

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Reject Pulp

*Reject pulp* merupakan biomassa yang berasal dari limbah padat industri *pulp* merupakan sisa potongan kayu yang tidak sempurna karena adanya mata kayu (*knot*). Biomassa ini merupakan *lignoselulosa* yang komposisinya terdiri dari selulosa, hemiselulosa, lignin, dan bahan anorganik lainnya dapat dilihat pada **Tabel 2.1** dan **Tabel 2.2**. Jumlah *reject pulp* yang dibuang sebagai limbah padat 2,28% dari total produksi *pulp* per hari sebesar 7000 ton [PT.RAPP. 2008]. Hingga saat ini *reject pulp* belum dimanfaatkan secara optimal. Usaha untuk memanfaatkan *reject pulp* sebagai bahan bakar pernah dilakukan, namun dengan membakar langsung *reject pulp* kering dalam tungku ketel *boiler* tidak memberikan jumlah panas yang cukup untuk memproduksi *steam*. Akibatnya akumulasi *reject pulp* ini belum tertangani dengan baik.

**Tabel.2.1.** Perbandingan Komposisi Kimia Beberapa Material *Lignoselulosa*

<i>Lignocellulosic Materials</i>	<i>Cellulose (%)</i>	<i>Hemicellulose (%)</i>	<i>Lignin (%)</i>
<i>Hardwoods stems</i>	40-55	24-40	18-25
<i>Softwood stems</i>	45-50	25-35	25-35
<i>Corn cobs</i>	45	35	15
<i>Grasses</i>	25-40	35-50	10-30
<i>Paper</i>	85-99	0	0-15
<i>Wheat straw</i>	30	50	15
<i>Sorted refuse</i>	60	20	20
<i>Leaves</i>	15-20	80-85	0
<i>Newspaper</i>	40-55	25-40	18-30
<i>Waste papers from chemical pulps</i>	60-70	10-20	5-10
<i>Coastal Bermudagrass</i>	25	35.7	6.4
<i>Switch grass</i>	45	31.4	12

Sumber : Ye Sung, 2002.

Sedangkan komposisi kimia dari bahan baku (kayu akasia) untuk pabrik *pulp* dan kertas adalah seperti pada **Tabel.2.2**.

**Tabel. 2.2** Komposisi Kimia Kayu akasia [Sumber Lab. R&D PT.RAPP, 2008]

Kandungan Kimia	Nilai (%)
Alfa-selulosa	50,0
Hemiselulosa	22,0
Klason-Lignin	26,0
Ekstraktif -DCM	15,0
Abu ( <i>ash</i> )	0,5

## 2.2 Senyawa yang Terkandung dalam bahan lignoselulosa

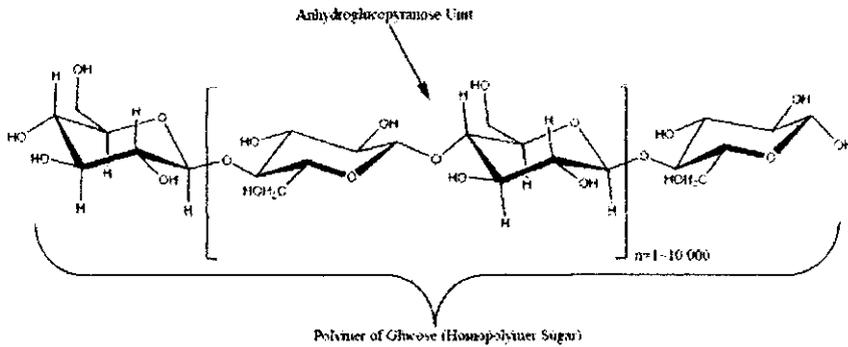
*Reject pulp* memiliki kandungan selulosa sekitar 85,16%. Berdasarkan uraian yang disebutkan sebelumnya maka *reject pulp* dapat diubah menjadi etanol. Proses yang harus dilalui *reject pulp* adalah hidrolisis menjadi glukosa kemudian difermentasi dengan ragi *Saccharomyces cerevisiae*.

