



Pretreatment Bonggol Jagung dengan Alkali Peroksida dan Hidrolisis Enzim

H. Maria Ingrid, Reinaldo Wong, Herry Santoso

Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, Universitas Katolik Parahyangan
Jalan Ciumbuleuit 94, Bandung 40141, Telp. (022) 2032655, Fax. (022) 2031110

E-mail : inggrid@unpar.ac.id

Abstract

Corn cobs are abundant lignocellulosic waste materials in Indonesia. Lignocellulosic biomass has the potential to be used as raw material to produce biofuel. Lignocellulosic material mainly consists of cellulose, hemicellulose and lignin. The conversion of lignocellulosic material to fermentable sugar involves pretreatment and hydrolysis (enzymatic saccharification). The objective of this experiment is to optimize the operating condition of alkaline hydrogen peroxide pretreatment and enzymatic hydrolysis treatment to release fermentable sugar from corn cob. In this experiment the effect of temperature and concentration of hydrogen peroxide (H_2O_2) to lignin disruption by alkaline peroxide (AHP) pretreatment at pH 11.5 were studied. Under the optimum condition of alkaline hydrogen peroxide pretreatment (2% H_2O_2 , temperature of 35 °C, pH 11.5, 12h) and enzymatic hydrolysis treatment using CelluSoft L at 50 °C, pH 5, 12h, a total of 514.3 ppm glucose was obtained.

Keywords: Pretreatment, Hydrolysis, Corn cob, Glucose

Pendahuluan

Bioetanol merupakan salah satu bahan bakar nabati yang saat ini menjadi alternatif untuk menggantikan minyak bumi, karena persediaan minyak bumi semakin menipis dan kebutuhan yang semakin meningkat. Minyak bumi termasuk sumber daya yang tidak dapat diperbaharui. Bioetanol mempunyai kelebihan dapat diperbaharui (*renewable*), ramah lingkungan dan penggunaannya sebagai campuran BBM terbukti dapat mengurangi emisi karbon monoksida dari kendaraan (Hambali *et al.* 2007).

Masalah yang dihadapi adalah konversi bahan lignoselulosa menjadi bioetanol masih rendah, dikarenakan struktur kimia selulosa yang terikat oleh lignin sulit dijangkau oleh enzim selulase. Pembuatan bioetanol dari bahan lignoselulosa dilakukan dengan melalui beberapa tahap yaitu : *pretreatment*, hidrolisis enzimatis, fermentasi dan purifikasi. Dari empat tahap tersebut *pretreatment* merupakan tahap yang paling penting, pada proses ini dinding lignin pada biomassa perlu diuraikan sehingga dapat diperoleh selulosa yang dapat dikonversi menjadi glukosa dan gula sederhana lainnya. *Pretreatment* dengan alkali dan asam kuat menghasilkan rendemen besar dan berbahan yang relatif murah, tetapi membutuhkan penanganan residu alkali dan H_2SO_4 . *Pretreatment* menggunakan H_2O_2 memiliki beberapa keuntungan, yaitu temperatur yang dibutuhkan untuk proses *pretreatment* lebih rendah, dan H_2O_2 merupakan oksidator yang cukup baik untuk merusak dinding lignin dalam proses *pretreatment*. Dewasa ini, *pretreatment* bonggol jagung menggunakan alkali peroksida dengan bonggol jagung masih belum banyak dilakukan, oleh karena itu dalam penelitian ini, digunakan *pretreatment* dengan metode alkali peroksida, yaitu dengan NaOH dan H_2O_2 .

Bonggol jagung merupakan salah satu limbah lignoselulosik yang banyak tersedia di Indonesia dan belum banyak dimanfaatkan. Limbah lignoselulosik adalah limbah pertanian yang mengandung selulosa, hemiselulosa, dan lignin. Selulosa secara umum terikat oleh hemiselulosa dan dilindungi oleh lignin, adanya lignin menyebabkan bahan lignoselulosa sulit untuk dihidrolisis menjadi gula, proses *pretreatment* sangat perlu dilakukan untuk menghancurkan dinding lignin dan merusak struktur kristalin selulosa, sehingga dapat meningkatkan aksesibilitas enzim pada proses hidrolisis. Kadar kompleks lignin dalam bonggol jagung sekitar 6,7% – 13,9%, hemiselulosa 39,8%, dan selulosa 32,3% – 45,6% (Saha dan Cotta 2004).

