

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS)

Tandan kosong kelapa sawit merupakan limbah utama berligniselulosa yang belum dimanfaatkan secara optimal dari industri pengolahan kelapa sawit. Basis satu ton tandan buah segar akan dihasilkan minyak sawit kasar sebanyak 0,21 ton (21%) , minyak inti sawit sebanyak 0,05 ton (0,5%) dan sisanya merupakan limbah dalam bentuk tandan kosong, serat dan cangkang biji yang masing–masing sebanyak 0,23 ton (23%), 0,135 ton (13,5%) dan 0,055 ton (5,5%) (Darnoko, 1992).

Padahal tandan kosong kelapa sawit berpotensi untuk dikembangkan menjadi barang yang lebih berguna, salah satunya menjadi bahan baku bioetanol. Hal ini karena tandan kosong kelapa sawit banyak mengandung selulosa yang dapat dihirolisis menjadi glukosa kemudian difermentasi menjadi bioetanol. Kandungan selulosa yang cukup tinggi yaitu sebesar 45% menjadikan kelapa sawit sebagai prioritas untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan bioetanol (Aryafatta, 2008).



Gambar 1. Tandan Kosong Kelapa Sawit

Selama ini pengolahan/pemanfaatan TKKS masih sangat terbatas yaitu dibakar dalam *incinerator*, ditimbun (*open dumping*), dijadikan mulsa di

perkebunan kelapa sawit, atau diolah menjadi kompos. Namun karena adanya beberapa kendala seperti waktu pengomposan yang cukup lama sampai 6–12 bulan, fasilitas yang harus disediakan, dan biaya pengolahan TKKS tersebut. Selain jumlah yang melimpah juga karena kandungan selulosa tandan kelapa sawit yang cukup tinggi yaitu sebesar 45 % (Aryafatta, 2008). TKKS cocok dikembangkan sebagai bahan baku pembuatan bioetanol. Sehingga ketika diolah menjadi bioetanol dapat menghasilkan rendemen yang cukup besar sehingga harga jual bioetanol yang dihasilkan dapat lebih murah. Adapun komposisi TKKS adalah sebagai berikut :

Table 1. Komposisi Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS)

Komposisi	Kadar (%)
Abu	14
Selulosa	40
Lignin	22
Hemiselulosa	24

Sumber: Azemi, dkk. 1994

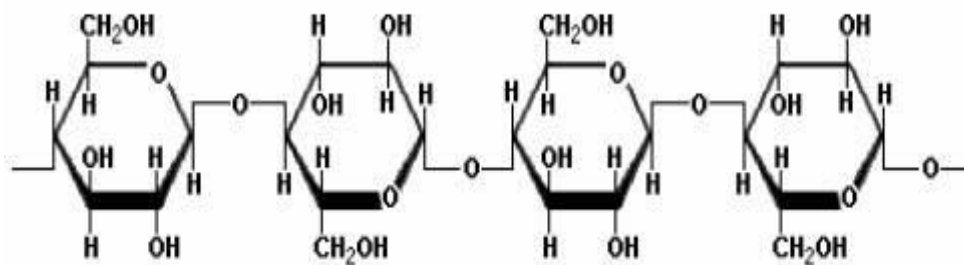
2.2 Selulosa

Selulosa merupakan komponen utama penyusun dinding sel tanaman. Kandungan selulosa pada dinding sel tanaman tingkat tinggi sekitar 35-50% dari berat kering tanaman (Saha dalam Al-arif 2014). Selulosa merupakan polimer glukosa dengan ikatan β -1,4 glukosida dalam rantai lurus. Bangun dasar selulosa berupa suatu selobiosa yaitu dimer dari glukosa. Rantai panjang selulosa terhubung secara bersama melalui ikatan hidrogen dan gaya van der Waals (Perez dkk., 2002).

Selulosa mengandung sekitar 50-90% bagian berkrystal dan sisanya bagian amorf (Aziz dkk., 2002). Selulosa hampir tidak pernah ditemui dalam keadaan murni di alam, melainkan selalu berikatan dengan bahan lain seperti lignin dan hemiselulosa. Selulosa terdapat dalam tumbuhan sebagai bahan pembentuk dinding sel dan serat tumbuhan. Molekul selulosa merupakan mikrofibil dari glukosa yang terikat satu dengan lainnya membentuk rantai polimer yang sangat

panjang. Adanya lignin serta hemiselulosa di sekeliling selulosa merupakan hambatan utama untuk menghidrolisis selulosa (Sjostrom, 1995).

Selulosa merupakan polisakarida yang terdiri atas satuan-satuan dan mempunyai massa molekul relatif yang sangat tinggi, tersusun dari 2.000-3.000 glukosa. Rumus molekul selulosa adalah $(C_6H_{10}O_5)_n$. Selulosa merupakan komponen utama penyusun dinding sel tanaman yaitu senyawa polimer glukosa yang tersusun dari unit-unit β -1,4-glukosa yang dihubungkan dengan ikatan β -1,4 Dglukosida (Han dkk., 1995).



Gambar 2. Struktur Kimia Selulosa

Sumber: Sixta, 2006

Ikatan β -1,4 glukosida pada serat selulosa dapat dipecah menjadi monomer glukosa dengan cara hidrolisis asam atau enzimatis. Hidrolisis sempurna selulosa akan menghasilkan monomer selulosa yaitu glukosa, sedangkan hidrolisis tidak sempurna akan menghasilkan disakarida dari selulosa yaitu selobiosa (Fan dkk., 1982). Selulosa dapat dihidrolisis menjadi glukosa dengan menggunakan media air dan dibantu dengan katalis asam atau enzim. Selanjutnya glukosa yang dihasilkan dapat difermentasi menjadi menjadi produk fermentasi yang nantinya dapat diolah lagi menjadi etanol.

