

## SAKARIFIKASI LUMPUR PRIMER INDUSTRI KERTAS SECARA *FED BATCH* MENJADI GLUKOSA UNTUK PEMBUATAN BIOETANOL

Mukharomah Nur Aini\*, Rina S Soetopo, Krisna Septiningrum, Saepulloh, Prima Besty Asthary

Balai Besar Pulp dan Kertas  
Jl. Raya Dayeuhkolot No. 132, Bandung

Diterima : 26 Juli 2017, Revisi akhir : 22 Desember 2017, Disetujui terbit : 30 Desember 2017

### *FED BATCH SACCHARIFICATION OF PRIMARY PAPER MILL SLUDGE TO PRODUCE FERMENTABLE SUGAR*

#### ABSTRACT

*Research of fed batch saccharification using paper mill primary sludge from Waste Water Treatment Plant (WWTP) has been conducted. The research was conducted in several stages i.e. sludge characterization, determining optimum dosage of cellulase and glucosidase through batch saccharification, and continued with fed batch saccharification. The characterization was performed on 3 primary sludge type from 3 paper mill, which are print paper mill with virgin pulp raw material, paper tissu mill with virgin pulp raw material and core board mill with waste paper raw material. The characterization results showed that the sludge derived from the tissu paper mill with virgin pulp raw material has the highest content of cellulose which is 47.06%, this sludge was used as further research material. The initial trial of batch saccharification at 6% w/w and temperature of 60°C gave optimum dosage of cellulase 9 FPU/g cellulose and  $\beta$ -glucosidase 80 IU/g cellulose with reducing sugar 20.01 g/L and a saccharification efficiency of 63.84%. Fed batch saccharification was performed on tissu paper mill sludge at cellulase and glucosidase enzyme doses respectively 9 FPU/g cellulose and 80 IU/g cellulose, temperature 60°C and initial pH of 4 with two variables, which are cumulative solid content (10%, 14%, and 18% w/v) and feed enzyme system (at the beginning and in step). The best results were obtained at fed batch sakarifikasi with gradual enzyme feeding at 14% solids content resulting in reducing sugar 43.899 g/L and efficiency 60.03%.*

*Keywords: primary sludge, saccharification, fed batch, cellulase,  $\beta$ -glucosidase*

#### ABSTRAK

Penelitian sakarifikasi lumpur primer dari Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL) industri kertas secara *fed batch* telah dilakukan. Penelitian dilakukan dalam beberapa tahap yaitu karakterisasi lumpur, penentuan dosis optimum selulase dan glukosidase melalui sakarifikasi *batch* dan dilanjutkan tahap sakarifikasi *fed batch*. Karakterisasi dilakukan terhadap 3 jenis lumpur primer, masing-masing yang berasal dari pabrik kertas cetak berbahan baku *virgin pulp*, pabrik kertas tissu berbahan baku *virgin pulp* dan pabrik kertas *coreboard* berbahan baku kertas bekas. Hasil karakterisasi menunjukkan bahwa lumpur yang berasal dari industri kertas tissu berbahan baku *virgin pulp* memiliki kandungan selulosa tertinggi yaitu 47,06% sehingga digunakan lanjut sebagai bahan penelitian. Percobaan awal sakarifikasi *batch* pada kadar padatan lumpur 6% dan suhu 60°C memberikan kondisi optimum dosis selulase 9 FPU/g selulosa dan  $\beta$ -glukosidase 80 IU/g selulosa dengan menghasilkan gula pereduksi sebesar 20,01 g/L dan efisiensi sakarifikasi 63,84%. Sakarifikasi secara *fed batch* dilakukan terhadap lumpur primer dari pabrik kertas tissu pada pada dosis selulase dan glukosidase masing-masing 9 FPU/g selulosa dan 80 IU/g selulosa, suhu 60°C, pH awal 4 dengan 2 variabel yaitu perlakuan kadar padatan lumpur (10%, 14%, dan 18%) dan sistem pengumpanan enzim (secara bertahap maupun di awal). Hasil penelitian terbaik diperoleh pada sakarifikasi *fed batch* dengan pengumpanan enzim secara bertahap pada kadar padatan 14% yang menghasilkan gula pereduksi 43,899 g/L dan efisiensi 60,03%.

Kata kunci: lumpur primer, sakarifikasi, *fed batch*, selulase,  $\beta$ -glukosidase

## PENDAHULUAN

Industri kertas menghasilkan limbah lumpur yang berasal dari Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL) dalam jumlah cukup banyak, yaitu 4 – 10% berat produk pada industri kertas dengan bahan baku *virgin pulp*, dan 10 – 50% berat produk pada industri kertas dengan bahan baku serat daur ulang (Lynd *et al.*, 2001). Lumpur IPAL dari industri pulp dan kertas umumnya terdiri dari lumpur primer dari IPAL sistem fisika-kimia yang berupa serat halus dan lumpur sekunder dari IPAL sistem biologi yang berupa biomassa mikroba (Soetopo *et al.*, 2012). Lumpur primer memiliki komponen utama berupa serat (*finer reject*) yang tidak dapat didaur ulang lagi karena ukuran serat terlalu kecil pada *screen* dan mesin kertas. Selain serat pendek (*finer reject*), lumpur primer juga mengandung kaolin, *filler* dan kontaminan lain yang dihasilkan industri pulp dan kertas (Marques *et al.*, 2008; Elliston *et al.*, 2013). Komponen utama dari *finer reject* yang berasal dari industri kertas tersebut adalah selulosa yang merupakan bahan yang potensial untuk dihidrolisis menghasilkan glukosa, dan bila difermentasi lebih lanjut akan menghasilkan etanol.

Serat yang terkandung di dalam lumpur primer telah mengalami proses kimia dan fisika pada proses pembuatan pulp dan kertas sebelumnya, yaitu proses *pulping*, *bleaching*, dan *refining*, yang efektif mengurangi lignin dan hemiselulosa sehingga polisakarida di dalamnya lebih mudah dihidrolisis secara enzimatis. Kondisi ini dapat mengurangi energi yang diperlukan untuk perlakuan awal yang bertujuan untuk meningkatkan kemampuan hidrolisis enzimatis seperti yang umumnya diperlukan pada bahan baku bioetanol yang berasal dari bahan ligno selulosa (Marques *et al.*, 2008; Elliston *et al.*, 2013). Selain itu, penggunaan lumpur primer sebagai bahan baku bioetanol memungkinkan untuk integrasi proses ke infrastruktur pabrik yang telah ada (Fan dan Lynd, 2007).

