

Peningkatan Rendemen Gula Pereduksi dari Kayu Jabon dengan Perlakuan Air Kapur ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) (*Lime Pretreatment on Jabon Wood to Improve Its Reducing Sugar Yield*)

Yusup Amin¹, Wasrin Syafii^{2*}, Nyoman J Wistara², Bambang Prasetya³

¹) Pusat Penelitian Biomaterial LIPI, Jl. Raya Bogor Km 46, Cibinong Bogor

²) Departemen Hasil Hutan, Fakultas Kehutanan Institut Pertanian Bogor
Kampus IPB Dramaga Bogor 16680

³) Badan Standardisasi Nasional, Jakarta

*Penulis korespondensi: wasrinsy@indo.net.id

Abstract

The purpose of this study was to determine the performance of enzymatic hydrolysis on lime pretreated jabon wood (*Anthocephalus cadamba* Miq). Proceeding hydrolysis process, the morphology and crystallinity changes of pretreated jabon were also examined. In the present study, jabon wood meal was put into digester and then lime was loaded at varied lime loading, i.e. at 0.1, 0.3, and 0.5 g $\text{Ca}(\text{OH})_2 \text{ g}^{-1}$ of dry biomass in 90 ml of water. The slurry was then homogenized and heated in the oil bath at 100, 125 and 150 °C for 2, 4 and 6 hours. Enzymatic hydrolysis was performed in accordance to the NREL procedures using a cellulase enzyme. The enzyme loading variation was 10, 20 and 40 FPU g^{-1} of the substrate. the RSY of pretreated jabon increased up to 9.7 folds from that of its control. The highest RSY was obtained for pretreatment with 0.5 g $\text{Ca}(\text{OH})_2 \text{ g}^{-1}$ dried biomass at 150 °C for 4 hours and hydrolyzed with 40 FPU of cellulase (118 mg equivalent glucose g^{-1} dry biomass). This yield was comparable with 14.4% More than a third of the lignin and hemicellulose content (45.83 and 65.52%) were degraded by lime pretreatment.

Keywords: enzymatic hydrolysis, jabon wood, lime pretreatment, reducing sugar yield

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan rendemen gula pereduksi (RGP) pada proses hidrolisis enzimatik kayu jabon dengan praperlakuan air kapur, serta mempelajari perubahan karakteristik morfologi dan kristalinitas kayu jabon setelah melalui perlakuan tersebut. Perlakuan dilakukan dengan menimbang 9 g serbuk jabon yang sudah diketahui kadar airnya, dimasukkan dalam *digester*, ditambahkan kapur dengan konsentrasi (KK) 0,1; 0,3 dan 0,5 g $\text{Ca}(\text{OH})_2 \text{ g}^{-1}$ serbuk kering, dan 90 ml air. Larutan kapur dan serbuk kayu diaduk sampai merata kemudian dipanaskan dalam penangas minyak dengan variasi suhu 100, 125 dan 150 °C selama 2, 4 dan 6 jam. Hidrolisis enzimatik dilakukan dengan mengacu metode *National Renewable Energy Laboratory* (NREL) menggunakan enzim selulase komersial. Variasi konsentrasi enzim (KE) yang digunakan adalah 10, 20, dan 40 FPU g^{-1} substrat. perlakuan kapur mampu meningkatkan RGP kayu jabon sampai 9,7 kali lebih tinggi daripada RGP kayu jabon tanpa perlakuan. RGP tertinggi (118 mg setara gula g^{-1} biomassa kering) diperoleh pada kombinasi perlakuan KK 0,5 g $\text{Ca}(\text{OH})_2 \text{ g}^{-1}$ biomassa kering pada suhu 150 °C selama 4 jam dengan KE 40 FPU g^{-1} substrat. Hasil ini setara dengan 14,4%. Lebih dari sepertiga komponen lignin dan hemiselulosa jabon (45,83 dan 65,52%) dapat terdegradasi dengan praperlakuan kapur.

Kata kunci: hidrolisis enzimatik, jabon, praperlakuan kapur, rendemen gula pereduksi

Pendahuluan

Komponen utama dinding sel kayu adalah selulosa, hemiselulosa dan lignin. Secara biologis hanya komponen selulosa dan hemiselulosa yang dapat dihidrolisis menjadi gula dan difermentasi menjadi etanol. Struktur selulosa terdiri dari bagian yang bersifat amorf dan kristalin. Dalam hidrolisis enzimatis, keberadaan lignin dan sifat kristalin selulosa menghambat proses kinerja enzim dalam mengkonversi selulosa menjadi gula, sehingga diperlukan praperlakuan agar dapat meningkatkan kinerja enzim.

Praperlakuan merupakan tahapan penting dalam proses pembuatan etanol dari bahan ligan selulosa (Mosier *et al.* 2005, Wang *et al.* 2008). Secara umum praperlakuan berfungsi untuk menghilangkan lignin, mereduksi tingkat kristalinitas selulosa, meningkatkan permukaan kontak enzim, memudahkan hidrolisis selulosa, serta menghilangkan zat ekstraktif yang dapat menghambat kerja enzim dan mikroba (Stenberg *et al.* 1999, Hendriks & Zeeman 2009).

