

**PROGRAM KREATIVITAS MAHASISWA**

**PENGARUH PERLAKUAN AWAL AUTOKLAF  
DAN AUTOKLAF-IMPREGNASI TERHADAP PERSEN SAKARIFIKASI  
AMPAS TEBU SECARA ENZIMATIS MENJADI BIOETANOL SEBAGAI  
BAHAN BAKAR ALTERNATIF**

**BIDANG KEGIATAN :  
PKM-AI**

Disusun Oleh:

Nurul Izzati	406332400980 / 2006
Rosita Yusnidar	406332401332 / 2006
Farina Dwi Rahmawati	406332403744 / 2006
Faisol Hidayat	307332405172 / 2007

**UNIVERSITAS NEGERI MALANG  
MALANG  
2010**

**HALAMAN PENGESAHAN USULAN  
PKM-AI**

1. Judul Kegiatan : Pengaruh Perlakuan Awal Autoklaf dan Autoklaf-Impregnasi terhadap Persen Sakarifikasi Ampas Tebu secara Enzimatis Menjadi Bioetanol sebagai Bahan Bakar Alternatif
2. Bidang Kegiatan : () PKM-AI                    ( ) PKM-GT
3. Ketua Pelaksana Kegiatan
  - a. Nama Lengkap : Nurul Izzati
  - b. NIM: 406332400980
  - c. Jurusan : Kimia
  - d. Universitas : Universitas Negeri Malang
  - e. Alamat rumah : Pernang Kec. Buer Kab. Sumbawa, NTB/081807535146
  - f. Alamat Email : izzahn51@yahoo.com
4. Anggota Pelaksana : 3 orang
5. Dosen Pendamping
  - a. Nama Lengkap : Evi Susanti, S.Si., M.Si.
  - b. NIP : 197506516998022001
  - c. Alamat Rumah : Jl. Simpang Cengger Ayam No. 18 Malang/0817213198

Malang, 27 Februari 2010

Menyetujui  
Ketua Jurusan Kimia

Ketua Pelaksana Kegiatan

Dr. Sutrisno, M.Si.  
NIP 196003111988031003

Nurul Izzati  
NIM 406332400980

Pembantu Rektor III

Dosen Pendamping

Kadim Maskjur  
NIP 195412161981021001

Evi Susanti, S.Si., M.Si.  
NIP 197506516998022001

**PENGARUH PERLAKUAN AWAL AUTOKLAF  
DAN AUTOKLAF-IMPREGNASI TERHADAP PERSEN SAKARIFIKASI  
AMPAS TEBU SECARA ENZIMATIS MENJADI BIOETANOL SEBAGAI  
BAHAN BAKAR ALTERNATIF**

**Nurul Izzati, Farina Dwi Rahmawati, Rosita Yusnidar, Faisol Hidayat**

FMIPA, Universitas Negeri Malang (UM)

**ABSTRAK**

*Bioetanol dapat diproduksi dari bahan yang mengandung glukosa, pati, dan selulosa. Sumber selulosa cukup melimpah. Salah satu bahan berselulosa adalah ampas tebu. Selulosa pada ampas tebu terikat dengan hemiselulosa dan dilindungi oleh lignin. Produksi bioetanol pada umumnya diawali dengan tahap hidrolisis. Ampas tebu yang langsung dihidrolisis menghasilkan persen sakarifikasi yang sangat rendah karena lignoselulosa belum terdegradasi secara optimum. Untuk itu diperlukan tahap perlakuan awal sebelum hidrolisis. Selama ini, perlakuan awal yang telah dilakukan masih berkisar pada penguapan suhu tinggi dan penambahan  $H_2SO_4$  pekat. Namun penggunaan suhu tinggi masih sulit diterapkan pada industri menengah ke bawah dan membutuhkan biaya operasional yang cukup tinggi.  $H_2SO_4$  pekat yang digunakan juga membahayakan lingkungan. Dalam penelitian ini, perlakuan awal meliputi pemanasan pada suhu  $121^\circ C$  bertekanan 15 psi selama 15 dan 30 menit dengan menggunakan autoklaf kemudian diikuti dengan impregnasi menggunakan  $H_2SO_4$  dan etanol.  $H_2SO_4$  yang digunakan pada impregnasi bervariasi yaitu 0,1; 0,25; dan 0,5 g, sedangkan variasi volume etanol adalah 100, 200, dan 250 mL. Ampas tebu yang telah diberi perlakuan awal kemudian dihidrolisis menggunakan enzim selulase standar sebanyak 0,1 g selama waktu optimum. Sebelum menghidrolisis ampas tebu yang diberi perlakuan awal, terlebih dahulu menentukan waktu hidrolisis optimum menggunakan ampas tebu tanpa perlakuan awal. Berdasarkan hasil penelitian, persen sakarifikasi tertinggi diperoleh pada ampas tebu yang diautoklaf selama 30 menit kemudian diimpregnasi dengan  $H_2SO_4$  sebanyak 0,25 g yaitu sebanyak 17,827%.*

