



Pengurangan Kadar Lignin Pada Biomassa Lignoselulosik Menggunakan Urea Untuk Meningkatkan Perolehan Glukosa Bahan Mentah Bioetanol

Silvi Octavia², I.D.G. Arsa Putrawan¹, Ronny Purwadi¹, Tatang H. Soerawidjaja¹

¹ Program Studi Teknik Kimia, Institut Teknologi Bandung, Bandung

² Jurusan Teknik Kimia, Universitas Bung Hatta, Padang

e-mail: silvioctavia@yahoo.com

Submitted :20-09-2016, Reviewed:04-10-2016, Accepted:04-10-2016

Abstract

Secara umum konversi lignoselulosa menjadi bioetanol dilakukan dalam 4 (empat) proses, pengolahan awal, sakarifikasi, fermentasi, dan pemurnian (distilasi). Pengolahan awal dipandang sebagai tahap yang membutuhkan biaya paling tinggi. Untuk itu perkembangan penelitian diarahkan pada pencarian dan pemanfaatan teknologi pengolahan awal yang ekonomis, sehingga dapat menurunkan biaya dan terutama dapat dikembangkan di negara berkembang seperti Indonesia. Salah satu teknologi yang diharapkan dapat memenuhi persyaratan ini adalah teknologi perendaman menggunakan amoniak ataupun turunan amoniak. Amoniak diyakini mempunyai selektifitas yang tinggi terhadap lignin (delignifikasi) sehingga dapat meningkatkan perolehan gula fermentasi pada proses sakarifikasi. Penelitian ini menggunakan urea, yang mengandung amoniak 5% (b/v) pada kondisi 100°C dan 1 atm, sebagai bahan pendelignifikasi dan mengkaji ketercernaan bahan produk rendaman (berupa tandan kosong sawit dan bagas sorgum manis) oleh enzim selulosa. Hasil penelitian menunjukkan peningkatan gula hasil hidrolisis enzim sebanyak 144% dibandingkan hidrolisis bahan tanpa pengolahan awal. In order to produce ethanol from lignocellulosic materials, consist of four major unit operation: (a) open the bundles of lignocelluloses in order to access chains of cellulose and hemicellulose by a process and called pretreatment, (b) hydrolyze the polymers in order to achieve monomer sugar solution by chemicals or enzymes, (c) ferment the sugar to ethanol solution by microorganisms, and (d) purify ethanol by distillation and dehydration. Pretreatment has been viewed as one of the most expensive processing steps, therefore intensive research and development efforts are carried out for improvement of the efficiency and lowering of cost of pretreatment technologies and can be implemented to the developing country, such as Indonesia. One of the pretreatment technologies is soaking in aqueous ammonia (SAA) or ammonia-derivative. This method is highly selective for lignin removal and increasing released sugar after the saccharification process. This current study used urea (consist of 5% b/v ammonia) as a delignification reagent (100°C, 1atm) and found the enzymatic digestibility to the oil palm empty fruit bunch and sweet sorghum baggase as a feedstock. The result show 144% released sugar enhancement after enzymatic hydrolysis.

Keywords: lignoselulosa, urea, hidrolisis enzim, gula fermentasi.

