

HIDROLISIS ENZIMATIS DAN *MICROWAVE* BAMBU BETUNG (*Dendrocalamus asper* (Schult.f.)) SETELAH KOMBINASI PERLAKUAN PENDAHULUAN SECARA BIOLOGIS DAN *MICROWAVE*

ENZYMATIC AND *MICROWAVE*-ASSISTED HYDROLYSIS OF BETUNG BAMBOO (*Dendrocalamus asper* (Schult.f.)) AFTER COMBINED BIOLOGICAL AND *MICROWAVE* PRETREATMENTS

Widya Fatriasari^{1)*}, Wasrin Syafii²⁾, Nyoman Wistara²⁾, Kaswar Syamsu³⁾, Bambang Prasetya⁴⁾

¹⁾P2 Biomaterial, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI)
Jl Raya Bogor KM 46 Cibinong Bogor 16911
Email: fatriasari@gmail.com

²⁾Departemen Teknologi Hasil Hutan, Fakultas Kehutanan IPB

³⁾Departemen Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian IPB,

⁴⁾Badan Standarisasi Nasional, Jakarta

Makalah: Diterima 2 Juni 2014; Diperbaiki 31 Oktober; Disetujui 7 November 2014

ABSTRACT

Enzymatic and acid microwave-assisted hydrolysis of a newly combined biological and microwave pretreatment was developed to evaluate the reducing sugar yield of betung bamboo fibers. In previous parallel study of single (biological or microwave) pretreatment, the improvement of reducing sugar yield of microwave-assisted acid hydrolysis has been reported previously. The cellulase of 10 and 20 FPU/g substrate was applied in the enzymatic hydrolysis of pretreated biomass using a shaking incubator at 50°C and 150 rpm for 48 hours. In the microwave-assisted acid hydrolysis, 1.0% sulfuric acid concentration was used either with or without the activated carbon addition at microwave hydrolysis at 330 watt for 7.5-12.5 minutes. There was an improvement in reducing sugar yield of bamboo pretreated biological-microwave pretreatment after microwave assisted-acid hydrolysis compared to enzymatic hydrolysis. This hydrolysis performance improvement was greater than that of the single pretreatment (biological or microwave pretreatment). Bamboo pretreated by biological-microwave pretreatment (5% inoculum loading and irradiated for 5 minutes at 330 W) showed the highest reducing sugar yield after microwave hydrolysis for 12.5 minutes (16.65% per dry biomass or 18.92% per dry substrate). As much as 27.21% of holocellulose can be converted to reducing sugar or 23.84% of theoretical maximum reducing sugar yield. The beneficial effect of activated carbon addition in microwave assisted acid hydrolysis was the reduction of brown compound even though oligomer adsorption caused the decreasing of reducing sugar yield.

Keywords: betung bamboo, brown compound, combination of biological and microwave pretreatment, enzymatic and acid-microwave hydrolysis, reducing sugar yield

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi rendemen gula pereduksi (RGP) dari hidrolisis enzimatis dan asam dibantu *microwave* pada bambu betung dengan perlakuan pendahuluan kombinasi secara biologis dan *microwave*. Pada studi paralel perlakuan pendahuluan tunggal (biologis dan *microwave*) telah dilaporkan bahwa terjadi peningkatan rendemen gula pereduksi setelah hidrolisis asam-*microwave*. Pada hidrolisis enzimatis ini konsentrasi enzim selulase yang digunakan adalah 10 dan 20 *filter paper unit* (FPU)/g substrat dengan menggunakan *incubator shaker* yang diatur pada suhu 50°C dengan kecepatan 150 rpm selama 48 jam. Pada hidrolisis asam-*microwave*, konsentrasi asam sulfat 1% digunakan pada hidrolisis baik dengan atau tanpa karbon aktif pada daya 330 W selama 7,5-12,5 menit. Hidrolisis asam-*microwave* meningkatkan rendemen gula pereduksi dibandingkan dengan hidrolisis enzimatis. Peningkatan rendemen ini lebih tinggi dibandingkan dengan rendemen gula pereduksi dari hidrolisis asam-*microwave* bambu dengan perlakuan pendahuluan tunggal (biologis atau *microwave*). Perlakuan pendahuluan secara biologis pada konsentrasi inoculum 5% yang diiradiasi selama 5 menit (330 W) menghasilkan rendemen gula pereduksi tertinggi setelah dihidrolisis asam-*microwave* selama 12,5 menit yaitu sebesar 16,65% per bambu awal atau 18,92% per bambu setelah perlakuan. Sebanyak 27,21% holoselulosa dapat dikonversi menjadi gula pereduksi atau 23,84% dari teori gula pereduksi maksimumnya. Pengaruh menguntungkan dari penambahan karbon aktif dalam hidrolisis asam-*microwave* ini adalah penurunan senyawa coklat karena adanya adsorpsi oligomer, meskipun terjadi penurunan rendemen gula pereduksinya.

Kata kunci: bambu betung, senyawa coklat, perlakuan pendahuluan secara biologis-*microwave*, hidrolisis secara enzimatis dan asam-*microwave*, rendemen gula pereduksi

PENDAHULUAN

Lignin dan struktur kristalin selulosa merupakan faktor pembatas dalam proses konversi

lignoselulosa menjadi bioetanol, oleh karena itu modifikasi struktur lignoselulosa penting dilakukan melalui perlakuan pendahuluan (Galbe dan Zacchi,

2007). Efektifitas perlakuan pendahuluan tercapai jika perlakuan tidak menyebabkan pembentukan produk degradasi sekunder yang menghambat proses fermentasi dan berbiaya rendah (Sun dan Cheng, 2002). Meningkatnya perhatian terhadap dampak lingkungan mendorong pengembangan perlakuan pendahuluan yang relatif ramah lingkungan, dimana perlakuan pendahuluan *microwave* dan biologis termasuk didalamnya.

Pengaruh perlakuan pendahuluan biologis menggunakan jamur pelapuk putih adalah untuk menurunkan kadar lignin (Chen *et al.*, 2009a) menggunakan enzim pendegradasi lignin, sedangkan pengaruh utama perlakuan pendahuluan *microwave* adalah untuk meningkatkan luas daerah permukaan kontak dan porositas substrat sehingga aksesibilitas enzim meningkat (Conde-Mejía *et al.*, 2012). Perlakuan pendahuluan ini cukup efektif karena adanya iradiasi langsung antara obyek yang dipanaskan dan medan elektromagnetik sehingga menimbulkan panas. Iradiasi *microwave* pada bagian yang lebih polar menciptakan "hot spot" dengan bahan (Zhang *et al.*, 2007) dan mendorong perusakan struktur kristal (Hoz *et al.*, 2007) sebagai efek non termal. Hal ini penting untuk meningkatkan aksesibilitas enzim terhadap substrat pada proses hidrolisis enzimatik. Efisiensi iradiasi dapat ditingkatkan dengan penambahan katalis pada medium seperti asam organik, asam sulfat, ion anorganik, hidrogen peroksida, alkohol encer, tergantung produk targetnya (Tsubaki dan Azuma, 2011), namun perlu tahap netralisasi sebelum proses hidrolisis, sehingga dalam penelitian ini penggunaan medium air dalam perlakuan pendahuluan *microwave* dimaksimalkan sebagai molekul polar yang bervibrasi dalam iradiasi *microwave*.

