperoleh dari hidrolisis HCl 5%. Dengan demikian, perlakuan GM dapat digunakan untuk menggantikan hidrolisis oleh asam. Namun demikian, perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui lebih dalam lagi mengenai kesetaraan pengaruh perlakuan GM dengan hidrolisis asam.

Hipotesis itu mungkin benar mengingat *S. cerevisiae* adalah mikroorganisme fakultatif anaerob yang dapat mengubah reaksi metabolismenya dari respirasi menjadi fermentasi dan sebaliknya. Sesuai dengan literatur yang telah dijabarkan pada Bab II, pada lingkungan yang kaya akan glukosa atau sumber karbon ragi melakukan fermentasi untuk menghemat energi. Pada saat ini, ragi berlaku sebagai mikroorganisme anaerob. Reaksi fermentasi ini menghasilkan etanol sebagai produk samping. Namun jika suatu saat sumber karbon telah menipis, metabolisme *S. cerevisiae* tidak menghasilkan etanol. Ragi ini justru mengutilisasi etanol untuk mendapatkan energi dan menghasilkan CO₂ dan H₂O sebagai produk reaksi. Reaksi ini terutama terjadi jika oksigen berada dalam jumlah berlebih (Otterstedt, 2004).

