

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

Bab ini mengulas secara singkat dan jelas mengenai teori yang diperlukan dalam menentukan tahapan prosedur yang tepat dan sebagai acuan analisa akan hasil yang diperoleh.

#### 2.1 Bambu

Indonesia adalah salah satu negara terkaya dalam hal keanekaragaman hayati. Kondisi iklim tropis berperan besar dalam menentukan spesies-spesies tumbuhan apa saja yang dapat hidup di hutan Indonesia. Salah satu tumbuhan yang tumbuh baik dalam kondisi iklim Indonesia adalah bambu. Keberadaan bambu di Indonesia membentang dari rawa-rawa hingga ke dataran tinggi 2500 m di atas permukaan laut. 135 spesies dari total 1250 spesies bambu dunia berada di Indonesia (Widjaja, 1995). Tambahkan mengapa memilih bambu, sesuai dengan yang disebut bu elisabeth widjaja.

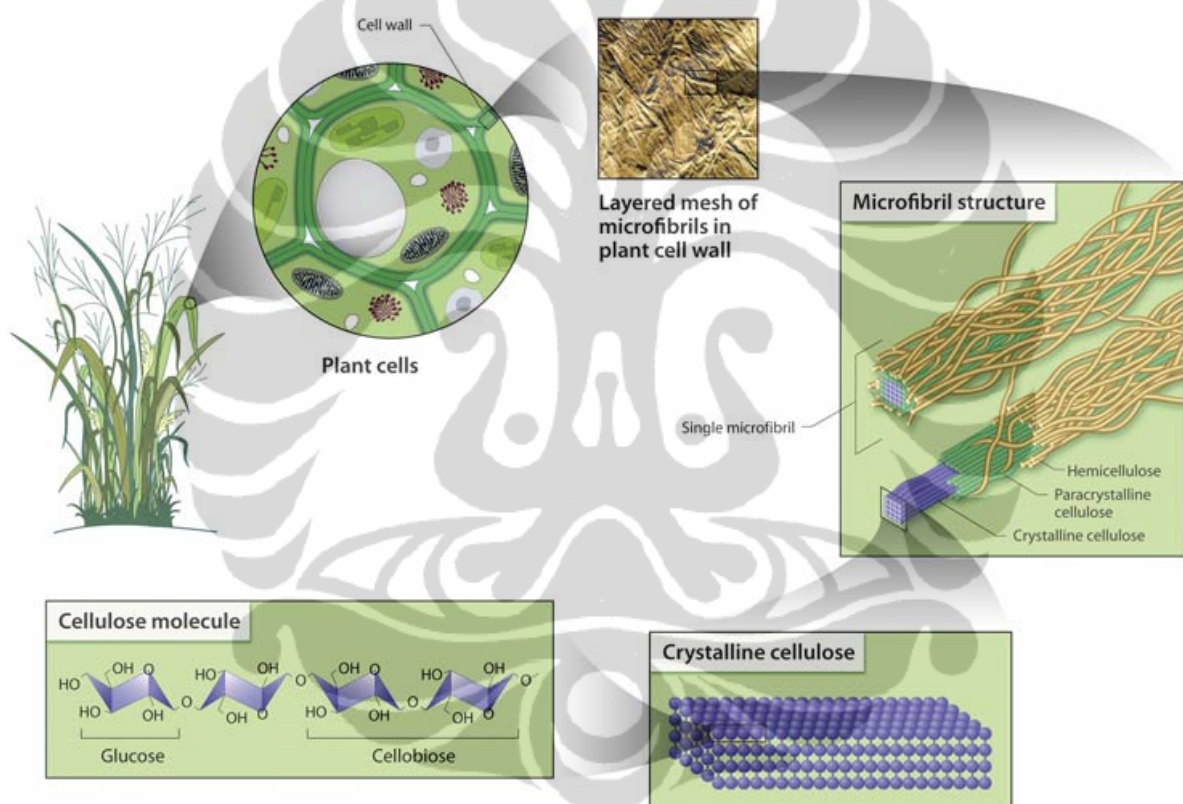
Bambu telah melekat erat dalam kebudayaan Indonesia. Tumbuhan ini bahkan memiliki peran besar saat perang kemerdekaan Republik Indonesia. Rakit, kursi, struktur penguat bangunan adalah sebagian contoh dari kegunaan bambu bagi masyarakat Indonesia. Bahan bakar adalah potensi lain dari bambu yang saat ini sedang dikembangkan.

Bambu adalah tanaman jenis rumput sejati yang kokoh dan berada di bawah kelompok angiospermae dengan subfamili *Bambusoideae*. Bambu memiliki tingkat pertumbuhan yang sangat tinggi. Dalam satu hari, bambu dapat tumbuh hingga 15-18 cm dan mencapai ketinggian maksimum hanya dalam waktu 4-6 bulan (Ahmad, 2000).

Bambu terbagi menjadi dua bagian yaitu rizoma dan culm. Rizoma adalah bagian bawah batang yang berada di dalam tanah dan umumnya menjalar. Culm adalah bagian batang yang berada di atas tanah dan merupakan bagian yang dianggap sebagai bambu yang sebenarnya. Komposisi kimia utama yang menyusun culm yaitu holocellulose (60-70%), pentosan (20-25%), hemiselulosa dan lignin (kira-kira 20-30%) dan senyawa-senyawa minor seperti resin, tannin, wax and garam-garam inorganik (Ahmad, 2000).

### 2.1.1 Selulosa

Selulosa atau  $\beta$ -1-4-glucan adalah polisakarida linear dan merupakan polimer dari glukosa. Gabungan dua molekul glukosa di dalam rantai selulosa dinamakan cellobiose. Rantai-rantai selulosa diikat oleh ikatan hidrogen dan membentuk serat atau disebut juga *microfibril*. Serat-serat ini terikat satu sama lain oleh hemiselulosa, polimer amorf dari gula yang berbeda dan diselimuti oleh lignin. *Microfibril* umumnya saling terikat membentuk *macrofibril*. Struktur yang spesial dan rumit ini membuat selulosa kebal terhadap perlakuan biologi dan kimia.



Gambar 2.1. Struktur selulosa (<http://genomicsgsl.energy.gov>)

Struktur kekompakan *microfibril* selulosa ada yang berada pada daerah kristalinitas dan ada yang berada pada daerah amorf. Kristalinitas mengacu pada tingkat keteraturan struktur suatu padatan atau kristal. Dalam hal ini atom-atom dan molekul-molekul dalam padatan tersusun dalam pola yang teratur dan berkala. Sedangkan amorf mengacu pada padatan yang antar atom atau molekul penyusunnya terdapat jarak sehingga mengurangi kekompakan struktur ikatan tersebut (www.wikipedia.org, 2008).

Sekitar 2/3 bagian selulosa merupakan padatan jenis kristal yang kompak (Taherzadeh dan Karimi, 2008). Susunan *microfibril* yang rapat antara satu sama lain membuat selulosa menjadi tidak mudah dijangkau oleh enzim pada proses hidrolisis enzimatis. Dengan demikian, penurunan tingkat kristalinitas selulosa diharapkan dapat meningkatkan aksesibilitasnya dalam hidrolisis enzimatis. Namun demikian, berbagai hasil penelitian dari peneliti terdahulu menyatakan bahwa kristalinitas selulosa bukanlah satu-satunya faktor yang mempengaruhi efektivitas hidrolisis enzimatis. Taherzadeh dan Karimi dalam jurnalnya mengenai review perlakuan awal pada bahan lignoselulosa menuliskan bahwa peningkatan kristalinitas selulosa tidak secara negatif mempengaruhi yield hidrolisis enzimatis (Taherzadeh dan Karimi, 2008). Mereka menyimpulkan bahwa kristalinitas selulosa adalah faktor penting yang mempengaruhi tingkat digestibility selulosa namun bukanlah satu-satunya faktor mengingat keragaman struktur dan karakter alami selulosa di alam dan kontribusi komponen lain seperti lignin dan hemiselulosa.

Faktor lain yang mempengaruhi kemudahan enzim dalam menjangkau struktur selulosa adalah luas permukaan. Bahan lignoselulosa memiliki dua daerah permukaan, eksternal dan internal. Permukaan eksternal berkaitan dengan ukuran dan bentuk dari fiber sedangkan permukaan internal berkaitan dengan struktur kapiler selulosa.

Selulosa adalah senyawa yang jumlahnya sangat berlimpah karena sebagian besar makhluk hidup di bumi tersusun atas senyawa ini. Selulosa adalah komponen dasar penyusun struktur dinding sel tumbuhan. Tabel 2.1 berikut menunjukkan komposisi selulosa pada berbagai jenis tumbuh-tumbuhan.

**Tabel 2.1. Perbandingan persentase selulosa pada berbagai jenis tumbuhan**

<b>Jenis tumbuhan</b>	<b>Persentase Selulosa</b>
Kapas	95-99
Ramie	80-90
Bambu	40-50
Kayu	40-50
Kulit kayu	20-30
Lumut	25-30
Ekor kuda	25-20
Bakteri	20-30

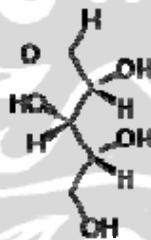
*Sumber: Fengel et al., 1995*

Dari tabel tersebut dapat dilihat bahwa bambu memiliki kandungan selulosa yang cukup tinggi sehingga layak untuk dikonversi menjadi bioetanol.

### 2.1.2 Hemiselulosa

Hemiselulosa adalah polisakarida yang berada bersama-sama dengan selulosa di dinding sel primer dan sekunder pada semua tanaman tingkat tinggi yang berfungsi sebagai cadangan makanan. Struktur dan monomer penyusun hemiselulosa berbeda-beda untuk setiap jenis tumbuhan. Hemiselulosa berbeda dari selulosa karena komposisi senyawa ini tersusun dari berbagai unit gula dan rantai molekulnya lebih pendek serta bercabang.

Unit gula yang membentuk hemiselulosa dapat dibagi menjadi kelompok seperti pentosa (5 karbon), heksosa (6 karbon), asam heksuronat dan deoksi-heksosa. Heksosa terdiri dari D-galaktosa, D-glukosa, dan D-manosa. Sedangkan pentosa terdiri dari D-xylosa dan L-arabinosa. Diantara semua senyawa penyusun tersebut, D-xylosa adalah monosakarida yang paling banyak terdapat di hemiselulosa seperti terlihat pada Gambar 2.2 berikut.