### 2.2.1 Selulosa

Selulosa adalah polimer linier dari molekul D-glukosa. Unit ini adalah ikatan bersama dari rantai  $\beta$ -1,4-*glycosidic*. Dua unit glukosa yang berdekatan terbentuk dari eliminasi dari satu molekul air antara dua gugus hidroksil pada atom karbon 1 dan 4. Pengulangan dari rantai selulosa yang terdiri dari dua buah glukosa akan membentuk selobiosa. Kandungan selulosa pada kayu rata-rata 48%-50%.

Pada selulosa terdapat enam atom karbon yang membentuk cincin yang disebut *pyranose*. Unit *pyranose* tersebut dihubungkan oleh molekul oksigen tunggal, oksigen tersebut menghubungkan atom karbon nomor satu dengan atom karbon nomor empat di *pyranose* selanjutnya.

Proses degradasi selulosa dapat dilakukan oleh mikroorganisme selulolitik yang berasal dari bakteri ataupun jamur. Degradasi lengkap selulosa akan melepaskan karbon dioksida (CO<sub>2</sub>) dan air pada kondisi aerobik. Pada kondisi anaerobik, akan melepaskan karbon dioksida, metana, dan air [Be'guin & Aubert, 1994]. Mikroorganisme tersebut dapat mendegradasi selulosa karena menghasilkan enzim dengan spesifikasi berbeda yang saling bekerja sama. Enzim tersebut akan menghidrolisis ikatan  $\beta$ -1,4-*glycosidic* pada selulosa. Hidrolisis sempurna selulosa akan menghasilkan monomer selulosa yaitu glukosa, dan hidrolisis tak sempurna akan menghasilkan disakarida dari selulosa yang disebut selobiosa. Struktur selulosa dapat dilihat pada **Gambar 2.1**.

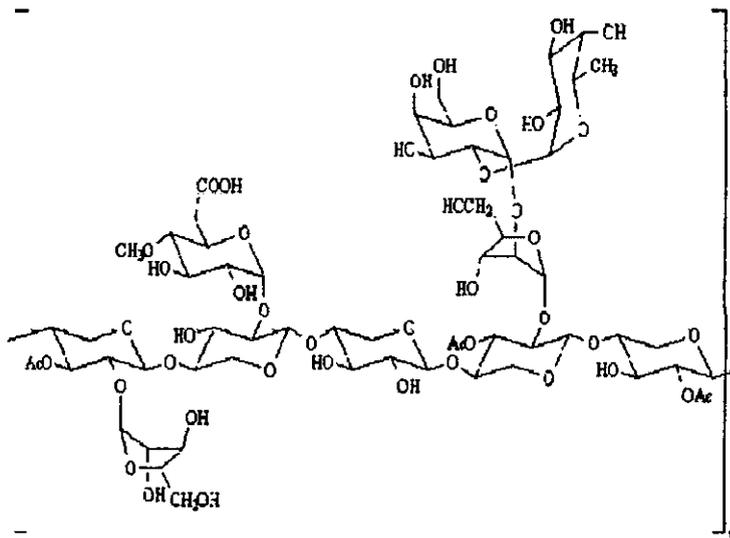


**Gambar 2.1.** Rumus Bangun Selulosa [Hu, 2008]

### 2.2.2 Hemiselulosa

Selain selulosa, suatu polisakarida yang juga banyak terdapat pada tanaman adalah hemiselulosa yang merupakan polimer dari beberapa monomer yaitu : xilosa, glukosa, mannososa, galaktosa dan arabinosa yang membentuk rantai bercabang dan lebih pendek sehingga mempunyai derajat polimerisasi yang rendah. Monomer dari hemiselulosa yang terbanyak adalah xilosa.

Hemiselulosa memiliki struktur yang lebih kompleks dibandingkan dengan selulosa, oleh karena itu sistem enzim yang dibutuhkan untuk mendegradasi kedalam monomer gula juga kompleks. Struktur hemiselulosa dapat dilihat pada **Gambar 2.2.**



**Gambar.2.2** Struktur Hemiselulosa [Brunow et al., 1995]

### 2.2.3 Lignin

Lignin adalah bahan yang mempersulit proses hidrolisis selulosa. Kandungan lignin pada kayu sekitar 25-30%. Pada *reject pulp* kandungan Lignin

sudah sangat sedikit 3,15% [Sumber Lab. R&D PT.RAPP, 2009]. Hal ini disebabkan karena *reject pulp* leleh mengalami proses lignifikasi (penghilangan lignin). Keberadaan lignin membuat reaksi hidrolisis pada selulosa tidak berjalan maksimal. Oleh karena itu jika digunakan bahan yang masih banyak mengandung lignin perlu dilakukan proses *pre-treatment* untuk menghilangkan lignin, seperti *steaming*.