**Keyword:** bioetanol, ampas tebu, dan sakarifikasi.

**ABSTRACT**

*Bioethanol can be produced from material that contain glucose, amyllum, and cellulose. The source of cellulose is abundant. One of source of cellulose is bagasse. Cellulosa in bagasse interacting with hemicellulose and both of it protected by lignin. Generally, produced of bioethanol start with hydrolyses step, but the glucose yield still low because the lignocellulose not degraded maximum*

*yet . So that, pretreatment needed before hydrolyses to optimized glucose degradation. So far, pretreatment had been doing still about steam at high temperature and use strong  $H_2SO_4$ . But, use a high temperature difficult to do in a midle factory and need expensive coast for operation. Beside its,  $H_2SO_4$  waste harmful enough for the environment. In this experiment, the pretreatment are steamed at  $121^\circ C$  and preasure at 15 psi about 15-30 minute with autoclave, so ythat impregnated with  $H_2SO_4$  and ethanol. The  $H_2SO_4$  variation are 0; 0,1; 0,25; and 0,5 g, and ethanol are 100, 200, and 250 mL. Bagasse was hydrolysed with 0,1 g cellulase enzyme during optimum time. Based on experiment, 17,82% is the high glucose yield is got from bagasse that steamed during 30 minute then impregnated with  $H_2SO_4$ .*

Keyword: bioethanol, bagasse, sacarification.

## PENDAHULUAN

Bioetanol merupakan bahan bakar alternatif yang terbarukan yang digunakan untuk mengurangi penggunaan bahan bakar berbasis biofosil seperti bensin. Salah satu biomassa yang dapat digunakan sebagai bahan dasar pembuatan bioetanol adalah selulosa. Selulosa di alam umumnya ada dalam bentuk lignoselulosa. Struktur lignoselulosa terdiri dari lignin, hemiselulosa, dan selulosa. Hasil penelitian Elba (1996), menunjukkan bahwa lignoselulosa pada ampas tebu lebih kurang terdiri dari 52,7% selulosa, 20% hemiselulosa, dan 24,2% lignin.

Tingginya kandungan selulosa dan hemiselulosa tersebut mendukung penggunaan ampas tebu sebagai bahan baku pembuatan bioetanol. Konversi selulosa dan hemiselulosa menjadi bioetanol yang telah berkembang saat ini masih belum optimum. Hal ini disebabkan karena lignin yang terdapat pada bagian terluar lignoselulosa sangat sukar diuraikan (Iranmahboob et al., 2002). Struktur lignin sangat kuat karena tersusun dari gugus aromatik yang sangat panjang. Setiap gugus aromatik yang terdapat pada lignin dihubungkan oleh rantai karbon yang memiliki gugus eter akibatnya selulosa dan hemiselulosa sukar diurai menjadi glukosa.

Menurut Elba (1996), produksi bioetanol dari limbah ampas tebu melalui 4 tahapan, yaitu: (1) perlakuan awal, (2) hidrolisis ampas tebu secara enzimatik, (3) fermentasi, dan (4) pemurnian bioetanol hasil fermentasi. Perlakuan awal bertujuan untuk merusak struktur lignoselulosa sehingga mudah dihidrolisis oleh enzim selulase menjadi glukosa. Jika ampas tebu langsung dihidrolisis (tanpa perlakuan awal) maka glukosa yang dihasilkan sangat rendah. Hal ini diduga adanya lignin yang masih menutupi atau melindungi selulosa dan hemiselulosa sehingga enzim selulase tidak dapat masuk dan berikatan dengan selulosa. Dengan adanya tahap perlakuan awal maka struktur lignoselulosa menjadi struktur yang acak dan relatif lebih terbuka sehingga memudahkan akses enzim selulase dalam menguraikan selulosa menjadi glukosa.