Penelitian pembuatan bioetanol dari lumpur industri pulp dan kertas telah dilakukan melalui proses sakarifikasi fermentasi semi simultan secara *batch* (Soetopo *et al.*, 2012). Pada penelitian tersebut sakarifikasi lumpur secara *batch* menghasilkan gula pereduksi yang meningkat dari kadar padatan 2% sampai kadar padatan 6%, namun pada kadar padatan 8% ke atas menunjukkan penurunan. Penurunan tersebut terjadi karena pencampuran antara *sludge*

(kadar padatan di atas 6%) dengan enzim tidak dapat berlangsung sempurna sehingga reaksi hidrolisis menjadi kurang efektif. Penelitian tersebut menghasilkan bioetanol dengan kadar rendah pada kisaran 28,9 – 34,5 g/L, sehingga kurang ekonomis bila dilakukan distilasi untuk menghasilkan etanol murni. Sakarifikasi secara *batch* *sludge* primer dari kertas tisu toilet dilakukan pada konsentrasi substrat 4,08% dan diperoleh derajat sakarifikasi 82,1% (Peng dan Cheng, 2011). Menurut (Prasetyo *et al.*, 2011) agar biaya distilasi ekonomis, diperlukan konsentrasi bioetanol dalam umpan distilasi minimal 40 g/L.

Untuk menghasilkan etanol dengan konsentrasi tinggi diperlukan kadar selulosa yang tinggi, sehingga kadar glukosa yang dihasilkan dari sakarifikasi juga tinggi. Kendala yang dihadapi pada sakarifikasi dengan kadar padatan tinggi adalah perlunya pengadukan pada konsentrasi substrat (*sludge*) yang tinggi terutama di atas 20% (Elliston *et al.*, 2014). Terjadinya masalah pada pengadukan tersebut, disebabkan oleh viskositas medium yang tinggi. Selain itu kadar padatan yang tinggi juga akan meningkatkan konsentrasi inhibitor (Olofsson *et al.*, 2010; Elliston *et al.*, 2014). Salah satu cara untuk mengatasi kendala tersebut adalah menggunakan pengumpanan secara *fed batch*. Pada proses sakarifikasi secara *fed batch*, umpan ditambahkan secara bertahap yaitu pada saat substrat telah terdegradasi sehingga viskositas media berkurang (Elliston *et al.*, 2013). Sakarifikasi kertas bekas dengan pengumpanan secara bertahap pada kadar padatan kumulatif 50% menghasilkan glukosa dengan konsentrasi 1,33 mol/L dan derajat sakarifikasi mendekati 99% (Elliston *et al.*, 2014).

Untuk menghasilkan etanol dengan *yield* yang tinggi dan konsentrasi cukup besar, maka proses Sakarifikasi dan Fermentasi Semi Simultan (SFSS) secara *fed batch* merupakan proses yang tepat. Proses ini meliputi hidrolisis awal secara *fed batch*, kemudian dilanjutkan dengan proses SFS tanpa memisahkan antara hidrolisat dan endapannya. Faktor yang berpengaruh terhadap hidrolisis secara *fed batch* antara lain kadar padatan substrat dan cara pengumpanan selulase dan  $\beta$  glukosidase. Pada penelitian ini dilakukan hidrolisis secara *fed batch* yang dilakukan pada dosis optimum selulase dan  $\beta$  glukosidase. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar padatan lumpur optimum dan cara pengumpanan selulase dan  $\beta$  glukosidase

yang tepat pada sakarifikasi lumpur primer industri kertas secara *fed batch*.

## **BAHAN DAN METODE**

### **Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah lumpur primer dari IPAL yang diambil dari 3 (tiga) pabrik kertas yang berbeda produk dan bahan bakunya, yaitu lumpur A (berasal dari pabrik kertas dengan produk kertas cetak berbahan baku *virgin pulp*), lumpur B (berasal dari pabrik kertas tisu berbahan baku *virgin pulp*) dan lumpur C (berasal dari pabrik kertas *coreboard* berbahan baku kertas bekas). Lumpur A dan C diambil dari unit *primary clarifier*, sedangkan lumpur B diambil dari hasil proses *belt press*. Proses hidrolisis selulosa dilakukan secara enzimatis menggunakan selulase dengan aktivitas 18,06 FPU/mL dan  $\beta$ -glukosidase dengan aktivitas 214 IU/mL. Larutan penyangga natrium sitrat 0,2 M digunakan untuk pengkondisi pH pada proses hidrolisis.

### **Metode**

Secara garis besar penelitian dilakukan dalam tiga tahap yaitu (1) karakterisasi dan perlakuan awal lumpur primer, (2) percobaan pendahuluan penentuan dosis optimum selulase dan  $\beta$ -glukosidase, (3) sakarifikasi secara *fed batch* terhadap lumpur terpilih dan sebagai pembandingan dilakukan juga sakarifikasi secara *batch*.

#### **1. Karakterisasi dan Perlakuan Awal Lumpur Primer**

Karakterisasi lumpur primer dilakukan di Balai Besar Pulp dan Kertas (BBPK) yang meliputi beberapa parameter yaitu kadar selulosa (SNI 0444 : 2009), hemiselulosa (SNI 14-1304-1989), lignin (SNI 0492-2008), abu (SNI ISO 776 : 2010), ekstraktif (14-1032 : 1989), dan logam berat (Fe, Ni, Ag, Co, Pb, Cd, Zn, Cu, Cr) yang mengacu pada Standard Nasional Indonesia (SNI) tahun 2009. Perlakuan awal terhadap lumpur primer meliputi pengeringan dengan cara dikering anginkan, penggilingan menggunakan *hammer mill*, dan penyaringan untuk memperoleh lumpur yang homogen pada ukuran sekitar 60 mesh.

#### **2. Percobaan Pendahuluan Penentuan Dosis Optimum Selulase dan $\beta$ -Glukosidase**

Penentuan dosis optimum selulase dan  $\beta$ -glukosidase pada sakarifikasi dilakukan secara *batch* di dalam labu Erlenmeyer 250 mL dengan volume cairan 100 mL, kadar padatan lumpur 6%, dan pH awal 4,5 yang diatur menggunakan larutan penyangga natrium sitrat 0,2 M. Sakarifikasi dilakukan menggunakan *shaker water bath* dengan kecepatan 110 rpm pada suhu 60 °C. Dari hasil percobaan pendahuluan sakarifikasi dengan selulase diperoleh waktu optimum 3 hari, sehingga penentuan dosis optimum selulase dilakukan selama 3 hari dengan variasi dosis selulase (1,8 – 14 FPU/g selulosa). Sedangkan penentuan dosis optimum  $\beta$ -glukosidase dilakukan pada dosis optimum selulase, selama 7 hari dengan variasi dosis  $\beta$ -glukosidase (0 – 100 IU/g selulosa). Setiap 24 jam sekali dilakukan sampling untuk analisis gula pereduksi.