### 2.3 Enzim

Enzim merupakan suatu katalisator dalam reaksi biokimia dan setiap enzim mempunyai kemampuan spesifik untuk merubah molekul tertentu, enzim merupakan larutan koloid atau katalis organik yang dihasilkan mikroorganisme. Sebagai katalisator, enzim hanya meningkatkan kecepatan reaksi dan sangat spesifik untuk reaksi yang dikatalisnya. Enzim memiliki ukuran yang sangat besar dibanding gugus fungsional targetnya. Beberapa enzim menggunakan tambahan akhiran ase pada nama substratnya. Seperti Selulase yang menjadi katalis hidrolisis selulosa. Namun ada juga yang tidak seperti tripsin dan renin.

Faktor terpenting dalam mempelajari sistem selulosa-Selulase adalah sifat struktur dari bahan selulosa karena hidrolisa secara enzimatik terhadap selulosa sebagian besar tergantung pada bahan kimia alam dan struktur fisik dari substrat selulosa. Kecepatan reaksi hidrolisa enzimatik dipengaruhi oleh kristalinitas substrat, asesibilitas enzim, luas permukaan spesifik, derajat polimerisasi dan unit dimensi sel dari bahan selulosa [Ferguson, 1995].

Berdasarkan Oltus *et.al.*, reaksi Selulase adalah pemutusan rantai serat. Sedangkan berdasarkan Prommier dkk., enzim menyerang permukaan serat menghasilkan efek *peeling*. Bila efek ini dibatasi dan dikontrol, enzim hanya akan memindahkan elemen-elemen kecil atau campuran yang mempunyai afinitas lebih besar terhadap air tetapi yang kontribusinya kecil terhadap ikatan hidrogen dari serat. Menurut Jackson dkk., enzim jenis Selulase dapat memflokulasi *fine* (serat yang berukuran kurang dari 75  $\mu\text{m}$ ) dan partikel-partikel kecil serat. *Fine* akan dihidrolisa mengakibatkan peningkatan derajat giling (*freeness*), dan permukaan serat menjadi bersih dari fibril dan partikel-partikel [Bajpai dkk, 1998].

### 2.3.1 Enzim Selulase

Selulase adalah enzim kompleks yang dapat memecahkan selulosa menjadi glukosa. Selulase terutama diproduksi oleh bakteri simbiotik dalam lambung hewan memamah biak pada herbivora. Selulase dapat dihasilkan dari mikroorganisme diantaranya *Trichoderma reesei*, *Trichoderma longbraciatum* dan *Trichoderma sp* yang terdiri dari *Trichoderma harzianum*, *T. Hamatum*, *T. Koningi*, dan *T. Pseudokoningii*, *T. Pilulifemm* dan *T. Aureoviride*. Mikroorganisme lainnya yang dapat juga memproduksi Selulase yakni *Aspergillus terreus* [Hanifah, 2007].

Enzim *Selulase* merupakan suatu kompleks enzim yang terdiri atas 3 enzim, yaitu [Saraswati, 2006]:

#### a. Endo- $\beta$ -1,4-glukosa

Enzim Endo- $\beta$ -1,4-glukosa adalah glycoprotein dengan berat molekul 5300-145000. Enzim ini menyerang rantai bagian dalam dari selulosa amorphorus menghasilkan selobiosa. Enzim ini tidak dapat menghidrolisa selulosa kristal secara sendirian.

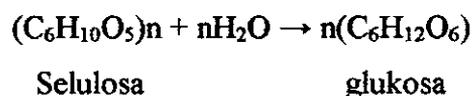
#### b. Exo- $\beta$ -1,4-glukanase

Enzim ini merupakan glycoprotein dengan berat molekul 42000-65000. Exo- $\beta$ -1,4-glukanase ada dua jenis yaitu Exo- $\beta$ -1,4-cellobiohidrolase dan Exo- $\beta$ -1,4-glukan glukohidrolase. Enzim ini menyerang *Crystalline cellulose*. Kerja enzim ini dihambat dengan adanya produk selobiosa atau glukosa.