Gambar 2.2. Struktur D-xylosa (<http://upload.wikimedia.org>, 2008)

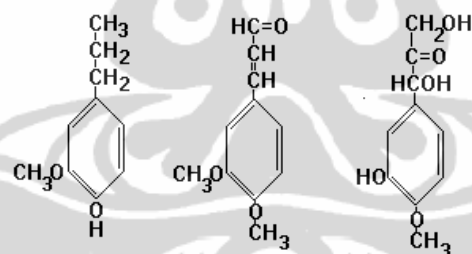
Struktur rantai yang bercabang pada hemiselulosa menyebabkan senyawa ini memiliki struktur yang tidak beraturan (random) dan amorf (Ibrahim, 1998). Struktur hemiselulosa yang demikian menyebabkan senyawa ini relatif lebih rentan terhadap serangan asam dan basa dibanding selulosa. Hidrolisis hemiselulosa relatif jauh lebih mudah dan cepat. Jika hidrolisis selulosa membutuhkan waktu berjam-jam, pada kondisi yang sama hidrolisis hemiselulosa dapat berlangsung hanya dalam beberapa menit saja (Taherzadeh dan Karimi, 2008).

Meskipun hidrolisis hemiselulosa lebih mudah dibanding selulosa, monosakarida yang diperoleh yaitu xylosa tidak dapat difermentasi dengan mudah oleh ragi. Para peneliti telah menemukan dua cara untuk mengatasi masalah ini yaitu dengan menggunakan bakteri penghasil enzim pemecah ikatan hemiselulosa atau dengan memilih ragi yang secara genetik menghasilkan bakteri yang dapat langsung memfermentasi xylosa (National Renewable Energy Laboratory, 1993).

### 2.1.3 Lignin

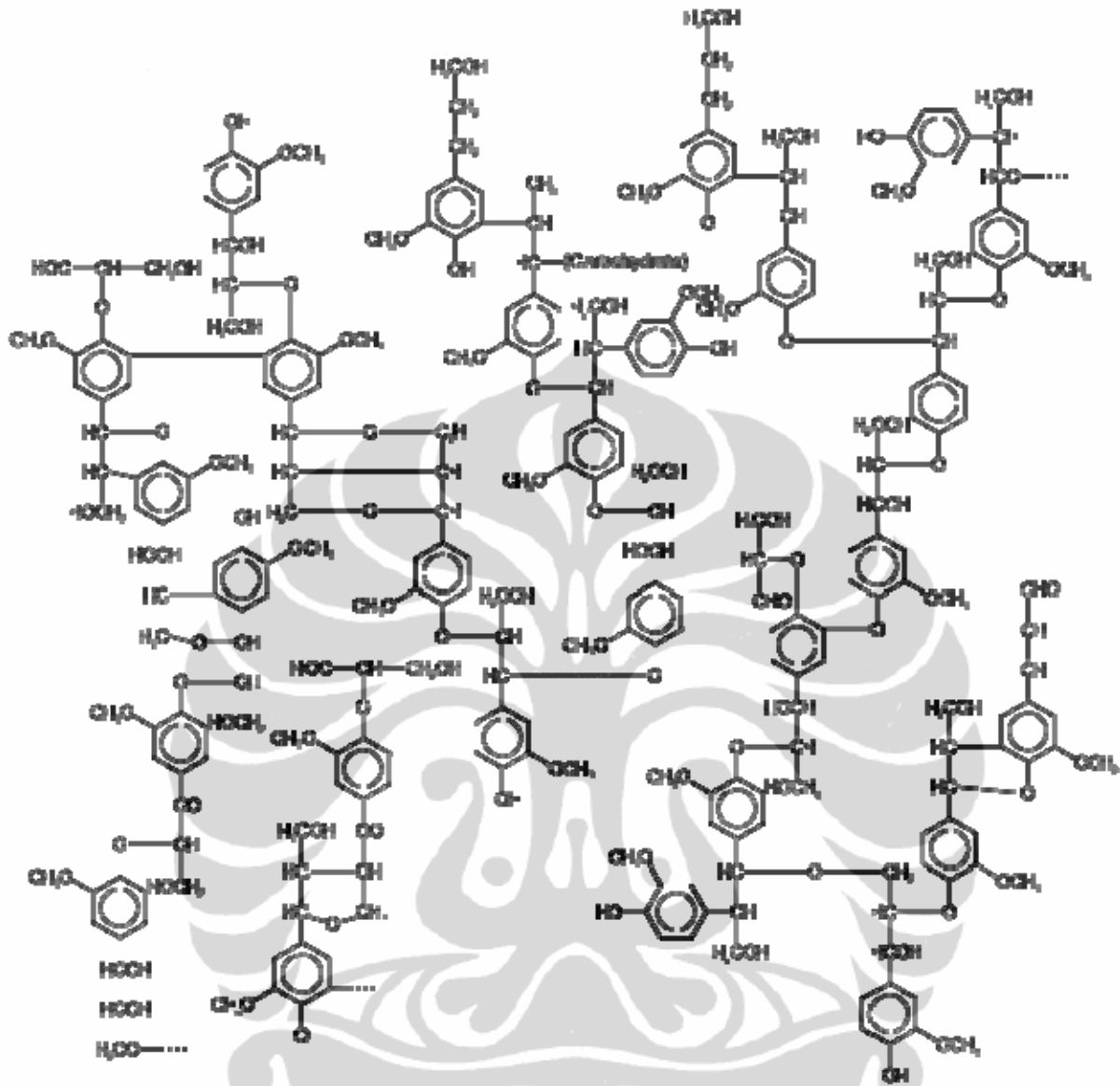
Setelah selulosa, lignin merupakan zat organik polimer yang banyak dan penting dalam dunia tumbuhan. Selulosa dan hemiselulosa direkatkan oleh lignin. Senyawa ini bertanggung jawab atas integritas dan kekakuan struktur serta mencegah terjadinya pengembangan struktur lignoselulosa. Lignin adalah dinding keras yang pertama kali menghadang proses hidrolisis enzimatik. Jumlah lignin yang terdapat dalam tumbuhan yang berbeda sangat bervariasi. Struktur monomer-monomer yang menyusunnya pun berbeda-beda bergantung dari mana sumber lignin tersebut.

Beberapa monomer yang merupakan penyusun lignin ditunjukkan pada gambar berikut Gambar 2.3 berikut.



Gambar 2.3. Beberapa struktur monomer penyusun lignin

Struktur lengkap lignin sebagai gabungan dari beberapa monomer dilukiskan melalui Gambar 2.4 berikut.



Gambar 2.4. Struktur lignin pada kayu lunak. Bagian yang diberi anak panah adalah struktur dan gugus fungsi yang paling sering ditemukan di lignin (<http://upload.wikimedia.org>, 2008)

Pada perlakuan paparan gelombang mikro terhadap bambu, kandungan air dalam biomassa ini adalah faktor yang berperan penting dalam menentukan nilai parameter yang diobservasi yaitu kehilangan berat. Kandungan air dalam bambu dapat dibagi dua yaitu air bebas (*free water*) dan air terikat (*bound water*). Penghilangan air bebas dari bambu relatif mudah dibanding air terikat. Sifat bambu yang cenderung mengikat uap air pada lingkungan dengan tingkat kelembaban yang tinggi menyebabkan kekeringan pada bahan organik ini relatif sukar untuk dijaga. Pada kondisi lingkungan yang sangat lembab, bambu kering (kadar air 0%) dapat mengikat uap air hingga maksimal sebesar

20% berat keringnya (Navaching, 2008). Konsekuensinya, kandungan air terikat bambu yang digunakan pada penelitian ini mungkin saja tidak seragam.

Air adalah salah satu bahan dielektrik yang dapat menyerap energi gelombang mikro dan mendisipasikannya dalam bentuk panas. Energi yang dapat diserap suatu bahan dari suatu medan elektromagnet bergantung pada permitivitas relatif atau konstanta dielektrik bahan tersebut. Permitivitas relatif adalah perbandingan antara kemampuan suatu bahan menyerap energi elektromagnet terhadap kemampuan lingkungan vakum. Semakin tinggi nilai permitivitas bahan, semakin besar pula energi yang dapat diserap bahan tersebut. Permitivitas terbagi menjadi dua bagian, riil dan imajiner. Bagian permitivitas yang riil, dilambangkan dengan  $\epsilon'$ , menggambarkan hubungan antara laju transmisi sinyal medan elektromagnet dengan energi yang dapat disimpan oleh bahan dielektrik. Sedangkan bagian permitivitas yang imajiner, dilambangkan dengan  $\epsilon''$ , menggambarkan energi medan elektromagnet yang hilang saat melewati bahan dielektrik (Neves, 1996).

#### 2.1.4 Etanol

Etanol adalah senyawa yang pada suhu kamar berbentuk cairan bening dan berbau khas. Dalam keadaan encer, etanol memiliki bau yang manis sedangkan dalam bentuk larutan pekat, senyawa ini memiliki bau seperti terbakar. Etanol adalah senyawa kimia yang memiliki grup hidroksil  $-OH$  yang berikatan dengan atom karbon. Tabel berikut menampilkan properti fisik maupun kimia dari etanol.

**Tabel 2.2. Properti fisik etanol**

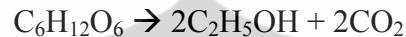
Properti	Nilai
Rumus molekul	$C_2H_6O$
Densitas	0,789 gr/cm <sup>3</sup>
Titik didih	78,4 °C
Kelarutan dalam air	Sangat larut
Flash point	13 °C

*Sumber: www.wikipedia.org*

Etanol untuk kebutuhan industri lebih sering diproduksi secara sintesis menggunakan bahan baku petrokimia. Proses yang terjadi umumnya adalah hidrasi etilen menggunakan katalis asam dengan reaksi kimia sebagai berikut (wikipedia.org, 2005):



Etanol secara alami dapat dihasilkan dari proses fermentasi glukosa oleh ragi, contohnya spesies *Saccharomyces cerevisiae*, menurut persamaan reaksi yang disederhanakan sebagai berikut.



Secara teori dari reaksi fermentasi di atas, 100 gram glukosa akan menghasilkan 51,4 gram etanol dan 48,6 gram karbon dioksida dari reaksi fermentasi (Badger, 2002). Bagaimanapun, pada kenyataannya mikroorganisme fermentasi menggunakan sebagian glukosa untuk pertumbuhan sehingga yield yang sebenarnya kurang dari 100% (Demirbas, 2005). Konsentrasi etanol yang dihasilkan dari reaksi fermentasi biasanya berkisar pada 16%. Etanol yang dihasilkan dapat dipisahkan dengan metode separasi tertentu dan menghasilkan etanol 96% dan 4% sisanya adalah air. Proses separasi adalah bagian yang relatif paling sulit dalam produksi bahan bakar etanol.

