

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Biomassa *Reject Pulp*

Biomassa adalah bahan organik yang dihasilkan pada proses fotosintesis dan dapat didegradasi secara biologis. Biomassa merupakan sumber daya *renewable* dan di dalamnya tersimpan energi dalam jumlah banyak. Komposisi kimia utama penyusun biomassa adalah selulosa, hemiselulosa dan lignin. Secara umum terdapat tiga jenis sumber penghasil biomassa, yaitu hasil hutan, tumbuhan dan sisa dari kegiatan pertanian. Biomassa dari sisa kegiatan pertanian sangat berpotensi dimanfaatkan menjadi sumber energi mengingat Indonesia merupakan negara agraris. Pemanfaatan biomassa dari sisa kegiatan pertanian seperti jerami padi, bagas, tongkol jagung, tandan kosong sawit (TKS) dan *reject pulp* (limbah padat industri *pulp* dan *paper*) belum optimal. Tabel 2.1. berikut menampilkan contoh-contoh biomassa beserta komposisi kimia yang terkandung di dalamnya.

**Tabel 2.1** Contoh Biomassa dan Komposisi Kimianya

Biomassa	$\alpha$ - Selulosa (% Berat)	Hemiselulosa (% Berat)	Lignin (% Berat)	Lain-lain (% Berat)
Bagas*	52,7	17,5	24,2	5,6
Jerami padi**	37,71	21,99	24,20	16,10
TKS***	45	26	17	12
Tongkol jagung****	40	36	16	8

Sumber: \*Latifah [2008], \*\*Dewi [2002], \*\*\*Isroi [2008], \*\*\*\*Setyawati [2006]

Sedangkan komposisi kimia dari *reject pulp* yang dihasilkan oleh PT. Riau Andalan *Pulp* dan *Paper* disajikan pada Tabel 2.2 berikut.

Industri *pulp* dan *paper* yang ada di propinsi Riau menghasilkan *reject pulp* berlimpah. *Reject pulp* merupakan sisa potongan kayu yang tidak termasak sempurna di dalam tangki digester akibat adanya mata kayu. Secara singkat proses

diperolehnya *reject pulp* adalah kayu yang telah berbentuk *chip-chip* di masak dalam tangki digester lalu menuju ke proses penyaringan *pulp* (*screening*). Diproses *screening* inilah terjadi penyaringan *pulp* dengan ukuran tertentu dan seragam. Dari proses ini terdapat *pulp* yang tidak lolos *screening* disebut sebagai *reject pulp*. *Reject pulp* ini belum dimanfaatkan secara optimal hanya baru sebatas untuk ditimbun dan dijadikan bahan bakar, namun dengan membakar langsung panas yang dihasilkan tidak mencukupi untuk memenuhi kebutuhan *steam* karena nilai bakarnya rendah [PT.RAPP, 2010].

**Tabel 2.2** Komposisi Kimia *Reject Pulp*

Kandungan Kimia	Nilai (% berat)
$\alpha$ -selulosa	85,16
Hemiselulosa	10,33
Klason-lignin	3,15
Ekstraktif-EB	1,16
Abu ( <i>ash</i> )	0,20

Sumber: PT. RAPP [2010]

*Reject pulp* merupakan lignoselulosa yang memiliki banyak selulosa, hemiselulosa dan lignin yang kemudian dapat dihidrolisa menggunakan enzim atau katalis asam menghasilkan monosakarida berupa glukosa, xilosa dan lain-lain [Sjostrom, 1993]. Setelah dilakukan proses hidrolisa menggunakan katalis asam, maka komponen yang terkandung di dalam *reject pulp* yaitu selulosa 51,43% berat, hemiselulosa 36,07% berat, lignin 5,3% berat dan ekstraktif 7,2% berat [Purnama, 2009]. Selulosa, hemiselulosa, lignin dan ekstraktif yang tersisa di dalam *reject pulp* masih banyak jika dihidrolisa menggunakan katalis asam.

Gambar 2.1 Struktur Selulosa [Bernati, 1996]

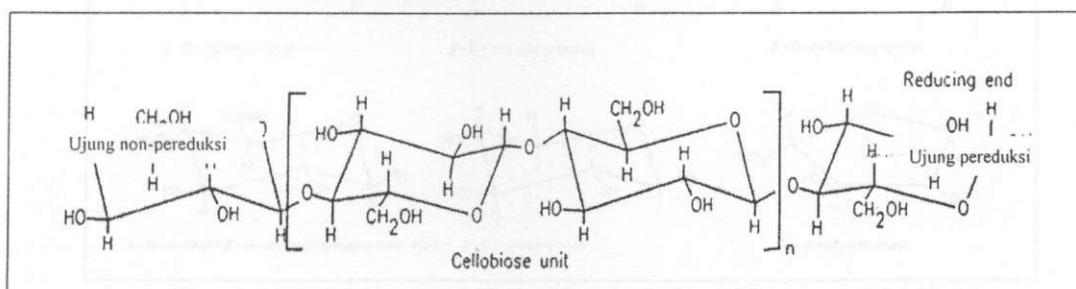
## 2.2 Lignoselulosa

Lignoselulosa merupakan komponen organik di alam yang belum digunakan secara maksimal dan terdiri dari tiga tipe polimer, yaitu selulosa (35-70% berat), hemiselulosa (13-35% berat) dan lignin (13-30% berat) [Shofinita, 2009]. Banyaknya selulosa dan hemiselulosa yang dimiliki dalam biomassa

disebut holoselulosa. Komponen ini merupakan sumber penting untuk menghasilkan produk yang bermanfaat seperti gula dari proses fermentasi, bahan kimia dan bahan bakar cair. Lignoselulosa dapat diperoleh dari bahan kayu, jerami, batang pisang, rumput-rumputan, limbah pertanian/hutan, limbah industri (kayu, kertas) dan bahan berserat lainnya. Kandungan dari ketiga komponen lignoselulosa bervariasi tergantung dari jenis bahannya [Anindyawati, 2009].