Selulosa merupakan polimer linier glukukan dengan struktur rantai yang seragam. Unit-unit glukosa terikat dengan 1,4- β ikatan glikosidik. Unit terkecil pada rantai selulosa adalah unit selobiosa dan terdiri atas dua unit glukosa (Hambali *et al.*). Lignin merupakan salah satu sel yang terdapat dalam kayu dan terdapat bersama-sama dengan selulosa. Lignin mempunyai struktur kimiawi yang bercabang dan berbentuk polimer tiga dimensi. Molekul



lignin mempunyai derajat polimerisasi tinggi. Karena ukuran dan strukturnya dapat memungkinkan lignin berfungsi sebagai semen atau lem kayu yang dapat mengikat serat dan memberikan kekerasan struktur serat. Hemiselulosa merupakan suatu polisakarida yang terdapat dalam tanaman dan tergolong senyawa organik. Hemiselulosa bersifat non kristalin, tidak bersifat serat dan mudah mengembang, lebih mudah larut dalam pelarut alkali dan lebih mudah dihidrolisis dengan asam menjadi komponen monomer yang terdiri dari D-glukosa, D-manosa, D-galaktosa, D-silosa, dan L-arabinosa (Howard *et al.* 2003).

Metode Penelitian

Penelitian ini terdiri dari beberapa tahap yaitu: persiapan sampel bonggol jagung, penentuan waktu *pretreatment*, *pretreatment* dengan alkali peroksida, hidrolisis dengan enzim serta analisis gula.

Persiapan sampel bonggol jagung. Bonggol jagung dipotong kecil-kecil dan dikeringkan di dalam *tray dryer* hingga kadar air sekitar 8 %.

Penentuan waktu *pretreatment*. Bonggol jagung sebanyak 20 gram direndam dengan 1 L larutan H₂O₂ 2% pada pH 11,5 dan temperatur 35 °C dalam waktu masing-masing 12, 18 dan 24 jam, selanjutnya padatan bonggol jagung dipisahkan dari larutan *pretreatment* dengan penyaring.

***Pretreatment* dan hidrolisis.** Tahap ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi H₂O₂ dan temperatur *pretreatment* terhadap kadar gula yang diperoleh. Padatan bonggol jagung kering direndam dalam 1 L larutan H₂O₂ dengan konsentrasi masing-masing 1%, 2%, dan 3% diatur hingga pH 11,5, temperatur divariasikan masing-masing pada 25°C, 35°C, dan 45°C, kemudian direaksikan selama 12 jam. Padatan yang diperoleh dikeringkan dalam oven hingga kadar air sekitar 8%, kemudian dihidrolisis dengan enzim *cellusoft L* dalam 100 mL larutan buffer sitrat pada pH 5 dan temperatur 50°C selama 12 jam.

Analisis gula. Tahap ini dilakukan untuk mengetahui kadar glukosa dan gula sederhana lain setelah bonggol jagung melewati tahap *pretreatment* dan hidrolisis enzimatis. Analisa kadar gula dilakukan dengan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) dengan kolom aminex HPX87P. Sampel hidrolisat diambil dan diencerkan sampai batas yang dapat diukur, dengan suntikan yang dilengkapi dengan *filter disc* sampel dimasukkan ke dalam botol vial, kemudian dimasukkan ke dalam alat HPLC. Hasil analisis akan keluar dalam bentuk kromatogram yang dibaca oleh detektor yang terpasang pada alat HPLC. Selain itu dibuat kurva standar, bertujuan untuk mendapatkan hubungan antara konsentrasi gula dan luas daerah puncak. Glukosa dan gula lain dibuat dalam berbagai konsentrasi dari 10 - 100 ppm dengan interval 10 ppm. Setiap gula tersebut ditentukan waktu retensi masing-masing menggunakan HPLC.