Aplikasi perlakuan pendahuluan tunggal biologis ataupun *microwave* pada proses konversi bambu menjadi gula telah dilakukan dalam penelitian sebelumnya. Perlakuan pendahuluan ini memberikan pengaruh pada perubahan struktur selulosa (kehilangan sebagian hemiselulosa) dan degradasi lignin. Perlakuan pendahuluan biologis dengan *Trametes versicolor* selama 30 hari memberikan selektifitas delignifikasi yang lebih baik dibandingkan dengan inkubasi 15 dan 45 hari (Fatriasari *et al.*, 2014a). Selain itu pada perlakuan pendahuluan *microwave* dalam medium air, penggunaan iradiasi 5, 10 dan 12,5 menit pada daya 330 W serta iradiasi selama 5 menit daya 770 W memberikan kehilangan berat dan selulosa yang relatif lebih rendah (Fatriasari *et al.*, 2014b). Perlakuan pendahuluan pada kondisi ini untuk selanjutnya yang dipilih pada tahap hidrolisis. Kombinasi perlakuan pendahuluan secara biologis dan *microwave* merupakan upaya alternatif dalam rangka meningkatkan efisiensi digestibilitas substrat pada proses hidrolisis. Hal ini diduga terkait dengan terjadinya aktivitas delignifikasi polimer lignin oleh jamur pelapuk putih dan kemungkinan lebih

efektifnya peningkatan luas permukaan dan porositas substrat pada iradiasi *microwave*.

Hidrolisis enzimatik bahan lignoselulosa merupakan metode hidrolisis umum selain hidrolisis asam. Meskipun metode ini relatif aman terhadap lingkungan, namun waktu prosesnya membutuhkan waktu yang lama dan harga enzim yang relatif mahal menjadi pertimbangan pemilihan metode ini. Selain itu, rendemen gula yang dihasilkannya juga kurang maksimal. Sejalan dengan hal tersebut, pada hidrolisis enzimatik dengan perlakuan pendahuluan biologis ataupun *microwave* bambu betung menghasilkan rendemen gula pereduksi (RGP) per bambu awal tertinggi dibawah 5% (Fatriasari *et al.*, 2014c,d). Oleh karena itu, pengembangan teknik hidrolisis lain seperti hidrolisis dengan asam untuk mempercepat waktu hidrolisis dan menekan biaya proses perlu dilakukan.

Efektifitas hidrolisis asam ini dapat diakselerasi dengan iradiasi *microwave*. Waktu iradiasi *microwave* yang pendek melingkupi seluruh substrat (bersifat volumetrik) untuk menghindari adanya panas yang berlebihan pada bagian permukaan yang mendorong peningkatan RGPnya. Terjadi peningkatan RGP 6-7 kali pada hidrolisis asam-*microwave* dengan asam sulfat 1% dari perlakuan pendahuluan biologis dan *microwave* dibandingkan dengan kontrol. Meskipun demikian, dalam hidrolisis asam memungkinkan terbentuknya produk degradasi sekunder seperti furfural dan 5-hidroksi metil furfural (HMF) akibat degradasi lebih lanjut dari karbohidrat. Oleh karena itu perlu ditambahkan karbon aktif sebagai adsorpsi dalam proses hidrolisis asam. Penambahan karbon aktif pada hidrolisis onggok dengan medium air mampu meningkatkan rendemen glukosa, mencerahkan warna hidrolisat, dan menurunkan kadar HMF dengan suhu pemanasan yang lebih rendah (Hermiati *et al.*, 2012a).

Sejauh ini belum ada studi yang membahas pengaruh penggunaan kombinasi perlakuan pendahuluan secara biologis-*microwave* pada bambu terhadap RGP pada hidrolisis enzimatik maupun hidrolisis asam dibantu *microwave*. Sejauh mana peningkatan rendemen gula yang diperoleh setelah hidrolisis asam dibandingkan dengan hidrolisis enzimatik juga dibahas dalam penelitian ini. Pengaruh penambahan katalis karbon aktif dalam hidrolisis asam-*microwave* juga dibahas dihubungkan dengan sifat adsorpsinya. Perubahan gula total dan derajat polimerisasi pada hidrolisat setelah hidrolisis asam-*microwave* juga menjadi aspek pembahasan dalam studi ini.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bambu betung (*Dendrocalamus asper*) segar tanpa kulit yang berumur kurang lebih 2 tahun dari kebun bambu Pusat Biomaterial LIPI, Cibinong,

Indonesia diberi perlakuan pendahuluan secara biologis-*microwave*. Seluruh bagian batang bambu dari pangkal sampai ujung digunakan sebagai bahan baku dalam penelitian ini. Bambu tersebut dikuliti, dicacah dan dibuat serpih dengan *drum chipper*, *ring flaker*, *hammer mill* dan selanjutnya dibuat serbuk dengan *disk mill* dan disaring untuk memperoleh partikel berukuran 40-60 mesh. Bambu ini mengandung alpha selulosa, hemiselulosa, lignin dan ekstraktif etanol masing-masing sebesar 44,77±0,16% (b/b), 18,71±0,17% (b/b), 25,38±0,36% (b/b), 3,49±1,11 (b/b) (Fatriasari *et al.*, 2014b).

Karbon aktif granular yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Ajinomoto Fine-Techno Co., Inc., Japan. Karbon aktif ini merupakan hasil reaktivasi karbon aktif pada suhu 800°C selama 120 menit. Bahan ini sebelumnya telah digunakan pada proses hidrolisis asam pada sagu untuk maltodektrin. Analisis karakteristik karbon aktif hasil reaktivasi ini dilakukan berdasarkan metode SNI 06-4253-1996 (BSN, 1996). Bahan kimia yang digunakan pada hidrolisis asam-*microwave* adalah asam sulfat (*analytical grade*).

Kombinasi perlakuan pendahuluan biologis dan *microwave* ini dimulai dengan perlakuan pendahuluan biologis kemudian dilanjutkan dengan perlakuan pendahuluan *microwave*. Perlakuan pendahuluan biologis mengikuti prosedur Fatriasari *et al.* (2014a) menggunakan konsentrasi inokulum 5 dan 10% dengan lama inkubasi 30 hari.

Perlakuan Pendahuluan Microwave

Perlakuan pendahuluan ini menggunakan oven *microwave* SHARP P-360J (S) yang menggunakan frekuensi 2450 MHz dan *output* daya 1100 watt. Serbuk bambu hasil perlakuan pendahuluan biologis (1 g berat kering oven) dimasukkan ke dalam tabung yang terbuat dari teflon dengan kapasitas 100 mL kemudian ditambahkan 30 mL air dengan perbandingan 1:30 (b/v). Suspensi selanjutnya dihomogenkan dengan *stirrer plate* selama 20 menit pada suhu ruang. Bahan dalam tabung dipaparkan *microwave* pada tingkat daya 330 W selama 5, 10 dan 12,5 menit serta 5 menit pada daya 770 W. Setelah kondisi tercapai, bahan dikeluarkan dan segera didinginkan dengan cara merendamnya dalam air es sampai mencapai suhu ruang (±26-28°C) selama 15 menit. Residu dipisahkan dari cairannya dengan penyaringan dan residu dicuci dengan air destilata untuk selanjutnya dihidrolisis secara enzimatis maupun hidrolisis asam-*microwave*.

