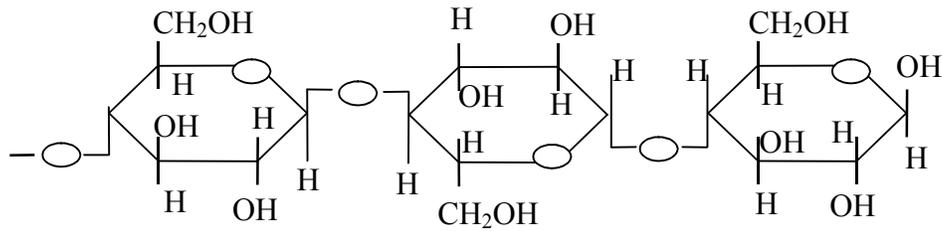


II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ampas Tebu

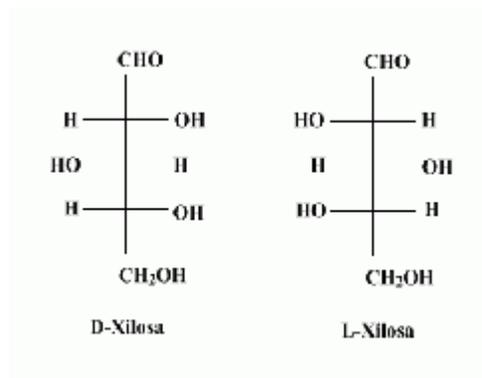
Ampas tebu merupakan salah satu limbah padat pabrik gula. Ampas tebu jumlahnya berlimpah di Indonesia. Ampas tebu merupakan limbah padat dari pengolahan industri gula tebu yang volumenya mencapai 30-40% dari tebu giling. Saat ini perkebunan tebu rakyat mendominasi luas areal perkebunan tebu di Indonesia. Ampas tebu termasuk biomassa yang mengandung lignoselulosa sangat dimungkinkan untuk dimanfaatkan menjadi sumber energi alternatif seperti bioetanol atau biogas. Ampas tebu memiliki kandungan selulosa 52,7%, hemiselulosa 20,0%, dan lignin 24,2% (Samsuri *et al.*, 2007).

Holoselulosa merupakan istilah yang digunakan untuk menyebutkan selulosa dan hemiselulosa. Selulosa adalah polimer glukosa (hanya glukosa) yang tidak bercabang. Selulosa dapat dihidrolisis menjadi glukosa dengan menggunakan asam atau enzim. Hidrolisis menggunakan asam biasanya dilakukan pada temperatur tinggi. Proses ini relatif mahal karena kebutuhan energi yang cukup tinggi. Pada tahun 1980-an, mulai dikembangkan hidrolisis selulosa dengan menggunakan enzim selulase (Gokhan Coral, *et al.*, 2002). Selanjutnya glukosa yang dihasilkan dapat difermentasi menjadi etanol. Struktur selulosa dapat dilihat pada Gambar 3.



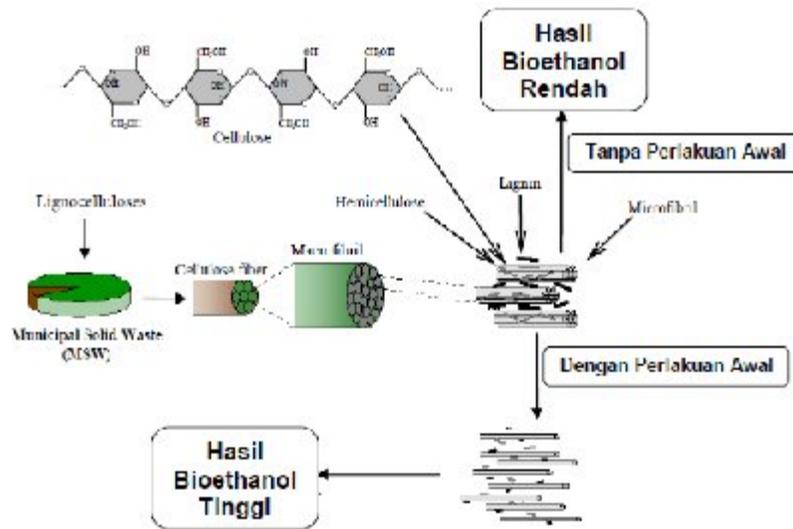
Gambar 3. Struktur selulosa (Oktarina, 2009)

Hemiselulosa mirip dengan selulosa yang merupakan polymer gula. Namun, berbeda dengan selulosa yang hanya tersusun dari glukosa, hemiselulosa tersusun dari bermacam-macam jenis gula (Gambar 3). Monomer gula penyusun hemiselulosa terdiri dari monomer gula berkarbon 5 (C-5) dan 6 (C-6), misalnya: xylosa, mannose, glukosa, galaktosa, arabinosa, dan sejumlah kecil rhamnosa, asam glukoroat, asam metal glukoronat, dan asam galaturonat. Xylosa adalah salah satu gula C-5 dan merupakan gula terbanyak kedua setelah glukosa (Simanjuntak, 1994). Xilosa merupakan gula kayu yang memiliki rumus molekul $C_5H_{10}O_5$ (Gambar 4).