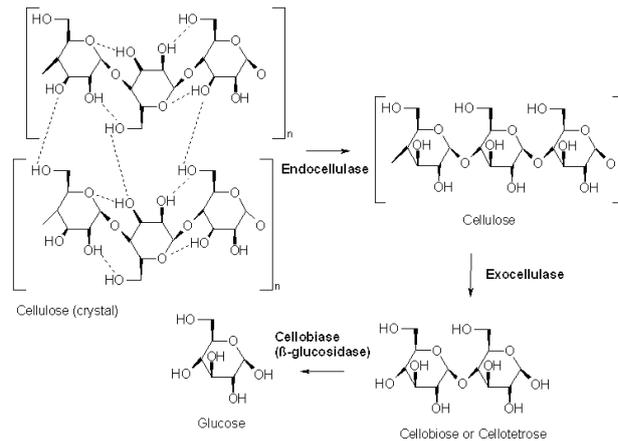
Hasil dan Pembahasan

Pada penelitian ini ada dua tahap proses yang dilakukan, yaitu proses *pretreatment* dan hidrolisis enzimatis. Tahap *pretreatment* dilakukan menggunakan larutan H₂O₂ dengan variasi konsentrasi 1%w/v, 2%w/v, 3%w/v pada berbagai temperatur yaitu 25°C, 35°C, 45°C, sedangkan tahap hidrolisis dilakukan dengan menggunakan enzim *cellusoft L* pada larutan buffer sitrat pH 5 dan suhu 50°C selama 12 jam. Hasil yang diperoleh berupa hidrolisat yang mengandung gula sederhana. Gula yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan HPLC dengan kolom HPX87P.

Pretreatment dibutuhkan untuk menghancurkan dinding lignin dan atau merusak struktur kristalin selulosa sehingga meningkatkan aksesibilitas dari enzim selulase. *Pretreatment* ini menggunakan H₂O₂ dikenal dapat mengurangi kadar lignin sebanyak 50% dari sebuah biomassa hanya dalam beberapa jam pada temperatur ruang (Saha *et al.*). Penambahan larutan NaOH pada *pretreatment* berfungsi untuk meningkatkan pH hingga 11,5 sehingga H₂O₂ terdisosiasi menjadi ion hidrogen dan anion hidroperoksil (*equation 1*), kemudian anion hidroperoksil akan bereaksi dengan H₂O₂ (*equation 2*) yang tersisa menjadi hidroksil radikal yang menyerang struktur lignin.



Radikal hidroksil dapat merusak struktur lignin sehingga memudahkan enzim menghidrolisis selulosa saat proses hidrolisis (Brebū *et al.*). Pada tahap hidrolisis, enzim selulase yang digunakan adalah *cellusoft L*, merupakan campuran dari tiga jenis enzim, yaitu *endoselulase*, *eksoselulase*, dan *selobiase*. Enzim ini bekerja spesifik untuk mengubah selulosa menjadi glukosa melalui tiga tahap. Tahap pertama enzim *endoselulase* bekerja untuk memecah struktur kristalin selulosa berupa ikatan *crosslinked* sehingga menjadi ikatan selulosa rantai lurus, kemudian enzim *eksoselulase* bekerja untuk memecah ikatan selulosa berantai lurus menjadi selobiosa yaitu senyawa yang terdiri dari dua molekul glukosa, dan enzim selobiase bekerja untuk mengubah selobiosa menjadi molekul-molekul glukosa. Mekanisme kerja enzim pada hidrolisis selulosa ditunjukkan pada Gambar 1.



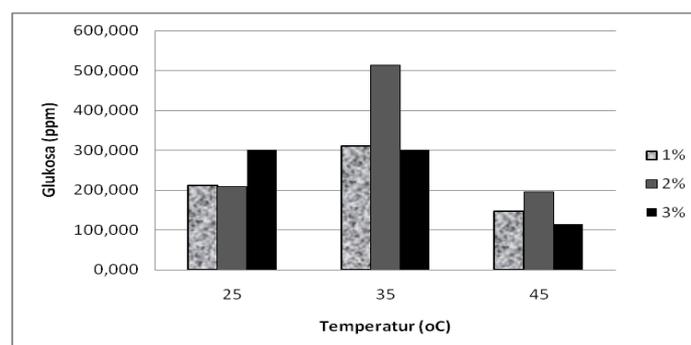
Gambar 1 Hidrolisis Selulosa dengan Enzim Selulase

Setelah melalui proses hidrolisis, kadar gula pada hidrolisat akan dianalisis menggunakan HPLC. Untuk menentukan kadar gula perlu dibuat kurva standar dari masing-masing gula, diantaranya adalah xylosa, glukosa, maltosa, fruktosa, selobiosa, dan arabinosa. Hasil analisis dengan HPLC dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 Hasil Analisis Glukosa

Temperatur (°C)	Konsentrasi H ₂ O ₂ (% w/v)					
	1%		2%		3%	
	Glukosa 1 (ppm)	Glukosa 2 (ppm)	Glukosa 1 (ppm)	Glukosa 2 (ppm)	Glukosa 1 (ppm)	Glukosa 2 (ppm)
25 °C	210,89	251,03	209,57	251,33	300,88	212,83
35 °C	311,02	386,90	514,29	387,87	300,50	380,59
45 °C	147,49	131,38	195,85	143,92	114,47	103,26

