



## Evaluasi Efek *Pre-treatment* Ultrasonik Pada Proses Hidrolisis Enzimatis Ampas Tahu

Farlina Hapsari\*, Imam Prasetyo, dan Wiratni Budhijanto  
Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Gadjah Mada  
Jl. Grafika No. 2, Yogyakarta, 55281  
\*Email korespondensi: [hapsari.farlina@gmail.com](mailto:hapsari.farlina@gmail.com)

### ABSTRACT

*Utilization of biomass as alternative energy source is one of the attempts to reduce the dependence on petroleum based energy which is currently still used as the primary energy source. Tofu solid waste is one of the potential biomass sources that have not been fully utilized. Tofu solid waste was mostly comprised of complex molecular structures composed of cellulose, hemicellulose and lignin. Various techniques of pretreatments have been studied to change the physical structure and chemical properties of the biomass to improve its digestibility in enzymatic hydrolysis process. This research studied the effect of ultrasonic pretreatment on tofu solid waste prior to the enzymatic hydrolysis to maximize the conversion of the cellulose into glucose. Ultrasonic pretreatment was conducted by using a water bath equipped with ultrasonic equipment (sonicator) run at the wave frequency of 20 kHz and power of 5 kW. Ultrasonic pretreatment with variations of time (10, 20 and 30 minutes) and temperatures (60 °C, 80 °C, 100 °C) were carried out. Following the pretreatment, hydrolysis tests were conducted on pretreated samples using cellulase enzymes in 100 ml batch reactor at 45 °C and pH 5. Samples were taken every 1 hour for 6 hours of the reaction and glucose concentration in every sample was measured. The highest cellulosic conversion in enzymatic hydrolysis was obtained on the biomass which was pretreated with ultrasonic for 20 minutes.*

**Keywords:** *tofu solid waste, enzymatic hydrolysis, pretreatment, ultrasonic*

### ABSTRAK

Pemanfaatan biomassa sebagai sumber energi alternatif merupakan salah satu usaha untuk mengurangi ketergantungan terhadap penggunaan energi minyak bumi yang saat ini masih dipandang sebagai sumber energi utama. Ampas tahu adalah salah satu biomassa yang belum dimanfaatkan secara maksimal. Ampas tahu merupakan salah satu biomassa yang memiliki struktur molekul yang kompleks, yang terdiri atas selulosa, hemiselulosa dan lignin. Telah banyak publikasi tentang berbagai teknik *pretreatment* untuk mengubah struktur fisik dan kimia dari biomassa untuk meningkatkan konversi selulosa pada proses hidrolisis enzimatis. Penelitian ini mempelajari pengaruh *pretreatment* ultrasonik pada ampas tahu sebelum hidrolisis enzimatis. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan *waterbath* yang dilengkapi alat ultrasonik (sonikator) dengan frekuensi 20 kHz dan power 5 kW. Dalam penelitian ini dipelajari *pretreatment* ultrasonik dengan variasi waktu (10, 20 dan 30 menit) dan suhu (60°C, 80°C, 100°C). Ampas tahu yang sudah mengalami *pretreatment* ultrasonik, selanjutnya dihidrolisis dengan menggunakan enzim selulase dalam reaktor batch dengan volume 100 ml pada suhu 45°C dan pH 5. Pengambilan sampel dilakukan setiap 1 jam selama 6 jam

reaksi untuk dianalisis kadar glukosa. Konversi tertinggi pada hidrolisis enzimatis diperoleh pada bahan biomassa dengan *pretreatment* ultrasonik selama 20 menit.

**Kata kunci:** ampas tahu, hidrolisis enzimatis, *pretreatment*, ultrasonik

## 1. Pendahuluan

Seiring dengan meningkatnya jumlah penduduk di Indonesia, kebutuhan energi juga meningkat. Sementara di lain pihak, cadangan sumber energi fosil semakin menurun. Oleh karena itu, diperlukan upaya untuk memenuhi kebutuhan energi. Salah satu usaha untuk mengurangi ketergantungan terhadap penggunaan energi minyak bumi sebagai sumber energi utama adalah dengan memanfaatkan biomassa sebagai sumber energi alternatif pengganti minyak bumi. Biomassa yang digunakan sebagai sumber energi adalah biomassa yang dapat dikonversi menjadi biofuel misalnya bioetanol, biodiesel dan lain sebagainya. Di antara berbagai biomassa yang belum dimanfaatkan secara maksimal, salah satunya yaitu ampas tahu.