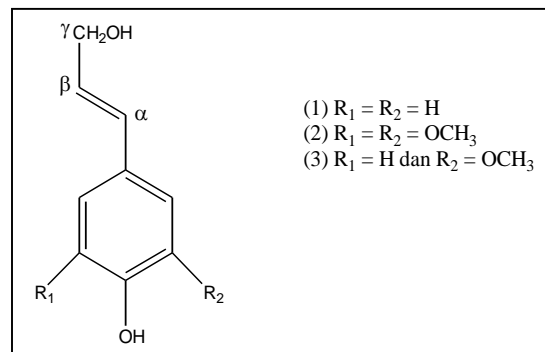
Pendahuluan

Tantangan utama proses produksi bioetanol dari biomassa adalah pengolahan awal (*pretreatment*) bahan mentah (bahan lignoselulosa). Pengolahan awal ini dimaksudkan untuk meningkatkan kemampuan area permukaan (porositas) selulosa sehingga dapat meningkatkan konversi selulosa menjadi glukosa (gula fermentasi). Struktur lignoselulosa yang tersusun atas matrix selulosa dan lignin yang berikatan melalui rantai hemiselulosa, harus dipecah sehingga lebih mudah diserang oleh enzim selama proses hidrolisis (Laureano-Perez dkk., 2005). Dengan kata lain pengolahan awal diperlukan untuk (1) menghilangkan lignin dan hemiselulosa, (2) menurunkan tingkat kekristalan selulosa sehingga meningkatkan fraksi amorph selulosa, dan (3) meningkatkan porositas material (Sánchez dan Cardona, 2007; Zhu dkk., 2008; Hsu dkk., 2010). Pengolahan awal juga harus bisa meningkatkan kemampuan pembentukan gula selama proses hidrolisis, menghalangi terbentuknya inhibitor pada hidrolisis berikutnya dan selama proses fermentasi, menghalangi kehilangan karbohidrat, dan biaya yang efektif (Sun dan Cheng, 2005; Kumar dan Wyman, 2009).

Lignoselulosa yang paling potensial untuk dijadikan bahan mentah pembuatan bioetanol generasi dua di Indonesia (karena mudah dikumpulkan dan tersedia dalam jumlah besar) adalah bagas tebu, tandan kosong sawit, dan bagas dari sorgum manis (yang perkebunannya kini sedang dikembangkan di berbagai lokasi di dalam negeri, karena niranya merupakan bahan mentah potensial bioetanol generasi satu). Mengingat penelitian karakteristik pengolahan awal bagas tebu sudah dan masih sedang banyak dilakukan di luar negeri, maka ditinjau pula dari segi pengayaan khazanah keilmuan,

bagas sorgum manis dan tandan kosong sawit dipandang lebih layak untuk dijadikan bahan penelitian penerapan proses pengolahan awal berbasis larutan amoniak encer. Penerapan pada tandan kosong sawit mungkin juga akan memberikan tantangan lain, karena tandan kosong sawit tergolong lignoselulosa *hardwood* sejati sedangkan bagas sorgum manis dan bagas tebu tergolong lignoselulosa tumbuhan tak berkayu (*herbaceous crops*, rumput-rumputan) dan literatur menunjukkan bahwa lignoselulosa tumbuhan tak berkayu memang memiliki lignin dan hemiselulosa yang struktur dan derajat polimerisasinya lebih sederhana dibanding lignoselulosa *hardwood* sejati (Wilkie, 1979; Buranov dan Maza, 2008)

Lignin merupakan komponen kimia yang khas didalam morfologi dari jaringan tumbuhan tinggi, seperti *pteridovita* dan *spermatofita* (*gymnosperm* dan *angiosperm*), dan terdapat dalam jaringan vaskuler yang khusus untuk pengangkutan cairan dan memberikan kekuatan mekanik sedemikian rupa sehingga tumbuhan yang besar seperti pohon yang tingginya lebih dari 100 m tetap dapat berdiri kokoh (Fengel dan Wegener, 1984). Struktur molekul lignin sangat berbeda bila dibandingkan polisakarida karena terdiri atas sistem aromatik yang tersusun atas unit-unit fenilpropana: unit *guaiacyl* (G) dari prekursor *trans*-koniferil alkohol, unit *syringyl* (S) dari prekursor *trans*-sinapil alkohol, dan *p*-hidroksifenil (H) dari prekursor *trans*-*p*-koumaril alkohol (Palonen, 2004), seperti digambarkan dalam Gambar 1.1. Unit-unit fenilpropana ini kemudian berikatan dengan struktur-struktur minor sehingga membentuk suatu jaringan polimer 3 dimensi yang dikenal dengan nama lignin.



Gambar 1. Prekursor lignin, (1) hidroksifenil, (2) siringil, dan (3) guaicil.