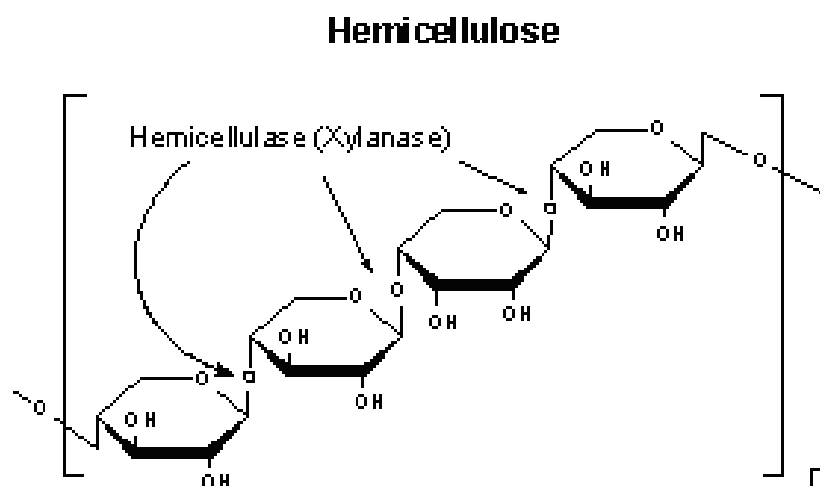
2.2.1 Sifat selulosa

Sifat selulosa terdiri dari sifat fisika dan kimia. Selulosa dengan rantai panjang memiliki sifat fisik yang lebih kuat, tahan lama terhadap degradasi yang disebabkan oleh pengaruh panas, bahan kimia maupun pengaruh biologis. Sifat fisika dari selulosa yang penting panjang, lebar dan tebal molekulnya. Sifat fisik lain dari selulosa ialah:

1. Dapat terdegradasi oleh hidrolisa, oksidasi, fotokimia, maupun secara mekanis sehingga berat molekulnya menurun.
2. Tidak larut dalam air maupun pelarut organik, tetapi sebagian larut pada larutan alkali.
3. Dalam keadaan kering, selulosa bersifat higroskopik (baik menyerap air), keras, juga rapuh. Jika selulosa mengandung banyak air maka akan bersifat lunak.
4. Selulosa dalam kristal memiliki kekuatan lebih baik dibandingkan dengan bentuk amorfnya.

2.3 Hemiselulosa

Rantai hemiselulosa lebih pendek dibandingkan rantai selulosa, karena derajat polimerisasinya yang lebih rendah. Berbeda dengan selulosa, polimer hemiselulosa berbentuk tidak lurus tetapi merupakan polimer-polimer bercabang dan strukturnya tidak terbentuk kristal. Monomer gula penyusun hemiselulosa terdiri dari monomer gula berkarbon lima (pentose/C-5), gula berkarbon enam (heksosa/C-6), asam heksuronat dan deoksi heksosa. Hemiselulosa akan mengalami reaksi oksidasi dan degradasi terlebih dahulu daripada selulosa, karena rantai molekulnya yang lebih pendek dan bercabang. Struktur hemiselulosa ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur Hemiselulosa

Sumber: Lankinen, 2004

Hemiselulosa bersifat hidrofibil (mudah menyerap air) yang mengakibatkan strukturnya yang kurang teratur. Secara struktural, hemiselulosa mirip dengan selulosa yang merupakan polimer gula. Namun berbeda dengan selulosa yang hanya tersusun atas glukosa, hemiselulosa tersusun dari bermacam-macam jenis gula.