Ampas tahu merupakan limbah hasil dari industri pengolahan tahu. Pemanfaatan limbah ampas tahu oleh industri ini masih sangat terbatas. Pada umumnya limbah ampas tahu hanya digunakan untuk bahan makanan, pakan ternak, dan sisanya dibuang (Kim dkk., 2010). Ampas tahu merupakan biomassa lignoselulosa yang memiliki struktur molekul yang kompleks, terdiri dari selulosa, hemiselulosa dan lignin (Husin dkk., 2014). Untuk mengkonversi biomassa menjadi biofuel, diperlukan proses untuk memecah selulosa terlebih dahulu melalui proses hidrolisis.

Masalah yang dihadapi dalam proses biokonversi biomassa adalah biomassa relatif sangat sukar untuk dihidrolisis secara enzimatis karena struktur keterikatan selulosa dengan bahan lain. *Pretreatment* diperlukan untuk memecah struktur polimer dari biomassa lignoselulosa dan meningkatkan aksesibilitas enzim terhadap substrat selama proses hidrolisis enzimatis (Sun dkk., 1995). *Pretreatment* bisa dilakukan dengan beberapa cara, misalnya dengan bahan kimia dan suhu tinggi. Penggunaan gelombang ultrasonik merupakan sebuah teknologi baru yang memiliki potensi sebagai metode *pretreatment* alternatif.

Menurut Bussemaker dan Zhang penerapan *pretreatment* ultrasonik pada biomassa ditujukan untuk aplikasi biorefinery dan biofuel, seperti kebutuhan energi yang lebih rendah, peningkatan aksesibilitas terhadap hidrolisis enzimatis dan proses penghilangan lignin (*delignifikasi*). Selain itu, metode ultrasonik dianggap sebagai teknologi hijau (*green technology*) yang memiliki potensi untuk mengurangi waktu reaksi dan *chemical loading* selama proses *pretreatment* (Bharadwaja dkk., 2015; Bussemaker dan Zhang, 2013).

Yunus dkk., (2010) mempelajari pengaruh *pretreatment* dengan menggunakan ultrasonik pada TKKS sebelum hidrolisis asam pada suhu 100°C dengan variasi amplitudo ultrasonik 15%, 60% dan 90% dengan power 2 kW dan frekuensi 20 kHz dengan variasi waktu 15 dan 45 menit. Diperoleh yield gula mencapai 58% pada amplitudo 90% selama 45 menit. Dalam penelitian ini akan dipelajari pengaruh suhu dan lamanya waktu *pretreatment* ampas tahu dengan menggunakan gelombang ultrasonik sebelum proses hidrolisis enzimatis terhadap konversi selulosa dan *yield* gula yang diperoleh.

## 2. Metode Penelitian

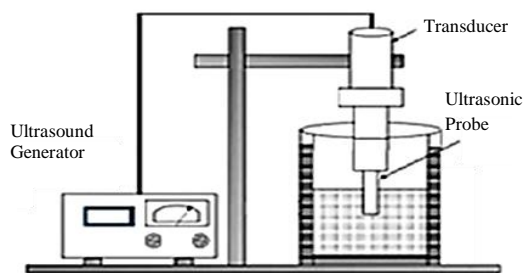
Bahan utama dalam penelitian ini adalah ampas tahu yang diperoleh dari industri tahu skala rumah tangga di sekitar kota Yogyakarta. Enzim selulase (Suntaq Enzymes China, disupply oleh CV. Nika Yogyakarta) berbentuk bubuk dengan aktivitas 20.000 U/g. Enzim ini bekerja pada pH optimum 4,5-5,5 dan suhu 30-55°C. Asam klorida (HCl) p.a (Merck), buffer asetat (Merck), dan glukosa p.a. (Merck) digunakan sebagai bahan pembantu.

Penelitian ini terbagi menjadi dua tahap. Tahap pertama, yaitu *pretreatment* ampas tahu dengan menggunakan ultrasonik serta adanya penambahan asam (0,5% w/w HCl) pada saat ultrasonik yang bertujuan untuk membuka struktur kristalin dari selulosa, tahap kedua

adalah hidrolisis enzimatis dengan menggunakan enzim selulase teknis (sQzyme CSP-F).