Gambar 4. Struktur Xylosa (Anonim, 2010)

Ampas tebu yang mengandung selulosa, hemiselulosa dan lignin tidak dapat langsung difermentasi oleh mikroba menjadi biofuel, karena ampas tebu merupakan senyawa kompleks lignoselulosa. Lignin dihilangkan terlebih dahulu agar proses hidrolisis selulosa dan hemiselulosa menjadi etanol berjalan secara optimal (Gambar 5).



Gambar 5. Skematik makro dan mikrofibril dalam serat selulosa bahan lignoselulosa dan pengaruh perlakuan awal terhadap hasil bioetanol (Taherzadeh and Karimi, 2008.)

2.2 Lignoselulosa

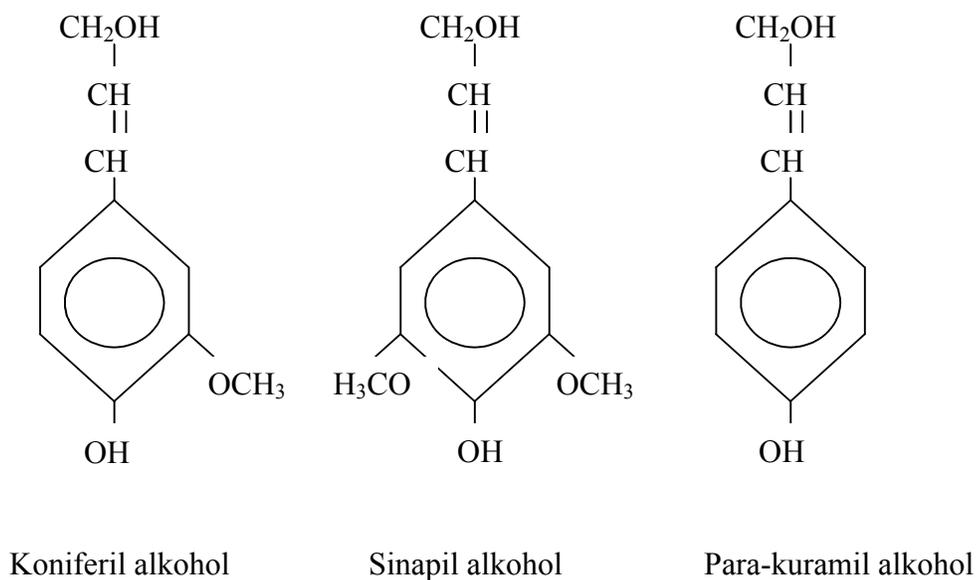
2.2.1. Lignin

Lignin adalah molekul kompleks yang tersusun dari unit phenylpropane yang terikat di dalam struktur tiga dimensi. Lignin adalah material yang paling kuat di dalam biomassa. Lignin sangat resisten terhadap degradasi, baik secara biologi, enzimatik maupun kimia. Karena kandungan karbon yang relatif tinggi dibandingkan dengan selulosa dan hemiselulosa, lignin memiliki kandungan energi yang tinggi (Anonim^a, 2008).

Lignin merupakan polimer alami dan tergolong ke dalam senyawa rekalsitran karena tahan terhadap degradasi atau tidak terdegradasi dengan cepat di lingkungan. Molekul lignin adalah senyawa polimer organik kompleks yang terdapat pada dinding sel tumbuhan dan berfungsi memberikan kekuatan pada tanaman. Lignin tersusun dari 3 jenis senyawa fenilpropanoid (Gambar 6), yaitu alkohol kumaril, alkohol koniferil dan alkohol sinapil (Nugraha, 2003). Ketiganya tersusun secara random membentuk polimer lignin yang amorfus (tidak beraturan). Ketidakteraturan struktur lignin ini menyebabkan proses degradasi menjadi sangat kompleks (Arifin, 2007).

Lignin adalah salah satu substansi yang terdapat sebanyak 17–32% kayu kering dan merupakan jaringan polimer fenolik tiga dimensi yang berfungsi merekatkan serat selulosa sehingga menjadi kaku (Casey, 1960). Pulping kimia dan proses pemutihan akan menghilangkan lignin tanpa mengurangi serat selulosa secara signifikan. Dalam industri kertas keberadaan lignin dalam bahan baku tidak diinginkan. Hartoyo (1989) menyatakan bahwa lignin mempengaruhi warna pulp dan menghasilkan serat berkualitas jelek sehingga di dalam pengolahan pulp kimia lignin dibuang sebanyak mungkin.