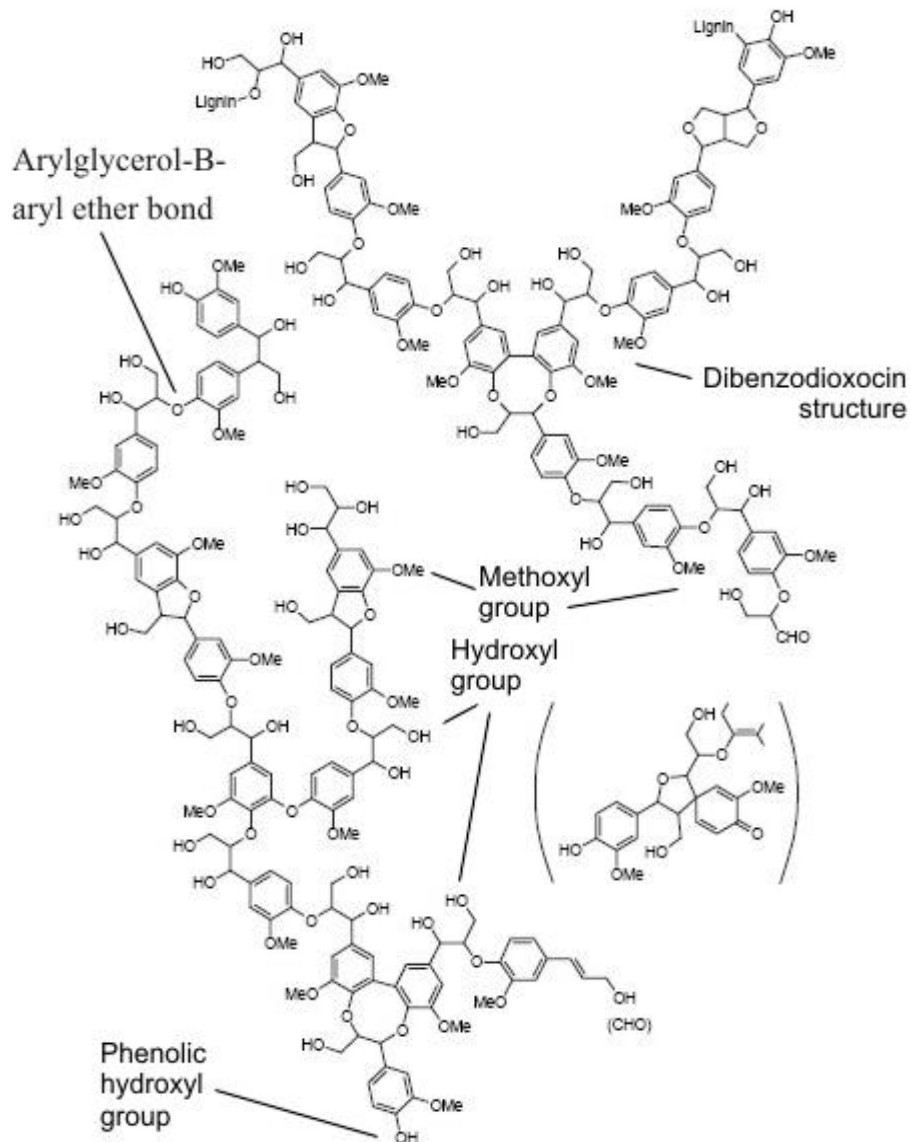
2.4 Lignin

Lignin adalah salah satu komponen penyusun tanaman. Secara umum tanaman terbentuk dari selulosa, hemiselulosa, dan lignin. Komposisi bahan penyusun ini berbeda-beda bergantung pada jenis tanaman. Pada batang tanaman, lignin berfungsi sebagai bahan pengikat komponen penyusun lainnya, sehingga suatu pohon bias berdiri tegak. Berbeda dengan selulosa yang terbentuk dari gugus karbohidrat, lignin terbentuk dari gugus aromatik yang saling dihubungkan dengan rantai alifatik, yang terdiri dari 2-3 karbon. Pada proses pirolisa lignin, dihasilkan senyawa kimia aromatis yang berupa fenol.

Lignin dapat diisolasi dari tanaman sebagai sisa yang tak larut setelah penghilangan polisakarida dengan hidrolisis. Secara alternatif, lignin dapat dihidrolisis dan diekstraksi ataupun diubah menjadi turunan yang larut. Adanya lignin menyebabkan warna menjadi kecoklatan sehingga perlu adanya pemisahan atau penghilangan melalui pemutihan. Banyaknya lignin juga berpengaruh terhadap konsumsi bahan kimia dalam pemasakan dan pemutihan (Dirga Harya Putra, 2012)

Lignin ini merupakan molekul kompleks yang tersusun dari unit phenylpropane yang terikat di dalam struktur tiga dimensi. Lignin adalah material yang paling kuat di dalam biomassa. Lignin sangat resisten terhadap degradasi, baik secara biologi, enzimatik, maupun kimia. Karena kandungan karbon yang relatif tinggi dibandingkan dengan selulosa dan hemiselulosa, lignin memiliki kandungan energi yang tinggi. Lignin ini merupakan polimer tiga dimensi yang terdiri dari unit fenil propane melalui ikatan eter (C-O-C) dan ikatan karbon (C-C). Bila lignin berdifusi dengan larutan alkali maka akan terjadi

pelepasan gugus metoksil yang membuat lignin larut dalam alkali. Struktur lignin ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Struktur Lignin

Sumber: Lankinen, 2004

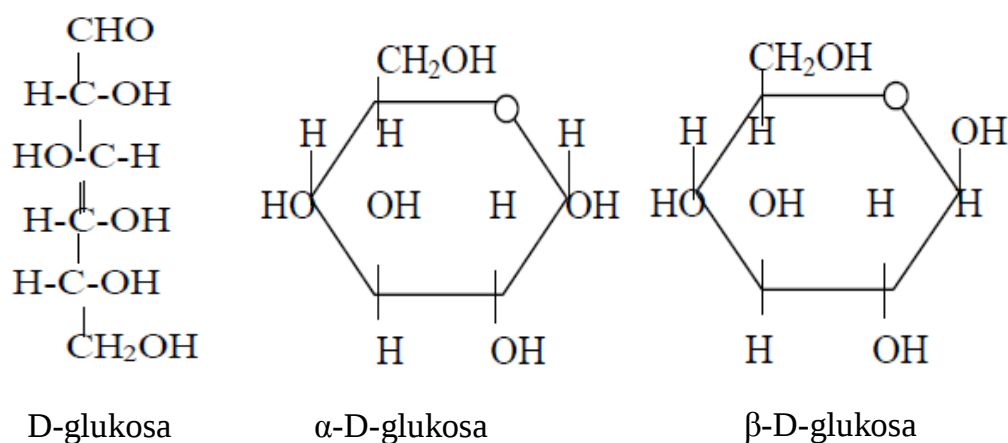
Struktur lignin mengalami perubahan dibawah kondisi suhu yang tinggi dan asam. Pada reaksi dengan temperatur tinggi mengakibatkan lignin terpecah menjadi partikel yang lebih kecil dan terlepas dari selulosa (Taherzadeh, 2007). Pada suasana asam, lignin cenderung melakukan kondensasi, yakni fraksi lignin yang sudah terlepas dari selulosa dan larut pada larutan pemasak. Dimana

peristiwa ini cenderung menyebabkan bobot molekul lignin bertambah, dan lignin yang terkondensasi akan mengendap (Achmadi, 1990). Disamping terjadinya reaksi kondensasi lignin yang mengendap, proses pemasakan yang berlangsung pada suasana asam dapat pula menurunkan derajat kerusakan sehingga mengurangi degradasi selulosa dan hemiselulosa.

Suhu, tekanan dan konsentrasi larutan pemasak selama proses merupakan faktor yang mempengaruhi kecepatan reaksi pelarutan lignin, selulosa dan hemiselulosa. Selulosa tidak akan rusak saat proses pelarutan lignin jika konsentrasi larutan pemasak yang digunakan rendah dan suhu yang digunakan sesuai.

2.5 Glukosa

Glukosa adalah suatu aldohexosa dan sering disebut dekstrosa karena mempunyai sifat dapat memutar cahaya terpolarisasi ke arah kanan. Dalam alam glukosa dihasilkan dari reaksi antara karbon dioksida dan air dengan bantuan sinar matahari dan klorofil dalam daun. Proses ini disebut fotosintesis dan glukosa yang terbentuk terus digunakan untuk pembentukan amilum atau selulosa. (Anna Poedjiadi, 1994).



Gambar 5. Struktur Glukosa

Sumber: Surya Sitorus, 2011

Sebagian besar monosakarida dikenal sebagai heksosa, karena terdiri atas 6-rantai atau cincin karbon. Atom-atom hidrogen dan oksigen terikat pada rantai

atau cincin ini secara terpisah atau sebagai gugus hidroksil (OH). Ada tiga jenis heksosa yang penting dalam ilmu gizi yaitu glukosa, fruktosa, dan galaktosa. Ketiga macam monosakarida ini mengandung jenis dan jumlah atom yang sama, yaitu 6 atom karbon, 12 atom hidrogen, dan 6 atom oksigen. Perbedaannya hanya terletak pada cara penyusunan atom-atom hidrogen dan oksigen di sekitar atom-atom karbon. Perbedaan dalam susunan atom inilah yang menyebabkan perbedaan dalam tingkat kemanisan, daya larut, dan sifat lain ketiga monosakarida tersebut.