Hidrolisis Enzimatis

Hidrolisis enzimatis ini menggunakan enzim selulase komersial, Meicellase dari *Trichoderma viride* (Meiji Seika Co., Ltd., 224 FPU/g) pada suhu 50°C menggunakan *incubator shaker* selama 48 jam dengan kecepatan 150 rpm. Hidrolisis enzimatis ini

mengikuti prosedur Selig *et al.* (2008) yaitu sebanyak 0,1 g (berat kering oven, BKO) sampel hasil perlakuan pendahuluan secara biologis-*microwave* ditambahkan 0,05 M *buffer* natrium sitrat (pH 5), kemudian ditambahkan enzim selulase dengan konsentrasi 10 dan 20 FPU (*filter paper unit*)/g substrat dan 0,1 mL natrium azida 2% (b/v) sampai mencapai total berat 10 g. Selain itu blanko substrat dan blanko enzim juga dipersiapkan dalam hidrolisis ini.

Hidrolisis Asam-Microwave

Selain dihidrolisis secara enzimatis, sampel sebanyak 0,1 g (BKO) hasil perlakuan pendahuluan secara biologis dan *microwave* juga dihidrolisis secara asam-*microwave* dan larutan asam H₂SO₄ 1% dengan konsentrasi substrat 1%. Selanjutnya suspensi tersebut dihomogenkan dengan diaduk pada *stirrer plate* selama 15 menit dan diiradiasi dengan daya 330 W selama 7,5-12,5 menit. Selain itu juga dilakukan hidrolisis asam dengan penambahan karbon aktif sebesar 0,5 g/g sampel. Ketika waktu tercapai (7,5-12,5 menit), bahan didinginkan dalam air es selama 15 menit dan selanjutnya disaring.

Hidrolisat dari hasil hidrolisis secara enzimatis dan asam-*microwave* dianalisis gula pereduksi dengan metode Nelson-Somogyi menggunakan spektrofotometer (HITACHI Model U-2001). Absorbansi diatur agar terdeteksi pada kisaran 0,2-0,8 (Wrolstad *et al.*, 2005). Penghitungan RGP per bambu awal dan per bambu setelah perlakuan mengikuti persamaan Fatriasari *et al.* (2014d), sedangkan perhitungan rasio hidrolisis mengacu pada Yu *et al.* (2009) dan hanya dihitung pada RGP tertinggi. Senyawa coklat dalam hidrolisat dari hidrolisis asam-*microwave* juga diukur pada panjang gelombang 490 nm (Warrand dan Janssen, 2007). Selain itu juga dilakukan pengukuran pH menggunakan pH meter Eutech dengan tiga kali ulangan.

Gula Total (Modifikasi metode Fenol Asam Sulfat) (Dubois *et al.*, 1956)

Larutan standar glukosa (0,05-0,1 mg/mL) disiapkan untuk membuat kurva kalibrasi. Sebanyak 0,5 mL larutan standar glukosa dan contoh dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 0,5 mL larutan fenol 5% b/v. Penambahan 2,5 mL asam sulfat pekat 97% dilakukan segera secara cepat dan setelah itu didiamkan dalam air pada suhu 40°C selama 10 menit dan selanjutnya dikocok. Absorbansi larutan standar dan larutan contoh diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 490 nm.

Derajat Polimerisasi

Derajat polimerisasi (DP) dihitung berdasarkan perbandingan antara gula total dan gula pereduksi. DP menyatakan jumlah unit monomer glukosa dalam satu molekul selulosa.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Perbandingan Gula Pereduksi Hidrolisis Enzimatis dan *Microwave*

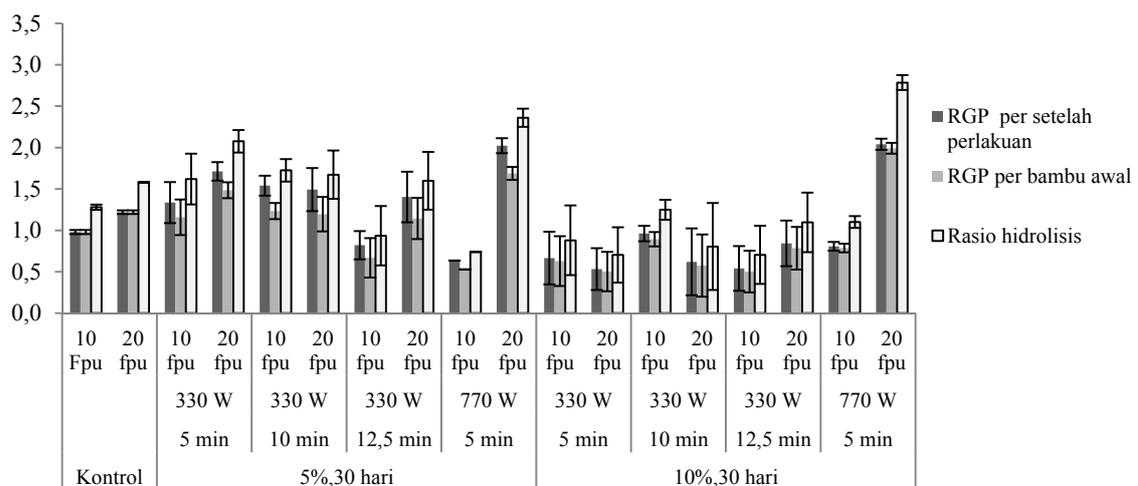
Gambar 1 menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi enzim sedikit meningkatkan RGP. RGP dari hidrolisis enzimatis dengan konsentrasi enzim 20 FPU pada perlakuan pendahuluan biologis dengan 5% inokulum dan diiradiasi selama 5 menit pada daya 330 W (1,49%) dan 770 W (1,69%) menunjukkan RGP per bambu awal yang lebih tinggi dibandingkan dengan kondisi perlakuan pendahuluan lainnya. Pada konsentrasi inokulum 10%, rendemen gula yang tertinggi hanya ditemukan pada iradiasi 5 menit pada daya 770 W (1,99%). Terjadi peningkatan RGP setelah perlakuan pendahuluan dibandingkan dengan kontrol (1,63 kali) terhadap RGP yang tertinggi. Berdasarkan rasio hidrolisisnya (Gambar 1), pada kondisi ini holoselulosa yang dapat dikonversi menjadi gula pereduksi hanya sebesar 2,79% atau sebesar 2,83% dari RGP teoritis bambu awal. Secara teoritis, konversi gula pereduksi dari bambu dengan rasio hidrolisis 100% dapat memproduksi 71,45 g gula pereduksi/100 g bambu awal.