Elba (1996) menggunakan penguapan pada suhu  $250^\circ C$  dalam suatu reaktor. Sendellius (2005) menjelaskan bahwa ampas tebu yang diberi perlakuan awal dengan suhu penguapan lebih dari  $180^\circ C$  dengan variasi waktu antara 5-10

menit yang dilanjutkan dengan impregnasi dalam berbagai pelarut (asam sulfat, etanol, asam peroksida, dan gas  $\text{SO}_2$ ) menghasilkan persen sakarifikasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan yang tidak diberi perlakuan awal. Penggunaan suhu tinggi ( $>180^\circ\text{C}$ ) tentu saja mengakibatkan biaya operasional dan investasi yang besar serta sulit diterapkan pada industri menengah. Pada penelitian ini dipilih perlakuan awal dengan penguapan menggunakan autoklaf (alat untuk sterilisasi basah yang mampu menghasilkan suhu  $121^\circ\text{C}$ ) tetapi variasi waktu yang digunakan lebih lama yaitu 15 dan 30 menit. Pada penelitian ini juga diuji coba perlakuan awal autoklaf dilanjutkan dengan impregnasi dengan asam sulfat dan etanol. Penelitian ini diharapkan menghasilkan pengaruh yang sama yaitu dapat meningkatkan persen sakarifikasi ampas tebu secara enzimatis.

Suatu alkil fenil eter, seperti anisola menghasilkan alkil sulfat dan fenol (Fessenden, 1989). Hal ini dapat dianalogikan pada struktur lignin yang juga mengandung gugus eter. Diasumsikan, struktur lignin menjadi terbuka akibat terikatnya atom O dengan proton ( $\text{H}^+$ ) dari asam sulfat membentuk suatu alkohol. Etanol merupakan pelarut yang kepolarannya lebih rendah dari air dan metanol sehingga dapat melarutkan senyawa-senyawa organik yang kepolarannya rendah pula (Fessenden, 1989). Pada struktur lignin terdapat gugus OH, namun rantai karbonnya sangat panjang sehingga tingkat kepolarannya rendah pula. Berdasarkan hal tersebut, diduga etanol dapat melarutkan lignin. Baik asam sulfat maupun etanol, ketersediaannya cukup melimpah. Kedua pelarut tersebut mudah ditemukan dan harganya cukup murah.

## **METODE PENELITIAN**

### **Obyek Penelitian**

Obyek penelitian adalah limbah ampas tebu yang diperoleh dari PG Kebon Agung, Malang Kabupaten Jawa Timur. Ampas Tebu diambil pada masa giling PG Kebon Agung yaitu bulan Juli 2009.

### **Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian laboratoris di Laboratorium Kimia FMIPA UM. Waktu pelaksanaan penelitian antara bulan September –Desember 2009. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh lama autoklaf, pengaruh jumlah asam sulfat yang digunakan untuk impregnasi ampas tebu, dan pengaruh volume etanol yang digunakan untuk impregnasi ampas tebu. Dari perlakuan tersebut akan ditentukan perlakuan awal yang efektif untuk menghidrolisis ampas tebu secara enzimatis. Tujuan tersebut dicapai melalui beberapa tahap penelitian, yaitu: (1) preparasi ampas tebu, (2) penentuan waktu hidrolisis optimum, (3) pengaruh autoklaf terhadap persen sakarifikasi ampas tebu secara enzimatis, (4) pengaruh jumlah  $\text{H}_2\text{SO}_4$  yang digunakan pada saat impregnasi ampas tebu yang telah diautoklaf, dan (5) pengaruh volume etanol pada saat impregnasi ampas tebu yang telah diautoklaf.

Pengaruh perlakuan awal ditentukan berdasarkan jumlah glukosa yang dihasilkan setelah proses sakarifikasi ampas tebu yang diteliti. Penentuan glukosa menggunakan metode Somogy-Nelson.

### **Instrumen Penelitian**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari: (1) peralatan gelas seperti gelas piala 50, 100, 1000, dan 2000 mL, erlenmeyer 250 mL, gelas ukur 5, 10, dan 25 mL, spektronik 20, gelas arloji, corong kaca, pengaduk, spatula, tabung reaksi, dan pipet tetes, (2) alat penunjang lain seperti kertas saring ukuran 1 mikron, timbangan, sumbat karet atau gabus, kapas, aluminium foil, sentrifuge, shaker, autoklaf serta oven.

