

STUDI AWAL FED – BATCH HIDROLISIS ENZIMATIK HIGH TOTAL SOLID LOADING

Desi Nurisnaeni Saputri, Christyfani Sindhuwati, Hardjono, Mufid, Asalil Mustain, Ade sonya Suryandari

Jurusan Teknik Kimia, Politeknik Negeri Malang, Jl. Soekarno Hatta No. 9, Malang, Indonesia
desinurisnaenis12@gmail.com, [c.sindhuwati@polinema.ac.id]

ABSTRAK

Bioetanol merupakan bahan bakar terbarukan yang berasal dari etanol dan bisa didapatkan dari bahan berlignoselulosa seperti limbah kertas. Etanol yang mengandung konsentrasi dibawah 12% tidak ekonomis untuk di distilasi pada saat dijadikan bioetanol, untuk menghasilkan etanol yang memiliki konsentrasi tinggi maka glukosa yang di hasilkan pada percobaan ini juga harus tinggi. Tujuan dari penelitian ini adalah mengamati pengaruh waktu dengan berbagai variasi pengumpanan yang disebut dengan konfigurasi terhadap konsentrasi glukosa yang dihasilkan pada proses hidrolisis limbah kertas HVS. Glukosa berkonsentrasi tinggi di hasilkan dari selulosa yang tinggi, hal ini akan menyebabkan beberapa masalah yang terjadi yaitu viskositas yang tinggi akan menghambat proses hidrolisis sehingga dari masalah tersebut dilakukan perancangan metode *Batch* dan *Fed-Batch* Hidrolisis *Enzimatik* dengan macam macam *High Total Solid Loading* menggunakan reaktor putar sebagai variabel pada penelitian ini. Limbah kertas HVS direndam selama 24 jam, dan dilakukan proses *blending* kemudian dilakukan proses penghilangan tinta, proses selanjutnya analisis kandungan kertas yaitu lignin, selulosa, dan hemiselulosa. Tahapan selanjutnya dilakukan proses hidrolisis yang menghasilkan glukosa. Glukosa yang dihasilkan akan diuji menggunakan metode DNS. Konsentrasi glukosa tertinggi dihasilkan dari metode *fed-batch* dengan *total solid loading* 40% sebesar 321, 784 mg/ml. Konsentrasi glukosa tertinggi di dapatkan mulai dari *total solid loading* 30%, 35%, 40% dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi *total solid loading* yang digunakan maka akan semakin tinggi konsentrasi glukosa yang dihasilkan.

Kata kunci: *Bioetanol, selulosa, Hidrolisis*

ABSTRACT

Bioethanol is a renewable fuel derived from ethanol and can be obtained from lignocellulosic materials such as paper waste. Ethanol containing concentrations below 12% is not economical for distillation when used as bioethanol, to produce ethanol which has a high concentration, the glucose produced in this experiment must also be high. The purpose of this study was to observe the effect of time with various feed variations called configurations on the concentration of glucose produced in the hydrolysis process of HVS paper waste. High concentration of glucose is produced from high cellulose, this will cause several problems that occur, namely high viscosity will inhibit the hydrolysis process so that from this problem, the design of Batch and Fed-Batch Enzymatic Hydrolysis methods with various kinds of High Total Solid Loading using a rotary reactor . HVS paper waste is soaked for 24 hours, and a blending process is carried out then the ink removal process is carried out, the next process is to analyze the paper content, namely lignin, cellulose, and hemicellulose. The next step is the hydrolysis process which produces glucose. The resulting glucose will be tested using the DNS method. The highest glucose concentration was obtained from the fed-batch method with a total solid loading of 40% of 321, 784 mg/ml. The highest glucose concentration is obtained starting from a total solid loading of 30%, 35%, 40%, it can be concluded that the higher the total solid loading used, the higher the concentration of glucose produced.

Keywords: *Bioethanol, cellulose, hydrolysis*

1. PENDAHULUAN

Bioetanol merupakan salah satu energi terbarukan yang berbentuk cairan hasil proses fermentasi gula dari sumber karbohidrat (selulosa) menggunakan bantuan mikroba. Tujuan penggunaan dari bioetanol adalah sebagai campuran bahan bakar kendaraan bermotor yang dapat mengurangi konsumsi bahan bakar fosil dan menurunkan emisi gas rumah kaca sehingga menjadi lebih ramah lingkungan [1].