Peningkatan konsentrasi enzim 2 kali hanya sedikit meningkatkan RGPnya. Dibandingkan dengan RGP tertinggi hasil hidrolisis enzimatis pada perlakuan pendahuluan biologis (2,69% per bambu awal) dan *microwave* (4,24% per bambu awal) (Fatriasari *et al.*, 2014c,d), maka RGP perlakuan kombinasi ini menurunkan RGP. Hal ini diduga terkait dengan terjadinya kehilangan berat yang lebih banyak pada perlakuan pendahuluan kombinasi dan lebih tingginya kadar lignin setelah kombinasi perlakuan pendahuluan kombinasi ini dibandingkan dengan perlakuan pendahuluan tunggal (Fatriasari *et al.*, 2014a,b). Terdapat kecenderungan dimana

pengaruh perlakuan pendahuluan *microwave* lebih dominan pengaruhnya dalam meningkatkan RGP melalui perbaikan karakteristik substrat setelah perlakuan.

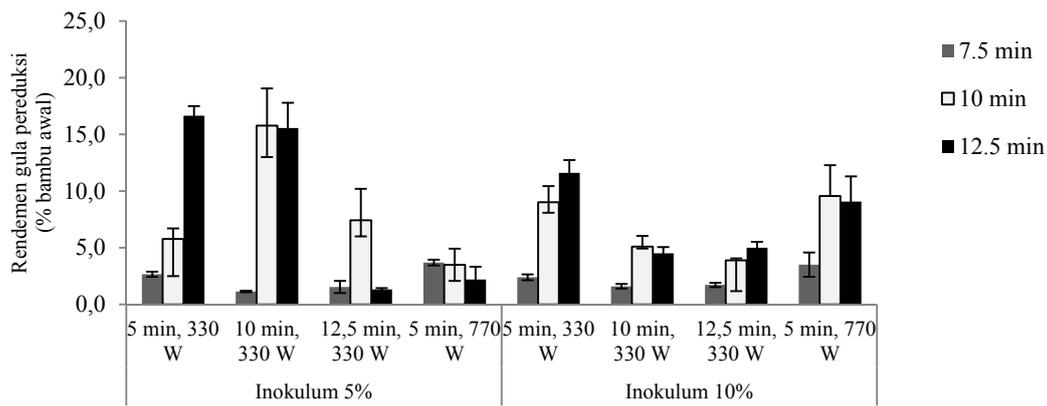
Hidrolisis asam-*microwave* merupakan upaya untuk meningkatkan RGP mengingat rendahnya RGP dari hidrolisis enzimatis, dimana asam sulfat merupakan katalis yang umum digunakan dalam hidrolisis (Aguilar *et al.*, 2002). Berdasarkan hasil hidrolisis asam-*microwave* dari perlakuan pendahuluan *microwave* (Fatriasari *et al.*, 2014d), peningkatan konsentrasi asam sampai 5% hanya sedikit meningkatkan rendemen gulanya, dan justru terjadi penurunan rendemen gula pada hidrolisis asam-*microwave* dari perlakuan pendahuluan biologis. Hal ini menjadi dasar untuk menggunakan konsentrasi asam 1% pada hidrolisis asam-*microwave* pada penelitian ini.

RGP per bambu awal dari proses hidrolisis asam-*microwave* disajikan pada Gambar 2. Perolehan RGP pada konsentrasi inokulum 5% cenderung lebih baik dibandingkan dengan konsentrasi inokulum 10%. RGP ini lebih tinggi dibandingkan dengan hasil hidrolisis enzimatis. Kehilangan lignin (24,27%) dan hemiselulosa (10,92%) yang lebih besar pada perlakuan pendahuluan biologis dengan konsentrasi inokulum 5% ikut meningkatkan RGP. Kecenderungan ini sejalan dengan hasil hidrolisis asam-*microwave* dari perlakuan pendahuluan tunggal biologis ataupun *microwave* (Fatriasari *et al.*, 2014c,d). Struktur substrat setelah perlakuan pendahuluan yang lebih terbuka (peningkatan luas daerah permukaan dan perbesaran pori-pori) akibat terdepolimerisasi lignin setelah inokulasi jamur dan pemanasan *microwave* berkontribusi terhadap peningkatan RGP tersebut (Fatriasari *et al.* 2014e).



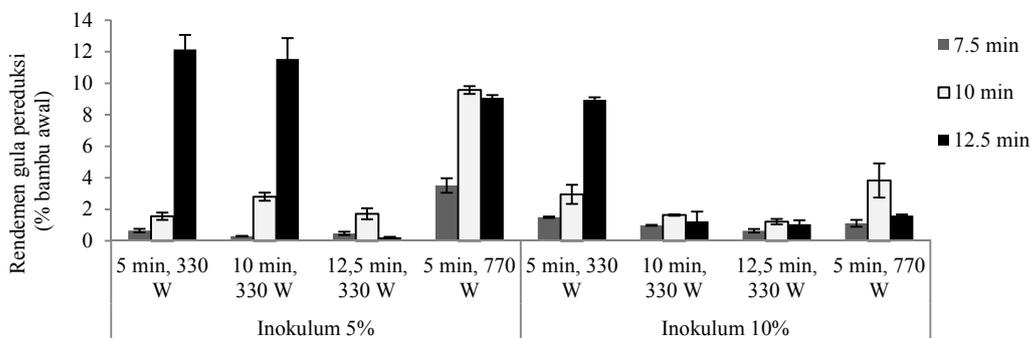
Perlakuan pendahuluan secara biologis-*microwave*

Gambar 1. RGP dan rasio hidrolisis dari hidrolisis enzimatis



Perlakuan pendahuluan secara biologis-microwave

(a)



Perlakuan pendahuluan secara biologis-microwave

(b)

Gambar 2. RGP per bambu awal dari hidrolisis asam-microwave (a) tanpa karbon aktif dan (b) dengan karbon aktif (B)

Pada konsentrasi inokulum 5%, perlakuan pendahuluan *microwave* selama 10 dan 12,5 menit menunjukkan rendemen gula hidrolisis asam-*microwave* yang rendah. Peningkatan waktu iradiasi pada hidrolisis asam cenderung meningkatkan RGP pada perlakuan pendahuluan biologis dengan inokulum 10%. RGP tertinggi (16,65% per bambu awal) diperoleh pada perlakuan pendahuluan biologis inokulum 5% yang diperlakukan pendahuluan *microwave* 5 menit (330 W) pada hidrolisis asam 12,5 menit. Rendemen ini meningkat 13,7 dan 8,4 kali dibandingkan dengan kontrol dan rendemen gula tertinggi hasil hidrolisis enzimatis. Hal ini berarti perlakuan pendahuluan biologis-*microwave* memberikan efek peningkatan RGP yang lebih tinggi dibandingkan dengan hidrolisis asam dari perlakuan pendahuluan biologis (6,3 kali) ataupun *microwave* (7,9 kali). Pada kondisi RGP tertinggi ini, sebanyak 27,21% holoselulosa mampu dikonversi menjadi gula pereduksi atau 23,84% dari maksimum potensi gula yang bisa dihasilkan. Peningkatan RGP dari hidrolisis asam-*microwave* ini