#### c. $\beta$ -1,4-glukosidase

$\beta$ -1,4-glukosidase atau selobiosa adalah glycoprotein dengan berat molekul 50000-410000. Enzim ini dapat menghidrolisa selobiosa menjadi glukosa.

Ketiga enzim tersebut bekerja sama secara sinergis dalam menghidrolisa selulosa menjadi glukosa. Reaksi yang terjadi yaitu:



Glukosa yang terbentuk dapat difermentasikan menjadi etanol.

### 2.3.2 Enzim Xylanase

*Xylanase* merupakan enzim ekstraseluler yang dapat menghidrolisis xilan menjadi *xilosa* dan xilo-oligosakarida. *Xylanase* dapat dimanfaatkan untuk proses

pemutih kertas, campuran pakan ternak, penjernihan sirup, pembuatan gula xilosa, dan sebagainya. Penggunaan xilanase untuk mengurangi pemakaian khlorin dalam pemutih kertas, telah memberikan peluang untuk aplikasi bioteknologi dan sekarang telah digunakan pada beberapa pabrik kertas [Bourbonnais et al., 1997; Ruiz-Arribas et al., 1995]. Untuk proses pemutih kertas dipilih *xilanase* yang bersifat termostabil dan tahan pada pH alkali [Beg et al., 2001].

*Xylanase* umumnya berupa protein kecil dengan berat molekul antara 15.000-30.000 Dalton, aktif pada suhu 55°C dengan pH 9 [Yang et al., 1988; Yu et al., 1991]. Pada suhu 60°C dan pH normal, *Xylanase* lebih stabil [Tsujiyo et al., 1992; Cho-Goo et al., 1996].

Enzim *Xylanase* menghidrolisis bagian kerangka utama xylan yang tidak tersubstitusi yaitu pada ikatan  $\beta$ -1,4-D-xylopiranosil [Biely & Tenkanen 1998]. Pemecahan *xylan* secara lengkap dan efisien memerlukan kerjasama dari *Xylanase* dan  $\beta$ -xylosidase (ekso- $\beta$ -*Xylanase*) dengan enzim-enzim lainnya, yaitu:  $\alpha$ -arabinofuranosidase,  $\alpha$ -metilglukurosidase, asetil xylan esterase dan ferulic acid esterase [Degrasi et al, 1998]. Enzim-enzim tersebut bekerja secara sinergis dalam memecah polimer xylan, selanjutnya menciptakan sisi baru bagi *Xylanase* atau memecah oligosakarida linier dan substitusi yang dipisahkan oleh *Xylanase*. Genus *Trichoderma* diketahui memproduksi semua enzim xylanolitik [Biely & Tenkanen 1998].

## 2.4 Reaksi Hidrolisis

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



Material yang berbasis lignoselulosa memiliki substrat yang cukup kompleks karena didalamnya terkandung lignin, polisakarida, zat ekstraktif, dan senyawa organik lainnya. Bagian yang terpenting dan yang banyak dalam material lignoselulosa adalah polisakarida khususnya selulosa yang terbungkus oleh lignin dengan ikatan yang cukup kuat. Polisakarida tersebut yang akan dihidrolisis menjadi monosakarida seperti glukosa, sukrosa, xilosa, arabiosa dan lain-lain sebelum dikonversi menjadi etanol [Samsuri, 2007].

## 2.5 Fermentasi

Fermentasi berasal dari kata *ferfere* yang artinya mendidihkan. Pada zaman dahulu para ahli berpendapat bahwa terbentuknya gas dari suatu cairan dianalogikan sebagai air mendidih, oleh karena itu proses tersebut dinamakan fermentasi. Reaksi pembentukan etanol terjadi karena adanya aktivitas ragi yang ada pada substrat. Ragi akan menggunakan materi yang mengandung karbon seperti glukosa untuk proses respirasi. Proses ini menghasilkan energi bagi *yeast* tersebut.