### **Langkah Kerja**

#### ***Preparasi Ampas Tebu***

Limbah ampas tebu yang diperoleh dari PG. Kebon Agung dicuci untuk menghilangkan sisa tanah dan kotoran lainnya. Setelah itu, diperas hingga diperoleh ampas tebu kering (48% dari berat sebelum diperas). Ampas tebu yang belum digunakan disimpan pada suhu 5°C.

#### ***Penentuan Waktu Hidrolisis Optimum (Ampas Tebu tanpa Perlakuan)***

Ampas tebu dicuci dengan akuades panas sebanyak tiga kali pengulangan untuk menghilangkan gula terlarutnya. Ampas tebu tersebut kemudian diperas hingga airnya benar-benar habis. Setelah itu, ampas tebu tersebut diambil sebanyak 10 gram dimasukkan dalam wadah plastik untuk hidrolisis. Ke dalam wadah tersebut ditambahkan enzim selulase murni sebanyak 0,1 gram yang telah dilarutkan dengan buffer asetat 0,1 M pH 4,6 sebanyak 500 mL. Campuran diinkubasi dalam penangas air suhu 40°C sambil terus diaduk selama 72 jam. Uji kadar glukosa dilakukan setiap 4 jam.

#### ***Pengaruh Waktu Autoklaf terhadap Persen Sakarifikasi Ampas Tebu***

Ampas tebu diautoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 15 psi selama 15 dan 30 menit. Setelah dingin, dicuci dengan akuades panas untuk menghilangkan gula terlarutnya. Diperas, dicuci kembali dengan akuades panas sebanyak tiga kali pengulangan. Kemudian dihidrolisis menggunakan enzim selulase standar selama waktu optimum (16 jam). Sebagai pembanding digunakan ampas tebu tanpa perlakuan

#### ***Optimasi Jumlah $H_2SO_4$ yang Digunakan untuk Impregnasi Ampas Tebu yang telah Diautoklaf***

Ampas tebu yang telah diutoklaf dibiarkan hingga dingin, kemudian diimpregnasi dengan  $H_2SO_4$  sebanyak 0,1 g; 0,25g; dan 0,5 g per 100 gram ampas

tebu atau masing-masing dengan 100, 255, dan 510 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,01 M selama dua hari dalam wadah plastik yang tertutup. Setelah itu, dicuci dengan akuades panas. Diperas, dicuci kembali dengan akuades panas sebanyak tiga kali pengulangan. Ampas tebu yang telah bersih ditimbang sebanyak 10 g kemudian dihidrolisis selama waktu optimum. Sebagai pembanding digunakan ampas tebu yang telah diautoklaf.

### ***Optimasi Volume Etanol yang Digunakan untuk Impregnasi Ampas Tebu yang telah Diautoklaf***

Cara kerja pada tahap ini sama dengan pada tahap optimasi jumlah H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> hanya saja yang berbeda adalah variasi volume etanol (100, 200, dan 250 mL).

### ***Hidrolisis Ampas Tebu secara Enzimatis***

Sebanyak 10 gram sampel (ampas tebu) dimasukkan dalam gelas piala. Ditambahkan 0,1 gram enzim selulase standar yang dilarutkan dalam 500 mL buffer asetat 0,1 M pH 5. Campuran diinkubasi dalam penangas air suhu 40°C sambil terus diaduk selama waktu optimum yang telah ditentukan sebelumnya. Filtrat hasil reaksi sampel ditentukan kadar glukosanya dengan metode Somogy-Nelson.

### ***Pengukuran Kadar Glukosa***

Uji kadar glukosa dilakukan dengan metode Somogy-Nelson yaitu dengan cara mengambil 4 mL filtrat hasil hidrolisis disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 2500 rpm. Sentrat yang dihasilkan kemudian diambil sebanyak 1 mL dan dicampur dengan 1 mL pereaksi Nelson, dikocok. Campuran tersebut diinkubasi selama 20 menit pada penangas air bersuhu 100°C. Setelah itu, didinginkan hingga suhu kamar. Barulah setelah itu ditambah dengan 1 mL larutan arsenomolibdat dan 7 mL akuades kemudian dikocok. Campuran tersebut kemudian diukur absorbansinya dengan Spektrometri pada panjang gelombang 540 nm .