Lignin sangat mudah mengalami oksidasi, bahkan dalam keadaan lemah dapat terurai menjadi asam aromatis seperti asam benzoate dan asam proto chatchecat. Jika oksidasinya terlalu keras akan membentuk asam–asam formiat, asetat, oksalat dan suksinat. Dalam keadaan oksidasi sedang yang banyak terdapat dalam proses pemutihan lignin diubah menjadi produk yang dapat larut air atau alkali (Daditama, 2003).



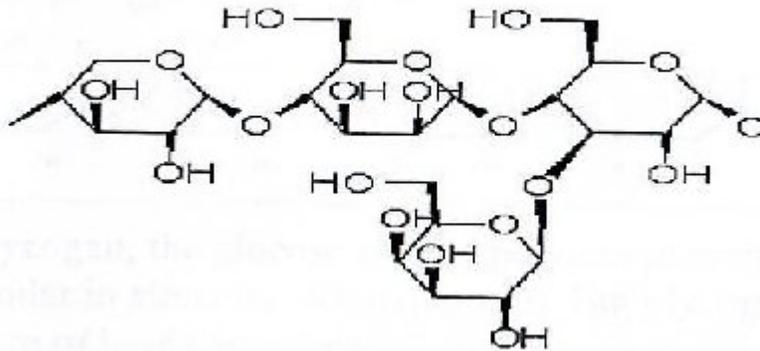
Gambar 6. Unit Dasar Penyusun Lignin (Nugraha, 2003)

2.2.2. Hemiselulosa

Hemiselulosa merupakan polisakarida non selulosa yang pokok, terdapat dalam serat dengan berat molekul 4000–15.000 (Soenardi, 1976). Hemiselulosa merupakan polisakarida lain yang terdapat dalam serat dan tergolong senyawa organik. Kadar hemiselulosa antara 15–18% (dalam kayu jarum), 22–34% (dalam kayu daun) dan 22-26% (dalam TKKS). Hemiselulosa terdapat di dinding sel bersamaan dengan selulosa, terutama di daerah amorf dan juga dalam lamella tengah (Soenardi, 1976).

Molekul hemiselulosa mudah menyerap air, bersifat plastis dan mempunyai permukaan kontak antar molekul yang lebih luas, sehingga dapat memperbaiki ikatan antar serat pada pembuatan kertas. Oedijono (1991) dalam Daditama (2003) menegaskan bahwa hemiselulosa mempunyai sifat mudah membengkak kalau terkena air karena sifat hidrofil dan keadaan inilah yang membantu proses penggilingan.

Oleh karena itu, dalam batas-batas tertentu adanya hemiselulosa justru dikehendaki di dalam pulp untuk kertas. Berikut adalah gambar struktur hemiselulosa yang disajikan dalam Gambar 7.



Gambar 7. Unit dasar penyusun hemiselulosa (Fangel dan Wegener, 1995)

Keberadaan hemiselulosa mereduksi waktu dan tenaga yang diperlukan untuk melunakkan serat selama proses dalam air. Hemiselulosa merupakan heteropolisakarida yang tergolong polimer organik dan relatif mudah dioksidasi oleh asam menjadi komponen-komponen monomer yang terdiri dari D Glukosa, D manosa, D-xylosa, L-arabinosa dan sejumlah kecil L-ramnosa disertai oleh asam D glukuronat, asam 4-O-metil-D-glukoronat dan asam D-galakturonat (Sjostrom, 1981). Casey (1960) menyatakan bahwa hemiselulosa bersifat non kristalin dan tidak bersifat serat, mudah mengembang, oleh karena itu hemiselulosa sangat berpengaruh terhadap terbentuknya jalinan antar serat pada saat pembentukkan lembaran, lebih mudah larut dalam pelarut alkali dan lebih mudah dihidrolisis dengan asam.

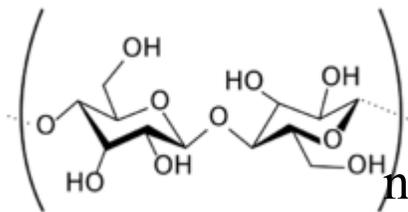
Hemiselulosa mirip dengan selulosa yang merupakan polymer gula. Namun, berbeda dengan selulosa yang hanya tersusun dari glukosa, hemiselulosa tersusun dari bermacam-macam jenis gula. Monomer gula penyusun hemiselulosa terdiri dari monomer gula berkarbon 5 (C-5) dan 6 (C-6), misalnya: xylosa, mannose, glukosa, galaktosa, arabinosa dan sejumlah kecil rhamnosa, asam glukoroat, asam metal glukoronat dan asam galaturonat. Xylosa adalah salah satu gula C-5 dan merupakan gula terbanyak kedua di biosfer setelah glukosa. Kandungan hemiselulosa di dalam biomassa lignoselulosa berkisar antara 11% hingga 37 % (berat kering biomassa). Hemiselulosa lebih mudah dihidrolisis daripada selulosa, tetapi gula C-5 lebih sulit difermentasi.