Penelitian mengenai praperlakuan bahan berligno selulosa dalam pembuatan bioetanol telah banyak dilakukan. Salah satunya adalah perlakuan alkali menggunakan kapur ($\text{Ca}(\text{OH})_2$). Dibandingkan dengan praperlakuan dengan natrium hidroksida (NaOH) dan ammoniak (NH_3), praperlakuan $\text{Ca}(\text{OH})_2$ paling banyak diterapkan (Chang *et al.* 2001). Praperlakuan dengan kapur pada jerami gandum, bagas, kertas koran, kayu poplar (Chang *et al.* 1998, 2001), rumput bermuda (Wang *et al.* 2008), dan sereh (Xu *et al.* 2010) telah dilaporkan sebelumnya. Kondisi praperlakuan dengan air kapur untuk hidrolisis bagas dan jerami gandum (Chang *et al.* 1998, 2001), sereh (Xu *et al.* 2010), dan

rumpun bermuda (Wang *et al.* 2008) untuk menghasilkan RGP optimum bervariasi bergantung pada bahan bakunya. Selain efektif, praperlakuan menggunakan kapur juga lebih ekonomis dan ramah lingkungan karena pemulihannya dapat dilakukan melalui proses karbonasi air pembilasan sampel menggunakan CO_2 (Chang *et al.* 1998, Xu *et al.* 2010). Sierra *et al.* (2009) menambahkan bahwa perlakuan kapur tidak banyak mendegradasi selulosa, tidak mahal sehingga dapat diaplikasikan pada produksi energi dan bahan kimia, dan aman untuk digunakan.

Praperlakuan dengan kapur cocok diterapkan untuk material yang kasar (Chang *et al.* 1998), terutama dari limbah pertanian, rumput-rumputan dan kayu keras (Limayen & Ricke 2012). Jabon (*Anthocephalus cadamba* Miq.) merupakan salah satu jenis kayu tropis asli Indonesia yang tergolong tanaman cepat tumbuh dengan riap diameter dapat mencapai 7-10 cm tahun⁻¹, riap tinggi 3-6 m tahun⁻¹ (Mansur & Tuheteru 2010), dan rata-rata riap volume 10-26 m³ ha⁻¹ tahun⁻¹ (Pratiwi 2003). Kayu jabon memiliki kemampuan beradaptasi pada berbagai kondisi tempat tumbuh, perlakuan silvikulturnya yang relatif mudah, serta relatif bebas dari serangan hama dan penyakit yang serius (Krisnawati *et al.* 2011). Namun demikian, kayu jabon termasuk ke dalam kelas kuat IV-III dan kelas awet V (Martawijaya *et al.* 1989), sehingga kurang cocok untuk digunakan sebagai kayu konstruksi. Pembuatan bioetanol dari kayu jabon dengan praperlakuan delignifikasi proses kraft telah dilakukan oleh Pelawi (2011), dan diperoleh RGP tertinggi 11,53% pada kadar lignin 12%.

Xu *et al.* (2010) melaporkan bahwa perlakuan dengan kapur terhadap sereh meningkatkan kinerja enzim dan

meningkatkan RGP proses hidrolisis. Sejauh ini belum ada penelitian penggunaan praperlakuan kapur pada kayu jabon. RGP terbaik dengan perlakuan kapur umumnya diperoleh pada kombinasi perlakuan kadar kapur 0,1 g $\text{Ca(OH)}_2 \text{ g}^{-1}$ biomassa kering dengan suhu yang relatif rendah dan waktu yang relatif lama. Sehingga perlakuan kapur dengan kadar di atas 0,1 g $\text{Ca(OH)}_2 \text{ g}^{-1}$ biomassa kering diharapkan dapat menghasilkan RGP jabon yang tinggi dengan tingkat konsumsi energi (suhu) dan waktu yang lebih rendah. Penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan RGP pada proses hidrolisis enzimatis kayu jabon dengan praperlakuan air kapur, serta mempelajari perubahan karakteristik morfologi dan kristalinitas kayu jabon setelah melalui perlakuan tersebut.

Bahan dan Metode

Serbuk kayu (tanpa kulit) ukuran 40-60 mesh dibuat dan dipersiapkan dari log kayu jabon umur 7 tahun asal Garut, Jawa Barat. Persiapan bahan baku dan pengukuran kadar air (KA) masing-masing dilakukan dengan mengacu pada standar TAPPI T257 om-85 dan TAPPI T264 om-88. Analisis komponen kimia kayu jabon (kadar ekstraktif alkohol-benzena 1:2, holoselulosa, α -selulosa, hemiselulosa dan lignin klason) dilakukan terhadap sampel sebelum dan setelah praperlakuan masing-masing mengacu pada standar TAPPI T204 om-88, TAPPI T9m-54, Browning (1967), dan TAPPI T222 om-88.

Praperlakuan dilakukan dengan memasak 9 g serbuk jabon (40-60 mesh) di dalam *digester* ukuran 100 ml, ditambahkan kapur dengan konsentrasi (KK) 0,1; 0,3 dan 0,5 g $\text{Ca(OH)}_2 \text{ g}^{-1}$ serbuk kering, dan 90 ml air. Larutan kapur dan serbuk kayu diaduk sampai merata kemudian dipanaskan dalam penangas minyak dengan

variasi suhu 100, 125, dan 150 °C selama 2, 4, dan 6 jam. Sebagai pembanding, pemasakan juga dilakukan dengan air tanpa kapur yang selanjutnya disebut sebagai perlakuan dengan *liquid hot water* (LHW). Praperlakuan dengan LHW dilakukan pada variasi suhu dan waktu yang sama dengan praperlakuan air kapur. Substrat hasil praperlakuan disaring dan dibilas menggunakan air suling sampai pH-nya netral. Sebagian substrat yang sudah netral dikeringkan dalam oven 60 °C selama 3 hari untuk mengukur KA dan kehilangan berat (WL), sedangkan sebagian lainnya tetap disimpan dalam lemari pembeku untuk proses hidrolisis enzimatis dan pengujian lainnya.