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

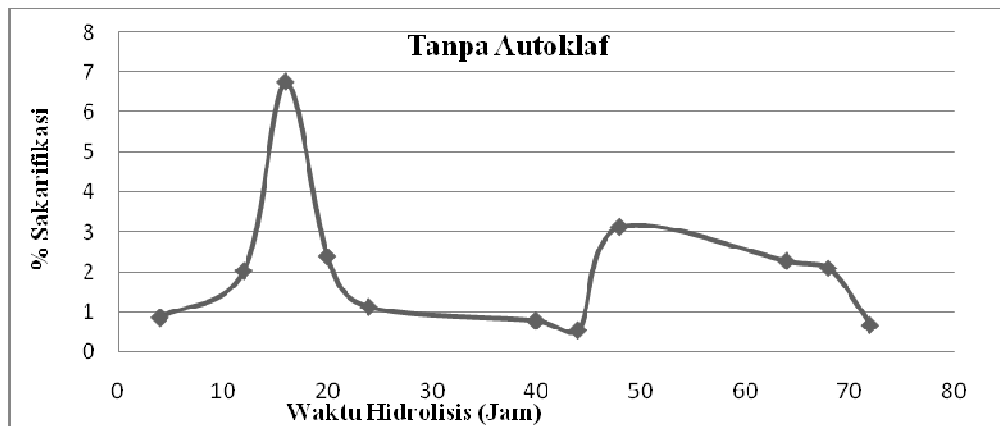
### **Penentuan Waktu Hidrolisis Optimum**

Kondisi hidrolisis ampas tebu ini dilakukan pada pH 5. Hal ini berdasarkan data dari *Certificate of Analysis Serva Electrophoresis* bahwa enzim selulase murni dari *Trichoderma viride* bekerja optimum pada pH 4-5. Hasil persen sakarifikasi ampas tebu tanpa perlakuan ditunjukkan pada Gambar 4.1.

Gambar 4.1 menunjukkan bahwa terjadi peningkatan persen sakarifikasi yang signifikan dari jam ke-0 hingga jam ke-16 yaitu menjadi 6,75%. Pada jam ke-20 hingga jam ke-44 persen sakarifikasi ampas tebu tanpa perlakuan terus menurun menjadi 0,532%. Kadar glukosa pada jam ke-44 sangat rendah, sedangkan persen sakarifikasi setelah jam tersebut yaitu jam ke-48 meningkat

menjadi 3,118%. Dari jam ke-64 hingga ke-72 persen sakarifikasi turun kembali hingga 0,660%.

Selulase dari *Trichoderma viridie* dapat diinhibisi oleh glukosa,  $\delta$ -glukonolakton, selebiosa, dan pelarut organik seperti etanol, butanol, dan aseton (Holtzapple et.al, 1989). Forgaty (1984) berpendapat bahwa  $\beta$ -glukosidase merupakan salah satu jenis aktivitas kompleks selulase dari *Trichoderma reesei*, *Aspergillus niger*, dan *Phanaerocheate chrysosporium* dihambat secara kompetitif oleh glukosa dan glukonolakton. Kedua kutipan tersebut menjelaskan terjadinya penurunan persen sakarifikasi pada jam ke-24 dan jam ke-48, tepat setelah terjadi persen sakarifikasi yang tinggi. Dengan demikian, pada jam ini terjadi proses *feedback inhibition*. Glukosa yang terbentuk menginhibisi enzim selulase sehingga persen sakarifikasi menurun. Pada proses hidrolisis ini terjadi inhibisi reversibel kompetitif. Hal ini berarti bahwa bentuk substrat dan glukosa yang merupakan inhibitor sama. Kadar glukosa yang berlebih akan menginhibisi aktivitas enzim selulase dengan cara membentuk kompleks dengan enzim tersebut. Tentu saja antara glukosa dan substrat terjadi persaingan dalam membentuk kompleks dengan selulase. Jika kadar glukosa berlebih maka pembentukan glukosa juga akan berkurang, namun jika kadar substrat berlebih maka kadar glukosa akan terus meningkat. Pada jam ke-16 dan ke-64 kadar glukosa lebih tinggi dari jumlah substrat sehingga kompleks selulase dengan glukosa lebih banyak dari pada kompleks selulase dengan substrat. Hal inilah yang menyebabkan persen sakarifikasi menurun pada jam tersebut.