Etanol-air adalah campuran azeotropik pada komposisi 96% etanol dan 4% air. Artinya, komposisi tersebut adalah komposisi maksimum yang bisa dicapai pada proses distilasi campuran ini. Komposisi tersebut belum memenuhi kriteria komposisi etanol yang akan digunakan sebagai bahan bakar murni yaitu 99,5% etanol dan 0,5% air.

Sejarah pemanfaatan etanol sebagai bahan bakar kendaraan bermotor sama panjangnya dengan sejarah penemuan mobil. Bermula dari penggunaan etanol pada *internal combustion engine* yang ditemukan oleh Nikolas Otto pada tahun 1897. Namun karena bahan bakar ini ditemukan pada saat dunia sedang berada dalam demam “emas hitam”, etanol menjadi tenggelam begitu saja hingga akhirnya terjadi krisis minyak bumi pada tahun 1970. Etanol baru dipertimbangkan sebagai salah satu alternatif bahan bakar pada tahun 1980 setelah krisis minyak bumi yang kedua (Demirbas, 2005).

Kinerja etanol sebagai bahan bakar kendaraan bermotor relatif bagus, baik dalam bentuk murni maupun sebagai campuran dengan bensin. Etanol dapat digunakan langsung sebagai bahan bakar ataupun dicampur dengan komposisi tertentu dalam



bensin. Sebagai bahan bakar, etanol memiliki beberapa kelebihan antara lain yaitu (journeytoforever.org, 2008):

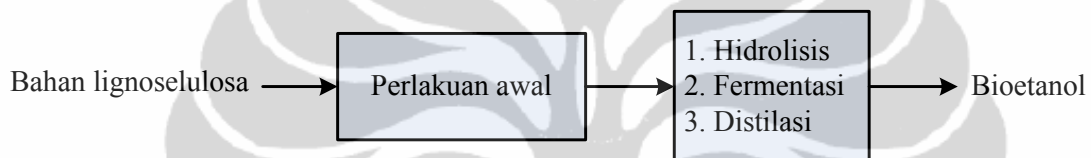
- a. Memiliki nilai oktan yang relatif tinggi dan dapat menggantikan posisi aditif yang berbahaya bagi lingkungan
- b. Campuran bensin dan etanol dapat digunakan pada semua mesin kendaraan berbahan bakar bensin tanpa modifikasi
- c. Ramah lingkungan karena dapat terurai secara alami
- d. Kandungan oksigen pada etanol yang relatif tinggi dapat mengurangi level karbon monoksida lebih tinggi 25-30% dari senyawa oksigenat lainnya
- e. *Blending* etanol ke dalam bensin secara dramatis mengurangi emisi hidrokarbon, SO<sub>x</sub> dan NO<sub>x</sub>

Berkaitan dengan neraca energi antara produksi bioetanol dengan energi yang dihasilkannya, beredar berbagai pendapat yang berbeda-beda. Sebagian pendapat menyatakan bahwa bioetanol adalah sumber energi dengan net energi positif. Artinya, etanol menghasilkan energi lebih besar dibanding energi yang dibutuhkan untuk menghasilkannya. Sebagai contoh, untuk menghasilkan sejumlah etanol dari jagung, dibutuhkan energi sebesar 35.000 BTU sedangkan energi yang dapat diperoleh dari etanol tersebut adalah 77.000 BTU. Etanol menghasilkan energi bersih sekitar 77% (American Coalition of Ethanol, 2005).

Sebagian pendapat lain menyatakan kontra terhadap harapan-harapan yang muncul dalam pengembangan bahan bakar etanol. Etanol bukanlah solusi praktis untuk mengatasi masalah krisis energi fosil yang tengah melanda dunia meskipun diproduksi dari bahan non-pangan. Bahan bakar terbarukan memang merupakan alternatif solusi yang patut dipertimbangkan mengingat peranannya dalam mereduksi emisi hidrokarbon yang berbahaya bagi lingkungan. Namun bahan bakar ini bukanlah “penyelamat” bagi krisis energi fosil dan pemanfaatan besar-besaran etanol sebagai bahan bakar kendaraan bermotor akan memberikan umpan balik yang mengancam terutama jika dalam produksinya digunakan bahan-bahan pangan sebagai bahan baku.

## 2.2 Perlakuan awal

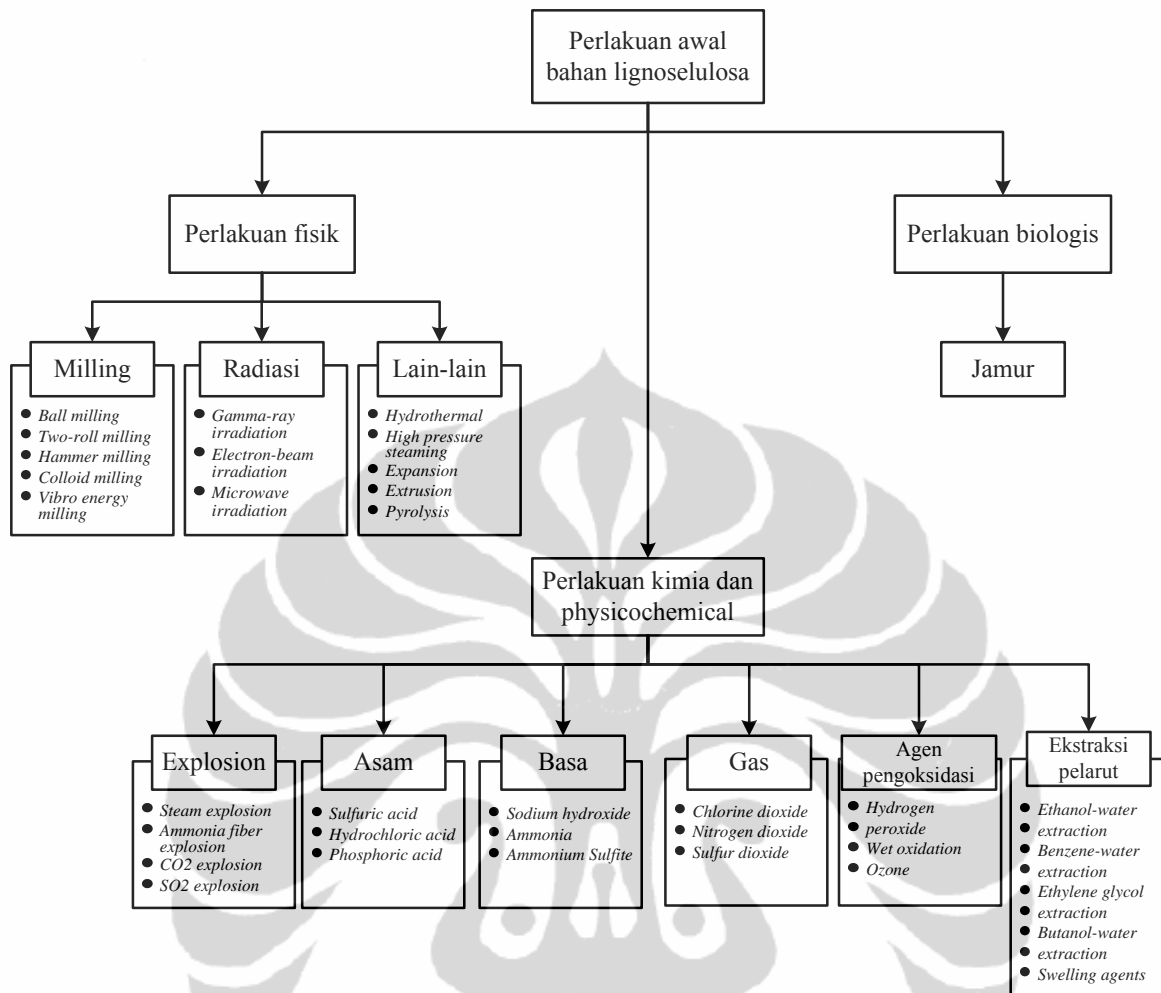
Produksi bioetanol secara garis besar terdiri dari 4 tahap seperti terlihat pada gambar 5. Penelitian tentang produksi bioetanol dari bahan baku lignoselulosa telah mengalami banyak perkembangan teknologi. Lignoselulosa adalah bahan yang tersusun atas struktur serat kompleks selulosa dan hemiselulosa yang tertanam di dalam matriks polimer aromatik yaitu lignin (Maas et. al, 2007). Struktur yang kompleks tersebut membuat lignoselulosa bukanlah bahan yang dapat difermentasikan dengan langsung oleh ragi. Struktur yang berbeda dengan tingkat kekompleksan yang juga berbeda antara satu tumbuhan dengan yang lainnya merupakan salah satu faktor pertimbangan dalam memilih perlakuan awal.



**Gambar 2.5. Skema produksi bioetanol secara umum**

Perlakuan awal yang diberikan pada biomassa bergantung pada tipe, komposisi, dan teknologi proses yang kemudian akan diaplikasikan. Pada proses produksi bioetanol yang melibatkan hidrolisis enzim, perlakuan awal sangat dibutuhkan. Menurut Taherzadeh dan Karimi, perlakuan awal yang efektif dan ekonomis pada proses yang menggunakan hidrolisis enzim harus memenuhi syarat-syarat berikut: (1) menghasilkan struktur serat selulosa yang reaktif untuk enzim, (2) tidak merusak hemiselulosa dan selulosa, (3) tidak membentuk inhibitor yang dapat menghambat hidrolisis enzimatis dan fermentasi, (4) kebutuhan energi minim, (5) mengurangi biaya size reducing bahan baku, (6) menghasilkan sedikit residu, dan (7) mengkonsumsi sedikit bahan kimia atau tidak sama sekali (Taherzadeh dan Karimi, 2008).

Gambar 2.6 berikut ini merupakan ilustrasi sederhana tentang berbagai perlakuan awal yang telah diteliti dan diaplikasikan dalam proses produksi bioetanol terutama dari bahan lignoselulosa yang diringkas dari jurnal *review* Taherzadeh dan Karimi (Taherzadeh dan Karimi, 2008).



**Gambar 2.6. Perlakuan awal bahan lignoselulosa pada produksi bioetanol**

Di antara semua perlakuan kimia dan physicochemical, steaming dengan atau tanpa explosion adalah perlakuan yang paling mendapatkan perhatian. Proses ini dapat menghilangkan hampir seluruh hemiselulosa sehingga meningkatkan produktivitas hidrolisis enzim. Pada steam explosion, tekanan dalam tangki diturunkan secara tiba-tiba menyebabkan sel-sel dalam bahan lignoselulosa meledak. Proses ini menggunakan steam dengan tekanan dan temperatur tinggi, sekitar 160-260 °C dan berlangsung selama beberapa detik (misalnya 30 detik) hingga beberapa menit (misalnya 20 menit). Sejarah penelitian tentang proses steam explosion telah terdokumentasi dengan baik dan telah diuji coba pada skala pilot.