Hidrolisis enzimatis dalam penelitian ini mengacu metode *National Renewable Energy Laboratory* (NREL) (Selig *et al.* 2008) menggunakan enzim selulase komersial (Meicellase, Meiji Seika, Jepang) dengan aktifitas enzim 200 FPU g^{-1} . Sebanyak 0,1 g sampel (berat kering) ditambahkan 0,05 M bufer natrium sitrat (pH 5). Kemudian ditambahkan enzim selulase dengan konsentrasi enzim (KE) 10, 20 dan 40 FPU g^{-1} substrat dan 0,1 ml natrium azide 2% (b/v) sampai berat total 10 g. Sebagai faktor koreksi, dibuatkan kontrol buffer (tanpa substrat dan enzim) dan kontrol enzim (tanpa substrat). Hidrolisis dilakukan dalam *shaking incubator* 150 rpm pada suhu 50 °C selama 48 jam. Posisi vial diletakkan horisontal untuk memperluas kontak substrat dengan enzim.

Pengukuran RGP dilakukan dengan spektrofotometer UV-Vis (HITACHI U-2001) pada panjang gelombang 500 nm berdasarkan metode Nelson-Samogyi (Wrolstad *et al.* 2005). Analisis morfologi substrat sebelum dan setelah praperlakuan dilakukan menggunakan *FE-Scanning Electron Microscopy*

(SEM) *INSPECT F50* pada voltase 20 kV dan *working distance* (WD) 15,3 mm. Analisis *X-Ray Diffraction* (XRD) dengan Shimadzu XRD-700 MaximaX series (40 kV, 30 mA, sudut 2θ 10-40°, kecepatan 2°/menit) dilakukan untuk mengetahui kristalinitas selulosa jabon sebelum dan setelah praperlakuan. Data hasil penelitian dianalisis menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) faktorial menggunakan penganalisa statistika yang terdapat di dalam program *Microsoft Excel 2010 for Windows*.

Hasil dan Pembahasan

Pengaruh praperlakuan terhadap RGP kayu jabon

Selulosa dapat dihidrolisis menjadi gula pereduksi yang kemudian difermentasi menjadi bioetanol. Kadar α -selulosa kayu jabon pada penelitian ini adalah 43,92%, hampir sama dengan hasil penelitian sebelumnya (Emil 2013) yang melaporkan bahwa pada umur 7 tahun kayu jabon memiliki kandungan selulosa 42,26%. Kadar α -selulosa yang tinggi umumnya berpengaruh positif terhadap RGP.

Hasil penelitian Chang *et al.* (1998) menunjukkan bahwa penambahan KK diatas 0,1 g $\text{Ca(OH)}_2 \text{ g}^{-1}$ biomassa kering tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap RGP bagas dan jerami gandum. Siera *et al.* (2009) menyatakan bahwa dalam praperlakuan kapur, selain KK, faktor suhu, waktu dan tekanan yang digunakan juga berpengaruh terhadap rendemen gulanya. Tabel 1 menunjukkan bahwa secara umum RGP jabon meningkat seiring dengan peningkatan suhu praperlakuan. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa hanya 150 °C yang berpengaruh signifikan ($p < 0,05$) terhadap RGP kayu jabon baik pada praperlakuan kapur

maupun LHW. Sebaliknya, peningkatan suhu dari 100 °C sampai 125 °C tidak menunjukkan pengaruh signifikan terhadap RGP pada praperlakuan kapur maupun LHW. Pada kondisi KK yang sama peningkatan suhu yang diterapkan mampu mengurangi waktu pemasakan. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Wang *et al.* (2008). Perbedaan variasi waktu (2, 4, dan 6 jam) tidak memberikan pengaruh signifikan terhadap peningkatan RGP pada praperlakuan kapur maupun LHW. RGP tertinggi diperoleh pada kombinasi perlakuan KK 0,5 g $\text{Ca(OH)}_2 \text{ g}^{-1}$ biomassa kering pada suhu 150 °C selama 4 jam. Peningkatan waktu pemasakan dari 4 ke 6 jam pada perlakuan kapur (KK 0,5 g $\text{Ca(OH)}_2 \text{ g}^{-1}$ biomassa kering pada suhu 150 °C) cenderung menurunkan RGP kayu jabon. Hal ini diduga karena pada waktu pemasakan 6 jam telah terjadi degradasi sebagian komponen selulosa. Chang *et al.* (2001) menyatakan bahwa pada kondisi suhu tinggi, waktu pemasakan yang lama menyebabkan terbentuknya senyawa asam organik yang mengkonsumsi kapur, sehingga perlakuan jadi kurang efektif.

