

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Jerami Padi

Jerami padi merupakan salah satu limbah agroindustri yang paling banyak ketersediaannya di Indonesia. Berdasarkan data Badan Pusat Statistik (2014), produksi padi di Indonesia pada tahun 2014 sebesar 70,83 juta ton gabah kering giling (GKG), sedangkan produksi jerami padi yang dihasilkan dapat mencapai 50% dari produksi gabah kering panen atau sekitar 35,46 juta ton. Namun demikian, pemanfaatan jerami padi oleh para petani pada umumnya masih rendah.

Jerami padi biasanya digunakan sebagai pakan ternak atau sebagai bahan baku kompos. Selain itu, sebagian besar dari para petani hanya membakar jerami padi pada areal persawahannya setelah selesai melakukan pemanenan. Hal ini jika terus dilakukan, maka akan meningkatkan polusi udara dan berdampak buruk pada kesehatan manusia serta dapat merusak bumi. Oleh karena itu, perlu dilakukan pemanfaatan jerami padi secara maksimal yang dapat menguntungkan dan tidak merusak lingkungan. Salah satu bentuk pemanfaatan yang sedang gencar dilakukan dunia ialah menjadikan limbah agroindustri seperti jerami padi menjadi bahan baku pembuatan bioetanol.

2.1.1 Potensi Jerami Padi sebagai Bahan Baku Bioetanol

Berdasarkan potensinya sebagai bahan baku bioetanol, Kim dan Dale (2004) telah membuat prediksi bahwa sebanyak 0,28 L/Kg jerami padi dapat dijadikan etanol. Jika dihitung dari ketersediaan bahan baku jerami padi pada tahun 2014, maka etanol yang dapat dihasilkan sebesar 9,93 juta kL (Kim dan Dale, 2004). Dengan jumlah tersebut, maka produksi bioetanol dari jerami padi dapat memenuhi 24-33% konsumsi premium yang sebesar 29,71 juta kL pada tahun 2014.

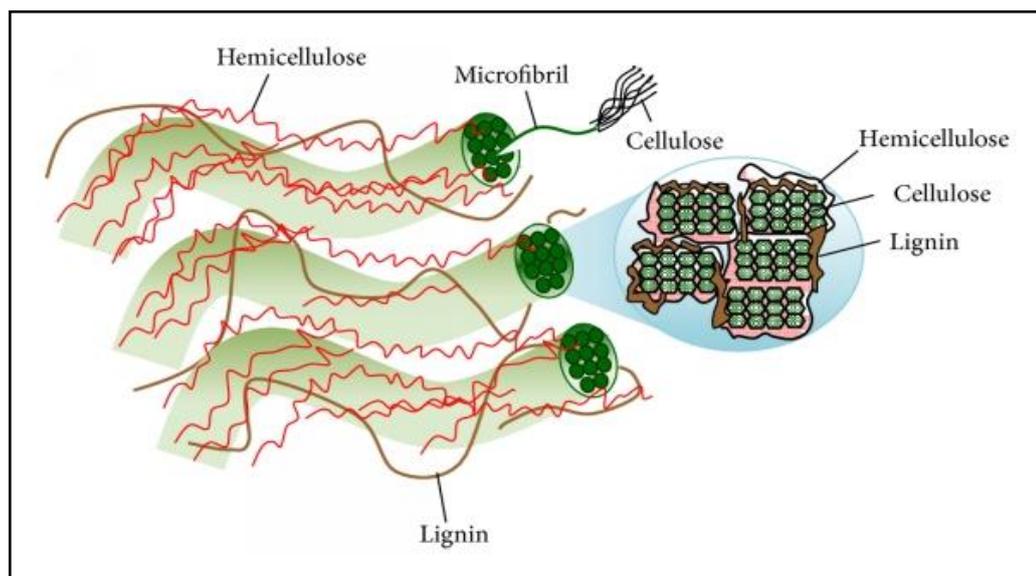
Namun disisi lain, proses pembuatan bioetanol dari jerami padi masih memiliki berbagai kendala. Hal ini dikarenakan, jerami padi tidak dapat langsung difermentasi oleh mikroba menjadi etanol sebab jerami padi masih mengandung struktur lignoselulosa yang kompleks yang terdiri dari komponen selulosa, hemiselulosa, dan lignin. Struktur lignoselulosa yang kompleks ini harus didegradasi terlebih dahulu untuk melepaskan lignin dari struktur lignoselulosa dan hanya menyisakan selulosa dan hemiselulosanya. Setelah itu, selulosa dan hemiselulosa baru dapat dihidrolisis untuk dikonversi menjadi gula sederhana yang selanjutnya akan difermentasikan oleh mikroba untuk menjadi etanol.

2.1.2 Struktur Lignoselulosa Jerami Padi

Kandungan lignoselulosa dalam jerami padi bervariasi. Menurut Yulianingsih (2010) kandungan lignoselulosa jerami padi ialah selulosa 29,78%, hemiselulosa 25,58% dan lignin 7,83%. Sedangkan menurut Dewi (2002) kandungan lignoselulosa jerami padi ialah selulosa 37,71%, hemiselulosa 21,99% dan lignin 16,62%. Selain itu, menurut Mulder (1996) jerami padi mengandung

kadar selulosa sebesar 28,36%, kadar hemiselulosa sebesar 23-28%, kadar lignin sebesar 12-16% dan kadar abu serta zat ekstraktif sebesar 15-20%.