**Gambar 4.1** Persen Sakarifikasi Ampas Tebu Tanpa Autoklaf

Pada jam ke-48 terjadi peningkatan persen sakarifikasi menjadi 3,117%. Hal ini menunjukkan bahwa kadar glukosa yang merupakan *feedback inhibitor* berkurang sehingga aktivitas enzim selulase meningkat. Namun, peningkatan ini tidak setinggi persen sakarifikasi pada jam ke-16. Hal ini diduga bahwa glukosa yang terbentuk telah berkurang karena membentuk kompleks dengan enzim selulase. Kadar glukosa yang terbentuk diduga kurang dari konsentrasi enzim selulase. Jika konsentrasi selulosa lebih tinggi dari konsentrasi glukosa maka pembentukan katalisis selulosa menjadi glukosa lebih tinggi.



### **Pengaruh Waktu Autoklaf Terhadap Persen Sakarifikasi Ampas Tebu**

Pengaruh waktu autoklaf terhadap persen sakarifikasi diuji pada ampas tebu yang diautoklaf selama 15 dan 30 menit pada suhu 121°C dan tekanan 15 psi. Hasil penelitian ditunjukkan pada Tabel 4.1.

**Tabel 4.1 Persen Sakarifikasi Ampas Tebu tanpa Perendaman yang Dihidrolisis Selama 16 Jam**

No	Perlakuan	% Sakarifikasi
1	Tanpa perlakuan	6,75
2	Autoklaf 15 menit	1,76
3	Autoklaf 30 menit	2,73

Berdasarkan Tabel 4.1 terlihat bahwa persen sakarifikasi ampas tebu yang diautoklaf lebih rendah dari persen sakarifikasi ampas tebu yang tidak diautoklaf (tanpa perlakuan). Hasil tersebut mengindikasikan bahwa telah terjadi perubahan struktur lignoselulosa pada ampas tebu walaupun perubahan tersebut tidak menunjukkan hasil yang diharapkan. Hal ini diduga bahwa perubahan struktur lignoselulosa yang mengakibatkan terbukanya struktur tersebut, tetapi proses ini terjadi secara acak sehingga ada beberapa kemungkinan yang terjadi. Salah satu kemungkinan tersebut dapat mengakibatkan semakin sulitnya akses enzim selulase dalam menghidrolisis selulosa menjadi glukosa.

Dari Tabel 4.1 terlihat pula bahwa persen sakarifikasi ampas tebu yang diautoklaf selama 30 menit lebih tinggi dari persen sakarifikasi ampas tebu yang diautoklaf selama 15 menit. Hal ini diduga bahwa jumlah lignin yang terdegradasi pada autoklaf selama 30 menit lebih banyak dari autoklaf selama 15 menit. Diduga bahwa struktur lignin pada ampas tebu yang diautoklaf selama 30 menit lebih acak dan berhamburan. Dengan demikian, akses enzim selulase untuk menghidrolisis selulosa menjadi glukosa lebih mudah sehingga kadar glukosa yang dihasilkan lebih tinggi.

Berdasarkan hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa perlakuan awal berupa autoklaf saja kurang efektif untuk meningkatkan persen sakarifikasi. Untuk itu diperlukan tahap lebih lanjut sebelum menghidrolisis ampas tebu untuk mengoptimasi persen sakarifikasi ampas tebu tersebut.

### **Optimasi Jumlah H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> yang Digunakan untuk Impregnasi Ampas Tebu yang Telah diautoklaf**

Menurut Fessenden (1989), suatu alkil fenil eter, seperti anisola menghasilkan alkil sulfat dan fenol. Hal ini dapat dianalogikan dengan struktur lignin. Pada struktur lignin, setiap rantai aromatik dihubungkan dengan rantai karbon yang mengandung gugus eter. Dengan demikian, diduga bahwa asam sulfat dapat membuka struktur lignin sehingga akses enzim selulase dalam menghidrolisis selulosa menjadi lebih mudah.

Degradasi senyawa lignin pada proses di atas akan menghasilkan senyawa-senyawa fenol yang sangat berbahaya bagi mikroorganisme khususnya bagi membran dan matrik enzim (Palmqvist dan Hahn-Hägerdal, 2000). Untuk mencegah hal tersebut, maka setelah diimpregnasi, ampas tebu tersebut dicuci dengan akuades panas hingga bersih sehingga hasil degradasi lignin dapat dihilangkan.

Ampas tebu diimpregnasi dengan  $H_2SO_4$  dalam variasi 0; 0,1; 0,25; dan 0,5 gram atau masing-masing sebanyak 100, 250, 550 mL  $H_2SO_4$  0,01 M. Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh persen sakarifikasi ampas tebu yang diautoklaf selama 15 menit dan diimpregnasi dengan asam sulfat seperti yang tersaji pada Tabel 4.2. Data dan perhitungan selengkapnya terdapat pada Lampiran 9.