### 2.2.1 Selulosa

Selulosa merupakan senyawa organik atau jenis polisakarida yang paling melimpah pada hampir setiap struktur tanaman serta diproduksi juga oleh sebagian kecil dari bakteri. Struktur kimia selulosa berupa polisakarida linear seperti terlihat pada Gambar 2.1. Selulosa adalah salah satu komponen utama dari lignoselulosa yang terdiri dari unit monomer D-glukosa terikat pada ikatan  $\beta$ -1,4-glukosida. Ikatan  $\beta$ -1,4-glukosida pada serat selulosa dapat dipecah menjadi monomer glukosa dengan cara hidrolisis asam atau enzimatis. Dua unit glukosa yang berdekatan terbentuk dari eliminasi satu molekul air antara dua gugus hidroksil pada atom karbon 1 dan 4. Perulangan dari rantai selulosa yang terdiri dari dua buah glukosa akan membentuk selobiose. Kandungan selulosa pada kayu berkisar 45% dari berat kering [Anindyawati, 2009].



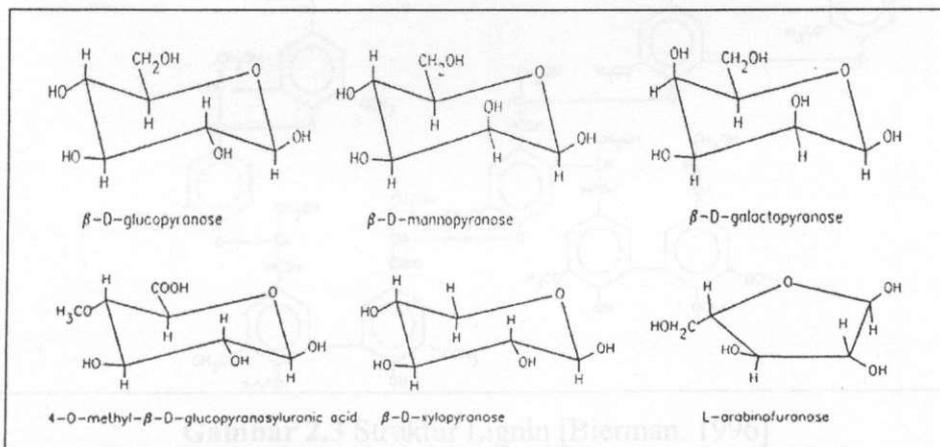
Gambar 2.1 Struktur Selulosa [Bierman, 1996]

Panjang molekul selulosa ditentukan oleh jumlah unit glukan di dalam polimer, yang disebut dengan derajat polimerisasi. Derajat polimerisasi selulosa tergantung pada jenis tanaman dan umumnya dalam kisaran 2000–27000 unit glukan [Isroi, 2008]. Selulosa tidak larut dalam kebanyakan pelarut, tetapi dapat

dilarutkan dalam beberapa asam pekat, seperti asam sulfat (72%), asam klorida (41%), asam trifluoroasetat (100%) dan asam asetat (95%) [Fengel dan Wegener, 1984]. Kandungan karbon yang relatif tinggi dibandingkan dengan selulosa dan hemiselulosa menyebabkan lignin memiliki energi yang tinggi.

### 2.2.2 Hemiselulosa

Hemiselulosa merupakan kelompok polisakarida dengan berat molekul rendah yang keberadaannya terbanyak kedua setelah selulosa. Hemiselulosa mengikat lembaran serat selulosa membentuk mikrofibril yang mengikat stabilitas dinding sel. Hemiselulosa juga berikatan silang dengan lignin membentuk jaringan kompleks dan memberikan struktur yang kuat. Hemiselulosa terdiri dari kumpulan beberapa unit gula atau disebut heteropolisakarida. Monomer gula penyusun hemiselulosa terdiri dari xilosa, mannososa, glukosa, galaktosa, arabinosa, dan sejumlah kecil asam lainnya seperti terlihat pada Gambar 2.2. Xilosa adalah salah satu gula C-5 dan merupakan gula terbanyak kedua setelah glukosa. Hemiselulosa lebih mudah dihidrolisis daripada selulosa, tetapi gula C-5 lebih sulit difermentasi menjadi etanol.