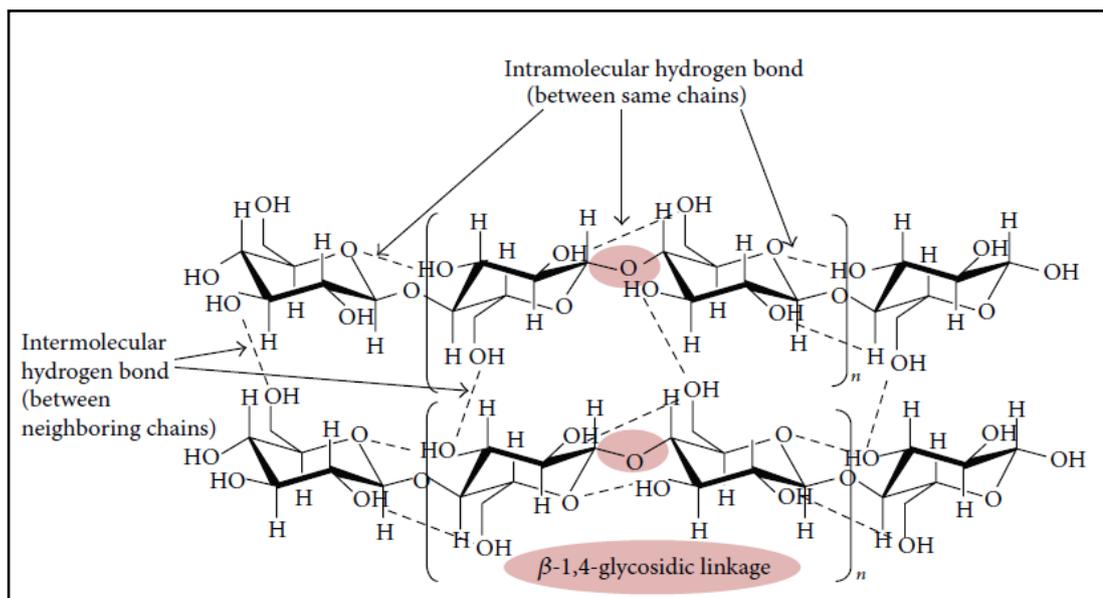
Lignoselulosa merupakan komponen utama penyusun dinding sel tanaman seperti jerami padi. Struktur lignoselulosa terdiri dari mikrofibril-mikrofibril selulosa yang membentuk kluster-kluster, dengan ruang antar mikrofibril terisi dengan hemiselulosa, dan kluster-kluster tersebut terikat kuat oleh lignin menjadi satu kesatuan (Soerawidjaja, 2009). Komponen mikrofibril-mikrofibril selulosa, hemiselulosa dan lignin menyatu dalam ikatan yang kompleks. Pada struktur lignoselulosa, mikrofibril-mikrofibril selulosa dikelilingi oleh hemiselulosa dan hemiselulosa kemudian dihubungkan oleh ikatan kovalen dengan lignin sehingga menjadi struktur kuat dan kokoh. Oleh karena itu, secara tidak langsung mikrofibril selulosa terproteksi dari degradasi dengan adanya komponen hemiselulosa dan lignin yang terikat kuat pada struktur lignoselulosa (Gambar 1). Masing-masing penjelasan mengenai selulosa, hemiselulosa dan lignin akan dibahas pada subbab-subbab berikut ini.



Gambar 1. Dinding sel tanaman yang tersusun oleh struktur lignoselulosa (Lee *et al.*, 2014).

2.1.2.1 Selulosa

Selulosa merupakan komponen utama pada struktur lignoselulosa. Selulosa ialah polimer glukosa yang dihubungkan dengan ikatan β -1,4 glukosida dalam rantai lurus. Selulosa mengandung sekitar 50-90% bagian kristal dan sisanya bagian amorf. Ikatan β -1,4 glukosida pada selulosa dapat diputus dengan cara hidrolisis secara asam ataupun enzimatis. Hidrolisis selulosa yang sempurna akan membentuk produk monomer selulosa yaitu glukosa, sedangkan hidrolisis selulosa tidak sempurna akan menghasilkan produk disakarida dari selulosa yaitu selobiosa (Lee *et al.*, 2014). Struktur selulosa dapat dilihat pada Gambar 2.

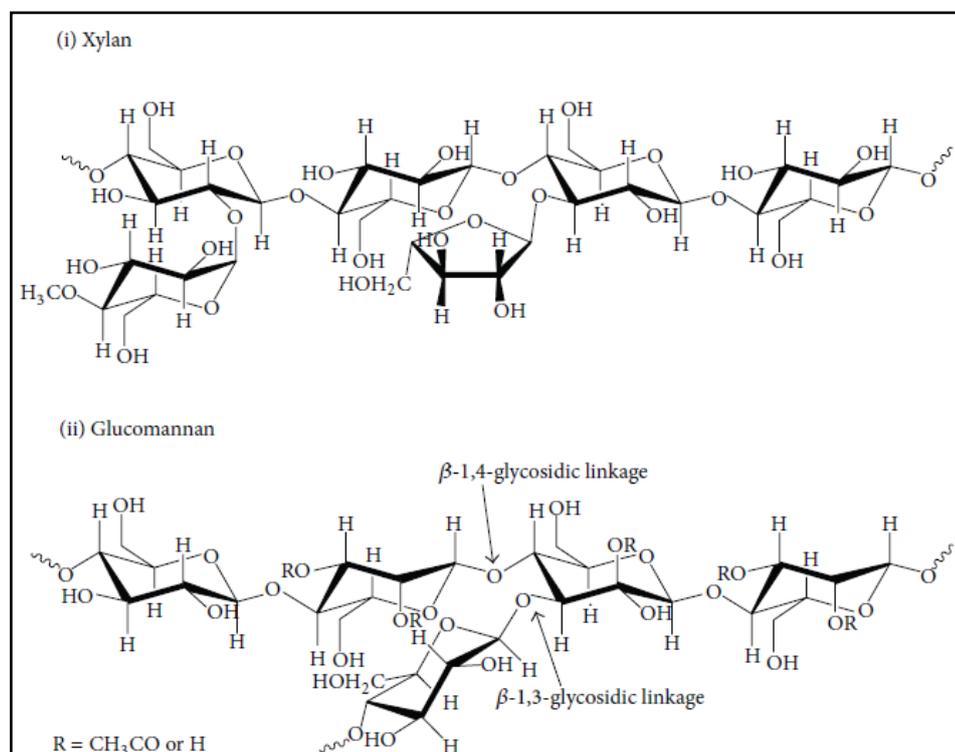


Gambar 2. Struktur selulosa (Lee *et al.*, 2014).