Perbedaan hemiselulosa dengan selulosa yaitu hemiselulosa mudah larut dalam alkali tapi sukar larut dalam asam, sedang selulosa adalah sebaliknya. Hemiselulosa juga bukan merupakan serat-serat panjang seperti selulosa. Hasil hidrolisis selulosa akan menghasilkan D-glukosa, sedangkan hasil hidrolisis hemiselulosa akan menghasilkan D-xilosa dan monosakarida lainnya (Winarno, 1984).

Menurut Hartoyo (1989), hemiselulosa tersusun dari gabungan gula-gula sederhana dengan lima atau enam atom karbon. Degradasi hemiselulosa dalam asam lebih tinggi dibandingkan dengan delignifikasi dan hidrolisis dalam suasana basa tidak semudah dalam suasana asam (Achmadi, 1980). Mac Donald *et al.* (1969) menyatakan bahwa adanya hemiselulosa mengurangi waktu dan tenaga yang diperlukan untuk melunakkan serat selama proses mekanis dalam air.

2.2.3. Selulosa

Selulosa adalah senyawa organik penyusun utama dinding sel tumbuhan. Polimer selulosa tersusun oleh monomer-monomer anhidroglukosa atau glukopiranososa yang saling berhubungan pada posisi atom karbon 1 dan 4 oleh ikatan β -glukosida. Selulosa digunakan untuk pembuatan kertas dan tekstil. Struktur selulosa dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Unit dasar penyusun selulosa (Anonim^b, 2008)

Selulosa adalah senyawa yang umumnya tidak berada dalam keadaan murni. Di alam, selulosa berkaitan dengan lignin dan hemiselulosa membentuk bagian-bagian tanaman seperti kayu, batang, daun, dan sebagainya (Cowling, 1975). Selulosa termasuk homopolimer linier dengan monomer berupa D-anhidroglukosa yang saling berkaitan dengan ikatan β -1,4-glikosidik. Rumus empiris selulosa adalah $(C_6H_{10}O_5)_n$ dengan n adalah jumlah satuan glukosa yang berikatan dan berarti juga derajat polimerisasi selulosa. Selulosa murni memiliki derajat polimerisasi sekitar 14.000, namun dengan pemurnian biasanya akan berkurang menjadi sekitar 2.500 (Nevell *et al.*, 1985).

Selulosa adalah polimer glukosa (hanya glukosa) yang tidak bercabang. Bentuk polimer ini memungkinkan selulosa saling menumpuk/terikat menjadi bentuk

serat yang sangat kuat. Panjang molekul selulosa ditentukan oleh jumlah unit glukosa di dalam polimer, disebut dengan derajat polimerisasi. Derajat polimerase selulosa tergantung pada jenis tanaman dan umumnya dalam kisaran 2000 – 27000 unit glukosa. Selulosa dapat dihidrolisis menjadi glukosa dengan menggunakan asam atau enzim. Selanjutnya glukosa yang dihasilkan dapat difermentasi menjadi etanol (Anonim^b, 2008).

Molekul-molekul selulosa berikatan secara paralel dengan jembatan hidrogen membentuk mikrofibril. Beberapa mikrofibril saling berikatan membentuk komponen makrofibril (Nevell *et al.*, 1985). Bagian mikrofibril yang banyak mengandung jembatan hidrogen antar molekul selulosa bersifat sangat kuat dan tidak dapat ditembus dengan air. Bagian ini disebut sebagai bagian berkrystal dari selulosa, sedangkan bagian lainnya yang sedikit atau sama sekali tidak mengandung jembatan hidrogen disebut bagian amorf. Menurut Tsao (1978) perbandingan bagian kristal dan bagian amorf adalah 85 persen dan 15 persen. Struktur berkrystal dari selulosa merupakan hambatan utama dalam proses hidrolisis.

Menurut Sjostrom (1981), selulosa dapat dibedakan berdasarkan derajat polimerisasi (DP) dan kelarutan dalam senyawa natrium hidroksida (NaOH) 17,5% yaitu:

1. Selulosa α (*Alpha Cellulose*) adalah selulosa berantai panjang, tidak larut dalam larutan NaOH 17,5% atau larutan basa kuat dengan DP (derajat polimerisasi) 600-1500. Selulosa α dipakai sebagai penduga dan atau penentu tingkat kemurnian selulosa.

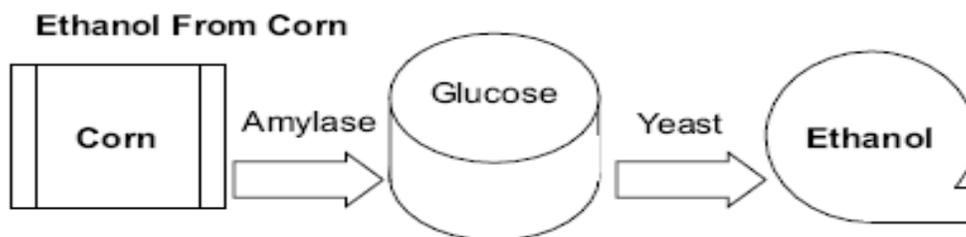
2. Selulosa β (*Betha Cellulose*) adalah selulosa berantai pendek, larut dalam larutan NaOH 17,5% atau basa kuat dengan DP 15-90, dapat mengendap bila dinetralkan.
3. Selulosa μ (*Gamma cellulose*) adalah selulosa berantai pendek, larut dalam larutan NaOH 17,5% atau basa kuat dengan DP nya kurang dari 15.