**Tabel 4.2 Persen Sakarifikasi Ampas Tebu yang Diutoklaf kemudian Diimpregnasi dengan Asam Sulfat 0,01 M dan Dihidrolisis Selama 16 Jam**

No	Perlakuan	Jumlah $H_2SO_4$ (g)	% Sakarifikasi
1	Autoklaf 15 menit	0	1,763
		0,1	7,627
		0,25	7,001
		0,5	7,184
2	Autoklaf 30 menit	0	3,415
		0,1	3,932
		0,25	17,827
		0,5	6,223

Pengaruh impregnasi dengan  $H_2SO_4$  terhadap persen sakarifikasi ampas tebu terlihat pada Tabel 4.2. Persen sakarifikasi pada ampas tebu yang diimpregnasi lebih tinggi dari ampas tebu tanpa impregnasi. Hal ini dapat dibandingkan pada persen sakarifikasi ampas tebu yang diautoklaf selama 15 menit kemudian diimpregnasi dengan  $H_2SO_4$  dengan ampas tebu tanpa impregnasi. Hal tersebut diduga bahwa adanya struktur lignin yang lebih terbuka sehingga terjadi peningkatan persen sakarifikasi yang cukup tinggi. Persen sakarifikasi ampas tebu yang diautoklaf selama 15 menit kemudian diimpregnasi dengan  $H_2SO_4$  pada berbagai variasi tidak terlalu berpengaruh. Hal ini diduga bahwa struktur lignoselulosa yang terdegradasi secara acak akibat autoklaf selama 15 menit masih sukar dibuka oleh  $H_2SO_4$ .

Persen sakarifikasi tertinggi pada ampas tebu yang diautoklaf selama 30 menit kemudian diimpregnasi dengan  $H_2SO_4$ , terjadi pada ampas tebu yang diimpregnasi dengan  $H_2SO_4$  sebanyak 0,25 gram. Pada saat autoklaf selama 30 menit, struktur lignin yang terdegradasi banyak dan struktur yang acak juga banyak, sehingga penambahan  $H_2SO_4$  sebanyak 0,1 gram belum cukup untuk memutuskan ikatan pada lignin tersebut. Hal ini menyebabkan persen sakarifikasi yang terbentuk lebih rendah dari penambahan  $H_2SO_4$  sebanyak 0,25 gram karena akses enzim selulase masih sulit. Lain halnya dengan penambahan  $H_2SO_4$  0,5 gram, diduga struktur lignin yang putus lebih banyak dari pada penambahan  $H_2SO_4$  0,25 gram sehingga *feedback inhibition* semakin cepat terjadi dan aktivitas selulase pun cepat menurun.

Persen sakarifikasi optimum dari keseluruhan perlakuan dengan asam sulfat diperoleh pada ampas tebu yang diatoklaf selama 30 menit kemudian diimpregnasi dengan asam sulfat sebanyak 0,25 gram. Hal ini diduga bahwa akses enzim selulase setelah diberi perlakuan awal tersebut lebih mudah dari perlakuan awal autoklaf 15 menit yang diikuti impregnasi dengan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

### **Persen Sakarifikasi Ampas Tebu yang Diautoklaf Selama 15 Menit dan dan 30 Menit kemudian Diimpregnasi dengan Etanol**

Menurut Fessenden (1989), semakin panjang bagian hidrokarbon senyawa organik maka semakin rendah kelarutannya dalam air. Lignoselulosa merupakan senyawa organik yang memiliki gugus OH namun rantai karbonnya sangat panjang. Dengan demikian, lignoselulosa sukar larut dalam air karena sifat hidrofob lebih dominan dari sifat hidrofiliknya. Semakin hidrofob sifat suatu senyawa maka semakin rendah sifat kepolarannya. Untuk itu, digunakan pelarut yang sifat kepolarannya rendah.

Etanol merupakan pelarut yang kepolarannya rendah dari air dan metanol (Fessenden, 1989). Untuk itu, etanol dapat digunakan sebagai pelarut organik yang sifat kepolarannya rendah pula. Karena lignoselulosa memiliki gugus OH, maka akan terjadi ikatan hidrogen dengan etanol sehingga diasumsikan bahwa lignoselulosa dapat larut dalam etanol. Larutnya lignoselulosa dalam etanol menyebabkan selulosa mudah dihidrolisis. Variasi volume etanol adalah dari 100, 200, dan 250 mL. Hasil penelitian ditunjukkan pada Tabel 4.3.