2.1.2.2 Hemiselulosa

Hemiselulosa merupakan polimer polisakarida heterogen tersusun dari unit D-glukosa, D-manosa, L-arabiosa dan D-xilosa. Hemiselulosa memiliki sifat non-kristalin dan tidak bersifat serat, mudah mengembang, lebih mudah larut dalam

pelarut alkali dan lebih mudah dihidrolisis dengan asam. Berbeda dengan selulosa, hemiselulosa lebih mudah larut dalam pelarut alkali namun sukar larut dalam pelarut asam, sedangkan selulosa adalah sebaliknya. Hemiselulosa juga bukan merupakan serat-serat panjang seperti selulosa. Hidrolisis hemiselulosa dapat dilakukan dengan menggunakan asam ataupun enzim. Enzim yang dapat menghidrolisis hemiselulosa salah satunya ialah xilanase. Hasil hidrolisis hemiselulosa yaitu terbentuknya produk monomer D-xilosa dan monosakarida lainnya. Struktur hemiselulosa dapat dilihat pada Gambar 3.

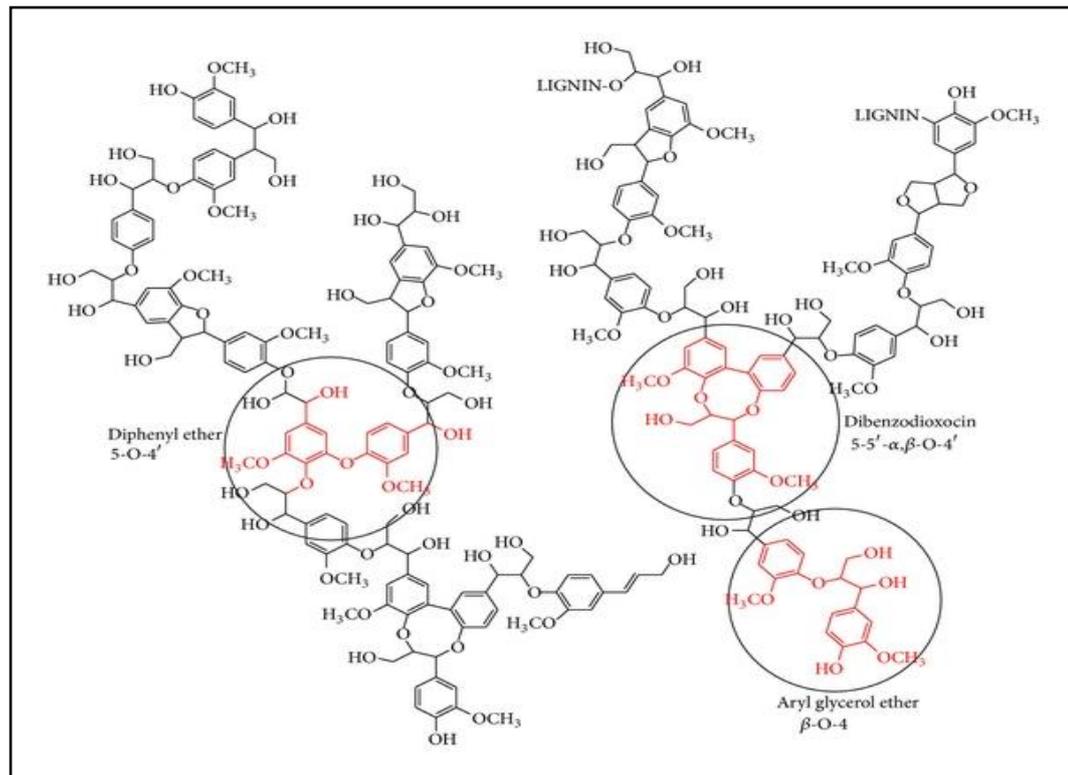


Gambar 3. Struktur hemiselulosa (Lee *et al.*, 2014)

2.1.2.3 Lignin

Lignin merupakan zat organik yang memiliki banyak polimer dengan molekul utama penyusunnya ialah phenyl propane (Simanjuntak, 2007). Lignin tersusun atas jaringan polimer 3 dimensi fenolik bercabang banyak yang berfungsi

sebagai perekat serat selulosa dan hemiselulosa sehingga struktur sel tanaman menjadi sangat kuat (Sun dan Cheng, 2002). Struktur kimia lignin sangat kompleks dan tidak berpola sama. Hal ini berbeda jika dibandingkan dengan selulosa yang terbentuk dari gugus karbohidrat yang cenderung membentuk rantai lurus. Struktur lignin dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Struktur lignin (Crestini *et al.*, 2010).

Pada proses pembuatan bioetanol, adanya lignin pada substrat berlignoselulosa tidak diinginkan. Hal ini dikarenakan struktur kimia lignin yang kompleks dan menyelimuti selulosa serta hemiselulosa yang membuat enzim sulit untuk mengkonversikan selulosa dan hemiselulosa menjadi gula reduksi. Oleh karena itu, lignin harus dihilangkan pada proses pembuatan bioetanol sebelum proses hidrolisis dilakukan.