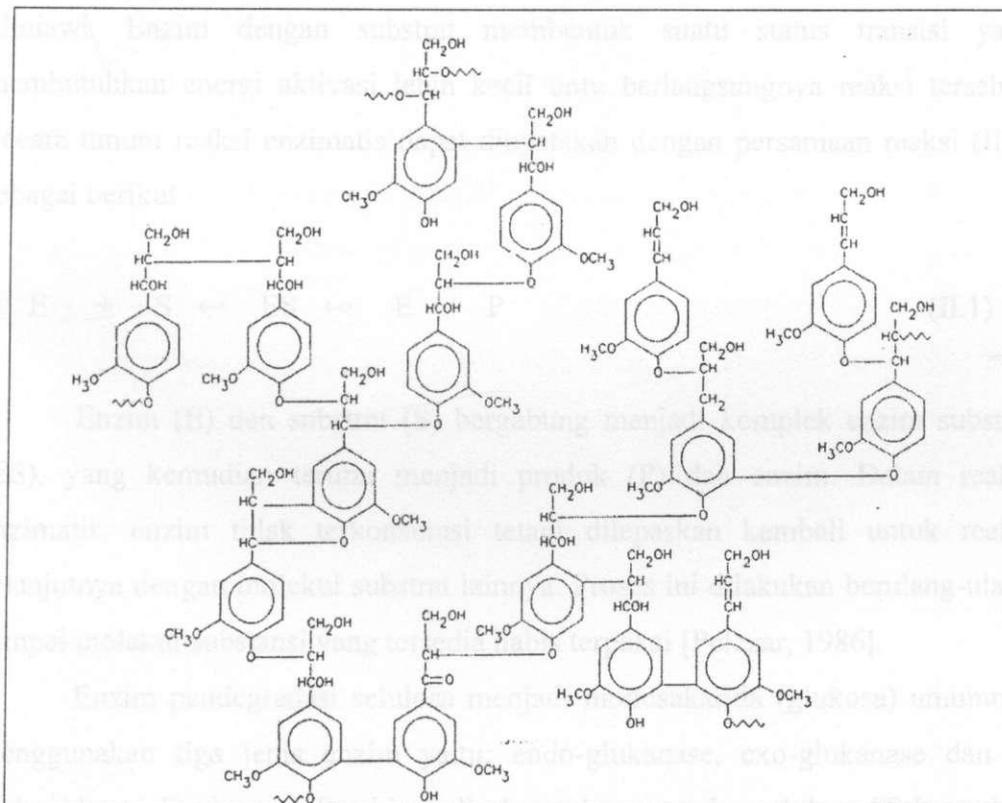
Gambar 2.2 Monomer Gula Hemiselulosa [Bierman 1996]

### 2.2.3 Lignin

Lignin merupakan polimer dengan struktur aromatik yang terbentuk melalui unit-unit penilpropan yang berhubungan oleh beberapa jenis ikatan yang berbeda seperti ditampilkan dalam Gambar 2.3. Lignin adalah material yang

paling kuat dalam biomassa karena strukturnya yang kompleks dan heterogen. Lignin sangat resisten terhadap degradasi, baik secara biologi, enzimatik, maupun kimia. Kandungan karbon yang relatif tinggi dibandingkan dengan selulosa dan hemiselulosa menyebabkan lignin memiliki energi yang tinggi.

Lignin mempunyai kelarutan yang sangat rendah dalam kebanyakan pelarut. Lignin dapat larut dalam asam organik pekat dan alkali encer, namun tidak larut dalam air maupun asam mineral kuat. Lignin dapat diisolasi dengan cara menghidrolisis, mengekstraksi atau mengubahnya menjadi turunan lignin.



Gambar 2.3 Struktur Lignin [Bierman. 1996]

### 2.3 Enzim pendegradasi lignoselulosa

Enzim merupakan katalisator biologis yang dihasilkan oleh sel-sel hidup dan dapat membantu mempercepat bermacam-macam reaksi biokimia. Kelebihan enzim dibandingkan dengan katalis biasa yaitu dapat meningkatkan produk lebih



tinggi, bekerja pada pH yang relatif netral dan suhu yang relatif rendah, bersifat spesifik dan selektif terhadap substrat tertentu. Enzim memegang peranan penting dalam berbagai reaksi di dalam sel [Richana, 2008].

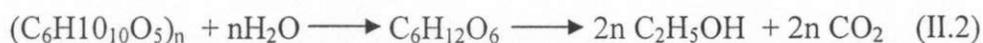
Enzim komersil selulase, selobiose dan xilanase termasuk kedalam golongan enzim hidrolase, dimana enzim ini dapat menghidrolisis pada reaksi hidrolitik rantai panjang. Hidrolisis menggunakan enzim dapat bekerja pada kondisi: pH 4,5-5 dan temperatur 30-50°C. Hal ini dapat mengurangi terjadinya masalah korosi, konsumsi utilitas rendah dan bahaya racun rendah [Taherzadeh, 2007].

Enzim berfungsi untuk mengurangi energi aktivasi pada suatu reaksi kimiawi. Enzim dengan substrat membentuk suatu status transisi yang membutuhkan energi aktivasi lebih kecil untuk berlangsungnya reaksi tersebut. Secara umum reaksi enzimatik dapat dinyatakan dengan persamaan reaksi (II.1) sebagai berikut :



Enzim (E) dan substrat (S) bergabung menjadi kompleks enzim substrat (ES), yang kemudian terurai menjadi produk (P) dan enzim. Dalam reaksi enzimatik, enzim tidak dikonsumsi tetapi dilepaskan kembali untuk reaksi selanjutnya dengan molekul substrat lainnya. Proses ini dilakukan berulang-ulang sampai molekul substansi yang tersedia habis terpakai [Pelczar, 1986].