terhadap kontrol yang dihasilkan pada penelitian ini lebih tinggi daripada peningkatan RGP (2,3%) yang dilaporkan Husnil (2009) menggunakan jenis bambu yang sama setelah perlakuan pendahuluan alkali dibantu *microwave* dengan hidrolisis secara enzimatis. Namun RGP tertinggi (16,65 g/100 g bambu awal) dalam penelitian ini lebih rendah dibandingkan dengan RGP (66,5 g/100 g bagas tebu awal) dari hidrolisis enzimatis bagas tebu setelah perlakuan pendahuluan *microwave*-alkali-asam (Binod *et al.*, 2012). Hal ini diduga karena dalam penelitian ini, perlakuan pendahuluan tidak menggunakan bahan kimia sehingga meskipun RGPnya lebih rendah namun perlakuan pendahuluan ini relatif lebih ramah lingkungan. Selain itu daya *microwave* yang digunakan dalam penelitian tersebut lebih tinggi (600 W).

Penambahan karbon aktif pada proses hidrolisis asam-*microwave* menurunkan RGP (Gambar 2b). Fenomena pengaruh penambahan karbon aktif ini juga sama dengan hasil hidrolisis asam setelah perlakuan pendahuluan biologis

ataupun *microwave* (Fatriasari *et al.*, 2014c, d) serta hidrolisis asam pada onggok (Hermiati, 2012b). Adsorpsi oligomer di permukaan karbon aktif memungkinkannya tidak ikut terhidrolisis (Hermiati, 2012b) sehingga berpengaruh terhadap penurunan RGP. Lebih lanjut menurut Matsumoto *et al.* (2011), kapasitas adsorpsi maltosa berbanding terbalik dengan daya sakarifikasinya.

Terkait dengan karakteristik karbon aktif yang digunakan sebagai hasil reaktivasi karbon aktif yang telah digunakan pada hidrolisis sebelumnya (Tabel 1), tampak bahwa terjadi penurunan sifat adsorpsi dan pH setelah reaktivasi. Hal ini diduga berkaitan dengan penurunan peranan karbon aktif dalam membantu meningkatkan RGP.

Tabel 1. Perbandingan sifat karbon aktif sebelum dan setelah reaktivasi

Karakteristik	Awal	Reaktivasi
Bentuk	Granul ^{1,2}	Granul
Ukuran	8-20 mesh ^{1,2}	8-20 mesh
pH	6,2 ¹	8,91
Sifat adsorpsi		
Daya serap I ₂ (mg/g)	1150 ¹	1078
Daya serap biru metilena (mg/g)	200 ¹	120,9
Luas permukaan (m ² /g)	981,72 ²	443,4

Sumber : ¹Fajriutami *et al.* (2014)

²Hermiati (2012b)

Daya adsorpsi terhadap senyawa I₂ yang mewakili adsorpsi terhadap senyawa berukuran kecil atau berbobot molekul rendah mengalami sedikit penurunan setelah reaktivasi, tetapi adsorpsi terhadap senyawa biru metilena yang mewakili adsorpsi senyawa berukuran atau berbobot molekul besar mengalami penurunan yang nyata. Selain itu juga terjadi kecenderungan penurunan luas permukaan setelah reaktivasi, hal ini mengindikasikan bahwa sifat adsorpsi karbon aktif awal lebih baik daripada setelah reaktivasi. Penggunaan karbon aktif dalam proses hidrolisis sebelumnya kemungkinan menyebabkan penurunan daya hidrolisis yang tampak dari pHnya yang lebih bersifat basa. Hal ini kemungkinan merupakan faktor penyebab penurunan RGP dalam hidrolisis asam-*microwave* dengan penambahan karbon aktif.

Pengaruh Karbon Aktif Terhadap Senyawa Coklat dan pH Hidrolisat

Dalam proses hidrolisis asam dimungkinkan terbentuknya inhibitor yang mengganggu proses fermentasi melalui penghambatan pertumbuhan sel ragi dan produksi etanol (Larsson *et al.*, 1999), seperti senyawa coklat (hasil degradasi sekunder gula berantai 5 dari hemiselulosa), asam asetat, furan ataupun phenol. Oleh karena itu diperlukan upaya untuk menurunkan kadar inhibitor tersebut diantaranya melalui penambahan karbon aktif. Chandel *et al.* (2007) melaporkan terjadinya penurunan kadar turunan

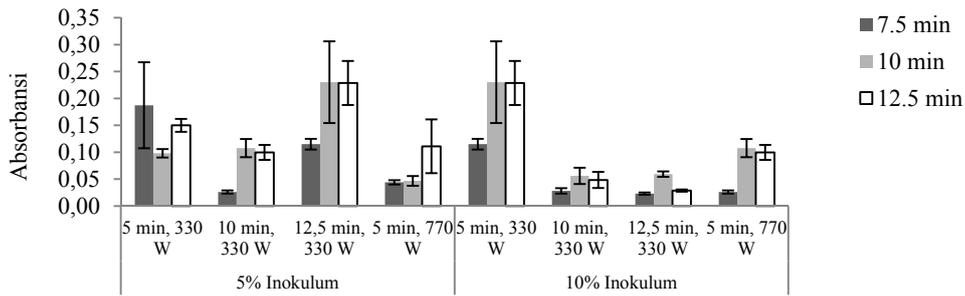
furan, asam asetat, fenolik dan senyawa coklat dalam hidrolisat setelah penambahan karbon aktif (Seo *et al.*, 2009; Chandel *et al.*, 2007).

Pembentukan senyawa coklat dalam hidrolisat mengindikasikan reaksi pencoklatan non enzimatis seperti reaksi Maillard dan karamelisasi yaitu ketika sistem yang mengandung gula pereduksi dan asam amino dipanaskan (Chen *et al.*, 2009b; Vilota dan Hawkes 2007). Jika dibandingkan dengan hidrolisis asam tanpa karbon aktif tampak bahwa penambahan karbon aktif berpengaruh positif terhadap penurunan senyawa coklat dalam hidrolisat (Gambar 3). Hal ini mengindikasikan bahwa karbon aktif meskipun menurunkan RGP pada proses hidrolisis asam, namun karbon aktif mampu memberikan efek penghambatan terhadap produksi senyawa coklat.

Hal ini karena terjadi adsorpsi oligomer pada permukaan karbon aktif menyebabkannya tidak ikut terhidrolisis sehingga RGPnya menurun. Adsorpsi senyawa coklat yang tertinggi terjadi pada perlakuan pendahuluan biologis inokulum 5% diiradiasi selama 12,5 menit (330 W). Waktu iradiasi yang lama memungkinkan lebih intensifnya proses degradasi sekunder yang terjadi. Tingginya RGP pada perlakuan pendahuluan biologis-*microwave* selama 5 menit dengan daya 330 W dan inokulum 5% (Gambar 2) kemungkinan terkait dengan rendahnya senyawa coklat yang terbentuk. Pengaruh positif hidrolisis asam yang dikatalisasi karbon aktif terhadap penurunan inhibitor ini juga telah dilaporkan sebelumnya menggunakan substrat hasil perlakuan pendahuluan tunggal biologis dan *microwave* (Fatriasari *et al.*, 2014 c,d).

