

**PENGEMBANGAN BIOREAKTOR HIDROLISIS ENZIMATIS UNTUK
PRODUKSI BIOETANOL DARI BIOMASSA JERAMI PADI
(Development of enzymatics hydrolysis bioreactor for bioethanol production
from rice straw)**

Diyono Ikhsan, Mohamad Endy Yulianto dan Indah Hartati
(Lemlit UNDIP Semarang)

ABSTRACT

Human activity in modern life has disturbed air composition and causes many problems dealing with environmental issues such as acid rain and global warming. Carbon dioxide is a greenhouse gas, which the concentration in the air is increasing by 30% since the era of industrial revolution. Some activities, especially the usage of fossil fuel has cause the increasing of carbon dioxide concentration and other greenhouse gasses. When fossil fuels are consumed, carbon sequestered from the global carbon cycle for millions of years is released into the atmosphere, where it accumulates. One of effort need to be taken is to replace the usage of fossil fuel by bio-ethanol. Bio-ethanol consumption can release considerably less CO₂ depending on how it is produced. Ethanol from cellulosic biomass could dramatically reduce emissions of the greenhouse gas, carbon dioxide (CO₂). Although burning gasoline and other fossil fuels increases atmospheric CO₂ concentrations, the photosynthetic production of new biomass takes up most of the carbon dioxide released when bio-ethanol is burned. Rice straw hydrolysis for the enzymatic production of ethanol has some benefits such as higher yield, minimum side reaction, lower energy consumption and lower operation condition. The research objective was to determine the optimum condition of rice straw hydrolysis process for bio-ethanol production by using *Trichordema reseei*. The research was divided into several research steps which were bioreactor fabrication, optimization of hydrolysis process parameters, mathematical modeling by regression analysis and glucose fermentation process. Optimization process was conducted by using 2ⁿ factorial design. Parameters studied in this research were substrate-enzyme ratio, water-rice straw ratio, pH and reaction time. From each variable we analyzed the glucose qualitatively and quantitatively. The determination of the most affecting variables was conducted by normal probability plot analysis. The calculation of main and interaction effect was conducted prior. The process variables that affect the rice straw hydrolysis process were pH and substrate-enzyme ratio. The optimum condition was achieved at enzyme-substrate ratio 1:1,4; where the glucose yield was 18,001% and the mathematical model was: $y = -0,0837x^2 + 1,1683x + 14,061$. The optimum pH was hydrolysis process at pH 4,2 and the mathematical model was $y = -53,911x^2 - 400,8x + 18659$.

Keywords: *bioreactor, bioethanol, biomassa, enzyme*

PENDAHULUAN

Kegiatan manusia dalam kehidupan modern telah mengganggu komposisi udara yang menyebabkan masalah-masalah lingkungan yang cukup serius, seperti hujan asam dan pemanasan

global. Karbon dioksida (CO₂) merupakan suatu gas rumah kaca, yang jumlahnya di udara telah meningkat sekitar 30% akibat dari kegiatan manusia sejak awal revolusi industri. Beberapa kegiatan, khususnya penggunaan bahan

bakar fosil, telah menyebabkan kenaikan konsentrasi CO₂ dan gas rumah kaca yang lain di udara. Salah satu usaha memperkecil masalah tersebut adalah dengan penggunaan biofuel etanol sebagai pengganti bahan bakar fosil. Bioetanol dapat mengurangi emisi gas karbon dioksida, dan proses fotosintesis pada produksi biomassa akan menyerap gas karbon dioksida yang dihasilkan dari pembakaran bahan bakar fosil (DOE, 2006).

Selain menyangkut isu lingkungan hidup, Seiring dengan semakin meningkatnya kebutuhan minyak dan ketersediaan minyak yang terbatas, maka untuk memenuhi kebutuhan minyak dalam negeri Indonesia harus mengimpor minyak. Dengan meningkatnya import minyak dan harga minyak dunia, diperkirakan biaya yang harus ditanggung pemerintah Indonesia dalam pengadaan minyak dalam negeri akan semakin meningkat pula. Oleh karena itu perlu dipertimbangkan penggunaan sumber energi lain selain minyak. Bioetanol merupakan salah satu alternatif sumber energi yang dapat mengurangi tekanan akibat tingginya harga minyak dunia.

Produksi etanol nasional pada tahun 2006 mencapai 200 juta liter. Kebutuhan etanol nasional pada tahun 2007 diperkirakan mencapai 900 juta kiloliter (Surendro, 2006). Saat ini bioetanol diproduksi dari tetes tebu, singkong maupun dari jagung. Salah satu alternatif bahan baku pembuatan bioetanol adalah biomassa berselulosa. Biomassa berselulosa merupakan sumber daya alam yang berlimpah dan murah yang memiliki potensi mendukung produksi komersial industri bahan bakar seperti etanol dan butanol. Selain dikonversi menjadi biofuel, biomassa berselulosa juga dapat mendukung produksi komersial industri kimia seperti asam organik, aseton atau gliserol

(Wymann, 2002). Biomassa berselulosa diantaranya diperoleh dari limbah pertanian, limbah perkebunan, limbah kehutanan, limbah padat kertas dan beberapa limbah industri.