Faktor KK, suhu dan waktu pemasakan mengakibatkan terjadinya kehilangan berat (WL) biomassa jabon setelah praperlakuan (Gambar 1). Besarnya WL bervariasi antara 1,36-21,55%, bergantung pada kombinasi perlakuan yang diterapkan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa faktor suhu memberikan pengaruh yang signifikan terhadap WL pada perlakuan LHW dan air kapur. Makin tinggi suhu umumnya mengakibatkan kenaikan WL. Secara statistik, hanya perlakuan suhu 150 °C yang berpengaruh signifikan terhadap WL, sedangkan peningkatan suhu dari 100 ke 125 °C tidak memberikan pengaruh signifikan. Seperti halnya pada RGP, pengaruh penambahan KK sampai 0,5 g

Ca(OH)₂ g⁻¹ biomassa kering juga berpengaruh signifikan terhadap WL. Tetapi peningkatan KK dari 0,1 ke 0,3 g Ca(OH)₂ g⁻¹ biomassa kering tidak berpengaruh signifikan. Hanya waktu pemasakan 6 jam yang berpengaruh signifikan terhadap WL biomassa jabon. WL tertinggi (21,55%) diperoleh dari kombinasi perlakuan KK 0,5 g Ca(OH)₂ g⁻¹ biomassa kering, suhu 150 °C selama 6 jam. Dalam proses hidrolisis bahan berlignoselulosa, WL yang tinggi sangat tidak diharapkan karena menyebabkan rendemen biomassa berkurang (Chang *et al.* 1998).

WL setelah praperlakuan disebabkan karena hilangnya atau terdegradasinya beberapa komponen penyusun bahan lignoselulosa. Tabel 2 menunjukkan perubahan beberapa komponen kimia kayu jabon setelah praperlakuan LHW dan air kapur. Persentase kehilangan komponen kimia kayu jabon ditunjukkan pada Gambar 3. Semua komponen kimia yang diukur makin terdegradasi seiring dengan peningkatan suhu dan penambahan KK. Rata-rata kehilangan tertinggi

adalah bagian ekstraktif (> 45%). Komponen ekstraktif tidak terikat pada dinding sel, sehingga lebih mudah terdegradasi. Keberadaan zat ekstraktif pada bahan berlignoselulosa dapat menghambat kinerja enzim dan mikroba (Stenberg *et al.* 1999), sehingga terdegradasinya zat ekstraktif ini diduga turut berperan dalam meningkatnya RGP jabon.

Seperti perlakuan alkali lainnya (NaOH dan NH₃), efek air kapur dalam praperlakuan bahan berlignoselulosa adalah menghilangkan lignin (Siera *et al.* 2009). Pada perlakuan suhu dan waktu yang sama, penambahan kapur (0,5 g Ca(OH)₂ g⁻¹ biomassa kering) dapat mendegradasi lignin 6 kali lebih banyak dibandingkan dengan perlakuan LHW (Gambar 2). Praperlakuan dengan KK 0,5 g Ca(OH)₂ g⁻¹ biomassa kering pada 150 °C selama 4 jam mampu mendegradasi lignin sebanyak 45,83%. Kehilangan lignin pada jabon lebih tinggi daripada kehilangan lignin pada bagas (14,03%) (Chang *et al.* 1998).

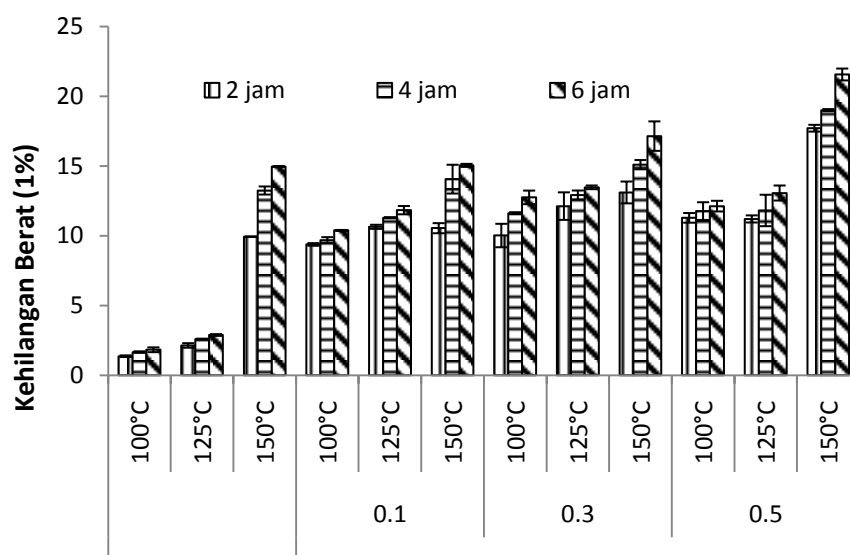
Tabel 1 Rendemen gula pereduksi kayu jabon pada berbagai variasi perlakuan

KE (FPU)	RGP (mg setara glukosa g ⁻¹ biomassa kering)													
	waktu (jam)	Kontr ol	LHW			Kapur (g Ca(OH) ₂ g ⁻¹ biomassa kering)								
			100° C	125° C	150 °C	0,1	0,3	0,5	100° C	125 °C	150° C	100° C	125 °C	150 °C
10	2	8,3	9,8	9,9	23,8	18,6	19,0	15,2	19,0	15,2	22,5	18,0	22,0	38,9
	4		10,1	10,2	30,0	17,1	19,1	24,5	16,2	21,1	25,0	16,6	23,7	52,1
	6		10,2	10,3	31,4	17,8	19,3	24,3	15,7	18,8	28,6	17,2	23,7	49,6
20	2	9,8	12,6	12,4	28,8	30,8	33,7	29,7	31,0	27,6	35,7	26,6	26,8	49,0
	4		11,3	12,0	37,2	33,7	29,1	38,2	35,4	27,5	37,8	30,4	30,6	82,0
	6		12,1	12,4	38,8	31,6	30,5	37,6	31,1	33,2	39,1	31,1	33,2	77,7
40	2	12,1	13,7	16,9	37,9	36,5	38,3	39,8	37,3	37,5	37,5	37,8	39,0	56,6
	4		15,6	17,4	43,8	38,1	36,8	38,0	40,2	39,6	37,8	39,9	39,7	118,0
	6		16,4	17,8	44,2	38,7	39,0	40,7	39,2	38,6	42,6	40,1	41,0	110,9

Kehilangan lignin merupakan salah satu indikator penting dalam penilaian efektifitas metode praperlakuan pembuatan bioetanol, dimana makin tinggi kehilangan lignin maka semakin efektif metode tersebut. Praperlakuan kapur terbukti mampu memperbaiki tingkat delignifikasi jabon dan meningkatkan RGP (Tabel 1).