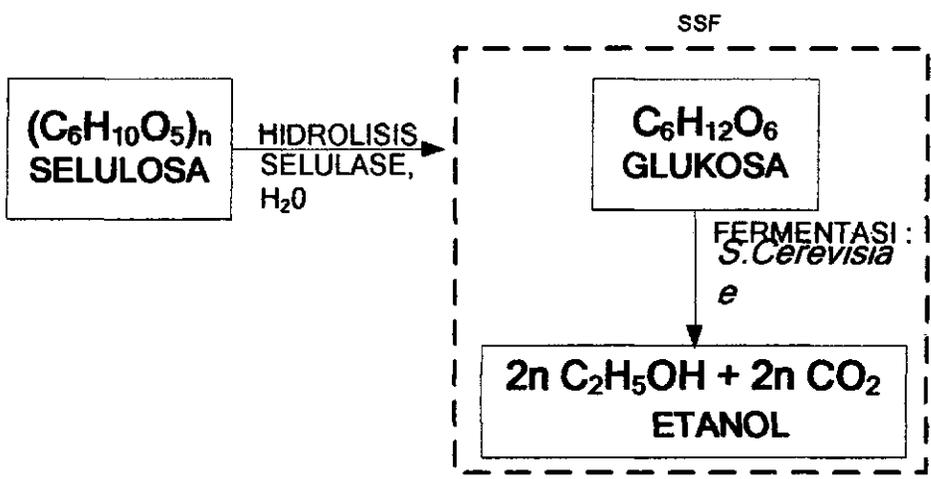
Fermentasi etanol dapat dilakukan oleh *yeast* dan beberapa jenis bakteri. *Yeast* adalah organisme umum yang sering digunakan untuk industri. Mikroba yang umum digunakan adalah *Saccaromyces Cerevisiae* merupakan mikroba tradisional [Hamidimotlagh et al, 2007] *Saccharomyces* merupakan *yeast* yang memiliki kemampuan mengubah glukosa menjadi alkohol dan CO<sub>2</sub>. *Saccharomyces* mikroorganisme bersel satu tidak *berklorofil*, termasuk kelompok *Eumycetes*. Beberapa kelebihan *saccharomyces* dalam proses fermentasi yaitu mikroorganisme ini cepat berkembang biak, tahan terhadap kadar alkohol yang tinggi, tahan terhadap suhu yang tinggi, mempunyai sifat stabil dan cepat mengadakan adaptasi.

## 2.6 Proses Sakarifikasi Dan Fermentasi Serentak (SSF)

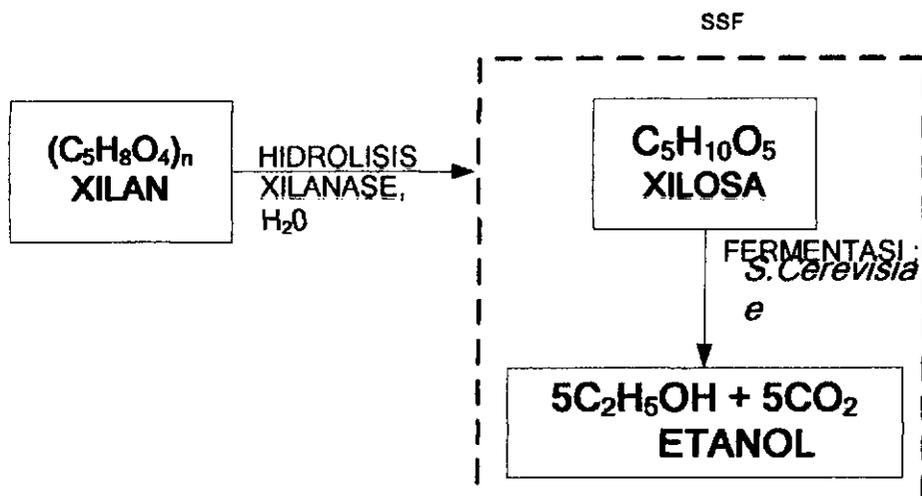
Secara umum, teknologi proses untuk menghasilkan bioetanol dapat dibedakan menjadi dua jenis. Pertama, proses hidrolisis dan fermentasi yang dilakukan secara terpisah disebut *Separated Hydrolysis and Fermentation* (SHF). Kedua, hidrolisis dan fermentasi berlangsung secara bersamaan dalam reaktor yang sama disebut dengan *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF).