Sifat lignin yang terpenting yang digunakan dalam pemilihan pelarut adalah kelarutannya dalam larutan basa. Salah satu teknologi yang ditawarkan adalah perendaman dalam larutan amoniak (*SAA/soaking in aqueous ammonia*). Reagen ini efektif untuk menghilangkan lignin dari biomassa dengan reaksi utama memutus ikatan ester yang terdapat pada kompleks lignin-karbohidrat (*lignin-carbohydrate complexes*, LCC). Penggunaan reagen ini menawarkan beberapa keuntungan: (1) mempunyai selektifitas yang tinggi terhadap lignin, (2) mempertahankan karbohidrat dalam bentuk aslinya, (3) memperlihatkan efek pengembangan lignoselulosa yang signifikan, (4) interaksi yang sangat sedikit dengan hemiselulosa, dan (5) sangat *volatile* sehingga mudah dijumpit kembali (Kim dkk., 2003; Zhu dkk., 2006; Kim dkk., 2008; Ko dkk., 2009).

Sejauh ini amoniak sudah terbukti baik sebagai bahan pendelignifikasi (table 1), untuk itu dikembangkan teknologi delignifikasi berbasis amoniak dengan menggunakan urea sebagai reagen. Di Indonesia sendiri, urea lebih mudah dan murah diperoleh dibandingkan dengan amoniak. Kandungan NH_3 yang terdapat pada urea menjadi penyumbang paling penting sebagai pemutus ikatan antara lignin dan karbohidrat. Penggunaan urea sebagai reagen pendelignifikasi belum banyak dipelajari. Penelitian yang berkembang pada saat ini adalah penggunaan urea sebagai bahan pengisi dan pensuplay N pada kraft lignin ataupun ligninsulfonat, yang nantinya dapat dijadikan sebagai pupuk.

Metode Penelitian

Sebagai bahan lignoselulosa digunakan tandan kosong sawit yang berasal dari Pasaman, Sumatera Barat, dan bagas sorgum manis yang berasal dari BPPT, Lampung. Kedua bahan dicacah hingga berukuran \leq dari 1 cm. Urea yang digunakan adalah setara dengan 5% amoniak. Kondisi operasi yang digunakan pada percobaan adalah pada temperatur 100 °C, pada tekanan atmosfer dan selama 24 jam.

Tabel 1. Beberapa hasil penelitian menggunakan SAA pada berbagai kondisi (temperatur, komposisi, konsentrasi amoniak)

Peneliti	Bahan	Delignifikasi (%)	Glukosa (%)
Cao dkk., 1996	Tongkol jagung	80 - 90	92
Kim dan Lee, 2005	<i>Corn stover</i>	55 - 74	65 - 97
Kim dkk., 2008	<i>Barley hull</i>	50 - 60	83
Isci dkk., 2008	<i>Switchgrass</i>	40 - 50	SSF, hasil 72% etanol
Ko dkk, 2009	Jerami padi	35 - 60	71,1
Li dkk., 2010	<i>Corn stover</i>	45 - 61	81% <i>xylan digestibility</i>
Rémond dkk., 2010	<i>Wheat straw</i>	38	39 - 54
Salvi dkk., 2010	Sorgum	44	84
Gupta dan Lee, 2010	<i>Switchgrass</i>	65	54
Silvi, dkk., 2010	Tandan kosong sawit	18 - 24	79

Selanjutnya dilakukan pengujian terhadap derajat *digestibility* melalui hidrolisis enzimatik. Enzim yang digunakan merupakan campuran enzim komersial dari Celluclast 1.5L dari *Trichoderma reesei* dan Novozyme 188 dari *Aspergillus niger*. Kondisi operasi yang digunakan pada proses hidrolisis enzimatik adalah konsentrasi bahan 10% terhadap buffer sitrat (pH 5.2), 50°C dengan kecepatan *sheaker* 100 rpm selama 96 jam. Disamping itu, dilakukan analisa kandungan lignin dan karbohidrat pada kedua bahan mentah dan bahan produk setelah perendaman dengan urea menggunakan metoda NREL. Dengan menggunakan kondisi operasi pengolahan awal yang sama (100°C, 1 atm) digunakan 0.1M H₂SO₄ sebagai pembanding keefektifan urea.