Perlakuan dengan basa bertujuan untuk melarutkan lignin dan sebagian hemiselulosa dengan merendam bahan lignoselulosa dalam larutan basa seperti NaOH dan  $\text{Ca(OH)}_2$ . Proses ini dapat berlangsung pada temperatur rendah namun pada waktu yang relatif lama dan konsentrasi basa yang tinggi. Perlakuan ini memberikan peningkatan tajam pada hasil hidrolisis enzim. Perlakuan dengan basa lebih efektif digunakan untuk limbah pertanian dibandingkan untuk bahan-bahan kayu. Dibanding perlakuan dengan asam dan agen oksidator, perlakuan dengan basa adalah metode yang paling efektif untuk merusak ikatan ester antara lignin, hemiselulosa, dan selulosa serta mencegah terjadinya fermentasi hemiselulosa.

Perlakuan bahan lignoselulosa dengan asam pada temperatur tinggi dapat meningkatkan produktivitas hidrolisis enzim dengan efisien. Asam sulfat adalah asam yang paling sering digunakan diikuti oleh HCl dan asam nitrat. Perlakuan dengan asam dapat berlangsung pada temperatur tinggi dan konsentrasi rendah (*dilute-acid pretreatment*) atau pada temperatur rendah dan konsentrasi tinggi (*concentrated-acid pretreatment*). Namun penggunaan asam pada konsentrasi tinggi memberikan dampak negatif baik bagi lingkungan maupun dari segi ekonomis. Konsentrasi asam yang tinggi menyebabkan proses bersifat korosif sehingga membutuhkan peralatan yang tahan terhadap korosivitas asam. Selain itu, proses recovery asam, yang dibutuhkan karena alasan ekonomis, adalah proses yang membutuhkan energi relatif besar. Investasi dan biaya pemeliharaan yang tinggi membuat *concentrated-acid pretreatment* tidak dilirik sebagai perlakuan awal yang digunakan untuk skala industri.

*Dilute-acid pretreatment* adalah perlakuan kimia yang paling sering digunakan. Metode ini dapat digunakan baik sebagai perlakuan awal bahan lignoselulosa sebelum hidrolisis enzim ataupun sebagai proses hidrolisis untuk mendapatkan gula yang dapat difermentasi. Proses ini dapat menghilangkan hampir 100% hemiselulosa. Perlakuan dengan asam encer tidak efektif untuk menghilangkan lignin namun proses ini dapat merusak jaringan lignin dan meningkatkan *susceptibility* selulosa dalam hidrolisis enzim. Perlakuan ini dapat berlangsung dalam waktu singkat (misalnya 5 menit) pada temperatur tinggi (misalnya 180 °C), dan dalam waktu yang relatif lebih lama (misalnya 30-90 menit) pada temperatur yang lebih rendah (misalnya 120 °C). Kondisi terbaik untuk menghilangkan seluruh hemiselulosa dicapai pada temperatur 210 °C selama 2 menit

sementara perlakuan pada temperatur 200 °C cukup untuk menghasilkan konversi 90% selulosa pada hidrolisis enzim (Emmel et al., 2003).

Perlakuan pada bahan lignoselulosa, seperti bambu, menggunakan gelombang mikro sebagai perlakuan awal diyakini mampu meningkatkan yield glukosa hasil hidrolisis enzim. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa radiasi gelombang mikro pada bahan lignoselulosa membuat bahan tersebut lebih mudah dicerna oleh enzim pada proses hidrolisis enzimatik (Dela Rosa, 1983). Zhu et al. dalam penelitiannya tentang perlakuan awal dengan gelombang mikro/alkali pada jerami menyebutkan bahwa perlakuan pada energi yang lebih tinggi pada waktu yang singkat memiliki efek yang hampir sama dengan perlakuan menggunakan energi yang lebih kecil pada waktu yang lama.

Kombinasi gelombang mikro dan alkali menghasilkan kehilangan berat jerami yang lebih besar dibanding perlakuan dengan alkali saja. Pada perlakuan gelombang mikro/alkali di 700 watt selama 30 menit, kehilangan berat jerami adalah sebesar 44,6% dengan komposisi selulosa 69,2%, hemiselulosa 10,2%, dan lignin 4,9%. Sedangkan pada perlakuan dengan alkali saja, kehilangan berat jerami adalah sebesar 41,5% dengan komposisi selulosa 65,4%, hemiselulosa 14,3%, dan lignin 6,0%. Penelitian serupa juga dilakukan oleh Keshwani et al. yang mengkombinasikan perlakuan gelombang mikro pada switchgrass dengan energi 250 watt selama 10 menit dengan perendaman dalam larutan NaOH 3% (w/v). Kombinasi tersebut terbukti memberikan hasil hidrolisis enzim yang lebih tinggi dibanding perlakuan dengan NaOH saja (Keshwani et al., 2007).

Magara et al. melaporkan perlakuan gelombang mikro dapat menghasilkan depolimerisasi lignin dan autohidrolisis hemiselulosa (Magara et al., 1989). Hemiselulosa terhidrolisis pada temperatur 210 °C. Bukti bahwa hemiselulosa telah terhidrolisis pada perlakuan gelombang mikro direpresentasikan melalui persentase glukosa yang diperoleh. Pada jerami dan bagas yang telah diberi perlakuan gelombang mikro, jumlah relatif glukosa yang diperoleh adalah sebesar 92,1% dan 89,9%. Sedangkan pada jerami dan bagas yang tidak diberi perlakuan, jumlah glukosa yang diperoleh hanya sebesar 68,4% dan 67,2%.

### **2.3 Fenomena paparan gelombang mikro**

Oven gelombang mikro melepaskan radiasi gelombang mikro pada frekuensi 2.45 GHz. Radiasi ini diserap oleh air, lemak, gula serta zat lain pada makanan yang kemudian mengeksitasi atom-atom zat tersebut dan menghasilkan panas. Pemanasan menggunakan alat ini sangat efisien untuk mereduksi kadar air pada suatu substansi. Pemanasan berlangsung serentak dan seragam karena semua atom tereksitasi dan menghasilkan panas pada waktu yang bersamaan. Energi radiasi oven gelombang mikro murni bersumber dari energi listrik. Umumnya gelombang mikro untuk keperluan rumah tangga mengkonsumsi 1100 W energi listrik, 700 W digunakan untuk menghasilkan gelombang mikro dan 400 W sisanya terdisipasi menjadi panas (www.wikipedia.org, 2008).

Hanya bahan-bahan yang menyerap gelombang mikro yang dapat dipanaskan. Salah satu mekanisme pemanasan oleh gelombang mikro dan paling sering digunakan untuk menjelaskan fenomena yang terjadi pada alat ini adalah *Dipolar polarisation*. Pada mekanisme ini panas terbentuk pada molekul polar. Saat terekspos di medan elektromagnet yang beresilasi dengan frekuensi tertentu, molekul polar cenderung berusaha mengikuti medan tersebut dan bergabung di dalamnya. Namun keberadaan gaya intermolekular menyebabkan molekul polar tidak dapat mengikuti medan. Hal ini mengakibatkan terjadinya pergerakan partikel yang acak dan menghasilkan panas. Dipolar polarisation dapat membangkitkan panas melalui salah satu atau kedua cara berikut:

- a. Interaksi antara molekul pelarut polar seperti air, metanol, dan etanol
- b. Interaksi antara molekul zat terlarut polar seperti amonia dan asam format

Kunci terjadinya pemanasan dengan mekanisme ini adalah frekuensi osilasi medan elektromagnetik yang tepat. Jika frekuensi osilasi terlalu tinggi, gaya intermolekular akan menghentikan gerakan molekul polar sebelum berusaha mengikuti medan. Sedangkan jika frekuensi osilasi terlalu rendah, molekul polar akan dengan mudah mengikuti osilasi medan elektromagnetik sehingga gerakan acak molekul yang menghasilkan panas justru tidak terjadi. Gelombang mikro memiliki frekuensi yang tepat untuk mengosilasi molekul polar dan menghasilkan interaksi antar molekul yang cukup. Sehingga gelombang mikro sangat ideal digunakan untuk memanaskan larutan polar.

Gelombang mikro adalah salah satu jenis gelombang yang memancarkan radiasi. Ada gelombang-gelombang lain dengan frekuensi yang berbeda yang juga memancarkan radiasi dengan energi yang berbeda dari gelombang mikro. Tabel berikut ini menampilkan jenis-jenis radiasi beserta energi yang dimilikinya serta ikatan kimia apa yang mampu diputuskan oleh gelombang tersebut.

**Tabel 2.3 . Properti berbagai gelombang**

Jenis radiasi	Frekuensi (GHz)	Energi Quantum (eV)	Tipe ikatan	Energi ikatan (eV)
$\gamma$ -rays	$3.0 \times 10^{11}$	$1.24 \times 10^6$	C-C	3.61
X-rays	$3.0 \times 10^{11}$	$1.24 \times 10^5$	C=C	6.35
Ultraviolet	$1.0 \times 10^6$	4.1	C-O	3.74
Visible light	$6.0 \times 10^5$	2.5	C=O	7.71

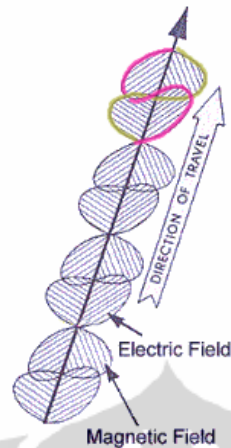
Infrared light	$3.0 \times 10^3$	$1.2 \times 10^{-2}$	CH	4.28
Gelombang mikro	2.45	$1.6 \times 10^{-3}$	OH	4.80
Gelombang radio	$1 \times 10^{-3}$	$4.0 \times 10^{-9}$	Ikatan hidrogen	0.04 – 0.44

Sumber: [www.gelombangmikrotec.com](http://www.gelombangmikrotec.com)

Gelombang mikro sering digunakan sebagai sumber energi eksternal untuk membantu mempercepat terjadinya suatu reaksi kimia atau dinamakan *gelombang mikro-assisted reactions*. Gelombang mikro juga umum digunakan untuk memecah struktur bahan yang kompleks menjadi struktur-struktur penyusunnya yang lebih sederhana atau disebut dengan *gelombang mikro digestion*. Tabel di atas menunjukkan bahwa energi kuantum yang dimiliki oleh radiasi gelombang mikro yaitu sebesar  $1.6 \times 10^{-3}$  eV ternyata tidak cukup untuk memutuskan bahkan ikatan hidrogen yang memiliki energi sebesar 0.04 eV.