### 2.1 Pretreatment Menggunakan Ultrasonik

Mula-mula ampas tahu dikeringkan dalam oven pada suhu  $100^{\circ}\text{C}$  selama 2 hari, kemudian dihaluskan menggunakan mesin grinding untuk menyeragamkan ukuran bahan. Sebanyak 500 mg ampas tahu yang sudah kering dan ukurannya homogen dimasukkan dalam erlenmeyer 250 ml yang berisi 100 ml buffer asetat dan ditempatkan dalam water bath dihubungkan dengan alat ultrasonik (Gambar 1), kemudian dipanaskan menggunakan pemanas dan pengontrol suhu. Pretreatment ultrasonik dilakukan pada daya 5 kW dan frekuensi 20 kHz. Pretreatment ultrasonik dimulai ketika campuran sampel di dalam reaktor mencapai suhu reaksi yaitu  $60^{\circ}\text{C}$ .



Gambar 1. Alat Ultrasonik

### 2.2 Hidrolisis Enzimatis

Ampas tahu yang sudah mengalami pretreatment ultrasonik, selanjutnya dihidrolisis dengan menggunakan enzim selulase. Hidrolisis enzimatis dilakukan dalam reaktor batch dengan volume 100 ml. Proses hidrolisis dijalankan dalam shaker bath pada suhu  $45^{\circ}\text{C}$  pH 5 selama 6 jam. Prosedur hidrolisis ampas tahu menggunakan enzim selulase mengacu pada prosedur penelitian yang dilakukan oleh Harun (2011). Setiap selang waktu 1 jam sample diambil dan dianalisis kandungan glukosa.

### 2.3 Analisis Hasil

Analisis kandungan biomassa ampas tahu dilakukan dengan metode Chesson (Datta, 1981) sedangkan analisis konsentrasi glukosa dilakukan dengan menggunakan metode DNS (Miller, 1972). Perhitungan kadar glukosa dilakukan

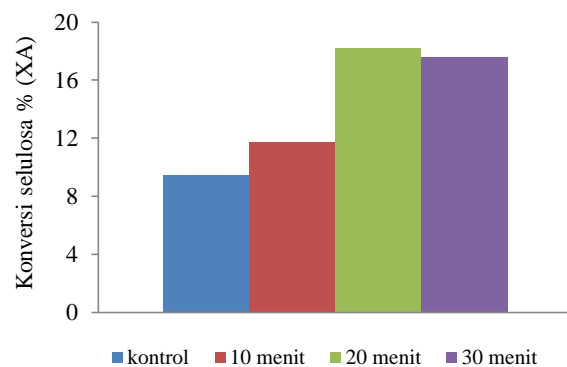
dengan terlebih dahulu membuat kurva standar korelasi konsentrasi glukosa dengan absorbansi yang terukur oleh spektrofotometer UV-VIS. Setelah itu nilai absorbansi dari larutan sampel yang didapatkan dari hasil pengukuran dengan spektrofotometer UV-VIS dikonversi menggunakan kurva standar, sehingga didapatkan nilai konsentrasi glukosa dalam larutan sampel.

## 3. Hasil dan Pembahasan

Parameter yang dipelajari pada penelitian ini adalah pengaruh waktu dan suhu pretreatment menggunakan ultrasonik.

### 3.1 Perlakuan Ultrasonik dengan Pengaruh Suhu dan Lama Waktu Ultrasonik

Berdasarkan hasil analisis glukosa menggunakan Spektrofotometer UV-Vis, diperoleh konversi selulosa sepanjang waktu hidrolisis enzimatis ( $45^{\circ}\text{C}$ , pH 5) dengan berbagai variasi waktu pretreatment menggunakan gelombang ultrasonik pada suhu  $60^{\circ}\text{C}$ . Penggunaan gelombang ultrasonik pada proses pretreatment tidak bertujuan untuk menghidrolisis biomassa menjadi gula sederhana melainkan agar substrat yang dihasilkan lebih mudah untuk di hidrolisis oleh enzim (Yunus dkk., 2010).



Gambar 2. Hubungan antara konversi selulosa (%) dengan parameter lamanya waktu pretreatment ultrasonik (menit)

Secara visual pada Gambar 2. dapat dilihat hubungan antara konversi selulosa terhadap lamanya waktu ultrasonik. Hasil maksimum konversi selulosa diperoleh pada waktu ultrasonik selama 20 menit dengan konversi 18,2%. Pada waktu ultrasonik 30 menit, terjadi

penurunan konversi selulosa 17,5% tetapi tidak terlalu signifikan penurunannya. Berbeda dengan substrat yang tidak mengalami *pretreatment* dengan menggunakan ultrasonik hanya diperoleh konversi selulosa sebesar 9,4%.