#### **3. Sakarifikasi *Fed Batch* terhadap Lumpur Primer Terpilih**

Sakarifikasi lumpur primer dilakukan dalam reaktor berpengaduk berukuran 300 ml dengan volume cairan 100 mL, pada suhu 60 °C, pH awal 4, dengan dosis selulase 9 FPU/g selulosa dan  $\beta$ -glukosidase 80 IU/g selulosa selama 96 jam. Perlakuan sakarifikasi dapat dilihat pada Tabel 1. Sakarifikasi dilakukan secara *fed batch* (perlakuan 1 sampai 6), dan sebagai pembandingan dilakukan juga sakarifikasi secara *batch* (perlakuan 7 sampai 9). Percobaan sakarifikasi baik secara *batch* maupun *fed batch* dilakukan pada variasi kadar padatan 10, 14 dan 18%. Pada proses sakarifikasi *fed batch* dilakukan pengumpanan lumpur primer di awal sebanyak 6 g, selanjutnya dilakukan penambahan lumpur primer sebanyak 4 g secara bertahap setelah 6, 24, dan 30 jam proses sakarifikasi hingga dicapai kadar padatan lumpur kumulatif 10, 14, dan 18%. Pengumpanan selulase dan  $\beta$ -glukosidase dilakukan dengan dua cara yaitu sekali pada awal proses sakarifikasi (*batch*) dan secara bertahap (*fed batch*) bersamaan dengan lumpur sesuai dengan perlakuan. Masing-masing perlakuan sakarifikasi (*batch* dan *fed batch*) dilakukan 3 ulangan. Sampling dilakukan setiap 24 jam sekali untuk pengukuran pH dan analisis glukosa sebagai gula pereduksi (Metode Somogyi Nelson) menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 620 nm.

Tabel 1. Perlakuan Sakarifikasi Lumpur Primer

Perlakuan	Cara Pengumpanan	Kadar Padatan	Lumpur primer				Cara Pengumpanan Selulase dan Glukosidase
			Waktu Pengumpanan dan Jumlah Umpan (g)				
			Jam ke 0	Jam ke 6	Jam ke 24	Jam ke 30	
1	<i>Fed batch</i>	10	6	4	-	-	<i>Batch</i>
2	<i>Fed batch</i>	10	6	4	-	-	<i>Fed batch</i>
3	<i>Fed batch</i>	14	6	4	4	-	<i>Batch</i>
4	<i>Fed batch</i>	14	6	4	4	-	<i>Fed batch</i>
5	<i>Fed batch</i>	18	6	4	4	4	<i>Batch</i>
6	<i>Fed batch</i>	18	6	4	4	4	<i>Fed batch</i>
7	<i>Batch</i>	10	10	-	-	-	<i>Batch</i>
8	<i>Batch</i>	14	14	-	-	-	<i>Batch</i>
9	<i>Batch</i>	18	18	-	-	-	<i>Batch</i>

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Karakterisasi Lumpur Primer**

Pada penelitian ini digunakan lumpur primer yang diambil dari tiga industri kertas yang berbeda. Hasil karakterisasi lumpur primer dapat dilihat pada Tabel 2.

Serat selulosa yang terkandung dalam lumpur di industri kertas dapat berasal dari serat yang lolos dari pembuatan buburan pulp, *reject* proses penyediaan stok, pembuatan lembaran kertas (mesin kertas) dan unit pemulihan serat yang masuk ke pengolahan IPAL sistem kimia fisika. Lumpur tersebut merupakan serat lolos *screen* dan mesin kertas yang tidak dapat didaur ulang kembali karena berpengaruh pada penurunan kualitas kertas yang dihasilkan (Marques *et al.*, 2008). Berdasarkan data hasil karakterisasi pada Tabel 2, komposisi ketiga lumpur primer yang digunakan berbeda antara lumpur primer yang satu dengan yang lainnya. Jumlah maupun karakteristik lumpur sangat bervariasi tergantung dari bahan baku, proses pembuatan, dan produk yang dihasilkan (Soetopo *et al.*, 2012). Dari data Tabel 2 terlihat bahwa lumpur primer pada penelitian ini mayoritas mengandung selulosa, hemiselulosa, lignin, ekstraktif dan anorganik. Ketiga lumpur primer tersebut mengandung selulosa dalam rentang 36,80-47,06% dengan kandungan selulosa tertinggi terdapat pada lumpur primer dari industri kertas tisu berbahan baku *virgin pulp* (lumpur B). Namun, secara umum kandungan selulosa dalam lumpur yang digunakan dalam penelitian

ini lebih rendah dibandingkan dengan kandungan selulosa dalam lumpur primer yang berasal dari industri kertas dengan bahan baku yang sama yang dilakukan beberapa tahun sebelumnya yaitu 73,45% (industri kertas dengan bahan baku *virgin pulp*), 55,29% (industri kertas dengan bahan baku kertas bekas) (Soetopo *et al.*, 2012) dan 60,9% (pabrik kertas tisu toilet) (Peng dan Chen, 2011).

Hal tersebut kemungkinan karena saat ini recovery serat pada industri kertas sudah lebih bagus dibandingkan sebelumnya, sehingga serat yang terbuang ke IPAL lebih sedikit dan kandungan selulosa dalam lumpur primer menjadi berkurang. Menurut (Alda, 2008) komposisi lumpur primer industri kertas cenderung beragam dan tergantung

Tabel 2. Komposisi Lumpur Primer Industri Kertas

No.	Parameter	Lumpur Primer		
		A	B	C
1	Selulosa,%	39,16	47,06	36,80
2	Hemi selulosa,%	5,86	5,52	8,80
3	Lignin,%	11,28	12,46	16,47
4	Ekstraktif,%	1,10	5,0	6,51
5	Abu,%	36,23	18,25	23,54

*Keterangan:*  
 A: Lumpur primer dari primary clarifier pabrik kertas cetak berbahan baku *virgin pulp*  
 B: Lumpur primer dari belt press pabrik kertas tisu berbahan baku *virgin pulp*  
 C: Lumpur primer dari primary clarifier pabrik kertas coreboard berbahan baku kertas bekas

pada efisiensi sistem fibre recovery yang dapat mempengaruhi kandungan inorganik dalam lumpur tersebut. Selulosa pada lumpur primer berasal dari serat-serat halus (*finer*) yang lolos dari proses penyediaan stok (*stock preparation*) dan mesin kertas kemudian masuk ke dalam sistem IPAL (Alkasrawi *et al.*, 2016).