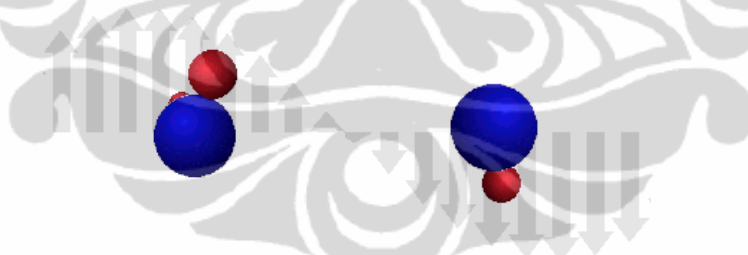
Namun demikian, yang menjadi penentu dalam fungsinya untuk mempercepat reaksi atau memecah struktur bukanlah energi kuantum melainkan interaksi antara molekul dengan gelombang serta panas yang dibawanya. Efek dari interaksi tersebut bergantung pada kemampuan bahan menyerap gelombang mikro dan mengubahnya menjadi panas. Dalam banyak kasus, panas yang terbentuk diyakini akan mempermudah transformasi kimia. Respon bahan terhadap radiasi gelombang mikro dapat diklasifikasikan menjadi tiga bagian, yaitu: (1) Bahan yang transparan terhadap gelombang mikro, contohnya sulfur, (2) Bahan yang memantulkan gelombang mikro, contohnya tembaga, dan (3) Bahan yang menyerap gelombang mikro, contohnya air.

Pembentukan energi panas pada perlakuan paparan gelombang mikro terjadi akibat aktivitas molekul-molekul air baik yang berada bebas maupun yang terikat pada bambu. Gelombang mikro, seperti halnya radiasi elektromagnet lain, terdiri dari medan listrik dan medan magnet seperti diilustrasikan pada Gambar 2.7.



**Gambar 2.7. Medan listrik dan magnet pada gelombang mikro (Gallawa, 2008)**

Molekul air memiliki satu ujung yang bermuatan positif, pada atom hidrogen, dan satu ujung yang bermuatan negatif, pada atom oksigen. Gelombang mikro berpindah dari satu titik ke titik lain dengan muatan yang selalu berubah. Jika dianalogikan sebagai gelombang sinus yang digambarkan pada diagram kartesius, pada saat mencapai amplitudo maksimum baik di atas maupun di bawah sumbu x, gelombang mikro bermuatan positif. Perubahan muatan gelombang mikro ini saat melewati molekul air menyebabkan molekul ini berotasi sesuai dengan muatan yang melaluinya. Gambar 2.8 berikut merupakan potongan simulasi rotasi air akibat perubahan muatan pada gelombang mikro.



**Gambar 2.8. Rotasi molekul air saat dilalui gelombang mikro (www.colorado.edu, 2008)**

Daya input pada oven gelombang mikro mempengaruhi amplitudo gelombang. Semakin besar daya yang digunakan untuk membangkitkan gelombang mikro maka semakin besar medan listrik yang dihasilkan (Bansal, 1997). Jika kekuatan medan listrik semakin besar maka amplitudo gelombang mikro yang dibangkitkan juga akan semakin besar. Kecepatan rotasi molekul air memiliki hubungan yang linear terhadap amplitudo gelombang mikro. Semakin besar amplitudo maka semakin cepat molekul air berotasi.



Gerakan rotasi molekul air menyebabkan terjadinya gesekan antar molekul tersebut. Gesekan ini kemudian menghasilkan panas yang kemudian akan menaikkan temperatur air bahkan hingga mencapai temperatur didihnya (Metaxas dan Meredith, 1993). Semakin cepat gerakan rotasi molekul air maka intensitas gesekan antar molekul juga semakin banyak sehingga panas yang terdisipasi pun semakin besar. Ini adalah teori yang paling mungkin untuk menjelaskan peningkatan jumlah air yang menguap seiring dengan ditambahnya daya gelombang mikro.

### 2.3.1 Perpindahan energi gelombang mikro

Telah disebutkan di atas bahwa meskipun energi kuantum yang dimiliki gelombang mikro tidak cukup untuk memutuskan ikatan hidrogen dan ikatan lainnya, interaksi yang terjadi pada bahan dielektrik mungkin menghasilkan energi yang lebih besar. Kalkulasi energi yang dapat diserap oleh air yang terkandung dalam bambu perlu dilakukan sebagai bahan analisa untuk penelitian ini. Proses kalkulasi energi tersebut terdiri dari beberapa tahapan yang harus dilalui.

Oven gelombang mikro yang digunakan adalah oven jenis multimode yang ruangnya hanya terisi sebagian. Dengan demikian, persamaan-persamaan yang digunakan untuk menghitung energi adalah persamaan yang khusus untuk oven jenis tersebut. Seluruh persamaan diambil dari *Industrial Microwave Heating* (Metaxas dan Meredith, 1993).

#### *Effective loss tangent*

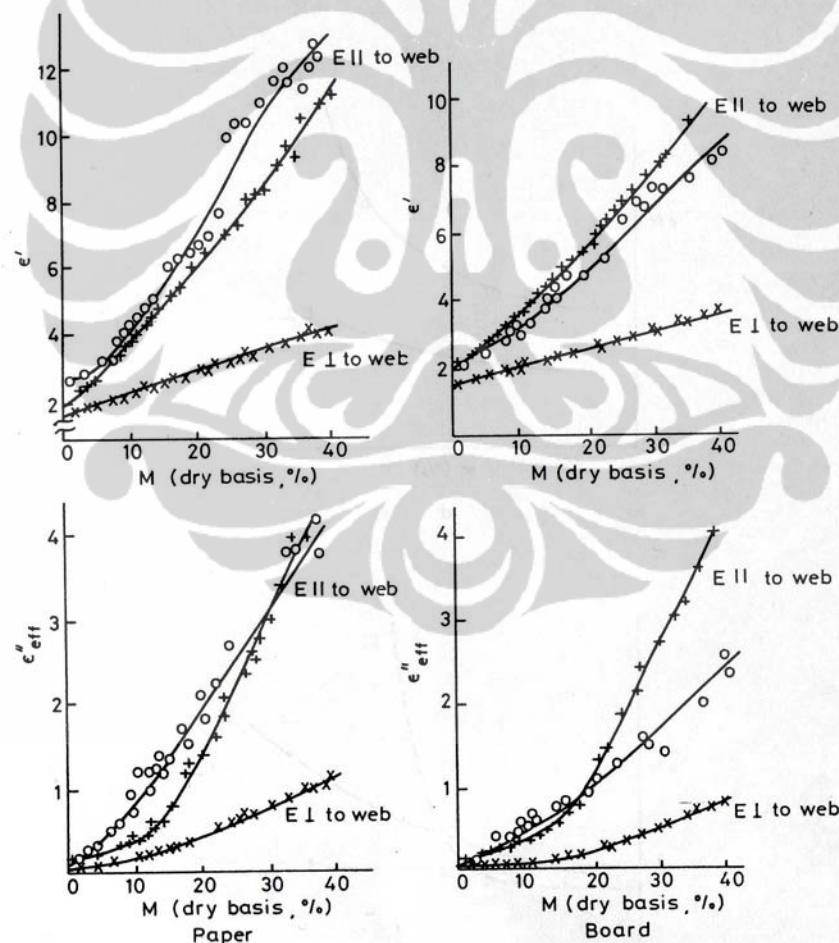
Penyerapan energi gelombang mikro oleh suatu bahan dipengaruhi oleh dua faktor. Yang pertama adalah kemampuan dari bahan tersebut untuk menyerap dan menyimpan energi gelombang mikro atau yang disebut dengan konstanta dielektrik. Yang kedua adalah *loss factor* yaitu faktor fisik yang secara kualitatif menunjukkan seberapa besar gelombang mikro akan kehilangan energi saat melewati bahan dielektrik tersebut. Perbandingan antara kedua besaran tersebut dinamakan *effective loss tangent* yang dalam persamaan matematis dapat dituliskan sebagai berikut.

$$\tan \delta_{eff} = \frac{\epsilon''_{eff}}{\epsilon'} \quad (2.1)$$

dengan  $\epsilon''_{eff}$  adalah *effective relative loss factor* dan  $\epsilon'$  adalah konstanta dielektrik.

Pada saat perlakuan paparan gelombang mikro terjadi, air bebas pada bambu adalah yang pertama kali menguap. Kandungan air bebas adalah faktor yang menentukan *loss factor* suatu bahan dielektrik karena air bebas yang berada di kapiler jika dibandingkan dengan air yang berikatan dengan struktur bambu, berotasi dengan intensitas lebih tinggi. Penguapan air bebas akan menurunkan *moisture content* bambu maksimum hingga 20% (*dry basis*) yaitu titik dimana air terikat mulai menguap. Pendekatan ini perlu dijabarkan karena nilai  $\epsilon''_{eff}$  dan  $\epsilon'$  bergantung pada *moisture content* bahan dielektrik.

Nilai  $\epsilon''_{eff}$  dan  $\epsilon'$  suatu bahan dielektrik diperoleh dari hasil pengukuran menggunakan metode tertentu. Gambar 2.9 berikut merupakan nilai  $\epsilon''_{eff}$  dan  $\epsilon'$  kertas dan papan kayu pada berbagai *moisture content* bahan tersebut yang dipanaskan dua frekuensi paparan gelombang mikro.



Gambar 2.9. Nilai  $\epsilon''_{eff}$  dan  $\epsilon'$  kertas dan papan kayu (Metaxas dan Meredith, 1993)

Effective loss tangent dihitung menggunakan pendekatan nilai  $\varepsilon''_{eff}$  dan  $\varepsilon'$  papan kayu. Untuk *moisture content*, 20% adalah asumsi nilai yang dipilih. Air bebas adalah faktor yang menentukan loss factor suatu bahan, namun jika dilihat dari sisi perusakan struktur air terikat adalah faktor yang berperan lebih besar karena posisi air tersebut yang berikatan langsung dengan struktur. Dengan demikian, diasumsikan efek paparan gelombang mikro pada bambu sebagai bahan dielektrik dimulai setelah seluruh air bebas menguap meninggalkan bambu dengan *moisture content* 20%.