Selain mendegradasi lignin, praperlakuan kapur juga menyebabkan terdegradasinya

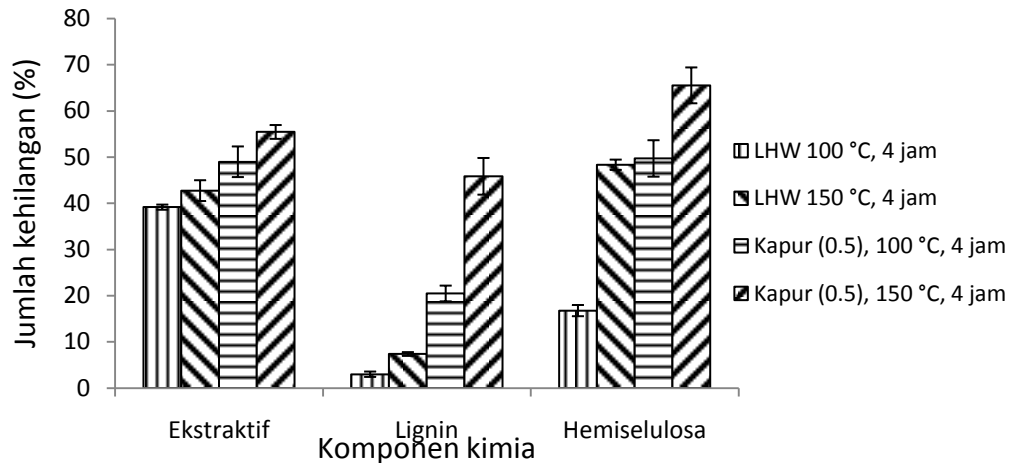
hemiselulosa jabon. Hemiselulosa membentuk ikatan kovalen dengan lignin, sehingga apabila komponen lignin terdegradasi maka sebagian hemiselulosa akan ikut terdegradasi (Siera *et al.* 2009, Hendrik & Zeeman 2009). Penambahan kapur dan peningkatan suhu mampu mendegradasi komponen hemiselulosa kayu jabon hingga 65,52% (Gambar 2).



Gambar 1 Kehilangan berat biomassa jabon setelah praperlakuan.

Tabel 2 Perubahan komponen kimia kayu jabon setelah praperlakuan

Komponen kayu (%)	Praperlakuan				
	Kontrol	LHW 100 °C, 4 jam	LHW 150 °C, 4 jam	Kapur (0,5) 100 °C, 4 jam	Kapur (0,5) 150 °C, 4 jam
Ekstraktif	2,57	1,57	1,47	1,31	1,15
Lignin Klason	25,20	24,45	23,35	20,04	13,65
Holosekulosa	73,88	68,94	59,02	58,80	53,85
Alfa-selulosa	43,92	44,00	43,54	43,73	43,52
Hemiselulosa	29,96	24,94	15,48	15,07	10,33



Gambar 2 Kehilangan komponen kimia kayu jabon setelah praperlakuan.

Struktur rantai bercabang dan derajat polimerisasi yang rendah menyebabkan polimer hemiselulosa lebih mudah terdegradasi dibandingkan dengan selulosa. Dengan hilangnya sebagian hemiselulosa maka akan berdampak positif pada tingkat hidrolisis selulosa oleh enzim (Hendrik & Zeeman 2009), sehingga berpengaruh terhadap meningkatnya RGP (Tabel 1).

Pengaruh konsentrasi enzim terhadap RGP kayu jabon

Chang *et al.* (2001), karena faktor enzim meliputi 44% dari biaya produksi gula, maka diperlukan penggunaan KE yang tepat. KE selulase yang digunakan pada proses hidrolisis bervariasi mulai dari 7 sampai 33 FPU g^{-1} substrat, bergantung pada jenis dan konsentrasi substrat (Sun & Cheng 2002). Mussatto *et al.* (2008) menggunakan KE selulase 5-85 FPU g^{-1} substrat untuk menghidrolisis *brewer's spent grain*, dengan hasil yang optimal pada KE 45 FPU g^{-1} substrat. Sattler *et al.* (1989), dengan rentang KE selulase 5-100 FPU g^{-1} substrat kayu poplar, hasil hidrolisis terbaik diperoleh pada penambahan KE 5-50 FPU/g substrat. KE 10 FPU/g selulosa merupakan dosis yang sering digunakan pada penelitian

skala laboratorium, karena terbukti dapat menghasilkan RGP yang cukup tinggi selama inkubasi 48-72 jam (Gregg & Saddler 1996).