Salah satu limbah pertanian di Indonesia yang belum dimanfaatkan adalah limbah tanaman padi (jerami). Jerami adalah tanaman padi yang telah diambil buahnya (gabahnya), sehingga tinggal batang dan daunnya yang merupakan limbah pertanian terbesar serta belum sepenuhnya dimanfaatkan karena adanya faktor teknis dan ekonomis. Pada sebagian petani, jerami sering digunakan sebagai mulsa pada saat menanam palawija. Hanya sebagian kecil petani menggunakan jerami sebagai pakan ternak alternatif di kala musim kering karena sulitnya mendapatkan hijauan. Di lain pihak jerami sebagai limbah pertanian, sering menjadi permasalahan bagi petani, sehingga sering di bakar untuk mengatasi masalah tersebut. Produksi jerami padi dapat mencapai 12 - 15 ton per hektar per panen, bervariasi tergantung pada lokasi dan jenis varietas tanaman padi yang digunakan.

Produksi padi nasional mencapai 54,75 juta ton pertahun pada tahun 2006, meningkat sebesar 1,11% dibandingkan produksi padi tahun 2005. Peningkatan produksi padi juga diiringi peningkatan limbah jerami padi (Berita Resmi Statistik, 2006).

Biomassa berselulosa terbentuk dari tiga komponen utama yakni selulosa, hemiselulosa dan lignin. Selulosa merupakan komponen utama yang terkandung dalam dinding sel tumbuhan dan mendominasi hingga 50% berat kering tumbuhan. Jerami padi diketahui memiliki kandungan selulosa yang tinggi, mencapai 34.2% berat kering, 24.5% hemiselulosa dan kandungan lignin hingga 23.4%. Komposisi kimia limbah

pertanian maupun limbah kayu tergantung pada spesies tanaman, umur tanaman, kondisi lingkungan tempat

tumbuh dan langkah pemrosesan. Perbandingan komposisi kimia beberapa biomassa disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi kimia berbagai biomassa

Biomassa	Selulosa(% b/b)	Hemiselulosa (% b/b)	Lignin (% b/b)
Kayu poplar	49.9	20.4	18.1
Jerami padi	34.2	24.5	23.4
Switchgrass	31.0	24.4	17.6

Sumber Wyman dkk, 1996

Struktur biomassa berselulosa merupakan struktur yang kompleks. Oleh karenanya, biomassa berselulosa merupakan material yang lebih sulit didegradasi dan dikonversi dibandingkan material berbahan dasar dari starch.

Konversi enzimatik biomassa berselulosa menjadi bioetanol melibatkan tiga langkah dasar yakni **proses pretreatment, proses hidrolisa dan proses fermentasi**. Proses pretreatment bertujuan mempermudah akses enzim selulase untuk menghidrolisa selulosa menjadi monomer-monomer gula.

Proses hidrolisa untuk memproduksi monomer-monomer gula dari selulosa dan hemiselulosa dapat berlangsung melalui proses hidrolisa asam maupun melalui hidrolisa enzimatik. Hidrolisa asam dibedakan menjadi dua proses yaitu Dilute Acid Hydrolysis dan Concentrated Acid Hydrolysis. Dilute Acid Hydrolysis (DAH) merupakan teknologi tertua yang digunakan untuk menghidrolisa selulosa. Proses DAH melibatkan larutan asam sulfat 1% dalam reaktor kontinyu yang beroperasi pada suhu tinggi, 250 °C. **Konversi dari proses tersebut hanya 50 %**. Concentrated Acid Hydrolysis menggunakan asam sulfat konsentrat dan dilanjutkan dengan pelarutan dalam air untuk melarutkan dan menghidrolisa selulosa menjadi gula.

Hidrolisa selulosa secara enzimatik memiliki potensi untuk

meningkatkan efisiensi, konversi dan produktifitas. Hidrolisa selulosa secara enzimatik melibatkan beberapa enzim yang berbeda. Enzim yang disekresi dari filamentous fungi *Trichoderma reesei* dapat mengkonversi biomassa menjadi gula (Hayn,1993). Penelitian mengenai hidrolisa biomassa secara enzimatik telah dilakukan oleh beberapa peneliti, diantaranya hidrolisa berbahan baku limbah kayu softwood (Wingren, 2003), jerami gandum (Shcmitd, 1998) dan pinus. Yield yang diperoleh dari hidrolisa biomassa terutama dipengaruhi oleh jenis bahan baku (Palonen, 2004).

Hidrolisa selulosa secara enzimatik memiliki beberapa keuntungan, yakni konversi lebih tinggi, menghasilkan produk samping yang minimal, kebutuhan energi lebih rendah dan kondisi operasi yang relatif lebih rendah. Proses enzimatik merupakan proses bersih lingkungan. Dengan menggunakan bahan baku terbarukan (*renewable raw material*) yang ekonomis dari limbah pertanian untuk proses produksi bioetanol dapat memberikan nilai tambah bagi petani. Saat ini, hidrolisa enzimatik merupakan teknologi yang sangat menjanjikan guna mengkonversi biomassa menjadi gula untuk selanjutnya dikonversi menjadi bioetanol.