Peningkatan konversi selulosa diimbangi dengan adanya peningkatan kadar glukosa yang diperoleh pada proses hidrolisis enzimatis ampas tahu. Dalam penelitian ini, dilakukan komparasi konstanta-konstanta kinetika reaksi enzimatis dalam persamaan Michaelis-Menten yaitu  $V_{max}$  dan  $K_m$  pada Pers. (1).

$$V = \frac{V_{max}S}{K_m + S} \quad (1)$$

dengan  $V$  = kecepatan reaksi enzimatis ( $\text{gL}^{-1}\text{waktu}^{-1}$ ),  $V_{max}$  = konstanta kecepatan spesifik maksimum ( $\text{waktu}^{-1}$ ),  $K_m$  = konstanta saturasi ( $\text{gL}^{-1}$ ) dan  $S$  = konsentrasi substrat (dalam hal ini selulosa,  $\text{gL}^{-1}$ ). Hasil perhitungan nilai konstanta  $V_{max}$  dan  $K_m$  disajikan pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Nilai  $V_{max}$  dan  $K_m$  pada berbagai variasi waktu ultrasonik

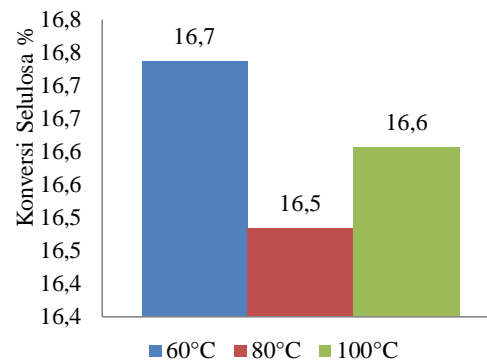
Waktu Ultrasonik (menit)	$V_{max}$	$K_m$
kontrol	0,7128	0,3371
10	0,6053	0,1247
20	0,9533	0,0877
30	0,5959	0,0328

Berdasarkan Tabel 1. diperoleh nilai  $V_{max}$  dan  $K_m$  dengan menggunakan persamaan linearisasi Michaelis-Menten (Pers. 1) pada berbagai variasi waktu ultrasonik. Penentuan laju reaksi maksimum ( $V_{max}$ ) dan konstanta saturasi ( $K_m$ ) merupakan salah satu cara untuk mengkuantifikasi karakteristik enzim. Nilai  $V_{max}$  menunjukkan aktivitas katalitik dari suatu enzim yang merupakan karakteristik enzim. Semakin besar aktivitas katalitik enzim maka nilai  $V_{max}$  yang diperoleh akan semakin tinggi. Nilai  $K_m$  merepresentasikan kapasitas asosiasi enzim dengan substratnya.

Enzim yang sama dengan jenis substrat yang berbeda akan memberikan nilai  $K_m$  yang berbeda. Secara matematis, dari persamaan Michaelis-Menten (Pers. 1), jika laju reaksi ( $V$ ) dari suatu reaksi enzimatis tinggi maka nilai konstanta

saturasi ( $K_m$ ) yang diperoleh akan kecil. Dengan demikian, dalam perbandingan nilai  $K_m$ , nilai yang lebih kecil menunjukkan hal yang positif dalam hal akses enzim ke substrat. Peningkatan aksesibilitas enzim terhadap substrat disebabkan adanya efek kavitas yang diakibatkan perlakuan awal ultrasonik pada permukaan substrat sehingga membuka permukaan substrat, yang mengakibatkan enzim lebih mudah dalam mengakses selulosa sehingga lebih banyak glukosa yang diperoleh (Yachmenev dkk., 2009; Alvira dkk., 2010).

Pengaruh kenaikan suhu pada *pretreatment* menggunakan ultrasonik juga dipelajari dalam penelitian ini. Gambar 3 menampilkan hubungan antara konversi selulosa terhadap meningkatnya suhu ultrasonik.