Hasil dan Pembahasan

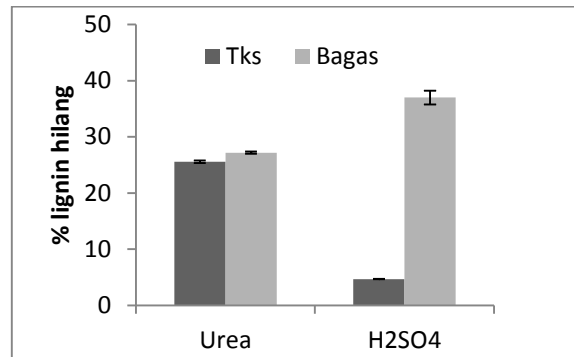
Tabel 2 dibawah memperlihatkan komposisi bahan mentah berupa tandan kosong sawit dan bagas sorgum manis yang dianalisa dengan menggunakan metoda NREL. Kandungan glukosa dan karbohidrat lainnya dari kedua bahan tidak memperlihatkan perbedaan yang signifikan. Tetapi tidak demikian halnya dengan kandungan lignin bahan. Pada tandan kosong sawit kandungan ligninnya jauh lebih besar dari bagas sorgum manis. Hal ini disebabkan oleh jenis tanaman yang berbeda dari kedua bahan yang digunakan. Seperti diketahui, tandan kosong sawit merupakan contoh tanaman jenis kayu keras, sedangkan bagas sorgum manis berasal dari jenis rumput-rumputan. Perbedaan jenis tanaman ini akan sangat menentukan pada proses delignifikasi (penghilangan lignin).

Tabel 2. Komposisi bahan mentah

Komponen	Tks (%)	Bagas (%)
Glukosa	32,98	34,42
Ksilosa	19,28	16,84
Arabinosa	1,47	1,36
Manosa	1,50	1,16
Galaktosa	1,03	1,03
Lignin	30,51	20,15
Abu	2,70	1,38

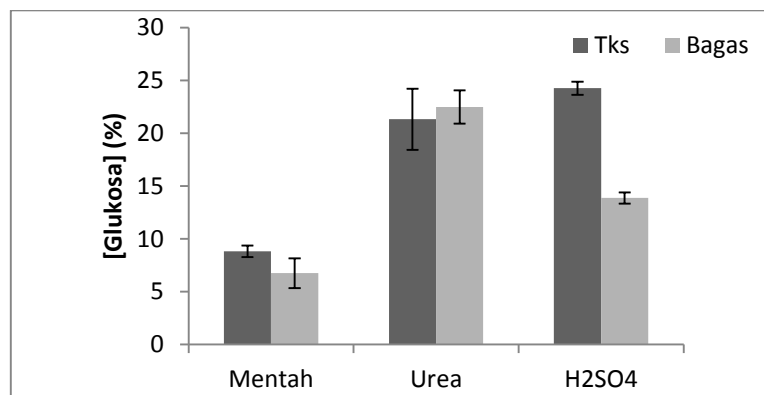
Dari gambar 2 dapat dilihat bahwa pengolahan awal menggunakan urea sebagai reagen lebih baik dibandingkan H₂SO₄ pada kondisi yang sama terutama pada tandan kosong sawit. Sebagaimana yang telah diketahui, asam encer lebih efektif untuk menghilangkan kandungan hemiselulosa pada bahan lignoselulosa. Sedangkan lignin tidak dapat larut dalam asam encer. Tetapi sebagai akibat dari kehilangan sejumlah besar hemiselulosa, maka pada bagas sorgum manis juga terjadi kehilangan lignin yang cukup besar (37%). Hal ini juga mengindikasikan perbedaan struktur lignin antara kedua jenis tanaman tersebut.