Selulosa merupakan senyawa organik yang terdapat paling banyak di alam dan merupakan bagian dari tumbuhan tingkat tinggi. Terdapat beberapa alasan mengapa selulosa baik sebagai serat bahan baku pembuatan tekstil dan kertas, yaitu jumlahnya banyak, dan memiliki nilai ekonomis yang relatif rendah, dengan tingkat ketahanan serat sangat tinggi, memiliki daya ikat air yang tinggi, yang memfasilitasi persiapan mekanis dari serat dan pengikatan serat antar serat saat campuran dikeringkan, resistan terhadap banyak senyawa kimia, yang menyebabkan isolasi dan pemurniannya relatif tidak terganggu (Mac Donald *et al.*, 1969).

Ampas tebu tidak dapat langsung difermentasi oleh mikroba menjadi bioetanol yang banyak mengandung selulosa, hemiselulosa, dan lignin merupakan senyawa kompleks lignoselulosa. Senyawa kompleks ini harus didegradasi terlebih dahulu menjadi gula reduksi sebelum difermentasi oleh mikroba menjadi bioetanol. Ada beberapa jenis proses degradasi lignoselulosa, diantaranya adalah secara kimia, biologi dan fisik. Salah satu proses perlakuan awal untuk hidrolisis hemiselulosa dan selulosa ampas tebu menjadi gula reduksi adalah dengan menggunakan enzim. Pada biomassa lignoselulosa hanya selulosa dan hemiselulosa yang bisa diolah menjadi monosakarida untuk pembuatan etanol.

2.3 Bioetanol

Bioetanol adalah etanol yang diproduksi oleh mikroba dengan menggunakan bahan nabati seperti jagung, ubi jalar atau ubi kayu. Bioetanol yang telah dikembangkan di Indonesia adalah bioetanol generasi pertama. Bioetanol generasi pertama menggunakan substrat bahan nabati mengandung gula seperti molasses/tetes tebu dan bahan nabati mengandung pati patian seperti singkong, ubi jalar atau jagung dan kemudian ditambah enzim untuk mengubah pati menjadi glukosa, selanjutnya ditambah ragi untuk mengubah glukosa menjadi etanol (Gambar 9) (Odling-Smee, 2007). Bioetanol mulai diterapkan di beberapa negara khususnya Amerika Serikat (USA) dan Brazil. Kedua negara tersebut menggunakan biji jagung (USA) dan gula tebu atau molases (Brazil) sebagai bahan baku bioetanol (Antoni dkk., 2007).

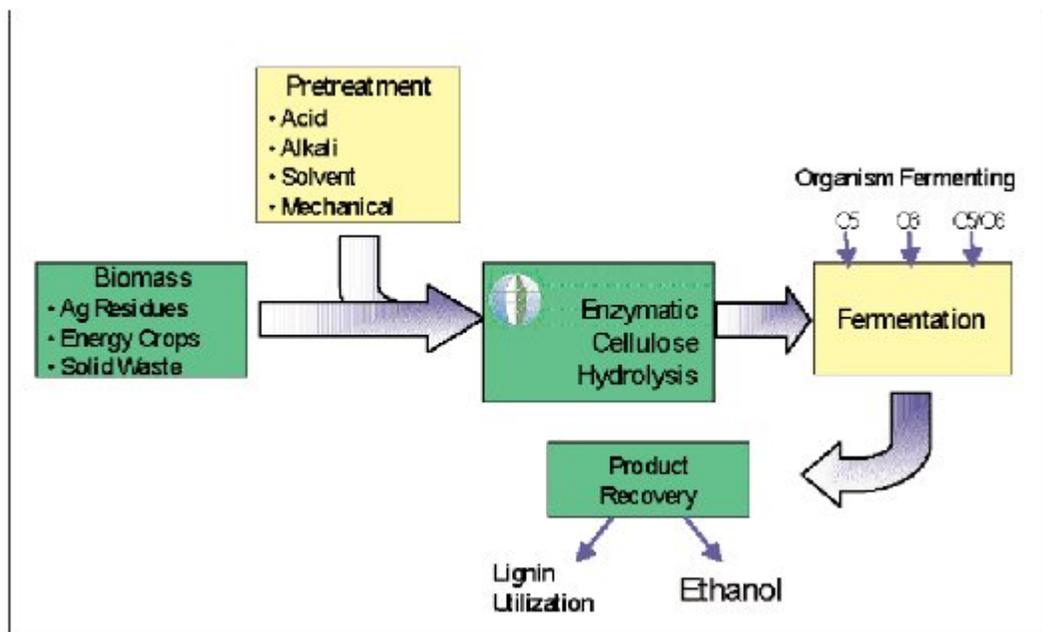


Gambar 9. Tahapan proses bioetanol dari jagung (McCoy, 1998).