### ***Filling Factor***

*Filling factor* merupakan besaran tak berdimensi yang menggambarkan seberapa penuh substrat mengisi volume ruang oven. Persamaan untuk *filling factor* adalah sebagai berikut.

$$v = \frac{V_L}{V_c} \quad (2.2)$$

$V_L$  adalah volume substrat yang diberi perlakuan paparan gelombang mikro dan  $V_c$  adalah volume cavity atau ruangan tempat paparan gelombang mikro berlangsung. Ruangan oven memiliki volume 20 L sedangkan untuk menentukan volume substrat perlu dilakukan pendekatan berdasarkan massa dan densitas bambu. Jika diasumsikan densitas rata-rata bambu adalah 300 kg/m<sup>3</sup> (www.simetric.co.uk, 2008) dan massa bambu yang digunakan adalah 30 gram, maka volume substrat adalah sebesar 0.1 L.

### ***Q-factor***

Nilai *Q-factor* dapat dihitung menggunakan persamaan berikut:

$$Q_o = \frac{1}{\tan \delta_{eff}} \left( 1 + \frac{(\varepsilon'+2)^2 (1-v)}{9\varepsilon' v} \right) \quad (2.3)$$

### ***Electric Field Strength***

Kekuatan medan listrik oven gelombang mikro bergantung pada daya operasi oven. Persamaan untuk menghitung besaran ini adalah sebagai berikut

$$E_{max} = 2 \left( \frac{(P/V_c) Q_o}{2\pi f \cdot \varepsilon_o \times 10^6} \right)^{1/2} \quad (2.4)$$

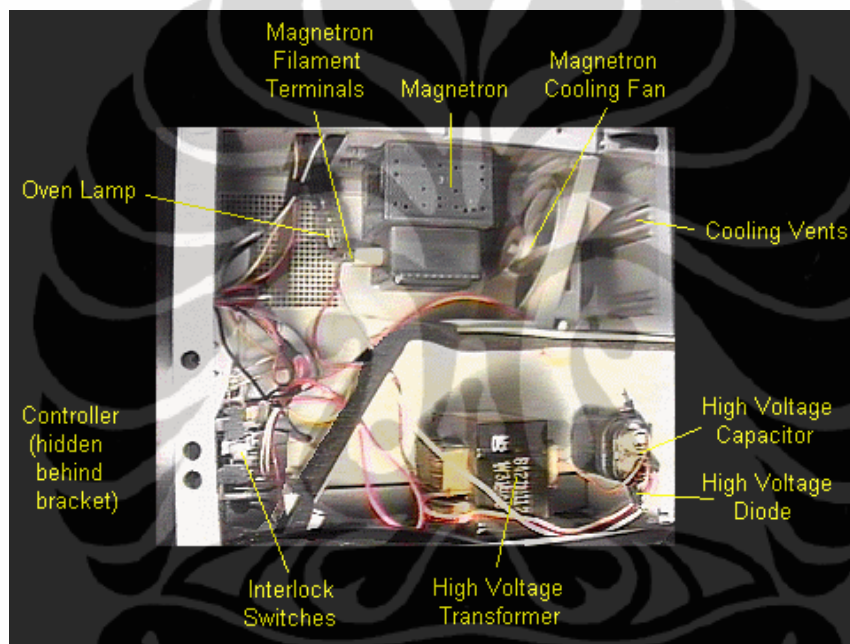
### ***Power dissipated***

Energi yang terdisipasi dari bahan dielektrik dapat dihitung menggunakan persamaan berikut.

$$P_{av} = \omega \epsilon_o \epsilon_{eff}'' E^2 V \quad (2.5)$$

### 2.3.2 Cara kerja oven gelombang mikro

Sejak pertama kali dipasarkan, tahun 1954, hingga saat ini oven gelombang mikro telah mengalami berbagai modifikasi demi mendapatkan desain sistem yang terbaik. Namun demikian, struktur penyusun semua sistem oven gelombang mikro pada dasarnya hampir sama. Gambar berikut menampilkan bagian-bagian dari oven gelombang mikro tipikal yang banyak digunakan di rumah tangga.



Gambar 2.10. Bagian dalam sistem oven gelombang mikro (www.kellerstudio.de)

Magnetron adalah “nyawa” dari oven gelombang mikro. Alat inilah yang mengubah medan listrik dari sumber menjadi gelombang mikro. Secara umum magnetron tersusun atas bagian-bagian berikut ini:

Anoda/lempengan: silinder besi yang bekerja dengan katoda untuk mengontrol pergerakan energi gelombang mikro

Katoda/Filamen: Saat dilalui arus listrik, filamen memancarkan elektron yang berpindah dari katoda ke anoda

Antena: Ujung sensor yang berfungsi untuk memandu energi yang dipancarkan dari magnetron

Magnetic Field: Dihasilkan dari magnet kuat yang berada di ujung magnetron untuk menghasilkan medan magnet yang paralel dengan katoda

Proses pembangkitan gelombang mikro bermula ketika arus listrik mengalir menuju katoda/filamen. Panas yang dihasilkan dari arus listrik meningkatkan aktivitas molekular yang kemudian akan memancarkan elektron di ruang antara katoda dan anoda. Katoda dan elektron bermuatan negatif, sedangkan anoda bermuatan positif. Elektron akan bergerak menjauhi katoda menuju anoda dengan kecepatan tinggi. Hal ini kemudian akan menaikkan temperatur di ruang antara anoda-katoda sehingga semakin meningkatkan aktivitas molekular. Dalam perjalanan menuju anoda, elektron harus melalui medan magnet yang justru menghalangi elektron dari tujuannya. Hantaman gaya dari muatan listrik bersamaan dengan medan magnet membuat elektron bergerak memutar hingga akhirnya mencapai anoda. Gerakan memutar inilah yang kemudian menghasilkan gelombang mikro.

### 2.3.3 Spesifikasi oven gelombang mikro

Alat penghasil gelombang mikro yang digunakan pada penelitian ini adalah oven gelombang mikro yang difungsikan khusus untuk keperluan di rumah tangga. Gambar berikut adalah foto dari oven gelombang mikro yang digunakan.



Gambar 2.11. Oven Gelombang mikro

Spesifikasi oven gelombang mikro tersebut dapat dilihat melalui Tabel berikut.

Tabel 2.4. Spesifikasi oven gelombang mikro

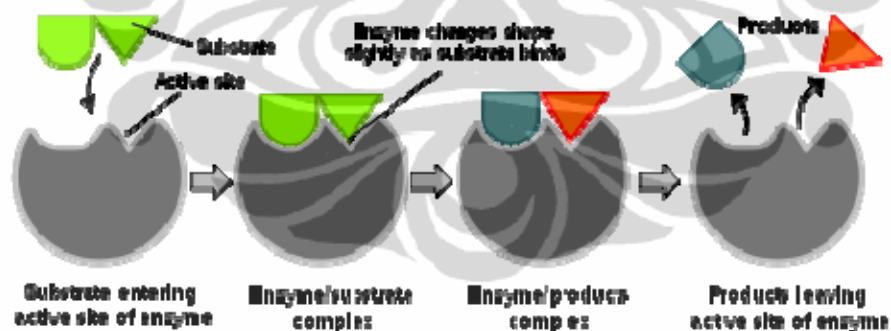
Spesifikasi	Nilai
Dimensi ruang oven	
Lebar	320 mm
Tinggi	200 mm
Tebal	298 mm

Volume	20 L
Konsumsi Daya	1300 watt
Daya output	800 watt
Daya input	230 V, 50 Hz

Oven gelombang mikro yang biasa digunakan di rumah adalah jenis multimode. Kelebihan dari jenis ini adalah disain sistem mekaniknya yang sederhana dan dapat digunakan untuk pemanasan dengan beban yang besar. Namun demikian, keseragaman pemanasan masih menjadi masalah utama oven gelombang mikro jenis multimode. Informasi ini perlu disebutkan karena jenis oven yang digunakan mempengaruhi perhitungan perpindahan energi dari gelombang mikro kepada substrat yang dipanaskan atau diberi perlakuan paparan gelombang mikro.

## 2.4 Hidrolisis Enzim

Enzim adalah senyawa protein yang dapat mempercepat terjadinya suatu reaksi kimia, salah satunya adalah hidrolisis selulosa dan hemiselulosa menjadi monomer penyusunnya. Enzim bekerja spesifik untuk zat tertentu. Cara kerja enzim dapat dianalogikan dengan lubang kunci dan anak kunci dengan enzim sebagai kunci dan substrat sebagai anak kunci. Analogi ini dinamakan teori “Lock and Key”. Mekanisme kerja enzim secara umum diilustrasikan melalui Gambar berikut.



Gambar 2.12. Mekanisme kerja enzim secara umum, teori “Lock and Key”

(<http://upload.wikimedia.org>)

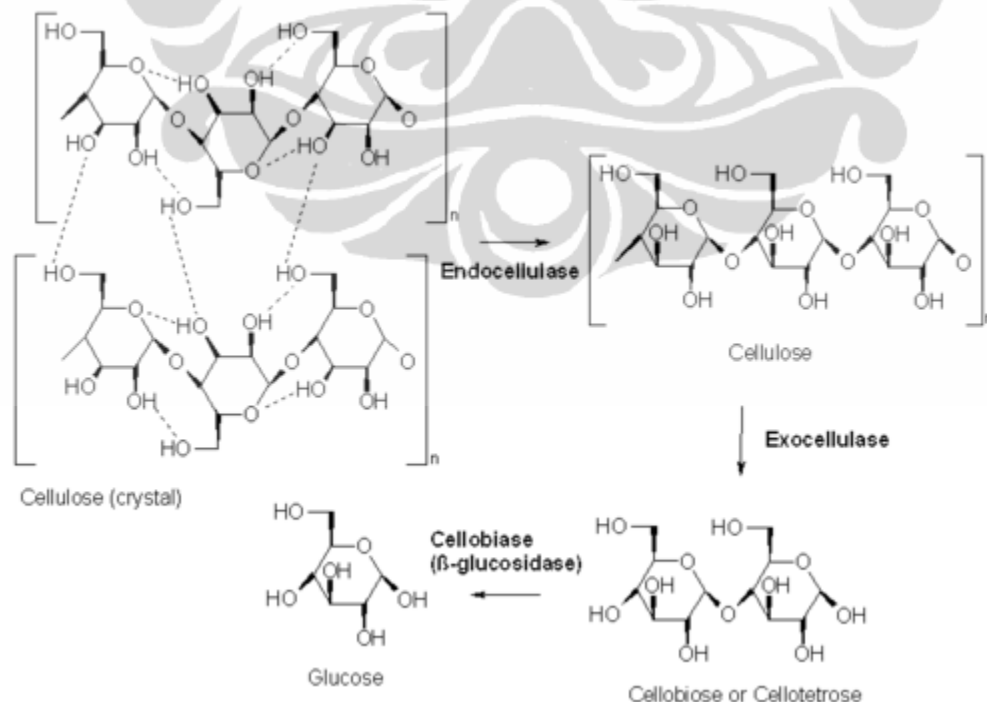
Layaknya semua katalis, enzim mempercepat terjadinya reaksi kimia dengan menurunkan energi aktivasi reaksi. Enzim dapat secara dramatis meningkatkan laju reaksi hingga seribu kali lebih cepat dibanding reaksi tanpa katalis/enzim

(<http://en.wikipedia.org>, 2008). Enzim tidak dikonsumsi dalam reaksi dan tidak mengubah kesetimbangan kimia reaksi. Spesifikasi kerja enzim menyebabkan ada banyak jenis enzim yang fungsinya khusus untuk zat tertentu seperti halnya enzim cellulase, spesifik untuk selulosa, dan xylanase, spesifik untuk hemiselulosa.