Hidrolisa selulosa secara enzimatik merupakan suatu kasus khusus dalam bidang enzimologi karena substrat berada dalam fasa padat sehingga

hidrolisa berlangsung pada fasa padat. Penelitian-penelitian yang berkaitan dengan produksi bioetanol dari berbagai biomassa terus dikembangkan, baik penelitian yang berkaitan dengan enzim yang digunakan maupun penelitian yang berkaitan dengan sumber bahan baku. Hingga kini belum ada penelitian yang berkaitan dengan pemanfaatan jerami padi sebagai bahan baku pembuatan bioetanol sehingga variabel berpengaruh pada proses hidrolisa serta kondisi optimum proses hidrolisa jerami padi belum dapat ditentukan. Hidrolisa selulosa secara enzimatis dipengaruhi beberapa variabel yakni rasio enzim-substrat, rasio jerami padi-air, temperatur, pH reaksi dan waktu reaksi. Dengan menggunakan metode factorial design, variabel yang paling berpengaruh terhadap proses hidrolisa dapat diketahui, sehingga setelah variabel berpengaruh diketahui. Optimasi terhadap variabel proses dapat dilakukan untuk mendapatkan kondisi optimum proses hidrolisa jerami padi. Glukosa hasil hidrolisa jerami padi secara enzimatis selanjutnya difermentasi untuk menghasilkan bioetanol. Adapun kondisi operasi yang dipilih pada proses fermentasi adalah kondisi operasi optimum berdasar beberapa hasil penelitian terdahulu (Okunowo 2007; Prasetyaningsih, 2007). Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji dan menentukan kondisi optimum reaksi hidrolisa jerami padi menggunakan *Trichoderma reesei* untuk produksi bioetanol.

METODE PENELITIAN

Penelitian tentang pembuatan bioetanol melalui hidrolisa trigliserida enzimatis dari jerami padi dalam

bioreaktor hidrolisis enzimatis akan diinvestigasi baik secara eksperimen maupun pemodelan. Rangkaian penelitian akan dilaksanakan secara bertahap meliputi:

- Perancangan dan pabrikan bioreaktor hidrolisis enzimatis
- Optimisasi parameter-parameter proses hidrolisa selulosa menjadi glukosa
- Penyusunan model matematis secara regresi pada kondisi optimum
- Fermentasi glukosa menjadi bioetanol

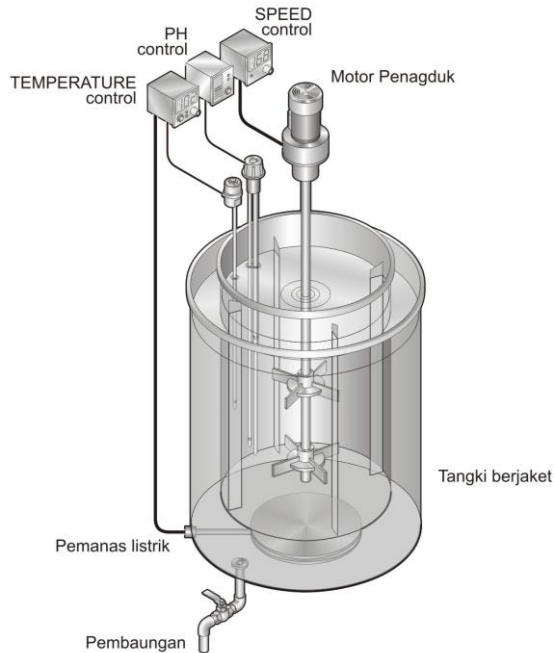
Perancangan dan Pabrikasi Alat Bioreaktor Hidrolisis Enzimatis

Perancangan dan pabrikan bioreaktor enzimatis skala laboratorium dikerjakan di Workshop Teknik Mesin UNDIP selama 1 bulan. Rangkaian alat bioreaktor yang digunakan untuk proses hidrolisis enzimatis tersaji pada Gambar 1. Rangkaian alat ini terdiri dari reaktor enzimatis, motor pengaduk, pemanas listrik, pengendali temperatur, pengendali pH, jaket pendingin dan pengendali putaran pengaduk.

Bahan Penelitian

Bahan utama untuk penelitian berupa jerami padi diperoleh dari area penghasil padi di Kecamatan Gunungpati. Bahan-bahan kimia untuk keperluan analisa diperoleh dari PT. Bratachem Semarang. Bahan-bahan kimia tersebut adalah:

- | | |
|-----------------------------------|---|
| 1. Buffer acetate | 9. NaOH |
| 2. <i>Trichoderma reesei</i> | 10. H ₂ SO ₄ |
| 3. Bovin Serum Albumin | 11. Metilen Blue |
| 4. Asam sulfat | 12. KH ₂ PO ₄ |
| 5. Demin Water | 13. MgSO ₄ . 7 H ₂ O |
| 6. Glukosa anhidrid | 14. (NH ₄) ₂ SO ₄ |
| 7. <i>Sacharomices cereviceae</i> | 15. NaHCO ₃ |
| 8. Fehling A dan B | 16. Metanol Teknis |