Penggunaan bioetanol generasi pertama berpotensi menimbulkan konflik terhadap kebutuhan bahan pangan bila diterapkan di negara berkembang seperti Indonesia. Hal ini disebabkan harganya masih relatif tinggi karena bahan bakunya juga digunakan sebagai bahan pangan dan pakan (Odling-Smee, 2007). Untuk menurunkan harga dan menghindari konflik antara penggunaan gula dan pati untuk bioetanol atau untuk pangan dan pakan, maka dikembangkan bioetanol generasi

kedua. Bioetanol generasi kedua dibuat dari bahan nabati yang mengandung selulosa dan lignin (Carere, *et al.*, 2008; Gomez, *et al.*, 2008). Ampas tebu mengandung tiga komponen penyusun utama, yaitu selulosa (30-50%-berat), hemiselulosa (15-35%-berat), dan lignin (13-30%-berat) (Soerawidjaja, 2009).

Proses pembuatan bioetanol dari bahan lignoselulosa terdiri dari beberapa tahap (Gambar 10). 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, lignin) menjadi gula sederhana (heksosa, xylosa), (3) fermentasi gula oleh mikroba untuk menghasilkan ethanol, dan (4) pemisahan dan pemurnian ethanol yang dihasilkan.



Gambar 10. Tahapan proses bioetanol dari biomasa limbah agroindustri
Sumber: Knauf and Moniruzzaman, 2004

Bioetanol bermanfaat sebagai energi alternatif pengganti BBM. Pemanfaatan bioetanol dengan mensubstitusi langsung pada bahan bakar premium (Samsuri, *et al.*, 2007). Bioetanol dapat dibuat etanol 99,5% atau *fuel grade ethanol* yang bisa digunakan untuk campuran gasohol. Perbandingan jumlah etanol dan bensin dalam gasohol adalah 10 % bioetanol dan 90 % bensin (Gozan *et al.*, 2007).

Bioetanol memiliki beberapa kelebihan dibandingkan bahan bakar minyak. Di dalam etanol, terdapat 35% oksigen yang dapat meningkatkan efisiensi pembakaran mesin dan juga meningkatkan angka oktan seperti zat aditif Methyl Tertiary Buthyl Ether (MTBE) dan Tetra Ethyl Lead (TEL). Selain itu, etanol juga bisa terurai sehingga dapat mengurangi emisi gas buang berbahaya (Sofiyanta, 2009).

2.4. Perlakuan Awal

Perlakuan awal (*pretreatment*) merupakan suatu tahapan proses dalam produksi etanol, yang bertujuan untuk memecah struktur kristal lignin-selulosa dan membuang lignin sehingga enzim selulase dapat bersinggungan langsung dengan selulosa. Biomassa limbah ampas tebu tidak dapat langsung difermentasi oleh mikroba menjadi bioetanol karena ampas tebu merupakan senyawa kompleks yang banyak mengandung selulosa, hemiselulosa, dan lignin. Oleh sebab itu, tahapan proses perlakuan awal perlu terus dikembangkan.

Teknik perlakuan awal biomassa limbah agroindustri yang banyak mengandung lignin, selulosa, dan hemiselulosa dapat dilakukan dengan berbagai cara atau metode. Taherzadeh *et al.* (2007) menggolongkan teknik perlakuan awal lignoselulosa menjadi 3 kelompok besar yaitu (1) perlakuan awal fisik (pengecilan

ukuran, pemanasan), (2) perlakuan awal kimia (asam, basa), dan (3) perlakuan awal biologis (kapang pelapuk putih, enzim). Perlakuan awal ini merupakan kunci keberhasilan mengubah biomassa limbah agroindustri menjadi bioetanol karena teknologi pemisahan, fermentasi, dan pemurnian etanol telah ditemukan sejak lama.

Selain itu, menurut Achmadi (1990) penggunaan perlakuan awal basa akan menyebabkan selulosa membengkak sampai batas-batas tertentu tergantung pada jenis dan konsentrasi basa, serta suhu. Konsentrasi basa yang semakin tinggi, maka gugus-gugus $-OH$ akan lebih mudah dimasuki air, sehingga antar ruang molekul-molekul selulosa akan mengandung air.