Tabel 1 menunjukkan bahwa pada KE 10 FPU g^{-1} substrat, praperlakuan kapur mampu meningkatkan RGP kayu jabon sampai 6,2 kali daripada kayu jabon tanpa praperlakuan (8,3 menjadi 52,1 mg setara glukosa g^{-1} biomassa kering). Demikian juga pada KE 20 dan 40 FPU g^{-1} substrat, perlakuan kapur mampu meningkatkan RGP kayu jabon masing-masing sebanyak 8,3 dan 9,7 kali (9,8 dan 118 mg setara glukosa g^{-1} biomassa kering). Secara statistik, ketiga variasi KE berpengaruh signifikan terhadap RGP praperlakuan kapur, tetapi sebaliknya tidak berpengaruh signifikan pada praperlakuan LHW. RGP tertinggi masing-masing KE diperoleh dari kombinasi perlakuan KK 0,5 g $Ca(OH)_2$ g^{-1} biomassa kering pada suhu 150 °C selama 4 jam. Pada kondisi tersebut, penambahan KE dari 10 ke 20 FPU g^{-1} substrat mampu meningkatkan RGP sebanyak 57,4%. Pada penambahan KE dari 20 ke 40 FPU g^{-1} substrat terjadi peningkatan RGP sebanyak 43,9%. Hal

ini berarti peningkatan enzim 10-20 FPU g^{-1} substrat lebih efektif pengaruhnya untuk meningkatkan RGP dibandingkan dengan 20-40 FPU g^{-1} substrat. Fenomena ini sejalan dengan penelitian Chang *et al.* (2001) pada kayu poplar, KE di atas 25 FPU g^{-1} substrat menyebabkan selulosa menjadi jenuh oleh penetrasi enzim sehingga laju hidrolisis jadi kurang efektif.

RGP tertinggi diperoleh pada KE 40 FPU g^{-1} substrat (118 mg setara gula g^{-1} biomassa kering), sedikit lebih tinggi dari penelitian Pelawi (2011) dengan kondisi perlakuan yang berbeda. Secara teori, konversi selulosa jabon menjadi gula pereduksi dengan asumsi derajat hidrolisis 100% dapat menghasilkan ± 820 mg setara glukosa g^{-1} biomassa kering (RGP 82%). Perlakuan kapur pada penelitian ini menghasilkan RGP tertinggi $\pm 14,4\%$ dari jumlah maksimal gula pereduksi yang dapat dikonversi dari kayu jabon.

Perubahan kristalinitas dan struktur kayu jabon setelah praperlakuan

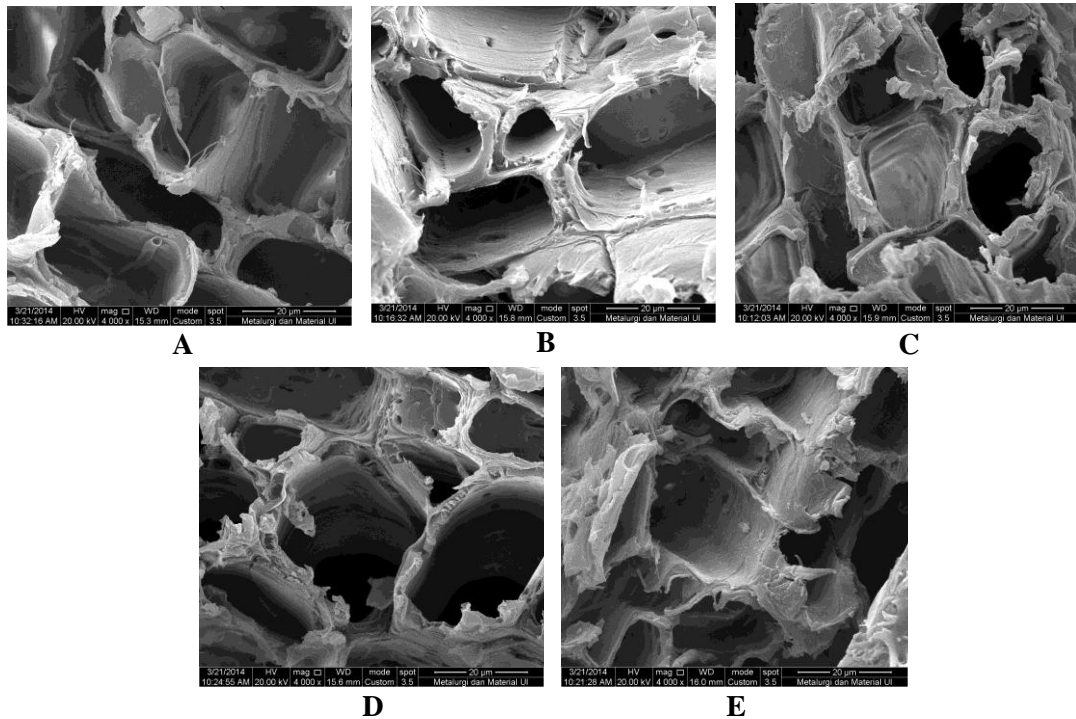
Salah satu tujuan praperlakuan adalah untuk mengurangi sifat kristalinitas dan meningkatkan porositas bahan (Sun & Cheng 2002). Tabel 3 menunjukkan bahwa kristalinitas kayu jabon cenderung meningkat seiring kenaikan suhu dan penambahan kapur, sehingga hasil ini berbanding terbalik dengan salah satu target penelitian yang diharapkan. Fenomena ini serupa dengan yang

dilaporkan Chundawat *et al.* (2011) dan Pu *et al.* (2013). Keduanya melaporkan bahwa praperlakuan asam, LHW, *steam explosion* dan kapur secara umum menyebabkan terjadinya peningkatan kristalinitas selulosa dibanding yang tanpa praperlakuan. Bagian amorf pada selulosa dapat terdegradasi pada suhu kurang dari 150 °C, sedangkan bagian kristalin baru dapat terdegradasi pada suhu minimal 180 °C (Pu *et al.* 2013). Oleh karena itu suhu maksimal yang diterapkan pada penelitian ini (150 °C) belum dapat mendegradasi bagian daerah kristalin kayu jabon. Kombinasi perlakuan suhu dan penambahan konsentrasi kapur menyebabkan terdegradasinya komponen yang bersifat amorf (lignin dan hemiselulosa), sehingga intensitas bagian kristalin kayu jabon secara keseluruhan akan mengalami peningkatan.