Enzim pendegradasi selulosa menjadi monosakarida (glukosa) umumnya menggunakan tiga jenis enzim yaitu: endo-glukanase, exo-glukanase dan β-glukosidase. Enzim tersebut biasa disebut sebagai enzim selulase [Taherzadeh, 2007]. Glukosa di konversi menjadi etanol dengan bantuan *yeast Saccharomyces cerevisiae*, seperti persamaan reaksi (II.2) berikut.

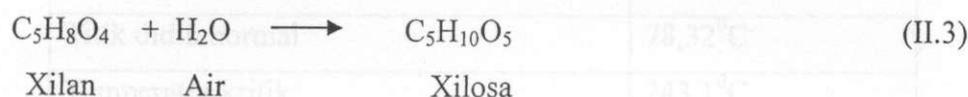


Selulosa      Air      Glukosa      Etanol      Karbondioksida



Sedangkan enzim selobiose merupakan bagian dari sistem enzim selulase yaitu  $\beta$ -glukosidase. Fungsi enzim ini adalah menghidrolisis selobiosa dan selo-oligosakarida yang terdapat di dalam selulase menjadi glukosa [Latifah, 2008].

Xilanase merupakan kelompok enzim yang memiliki kemampuan menghidrolisis xilan yang terdapat dalam hemiselulosa menjadi xilosa, seperti persamaan reaksi (II.3) berikut.



## 2.4 Etanol

Etanol ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ) adalah sejenis cairan mudah menguap, mudah terbakar, tak berwarna, memiliki bau khas dan merupakan alkohol yang paling sering digunakan dalam kehidupan sehari-hari. Etanol merupakan golongan senyawa alkohol yang memiliki dua atom karbon. Sifat-sifat fisik etanol dapat dilihat pada Tabel 2.3. Sifat-sifat kimia etanol ditentukan oleh rantai hidroksil. Etanol dapat mengalami reaksi dehidrasi, dehidrogenasi, oksidasi, dan esterifikasi. Karakteristik spesifik rantai hidroksil ini yang menyebabkan etanol termasuk zat kimia utama sebagai bahan baku dan produk antara bagi sintesis zat kimia lain sampai sekarang.

Etanol dapat diproduksi dengan sintesa kimia biasa maupun melalui proses fermentasi. Produksi etanol secara kimia dapat disintesis dari etilen melalui reaksi (II.4).



Sedangkan proses fermentasi etanol berlangsung dengan bantuan enzim yang dihasilkan oleh mikroba. Substrat glukosa dalam keadaan anaerob akan diuraikan menjadi etanol dan  $\text{CO}_2$  mengikuti reaksi (II.5).





Glukosa            Etanol            Karbondioksida

**Tabel 2.3** Sifat-sifat fisik etanol

Sifat Fisik	Nilai
Titik beku	-114,1 <sup>0</sup> C
Titik didih normal	78,32 <sup>0</sup> C
Temperatur kritis	243,1 <sup>0</sup> C
Tekanan kritis	63 atm
Volum kritis	0,167 l/mol
Densitas	0,7893
Indeks bias	1,36143
Viskositas, 20 <sup>0</sup> C	1,17 cP
Panas penguapan, pada titik didih normal	200,6 kalori/gram
Panas pembakaran, 25 <sup>0</sup> C	7092,9 kalori/gram
Flammable limit in air lower	4,3 % volum
Flash point	21,11 <sup>0</sup> C (70 <sup>0</sup> )
Kalor spesifik	0,579 kalori/(g <sup>0</sup> C)

Sumber : Kirk dan Othmer [1994]

Etanol dibuat melalui proses fermentasi biomassa tersusun dari karbohidrat atau fraksi glukosa. Bahan yang umum digunakan sebagai bahan mentah adalah tanaman berkadar glukosa tinggi seperti jagung, singkong atau ubi, kelapa sawit, jerami dan lain-lain. Etanol yang diproduksi dari biomassa dan digunakan sebagai campuran bahan bakar lebih dikenal dengan istilah Bioetanol. Bioetanol memiliki nilai oktan lebih tinggi daripada bensin yakni mencapai 108, sedangkan nilai oktan bensin hanya sekitar 87-98. Sehingga, keberadaan bioetanol dapat menggantikan fungsi *Methyl Tertier Butyl Ether* (MTBE) dan *Tetra Ethyl Lead* (TEL) yang kurang ramah lingkungan sebagai bahan aditif untuk meningkatkan nilai oktan bensin [Latifah, 2008].

Untuk pengganti bensin, terdapat alternatif gasohol yang merupakan campuran antara bensin dan bioetanol. Bioetanol dapat menghasilkan paling sedikit 20% energi lebih tinggi dibandingkan dengan energi yang digunakan dalam proses produksinya. Selain itu, proses produksi dan pembakaran etanol dapat menurunkan 12% gas rumah kaca dibandingkan dengan bahan bakar fosil [Ida, 2008].