2.2 Produksi Bioetanol

Bioetanol merupakan hasil metabolit mikroba seperti *Saccharomyces cerevisiae* pada substrat bahan nabati yang mengandung gula (nira tebu, aren, molase), pati (ubi kayu, ubi jalar, sorgum, jagung) atau bahan lignoselulosa (jerami padi, tongkol jagung, tandan kosong kelapa sawit, bambu, dan kayu). Bioetanol pada umumnya digunakan sebagai bahan baku berbagai industri turunan alkohol, misalnya sebagai campuran untuk minuman keras, farmasi, serta bahan baku kosmetika. Berdasarkan kadar alkoholnya, bioetanol dibagi menjadi tiga kelas yaitu kelas industri dengan kadar alkohol 90-94%, kelas netral dengan kadar alkohol 96-99.5% (umumnya digunakan untuk minuman keras atau bahan baku farmasi), dan kelas bahan bakar dengan kadar alkohol di atas 99.5% (Hambali *et al.*, 2007).

Berdasarkan jenis bahan bakunya, bioetanol dibagi menjadi dua kelompok yaitu bioetanol generasi pertama dan bioetanol generasi kedua. Bioetanol generasi pertama adalah etanol yang diproduksi dari sumber bahan nabati bergula dan berpati. Sedangkan bioetanol yang diproduksi dari bahan berlignoselulosa seperti limbah padat agroindustri merupakan bioetanol generasi kedua. Saat ini perkembangan industri bioetanol di Indonesia masih menggunakan bioetanol yang berbahan baku dari generasi pertama seperti molasses/tetes tebu dan pati singkong. Namun, bioetanol jenis generasi pertama mempunyai harga yang relatif mahal karena substrat yang tersedia digunakan juga sebagai bahan pangan dan pakan ternak (Odling-Smee, 2007). Untuk menurunkan harga dan menghindari masalah tersebut maka bioetanol generasi kedua perlu dikembangkan.

Saat ini berbagai penelitian mengenai produksi bioetanol dari generasi kedua telah dilakukan, yaitu dengan menggunakan enzim pada hidrolisis dan mikroorganisme yang berbeda untuk produksi bioetanol. Namun pada perkembangannya, produksi bioetanol dari bahan yang mengandung lignoselulosa tersebut belum efektif secara biaya karena membutuhkan biaya yang besar dan secara teknis masih banyak hambatan yang harus dipecahkan (Gomez *et al.*, 2008). Hambatan-hambatan tersebut antara lain yaitu diperlukannya proses pendahuluan berupa penghilangan lignin dari struktur lignoselulosa sebelum dilakukannya hidrolisis serta proses hidrolisisnya lebih rumit jika dibandingkan dengan substrat berbahan pati dan gula. Hal ini menyebabkan produksi bioetanol dari bahan berlignoselulosa belum dikembangkan secara luas (Miyafuji *et al.*, 2003). Oleh karena itu, metode yang tepat perlu dicari pada pembuatan bioetanol generasi kedua sehingga dapat diaplikasikan secara massal dan bermanfaat bagi masyarakat.

Proses konversi substrat lignoselulosa menjadi etanol terdiri dari beberapa tahap. Menurut Howard *et al.* (2003), ada 4 tahap yang harus dilalui untuk pembuatan bioetanol, yaitu; (1) perlakuan awal (*pretreatment*) secara fisik, kimia, atau dan biologi; (2) hidrolisis polimer (selulosa, hemiselulosa) menjadi gula sederhana (heksosa, silosa); (3) fermentasi gula oleh mikroba untuk menghasilkan etanol, dan (4) pemisahan dan pemurnian etanol yang dihasilkan.

Pada perkembangannya, proses konversi substrat lignoselulosa menjadi etanol masih terdapat berbagai kendala. Salah satunya ialah produktivitas etanol yang dihasilkan masih rendah. Hal ini diakibatkan karena masih kurang optimalnya proses hidrolisis dan fermentasi, meskipun rendemen glukosa dari

hasil hidrolisis saat ini telah berhasil ditingkatkan hingga mencapai 70%, namun rendemen total etanol dari bahan berlignoselulosa tetap hanya berkisar 21% (Kristensen *et al.*, 2007). Rendahnya rendemen bioetanol dari bahan berlignoselulosa ini disebabkan oleh adanya zat penghambat sebagai hasil samping dari proses hidrolisis bahan berlignoselulosa tersebut seperti asam asetat, furan aldehyd, vanilin, dan fenol yang dapat menghambat kerja mikroba fermentasi (Sun dan Cheng, 2002). Selain itu, adanya interaksi antara enzim dan substrat juga sangat mempengaruhi proses kerja enzim dalam proses hidrolisis dan fermentasi. Oleh karena itu, penemuan metode perlakuan pendahuluan dan teknologi enzim yang efektif dan efisien menjadi sangat penting pada proses biokonversi bahan berlignoselulosa menjadi bioetanol. Berikut akan diuraikan mengenai tahapan proses konversi substrat lignoselulosa menjadi etanol dari mulai tahap *pretreatment* hingga tahap fermentasi pada subbab di bawah ini.