2.5. Hidrolisis Secara Enzimatik

Selulase adalah suatu kelompok enzim yang terdiri dari beberapa enzim yang berkerja secara bertahap atau bersama-sama menguraikan selulosa menjadi glukosa (Muljono *et al.*, 1989 dalam Ira, 1991). Selulase adalah enzim kompleks yang mampu memutuskan ikatan glikosidik beta - 1, 4 (F.G. Winarno, 1986). Beberapa faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim selulase adalah konsentrasi enzim, konsentrasi substrat, pH, suhu dan senyawa penghambat. Pada umumnya terdapat hubungan optimum antara konsentrasi enzim dan substrat bagi aktivitas maksimum. Sehingga enzim berfungsi secara optimum pada pH dan suhu tertentu (Muljono *et al.*, 1989 dalam Ira, 1991).

Enzim adalah biomolekul berupa protein yang berfungsi sebagai katalis. Selulase merupakan enzim yang dapat menghirolisis ikatan β (1-4) pada selulosa. Selulase termasuk salah satu enzim jenis hidrolase karena aktivitasnya dapat

menghidrolisis ikatan β (1-4) pada selulosa menjadi monomernya (glukosa) (Poedjiati, 1994). Hidrolisis enzimatik yang sempurna memerlukan aksi sinergis dari tiga tipe enzim ini, yaitu :

1. Endo-1,4- β -D-glucanase (endoselulase, carboxymethylcellulase atau CMCase), yang mengurai polimer selulosa secara random pada ikatan internal α -1,4-glikosida untuk menghasilkan oligodekstrin dengan panjang rantai yang bervariasi.
2. Exo-1,4- β -D-glucanase (cellobiohidrolase), yang mengurai selulosa dari ujung pereduksi dan non pereduksi untuk menghasilkan selobiosa dan glukosa .
3. β -glucosidase (cellobiase), yang mengurai selobiosa untuk menghasilkan glukosa .

Mekanisme kerja enzim terdiri dari dua tahapan. Pada tahap pertama, substrat terikat ke enzim secara reversible, membentuk kompleks enzim-substrat. Enzim kemudian mengatalisasi reaksi kimia dan melepaskan produk (Poedjiati, 1994). Hal ini dapat diperjelas dengan model yang diajukan dengan Michaelis dan Maud Menten (1978) dalam Winarno (1986) seperti dibawah ini:



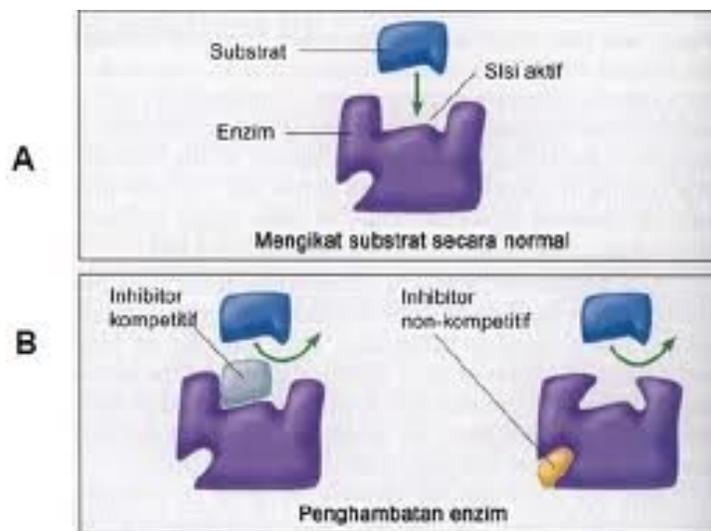
Keterangan:

E = Enzim
S = Substrat
P = Produk

Dari persamaan reaksi diatas, terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi enzim maka produk yang dibentuk akan semakin banyak. Menurut Poedjiati (1994), enzim dapat mempercepat suatu reaksi 10^8 sampai 10^{11} kali dengan menurunkan energi aktivasi suatu reaksi kimia pada suhu dan tekanan yang rendah. Secara teoritis,

konsentrasi enzim berbanding linear dengan kecepatan reaksinya. Semakin tinggi konsentrasi enzim yang digunakan maka akan semakin cepat proses hidrolisis selulosa, namun pada konsentrasi tertentu enzim tidak lagi memberikan kecepatan reaksi melebihi V_{max} nya (Mandels *et al.*, 1976).

Bila terlalu banyak substrat maka laju reaksi akan lambat walaupun kerja setiap molekul enzim sudah maksimal. Bila jumlah enzim ditingkatkan maka reaksi akan bertambah cepat hingga akhirnya mencapai titik maksimal dimana walaupun enzim terus ditambahkan laju reaksi tidak akan bertambah. Selain itu, mekanisme kerja enzim dipengaruhi adanya inhibitor. Ada dua macam inhibitor; yaitu inhibitor kompetitif, inhibitor ini akan melekat pada sisi aktif enzim dan menghalangi masuknya substrat ke sisi aktif dan inhibitor non kompetitif, inhibitor ini akan melekat pada sisi non aktif enzim, namun akan mengubah bentuk permukaan sisi aktif sehingga substrat tidak bisa melekat pada sisi aktif dan reaksi tidak bisa berjalan (Anonim, 2011). Untuk lebih jelas lihat Gambar 11.