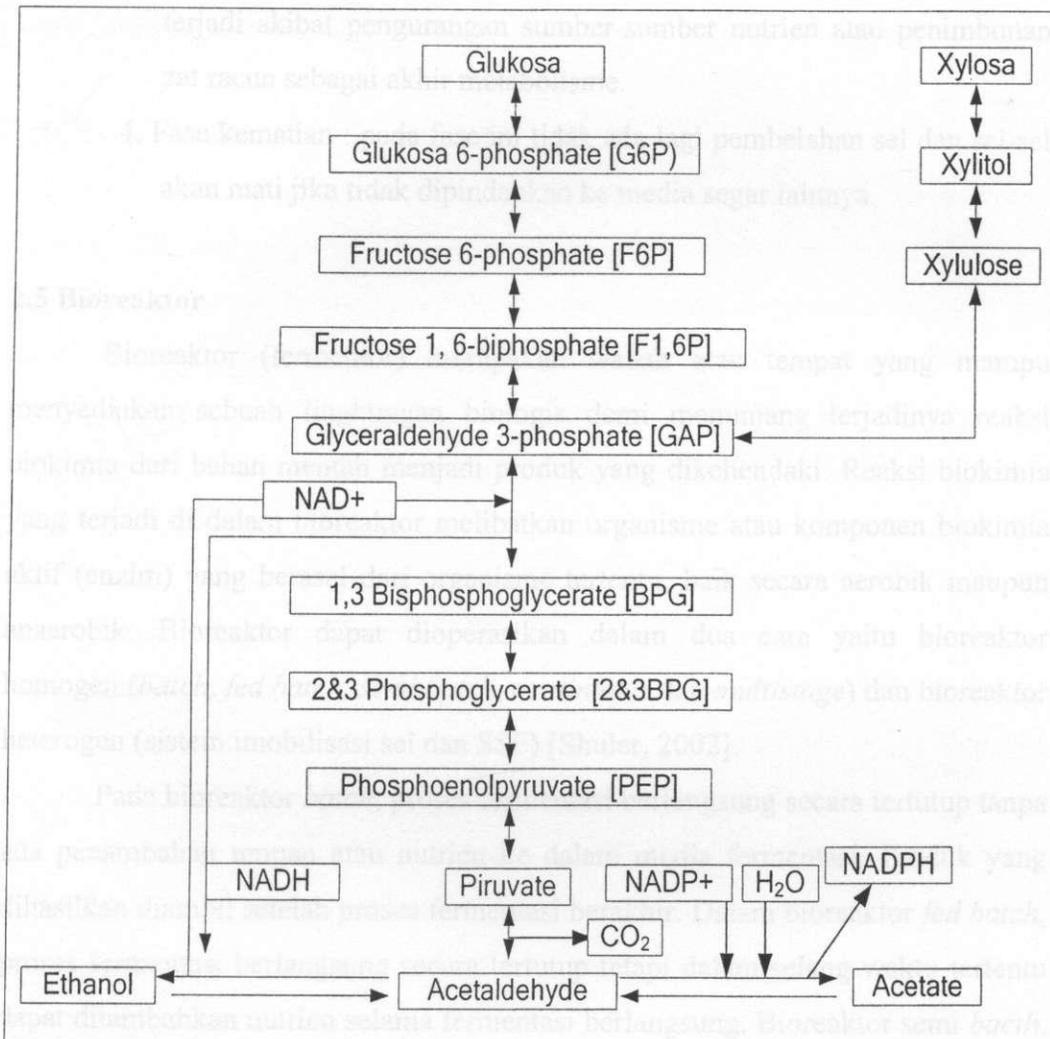
Fermentasi tidak hanya terjadi pada gula heksosa (glukosa). Gula pentosa yang berupa xilosa merupakan monomer dari xilan juga dapat membentuk etanol melalui fermentasi. Reaksi fermentasi xilosa menjadi etanol berlangsung sebagai berikut:



Secara metabolisme proses fermentasi glukosa dan xilosa dapat dilihat pada **Gambar 2.4**. Dari **Gambar 2.4** dapat dilihat bahwa pembentukan etanol pada proses fermentasi diawali dengan perombakan baik glukosa maupun xilosa menjadi *piruvat*, kemudian diubah menjadi asetaldehid, karena tidak ada oksigen bebas ( $O_2$ ) maka untuk bertahan hidup khamir membutuhkan  $NAD^+$ . Untuk mendapatkan  $NAD^+$  khamir harus merubah asetaldehid menjadi etanol. Pada proses fermentasi, produk yang dihasilkan tidak hanya etanol, akan tetapi juga menghasilkan produk seperti asam asetat. Asam asetat dihasilkan jika konsentrasi etanol sudah mengganggu kehidupan khamir. Untuk meningkatkan ketahanan hidup sel *S. cerevisiae* terhadap peningkatan konsentrasi etanol di dalam media hidupnya, akan terjadi peningkatan produksi ergosterol [Del Castillo Agudo, 1992] dan asam lemak jenuh  $C_{18}$  maupun asam lemak tak jenuh  $C_{18:1}$  [Beaven dkk., 1982]. Sintesis sterol (ergosterol), maupun asam lemak dan pemanjangan rantai asam lemak dari  $C_{16}$  (palmitat) menjadi asam lemak  $C_{18}$  (stearat), memerlukan NADPH [Nelson & Cox, 2004]. NADPH diperoleh dari reaksi biokonversi asetaldehid menjadi asetat. Biokonversi asetaldehid menjadi asetat akan menggeser kesetimbangan antara etanol dan asetaldehid ke arah pembentukan asetaldehid (**Gambar 2.4**), sehingga konsentrasi etanol berkurang karena terjadi penyerapan etanol dari lingkungan masuk ke dalam sel khamir. Ketika jumlah asam lemak  $C_{18}$  telah mencukupi, biokonversi asetaldehid menjadi



asetat akan berkurang, sehingga kesetimbangan asetaldehid dan etanol bergeser kembali ke pembentuk etanol.