2.2.1 Pretreatment

Pretreatment merupakan salah satu proses terpenting dalam biokonversi substrat berlignoselulosa menjadi etanol. Proses *pretreatment* dibutuhkan untuk memutuskan ikatan lignin dari struktur lignoselulosa serta mengurangi derajat polimerisasi dan sifat kristalin selulosa. Proses *pretreatment* akan meningkatkan efisiensi proses hidrolisis dengan cara memperluas permukaan kontak substrat dengan enzim (Mergner *et al.*, 2013). Namun demikian, pemilihan metode pada proses *pretreatment* akan mempengaruhi proses selanjutnya seperti hidrolisis dan fermentasi. Kondisi yang tidak diinginkan selama proses *pretreatment* akan membuat terbentuknya produk parsial hemiselulosa dan lignin serta senyawa

toksik/ inhibitor yang akan mengurangi kinerja enzim maupun mikroba. Saat ini metode *pretreatment* yang telah berkembang terdiri dari empat (4) jenis tipe *pretreatment* yaitu *pretreatment* secara biologis, fisik, kimia dan fisik-kimia. Macam-macam jenis metode *pretreatment* tersebut memiliki kelebihan dan kekurangan masing-masing dan aplikasinya juga akan bergantung pada bahan lignoselulosa yang digunakan. Oleh karena itu, metode *pretreatment* perlu dipertimbangkan terlebih dahulu supaya proses konversi dapat berjalan optimal.

Jenis *pretreatment* yang sering digunakan pada substrat jerami padi ialah *pretreatment* dengan menggunakan bahan kimia maupun *pretreatment* dengan kombinasi bahan kimia dan perlakuan panas (tipe fisik-kimia). Hasil penelitian Remli *et al.* (2014) menunjukkan bahwa metode *pretreatment* menggunakan basa akan meningkatkan efektifitas proses hidrolisis enzimatis dengan cara meningkatkan aksesibilitas enzim pada permukaan selulosa. Hasil penelitian tersebut diketahui bahwa *pretreatment* secara basa menggunakan 2% (b/v) KOH atau NaOH dan dikombinasikan dengan perlakuan panas pada suhu 121^o C dan 15 psi akan meningkatkan 58,5-64,5% laju konversi terbentuknya gula reduksi dibandingkan dengan jerami padi tanpa *pretreatment*. Hal ini menunjukkan bahwa *pretreatment* secara basa dapat efektif digunakan untuk proses biokonversi jerami padi.

2.2.2 Hidrolisis

Proses hidrolisis pada biokonversi jerami padi menjadi etanol bertujuan untuk memecah polimer karbohidrat yaitu selulosa dan hemiselulosa menjadi monomer-monomer gula reduksi. Pada proses hidrolisis, polimer selulosa dan

hemiselulosa dipecah menjadi gula-gula sederhana yang selanjutnya akan difermentasi oleh mikroba menjadi etanol. Gula-gula reduksi hasil pemecahan selulosa dan hemiselulosa memiliki perbedaan struktur. Gula reduksi hasil pemecahan selulosa cenderung memiliki struktur heksosa, sedangkan gula reduksi hasil pemecahan hemiselulosa cenderung memiliki struktur pentosa. Hal ini berdasarkan perbedaan dari senyawa-senyawa penyusun selulosa dan hemiselulosa (Mergner *et al.*, 2013).

Terdapat dua metode hidrolisis yang sering digunakan pada proses konversi bahan berlignoselulosa menjadi gula reduksi untuk substrat fermentasi simultan. Metode tersebut ialah hidrolisis menggunakan asam dan hidrolisis menggunakan enzim. Selain itu, terdapat metode hidrolisis lainnya adalah metode *ionic liquids* (ILs), metode sinar-gamma dan metode *electron-beam irradiation*. Namun, metode-metode tersebut jarang digunakan pada proses pembuatan bioetanol karena biaya prosesnya cukup mahal (Mergner *et al.*, 2013).

Saat ini, penelitian mengenai proses hidrolisis pada bahan berlignoselulosa lebih banyak dilakukan dengan metode hidrolisis enzimatik dibandingkan dengan hidrolisis secara asam. Hal ini dikarenakan adanya kelemahan dari penggunaan asam pada proses hidrolisis yaitu dapat menimbulkan degradasi gula hasil di dalam reaksi hidrolisis dan pembentukan produk samping berupa inhibitor yang tidak diinginkan seperti furfural, 5-hydroxymethylfurfural (HMF), asam levulinat (levulinic acid), asam asetat (acetic acid), dan beberapa senyawa lain serta menimbulkan korosif pada lingkungan (Taherzadeh dan Karimi, 2007). Selain itu, kelebihan dari penggunaan enzim ialah bekerja secara spesifik, artinya memungkinkan enzim hanya memecah substrat tertentu sehingga tidak terbentuk

senyawa-senyawa lain yang tidak diinginkan. Oleh karena itu, proses hidrolisis dengan penggunaan enzim dinilai lebih menguntungkan dan aman dibandingkan dengan penggunaan asam.