### 2.4.1 Enzim cellulase

Cellulase adalah enzim yang diproduksi oleh jamur, bakteri, protozoa, dan sistem pencernaan hewan memamah biak. Hidrolisis selulosa menjadi glukosa secara umum merupakan hasil kerja sinergis dari tiga enzim: endo-glucanase, exo-glucanase,  $\beta$ -glucosidase. Gabungan dari ketiga enzim inilah yang biasanya disebut sebagai cellulase atau *cellulolytic enzyme* (Taherzadeh dan Karimi, 2007).

Endoglucanase menyerang bagian serat selulosa dengan tingkat kristalinitas yang rendah dan membuka lingkaran rantai sehingga menghasilkan molekul selulosa dengan ujung yang bebas. Exo-cellulase memotong 2-4 unit dari polisakarida tunggal yang dihasilkan oleh endocellulase menghasilkan disakarida seperti cellobiose. Molekul cellobiose yang dihasilkan kemudian dipotong menjadi dua oleh beta-glucosidase menghasilkan glukosa. Enzim ini bukanlah cellulase namun perannya sangat penting untuk melengkapi proses depolimerisasi selulosa menjadi glukosa. Mekanisme ini dapat dipahami dengan lebih baik dengan melihat ilustrasi pada Gambar 2.13 berikut.



**Gambar 2.13. Mekanisme depolimerisasi selulosa oleh cellulase**  
 (<http://en.wikipedia.org/wiki/Cellulase>)

Cellulase digunakan secara komersial pada pengolahan makanan seperti pembuatan kopi. Enzim ini menghidrolisis selulosa selama proses pengeringan biji kopi. Cellulase juga digunakan secara luas pada industri tekstil dan deterjen. Selain itu enzim ini juga digunakan pada industri pulp dan kertas untuk berbagai keperluan.

#### **2.4.2 Enzim xylanase**

Hemiselulosa tersusun atas monomer gula yang lebih bervariasi sehingga enzim *hemicellulolytic* lebih kompleks dibanding enzim *cellulolytic*. Enzim tersebut paling tidak terdiri dari endo-1,4- $\beta$ -D-xylanase, exo-1,4- $\beta$ -D-xylosidase, endo-1,4- $\beta$ -D-mannanase,  $\beta$ -mannosidase, acetyl xylan esterase,  $\alpha$ -glucuronidase,  $\alpha$ -L-arabinofuranosidase, dan  $\alpha$ -galactosidase.

Aplikasi xylanase yang paling utama adalah pada tahap perlakuan awal pemutihan *Kraft pulp*. Xylanase mampu meningkatkan nilai akhir kecerahan *pulp* dan mengurangi konsumsi klorin dan klorin dioksida. Cara kerja xylanase dalam proses pemutihan *Kraft pulp* yaitu: (1) Hidrolisis oleh xylanase menghasilkan pemutusan rantai xylan dari ikatan lignin-polisakarida, (2) Rantai xylan kemudian dihilangkan dari permukaan serat oleh perlakuan oleh xylanase (Lei, et al., 2008).

Xylanase adalah enzim yang bekerja spesifik untuk menghidrolisis xylan pada kayu dan menurunkan derajat polimernya (Petit-Conil, 2005). Perlakuan dengan xylanase pada kayu juga dapat mengurangi konsumsi energi pada proses bleaching Kraft pulp.

#### **2.4.3 Faktor yang mempengaruhi hidrolisis enzim**

Konsentrasi dan kualitas substrat, metode perlakuan awal yang digunakan, aktivitas cellulase, dan kondisi hidrolisis seperti temperatur, pH, dan mixing adalah faktor-faktor utama yang mempengaruhi hidrolisis enzimatis bahan lignoselulosa. Temperatur dan pH optimum hidrolisis enzim tidak selalu sama, tergantung pada bahan baku, mikroorganisme penghasil enzim, dan durasi hidrolisis (Taherzadeh dan Karimi, 2007). Biasanya, temperatur dan pH optimum untuk enzim cellulase yang berbeda berada pada rentang 40-50 °C dan 4-5.

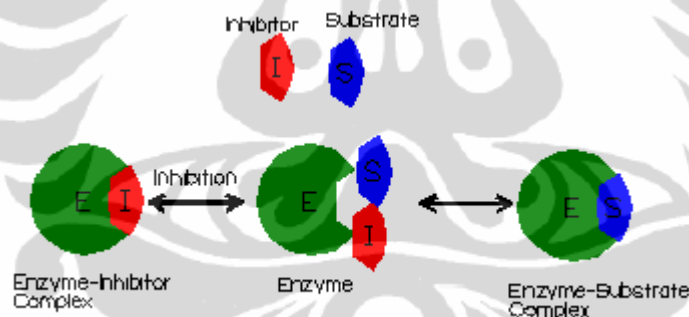


Salah satu faktor utama yang mempengaruhi konsentrasi produk dan laju reaksi hidrolisis enzim adalah konsentrasi substrat dalam larutan. Konsentrasi substrat yang terlalu tinggi dapat menjadi inhibitor bagi enzim. Konsentrasi yang tinggi juga dapat menghambat proses pencampuran dan perpindahan massa. Rasio enzim dan substrat yang digunakan adalah faktor lain yang juga mempengaruhi hidrolisis enzim. Penambahan konsentrasi enzim hingga level tertentu akan meningkatkan laju reaksi dan produk yang dihasilkan.

Inhibisi reaksi hidrolisis enzim dapat dibagi menjadi tiga jenis, competitive inhibition, non-competitive inhibition, dan substrate inhibition.

### ***Competitive inhibition***

Mekanisme inhibisi ini terjadi jika di dalam larutan terdapat senyawa yang mirip dengan substrat. Kedua senyawa ini bersaing untuk menempati *active site* enzim. Pada saat substrat yang bergabung dengan enzim, terjadi reaksi dan produk dihasilkan. Jika senyawa yang mirip dengan substrat yang bergabung, tidak terjadi reaksi namun hal ini tentu saja menyebabkan laju reaksi menjadi turun karena jumlah reaksi yang terjadi semakin sedikit.

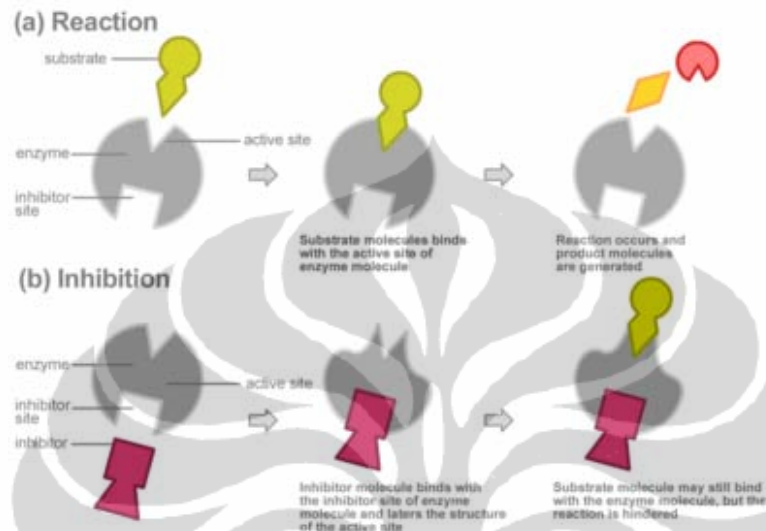


Gambar 2.14. Competitive inhibition (<http://www.civil.uwaterloo.ca>)

### ***Non-competitive inhibition***

Ada beberapa teori yang berkaitan dengan mekanisme non-competitive inhibition. Teori pertama adalah, senyawa inhibitor tidak berikatan dengan *active site* melainkan di bagian lain dari enzim. Pengaruh ikatan senyawa ini dengan enzim bergantung sepenuhnya pada konsentrasi inhibitor dan tidak akan dipengaruhi oleh konsentrasi substrat. Jika inhibitor telah berikatan dengan enzim, meskipun bukan di *active site*, dapat membuat enzim menjadi tidak berfungsi lagi.

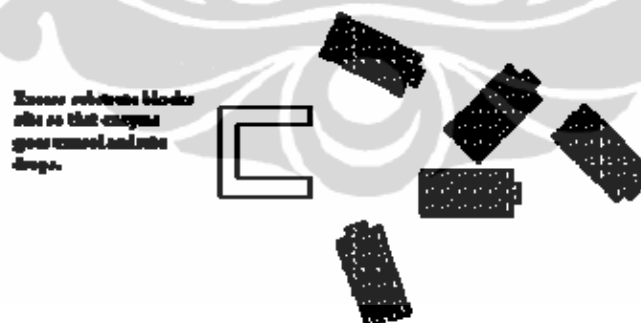
Teori yang kedua adalah, inhibitor bekerja dengan menghalangi *active site*. Teori lainnya yaitu, keberadaan senyawa inhibitor merubah struktur tiga dimensi enzim sehingga *active site* tidak lagi cocok dengan struktur substrat. Akibatnya, *active site* tidak lagi dapat digunakan sebagai tempat terjadinya reaksi.



Gambar 2.15. Non-competitive inhibition (<http://static.newworldencyclopedia.org>)

### *Substrate inhibition*

Penambahan konsentrasi substrat hingga level tertentu dapat menurunkan laju reaksi. Hal ini terjadi karena begitu banyaknya substrat menyebabkan persaingan antar substrat untuk menempati *active site* enzim. Sehingga tidak ada substrat yang dapat menempatnya dan reaksi tidak terjadi.