**Tabel 4.3 Persen Sakarifikasi Ampas Tebu yang Diatoklaf Selama 15 Menit dan 30 Menit kemudian Diimpregnasi dengan Etanol 96%**

No	Perlakuan	Volume Etanol (mL)	% Sakarifikasi
1	Autoklaf 15 menit	0	1,76
		100	8,22
		200	7,92
		250	7,48
2	Autoklaf 30 menit	0	3,42
		100	4,60
		200	5,34
		250	3,19

Persen sakarifikasi optimum dalam berbagai volume etanol pada tahap impregnasi berbeda-beda. Untuk ampas tebu yang diautoklaf selama 15 menit, persen sakarifikasi tertinggi terdapat pada sampel yang diimpregnasi dengan etanol sebanyak 100 mL. Tabel 4.3 untuk ampas tebu yang diautoklaf selama 15 menit menunjukkan bahwa semakin tinggi volume etanol yang digunakan, persen sakarifikasi semakin menurun. Seperti halnya pada impregnasi dengan asam sulfat, impregnasi dengan etanol juga diduga terjadi *feedback inhibition* yang semakin cepat seiring dengan penambahan etanol yang semakin banyak. Semakin banyak glukosa yang terbentuk, semakin berlebih kadar glukosa tersebut sehingga semakin banyak pula inhibitor yang terbentuk. Semakin banyak inhibitor, semakin

menurun aktivitas kerja enzim selulase sehingga persen sakarifikasi semakin menurun.

Autoklaf ampas tebu selama 30 menit kemudian diimpregnasi dengan etanol menghasilkan persen sakarifikasi pada ampas tebu yang diimpregnasi dengan etanol sebanyak 200 mL. Dengan alasan yang sama dengan autoklaf 30 menit kemudian diimpregnasi dengan asam sulfat 0,25 gram, penambahan etanol sebanyak 100 mL juga belum cukup untuk memutuskan ikatan pada lignin tersebut. Hal ini menyebabkan persen sakarifikasi yang terbentuk lebih rendah dari penambahan etanol sebanyak 200 mL karena akses enzim selulase masih sulit. Lain halnya dengan penambahan etanol 250 mL, diduga struktur lignin yang putus lebih banyak dari pada penambahan etanol 200 mL sehingga *feedback inhibition* semakin cepat terjadi dan aktivitas selulase pun cepat menurun.

Persen sakarifikasi optimum dari keseluruhan perlakuan dengan etanol diperoleh pada ampas tebu yang diautoklaf selama 30 menit kemudian diimpregnasi dengan etanol sebanyak 100 mL. Hal ini diduga bahwa semakin banyak etanol yang ditambahkan semakin menurun aktivitas selulase. Semakin lama waktu autoklaf kemudian diimpregnasi dengan etanol, semakin rendah pula persen sakarifikasinya karena terjadi *feedback inhibition*.

## DAFTAR PUSTAKA

Elba, Bon P. S.. 1996. Ethanol Production Via Enzymatic Hydrolysis of Sugar-Cane Bagasse and Straw. *Chemistry Institute Federal University of Rio de Janeiro*, (Online), (<http://www.fiesp.com.br/agencianoticias/2007/05/15/elba.bon.pdf>, diakses 3 Maret 2009).

Fessenden, Ralph J & Fessenden, Joan S. 1989. *Kimia Organik Edisi Ketiga*. Bandung : Erlangga

Fogarty, William M. 1983. *Microbial Enzyme and Biotechnology*. New York : Applied Science Publisher.

Holtzapfel, Mark., Cognata, M., Shu, Y., Hendrickson, C.. 1989. Inhibition of *Trichoderma reesei* Cellulase by Sugars and Solvents. *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 36, No.3.

Iranmahboob, J., Nadim, F., Monemi, S., 2002. Optimizing Acid-Hydrolysis: A Critical Step For Production Of Ethanol From Mixed Wood Chips. *Biomass and Bioenergy*, 22: 401 – 404.

Palmqvist, E., Hahn-Hägerdal, B., 2000. Review paper. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. II: inhibitors and mechanisms of inhibition. *Bioresour. Technol.*, 74, 25-33.

Sendellius, Johan. 2005. Steam Pretreatment Optimisation for Sugarcane Bagasse in Bioethanol Production. *Lund Institute of Technology*.