Lignin berpotensi sebagai inhibitor pada proses hidrolisis selulosa secara enzimatis. Keberadaan lignin bersifat sangat menghambat dalam proses degradasi selulosa dan hemiselulosa menjadi glukosa (Anindyawati, 2009). Kandungan lignin pada sampel lumpur primer bervariasi pada rentang 11,28-16,47%. Rendahnya kandungan lignin merupakan kelebihan yang dimiliki oleh lumpur primer yang berasal dari industri kertas berbahan baku pulp *virgin*. Semakin rendah kandungan lignin, akan semakin besar tingkat efisiensi hidrolisis selulosa secara enzimatis (Mussatto *et al.*, 2008). Hal tersebut terjadi karena lignin merupakan penghalang fisik bagi selulosa yang akan dihidrolisis oleh selulase dan lignin akan menyerap dan membuat selulase tidak aktif (Gao *et al.*, 2014). Selain itu, produk degradasi lignin berpotensi menghambat aktivitas enzim selulase dalam proses sakarifikasi. Hasil degradasi lignin seperti tannin, gallik, hidroksil sinamik dan asam 4-hidroksibenzoat, bersama dengan vanillin dapat menyebabkan deaktivasi selulase/ $\beta$ -glukosidase sebesar 20-80% setelah inkubasi 24 jam (Ximenes *et al.*, 2011). Kandungan lignin dalam lumpur A dan lumpur B tidak berbeda jauh, karena keduanya berasal dari industri kertas dengan bahan baku yang sama yaitu *virgin pulp*, namun jauh lebih kecil dibandingkan lumpur C yang berasal dari industri kertas yang menghasilkan *core board* dengan bahan baku kertas berkas yang mengandung lignin lebih banyak.

Kadar abu pada penelitian ini berkisar antara 18,25% sampai 36,23%. Abu pada lumpur primer berasal dari komponen mineral yaitu kaolin,

CaCO<sub>3</sub> (digunakan sebagai bahan pengisi atau *coating*) dan TiO<sub>2</sub> sebagai bahan pemutih (Lynd *et al.*, 2001). Abu merupakan senyawa anorganik, tidak larut dalam air dan bersifat inert. Abu yang larut dalam asam berasal dari CaCO<sub>3</sub> sedangkan yang tidak larut berasal dari kaolin. Kadar abu tinggi pada hidrolisis dengan kadar padatan yang tinggi menyebabkan meningkatnya viskositas dan akan mengurangi kapasitas bioreaktor karena mengurangi bagian dari selulosa yang terkonversi (Kang *et al.*, 2011 dan Wang *et al.*, 2010). Kadar ekstraktif pada lumpur primer yang digunakan dalam penelitian ini berkisar 1,1-6,51% berasal dari struktur lignoselulosa dan terdiri dari asam resin, tanin dan terpen yang relatif kurang toksik dibandingkan dengan produk degradasi lignin (Harmsen *et al.*, 2010)

Data kandungan logam berat pada ketiga sampel lumpur primer ditunjukkan pada Tabel 3. Berdasarkan data pada Tabel 3, dapat diketahui bahwa logam berat yang paling banyak terkandung pada lumpur primer adalah besi (Fe) berkisar 506,59 – 3062,58 mg/kg, kemudian logam terbanyak selanjutnya adalah seng (Zn), tembaga (Cu), dan kromium (Cr). Menurut Tejirian dan Xu (2010), pada konsentrasi 10 mM ion-ion logam bivalen Co<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, dan Zn<sup>2+</sup> sedikit menghambat proses hidrolisis enzimatis selulosa oleh selulase, sedangkan Fe<sup>2+</sup> (baik sebagai FeSO<sub>4</sub> maupun FeCl<sub>2</sub>) serta Cu<sup>2+</sup> secara signifikan dapat menurunkan laju hidrolisis enzimatis selulosa hingga 70% setelah 4 hari. Berdasarkan perhitungan dengan menggunakan data pada Tabel 3, konsentrasi kandungan logam berat Co<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup> dan Fe<sup>2+</sup> pada semua jenis lumpur pada kadar tertinggi dalam percobaan sakarifikasi (18%) masih di bawah 10 mM sehingga keberadaan logam berat tersebut dalam lumpur A, B, dan C tidak berpotensi menghambat aktivitas selulase. Berdasarkan hasil karakterisasi ketiga lumpur primer dari tiga jenis industri kertas berbeda tersebut, lumpur primer yang akan

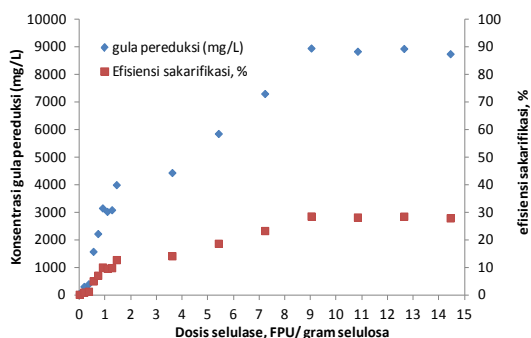
Tabel 3. Kandungan Logam Berat pada Lumpur IPAL Industri Kertas

Lumpur	Kandungan Logam Berat (mg/kg)								
	Fe	Ni	Ag	Co	Pb	Cd	Zn	Cu	Cr
A	506,59	<5,02	1,88	<4,01	<1,78	<0,75	71,86	56,73	3,22
B	1052,15	<4,57	2,55	<3,66	<0,98	<0,69	55,73	29,12	10,03
C	3062,58	<2,51	1,74	<2,01	<0,59	<0,38	234,93	111,67	7,18

digunakan untuk penelitian selanjutnya adalah lumpur primer industri kertas tisu berbahan baku *pulp virgin* dengan pertimbangan kandungan selulosa yang paling tinggi dengan kandungan abu dan lignin yang relatif lebih rendah sehingga cukup berpotensi untuk menghasilkan glukosa.