**Gambar 2.4** Metabolisme *S.cerevisiae* pada Proses Fermentasi glukosa dan xyloza menjadi etanol dan asam asetat [Pitkanen dkk, 2005]

Tahap pertumbuhan khamir sebagai berikut :

1. Fase lambat : pada fase ini massa sel meningkat tapi tidak terjadi pembelahan sel.
2. Fase cepat : pada fase ini terjadi pembelahan sel akan tumbuh dan membelah diri secara eksponensial hingga jumlah maksimum.

3. Fase stasioner : pada fase ini laju pembelahan sel sebanding dengan laju kematian sel, sehingga jumlah sel hidup tetap konstan. Fase ini terjadi akibat pengurangan sumber-sumber nutrisi atau penimbunan zat racun sebagai akhir metabolisme.
4. Fase kematian : pada fase ini tidak ada lagi pembelahan sel dan sel-sel akan mati jika tidak dipindahkan ke media segar lainnya.

## 2.5 Bioreaktor

Bioreaktor (fermentor) merupakan wadah atau tempat yang mampu menyediakan sebuah lingkungan biologis demi menunjang terjadinya reaksi biokimia dari bahan mentah menjadi produk yang dikehendaki. Reaksi biokimia yang terjadi di dalam bioreaktor melibatkan organisme atau komponen biokimia aktif (enzim) yang berasal dari organisme tertentu, baik secara aerobik maupun anaerobik. Bioreaktor dapat dioperasikan dalam dua cara yaitu bioreaktor homogen (*batch*, *fed batch*, *semi batch*, *continuous* dan *multistage*) dan bioreaktor heterogen (sistem imobilisasi sel dan SSF) [Shuler, 2002].

Pada bioreaktor *batch*, proses fermentasi berlangsung secara tertutup tanpa ada penambahan umpan atau nutrisi ke dalam media fermentasi. Produk yang dihasilkan diambil setelah proses fermentasi berakhir. Dalam bioreaktor *fed batch*, proses fermentasi berlangsung secara tertutup tetapi dalam selang waktu tertentu dapat ditambahkan nutrisi selama fermentasi berlangsung. Bioreaktor *semi batch*, selama proses fermentasi berlangsung sebagian produk atau media fermentasi dapat diambil dari bioreaktor. Sedangkan bioreaktor *continuous*, proses fermentasi berlangsung secara kontinu dengan penambahan nutrisi dan pengambilan produk dalam selang waktu tertentu [Ahmad, 1993]. Sistem bioreaktor imobilisasi sel menggunakan biokatalisator berupa enzim. Dan bioreaktor SSF, proses fermentasi dan hidrolisis berlangsung secara berkelanjutan [Latifah, 2008].

Bioreaktor berfungsi untuk menghasilkan produk atau mikroba baik kultur murni atau campuran. Pemilihan bioreaktor ditentukan oleh jenis makhluk hidup yang digunakan, sifat media, parameter bioproses dan faktor produksi. Kinerja bioreaktor berdasarkan pada kinetika reaksi biokimia dan fenomena perpindahan



massa yang terjadi didalam bioreaktor tersebut. Adapun parameter kontrol yang terdapat pada bioreaktor yaitu pH, temperatur, oksigen terlarut dan kecepatan putar pengaduk [Shuler, 2002].

## 2.6 Hidrolisis Enzimatik

Hidrolisis merupakan suatu proses pemecahan sebagian besar fraksi selulosa dan hemiselulosa dari biomassa menjadi gula penyusunnya. Proses hidrolisis untuk memproduksi etanol dari biomassa dapat dilakukan dengan dua cara yaitu hidrolisis menggunakan asam (*acid hydrolysis*) dan enzim (*enzymatic hydrolysis*). Keuntungan dari hidrolisis dengan enzim yaitu dapat mengurangi penggunaan asam sehingga dapat mengurangi efek negatif terhadap lingkungan [Samsuri, 2007]. Enzim yang digunakan harus sesuai dengan hidrolisis polisakarida. Pada hidrolisis biomassa, komponen yang akan dihidrolisis adalah selulosa dan hemiselulosa [Lee, 1997].

Untuk menghidrolisis selulosa diperlukan enzim selulase. Namun, proses hidrolisis tidak semuanya terjadi secara sempurna, karena sebagian dari hidrolisis selulosa menjadi selobiosa merupakan bentuk dari disakarida yang dikenal sebagai hidrolisis parsial [Himmel *et al*, 1996]. Sehingga diperlukan enzim selobiase untuk menghidrolisis selobiosa tersebut. Sedangkan hemiselulosa dimana kandungan utamanya adalah xylan, dapat dihidrolisis dengan menggunakan enzim xilanase [Lee, 1997]. Oleh karena itu, untuk memproduksi etanol dengan yield yang tinggi maka digunakan kombinasi dari ketiga enzim tersebut yakni selulase, selobiase dan xilanase.