Gambar 1. Rangkaian alat bioreaktor hidrolisis enzimatis

Alat Penelitian

Beberapa alat yang digunakan untuk percobaan dan sebagai pendukung terutama untuk keperluan analisa adalah:

1. Fluidised Sand Bath Reactor
2. Digester

3. Buret, dengan volume 10 ml dan skala 0,02
4. Piknometer, dengan volume 5 ml
5. Erlenmeyer, dengan volume 250 ml
6. Beaker glass, dengan volume 500 ml dan 100 ml
7. Gelas ukur, dengan volume 10 ml, skala 0,01 dan volume 25, skala 0,1
8. Orbital Shaker bath
9. Autoclave

Variabel Percobaan

Variabel-variabel percobaan dalam reaksi hidrolisa selulosa secara enzimatis adalah rasio enzim-substrat, rasio jerami padi-air, pH reaksi dan waktu reaksi. Batas atas dan batas bawah untuk masing masing variabel disajikan pada Tabel 2.

Adapun tetapan pada percobaan pertama adalah:

Konsentrasi larutan sulfat	= 1%
Volume buffer	= 50 ml
Suhu pretreatment	= 140°C
Waktu pretreatment	= 40 menit
Waktu preinkubasi	= 10 menit

Tabel 2. Data batas atas dan batas bawah experimental design

Variable	Batas bawah (-)	Batas Atas (+)
Rasio enzim substrat	1:1.75	1:1
Rasio limbah padi-air	2%	5%
Waktu reaksi	3 hari	7 hari
pH reaksi	4	5

PROSEDUR PERCOBAAN

Proses pretreatment

Jerami padi dihancurkan dan digiling kemudian direndam dalam larutan asam sulfat 1% selama satu malam dengan konsentrasi 5% berat. Slurry hasil perendaman kemudian dimasukkan kedalam fluidised sand bath reaktor dan dipanaskan hingga 140°C selama 40 menit.

Proses Hidrolisa

Slurry hasil pretreatment dihidrolisa dengan rasio enzim-substrat, dan konsentrasi padatan sesuai variabel dalam 50 ml larutan buffer acetate. Larutan di preinkubasi pada suhu 50°C didalam air menggunakan orbital shaker bath pada 150 rpm selama 10 menit. Enzim ditambahkan untuk memulai reaksi hidrolisis segera setelah proses

aklimatisasi. Sampel diambil untuk dianalisa kadar glukosanya setiap 6 jam sekali.

Rancangan Riset

Riset yang akan dilakukan merupakan riset dengan rancangan eksperimen murni. Percobaan direncanakan dengan menggunakan faktorial design dengan ulangan 2 kali. Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis varian menggunakan normal probability plot.

Experimental Design

Analisa data pada penelitian ini menggunakan sistem eksperimental design yang berarti sekumpulan percobaan (tempuhan) yang dirancang untuk memperoleh data-data konkret untuk membuktikan suatu hipotesa. Pada eksperimental design setiap variabel yang diuji ditentukan pada beberapa harga, biasanya dua harga untuk variabel bebas. Kemudian variabel bebas tersebut dikombinasikan pada semua kemungkinan yang ada. Dari kombinasi variabel bebas tersebut akan didapatkan data-data yang akan digunakan pada pengambilan kesimpulan dengan menggunakan metode statistik.

Eksperimental design adalah salah satu cara yang sering digunakan dibandingkan cara-cara lain yang konvensional, karena mempunyai beberapa kelebihan yaitu :

- Eksperimental design hanya membutuhkan tempuhan yang lebih sedikit untuk mengetahui efek-efek pada semua variabel.
- Kondisi optimum yang didapat lebih tepat karena mengikutsertakan faktor-faktor interaksinya.
- Pengambilan kesimpulan lebih pasti karena didukung metode perhitungan

statistika yang mudah dan cukup sederhana.