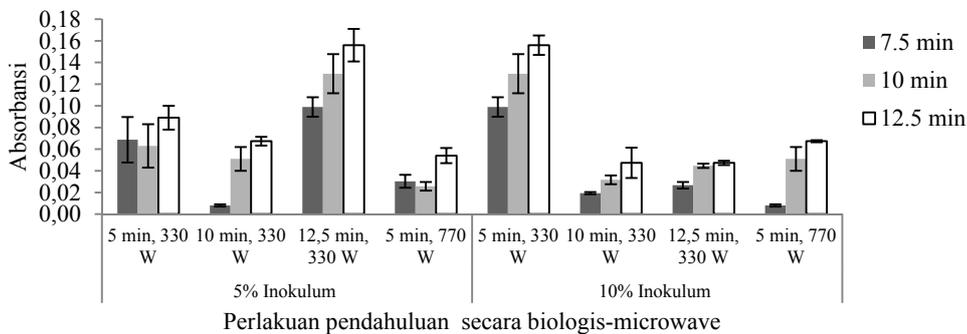
Perubahan nilai pH hidrolisat selama proses hidrolisat disajikan oleh Gambar 4. Terjadi fenomena peningkatan nilai pH pada perlakuan pendahuluan biologis (konsentrasi inokulum 5%) dan *microwave* selama 5 dan 10 menit (330 W) serta 5 menit (330 W) dan 12,5 menit (770 W) pada konsentrasi inokulum 10%. Hal ini mengindikasikan bahwa pemanasan selektif *microwave* pada substrat bisa memberikan efek penghambatan terhadap kemungkinan terdekomposisinya produk degradasi karbohidrat lanjutan menjadi asam organik. Namun penyebab fenomena ini belum diketahui pasti.

Dibandingkan dengan pH hasil hidrolisis asam pada kontrol, perlakuan pendahuluan kombinasi ini memberikan menurunkan pH hidrolisat. Kecenderungan yang sama juga telah dilaporkan hidrolisis asam-*microwave* pada perlakuan pendahuluan biologis dan *microwave* (Fatriasari *et al.*, 2014c,d). Tingkat penurunan pH hidrolisat terhadap kontrol dari perlakuan pendahuluan tunggal (Fatriasari *et al.*, 2014 c,d) dan kombinasi secara biologis-*microwave* tidak berbeda signifikan. Penambahan karbon aktif tidak terlalu berpengaruh terhadap perubahan nilai pH (Gambar 4b).



Perlakuan pendahuluan secara biologis-microwave

(a)



Perlakuan pendahuluan secara biologis-microwave

(b)

Gambar 3. Senyawa coklat yang terbentuk pada hidrolisis asam-microwave (a) tanpa karbon aktif dan (b) dengan karbon aktif

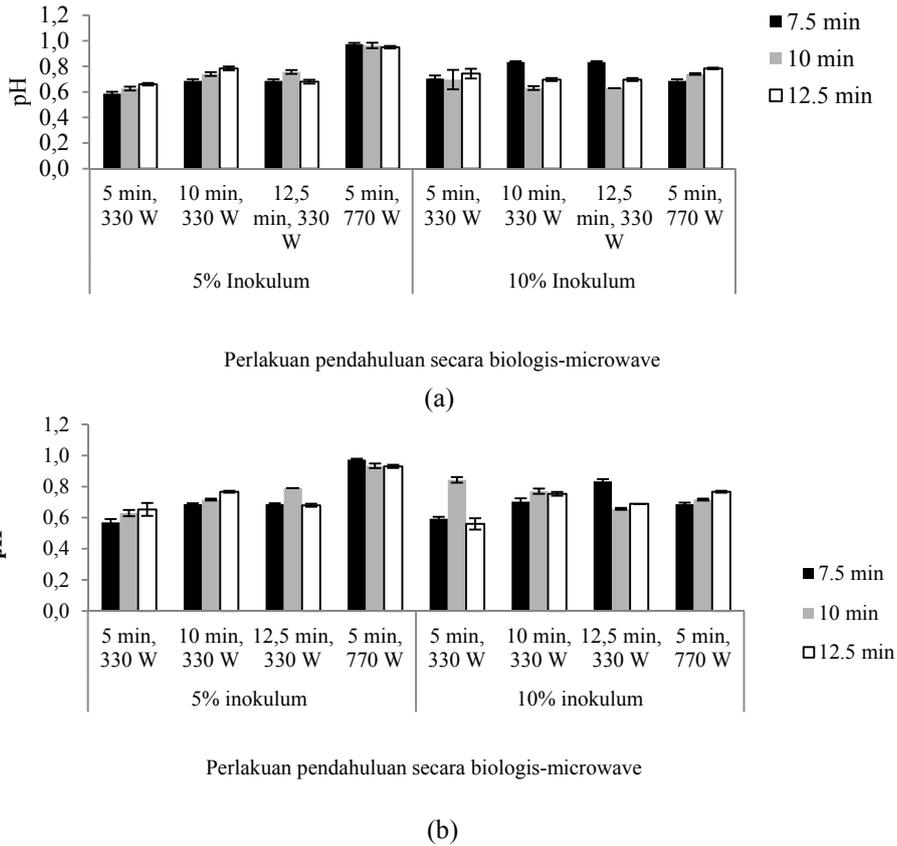
Gula Total dan Derajat Polimerisasi

Metode fenol-asam sulfat merupakan metode pendekatan yang dapat digunakan untuk mengukur konsentrasi monomer glukosida dari selodextrin terlarut dan untuk selulosa yang tidak larut yang didahului tahap pelarutan (Zhang *et al.*, 2005). Pengukuran gula total ini merupakan metode pendekatan untuk mengestimasi derajat polimerisasi (DP) sakarida dalam hidrolisat yaitu rasio antara gula total terhadap gula pereduksi. Pola perubahan gula total pada hidrolisat selama hidrolisis dengan dan tanpa karbon aktif disajikan pada Tabel 2.

Gula total dalam hidrolisat yang tertinggi dicapai ketika substrat 5% dengan perlakuan pendahuluan *microwave* selama 12,5 menit (330 W) dan dihidrolisis selama 12,5 menit (2,23 mg/mL). Ketika kondisi ini konsentrasi gula pereduksi dalam hidrolisat hanya sebesar 0,21 mg/mL. Hal ini berarti

dalam hidrolisat banyak mengandung gula lain selain gula pereduksi. Penambahan karbon aktif tampaknya juga menurunkan konsentrasi gula total dalam hidrolisat (Tabel 2). Fenomena ini sama dengan pengaruh karbon aktif terhadap RGP.