### **Percobaan Pendahuluan Penentuan Dosis Optimum Selulase dan B-Glukosidase pada Sakarifikasi**

Hasil penentuan dosis optimum selulase terlihat pada Gambar 1 yang terlihat bahwa konsentrasi gula pereduksi naik secara cepat sampai dosis enzim 9 FPU/g selulosa, setelah itu cenderung konstan. Hal tersebut sejalan dengan penelitian (Peng dan Chen, 2011) yang menyatakan bahwa waktu hidrolisis dan dosis selulosa sangat berpengaruh terhadap hidrolisis enzimatis dan derajat sakarifikasi naik cepat seiring dengan naiknya waktu dan dosis enzim sampai kondisi optimum. Sakarifikasi lumpur primer secara *batch* mencapai hasil optimum pada dosis selulase 9 FPU/g selulosa dengan hasil gula pereduksi 8,95 g/L dan efisiensi sakarifikasi sebesar 28,6%. Hasil tersebut lebih rendah dibandingkan hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Saepulloh *et al.* (2012) dengan hidrolisis dilakukan pada kadar padatan 4% selama 72 jam dan dosis selulosa 10 FPU/g selulosa yang menghasilkan derajat sakarifikasi sekitar 38% dan gula pereduksi 12,5 g/L. Hal tersebut terjadi karena kadar padatan yang digunakan pada penelitian ini lebih tinggi sehingga derajat sakarifikasinya lebih rendah. Hasil tersebut sesuai dengan pendapat (Peng dan Chen, 2011) yang menyatakan bahwa pengaruh dosis enzim pada derajat sakarifikasi tergantung juga



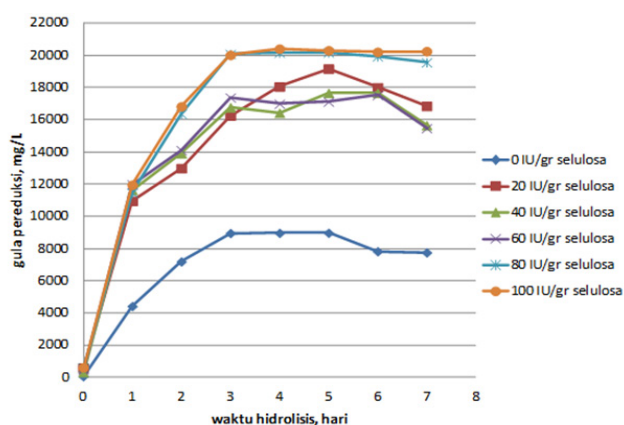
Gambar 1. Penentuan Dosis Optimum Selulase

pada kadar padatannya. Sedangkan konsentrasi gula pereduksi yang lebih rendah disebabkan karena kadar selulosa dalam penelitian ini juga lebih rendah dibandingkan dengan penelitian sebelumnya.

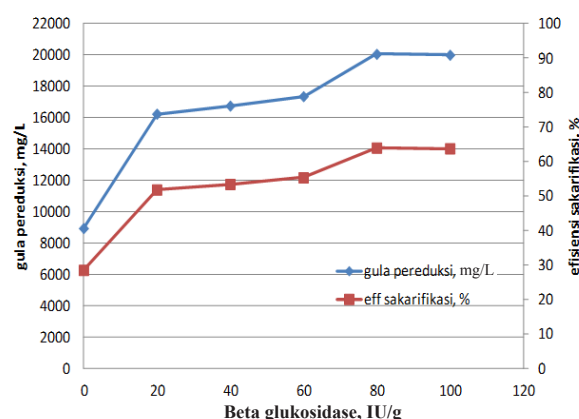
Penentuan dosis  $\beta$ -glukosidase dilakukan pada dosis selulase optimum yaitu 9 FPU/g selulosa dan hasilnya dapat dilihat pada Gambar 2 A dan 2 B. Dari Gambar 2 A dan 2 B terlihat bahwa hidrolisis optimum terjadi pada hari ke 3 dengan dosis  $\beta$ -glukosidase 80 IU/g selulosa, menghasilkan konsentrasi gula pereduksi 20,01 g/L dan efisiensi sakarifikasi 63,84%. Penambahan  $\beta$ -glukosidase mampu menghidrolisis lebih lanjut selobiosa yang terbentuk dari hidrolisis menggunakan selulase sehingga akan meningkatkan kadar gula pereduksi. Penambahan  $\beta$ -glukosidase mampu mencegah inhibisi produk oleh selobiose sehingga meningkatkan derajat hidrolisis. Konsentrasi substrat berbanding terbalik dengan derajat hidrolisisnya bahkan pada dosis enzim per substrat yang sama.  $\beta$ -glukosidase tidak hanya meningkatkan hidrolisis namun juga laju awal hidrolisis (Elliston *et al.*, 2014). Konsentrasi gula pereduksi yang dihasilkan dari penelitian ini lebih rendah dari dibandingkan dengan penelitian (Soetopo *et al.*, 2012) yang menggunakan lumpur primer dari industri kertas dengan bahan baku *virgin pulp* pada kadar padatan yang sama pada dosis selulase 9 FPU/g selulosa dan dosis  $\beta$ -glukosidase 67 IU/g selulosa dan menghasilkan gula pereduksi 31,3 g/L dan efisiensi hidrolisis 64%. Hal tersebut dikarenakan selulosa yang terkandung dalam lumpur sebesar 47,06% jauh lebih rendah dari pada kandungan selulosa dalam lumpur yang digunakan pada penelitian sebelumnya (Soetopo *et al.*, 2012) yaitu sekitar 73% sehingga selulosa yang terkonversi menjadi glukosa juga lebih kecil. Walaupun demikian efisiensi hidrolisis pada kedua penelitian tersebut hampir sama. Nilai pH selama sakarifikasi masih berada pada pH optimum sakarifikasi, yaitu 4-5.