Pada gambar 3, dapat diamati bahwa enzim tidak dapat bekerja dengan baik pada bahan mentah yang belum diberi perlakuan awal berupa penghilangan lignin (delignifikasi). Hal ini berlaku bagi kedua jenis tanaman. Setelah diberi perlakuan perendaman dengan urea, terjadi peningkatan hasil kadar glukosa setelah melewati proses hidrolisis enzimatik. Untuk kedua jenis bahan mentah tidak memberikan perbedaan hasil enzimatik yang signifikan (21 – 22%). Mengingat kandungan awal glukosa bahan mentah berada pada kisaran 32% untuk tandan kosong sawit dan 34% pada bagas sorgum manis, dan hasil hidrolisis enzimatis ini menunjukkan bahwa kadar glukosa pada bagas sorgum manis lebih tinggi dari pada tandan kosong sawit.



Gambar 2. Persentase kehilangan lignin setelah perlakuan awal menggunakan urea dan 0.1M H₂SO₄.

Sementara pada pengolahan awal menggunakan asam sulfat encer, dari gambar 3 terlihat bahwa tandan kosong sawit menunjukkan hasil yang mengembirakan dimana terjadi peningkatan kadar glukosa yang signifikan dibandingkan bahan mentah. Hasil ini bahkan lebih baik dari urea sebagai reagen pendelignifikasi, walaupun dari gambar 2 terlihat bahwa lignin yang hilang tidak terlalu signifikan. Akibat kehilangan hemiselulosa yang cukup besar sehingga kemampuan enzim dalam mencapai selulosa menjadi lebih mudah.



Gambar 3. Kadar glukosa setelah dihidrolisis menggunakan enzim.

Kondisi ini berbeda dengan bagas sorgum manis, dimana akibat perlakuan awal dengan menggunakan asam sulfat encer menyebabkan terbentuknya inhibitor pada proses hidrolisis enzim. Para peneliti menyatakan bahwa inhibitor yang menghambat proses enzimatik diantaranya adalah pembentukan furfural dan HMF selama proses hidrolisis asam. Kedua senyawa ini merupakan racun bagi enzim sehingga enzim tidak dapat bekerja. Oleh karena itu perolehan glukosa hasil hidrolisis enzimatik pada bagas sorgum manis setelah melalui proses pengolahan awal menggunakan asam sulfat encer menjadi kecil (14%).

Kesimpulan

Dari hasil-hasil diatas dapat ditarik kesimpulan bahwa urea dapat digunakan sebagai reagen pendelignifikasi dan memberikan peningkatan hasil penghilangan lignin dan hasil hidrolisis enzim. Data-data juga menunjukkan bahwa penggunaan urea tidak menyebabkan terbentuknya senyawa inhibitor yang mempengaruhi kinerja enzim pada proses selanjutnya. Dengan menggunakan asam sulfat encer sebagai reagen pada proses perlakuan awal memberikan hasil yang saling bertolak belakang antara kedua bahan lignoselulosa. Sehingga dapat disimpulkan bahwa teori para ahli yang menyatakan bahwa struktur lignin dan hemiselulosa yang ada pada tanaman jenis rumput-rumputan berbeda dengan struktur lignin dan hemiselulosa pada jenis tanaman berkayu keras.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih ini ditujukan kepada DIKTI yang telah memberikan beasiswa melalui program Sandwich-Like 2011.

Daftar Pustaka

Cao, N.J., Krishnan, M.S., Du, J.X., dan Gong, C.S., 1996, Ethanol Production from Corn Cob Pretreated by The Ammonia Steeping Process Using Genetically Engineered Yeast, *Biotechnology Letters*, 18(9), 1013-1018.