Ukuran molekul sakarida dalam hidrolisat diindikasikan dari nilai derajat polimerisasi (DP) sakarida. Semakin rendah nilai DP menunjukkan semakin kecilnya ukuran sakarida dalam hidrolisat. Kondisi hidrolisis yang lebih lama cenderung menurunkan nilai DP hidrolisat (Fajriutami *et al.*, 2014). Perubahan DP sakarida dalam hidrolisat disajikan pada Tabel 2, dengan DP tertinggi (52,00) pada hidrolisis asam-microwave selama 12,5 menit dengan penambahan karbon aktif menggunakan substrat hasil perlakuan pendahuluan biologis dengan konsentrasi inokulum 5% dan iradiasi *microwave* 12.5 menit (330 W).



Gambar 4. Perubahan nilai pH pada hidrolisis asam-microwave (a) tanpa karbon aktif dan (b) dengan karbon aktif

Tabel 2. Rekapitulasi gula total, konsentrasi gula dan DP hidrolisat

Perlakuan pendahuluan			Hidrolisis asam-microwave					
Biologis	Micro wave	Iradiasi (min)	Tanpa karbon aktif	Dengan karbon aktif	Tanpa karbon aktif	Dengan karbon aktif	Tanpa karbon aktif	Dengan karbon aktif
			Gula total (mg/mL)		Konsentrasi gula (mg/mL)		DP hidrolisat	
5% inokulum	5 min (330 W)	7,5	1,35±0,39	0,53±0,27	0,31±0,02	0,07±0,01	4,36±1,02	7,57±2,56
		10	1,05±0,08	0,64±0,09	0,67±0,11	0,18±0,03	1,57±0,41	3,55±0,61
		12,5	2,01±1,07	1,27±0,27	1,92±0,08	1,39±0,11	1,05±0,62	0,91±0,24
	10 min (330 W)	7,5	2,16±0,39	0,75±0,14	0,14±0,01	0,04±0,00	15,43±1,92	18,75±4,97
		10	0,45±0,34	0,03±0,00	1,96±0,41	0,35±0,03	0,23±0,16	0,08±0,01
		12,5	2,23±0,09	0,30±0,02	1,93±0,27	1,43±0,65	1,15±0,38	0,21±0,11
	12,5 min (330 W)	7,5	0,68±0,24	0,27±0,02	0,19±0,07	0,06±0,01	3,57±0,16	4,50±0,02
		10	0,97±0,16	0,45±1,12	0,91±0,34	0,21±0,09	1,06±1,00	2,14±0,22
		12,5	1,16±0,20	1,56±0,33	0,16±0,01	0,03±0,01	7,25±0,41	52,00±1,59
	5 min (770 W)	7,5	0,88±0,07	0,21±0,05	0,44±0,09	0,24±0,04	2,00±0,57	0,24±0,02
		10	1,53±0,22	0,39±0,02	0,42±0,09	0,25±0,05	3,64±0,30	1,56±0,22
		12,5	1,75±0,39	1,37±0,08	0,26±0,11	0,22±0,05	6,73±0,39	6,23±1,59
10% inokulum	5 min (330 W)	7,5	0,88±0,27	0,54±0,09	0,25±0,03	0,16±0,01	3,52±1,45	3,32±0,29
		10	0,71±0,55	1,03±0,35	0,95±0,15	0,31±0,04	0,75±0,84	3,32±1,63
		12,5	0,69±0,23	1,75±0,24	1,22±0,12	0,95±0,15	0,57±0,07	1,84±0,12
	10 min (330 W)	7,5	0,35±0,01	0,08±0,01	0,17±0,02	0,11±0,09	2,06±0,56	0,73±0,57
		10	0,71±0,07	0,47±0,07	0,55±0,10	0,17±0,05	1,29±0,71	2,76±0,35
		12,5	0,69±0,08	0,38±0,08	0,52±0,44	0,13±0,05	1,33±0,61	2,92±1,21
	12,5 min (330 W)	7,5	0,38±0,09	0,11±0,05	0,18±0,02	0,07±0,01	2,11±0,43	1,57±1,38
		10	0,79±0,07	0,34±0,01	0,42±0,02	0,13±0,02	1,88±0,38	2,62±0,54
		12,5	0,69±0,14	0,28±0,07	0,54±0,06	0,11±0,03	1,28±4,69	2,54±0,45
	5 min (770 W)	7,5	0,41±0,33	0,27±0,02	0,36±0,11	0,11±0,02	1,14±1,52	2,45±0,31
		10	1,01±0,18	0,58±0,02	0,82±0,34	0,39±0,11	1,23±0,35	1,48±0,33
		12,5	0,89±0,48	0,22±0,04	0,93±0,23	0,16±0,04	0,95±0,66	1,38±0,31

Hal ini mengindikasikan kemungkinan bahwa ukuran sakarida dalam hidrolisat tersebut masih relatif lebih besar dari glukosa (DP=1). Kebalikan dengan fenomena ini, DP terendah pada hidrolisis tanpa karbon aktif dimiliki oleh kombinasi perlakuan pendahuluan biologis dengan inokulum 5% dan iradiasi *microwave* selama 10 menit (330 W) yang dihidrolisis asam-*microwave* dengan karbon aktif selama 12,5 menit yaitu sebesar 0,21. Penambahan karbon aktif dalam proses hidrolisis tampaknya meningkatkan DP hidrolisat. Hal ini mengindikasikan kemungkinan di dalam hidrolisat lebih banyak mengandung gula non glukosa.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Hidrolisis asam-*microwave* dengan asam sulfat berhasil memperbaiki kinerja hidrolisis bambu setelah perlakuan pendahuluan secara biologis-*microwave*. Terjadi peningkatan RGP sebesar 8,4 kali dibandingkan dengan RGP tertinggi dari hidrolisis enzimatis. RGP tertinggi sebesar 16,65% per bambu awal atau 18,92% per bambu setelah perlakuan diperoleh pada perlakuan pendahuluan biologis inokulum 5% dilanjutkan perlakuan pendahuluan *microwave* 5 menit (330 W) setelah dihidrolisis asam selama 12,5 menit. Pada kondisi ini sebanyak 27,21% holoselulosa mampu dikonversi menjadi gula pereduksi atau 23,84% dari maksimum potensi gula yang bisa dihasilkan. Penambahan karbon aktif dalam hidrolisis asam mampu menurunkan absorbansi senyawa coklat yang berpotensi sebagai inhibitor dalam proses fermentasi.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini masih diperlukan upaya perbaikan RGP pada hidrolisis asam tanpa karbon aktif melalui peningkatan daya *microwave* di atas 330 W dengan lama waktu iradiasi 12,5 menit. Selain itu, untuk melengkapi data senyawa inhibitor fermentasi perlu dievaluasi kadar HMF (5-hidroksi metil furfural) dalam hidrolisat.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Kementerian Riset dan Teknologi (KNRT) melalui beasiswa program doktor (S3) dan BIOTROP atas program PhD *Research Grant* tahun 2013.

DAFTAR PUSTAKA

Aguilar R, Ramírez JA, Garrote G, Vázquez M. 2002. Kinetic study of the acid hydrolysis of sugar cane bagasse. *J Food Eng.* 55(4): 309-318.