Hasil pencitraan SEM menunjukkan perbedaan yang cukup jelas antara sampel sebelum dan setelah praperlakuan (Gambar 3). Pada sampel tanpa praperlakuan (Gambar 3A) struktur dinding sel terlihat masih utuh, belum terjadi kerusakan seperti pada sampel yang telah mengalami praperlakuan (Gambar 3B-E). Praperlakuan (LHW dan kapur) mengakibatkan struktur dinding sel kayu jabon mengembang dan terbentuknya pori. Pada kondisi suhu dan waktu yang sama, perlakuan kapur menyebabkan kerusakan struktur sel yang lebih parah. Dinding sel tampak semakin mengembang, makin terkoyak dan lebih *porous* (Gambar 3D dan E).

Tabel 3 Kristalinitas selulosa kayu jabon setelah praperlakuan

Perlakuan	Puncak 2Theta	Icr (kristalin)	Ia (amorf)	Kristalinitas (%)
Kontrol	22,23	0,82	1,47	35,76
LHW; 100 °C; 4 jam	22,22	0,88	1,39	38,77
LHW; 150 °C; 4 jam	22,33	1,00	1,34	42,71
Kapur (0,5); 100 °C; 4 jam	22,33	0,92	1,27	42,01
Kapur (0,5); 150 °C; 4 jam	22,37	0,78	1,13	40,88



Gambar 3 Citra SEM penampang melintang kayu jabon perbesaran 4000x: (A) tanpa praperlakuan; (B) LHW 100 °C, 4 jam; (C) LHW 150 °C, 4 jam; (D) 0.5 g Ca(OH)₂ g⁻¹ biomassa kering, 100 °C, 4 jam; (E) 0.5 g Ca(OH)₂ g⁻¹ biomassa kering, 150 °C, 4 jam.

Hal ini mengindikasikan sebagian komponen lignin dan hemiselulosa telah terdegradasi (Gambar 2) yang mengakibatkan daerah permukaan selulosa jadi makin terbuka (Hu & Wen 2008). Tye *et al.* (2012) menambahkan bahwa perlakuan alkali pada serat kapuk lebih efektif dalam mendegradasi lignin dan hemiselulosa, sedangkan perlakuan asam hanya mendegradasi hemiselulosa.

Derajat kristalinitas tidak dapat dijadikan sebagai satu-satunya faktor pengukur tingkat aksesibilitas bahan berlignoselulosa pada proses hidrolisis enzimatik (Park *et al.* 2010), karena terdapat faktor-faktor lain yang berpengaruh terhadap aksesibilitas enzim. Faktor hilangnya komponen lignin dan hemiselulosa cenderung memberikan pengaruh yang lebih dominan terhadap peningkatan RGP jabon. Degradasi lignin dan hemiselulosa

yang cukup tinggi menyebabkan porositas selulosa meningkat. Dengan semakin banyaknya lignin dan hemiselulosa yang terdegradasi dan makin terbukanya daerah permukaan selulosa maka aksesibilitas enzim pada proses hidrolisis akan meningkat, sehingga RGP yang dihasilkan semakin tinggi.

Kesimpulan

Praperlakuan kapur mampu meningkatkan RGP kayu jabon 9,7 kali lebih tinggi dibandingkan kayu jabon tanpa praperlakuan. Penambahan KK (0,1-0,5 g Ca(OH)₂ g⁻¹ biomassa kering) dan peningkatan suhu (100-150 °C) memberikan pengaruh yang signifikan terhadap RGP jabon, sedangkan perbedaan waktu pemasakan (2, 4, dan 6 jam) tidak berpengaruh secara signifikan. RGP tertinggi (118 mg setara glukosa/g

sebuk kering) diperoleh pada kombinasi perlakuan KK 0,5 g Ca(OH)₂ g⁻¹ biomassa kering pada suhu 150 °C selama 4 jam, dengan KE 40 FPU/g substrat. Hasil ini setara dengan 14,4% dari perhitungan teori jumlah maksimal gula pereduksi yang dapat dikonversi dari kayu jabon. Penambahan KE 10-20 FPU g⁻¹ substrat lebih efektif pengaruhnya terhadap peningkatan RGP jabon daripada penambahan KE 20-40 FPU g⁻¹ substrat. Lebih dari sepertiga komponen lignin dan hemiselulosa jabon (45,83 - 65,52 %) dapat terdegradasi dengan praperlakuan kapur. Meskipun derajat kristalinitasnya meningkat, praperlakuan kapur menyebabkan permukaan dinding sel kayu jabon makin terbuka dan semakin poros sebagai akibat dari terdegradasinya komponen lignin dan hemiselulosa, sehingga hal ini menyebabkan RGP jabon meningkat.