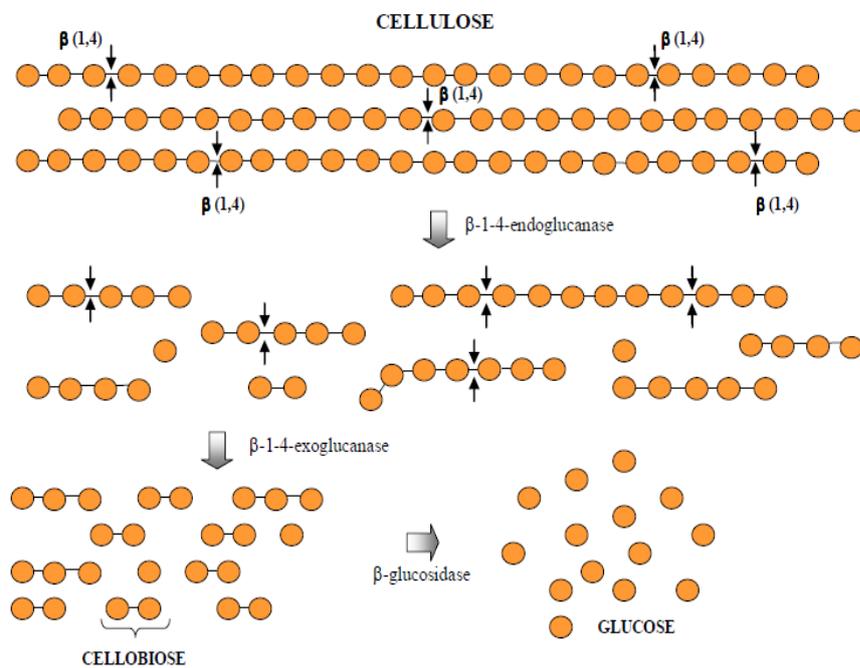
Proses hidrolisis secara enzimatik pada substrat selulosa dan hemiselulosa dilakukan oleh mikroba jenis jamur ataupun bakteri yang dapat menghasilkan enzim selulase dan hemiselulase. Proses hidrolisis secara enzimatik ini memerlukan kondisi yang khusus, biasanya kondisi optimum proses hidrolisis terdapat pada pH 5,0 dan suhu 45-55°C (Tengborg, 2001). Pada proses ini tidak menimbulkan korosi maupun pembentukan senyawa inhibitor. Namun proses ini memiliki beberapa kelemahan seperti proses yang sedikit lebih lambat dan mahalnya harga enzim murni yang digunakan.

Proses hidrolisis enzimatik enzim selulase memiliki mekanisme kerja yaitu penetrasi substrat sehingga terikat ke enzim secara *reversible*, kemudian membentuk suatu kompleks enzim-substrat. Kompleks ini disebut sebagai kompleks Michaelis. Setelah itu, enzim akan mengatalisis reaksi kimia dan melepaskan produk monomer glukosa (Poedjiadi, 1994). Menurut Poedjiadi (1994), reaksi kerja enzim dapat dipercepat hingga 10^8 sampai 10^{11} kali reaksi dengan cara menurunkan energi aktivasi reaksi kimia yaitu dengan kondisi proses pada suhu dan tekanan yang rendah.

Terdapat tiga jenis enzim yang tersusun di dalam kompleks enzim selulosa yaitu enzim endo-1,4- β -D-glucanase dan enzim exo-1,4- β -D-glucanase yang merupakan penyusun utama enzim selulase, serta sebagian kecil enzim β -glucosidase. Mekanisme kerja masing-masing jenis enzim penyusun enzim

selulase kompleks dalam menghidrolisis substrat selulosa ialah sebagai berikut (Gambar 5).

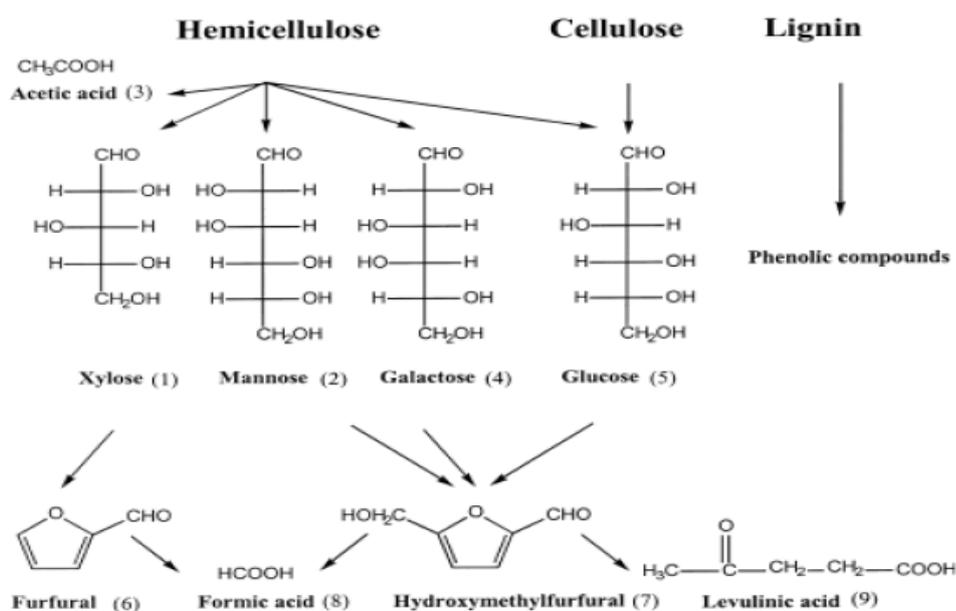
1. Endo-1,4- β -D-glucanase (endoselulase, carboxymethylcellulase atau CMC ase), merupakan enzim yang bertugas untuk memecah ikatan internal pada struktur kristalin selulosa dan membuka rantai polisakarida.
2. Exo-1,4- β -D-glucanase (cellobiohidrolase), merupakan enzim yang bertugas untuk membelah 2-4 unit dari akhir rantai yang diproduksi oleh endoselulase dan menghasilkan tetrasakarida atau disakarida serta menghasilkan monosakarida berupa glukosa.
3. β -glucosidase (cellobiase), merupakan enzim yang jumlahnya relatif sedikit dalam selulase. Tugas beta-glucosidase ialah menghidrolisis produk dari enzim eksoselulase menjadi monosakarida,



Gambar 5. Mekanisme hidrolisis selulosa menggunakan enzim selulase kompleks (Mussatto dan Teixeira, 2010).

Terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi kerja enzim (Poedjiadi, 1994), yang meliputi:

1. Peningkatan konsentrasi substrat dan konsentrasi enzim akan meningkatkan kecepatan reaksi.
2. Penurunan konsentrasi substrat dan konsentrasi enzim yang tetap akan menambah kecepatan reaksi.
3. Peningkatan suhu pada kondisi proses hidrolisis dapat menyebabkan denaturasi pada enzim, sehingga bagian sisi aktifnya terganggu dan kecepatan reaksinya menurun.
4. Tingkat keasaman (pH) yang tinggi dapat menyebabkan proses denaturasi yang dapat mengakibatkan penurunan aktivitas enzim.
5. Adanya inhibitor irreversibel maupun inhibitor reversibel yang dapat memurunkan kerja enzim (Gambar 6).



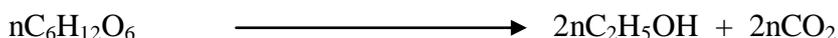
Gambar 6. Senyawa-senyawa inhibitor yang terbentuk di dalam proses hidrolisis lignoselulosa (Santi, 2012).

2.2.3 Fermentasi

Fermentasi merupakan suatu proses konversi gula reduksi menjadi etanol yang secara biologis dilakukan oleh mikroorganisme. Proses fermentasi yang sering terjadi pada industri maupun secara alami ialah proses perubahan satu mol glukosa menjadi dua mol etanol dan dua mol CO₂. Selain itu, fermentasi dapat terjadi pada monomer heksosa lainnya seperti galaktosa maupun fruktosa dengan proses konversi atau perubahan yang hampir sama. Proses fermentasi seperti ini merupakan proses konversi yang telah lama diaplikasikan pada industri seperti roti, minuman bir maupun bahan kimia murni (Mergner *et al.*, 2013).

Kondisi proses fermentasi merupakan faktor penting yang akan mempengaruhi produk etanol yang dihasilkan. Proses konversi gula heksosa seperti glukosa umumnya memerlukan kondisi anaerobik untuk memaksimalkan pembentukan etanol. Sedangkan dengan kondisi aerobik, proses fermentasi akan menghasilkan gas CO₂, H₂O dan energi. Persamaan reaksi yang terjadi pada proses fermentasi anaerobik dan aerobik dapat dilihat pada persamaan berikut.

Reaksi anaerobik:



Reaksi aerobik:



Berbagai macam mikroorganisme dapat digunakan pada fermentasi dengan produk hasil berupa etanol. Mikroorganisme yang paling sering digunakan yaitu jenis yeast yang dikenal dengan nama ilmiah yaitu *Saccharomyces cerevisiae*. Selain karena mudah didapatkan dan dibiakkan, ragi ini juga dapat menghasilkan etanol yang tinggi. Hal ini yang membuat banyak industri maupun

peneliti yang menggunakan ragi ini untuk proses fermentasi etanol. Secara umum khamir dapat tumbuh dan memproduksi etanol secara optimal pada pH 3,5-6,0 dan suhu 28-35⁰C. Selain itu, *Saccharomyces cerevisiae* juga toleran terhadap kadar etanol yang tinggi, mampu bertahan hidup pada suhu tinggi hingga 47⁰C dan kondisi asam hingga pH 3 dan stabil selama proses fermentasi berlangsung (Frazier dan Westhoff, 1978).

Ada 2 jenis metode fermentasi untuk memproduksi etanol, yaitu Metode *Separated Hydrolysis And Fermentation* (SHF) dan Metode *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF). *Separated Hydrolysis And Fermentation* (SHF) ialah metode pembuatan bioetanol yang melakukan tahap hidrolisis enzimatis karbohidrat dan tahap fermentasi berlangsung secara terpisah. Keuntungan dari metode SHF adalah hidrolisis oleh enzim selulase dan fermentasi oleh mikroba dapat dilakukan pada masing-masing kondisi optimum (Taherzadeh and Karimi, 2007). Sedangkan metode *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF) adalah salah satu metode pembuatan bioetanol yang menggabungkan tahapan hidrolisis enzimatis dengan tahap fermentasi (Olofsson, *et al.*, 2008). Metode SSF secara spesifik akan diuraikan pada subbab 2.3.

2.2.4 Pemurnian Etanol

Proses pemurnian etanol dilakukan dengan memisahkan bioetanol dari larutan hasil fermentasi. Proses ini bertujuan untuk mendapatkan etanol dengan konsentrasi yang lebih tinggi. Proses pemurnian dapat dilakukan dengan cara penyulingan/destilasi. Penyulingan/destilasi merupakan metode pemisahan larutan berdasarkan perbedaan kemudahan menguap (*volatilitas*) suatu zat kimia. Proses

penyulingan ini dapat menghasilkan kadar etanol hingga 95% (Sanyoto, 2013). Pada proses penyulingan, campuran zat dididihkan sehingga menguap, kemudian uap tersebut didinginkan ke dalam bentuk cairan. Zat yang menguap terlebih dahulu ialah zat yang memiliki titik didih lebih rendah. Penerapan proses ini berdasarkan pada teori yang menyebutkan bahwa masing-masing komponen pada suatu larutan akan menguap pada titik didihnya (Kister, 1992).

Pada produksi bioetanol yang bertujuan untuk digunakan sebagai bahan bakar, etanol hasil destilasi perlu dihilangkan air (dehidrasi) terlebih dahulu untuk meningkatkan kemurnian etanol hingga 99,55%. Proses dehidrasi tersebut dapat dilakukan dengan Metode purifikasi *molecular sieve*. *Molecular sieve* merupakan suatu absorben cairan dan gas yang memiliki pori-pori kecil sehingga mampu menyerap air hingga 20 %. Bahan-bahan absorben yang termasuk *molecular sieve* ialah karbon aktif, zeolit, lempung, dan *porous glasses* (Hambali, dkk., 2008). Bahan-bahan tersebut merupakan suatu absorben alami atau sintesis berbentuk pellet yang dapat secara selektif mengikat molekul air (Victor, 2010). Metode ini tergolong mudah dan ekonomis serta tidak meninggalkan residu pada etanol yang diperoleh (Victor, 2010).