- BSN (Badan Standarisasi Nasional). 1996. SNI 0604253-1996. Arang aktif untuk air minum.
- Binod P, Satyanagalakshmi K, Sindhu R, Janu K U, Sukumaran RK, Pandey A. 2012. Short duration microwave assisted pretreatment enhances the enzymatic saccharification and fermentable sugar yield from sugarcane bagasse. *Renew Energy.* 37 (1): 109-116.
- Chandel AK, Kapoor RK, Singh A, Kuhad RC. 2007. Detoxification of sugarcane bagasse hydrolysate improves ethanol production by *Candida shehatae* NCIM 3501. *Biores Tech.* 98(10): 1947-1950.
- Chen S, Zhang X, Singh D, Yu H, Yang X. 2009a. Biological perlakuan pendahuluan of lignocellulosics: potential, progress and challenges. *Biofuels* 1(1): 177-199.
- Chen, SL, Yang DJ, Chen HY, Liu SC. 2009b. Effect of hot acidic fructose solution on caramelisation intermediates including colour, hydroxymethylfurfural and antioxidative activity changes. *Food Chem.* 114: 582-588.
- Conde-Mejía C, Jiménez-Gutiérrez A, El-Halwagi M. 2012. A comparison of perlakuan pendahuluan methods for bioethanol production from lignocellulosic materials. *Process Safety Env Protec.* 90 (3): 189-202.
- Dubois, M, Gilles K, Hamilton J, Rebers P, Smith F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal Chem.* 28: 350-356.
- Dubois, M, Gilles K, Hamilton J, Rebers P, Smith F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal Chem.* 28: 350-356.
- Fatriasari, W, Syafii W, Wistara N, Syamsu K, Prasetya B, 2014a. Characteristic changes of betung bamboo (*Dendrocalamus asper*) pretreated by fungal pretreatment. *Int J Renew Energy Dev.* 3(2): 133-143.
- Fatriasari, W, Syafii W, Wistara N, Syamsu K, Prasetya B, 2014b. Lignin and cellulose changes of betung bamboo (*Dendrocalamus asper*) pretreated by microwave heating. Manuscript submitted for publication in *Trans Tech in Adv Material Research* (In press).
- Fatriasari, W, Syafii W, Wistara N, Syamsu K, Prasetya B. 2014c. Digestibility of fungal pretreated betung bamboo fiber. Manuscript submitted for publication in *Makara J Tech* 18 (2): 51-58.
- Fatriasari, W, Syafii W, Wistara N, Syamsu K, Prasetya B. 2014d. Performance of microwave pretreatment on enzymatic and microwave hydrolysis of betung bamboo (*Dendrocalamus asper*). *J Tek Ind.* 37(3): 162-167

- Fatriasari W, Syafii W, Wistara N, Syamsu K, Prasetya B, Anita SH, Risanto, L. 2014e. Fiber disruption of betung bamboo (*Dendrocalamus asper*) by combined fungal and microwave. Manuscript submitted for publication in *Biotropia J.* (In press).
- Fajriutami, T, Laksana RPB, dan Hermiati E. 2014. Characterization and microwave-assisted hydrolysis of sago strach to produce maltodextrin. Accepted for publication in *J Tek Ind.*
- Galbe M dan Zacchi G. 2007. Perlakuan pendahuluan of lignocellulosic materials for efficient bioethanol production. *Adv Biochem Eng Biotechnol.*108: 41-65.
- Husnil YA. 2009. Perlakuan gelombang mikro dan hidrolisis enzimatik pada bambu untuk pembuatan bioethanol. [Thesis]. Depok:Fakultas Teknik Universitas Indonesia.
- Hermiati E, Azuma J, Tsubaki M, Mangunwidjaja D, Sunarti TC, Suparno O, Prasetya B. 2012a. Improvement of microwave-assisted hydrolysis of cassava pulp and tapioca flour by addition of activated carbon. *Carbohydr Polym.* 87:939-942.
- Hermiati E. 2012b. Rekrayasa proses hidrolisis ampas tapioka menggunakan pemanasan gelombang mikro untuk produksi etanol. [Disertasi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Hoz, A de La, Diaz-Ortiz A, Moreno A. 2007. Review on non-thermal effects of microwave irradiation in organic synthesis. *J Microwave Power & Elec Energy.* 41(1):37-57.
- Larsson S, Palmqvist E, Hahn-Hägerdal B, Tengborg C, Stenberg K, Zacchi G, Nilvebrant NO. 1999. The generation of fermentation inhibitors during dilute acid hydrolysis of softwood. *Enzyme Microb Technol.* 24:151-159.
- Matsumoto A, Tsubaki S, Sakamoto M, Azuma, JI. 2011. A novel saccharification method of starch using microwave irradiation with addition of activated carbon. *Biores Tech.* 102 (4): 3985-3988.
- Seo H-B, Kim S, Lee H-Y, Jung K-H.2009. Improved bioethanol production using activated-treated acid hydrolysate from corn hull in *Pachysolen tannophilus*. *Mycobiol.* 37(2) : 133-140.
- Selig M, Weiss N, dan Ji Y. 2008. Enzymatic saccharification of lignocellulosic biomass. Laboratory Analytical Procedure (LAP), Technical Report NREL/TP-510-42629. National Renewable Energy Laboratory, Cole Boulevard, Golden, Colorado.
- Sun Y dan Cheng J. 2002. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Biores Tech.* 83:1-11.
- Tsubaki S dan Azuma J. 2011. Advances in induction and microwave heating of mineral and organic materials. Chapter 30: Application of microwave technology for utilization of recalcitrant biomass. Stanisław Grundas (Editor), InTech Publisher. p 697-722.
- Villota R dan Hawkes JG. 2007. Reaction Kinetics in Food System, in D.R. Heldman and D.B. Lund (eds.). Handbook of Food Engineering. 2nd Ed. Boca Raton: CRC Press, pp 125-286.
- Warrand J dan Janssen HG. 2007. Controlled production of oligosaccharides from amylose by acid-hydrolysis under microwave treatment: Comparison with conventional heating. *Carbohydr Polym.* 69 (2): 353-362.
- Wrolstad RE, Acree TE, Decker EA, Penner MH, Reid DS, Schwartz SJ, Shoemaker CF, Smith D, Sporns P. 2005. *Carbohydrates*. Handbook of Food Analytical Chemistry, John Wiley & Sons, Inc.p 647-650.
- Yu H, Guo G, Zhang X, Yan K , Xu C. 2009. The effect of biological with the selective white-rot fungus *Echinodontium taxodii* on enzymatic hydrolysis of softwoods and hardwoods. *Biores Tech.*100 (21): 5170-5175.
- Zhang Z, Shan Y, Wang J, Ling H, Zang S, Gao W, Zhao Z, Zhang H. 2007. Investigation on the rapid degradation of congo red catalyzed by activated carbon powder under microwave irradiation. *J Hazardous Materials.* 147(1-2): 325-333.
- Zhang Y, Percival H, dan Lynd LR. 2005. Determination of the number-average degree of polymerization of cellodextrins and cellulose with application to enzymatic hydrolysis *Biomacromol.* 6 (3):1510-1515.