Bioetanol didapatkan dari etanol yang berkonsentrasi tinggi, sedangkan etanol yang berkonsentrasi tinggi di dapatkan dari glukosa yang berkonsentrasi tinggi pula. Glukosa merupakan penyusun utama dari pati maupun polimer [2] dan dapat di temukan pada bahan yang mengandung lignoselulosa [3]. Lignoselulosa terdiri tiga polimer, yaitu selulosa, hemiselulosa dan lignin [4] Selulosa merupakan polimer linier dengan unit monomernya adalah glukosa [5], selulosa juga memiliki senyawa karbon rantai panjang yang bisa direngkah menjadi senyawa karbon yang lebih sederhana yang dikenal dengan hidrolisis [6]. Hidrolisis merupakan proses dekomposisi kimia dengan menggunakan air untuk memisahkan ikatan kimia dari substansinya [7]. Hidrolisis memiliki tahapan polimerisasi polisakarida menjadi monomer- monomer gula, kemudian monomer gula tersebut di fermentasi menjadi etanol [8]. Penelitian ini menggunakan kertas bekas sebagai bahan baku. Kertas bekas dapat digunakan sebagai bahan baku bioetanol karena kertas bekas merupakan bahan berlignoselulosa yang melimpah. Selain itu limbah kertas akan menghasilkan etanol yang cukup banyak dikarenakan kandungan selulosa yang melimpah untuk pembuatan bioetanol sehingga dapat diuraikan menjadi glukosa-glukosa penyusunnya. Glukosa tersebut dapat digunakan untuk membuat etanol sebagai bahan bakar alternatif [9].

Pengolahan biomassa lignoselulosa menjadi etanol membutuhkan beberapa tahapan, yaitu perlakuan awal secara kimia maupun fisik dengan tujuan memudahkan akses enzim untuk mencapai selulosa kemudian dilanjutkan dengan sakarifikasi selulosa untuk menghasilkan glukosa. Tahap sakarifikasi dapat disebut sebagai tahap hidrolisis, pada tahap ini selulosa dikonversi menjadi glukosa dengan bantuan enzim. Enzim yang digunakan adalah enzim selulase yaitu enzim yang memecah selulosa (menghidrolisis) ikatan $\beta(1,4)$ pada selulosa [10]. Tahap perlakuan awal dan hidrolisis merupakan tahap penentu untuk menghasilkan glukosa dari selulosa yang terkandung di dalam substrat, untuk mendapatkan etanol yang berkonsentrasi tinggi maka perlu glukosa berkonsentrasi tinggi pula hal ini dapat terjadi dengan adanya *high total solid loading* [11].

Glukosa berkonsentrasi tinggi dihasilkan dari substrat yang tinggi hal ini akan menyebabkan beberapa masalah yang terjadi yaitu viskositas yang tinggi akan menghambat proses hidrolisis dikarenakan sukar bercampur dan kandungan air yang sedikit dan memerlukan enzim yang lebih banyak [12]. Pada percobaan ini di lakukan hidrolisis secara enzimatik dengan metode *Fed-batch* menggunakan *high total solid loading* untuk mempermudah mendapatkan glukosa pada lignoselulosa dan mengubah tangki berpengandung menjadi tangki berputar atau proses pengumpanan secara berkala sehingga dapat meningkatkan kadar glukosa dan memperoleh hasil yang lebih optimal dengan konsentrasi glukosa yang tinggi [13]. Perancangan *Fed-Batch* Hidrolisis Enzimatik *High Total Solid Loading* menggunakan reaktor putar. Tujuan dari penelitian ini adalah mengamati pengaruh waktu dengan berbagai variasi pengumpanan yang disebut dengan konfigurasi terhadap konsentrasi glukosa yang dihasilkan pada proses hidrolisis limbah kertas HVS.

2. METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan metode terbaik dalam memproduksi glukosa dari limbah kertas dengan proses hidrolisis enzimatis *high total solid loading* pada reaktor putar. Metode terbaik didapatkan dengan melakukan perbandingan antara metode pengumpanan secara *Fed-batch* dengan *Batch* serta variasi terhadap *total solid loading* yang digunakan pada proses hidrolisis enzimatis.