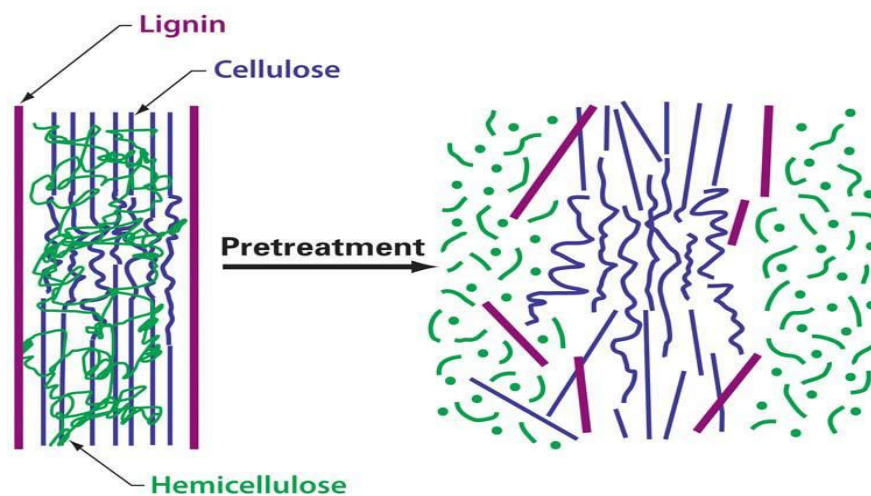
2.6 Delignifikasi

Delignifikasi merupakan proses pengurangan lignin dan pemecahan lignoselulosa menjadi lignin, selulosa, dan hemiselulosa. Menurut Sun (2002), delignifikasi yang baik harus meningkatkan pembentukan gula pada proses hidrolisis enzimatik, menghindari degradasi selulosa, menghindari pembentukan produk samping yang dapat menghambat proses hidrolisis dan fermentasi, serta ekonomis. Proses pemisahan lignin dapat dibedakan menjadi 3, yaitu:

1. Secara mekanis, proses sangat sederhana dan tidak menggunakan bahan kimia. Pada proses ini kandungan lignin dan zat lain masih tinggi.
2. Secara kimia, proses ini menggunakan bahan kimia pada suhu, tekanan, konsentrasi dan waktu tertentu. Proses ini menggunakan bahan kimia sebagai bahan utama untuk melarutkan apa yang tidak diinginkan. Bahan kimia yang digunakan tergantung macam proses dan macam bahan bakunya. Cara kimia ini meliputi tiga macam proses yakni:
 - Proses Sulfat, proses ini termasuk proses basa (alkali) karena sebagai larutan pemasak dipakai NaOH. Tujuan pemanasan ini adalah melarutkan lignin sebagian dan zat lainnya. Setelah terjadi proses pemasakan, lignin dan komponen lainnya dipisahkan dengan pencucian dan penyaringan.
 - Proses Soda, proses ini termasuk proses alkali dimana sebagian bahan bakunya digunakan NaOH yang berfungsi melarutkan lignin, karbohidrat, asam organik sehingga selulosa terlepas dari ikatannya.
 - Proses Sulfit, proses ini merupakan larutan pemasak kalsium, magnesium, ammonia atau sodium bisulfit yang mengandung kelebihan

sulfur dioksida atau asam sulfit. Tahap yang dilakukan pada proses ini adalah tahap pemasakan (terjadi pemutusan rantai lignin dan selulosa), tahap pencucian (proses pencucian larutan pemasak dari proses pemasakan), tahap *bleaching* (pemutihan untuk meningkatkan kemurnian).

3. Secara semi kimi, proses ini merupakan gabungan dari proses kimia dan mekanik. Untuk memisahkan serat dipakai daya kimia, sedangkan yang tak hancur menggunakan proses mekanik.



Gambar 6. Skema Proses Delignifikasi

Sumber: Mosier, dkk., 2005

2.7 Hidrolisis

Hidrolisis adalah suatu proses antara reaktan dengan air agar suatu senyawa pecah terurai. Pada reaksi hidrolisis pati dengan air, air akan menyerang pati dengan air, air akan menyerang pati dengan ikatan α -1,4-glukosida menghasilkan dextrin, sirup atau glukosa tergantung pada derajat pemecahan rantai polisakarida dalam pati. Reaksi antara air dan pati ini berlangsung sangat lambat sehingga diperlukan bantuan katalisator untuk memperbesar kereaktifan air. Katalisator ini bias berupa asam maupun enzim. Katalisator asam yang biasa digunakan adalah asam klorida, asam nitrat dan asam sulfat. Dalam industri umumnya digunakan asam klorida sebagai katalisator. Pemilihan ini didasarkan bahwa garam yang terbentuk setelah penetralan hasil merupakan garam yang tidak berbahaya yaitu

garam dapur. Faktor-faktor yang berpengaruh pada reaksi hidrolisa pati adalah suhu reaksi, waktu reaksi, dan konsentrasi katalisator (Endah dkk., 2009).

Hidrolisis meliputi proses pemecahan polisakarida di dalam biomassa lignoselulosa, yaitu: selulosa dan hemiselulosa menjadi monomer gula penyusunnya (glukosa dan xilosa). Hidrolisis sempurna selulosa menghasilkan glukosa, sedangkan hemiselulosa menghasilkan beberapa monomer gula pentose (C5) dan heksosa (C6). Secara umum teknik hidrolisis dibagi menjadi dua, yaitu: hidrolisis dengan enzim dan hidrolisis dengan asam.