Optimasi Parameter Proses

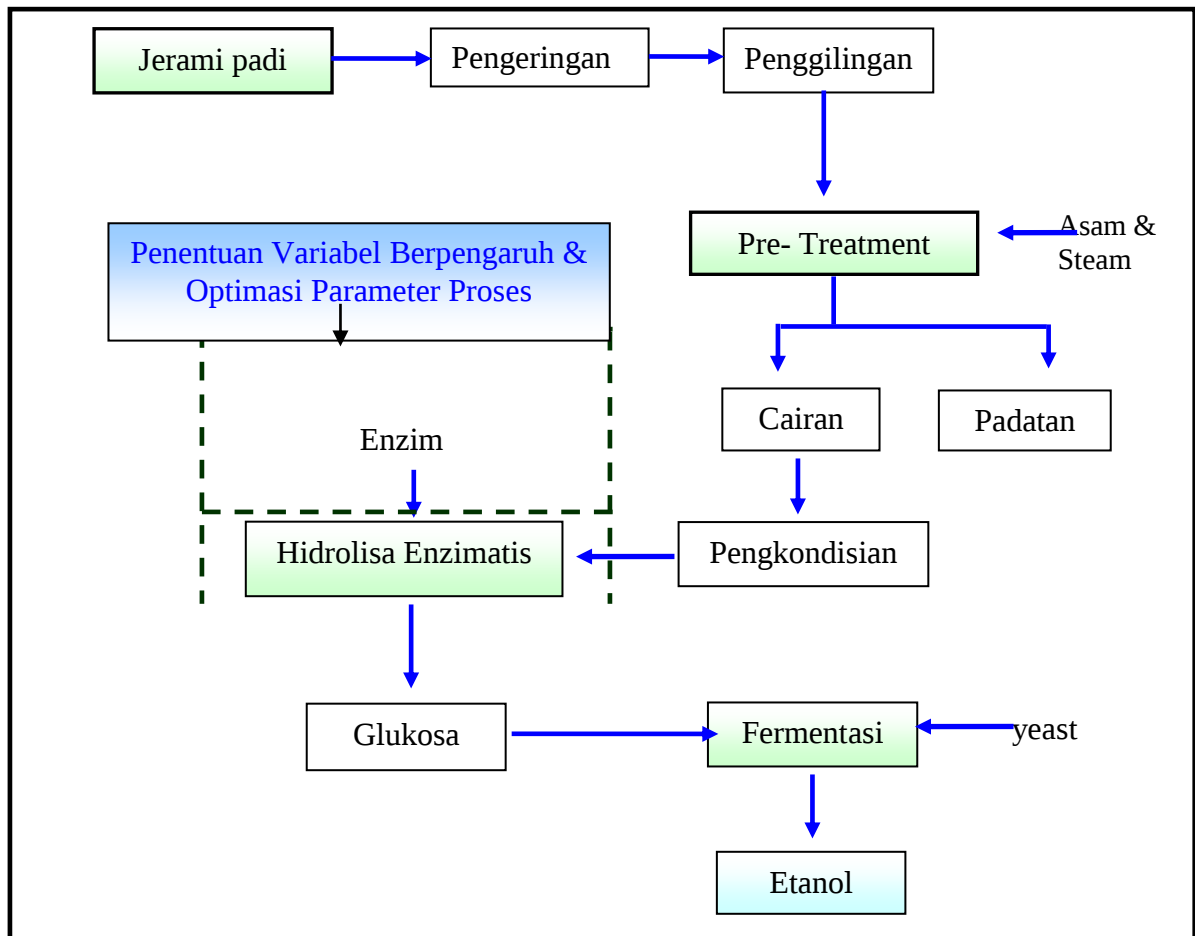
Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kondisi optimum proses hidrolisa jerami padi guna menghasilkan glukosa yang selanjutnya dapat dikonversi menjadi bioetanol. Optimasi parameter proses akan dilakukan di Laboratorium Kimia Analisa Universitas Diponegoro Semarang Selama 2 bulan.

Tetapan pada proses optimasi sama dengan tetapan pada penentuan variabel berpengaruh ditambah dengan parameter proses selain variabel yang paling berpengaruh. Optimasi parameter proses akan dilakukan terhadap variabel paling berpengaruh. Variabel percobaan diperoleh dengan membuat interval terhadap variabel paling berpengaruh yang telah ditentukan dari tahap penentuan variabel berpengaruh.

Pemodelan Regresi pada Kondisi Optimum

Kegiatan pemodelan diawali dengan menyusun persamaan matematis secara regresi berdasarkan data dari studi optimasi parameter proses. Pemodelan ini dilakukan di Laboratorium Komputasi Proses Teknik Kimia Fakultas Teknik UNDIP selama 1 bulan. Model regresi mewakili variabel proses yang paling berpengaruh terhadap hidrolisa biomassa jerami padi secara enzimatis pada keadaan optimum dan digunakan untuk memprediksikan kondisi serta evaluasi kinerja alat bioreaktor hidrolisis enzimatis.

Rancangan proses pembuatan bioetanol melalui proses hidrolisa enzimatis jerami padi disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Rancangan proses pembuatan bioetanol melalui proses hidrolisa enzimatis jerami padi

Proses fermentasi

Proses fermentasi dilakukan terhadap glukosa yang diperoleh dari optimasi parameter proses hidrolisa jerami padi secara enzimatis. Glukosa hasil hidrolisa yang telah dianalisa kadar glukosanya dikondisikan agar memiliki kadar glukosa sebesar 14%. Pasteurisasi untuk mensterilkan medium dilakukan dengan pemanasan uap pada suhu 75°C kemudian didinginkan selama 1 jam hingga mencapai suhu ruang. Starter ditambahkan sebesar 12%. pH larutan dijaga 4.5. Fermentasi dilakukan selama 30 jam. Hasil fermentasi dianalisa total alkoholnya menggunakan metode spesifik gravimetri dan dianalisa kadar glukosanya. Kondisi operasi pada proses

fermentasi merupakan kondisi yang relatif baik bagi proses fermentasi alkohol berdasar hasil penelitian beberapa peneliti (Okunowo 2007; Prasetyaningsih, 2007).

HASIL PENELITIAN

Perancangan dan Pabrikasi Bioreaktor Hidrolisis Enzimatis

Rangkaian alat bioreaktor yang digunakan untuk proses hidrolisis selulosa menjadi glukosa secara enzimatis tersaji pada Gambar 3. Rangkaian alat ini terdiri dari reaktor enzimatis, motor pengaduk, pemanas listrik, seting temperatur dan pengaturan putaran pengaduk serta indikator suhu berbasis komputerisasi.