### **Sakarifikasi secara *Fed Batch***

Sakarifikasi secara *fed batch* dilakukan pada dosis enzim optimum yaitu dosis selulase 9 FPU/g selulosa dan  $\beta$ -glukosidase 80 IU/g selulosa. Proses *fed batch* mempunyai kelebihan yaitu viskositas medium dapat dijaga tetap rendah karena umpan masuk reaktor dilakukan secara bertahap yaitu pada saat viskositas medium



A



B

Gambar 2. Penentuan Dosis Optimum Glukosidase

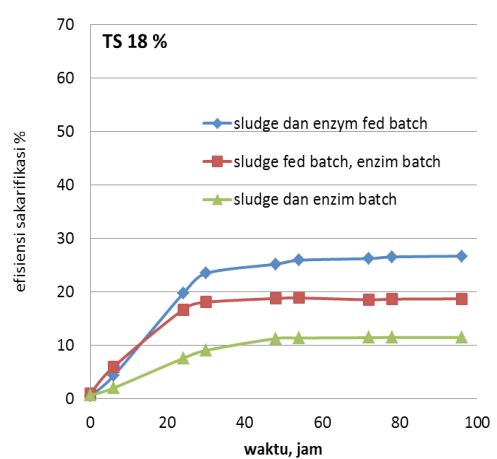
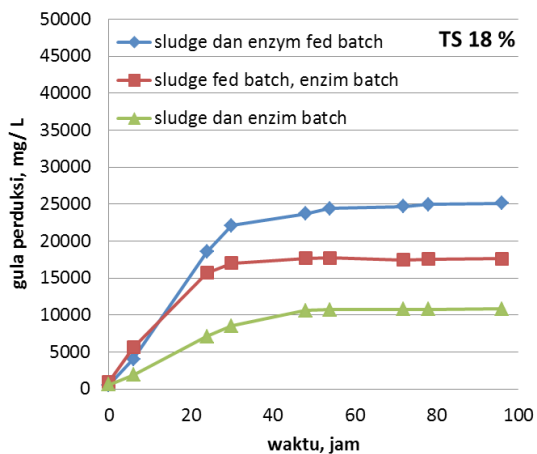
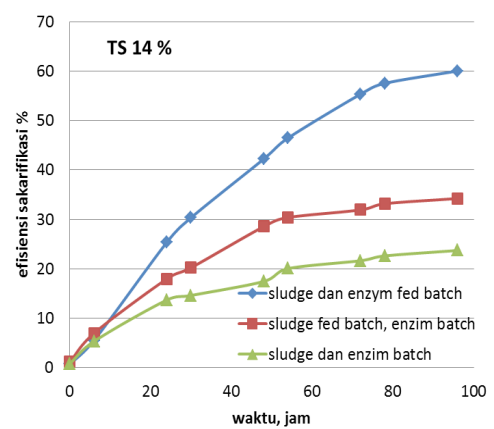
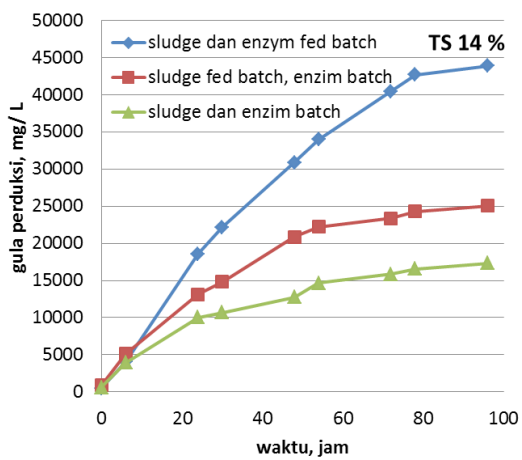
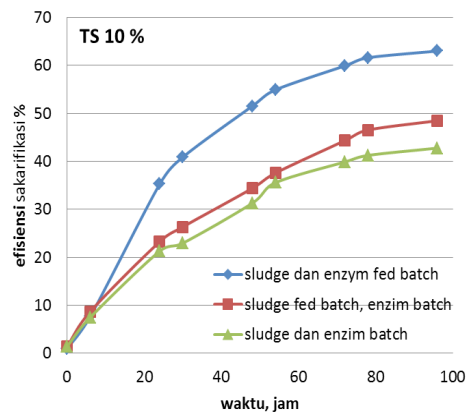
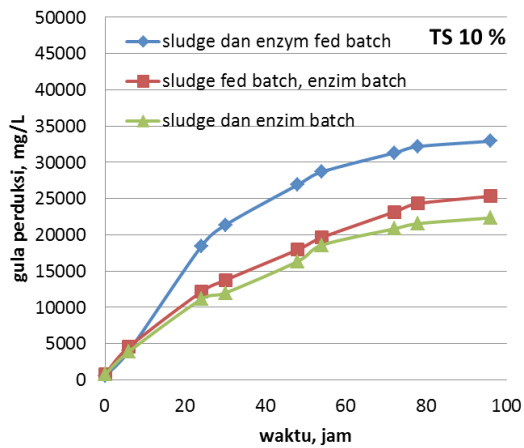
menurun karena degradasi enzimatik (Olofsson *et al.*, 2010). Kadar gula pereduksi dan efisiensi sakarifikasi dapat dilihat pada Gambar 3, 4 dan 5.

Dari Gambar 3 dan 4 terlihat bahwa nilai gula pereduksi maupun efisiensi sakarifikasi pada percobaan sakarifikasi secara *fed batch* lebih tinggi dibandingkan pada sakarifikasi secara *batch*. Hal tersebut disebabkan pada sakarifikasi secara *fed batch*, penambahan lumpur terjadi pada saat sebagian selulosa telah terdegradasi sehingga konsistensi medium terjaga rendah. Pada proses sakarifikasi secara *batch*, semua lumpur dimasukkan pada awal proses sehingga konsistensi medium langsung meningkat berakibat transfer massa antara enzim dengan substrat tidak berjalan baik, yang akan menurunkan kemampuan enzim serta mengganggu pembebasan glukosa yang terbentuk dan menurunkan efisiensi hidrolisis. Proses sakarifikasi *fed batch* dengan pengumpanan enzim secara bertahap menghasilkan konsentrasi gula pereduksi maupun efisiensi hidrolisis lebih tinggi bila dibandingkan dengan pengumpanan enzim di awal atau secara *batch*. Hal ini terjadi karena pada pengumpanan enzim yang ditambahkan semua di awal, ada kemungkinan enzim banyak yang terserap oleh lignin maupun inhibitor lain sehingga pada saat ditambahkan umpan lumpur berikutnya, maka aktivitas enzim telah berkurang.

Pada Gambar 3 terlihat bahwa pada sakarifikasi secara *fed batch* dengan pengumpanan enzim bertahap, nilai gula pereduksi naik dari kadar padatan 10% sampai 14% kemudian turun pada kadar padatan 18%. Hal ini terjadi karena semakin

tinggi kadar padatan maka kadar selulosa akan semakin tinggi pula sehingga akan semakin banyak selulosa yang terhidrolisis menjadi glukosa. Namun pada kadar padatan 18%, gula pereduksi turun. Hal tersebut disebabkan karena senyawa selain selulosa dalam lumpur cukup tinggi yaitu sekitar 53%, senyawa ini tidak akan terhidrolisi selama proses sakarifikasi, dan terakumulasi selama proses *fed batch*, sehingga mengganggu transfer massa antara substrat dan enzim banyak teradsorpsi pada senyawa non selulosa sehingga menurunkan aktivitas enzim. Adanya akumulasi inhibitor kemungkinan juga mengganggu proses sakarifikasi. Inhibitor tersebut kemungkinan berasal dari lignin dan senyawa anorganik. Menurut Lark *et al.* (1997), lignin merupakan penghalang fisik selulosa dan enzim selulase serta akan menyerap dan dapat membuat enzim selulase tidak aktif. Zat anorganik juga mengurangi efisiensi enzim karena akan menempel pada enzim (Wang *et al.*, 2010).