Daftar Pustaka

- Browning BL. 1967. *Methods of Wood Chemistry*. New York: Interscience Publ.
- Chang VS, Nagwani M, Holtzaple MT. 1998. Lime pretreatment of crop residues bagasse and wheat straw. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 74:135-159.
- Chang VS, Nagwani M, Kim CH, Holtzaple MT. 2001. Oxidative lime pretreatment of high-lignin biomass: poplar wood and newspaper. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 94:1-28.
- Chundawat SPS, Beckham GT, Himmel ME, Dale BE. 2011. Deconstruction of lignocellulosic biomass to fuels and chemicals. *Ann. Rev. Chem. Biomol.* 2(6): 1-25.
- Emil N. 2013. Analisis komponen kimia dan dimensi serat jabon (*Anthocephalus cadamba* Miq.) menurut lingkar tahun [Skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Gregg DJ, Saddler JN. 1996. Factors affecting cellulose hydrolysis and the potential of enzyme recycle to enhance the efficiency of an integrated wood to ethanol process. *Biotechnol. Bioeng.* 51:375-383.
- Hendriks ATWM, Zeeman G. 2009. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *Bioresour. Technol.* 100:10-18.
- Hu Z, Wen Z. 2008. Enhancing enzymatic digestibility of switchgrass by microwave-assisted alkali pretreatment. *Biochem. Eng. J.* 38:369-378.
- Krisnawati H, Maarit K, Markku K. 2011. *Anthocephalus cadamba* Miq.: *Ekologi, Silvikultur, dan Produktivitas*. Bogor (ID): CIFOR.
- Limayen A, Ricke SC. 2012. Lignocellulosic biomass for bioethanol production: Current perspectives, potential issues and future prospects. *Progress Energy Combust. Sci.* 38:449-467.
- Mansur I, Tuheteru FD. 2010. *Kayu Jabon*. Bogor (ID): Penebar Swadaya.
- Martawijaya A, Kartasujana I, Mandang IY, Prawira SA, Kadir K. 1989. *Atlas Kayu Indonesia Jilid II*. Bogor (ID): Badan Litbang Kehutanan.
- Mosier N, Wyman C, Dale B, Elander R., Lee YY, Holtzaple M, Ladisch M. 2005. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresour. Technol.* 96:673-686
- Mussatto SI, Dragone G, Fernandes M, Milagres AMF, Roberto IC. 2008. The effect of agitation speed, enzyme

- loading and substrate concentration on enzymatic hydrolysis of cellulose from brewer's spent grain. *Cellulose*. 15:711–721.
- Park S, Baker JO, Himmel ME, Parilla PA, Johnson DK. 2010. Cellulose crystallinity index: measurement techniques and their impact on interpreting cellulase performance. *Biotechnol. Biofuels*. 3(10): 1-10
- Pelawi R. 2011. Pulp kraft kayu jabon sebagai bahan baku pembuatan bioetanol. [Skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Pratiwi. 2003. Prospek pohon jabon untuk pengembangan hutan tanaman. Bogor: *Buletin Penelitian dan Pengembangan Kehutanan* 4 (1): 61-66.
- Pu Y, Hu F, Huang F, Davison BH, Ragauskas AJ. 2013. Assessing the molecular structure for biomass recalcitrance during dilute acid and hydrothermal pretreatments. *Biotechnol. Biofuels*. 6(15): 1-13
- Sattler W, Esterbauer H, Glatter O, Steiner W. 1989. The effect of enzyme concentration on the rate of the hydrolysis of cellulose. *Biotechnol. Bioeng*. 33:1221-1234.
- Selig M, Weiss N, Ji Y. 2008. *Enzymatic Saccharification of Lignocellulosic Biomass, Laboratory Analytical Procedure (LAP), Technical Report NREL/TP- 510-42629*. Colorado (US): National Renewable Energy Laboratory.
- Sierra R, Granda CB, Holtzaple MT. 2009. Lime pretreatment. Di dalam: Mielenz J R, editor. *Biofuels: Methods in Molecular Biology*: 581. New York: Humana Press. Pp. 115-124.
- Stenberg, Gable M, Zacci G. 1999. The influence of lactic acid formation on simultaneous saccharification and fermentation (SSF) of softwood to ethanol. *J. Enzyme Microb. Biotechnol*. 70:697-708.
- Sun Y, Cheng J. 2002. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresour. Technol*. 83: 1–11.
- Tye YY, Lee KT, Abdullah WNW, Leh CP. 2012. Potential of *Ceiba pentandra* (L.) Gaertn. (kapok fiber) as a resource for second generation bioethanol: effect of various simple pretreatment methods on sugar production. *Bioresour. Technol*. 116:536–539.
- Wang Z, Keshwani DR, Redding AP, Cheng JJ. 2008. Alkaline pretreatment of coastal bermudagrass for bioethanol production. *The ASABE Annual International Meeting*; 2008 Jun 29-Jul 2; Rhode Island Convention Center Providence. Rhode Island (US): ASABE.
- Wrolstad RE, Acree TE, Decker EA, Penner MH, Reid DS, Schwartz SJ, Shoemaker CF, Smith D, Sporns P. 2005. *Handbook of Food Analytical Chemistry: Water, Proteins, Enzymes, Lipids, and Carbohydrates*. New Jersey (US): John Wiley & Sons. p.655.
- Xu J, Cheng JJ, Shivappa RRS, Burns JC. 2010. Lime pretreatment of switchgrass at mild temperatures for ethanol production. *Bioresour. Technol*. 101: 2900–2903.

Riwayat naskah (*article history*)

Naskah masuk (*received*): 12 April 2014

Diterima (*accepted*): 8 Juni 2014