1. Hidrolisis Enzim

Hidrolisis enzim merupakan proses penguraian suatu polimer yang kompleks menjadi monomer penyusunnya dengan menggunakan enzim (Perez dkk., 2002). Hidrolisis enzimatik memiliki beberapa keuntungan dibandingkan hidrolisis asam, antara lain: tidak terjadi degradasi gula hasil hidrolisis, kondisi proses yang lebih lunak (suhu rendah, pH netral), berpotensi memberikan hasil yang tinggi, dan biaya pemeliharaan peralatan relatif rendah karena tidak ada bahan yang korosif (Hamelinck dkk., 2005). Beberapa kelemahan dari hidrolisis enzimatik antara lain adalah membutuhkan waktu yang lebih lama, dan kerja enzim dihambat oleh produk. Di sisi lain harga enzim saat ini lebih mahal daripada asam sulfat, namun demikian pengembangan terus dilakukan untuk menurunkan biaya dan meningkatkan efisiensi hidrolisis maupun fermentasi (Sanchez dan Cardona, 2007).

2. Hidrolisis asam

Di dalam metode hidrolisis asam, biomassa lignoselulosa dipaparkan dengan asam pada suhu dan tekanan tertentu selama waktu tertentu dan menghasilkan monomer gula dari polimer selulosa dan hemiselulosa. Beberapa asam yang umum digunakan untuk hidrolisis asam antara lain adalah asam sulfat (H_2SO_4), asam perklorat, dan HCl . Asam sulfat merupakan asam yang paling banyak diteliti dan dimanfaatkan untuk hidrolisis asam (Taherzadeh dan Karimi, 2008). Hidrolisis asam dapat dikategorikan melalui dua pendekatan umum, yaitu hidrolisis asam konsentrasi tinggi pada suhu rendah dan hidrolisis asam konsentrasi rendah pada suhu tinggi. Pemilihan antara dua cara tersebut pada

umumnya didasarkan pada beberapa hal yaitu laju hidrolisis, hasil total hidrolisis, tingkat degradasi produk dan biaya total proses produksi (Kosaric dkk., 1983).

2.8 Enzim

Enzim merupakan protein sel hidup yang berperan sebagai biokatalisator dalam proses biokimia, baik yang terjadi di dalam sel maupun di-luar sel. Enzim merupakan katalisator sejati yang dapat meningkatkan kecepatan reaksi kimia spesifik dengan nyata, suatu reaksi kimia akan berlangsung sangat lambat tanpa adanya enzim. Enzim tidak mampu mengubah titik keseimbangan dari reaksi yang dikatalisisnya dan enzim juga tidak akan habis dipakai atau diubah secara permanen oleh reaksi-reaksi tersebut (Lehninger, 1982).

Menurut Poedjiadi (1994), enzim merupakan protein dengan struktur tiga dimensi yang kompleks yang aktif di bawah kondisi khusus dan hanya dengan substrat spesifik. Enzim adalah molekul biopolimer yang tersusun dari serangkaian asam amino dalam komposisi dan susunan rantai yang teratur dan tetap. Enzim merupakan produk protein sel hidup yang berperan sebagai biokatalisator dalam proses biokimia, baik yang terjadi di dalam sel maupun di luar sel.

Enzim merupakan katalisator sejati yang meningkatkan kecepatan reaksi kimia spesifik dengan nyata, tanpa enzim, suatu reaksi kimia akan berlangsung amat lambat. Enzim tidak dapat mengubah titik kesetimbangan reaksi yang dikatalisisnya; enzim juga tidak akan habis dipakai atau diubah secara permanen oleh reaksi-reaksi tersebut (Lehninger, 1982).

2.8.1 Enzim amilase

Amilase merupakan enzim yang paling penting dan keberadaanya paling besar, pada bidang bioteknologi, enzim ini diperjual belikan sebanyak 25% dari total enzim yang lainya. Amilase didapatkan dari berbagai macam sumber, seperti tanaman, hewan dan mikroorganisme. Amilase yang berasal dari mikroorganisme banyak digunakan dalam industri, hal ini dikarenakan mikroorganisme periode

pertumbuhannya pendek. Amilase pertama kali yang diproduksi adalah amilase yang berasal dari fungi pada tahun 1894.

Amilase adalah enzim yang paling penting dan signifikan dalam bidang bioteknologi, industri enzim amylase merupakan kelas industri yang memiliki kurang lebih 25% pasar enzim dunia. Enzim tersebut dapat diperoleh dari bermacam-macam sumber, seperti tumbuhan, binatang, dan mikroorganisme. Sekarang banyak mikrobia penghasil amilase yang tersedia secara komersial dan mikrobia tersebut hampir seluruhnya menggantikan hidrolisis kimia pati pada industri produksi pati.

Amilase yang dihasilkan mikroorganisme mempunyai spektrum yang luas pada aplikasi industri karena lebih stabil dari pada amilase yang dihasilkan oleh tumbuhan dan binatang. Keuntungan utama dalam penggunaan mikroorganisme pada produksi amilase adalah kapasitas produksi yang besar dan fakta bahwa mikrobia mudah dimanipulasi untuk menghasilkan enzim dengan karakteristik yang diinginkan. Amilase diperoleh dari bermacam-macam jamur, yeast dan bakteri. Meskipun demikian, enzim dari sumber jamur dan bakteri mendominasi aplikasi dalam sektor industri. Amilase mempunyai kemampuan aplikasi yang luas dalam proses industri seperti makanan, fermentasi, tekstil, kertas, deterjen, dan industri farmasi. Amilase dari jamur dan bakteri dapat digunakan dalam industri farmasi dan kimia. Meskipun demikian, dengan perkembangan bioteknologi, aplikasi amilase berkembang di banyak bidang, seperti kesehatan, obat-obatan, dan analisis kimia, seperti aplikasi dalam sakarifikasi pati pada tekstil, makanan, brewing, dan industri distilasi. Secara umum, amilase dibedakan menjadi tiga berdasarkan hasil pemecahan dan letak ikatan yang dipecah, yaitu alfa-amilase, beta-amilase, dan glukoamilase. Enzim alfa-amilase merupakan endoenzim yang memotong ikatan alfa-1,4 amilosa dan amilopektin dengan cepat pada larutan pati kental yang telah mengalami gelatinisasi. Proses ini juga dikenal dengan nama proses likuifikasi pati. Produk akhir yang dihasilkan dari aktivitasnya adalah dekstrin beserta sejumlah kecil glukosa dan maltosa. Alfa-amilase akan menghidrolisis ikatan alfa-1-4 glikosida pada polisakarida dengan hasil degradasi secara acak di bagian tengah atau bagian dalam molekul. Enzim beta-amilase atau