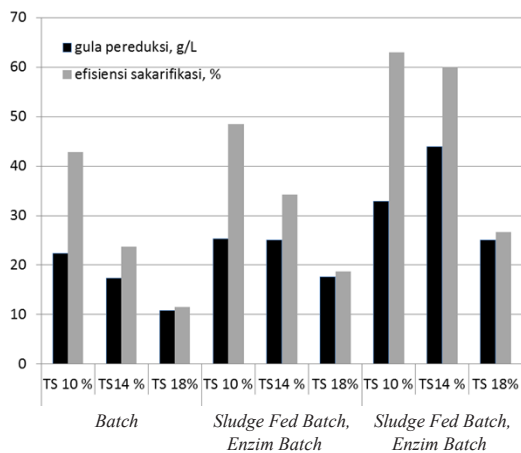
Pada Gambar 4 dan 5 terlihat bahwa pada semua proses baik *batch* maupun *fed batch*, efisiensi sakarifikasi menurun dengan naiknya kadar padatan total dari 6% sampai 18%. Hal tersebut disebabkan oleh makin tinggi kadar padatan maka pengadukan akan semakin sulit karena naiknya konsistensi lumpur. Kadar padatan yang tinggi berpengaruh pada transfer massa antara enzim dengan substrat, menurunkan kemampuan enzim dan mengganggu pembebasan monomer gula yang terbentuk yang menyebabkan kecepatan hidrolisis menurun (Kang *et al.*, 2011). Pada proses sakarifikasi, selulosa terdegradasi oleh selulase dan  $\beta$  glukosidase menjadi selobiosa



Gambar 3. Kadar Gula Pereduksi terhadap Waktu Hidrolisis pada Sakarifikasi

Gambar 4. Efisiensi Sakarifikasi terhadap Waktu Hidrolisis pada Sakarifikasi





Gambar 5. Konsentrasi Gula Pereduksi dan Efisiensi Sakarifikasi pada Sakarifikasi

dan glukosa, serta melepaskan air bebas yang akan mengurangi viskositas suspensi substrat. Penurunan yield pada kadar padatan yang tinggi dalam sakarifikasi disebut *solid effect*. Penurunan konversi pada peningkatan kadar padatan menunjukkan korelasi linier pada kadar padatan awal 5 sampai 30% (Kristensen *et al.*, 2009). Penyerapan air oleh selulosa sampai dengan 15% menyebabkan media dan substrat menjadi kental sehingga memerlukan gaya yang cukup tinggi untuk terjadi pengadukan dan pencampuran, dan substrat ligno selulosa dengan konsentrasi tinggi menyebabkan *solid effect* (Elliston *et al.*, 2013), sehingga produk glukosa yang dihasilkan berkurang pada saat konsentrasi substrat naik. Selain itu penurunan efisiensi sakarifikasi disebabkan oleh terakumulasinya senyawa-senyawa selain selulosa yang tidak terdegradasi dan adanya zat inhibitor yang terakumulasi. Peningkatan konsentrasi substrat menyebabkan lebih banyak selulosa tersedia untuk hidrolisis, sehingga konsentrasi gula dalam hidrolisis lebih banyak, namun derajat sakarifikasi tidak meningkat yang disebabkan oleh deaktivasi enzim maupun inhibitor dari produk maupun reaktivitas (Peng dan Chen, 2011). Selain konsentrasi inhibitor, rasio inhibitor terhadap enzim juga berpengaruh terhadap *solid effect*. Peningkatan konsentrasi glukosa dan selobiosa pada kadar padatan yang tinggi meningkatkan inhibitor walaupun rasio enzim terhadap inhibitor konstan. Pada peningkatan padatan, proporsi selulase yang teradsorpsi akan menurun dan terdapat korelasi antara adsorpsi inhibisi dengan menurunnya *yield* pada peningkatan kadar substrat (Kristensen *et al.*,

2009). Inhibisi dari adsorpsi enzim oleh produk hidrolisis merupakan penyebab utama penurunan *yield* pada peningkatan konsentrasi substrat pada dekomposisi enzimatis pada biomassa selulosa (Kristensen *et al.*, 2009).

Konsentrasi gula pereduksi mencapai maksimum pada proses sakarifikasi dengan pengumpanan lumpur dan enzim secara *fed batch* pada kadar kumulatif lumpur 14% yaitu mencapai 43,899 g/L dengan efisiensi sakarifikasi 60,03%. Untuk meningkatkan efisiensi hidrolisis, lumpur yang akan dihidrolisis sebaiknya dilakukan perlakuan awal untuk menurunkan kadar abu. Perlakuan untuk menurunkan kadar abu dapat dilakukan melalui proses flotasi dan screening menggunakan CO<sub>2</sub> (Kang *et al.*, 2011)

## KESIMPULAN

Lumpur primer industri kertas yang berasal dari industri kertas tisu berbahan baku *virgin pulp* memiliki kandungan selulosa tertinggi (47,06%) dan kadar abu paling rendah (18,25%), berpotensi menghasilkan glukosa melalui proses sakarifikasi. Perlakuan terbaik yaitu sakarifikasi *fed batch* dengan pengumpanan enzim secara bertahap pada kadar padatan 14%, menghasilkan gula pereduksi 43,899 g/L dan efisiensi 60,03%.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih sebesar besarnya kepada BBPK yang telah membiayai penelitian ini melalui Anggaran DIPA, serta Ibu Setiananingsih, Ibu Sri Hartini, Juliana Sibarani, Tiffany Cornelia A., Rismawati dan Windy Yasinta yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alda, A.G.O. De (2008) 'Resources, Conservation and Recycling Feasibility of recycling pulp and paper mill sludge in the paper and board industries', *Resources, Conservation, and Recycling*, 52(L), pp. 965–972. doi: 10.1016/j.resconrec.2008.02.005.
- Alkasrawi, M., Al-Hamamre, Z., Al-Shannag, M., Abedin, M.J., Singaas, E. (2016) 'Conversion of paper mill residuals to fermentable sugars', *BioResources*, 11, pp. 2287–2296.
- Anindyawati, T. (2009) 'Prospek enzim dan limbah lignoselulosa untuk produksi bioetanol', *Berita Selulosa*, 44(Juni 1999), pp. 49–56.