2.1. Metode Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan kajian metode terbaik dalam menghasilkan glukosa dengan membandingkan metode *fed-batch* dengan *batch* dan variasi pada konsentrasi *high total solid loading*. Pada proses hidrolisis lignoselulosik secara enzimatis dan mendapatkan kajian awal proses hidrolisis enzimatis didalam reaktor putar. Penelitian ini dibagi menjadi 3 tahap, yaitu tahap persiapan alat dan bahan, tahap percobaan utama, dan tahap analisis.



Gambar 1. Diagram alir percobaan

2.1 Alat dan Bahan

Proses hidrolisis enzimatis menggunakan alat dan bahan utama yaitu reaktor putar yang diharapkan dapat lebih merata dan lebih tercampur pada proses hidrolisis antara bahan baku, enzim, *buffer* dan air yang digunakan.

2.2 Prosedur Percobaan

Prosedur percobaan dibagi menjadi 3 tahap, yaitu persiapan alat dan bahan baku, tahap hidrolisis enzimatis di reaktor putar, dan analisis produk.

2.2.1 Persiapan dan Perlakuan Bahan Baku

Sebelum melakukan percobaan maka semua alat yang akan digunakan dicuci dengan air dan sabun, dibilas dengan air mengalir hingga bebas lemak. Alat dikeringkan dan dibungkus dengan kertas yang bebas tinta. Peralatan yang berleher, disumbat dengan kapas yang dibungkus dengan kain kasa. Semua peralatan

dimasukan dalam *autoclave* dan dipanaskan sampai suhu 121°C tekanan 1 atm selama 30 menit. Setelah proses sterilisasi, alat disimpan dalam oven bersuhu 50°C. Tahap pertama pada penelitian ini adalah persiapan dan perlakuan awal atau pretreatment bahan baku. Bahan baku yaitu limbah kertas. Limbah kertas akan terlebih dahulu dicacah atau diplong untuk menyamaratakan ukuran, supaya didapatkan luas area kontak yang besar. Tahap lanjutan setelah pencacahan adalah karakterisasi bahan baku untuk mengetahui komposisi yang terkandung di dalamnya. Karakteristik bahan baku menggunakan Metode *Chesson*.

2.2.2 Pembuatan Buffer pH 5

Pembuatan Buffer pH 5 dilakukan dengan cara berikut:

1. Sebanyak 11,55 ml asam asetat dilarutkan 1 liter Aquadest
2. Sebanyak 16,4 gram natrium asetat dilarutkan 1 liter Aquadest
3. Buffer pH 5 = 64 ml asam asetat 0,2 M ditambahkan 800 ml natrium asetat 0,2 M dilarutkan 1 liter Aquadest

2.2.3 Pembuatan Reagen DNS

Pembuatan reagen DNS 100 ml terdiri dari dua larutan. Larutan pertama DNS 1 gram dengan NaOH 1 gram di campur dengan H₂O 40 ml. Larutan kedua terdiri dari potassium tartart 20 gram, fenol 0,2 gram, natrium metabisulfat 0,05 gram, dilarutkan dengan H₂O 40 ml, kemudian larutan pertama dan larutan kedua dicampur dan diencerkan hingga tanda batas 100 ml dalam labu ukur.