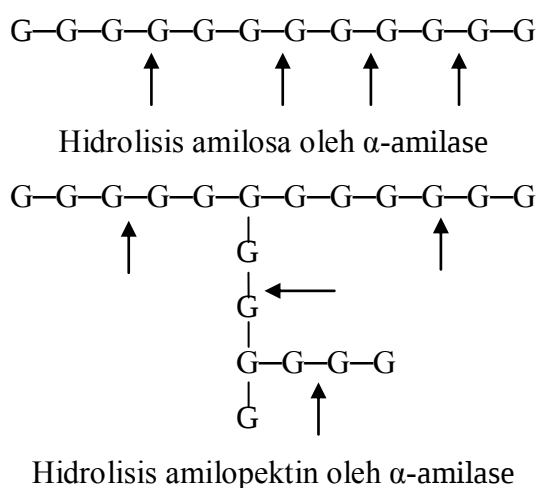
disebut juga alfa-1,4-glukanmaltotransferase E.C. 3.2.1.2. bekerja pada ikatan alfa-1,4-glikosida dengan menginversi konfigurasi posisi atom C(1) atau C nomor 1 molekul glukosa dari alfa menjadi beta. Enzim ini memutus ikatan amilosa maupun amilopektin dari luar molekul dan menghasilkan unit-unit maltosa dari ujung non-reduksi pada rantai polisakarida. Bila tiba pada ikatan alfa-1,6 glikosida aktivitas enzim ini akan berhenti. Glukoamilase dikenal dengan nama lain alfa-1,4- glukon glukohidro-lase atau EC 3.2.1.3. Enzim ini menghidrolisis ikatan glukosida alfa-1,4, tetapi hasilnya beta-glukosa yang mempunyai konfigurasi berlawanan dengan hasil hidrolisis oleh enzim α -amilase. Selain itu, enzim ini dapat pula menghidrolisis ikatan glikosida alfa-1,6 dan alfa-1,3 tetapi dengan laju yang lebih lambat dibandingkan dengan hidrolisis ikatan glikosida alfa-1,4.

2.8.2 Enzim Alfa-amilase

Amilase terdiri atas 3 jenis yaitu α -amilase, β -amilase dan glukoamilase. Enzim α -amilase bekerja dengan memutus ikatan α -1,4-glikosidik pada rantai lurus amilum sehingga menghasilkan glukosa dalam konfigurasi alpha, maltose dan dekstrin. Enzim β -amilase bekerja dengan memecah ikatan α -1,4-glikosidik dan tidak mampu melewati ikatan percabangan α -1,6-glikosidik sehingga menghasilkan maltose dalam konfigurasi beta. Enzim glukoamilase bekerja dengan menghidrolisis ikatan α -1,4 dan α -1,6 glikosidik dari gugus non pereduksi sehingga menghasilkan D-glukosa (Moo Yong, 1985).

Enzim amilase (*endo- α -1,4-glucan glucanohydrolase*) merupakan enzim amilase endospliting yang memutuskan ikatan glikosidik pada bagian rantai pati secara acak. Enzim α -amilase hanya spesifik untuk menghidrolisis ikatan α -1,4-glikosidik tetapi mampu melewati titik percabangan (ikatan α -1,6-glikosidik) untuk memutuskan ikatan-ikatan α -1,4-glikosidik disebaliknya sehingga menghasilkan isomaltase. Hasil hidrolisis pati dan glukagen oleh α -amilase adalah oligosakarida (maltodekstrin), maltose dan sejumlah kecil glukosa yang mempunyai konfigurasi α , seperti substrat awal (Sivaramakrishnan dkk, 2006).

Mikroorganisme yang paling banyak menghasilkan enzim α -amilase dan paling banyak digunakan adalah jamur dan bakteri seperti *Aspergillus oryzae*, *Bacillus amyloliquefaciens*, dan *Bacillus licheniformis* (Sivaramakrishnan dkk, 2006). Sejumlah ragi dapat memproduksi amilase dengan menggunakan media pati sebagai sumber karbon dan energi. Kebanyakan α -amilase adalah calcium metallo-enzyme yang mengandung minimal satu atom kalsium per molekul enzim (Moo Young, 1985). Aktivitas atau kinerja enzim amilase dipengaruhi oleh banyak faktor. Terdapat lima factor utama yang mempengaruhi aktivitas enzim yaitu pH, temperatur, konsentrasi enzim, dan konsentrasi substrat (Sukandar dalam Jayanti 2011). Skema kerja α -amilase dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 7. Skema Kerja α -amilase

Sumber: Jayanti, 2011

Keterangan:

↑ : tempat hidrolisis

G : glukosa

Cara kerja amilase α -amilase terjadi melalui dua tahap yaitu pertama degradasi amilosa menjadi maltosa dan maltotriosa yang terjadi secara acak. Degradasi ini terjadi sangat cepat dan diikuti dengan menurunnya viskositas dengan cepat. Tahap kedua relatif lambat yaitu pembentukan glukosa dan maltose sebagai hasil akhir secara tidak acak. Keduanya merupakan kerja enzim α -amilase pada molekul amilosa saja. Kerja α -amilase pada molekul amilopektin akan

menghasilkan glukosa, maltosa dan berbagai jenis limit dekstrin yaitu oligosakarida yang terdiri dari empat atau lebih residu gula yang semuanya mengandung α -1,6-glikosidik (Norman dalam Jayanti 2011).

2.9 Zat Pemutih

Zat-zat pemutih sifatnya dibagi menjadi dua yaitu, zat pemutih yang bersifat oksidator dan yang bersifat reduktor. Zat pemutih oksidator berfungsi untuk mendegradasi dan menghilangkan zat penyebab warna yaitu lignin. Zat pemutih reduktor berfungsi mendegradasi lignin secara hidrolisa dan membantu pelarutan senyawa lignin terdegradasi yang dihasilkan pada proses pemutihan.