Gambar 11. Proses enzim menghidrolisis holoselulosa ampas tebu dan proses penghambatan kerja enzim

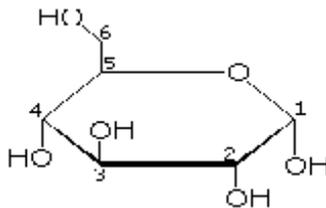
Aktifitas selulase akan dihambat dengan adanya glukanolakton dan logam-logam berat seperti tembaga dan air raksa. Akan tetapi penghambatan dengan logam berat ini dapat dinetralkan dengan menambahkan sistein sehingga aktifitas enzim akan berlangsung kembali (Kulp, 1975). Pada proses hidrolisis, glukosa dan selobiosa yang akan dihasilkan akan menghambat aktifitas enzim selulase (Klyosov, 1984).

Konversi enzimatik biomassa berselulosa menjadi bioetanol melibatkan tiga langkah dasar yakni proses *pretreatment*, proses hidrolisis dan proses fermentasi. Proses *pretreatment* bertujuan mempermudah akses enzim selulase untuk menghidrolisis selulosa menjadi monomer-monomer gula. Proses hidrolisis untuk memproduksi monomer-monomer gula dari selulosa dan hemiselulosa dapat berlangsung melalui proses hidrolisis asam maupun melalui hidrolisis secara enzimatik.

Hidrolisis 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, hidrolisis enzimatik merupakan teknologi yang sangat menjanjikan guna mengkonversi biomassa menjadi gula reduksi untuk selanjutnya dikonversi menjadi bioetanol (Ikhsan *et al.*, 2008).

2.6. Gula Reduksi

Gula reduksi merupakan jenis gula yang mampu mereduksi beberapa jenis ion seperti perak dan tembaga. Sifat mereduksi ini disebabkan oleh adanya gugus hidroksil, aldehid atau keton bebas dalam molekul karbohidrat (gula). Golongan karbohidrat yang termasuk dalam gula reduksi adalah semua jenis monosakarida dan beberapa disakarida yang masih memiliki gugus hidroksil, aldehid atau keton bebas pada atom C₁nya (Poedjiati, 1994).

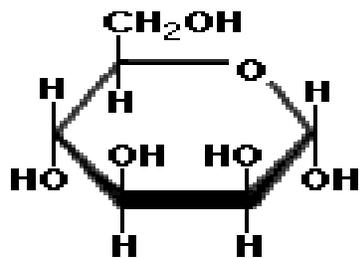


Gambar 12. Struktur glukosa (Anonim, 2008)

Salah satu monosakarida yang termasuk gula reduksi adalah glukosa yang dalam hal ini merupakan monomer dari selulosa. Glukosa (C₆H₁₂O₆, berat molekul 180.18) adalah heksosa-monosakarida yang mengandung enam atom karbon. Glukosa merupakan aldehida (mengandung gugus -CHO). Lima karbon dan satu oksigennya membentuk cincin yang disebut cincin piranosa, bentuk paling stabil untuk aldosa berkarbon enam. Dalam cincin ini, tiap karbon terikat pada gugus samping hidroksil dan hidrogen kecuali atom kelimanya, yang terikat pada atom karbon keenam di luar cincin, membentuk suatu gugus CH₂OH (Gambar 12) (Anonim, 2009).

Selain monomer glukosa dari selulosa yang termasuk gula reduksi, terdapat juga berbagai unit gula lainnya yang dihasilkan dari hemiselulosa. Unit gula yang dihasilkan dari hidrolisis hemiselulosa terbagi dalam 4 kelompok yaitu pentosa (xyloza, arabinopiranososa, arabinofuranosa), heksosa (glukosa, manosa, dan galaktosa), asam heksuronat (asam glukoronat, asam metilglukoronat, dan asam galakturonat), dan deoksi-heksosa (rhamnosa dan fukosa). Berbagai unit gula tersebut pada umumnya hanya unit gula xyloza dan manosa yang banyak terdapat dalam bahan lignoselulosa atau bahan-bahan kayu lainnya, sedangkan unit gula lainnya merupakan gugus samping dari rantai utama (Achmadi, 1990).

Xyloza adalah suatu gula pentosa, monosakarida dengan lima atom karbon dan memiliki gugus aldehida dengan kemanisan 40% kemanisan sukrosa. Gula ini diperoleh dengan menguraikan serat nabati dengan cara menghidrolisis dengan asam sulfat (Anonim, 2010). Manosa merupakan heksosa (monosakarida berkarbon enam) yang dijumpai dalam makanan seperti tebu, berbagai biji-bijian dan kulit jeruk manis. Manosa memiliki rumus molekulnya $C_6H_{12}O_6$ (Gambar 13) (Anonim 2010).



Gambar 13. Struktur manosa (Anonim, 2010)