- Elliston, A., Collins, S.R.A., Wilson, D.R., Roberts, I.N., Waldron, K.W. (2013) 'High concentrations of cellulosic ethanol achieved by fed batch semi simultaneous saccharification and fermentation of waste-paper', *Bioresource Technology*. Elsevier Ltd, 134, pp. 117–126. doi: 10.1016/j.biortech.2013.01.084.
- Elliston, A., Collins, S.R.A., Faulds, C.B., Roberts, I.N., Waldron, K.W. (2014) 'Biorefining of waste paper biomass: Increasing the concentration of glucose by optimising enzymatic hydrolysis', *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 172(7), pp. 3621–3634.
- Fan, Z., Lynd, A.E.L.R. (2007) 'Conversion of paper sludge to ethanol. I : Impact of feeding frequency and mixing energy characterization', pp. 27–34. doi: 10.1007/s00449-006-0091-y.
- Gao, Y., Xu, J., Yuan, Z., Zhang, Y., Liang, C., Liu, Y. (2014) 'Ethanol Production from High Solids Loading of Alkali - Pretreated Sugarcane Bagasse with an SSF Process', *BioResources*, 9(2), pp. 3466–3479.
- Harmesen, P.F.H., Huijgen, W., Bermudez, L., Bakker, R. (2010) 'Literature Review of Physical and Chemical Pretreatment Processes for Lignocellulosic Biomass', *Food and Biobased Research*. doi: 10.1016/j.psep.2011.08.004.
- Howard, R.L., Abotsi E., Jansen van Rensburg, E.L., Howard, S. (2003) 'Lignocellulose biotechnology: issues of bioconversion and enzyme production', *African Journal of Biotechnology*, 2(12), pp. 602–619. doi: 10.5897/AJB2003.000-1115.
- Kang, L., Wang, W., Pallapolu, V.R., Lee, Y.Y. (2011) 'Enhanced ethanol production from de-ashed paper sludge by simultaneous saccharification and fermentation and simultaneous saccharification and Co-Fermentation', *BioResources*, 6(4), pp. 3791–3808.
- Kristensen, J.B., Felby, C., Jørgensen, H. (2009) 'Yield-determining factors in high-solids enzymatic hydrolysis of lignocellulose. ', *Biotechnology for biofuels*, 2(1), p. 11. doi: 10.1186/1754-6834-2-11.
- Lark, N., Xia, Y., Qin, C.G., Gong, C.S., Tsao, G.T. (1997) 'Production of ethanol from recycled paper sludge using cellulase and yeast, *Kluyveromyces fragilis*', *Biomass and Bioenergy*, 12 (No. 2), pp. 135–143.
- Lynd, L.R., Lyford, K., South, C.R., van Walsum, P.G., Levenson, K. (2001) 'Evaluation of paper sludge for amenability to enzymatic hydrolysis and conversion to ethanol', *Tappi Journal Peer Reviewed Paper*, 84 (February), pp. 50–55.
- Marques, S., Alves, L., Roseiro, J.C., Girio, F.M. (2008) 'Conversion of recycled paper sludge to ethanol by SHF and SSF using *Pichia stipitis*', *Biomass and Bioenergy*, 32(5), pp. 400–406. doi: 10.1016/j.biombioe.2007.10.011.
- Mussatto, S.I., Fernandes, M., Milagres, A.M.F., Roberto, I.C. (2008) 'Effect of hemicellulose and lignin on enzymatic hydrolysis of cellulose from brewer's spent grain', *Enzyme and Microbial Technology*, 43(2), pp. 124–129. doi: 10.1016/j.enzmictec.2007.11.006.
- Olofsson, K., Palmqvist, B., Lidén, G. (2010) 'Improving simultaneous saccharification and co-fermentation of pretreated wheat straw using both enzyme and substrate feeding', *Biotechnology for biofuels*, 3, p. 17.
- Peng, L., Chen, Y. (2011) 'Conversion of paper sludge to ethanol by separate hydrolysis and fermentation (SHF) using *Saccharomyces cerevisiae*', *Biomass and Bioenergy*, 35(4), pp. 1600–1606.
- Prasetyo, J., Naruse, K., Kato, T., Boonchird, C., Harashima, S., Park, E.Y. (2011) 'Bioconversion of paper sludge to biofuel by simultaneous saccharification and fermentation using a cellulase of paper sludge origin and thermotolerant *Saccharomyces cerevisiae*TJ14', *Biotechnology for Biofuels*, 4(1), pp. 1–13. doi: 10.1186/1754-6834-4-35.
- Saepulloh, Soetopo, R.S., Asthary, P.B. (2012) 'Lumpur primer IPAL industri kertas sebagai bahan baku alternatif bioetanol', *Jurnal Selulosa*.
- Shen, J., Agblevor, F.A. (2011) 'Ethanol production of semi-simultaneous saccharification and fermentation from mixture of cotton gin waste and recycled paper sludge', *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 34(1), pp. 33–43. doi: 10.1007/s00449-010-0444-4.
- Soetopo, R.S., Purwati, S., Setiawan, Y., Sugesty, S. (2012) 'Pemanfaatan Sludge Instalasi Pengolahan Air Limbah Industri Pulp Dan Kertas Sebagai Bahan Baku Bioetanol', *Jurnal Selulosa*, 2(2), pp. 61–70.
- Tejirian, A., Xu, F. (2010) 'Inhibition of cellulase-catalyzed lignocellulosic hydrolysis by iron and oxidative metal ions and complexes', *Applied and Environmental Microbiology*, 76(23), pp. 7673–7682. doi: 10.1128/AEM.01376-10.
- Wang, W., Kang, L., Lee, Y.Y. (2010) 'Production of cellulase from kraft paper mill sludge by *Trichoderma reesei* Rut C-30', *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 161(1–8), pp. 382–394. doi: 10.1007/s12010-009-8863-x.
- Ximenes, E., Kim, Y., Mosier, N., Dien, B., Ladisch, M. (2011) 'Deactivation of cellulases by phenols', *Enzyme and microbial technology*. Elsevier Inc., 48(1), pp. 54–60. doi: 10.1016/j.enzmictec.2010.09.006.