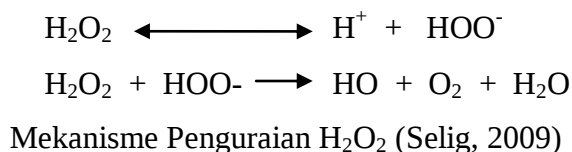
Zat pemutih yang bersifat oksidator, pada umumnya digunakan untuk pemutihan serat-serat selulosa dan beberapa diantaranya dapat pula dipakai untuk serat-serat binatang dan sintesis. Contohnya: Hidrogen Peroksida (H_2O_2), Kaporit ($CaOCl_2$), Natrium Hipoklorit ($NaOCl$), Natrium Peroksida (Na_2O_2), Sodium Klorit ($NaOCl_2$), dan lain-lain. Zat-zat pengelantang yang bersifat reduktor hanya dapat dipakai untuk serat-serat protein (binatang). Contohnya: Sulfur Dioksida (SO_2), Natrium Bisulfit ($NaHSO_3$), dan Natrium Hidrosulfit ($Na_2S_2O_4$).

2.9.1 Hidrogen Peroksida (H_2O_2)

Hidrogen peroksida adalah zat pemutih yang digunakan untuk memutihkan serat kapas, rayon, wol dan sutera. Hidrogen peroksida ini memiliki suhu optimum yaitu $80-85^\circ C$. Bila suhu pada saat proses kurang dari $80^\circ C$ maka proses akan berjalan lambat, sedangkan kalau lebih dari $85^\circ C$ hasil proses tidak sempurna.

Hidrogen peroksida (H_2O_2) dalam perdagangan berupa larutan dan distabilkan dengan asam. Peroksida murni merupakan cairan yang bereaksi agak asam, larut dalam air pada berbagai perbandingan. Karena kemampuannya melepaskan oksigen maka sangat efektif dipakai sebagai bahan pemutih.

Reaksi pemecahan H_2O_2 di alam tidak menimbulkan ancaman bagi lingkungan karena menghasilkan oksigen dan air. Skemanya ditunjukan pada reaksi berikut:



Pada kondisi basa, H_2O_2 mudah terurai. Zat reaktif dalam sistem pemutihan dengan H_2O_2 dalam suasana basa adalah ion perhidroksil (HOO^-) (Dence, 1996). Ion sebagai bahan aktif yang bereaksi dengan struktur karbonil pada lignin sehingga lignin terpecah dan larut pada larutan alkali (Jumantara, 2011).

Faktor yang mempengaruhi penguraian hidrogen peroksida, antara lain:

1. Pengaruh pH, hidrogen peroksida stabil dalam suasana asam. Di dalam suasana alkali mudah terurai melepaskan oksigen. Makin besar pH penguraian semakin cepat.
2. Pengaruh suhu, penguraian hidrogen peroksida juga dipengaruhi oleh suhu. Pemutihan dengan hidrogen peroksida biasanya dilakukan pada suhu 80-85°C. Apabila suhu pengerjaannya kurang dari 85°C maka proses akan berjalan lambat, dan diatas suhu tersebut proses akan berjalan cepat.
3. Pengaruh stabilisator, stabilisator berguna untuk memperlambat penguraian walaupun pada pH dan suhu tinggi.
4. Pengaruh logam atau oksidasi logam, beberapa logam atau oksida logam tertentu dapat mempercepat penguraian hidrogen peroksida seperti besi, tembaga, kobalt, dan nikel. Logam-logam tersebut disebut pembawa oksigen (*oxygen carrier*).

Pemutihan dengan H_2O_2 ini memiliki beberapa keuntungan yaitu:

1. Waktu pengerjaannya singkat, karena pada saat proses pengerjaan dengan menaikkan suhu hingga 85°C secara konstan selama ± 1 jam, maka serat akan lebih cepat diputihkan.
2. Hasil pemutihan baik dan rata, dengan menggunakan proses pemanasan maka warna asli pada serat dapat terurai dan bahan menjadi lebih putih dan rata. Hasil derajat putih yang dihasilkan juga stabil, tidak mudah menjadi kuning.

3. Kemungkinan kerusakan kecil, karena daya oksidasi hidrogen peroksida lebih kecil maka kerusakan yang dihasilkan juga kecil. Demikian juga karena pengaruh penggunaan natrium silikat sebagai stabilisator yang memperlambat penguraian dari hidrogen peroksida sehingga kerusakan lebih kecil.

Pembuangan limbah bekas proses dilakukan dengan pengaliran dengan air hingga seencer mungkin. Pada dasarnya diukur dari jumlahnya sedikit dan tidak mengubah kondisi air seperti warna, bau, rasa, dan suhu. Factor pH juga penting agar menyesuaikan pH air buangan dengan pH air netral yaitu 7. Namun demikian keseharian tidak semua pelaku usaha dapat menerapkan pengukuran pH.

2.9.2 Natrium Hipoklorit (NaOCl)

Natrium hipoklorit ialah suatu senyawa kimia dengan rumus NaOCl. Larutan natrium hipoklorit, umumnya dikenal sebagai pemutih atau *clorox*, adalah seringkali digunakan sebagai penawar infeksi (*desinfektan*) atau bahan pemutih. Dalam proses pembuatannya, natrium hipoklorit (NaClO) terbentuk ketika klor dilewatkan dalam keadaan dingin dan mengencerkan larutan natrium hidroksida (NaOH). Zat pemutih ini dibuat secara industri melalui elektrolisis dengan pemisahan minimal antara anoda dan katoda. Larutan harus dijaga di bawah suhu 40°C (melalui pendingin melingkar) untuk mencegah pembentukan natrium klorat yang tidak diharapkan.

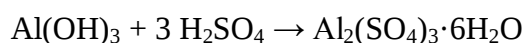


Karena, klor direduksi dan dioksidasi secara bertahap proses ini dikenal sebagai *disproporsionasi*.