Dari hasil percobaan, kadar glukosa yang tertinggi diperoleh pada temperatur 35 °C dan konsentrasi H₂O₂ 2% yaitu 514,3 ppm, sedangkan kadar total gula (*fermented sugar*) sebesar 598 ppm. Jenis gula sederhana yang diperoleh pada kondisi optimal adalah glukosa, xylosa, dan arabinosa. Menurut Saha dan Cotta (2006), kondisi *pretreatment* optimal diperoleh pada temperatur 35°C dan konsentrasi H₂O₂, pada suhu yang lebih tinggi, yaitu 45°C diperoleh kadar gula yang lebih kecil. Pada kenaikan temperatur dari 25°C ke 35°C terjadi kenaikan kadar gula, sedangkan pada kenaikan temperatur dari 35°C ke 45 °C terjadi penurunan kadar gula. Kenaikan suhu dapat mempengaruhi reaksi kesetimbangan dekomposisi H₂O₂, sehingga HO· (radikal OH) yang terbentuk berkurang, menyebabkan jumlah lignin yang terdegradasi semakin kecil, hal tersebut dapat menghalangi kerja enzim *cellusoft L* dalam menghidrolisis selulosa menjadi glukosa. Akan tetapi, menurut Mussatto dan Roberto (2004), suhu yang lebih tinggi akan mempermudah dekomposisi gula sederhana menjadi furfural dan hydroxymethylfurfural (HMF) selain itu memungkinkan terbentuknya asam organik. Data hasil percobaan dapat ditampilkan pada Gambar 2.



Gambar 2 Pengaruh Temperatur terhadap Konsentrasi Glukosa

Dari hasil analisis varians dengan menggunakan rancangan percobaan factorial 3^k diperoleh hasil seperti yang ditunjukkan pada Tabel 2. Dari hasil analisis data dapat dilihat bahwa temperatur berpengaruh signifikan terhadap kadar gula, sedangkan pada konsentrasi H_2O_2 1%, 2%, dan 3% tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kadar gula, hal ini kemungkinan disebabkan karena rentang konsentrasi H_2O_2 yang digunakan sangat kecil.

Tabel 2 Hasil Analisis Varian dengan Design Expert

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	kesimpulan
Model	195392,9766	8	24424,12208	10,3828	0,0010	significant
A-Konsentrasi	8594,528181	2	4297,264091	1,82678	0,2158	
B-Temperatur	175613,0014	2	87806,50071	37,3269	< 0,0001	significant
AB	11185,44702	4	2796,361754	1,18874	0,3789	
Pure Error	21171,30776	9	2352,367529			
Cor Total	216564,2844	17				

Setelah tahap *pretreatment* dan hidrolisis, analisis dengan HPLC menunjukkan kadar glukosa yang diperoleh paling tinggi dibandingkan kandungan gula lainnya. Hal ini terjadi karena pada proses hidrolisis menggunakan enzim selulase yang berfungsi hanya menghidrolisa selulosa menjadi glukosa, sehingga pembentukan gula lain sangat kecil. Seperti yang diketahui, enzim bekerja secara spesifik dibandingkan dengan metode hidrolisis asam.

Hasil penelitian menunjukkan kadar glukosa yang diperoleh relatif kecil, kemungkinan disebabkan adanya produk samping yang perlu dilakukan analisis lebih lanjut pada tahap *pretreatment* dan hidrolisis, produk samping tersebut kemungkinan dapat menghambat proses pengolahan glukosa menjadi bioetanol. Inhibitor tersebut dapat berupa asam organik, furfural, dan *hydroxymethylfurfural* (HMF). Apabila komponen-komponen tersebut ditemukan dalam hidrolisat maka perlu dilakukan pemisahan.

Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini, ada beberapa hal yang dapat disimpulkan, antara lain :

1. Pada proses *pretreatment*, temperatur memberikan pengaruh signifikan terhadap kadar gula yang diperoleh.
2. Kadar glukosa terbesar diperoleh dengan kondisi *pretreatment* pada temperatur 35 °C dan konsentrasi H_2O_2 2% yaitu 514,3 ppm.
3. Total *fermented sugar* yang diperoleh pada kondisi *pretreatment* 35°C dan konsentrasi H_2O_2 2% adalah sebesar 554 ppm.
4. Dari hasil analisis dengan HPLC, selain glukosa diperoleh gula lain seperti maltosa, fruktosa, xylosa, cellobiosa, dan arabinosa dalam kadar yang kecil.