Gambar 3. Rangkaian alat bioreaktor hidrolisis enzimatis



Uji Coba Bioreaktor Hidrolisis Enzimatis

Uji coba alat proses digunakan untuk menstabilkan setting kondisi operasi, konsistensi proses dan stabilitas

proses, sehingga dapat digunakan untuk mengukur data percobaan di laboratorium. Uji coba alat bioreaktor hidrolisis enzimatis ini tersaji pada Gambar 4.



Gambar 4. Uji coba alat bioreaktor hidrolisis enzimatis

Perbanyakan Fungi *Trichordema reseei*

Fungi *Trichordema reseei* yang digunakan sebagai biokatalis proses hidrolisa selulosa seperti disajikan pada Gambar 5 diperoleh dari Laboratorium

Mikrobiologi UNNES. Perbanyakan fungi dilakukan di Laboratorium Bioteknologi UNNES dengan tujuan agar enzim selulase hasil sekresi dari *Trichordema reseei* dapat maksimal.



Gambar 5. Fungi *Trichoderma reesei*

Proses perbanyakan fungi diawali dengan penyiapan media. Media yang digunakan adalah PDA (agar dextrose). PDA yang digunakan di didihkan selama 15 menit. Selanjutnya media di letakkan pada petri dish yang telah disterilasi dan didinginkan. Setelah media agar pada cawan petri dingin fungi *Trichoderma* sebanyak satu oase ditanam pada media. Selanjutnya cawan petri berisi fungi di masukkan ke dalam almari pendingin selama 2 hari.

Isolasi Enzim Selulase pada *Trichoderma reesei*

Proses isolasi enzim selulase dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi UNNES. Enzim selulase yang akan digunakan pada proses hidrolisa jerami diisolasi menggunakan larutan NaCl dengan tujuan untuk mengestrak selulase yang disekresi dari filamenteus fungi. Fungi *Trichoderma reesei* di tambah dengan 50 ml larutan NaCl 0.2 N. Larutan kemudian di centrifugasi pada suhu rendah dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit dengan tujuan untuk memisahkan fasa ekstrak dan fasa rafinat. Selanjutnya ekstrak yang berupa supernatan dipisah dari padatan. Supernatan yang mengandung enzim kemudian dipanaskan pada suhu rendah untuk memisahkan enzim dari air.

Proses Pretreatment

Percobaan pendahuluan dilakukan dengan proses pretreatment jerami padi menggunakan larutan asam sulfat (0.6-1.5%,b/b) yang dipanaskan dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 90 menit. Proses treatment bertujuan memecah ikatan antara lignin dan hemiselulosa. Hal ini dilakukan karena tanpa melalui proses treatment, enzim selulase tidak dapat mengakses kedalam selulosa sehingga proses hidrolisa selulosa pada biomassa terhambat. Pernyataan ini sesuai Polanen, 2004 bahwa keberadaan lignin dan hemiselulosa akan mengurangi laju hidrolisa karena terjadi adsorpsi selulase terhadap lignin.

Studi Experimental Design

Studi experimental design dilakukan untuk mengetahui variabel yang paling berpengaruh pada proses hidrolisa selulosa menjadi glukosa secara enzimatik. Penentuan variabel berpengaruh dilakukan dengan melakukan tempuhan berdasar rancangan percobaan sesuai metoda *factorial design*. Tahap awal penggunaan metoda factorial design adalah menetapkan variabel bebas serta tetapan pada percobaan. Variabel bebas pada penelitian ini berdasarkan pada batas atas dan bawah.

Tabel 3. Kadar Glukosa (%) Hasil Percobaan

Run	Lambang	Faktor				
		rasio enzim-substrat	rasio air-jerami padi	pH	Waktu reaksi	Kadar Glukosa (%)
1	Y1	1:1 (-)	2% (-)	4 (-)	4(-)	12.574
9	Y9	1:1.75 (+)	2% (-)	4 (-)	4(-)	14.332
5	Y5	1:1 (-)	5% (+)	4 (-)	4(-)	14.082
13	Y13	1:1.75 (+)	5% (+)	4 (-)	4(-)	12.295
3	Y3	1:1 (-)	2% (-)	5 (+)	4(-)	16.560
11	Y11	1:1.75 (+)	2% (-)	5 (+)	4(-)	14.578
7	Y7	1:1 (-)	5% (+)	5 (+)	4(-)	18.579
15	Y15	1:1.75 (+)	5% (+)	5 (+)	4(-)	15.314
2	Y2	1:1 (-)	2% (-)	4 (-)	7 (+)	15.828
10	Y10	1:1.75 (+)	2% (-)	4 (-)	7 (+)	16.360
6	Y6	1:1 (-)	5% (+)	4 (-)	7 (+)	18.690
14	Y14	1:1.75 (+)	5% (+)	4 (-)	7 (+)	13.645
4	Y4	1:1 (-)	2% (-)	5 (+)	7 (+)	16.746
12	Y12	1:1.75 (+)	2% (-)	5 (+)	7 (+)	13.382
8	Y8	1:1 (-)	5% (+)	5 (+)	7 (+)	20.417
16	Y16	1:1.75 (+)	5% (+)	5 (+)	7 (+)	18.408

Data hasil percobaan berupa kadar glukosa (%) untuk masing-masing tempuhan tersaji pada Tabel 3. Analisa normal probability plot dilakukan, setelah perhitungan main efek dan perhitungan

interaksi. Respon yang diperoleh dari perhitungan tersebut dianalisa nilai yang paling signifikan dan merupakan variabel yang paling berpengaruh terhadap percobaan.