## 2.7 Fermentasi Menggunakan Yeast

Fermentasi berasal dari bahasa latin yaitu '*fevere*' yang artinya mendidih. Peristiwa mendidih sebenarnya timbul dari gelembung-gelembung CO<sub>2</sub> yang dihasilkan dari proses katabolisme karbohidrat. Kemudian pengertian fermentasi tersebut berkembang dan didefinisikan sebagai proses penguraian yang dilakukan oleh mikroorganisme. Proses penguraian tersebut tidak hanya terhadap



karbohidrat tetapi juga terhadap protein, lemak, asam dan zat-zat lainnya karena ada aktivitas enzim [Ahmad, 1993].

Fermentasi etanol dapat dilakukan oleh *yeast* dan beberapa jenis bakteri. *Yeast* yang sering berperan dalam industri adalah dari golongan *Saccharomyces* yakni *S. cerevisiae*, *S. ellipsoideus*, *S. carlsbergensis*, *S. fragilis* dan *Schizosaccharomyces pombe* [Latifah, 2008]. Diantara beberapa jenis *Saccharomyces* yang paling sering digunakan dalam industri maupun sebagai jasad inang eukariotik adalah *Saccharomyces cerevisiae*.

*Saccharomyces cerevisiae* merupakan *yeast* yang memiliki kemampuan mengubah glukosa menjadi alkohol dan CO<sub>2</sub>. Beberapa kelebihan *Saccharomyces cerevisiae* 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. Suhu optimum untuk fermentasi antara 28–30<sup>0</sup>C [Latifah, 2008]. *Yeast* ini dapat digunakan untuk semua heksosa yang diperoleh dari bahan lignoselulosa tetapi *yeast* ini tidak dapat diiggunakan untuk xilosa.

Selain menggunakan *yeast Saccharomyce cerevisiae*, dalam proses fermentasi dapat menggunakan *yeast pichia stipitis*. *Pichia stipitis* merupakan *yeast* yang memiliki kemampuan mengubah xilosa menjadi etanol. *Pichia stipitis* dapat ditemukan dalam isi perut rayap. Kelebihan dari *Pichia stipitis* ini adalah bisa digunakan baik pada proses fermentasi secara aerobik maupun anaerobik. *Yeast* ini tidak tahan terhadap etanol dengan konsentrasi lebih besar dari 30 gr/L.

Kemampuan *Saccharomyces cerevisiae* dan *pichia stipitis* dalam memfermentasi gula dengan konsentrasi awal 20 g/L dapat dilihat pada Tabel 2.4 berikut. Dari Tabel 2.4 dapat dilihat bahwa *pichia stipitis* dapat memfermentasi gula baik heksosa maupaun pentosa, tetapi untuk mendapatkan hasil etanol maksimum membutuhkan waktu yang cukup lama dibandingkan dengan *Saccharomyces cerevisiae*. Untuk mengatasi masalah tersebut maka perlu dilakukan kombinasi antara *pichia stipitis* dengan *yeast* yang mampu memfermentasi glukosa seperti *Saccharomyces cerevisiae*.

dilakukan secara terpisah disebut *Separated Hydrolysis and Fermentation (SHF)*.



**Tabel 2.4** Kemampuan *Saccharomyces cerevisiae* dan *Pichia stipitis* dalam Memfermentasi Gula

Yeast	Fermentasi	Etanol Maksimum	Waktu Fermentasi (Jam)
<i>Saccharoyces cerevisiae</i>	Glukosa	8,107	18
	Xilosa	0	-
	Manosa	7,280	36
	Galaktosa	6,800	48
<i>Pichia stipitis</i>	Glukosa	8,180	30
	Xilosa	8,141	60
	Manosa	7,440	48
	Galaktosa	7,320	48

Sumber: Rouhollah *et al* [2007]

Pertumbuhan *yeast* dalam fermentasi melalui beberapa fasa yakni fasa *lag* (fasa adaptasi), fasa *log* (fasa eksponensial), fasa stasioner dan fasa *declin*. Pada fasa *lag*, pertumbuhan *yeast* relatif sedikit karena sel dalam tahap menyesuaikan diri dengan media fermentasi. Pada fasa *log*, *yeast* telah menyesuaikan diri dengan media (substrat) fermentasi sehingga penimbunan sel berlangsung dengan waktu regenerasi yang cepat. Pada fasa stationer, pertumbuhan *yeast* mencapai keadaan maksimum dan *yeast* yang aktif dan mati relatif seimbang karena nutrisi relatif sedikit. Sedangkan pada fasa *declin*, menunjukkan bahwa sel *yeast* telah banyak yang mati karena nutrisi telah habis. Pertumbuhan mikroorganisme sangat dipengaruhi oleh sumber karbon, nitrogen, mineral, vitamin dan kondisi lingkungan pertumbuhan seperti suhu dan pH [Ahmad, 1993].