2.9.3 Aluminium Sulfat (Al(SO₄)₃)

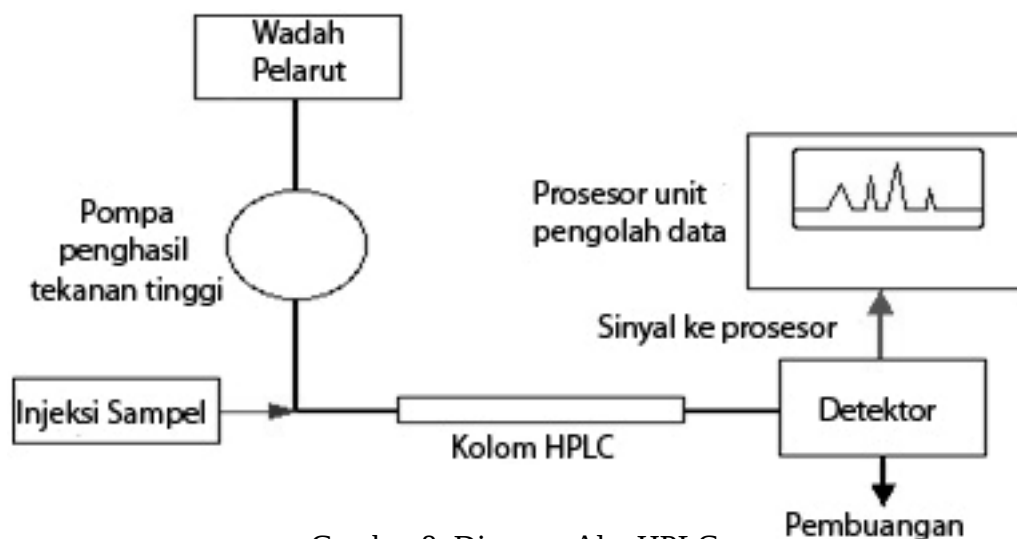
Aluminium sulfat, suatu senyawa kimia anorganik dengan rumus Al₂(SO₄)₃. Senyawa ini larut dalam air dan terutama digunakan sebagai bahan flokulasi dalam pemurnian air minum dan kilang pengolahan air limbah, dan juga dalam pembuatan kertas. Aluminium sulfat terkadang disebut sebagai sejenis alum.

Alum adalah garam sulfat ganda, dengan rumus $AM(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$, dimana A adalah kation monovalen seperti kalium atau ammonium dan M adalah ion logam trivalen seperti aluminium. Bentuk anhidrat alami seperti mineral langka *millosevichite*, yang ditemui misalnya pada lingkungan gunung api (vulkanis) dan pada pembakaran pembuangan limbah pertambangan batu bara. Aluminium sulfat jarang, jika pernah, ditemui sebagai garam anhidrat. Ia membentuk sejumlah hidrat yang berbeda, dimana heksadekahidrat $Al_2(SO_4)_3 \cdot 16H_2O$ dan oktadekahidrat $Al_2(SO_4)_3 \cdot 18H_2O$ adalah yang paling umum. Heptadekahidrat, yang rumusnya dapat ditulis sebagai $[Al(H_2O)_6]_2(SO_4)_3 \cdot 5H_2O$, terjadi secara alami sebagai mineral alunogen. Aluminium sulfat dapat dibuat dengan penambahan aluminium hidroksida, $Al(OH)_3$, ke dalam asam sulfat, H_2SO_4 :



2.10 High Pressure Liquid Chromatography (HPLC)

High Pressure Liquid Chromatography (HPLC) pada prinsipnya adalah pemisahan tiap komponen dalam sampel berdasarkan kepolarannya, untuk selanjutnya diidentifikasi secara kualitatif dan dihitung berapa konsentrasi dari masing-masing komponen tersebut.



Gambar 8. Diagram Alat HPLC

Sumber: Clark, 2007

Analisis HPLC ini dilakukan dengan membandingkan sampel berupa larutan (filtrat) dengan standar yang ada pada pengukuran. Alat ini terdiri dari kolom sebagai fase diam dan larutan tertentu sebagai fase geraknya. Yang membedakan HPLC dengan kromatografi lainnya adalah pada HPLC digunakan tekanan tinggi untuk mendorong fase gerak. Pada Kromatografi Cair Tekanan Tinggi (HPLC) efisiensi waktu dan tingkat kemurnian senyawa yang akan diisolasi dapat dilakukan dengan cepat dan maksimal. Hal ini terkait dari beberapa kelebihan dari teknik HPLC yang digunakan (Johnson dan Stevenson, 1991; Snyder *and* Kirkland, 1979). Kelebihan itu antara lain:

- a. Cepat: waktu analisis umumnya kurang dari 1 jam. Banyak analisis yang dapat diselesaikan sekitar 15-30 menit, bahkan untuk analisis yang tidak rumit (*uncomplicated*) dapat dicapai waktu kurang dari 5 menit.
- b. Resolusi: berbeda dengan kromatografi gas (KG), kromatografi cair mempunyai dua fasa dimana interaksi selektif dapat terjadi. Kemampuan zat padat berinteraksi secara selektif dengan fasa diam dan fasa gerak pada HPLC memberikan parameter tambahan untuk mencapai pemisahan yang diinginkan.
- c. Sensitivitas detektor: detektor absorpsi UV yang biasa digunakan dalam HPLC dapat mendeteksi kadar dalam jumlah nanogram (10^{-9} gram) dari 23bermacam-macam zat. Detektor-detektor Fluorosensi dan Elektrokimia dapat 34 mendeteksi sampai picogram (10^{-12} gram). Dan beberapa detektor lain juga dapat digunakan dalam HPLC seperti Spektrofotometer massa, Indeks refraksi, ELSD dan lain sebagainya.
- d. Kolom yang dapat digunakan kembali: Berbeda dengan kolom kromatografi klasik, kolom HPLC dapat digunakan kembali. Hal ini disebabkan karena keseluruhan sampel yang disuntikkan kedalam kolom dapat terdorong keluar oleh tekanan yang tinggi.
- e. Mudah rekoverti sampel: umumnya detektor yang digunakan dalam HPLC tidak menyebabkan destruktif (kerusakan) terhadap komponen sampel yang dianalisis, oleh karena itu sampel tersebut dapat dengan mudah dikumpulkan setelah melewati detektor. Pelarutnya dapat dihilangkan dengan cara menguapkannya.