Tabel 4. Hasil Analisa Respon Terhadap Variabel

Respon	Variabel	Analisa
12.574		
14.332	A	-1.89525
14.082	B	1.38375
12.295	AB	-1.13125
16.560	AC	2.02225
14.578	C	-0.75975
18.579	BC	1.47925
15.314	ABC	1.14925
15.828	D	1.89525
16.360	AD	-0.57625
18.690	BD	0.82725
13.645	ABD	0.07575
16.746	CD	-0.91475
13.382	ACD	0.54475
20.417	BCD	0.65825
18.408	ABCD	0.3387

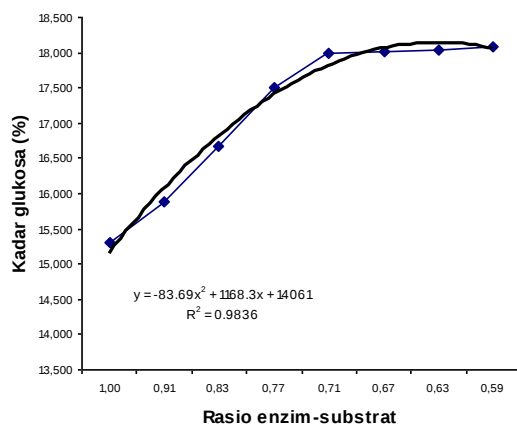
A, adalah variabel rasio enzim-substrat ; B: variabel rasio jerami padi-air; C: variabel pH; dan D: variabel waktu. Tabel 4. hasil analisa respon terhadap variabel menunjukkan bahwa variabel AC mempunyai nilai yang paling signifikan sebesar 2,02225. Oleh karenanya dapat diambil suatu kesimpulan bahwa variabel A dan variabel C, merupakan faktor yang paling berpengaruh dalam percobaan ini.

Optimasi Variabel Proses Rasio Enzim-Substrat

Tahap selanjutnya adalah penentuan kondisi optimum untuk variabel proses rasio enzim-substrat. Optimasi kondisi proses dilakukan pada berbagai variabel proses rasio enzim-substrat dengan mengkondisikan pada pH 4. Perolehan

kadar glukosa untuk delapan tempuhan tersaji pada Gambar 6. Hasil percobaan menunjukkan bahwa semakin besar rasio enzim-substrat, semakin meningkat kadar glukosanya. Hal ini terjadi karena semakin besar rasio enzim-substrat menyebabkan tumbukan antar molekul-molekul reaktan dengan enzim meningkat, sehingga penyusupan molekul enzim ke dalam substrat lebih sering terjadi. Akan tetapi, peningkatan rasio enzim-substrat di atas 1:1,4, glukosa yang diperoleh relatif mendekati konstan. Hal ini terjadi, karena penurunan energi aktivasi reaksi hidrolisa relatif kecil. Kondisi optimum dicapai pada rasio enzim-substrat 1:1,4 dengan perolehan glukosa sebesar 18,001% dan model regresinya

adalah: $y = -0,0837x^2 + 1,1683x + 14,061$. Model matematis kuadratik ditentukan berdasarkan pada kecenderungan bentuk kurva dan kesalahan relatif tiap titik yang terkecil.



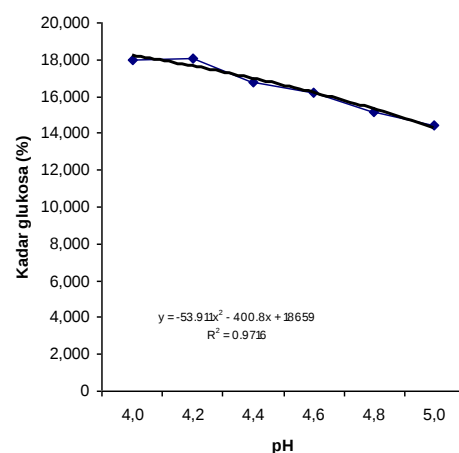
Gambar 6. Grafik hubungan antara rasio enzim-substrat terhadap kadar glukosa

Optimasi Variabel Proses pH

Penentuan kondisi optimum untuk variabel proses pH dilakukan pada rasio

enzim-substrat 1:1,4. Optimasi variabel proses dikondisikan pada berbagai rentang pH, yaitu antara 4 - 5. Gambar 6 menunjukkan bahwa perolehan glukosa terbesar dicapai pada pH 4,2 dengan persamaan model

$y = -53,911x^2 - 400,8x + 18659$. Hal tersebut menunjukkan bahwa aktivitas enzim selulase sangat sensitif terhadap pH. Namun demikian, samsuri, et al, 2007, menyatakan bahwa pH optimum untuk enzim selulase pada 4,8.