Gambar 2.4 Proses Sakarifikasi dan Ko-Fermentasi Serentak (SKFS)

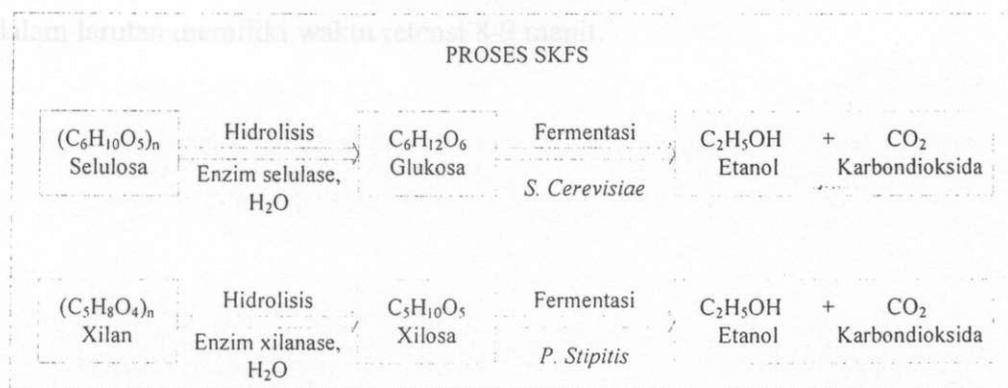
## 2.8 Sakarifikasi dan Ko-Fermentasi Serentak (SKFS)

Secara umum, teknologi proses untuk memproduksi bioetanol dapat dibedakan menjadi tiga 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). Ketiga, Sakarifikasi dan Ko-Fermentasi Serentak (SKFS).

Sakarifikasi dan Ko-Fermentasi Serentak (SKFS) merupakan metoda untuk memproduksi bioetanol dengan mengkombinasi antara proses hidrolisis menggunakan enzim dan fermentasi menggunakan *yeast*. Proses SKFS mengacu pada fermentasi dua jenis gula yaitu gula heksosa (C6) dan pentosa (C5) menjadi etanol. Selulosa dan hidrolisat dari hemiselulosa selama *pretreatment* tidak dipisahkan. Hal ini yang memungkinkan gula hemiselulosa dan selulosa dikonversi menjadi etanol secara bersama-sama. Proses SKFS dianggap sebagai perbaikan dari proses SSF dan ketika diuji labor oleh Departemen Energi AS, dalam bioreaktor SSF hanya heksosa saja yang dikonversi menjadi etanol, dan pentosa dapat difermentasi dalam bioreaktor dengan mikroorganisme lain yang berbeda. Oleh karena itu, dua bioreaktor dan dua langkah produksi diperlukan dalam proses SSF. Dalam proses SKFS, disarankan untuk fermentasi heksosa dan pentosa di lakukan dalam bioreaktor tunggal [Taherzadeh, 2007]. Secara skematis reaksi yang terjadi selama proses Sakarifikasi dan Ko-Fermentasi Serentak (SKFS) dapat dilihat pada Gambar 2.4 berikut.



**Gambar 2.4** Proses Sakarifikasi dan Ko-Fermentasi Serentak (SKSF)

[Samsuri, 2007]

## 2.9 Gas Chromatography (GC)

*Gas Chromatography* adalah teknik kromatografi yang bisa digunakan untuk memisahkan senyawa organik yang mudah menguap. Senyawa-senyawa tersebut harus mudah menguap dan stabil pada temperatur pengujian, utamanya dari 50–3000C. GC menggunakan gas sebagai gas pembawa atau fase geaknya. Kelebihan dari GC ini adalah kita dapat menggunakan kolom lebih panjang untuk menghasilkan efisiensi pemisahan yang tinggi. Fasa gas tidak bersifat reaktif terhadap fasa diam dan zat-zat terlarut. Kelemahannya adalah teknik ini terbatas untuk zat yang mudah menguap [Latifah, 2008].

Alat dasar penyusun GC adalah kolom, detektor dan gas pembawa. Gas pembawa yang paling umum dipakai adalah helium, hidrogen atau nitrogen. Pemilihan gas pembawa bergantung pada detektor yang digunakan. *Gas Chromatography* merupakan metode yang tepat dan cepat untuk memisahkan campuran yang sangat rumit. Waktu yang dibutuhkan beragam, mulai dari beberapa detik untuk campuran sederhana sampai berjam-jam untuk campuran yang mengandung 500-1000 komponen. Komponen campuran dapat diidentifikasi dengan menggunakan waktu tambat (waktu retensi) yang khas pada kondisi yang tepat. Waktu tambat ialah waktu yang menunjukkan berapa lama suatu senyawa tertahan dalam kolom [Latifah, 2008]. Untuk senyawa etanol dalam larutan memiliki waktu retensi 8-9 menit.

### 3.2. Manfaat Penelitian

Ketergantungan Indonesia akan energi yang berasal dari bahan bakar minyak (BBM) sedemikian besar sehingga kini telah menjadi negara pengimpor net BBM. Penelitian ini memiliki tujuan untuk menyediakan bahan bakar alternatif yang ramah lingkungan dan berbasis sumber daya alam terbarukan. Konflik kenaikan harga BBM merupakan permasalahan yang sering dihadapi