Saran

Ada beberapa saran yang dapat menunjang kegiatan penelitian di masa yang akan datang, antara lain :

1. Konsentrasi H_2O_2 yang digunakan pada proses *pretreatment* sebaiknya digunakan konsentrasi yang lebih besar.
2. Perlu dilakukan analisis *hydroxymethylfurfural* (HMF), furfural, dan asam organik pada hidrolisat.

Daftar Pustaka

- Brebu, Mihai, Vasile, Cornelia, 2009, *Thermal Degradation of Lignin A Review*, Institute of Macromolecular Chemistry, Romania.
- C. Saha, Badal, A.Cotta, Michael, *Alkaline Peroxide Pretreatment of Corn Stover for Enzymatic Saccharification and Ethanol Production*, 2014, National Center of Agricultural Utilization Research, US Department of Agriculture, Peoria, IL.
- Cheng, Ming, Zhao, Jing, Xia, Liming, 2008, *Enzymatic Hydrolysis of Maize Straw Polysaccharides for The Production of Reducing Sugars*, Carbohydrate Polymers, Vol. 71, page 411-415.
- E.Wyman, Charles, *Handbook on Bioethanol : Production and Utilization*, NREL, United State of America, 1996, page 42-45.
- Garrote, G.Dominguez, H.Parajo, 1999, *Hydrothermal Processing of Lignocellulosic Materials*, European Journal of Wood and Wood Products 57 (3), page 191-202.
- Hambali, E., S. Mujdalipah, A.H. Tambunan, A.W Pattiwiri, dan R. Hendroko. 2007. Teknologi Bioenergi. Agromedia Pustaka, Jakarta.



- Howard, R.L., E. Abotsi, J.E.L. van Rensburg, and S.Howard. 2003. Lignocellulose biotechnology : Issues of bioconversion and enzyme production. *Afr. J. Biotechnol* 2(12): 602-619.
- Iman,Greg, Handoko, Tony, 2011, Pengolahan Buah Bintaro sebagai Sumber Bioetanol dan Karbon Aktif, Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan", Yogyakarta.
- Mosier, Nathan, et al, 2005, *Features of Promising Technologies for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass*, *Bioresource Technology* 96, page 673-686.
- Mussatto, S.I., Roberto, I.C., 2004. Alternatives for detoxification of dilute-acid lignocellulosic hydrolyzates for use in fermentative process : a review, *Bioresource Technology*, 93, 1-10
- Prisanto, Fredy, 2009, Pemanfaatan Biomassa Tongkol Jagung Menjadi Bioetanol, In : Seminar Tugas Akhir S1 Jurusan Kimia FMIPA UNDIP.
- Sun, Y., Cheng, J., 2002, *Hydrolysis of Lignocellulosic Materials for Ethanol Production : A Review*, *Bioresource Technology*, Vol. 83, page 1-11.
- Taherzadeh, Mohammad, Karimi Keikhosoro, *Pretreatment of Lignocellulosic Waste to Improve Ethanol and Biogas Production : A Review*, *International Journal of Molecular Science*, 2008.
- Zhang, Mingjia et al, *Ethanol Production From High Dry Matter Corncob Using Fed-Batch Simultaneous Saccharification and Fermentation After Combined Pretreatment*, School of Chemical Engineering and Technology, Tianjin University, China.





Lembar Tanya Jawab

Moderator : Dewi Tristantini (Universitas Indonesia)

Notulen : Renung R. (UPN "Veteran" Yogyakarta)

1. Penanya : Putri Novita (UPN)
Pertanyaan : Apakah jenis jagung, umur jagung berpengaruh terhadap kadar glukosa?
Jawaban : Untuk yang tua kadar glukosanya lebih tinggi dari jagung muda. Untuk penelitian ini dipakai jagung dari pasar, bukan petani
2. Penanya : Oki (UPN)
Pertanyaan : Bagaimana pengaruhnya bonggol jagung? Dihaluskan berapa mesh? Variabel apalagi yang berpengaruh?
Jawaban : Jagung dipotong $1 \times 1 \times 1 \text{ cm}^3$, dikeringkan dengan hairdrier. Ukuran tidak dicek mesh nya. Variabel kecepatan pengadukan dan waktu
3. Penanya : Dewi tristantini (UI)
Pertanyaan : Apa fungsi H_2O_2 ? Usul Judul kurang lengkap, ditambah enzim apa dan untuk apa?
Jawaban : H_2O_2 untuk oksidator dan memecah sellulosa.