2.3 Metode *Simultaneous Saccharification and Fermentation*

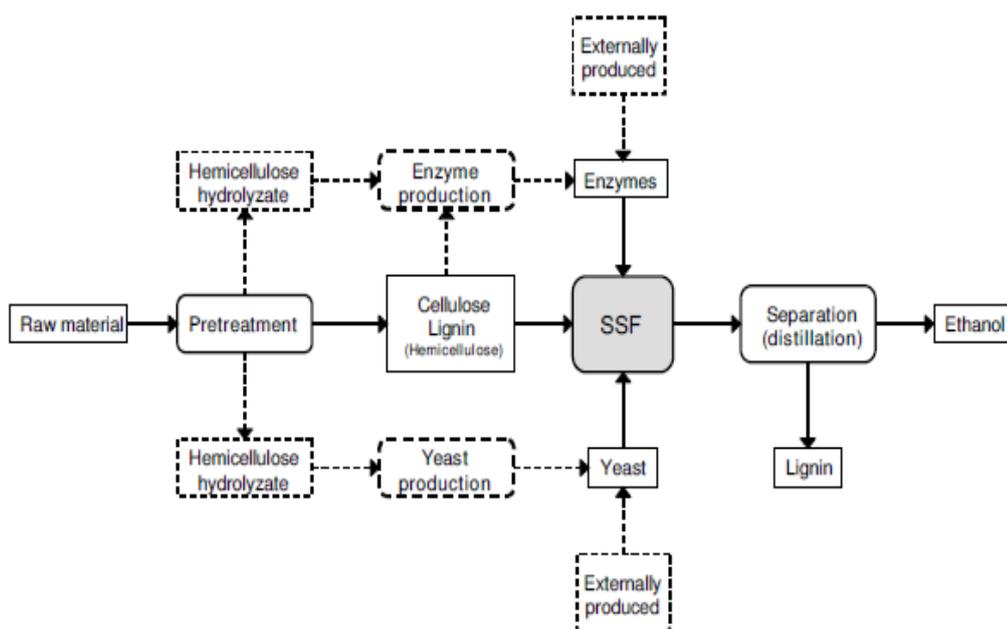
Salah satu metode yang digunakan untuk mengurangi biaya produksi pada proses biokonversi bahan berlignoselulosa menjadi bioetanol adalah dengan melakukan proses sakarifikasi dan fermentasi dalam waktu yang bersamaan. Metode ini dikenal dengan nama *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF) (Gambar 7). Metode SSF telah berhasil diterapkan pada proses produksi

bioetanol dari kayu. Metode SSF ini lebih efisien dan efektif dibandingkan dengan metode *Separate Hydrolysis and Fermentation* (SHF) (Oloffson *et al.*, 2008). Penggunaan SSF juga menghasilkan produktivitas yang lebih tinggi dibandingkan metode SHF. Pada kondisi substrat dan enzim selulase yang sama metode SHF menghasilkan derajat konversi glukosa menjadi etanol sekitar 40% sedangkan SSF dapat mencapai 60%.

Kelebihan utama dari metode *Simultaneous Saccharification And Fermentation* (SSF) ini ialah memecahkan masalah yang terdapat pada metode tahapan hidrolisis dan fermentasi secara terpisah, atau yang lebih dikenal dengan metode *Separate Hydrolysis and Fermentation* (SHF) yaitu mencegah adanya inhibisi kerja enzim hidrolisis oleh produk glukosa dan selubiosa. Selain itu, studi menunjukkan bahwa proses fermentasi simultan dapat memperpendek lamanya waktu yang dibutuhkan ragi untuk mengkonversi glukosa menjadi etanol. Proses ini membutuhkan jumlah enzim kurang dari yang dibutuhkan dalam hidrolisis enzimatik biasa karena SSF menggabungkan hidrolisis dan fermentasi, waktu reaksi keseluruhan untuk mengkonversi biomassa menjadi etanol dipersingkat (Gauss *et al.*, 1976). Manfaat lainnya dari penggunaan metode SSF ialah efisiensi penggunaan peralatan dan investasi biaya produksi dapat ditekan sebesar 20% (Wingren, 2003).

Terdapat dua kelemahan metode SSF, yaitu proses hidrolisis dan fermentasi masing-masing memiliki rentang suhu optimum yang berbeda. Kondisi optimum aktivitas enzim selulase terjadi pada pH 4,8 dan suhu 50°C (Samsuri *et al.*, 2009), sedangkan mikroba fermentasi etanol, misalnya *S.cerevisiae*, kondisi optimumnya terjadi pada suhu sekitar 25 °C dan pH 4-5 (Wasungu, 1982). Setiap

suhu ekstrim selama fermentasi, baik tinggi maupun rendah akan menghasilkan rendemen etanol yang minim. Hal ini dikarenakan sebagian ragi tidak tumbuh baik pada suhu jauh lebih rendah dari 20 °C atau jauh lebih tinggi dari 40 °C. Oleh karena itu, agar proses SSF dapat berjalan secara maksimal, kondisi optimum enzim dan mikroba seharusnya berdekatan. Menurut Tengborg (2001) suhu optimum teknik ini terjadi pada suhu 38°C jika menggunakan enzim selulase yang optimum pada suhu 45-50°C sebagai enzim penghidrolisis dan *S. cerevisiae* yang optimum pada suhu 30-35° sebagai mikroba penghasil etanol (Tengborg, 2001).



Gambar 7. Tahapan proses pembuatan etanol dengan metode SSF.
Sumber: Olofsson *et al.* (2008).