Gambar 2.16. Substrate inhibition

## 2.5 Fermentasi

Mikroorganisme aerob memperoleh energi dengan membakar makanan (glukosa) menjadi CO<sub>2</sub> melalui proses yang dinamakan respirasi sel. Respirasi ini terbagi menjadi dua tahap yaitu:

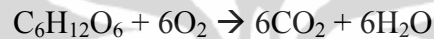
### 1. Glikolisis

Enzim di dalam sel ragi membelah molekul glukosa menjadi dua melepaskan sedikit energi dan dua buah molekul dengan 3 karbon (piruvat).

### 2. Siklus asam sitrat Krebs

Rangkaian reaksi yang memutus rantai 3 karbon pada piruvat menjadi gas karbon dioksida dan uap air.

Kedua tahap di atas dapat disederhanakan menjadi persamaan reaksi berikut:



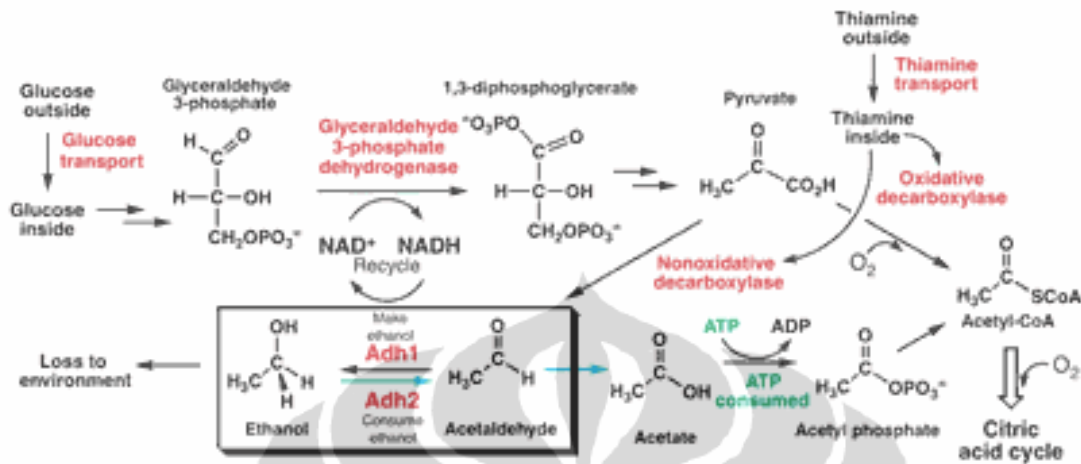
*Saccharomyces cerevisiae* adalah mikroorganisme fakultatif anaerob. Mikroorganismenya jenis ini dapat meminimalkan penggunaan energi dalam metabolisme dengan melakukan respirasi dan fermentasi secara bergantian sesuai dengan kondisi lingkungan. Pada kondisi dengan sumber glukosa berlimpah, atau pada saat jumlah oksigen relatif sedikit, ragi mempercepat penghasilan energi dengan melakukan fermentasi. (Otterstedt, 2004). Proses ini dapat ditampilkan melalui persamaan reaksi yang disederhanakan berikut.



Alkohol adalah produk samping yang tidak dibutuhkan sebagai senyawa yang menunjang metabolisme ragi. Senyawa ini, dalam jumlah sedikit, membantu ragi berkompetisi dengan mikroba lain dalam memperebutkan sumber makanan. Ragi mampu bertahan dalam lingkungan yang dibanjiri oleh sedikit etanol, sedangkan mikroba seperti bakteri tidak mampu bertahan hidup dalam lingkungan ini. Namun ragi tidak akan mampu bertahan hidup dalam lingkungan dengan kadar etanol lebih besar dari 14-18%. Oleh karena itu, reaksi fermentasi tidak akan menghasilkan etanol dengan kadar lebih besar dari 16% (Petro, 2005).

Bagi ragi, etanol adalah senyawa yang tidak dibutuhkan layaknya CO<sub>2</sub> bagi manusia. Ragi memproduksi produk samping ini agar dapat bertahan pada kondisi anaerob. Jika oksigen kembali tersedia, ragi akan mendaur ulang etanol yang telah terbentuk menjadi asam asetat. Fermentasi (respirasi anaerob) menghasilkan 2 molekul ATP per satu molekul glukosa sedangkan respirasi ragi (aerob) menghasilkan 36-38 molekul ATP per molekul glukosa. Oleh karena itu daya tahan hidup ragi pada kondisi anaerobik 19 kali lebih rendah dibanding pada kondisi aerob.

Gambar 2.17 di bawah ini melukiskan reaksi-reaksi lengkap fermentasi yang telah dijelaskan sebelumnya beserta produk-produk yang dihasilkan.



Gambar 2.17 Reaksi lengkap fermentasi glukosa menjadi etanol ([www.pharyngula.org](http://www.pharyngula.org))

Pemilihan ragi yang tepat adalah salah satu pertimbangan penting dalam fermentasi glukosa menjadi etanol. Karakter ragi yang diinginkan, terutama dalam pembuatan minuman beralkohol, antara lain: laju fermentasi yang masuk akal, toleransi terhadap etanol dan temperatur, dan tahan terhadap lingkungan buruk. *Saccharomyces cerevisiae* dilaporkan mampu memproduksi etanol dengan konsentrasi tinggi hingga 0,45 gram/gram substrat dengan laju yang relatif tinggi. Ragi ini dapat bertahan dalam lingkungan dengan konsentrasi etanol hingga 100 g/L (Oloffson et al., 2008). Ragi ini juga memiliki rentang temperatur metabolisme yang cukup luas yaitu pada 35-42 °C.

Pertumbuhan ragi dibagi menjadi empat fase (Gozan, 2004) yaitu, fase lambat (*lag phase*), fase logaritmik (*log phase*), fase tetap (*stationer phase*), dan fase kematian (*death phase*).

#### 1. Fase lambat (*lag phase*)

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

#### 2. Fase cepat (*log phase*)

Pada fase ini terjadi pembelahan sel dan populasi berlipat ganda setiap waktu generasi. Sel akan tumbuh dan membelah diri secara eksponensial hingga jumlah maksimum. Jumlah sel yang terbentuk pada fase ini dipengaruhi oleh beberapa faktor

antara lain, kandungan sumber nutrisi, temperatur, kadar oksigen, cahaya, dan keberadaan mikroorganisme lain.

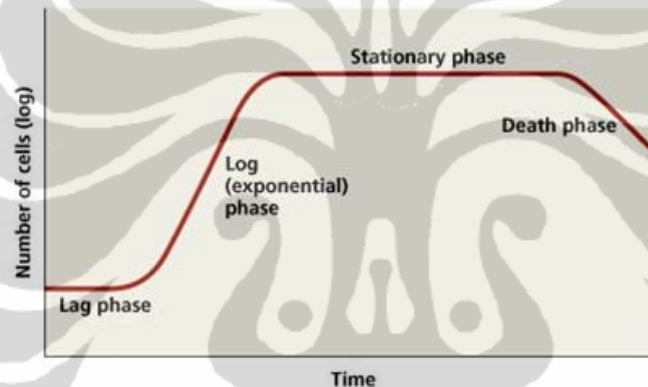
3. Fase stasioner (*stationary phase*)

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

4. Fase kematian (*death phase*)

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

Fase kehidupan ragi dalam substrat fermentasi jika digambarkan melalui suatu diagram akan terlihat seperti Gambar 2.18 berikut.



Gambar 2.18 Diagram pertumbuhan ragi dalam substrat fermentasi (<http://faculty.ircc.edu>, 2008)

Baker's yeast adalah nama lain yang sering melekat pada *Saccharomyces cerevisiae*. Baker's yeast adalah nama umum untuk strain ragi yang digunakan sebagai *leavening agent* dalam pembuatan roti dan produk lain yang berkaitan. Ragi ini diproduksi dalam beberapa jenis, salah satunya adalah ragi instan. Ragi jenis ini memiliki bentuk berupa butiran-butiran kecil yang kering. Dalam penggunaannya pada pembuatan roti, ragi ini dikhususkan untuk adonan dengan konsentrasi gula yang tinggi. Ragi instan adalah ragi yang secara komersil paling sering diperdagangkan ([http://en.wikipedia.org/wiki/Baker's\\_yeast](http://en.wikipedia.org/wiki/Baker's_yeast), 2008).

## 2.6 Simultaneous saccharification and fermentation

Ide untuk menggabungkan hidrolisis enzim dan fermentasi dalam satu reaktor pertama kali dicetuskan oleh Gauss et al. pada tahun 1976. Glukosa yang dihasilkan dalam hidrolisis enzim yang terpisah dari fermentasi (menggunakan enzim yang disekresikan oleh *Trichoderma reesei*) relatif rendah. Hal ini mungkin disebabkan oleh glukosa dan cellobiose yang terbentuk, dalam jumlah tertentu, pada akhirnya justru akan menghambat proses hidrolisis. Etanol yang dihasilkan dari SSF lebih tinggi dibanding etanol yang dihasilkan dari proses yang terpisah. Hingga kini, penjelasan utama untuk perbedaan ini adalah karena glukosa yang terbentuk dari hidrolisis enzim langsung difermentasikan oleh ragi menjadi etanol.

Sampai saat ini, alasan yang paling utama dalam memilih SSF adalah karena proses ini dapat menghindarkan terbentuknya produk akhir yang menghambat hidrolisis enzim. Kelebihan lain dalam penggunaan SSF adalah glukosa yang terbentuk tidak perlu dipisahkan dari fraksi lignin sehingga meminimalkan potensi terbuangnya glukosa seperti yang mungkin terjadi pada proses hidrolisis enzim yang terpisah dari fermentasi atau *Separate Hydrolysis and Fermentation* (SHF). Lebih jauh lagi, penggabungan kedua proses ini mengurangi jumlah reaktor yang dibutuhkan sehingga biaya investasi alat dapat ditekan. Produk fermentasi yaitu etanol, juga dapat menghambat hidrolisis namun dalam tingkatan yang lebih rendah dibanding glukosa dan cellobiose (Oloffson et al., 2008).

Tidak dapat dipungkiri, SSF juga memiliki beberapa kekurangan dibanding SHF. Temperatur optimum proses hidrolisis enzimatis biasanya lebih tinggi dibanding temperatur fermentasi sehingga pada SSF perlu ditemukan temperatur yang paling tepat untuk kedua proses. Selain itu, di akhir proses, ragi tidak dapat di-*recovery* untuk digunakan kembali karena pemisahan ragi dari fraksi lignin relatif sulit. Kekurangan lainnya adalah, hidrolisis lignoselulosa pada SSF seringkali tidak lengkap. Penyebabnya, selain keberadaan inhibitor, mungkin karena deaktivasi enzim, adsorpsi enzim yang tidak produktif, dan meningkatnya kristalinitas selulosa (Oloffson et al., 2008).