2.2.4 Spectrofotometri UV-VIS

Spectrofotometri UV-VIS digunakan untuk menguji uji aktivitas enzim dan uji kandungan dari glukosa dengan panjang gelombang 540 nm. Uji aktivitas enzim di analisis untuk mengetahui berapa aktivitas pada enzim yang akan digunakan untuk percobaan hidrolisis, sedangkan uji glukosa digunakan untuk mengetahui konsentrasi glukosa yang di hasilkan.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Tahapan percobaan yang dilakukan dibagi menjadi 3 yaitu tahap persiapan bahan baku, tahap percobaan dan tahap analisis. Tahap persiapan bahan baku terdiri dari *pretreatment*, *de-inking* dan analisis kandungan bahan. Tahap percobaan yaitu proses hidrolisis enzimatik yang berlangsung pada reaktor putar dan tahap terakhir adalah analisis aktivitas enzim, analisis glukosa. Enzim yang digunakan untuk proses hidrolisis berupa enzim selulase. Penggunaan enzim selulase bertujuan untuk memecah ikatan lignin, selulosa, dan hemiselulosa yang terdapat pada limbah kertas HVS, tahap awal penelitian ini dimulai dengan proses pretreatment yang bertujuan untuk menyamaratakan ukuran dan menghilangkan tinta. *De-inking* merupakan proses penghilangan tinta pada limbah kertas HVS, bahan yang digunakan hanya surfaktan berupa deterjen sebanyak 10% dari berat substrat yang telah direndam selama 24 jam lalu di panaskan menggunakan air selama 1 jam kemudian dibilas sampai pH menjadi netral hingga menjadi substrat yang bersih dari tinta. Proses de-lignifikasi tidak dilakukan karena pada proses pembuatan kertas telah dilakukan proses pendegredasian lignin sehingga kertas HVS mengandung sedikit lignin dan kandungan selulosa yang tinggi. Analisis bahan baku dengan metode *Chesson* komposisi lignin, selulosa, hemiselulosa, dan air dapat dilihat pada Tabel 1.

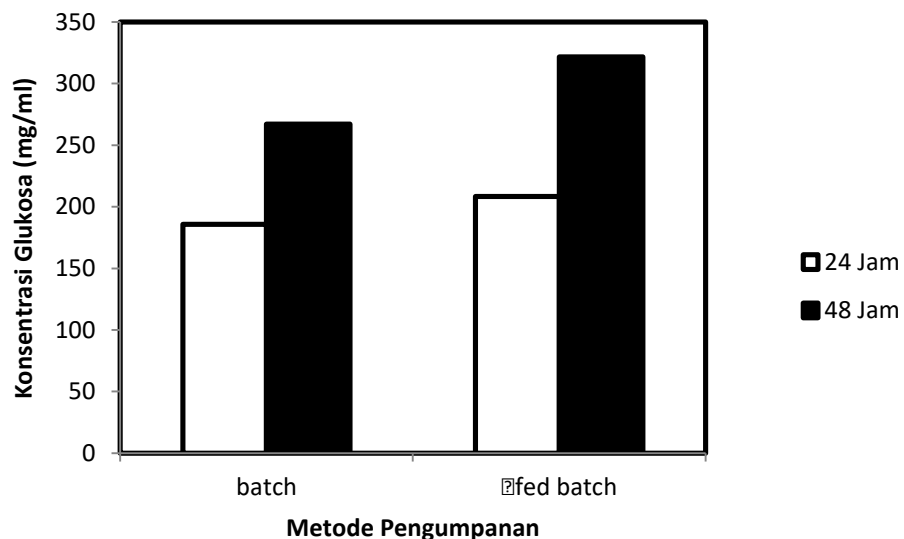
Tabel 1. Karakteristik bahan baku

	Hemiselulosa	Lignin	Selulosa	Air
<i>Analisis Chesson</i>	13,6762%	9,8086%	77,5119%	7,0334%

Hasil analisis menggunakan Metode *Chesson* memperoleh hasil seperti Tabel 1. Semakin rendah kandungan lignin pada substrat maka semakin mudah proses hidrolisis terjadi dan enzim selulase dapat mengakses selulosa [14]. Jumlah selulosa yang tinggi akan meningkatkan konsentrasi glukosa yang merupakan produk utama dari percobaan ini, substrat yang memiliki kandungan air yang tinggi akan mengalami proses pembusukan yang lebih cepat dibandingkan substrat yang memiliki kadar air yang rendah sehingga substrat yang dikeringkan akan memiliki waktu simpan yang lebih lama [15].