- Fengel, D. dan Wegener, G., 1984. Kayu; Kimia, Ultrastruktur, Reaksi-reaksi. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Gupta R., dan Lee, Y.Y., 2010, Investigation of Biomass Degradation Mechanism in Pretreatment of Switchgrass by Aqueous Ammonia and Sodium Hydroxide, *Bioresource Technology*, 101, 8185-8191.
- Hsu, T.C., Guo, G.L., Chen W.H., dan Hwang, W.S., 2010, Effect of Dilute Acid Pretreatment of Rice Straw on Structural Properties and Enzymatic Hydrolysis, *Bioresource Technology*, 101, 4907-4913.
- Isci, A., Himmelsbach, J.N., Pometto III, A.L., Raman, D.R., dan Anex, R.P., 2008, Aqueous Ammonia Soaking of Switchgrass Followed by Simultaneous Saccharification and Fermentation, *Applied Biochem. Biotechnol.*, 144, 69-77.
- Kim, T.H., Kim, J.S., Sunwoo, C., dan Lee, Y.Y., 2003, Pretreatment of Corn Stover by Aqueous Ammonia, *Bioresource Technology*, 90, 39-47.
- Kim T.H., dan Lee, Y.Y., 2005, Pretreatment of Corn Stover by Soaking in Aqueous Ammonia, *Applied Biochem. Biotechnol*, 121-124, 1119-1132.
- Kim, T.H., Taylor, F., dan Hicks, K.B., 2008, Bioethanol Production from Burley Hull Using SAA (Soaking in Aqueous Ammonia) Pretreatment, *Bioresource Technology*, 99, 5694-5702.
- Ko, J.K., Bak, J.S., Jung, M.W., Lee, H.J., Choi, I.G., Kim, T.H., dan Kim, K.H., 2009, Ethanol Production from Rice Straw Using Optimized Aqueous-ammonia Soaking Pretreatment and Simultaneous Saccharification and Fermentation Processes, *Bioresource Technology*, 100, 4374-4380.
- Kumar, R., dan Wyman, C.E., 2009, Cellulase Adsorption and Relationship to Feature of Corn Stover Solid Produce by Leading Pretreatment., *Biotechnology and Bioengineering*, 103, 252-267.
- Laureano-Perez, L., Teymouri, F., Alizadeh, H., dan Dale, B.E., 2005, Understanding Factors That Limit Enzymatic Hydrolysis of Biomass, *Applied Biochem. Biotechnol.*, 121-124, 1081-1100.
- Li, X., Kim, T.H., dan Nghiem, N.P., 2010, Bioethanol Production from Corn Stover Using Aqueous Ammonia Pretreatment and Two-phase Simultaneous Saccharification and Fermentation (TPSSF), *Bioresource Technology*, 101, 5910-5916.
- Palonen, H., 2004, Role of Lignin in The Enzymatic Hydrolysis of Lignocellulose, *VTT Biotechnology*, Helsinki University of Technology, Finland.
- Rémond, C., Aubry, N., Crônier, D., Noël, S., Martel, F., Roge, B., Rakotoarivonina, H., Debeire, P., dan Chabbert, B., 2010, Combination of Ammonia and Xylanase Pretreatment: Impact on Enzymatic Xylan and Cellulose Recovery from Wheat Straw, *Bioresource Technology*, 101, 6712-6717.
- Salvi, D.A., Aita, G.M., Robert, D., dan Bazan, V., 2010, Dilute Ammonia Pretreatment of Sorghum and Its Effectiveness on Enzyme Hydrolysis and Ethanol Production, *Applied Biochem. Biotechnol.*, 161, 67-74.
- Sánchez, Ó. J., dan Cardona, C. A., 2007, Review: Trends of Biotechnological Production of Fuel Ethanol from Different Feedstocks. *Bioresource Technology*, Artikel in Press, 1-26.
- Silvi, O., Horváth, I.S., Soerawidjaja, T.H., Purwadi, R., dan Putrawan, I.D.G.A., 2010, Enhancement of Enzymatic Hydrolysis of Oil Palm Empty Fruit Bunches by Decreasing Cellulose Crystallinity Index, *Prosiding The 1st ISFAChe2010*.
- Zhu, L., O'Dwyer, J.P., Chang, V.S., dan Granda, C.B., 2008, Structure Features Affecting Biomass Enzymatic Digestibility, *Bioresource Technology*, 99, 3817-3828.

Zhu, Y., Kim, T.H., Lee, Y.Y., Chen, R., dan Elander, R.T., 2006, Enzymatic Production of Xylooligosaccharides from Corn Stover and Corn Cobs Treated with Aqueous Ammonia, *Applied Biochem. Biotechnol.*, 129-132, 586-598.