SSF pertama kali diperkenalkan oleh Takagi [Takagi *et al*, 1977] yaitu kombinasi antara hidrolisis menggunakan enzim dengan fermentasi gula menjadi etanol secara simultan. Proses SSF memungkinkan terjadinya hidrolisis yang lebih maksimal terutama pada proses yang menggunakan enzim dalam proses hidrolisisnya. Hal ini dapat terjadi karena hasil hidrolisis langsung dikonversi menjadi etanol, mengingat bahwa produk hidrolisis yang berupa monomer gula merupakan inhibitor bagi enzim pada hidrolisis polisakarida, sehingga polisakarida yang terkonversi menjadi monosakarida tidak kembali menjadi polisakarida karena langsung difermentasi menjadi etanol. Selain dapat mengurangi inhibisi produk akhir dari enzim, proses SSF juga memerlukan biaya yang lebih rendah dibandingkan SHF. Biaya yang dimaksud adalah biaya peralatan yang digunakan. Proses SSF juga telah menunjukkan hasil (*yield*) etanol yang jauh lebih tinggi dibandingkan SHF [Soderstrom dalam Sassner, 2005]. Deskripsi proses SSF secara umum dapat di lihat pada Gambar 2.3 dan Gambar 2.4.

Proses sakarifikasi dan fermentasi serentak dengan menggunakan enzim *Xylanase* dari bagas, untuk meningkatkan produksi etanol yang maksimal dengan cara menambahkan HCl dengan konsentrasi 0,5% dan 1% pada pH 4, 4,5, 5 menghasilkan konsentrasi etanol antara 2,357 g/L sampai 2,709 g/L [samsuri, 2007].



**Gambar 2.3** Skema Reaksi Proses Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak (SSF) dari Selulosa Menjadi Etanol



**Gambar. 2.4** Skema Reaksi Proses Sakarifikasi dan Fermentasi Seretak (SSF) dari Xilan Menjadi Etanol.

## 2.7 Etanol

Etanol ( $C_2H_5OH$ ) adalah golongan senyawa alkohol yang memiliki 2 atom karbon. Etanol merupakan salah satu alternatif bahan bakar pengganti bahan bakar minyak yang kian lama kian menipis. Produksi etanol yang pada umumnya dapat dibuat secara sintesis dari minyak bumi



Etanol yang diproduksi dari biomassa dan digunakan sebagai campuran bahan bakar lebih dikenal dengan istilah Bioetanol [Kim *et al*, 2003].

Bioetanol memiliki nilai oktan lebih tinggi dari gasoline sehingga dapat menggantikan fungsi bahan aditif seperti *Methyl Testier Butyl Ether* (MTBE) dan *Tetra Ethyl Lead* (TEL) yang kurang ramah lingkungan (Tabel 2.4).

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

**Tabel 2.4** Perbandingan Bilangan Oktan antara Bioetanol dan Gasoline

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

Sumber: Visionengineer, 2004

## 2.8 Pengujian Kadar Bioetanol

Pengujian kadar bioetanol dalam cairan fermentasi merupakan salah satu hal yang penting dalam proses produksi bioetanol. Pada dasarnya ada tiga metode untuk pengujian kadar bioetanol yaitu : analisis dengan GC (*Gas Chromatography*) atau HPLC (*High Performance Liquid Gas Chromatography*), metode enzim (enzyme kit) dan hydrometer (alkohol meter). [Isroi.wordpress.com].

Dari ketiga metode tersebut analisis dengan GC atau HPLC merupakan yang paling bagus karena mampu menganalisa dalam konsentrasi yang kecil dan lebih akurat. Dalam gas *chromatography* (GC), Gas (yang biasa disebut *carier gas*) digunakan untuk membawa sampel melewati lapisan (bed) material. Karena gas yang bergerak, maka disebut *mobile phase* (fasa bergerak), sebaliknya lapisan material yang diam disebut *stationary phase* (fasa diam).

Peralatan gas *chromatography* (GC) terdiri dari : *Injection system* (untuk memasukkan gas dan sampel ke dalam *column*), *Oven* (untuk memanaskan *column* pada suhu tertentu sehingga mempermudah proses pemisahan komponen sampel), *Column* (berisi fasa diam dimana fasa bergerak akan lewat di dalamnya sambil membawa sampel), *Detector* (mendeteksi komponen yang keluar dari *column*), *Control system* (mengontrol tekanan, laju alir gas dan suhu oven), *Data Aquisition* (Perangkat gabungan dari *software* dan *hardware*)