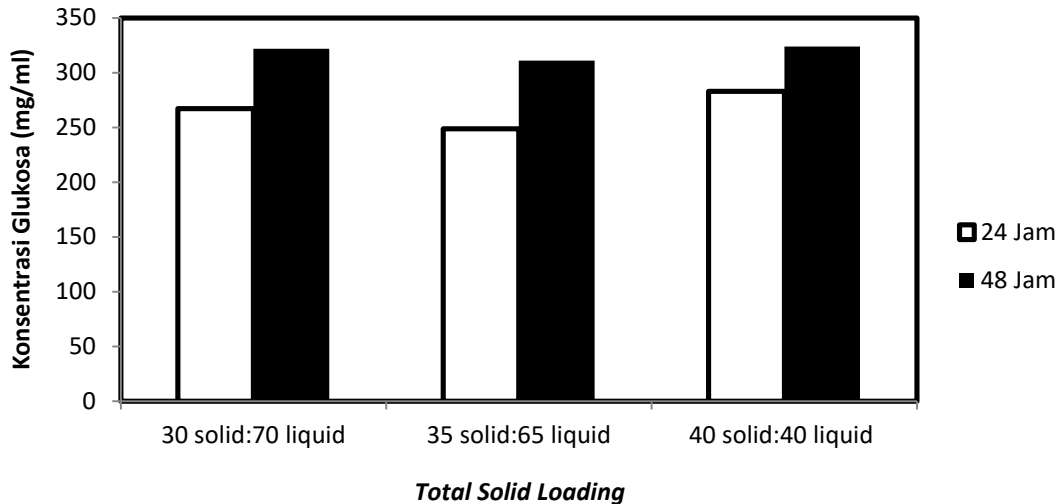
3.1. Hidrolisis Enzimatik *High Total Solid Loading*

Tujuan dari hidrolisis enzimatik dengan katalis enzim selulase adalah untuk menghasilkan glukosa yang berkonsentrasi tinggi, untuk menghasilkan glukosa yang berkonsentrasi tinggi maka digunakan *high total solid loading* agar glukosa yang didapatkan semakin banyak dan semakin tinggi konsentrasinya. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah metode *batch* atau *fed-batch* cocok dilakukan dengan hidrolisis enzimatik *high total solid loading* ditunjukkan pada Gambar 2.

**Gambar 2.** Konsentrasi glukosa metode *batch* dan *fed-batch*

Gambar 2 menunjukkan bahwa konsentrasi glukosa menggunakan metode *fed-batch* memperoleh konsentrasi 35,27% lebih besar daripada metode *batch* yaitu sebesar 321,784 mg/ml, sedangkan pada metode *batch* konsentrasi yang didapatkan sebesar 208,275 mg/ml. Hidrolisis dengan metode *batch* memiliki konsentrasi yang relatif lebih rendah dibanding menggunakan metode *fed-batch* dikarenakan konsentrasi bahan yang digunakan terlalu tinggi sehingga viskositas dalam reaktor semakin besar sehingga enzim tidak dapat mengkonversi selulosa secara merata, sedangkan pada metode *fed-batch* bahan dan enzim diumpungkan secara bertahap agar enzim dapat mengkonversi selulosa secara merata sehingga konsentrasi glukosa yang dihasilkan lebih tinggi. Metode *fed-batch* yang menghasilkan glukosa dengan konsentrasi tinggi akan dibandingkan dengan

beberapa *total solid loading* lainnya, konfigurasi yang diambil yaitu konfigurasi 1 dengan *total solid* sebesar 35% yang hasil konsentrasinya dibandingkan dengan *total solid loading* sebesar 30 dan 40% Hasil dari hidrolisis dengan perbandingan *total solid loading* di sajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Konsentrasi glukosa pada *total solid loading*

Hasil di atas menunjukkan semakin tinggi *total solid* yang digunakan maka konsentrasi glukosa yang dihasilkan akan semakin tinggi, namun seiring terjadinya peningkatan konsentrasi glukosa maka terjadi peningkatan viskositas sehingga menghasilkan volume glukosa yang lebih rendah. Glukosa yang di hasilkan dari 3 *solid loading* yang berbeda memiliki hasil yang tidak jauh berbeda dikarenakan penambahan substrat, enzim dan buffer juga tidak jauh berbeda maka glukosa yang dihasilkan pada masing-masing *total solid loading* juga tidak berbeda jauh, hal ini di pengaruhi oleh laju proses konversi organik yang sangat tergantung pada jumlah substratnya.

4. KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian yang dilakukan yaitu pada analisis bahan baku dengan metode *Chesson* setelah *pretreatment* didapatkan lignin sebesar 9,8086%, selulosa sebesar 77,5119%, hemiselulosa sebesar 13, 6762%, dan air sebesar 7.0334%. Hidrolisis dengan metode *batch* memiliki konsentrasi yang relatif lebih rendah dibanding menggunakan metode *fed-batch*, Konsentrasi glukosa menggunakan metode *fed-batch* memperoleh konsentrasi 35,27% lebih besar daripada metode *batch* yaitu sebesar 321,784 mg/ml. Konsentrasi glukosa tertinggi di dapatkan mulai dari *total solid loading* 30%, 35%, 40%. Semakin tinggi *total solid loading* yang digunakan maka akan semakin tinggi konsentrasi glukosa yang dihasilkan.

REFERENSI

- [1] Sun, Y., Cheng, J., 2002, *Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production a review*, Vol. 83, 1–11.
- [2] Yanti, M., Lintang, F.W.S., 2020, *Pembuatan Asam Laktat dari Selulosa oleh Bakteri Lactobacillus delbrueckii dengan Selulase dari Bakteri Bacillus subtilis dan Bacillus Circulans*, Distilat Jurnal Teknologi Separasi, Vol. 4, No. 2, 153–161.
- [3] Hovart., Ari, L., 2006, *Solubility of Stucturally Complicated Materials: I Wood*, Jurnal

- Fisika Kimia, Vol. 35, No. 1.
- [4] Rulianah, S., Prayitno, P., Sindhuwati, C., R, Ayu., K, Sa'diyah., 2020, *Penurunan Kadar Lignin pada Fermentasi Limbah Kayu Mahoni Menggunakan Phanerochaete chrysosporium*, Jurnal Teknik Kimia dan Lingkungan, Vol. 4, No. 1, 81–89.
- [5] Permono, R.A., 2018, *Mengenal Polimer dan Polimerisasi*. Gajah Mada University Press, Semarang.
- [6] M, Mufid., Ari, A.W., Sonya, A., 2018, *Sintesis Asam Oksalat dari Limbah Serbuk Kayu Jati (Tectona Grandis L.F) dengan Proses Hidrolisis Alkali*, Vol.2, No.1, Maret 17-22.
- [7] Wardani, N.B., Susanti, M., Maryanty, Y., Widiarto, E., 2021, *Hidrolisis Raw Sugar sebagai Bahan Baku Pembuatan Mono Natrium Glutamat dengan Variasi pH, Suhu, dan Konsentrasi*, Jurnal Distilat: Teknologi Separasi, Vol. 7, No. 1, 1–5.
- [8] Megawati, M., Damayanti, A., 2020, *Kinetika Hidrolisis Mikroalga dengan Enzim*, CV. Budi Utama.
- [9] Rulianah, S., Shinduwati, C., Prayitno, P., 2019, *Produksi Crude selulase dari Limbah Kayu Mahoni Menggunakan Phanerochaete Chrysosporium*, Vol.3, No.1, Februari 39-46.
- [10] Putri, K.W., Yuanisa, Y., Ulum, K., Agustin, A., 2015, *Pretreatment Lignoselulosa Batang Kelapa Sawit sebagai Langkah Awal Pembuatan Bioetanol*, Generasi Kedua: Kajian Pustaka. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian. Universitas Brawijaya, Malang.
- [11] Mousdale, A., Tucker, M., Grohmann, K., Wyman, C., 1992, *High Solids Simultaneous Saccharification And Fermentation Of Pretreated Wheat Straw To Ethanol*, Appl Biochem Biotechnol, 33(2):67-81.
- [12] Fuadi, F., 2017, *Perbandingan Efektifitas Pembuatan Glukosa dari Kertas Bekas secara Hidrolisis Asam dan Enzim*, Teknik Kimia, Universitas Muhammadiyah Solo.
- [13] Novozymes, N., 2010, *Enzymes for Hydrolysis of Lignocellulosic Material*, www.novozymes.com, diakses : 29 Juni 2020.
- [14] Hardiyanti, E., Mangunwidjaja, M., Sunarti, T., Suparno, O., 2010, *Pemanfaatan Biomassa Lignoselulosa Ampas Tebu untuk Produksi*, Jurnal Litbang Pertanian Vol. 24, No. 4.
- [15] Hodge, D.B., Karim, M.N., Schell, D.J., McMillan, D.J., 2008, *Soluble and Insoluble Solids Contributions to High-Solids Enzymatic Hydrolysis of Lignocellulose*, Bioresource Technology, Vol. 99, No. 18, 8940–8948.