Gambar 7. Grafik hubungan antara pH terhadap kadar glukosa

KESIMPULAN

Variabel proses yang berpengaruh terhadap reaksi hidrolisa jerami padi secara enzimatik adalah pH dan rasio enzim-substrat. Kondisi optimum dicapai pada rasio enzim-substrat 1:1,4 dengan perolehan glukosa sebesar 18,001% dan model regresinya adalah:

$$y = -0,0837x^2 + 1,1683x + 14,061.$$

Sedangkan kondisi optimum pH, perolehan glukosa terbesar dicapai pada pH 4,2 dengan persamaan model $y = -53,911x^2 - 400,8x + 18659$.

SARAN

Produksi bioetanol dari biomassa jerami padi secara enzimatik sangat prospektif dan menjanjikan. Oleh karenanya, perlu studi lebih lanjut guna

mendapatkan data-data teknis dan analisis tekno-ekonomi yang digunakan untuk produksi bioetanol secara komersial dari biomassa berbasis selulosa.

DAFTAR PUSTAKA

- Antongiovanni, M., 1983, *Variability in Chemical Composition of Straw*. CIHEAM, Options Mediterraneennes
- Berita Resmi Statistik, 2006, *Produksi Jagung, Padi dan Kedelai*. Berita Resmi Statistik Volume 35/IX
- Bjerre AB, Olesen AB, 1996, *Pretreatment of Wheat Straw Using Combined Wet Oxidation and Alkaline Hydrolysis Resulting in Convertible Cellulose and Hemicellulose*. Biotechnol Bioeng 49
- Bin Yang, Wyman. E, 2005, *BSA Treatment to Enhance Enzymatic Hydrolysis of Cellulose in Lignin Containing Substrat*. *Biotechnology and Bioengineering Journal* Vol 94 No 4 jully Willey Interscience
- DOE, 2006, *A Reswearch Roadmap to Resulting from Biomass To Biofuels Workshop*. Office of Science, Marryland
- Erickson K, 1990” *Microbial and Enzymatic Degradation of Wood*” Springer Berlin
- Glasneer David, 1999, *Corn Stover Potential*. ASHS Press, Alexandria, VA
- Grohman K, Torget R, 1985, *Optimization of Dilute Acid Pretreatment of Biomass*. Biotechnol.Bioeng.15
- Hayn, M., Steiner W., 1993, *Basic Research and Pilot Studies on the Enzymatic Conversion of Lignocellulosic*. Bioconversion of Forest and Agricultural Plant Residues, Wallington, UK.
- IEA Energy Technology Essential, 2007, *Biofuel Production*. www.iea.org
- Johanessen R, 1991, *Energy Efficiency and Environmental News Alcohol Production from Biomass*. Florida Energy Extension news
- Kelly, C., 2007, *Enzymes in Hydrolysis and Pretreatment*. OSU College of Engineering
- Ladish, M.R, Zeng M, 2005, *Microscopic Examination of Changes of Plant Cell Structure in Lignocellulosic Material Due to Hot Water Treatment and Enzymatic Hydrolisis*.
- Lynd L.R., 1996, *Overview and Evaluation of fuel Ethanol from Cellulosic biomass*. Annu Rev energy Environment
- Media Pertanian; 2003, *Pengembangan Padi Hibrida Terbuka Lebar*, Situs Hijau Media Pertanian Online.
- Okunowo, Oluwanisula, 2007, *Quantitation of Alcohol in Wine*. African Journal of Biochemistry.
- Palonen, H., Tjerneld, F., 2004, *Adsorbition of purified Trichordema reseei cellulases and their catalytic domain to steam pretreatment softwood and isolated lignin*. J Biotechnology 107
- Prasetyaningsih, E., 2007, *Industri Alkohol*. E-Kuliah. Knowledge Collaborative Sharing
- Ramakrisna, 2007, *Technological Challenges in Bioethanol Production*. Praj Industries Limited

- Samsuri, M., Mardias, R., Wijanarko, A., Gozan, M., 2007, *Produksi Bioetanol dari Bagas dengan Enzim Selulase*. Prosiding Seminar Nasional Rekayasa Kimia dan Proses, Undip
- Schmidt AS, 1998. *Optimization of Wet Oxidation Pretreatment of Wheat Straw*. Biores.Technol .
- Suarna, E., *Prospek dan Tantangan Pemanfaatan Biofuel Sebagai Sumber Energi Alternatif Pengganti Minyak di Indonesia*.
- Surendro, H., 2006, *Biofuel*. DJLPE, Jakarta
- Wingren A, Galbe M., 2003. *Techno Evaluation of Producing Etanol From Softwood*. Biotechnol Journal.
- Wyman CE, 2002. *Potential Synergies and Challenges in Refining Cellulosic Biomass to Fuels*. Biotechnol Progress.
- Zanin, G.M., 2005. *Determination of Inhibition in the Enzymatic Hydrolysis of Cellobiose Using Hybrid Neural Modelling*. Brazillian Journal of Chemical Engineering Vol 22