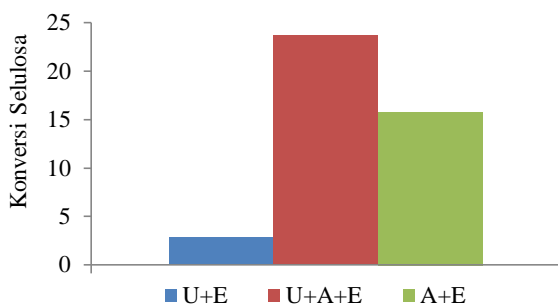


**Gambar 3.** Hubungan antara konsentrasi glukosa ( $\text{g/L}$ ) dengan parameter suhu *pretreatment* ultrasonik ( $^{\circ}\text{C}$ )

Pada Gambar 3 terlihat bahwa kenaikan suhu *pretreatment* tidak berbanding lurus dengan kenaikan konversi selulosa. Penelitian yang dilakukan oleh Karray dkk., (2015) mengevaluasi pengaruh ultrasonik pada hidrolisis enzimatis mikroalga (*Ulva rigida*) untuk produksi biogas. Dalam penelitian tersebut kenaikan suhu ultrasonik tidak diimbangi dengan kenaikan konversi selulosa. Kenaikan suhu tidak mempengaruhi sifat fisis dari biomassa. Hal ini memperkuat spekulasi bahwa *pretreatment* dengan menggunakan ultrasonik dalam penelitian ini adalah proses fisis yang pada umumnya memang tidak terlalu terpengaruh oleh suhu.

### 3.2 Perlakuan Ultrasonik dengan Penambahan Asam

Dalam eksperimen ini, pada proses *pretreatment* ampas tahu dengan menggunakan ultrasonik ditambahkan juga asam klorida (HCl) pada konsentrasi 0,5%. Gambar 4. menunjukkan perbandingan hasil konversi selulosa ketika adanya penambahan asam (U+A+E) dan tanpa adanya penambahan asam (U+E) ketika *pretreatment* menggunakan ultrasonik selama 20 menit dengan suhu 60°C. Sedangkan (A+E) merupakan ampas tahu dengan penambahan asam (HCl 0,5%) selama 20 menit dengan suhu 60°C tanpa *pretreatment* ultrasonik.



**Gambar 4.** Hubungan antara konversi selulosa(%) dengan pengaruh penambahan HCl (0,5%)

Dari Gambar 4. terlihat bahwa U+A+E yaitu ketika *pretreatment* dengan ultrasonik 20 menit dan dengan adanya penambahan asam dilanjutkan dengan hidrolisis enzimatis selama satu jam diperoleh nilai konversi selulosa yang tinggi dibandingkan dengan *pretreatment* tanpa adanya penambahan asam (HCl 0,5%). Ion H<sup>+</sup> yang berasal dari katalisator asam akan menyerang ikatan hidrogen yang berada diantara biomassa (hemiselulosa dan selulosa). Adanya *pretreatment* dengan menggunakan ultrasonik luas permukaan ampas tahu menjadi lebih besar kemudian struktur selulosa juga mengalami perubahan menjadi lebih amorf. Sebagian besar hemiselulosa terdegradasi menjadi gula oleh adanya katalis asam, sehingga aksesibilitas enzim terhadap selulosa lebih mudah.

### 4. Kesimpulan

Dari hasil penelitian dan pembahasan maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Peningkatan aksesibilitas enzim di-representasikan dengan nilai nilai K<sub>m</sub> yang lebih kecil yaitu 0,0328 pada waktu *pretreatment* ultrasonik selama 30 menit.
2. Lamanya waktu proses *pretreatment* dengan menggunakan gelombang ultrasonik dapat meningkatkan konversi selulosa ampas tahu. Diperoleh konversi maksimum selulosa 18,2% dengan waktu *pretreatment* ultrasonik selama 20 menit sedangkan peningkatan suhu *pretreatment* dengan ultrasonik tidak meningkatkan konversi selulosa.

### Daftar Pustaka

- Alvira P, Tomás-Pejó E, Ballesteros M, Negro MJ. Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: a review. *Bioresource Technology* 2010;101:4851–61.
- Bussemaker MJ, Zhang DK. Effect of ultrasound on lignocellulosic biomass as a pretreatment for biorefinery and biofuel applications. *Ind Eng Chem Res* 2013;52:3563e80.
- Datta, R., (1981), “ Acidogenic Fermentation of Lignocellulose- Acid Yield and Conversion of Components,” *Biotechnology and Bioengineering*, Vol (9), PP. 2167-2170.
- Harun, R. dan Danquah, M.K. 2011. Enzymatic hydrolysis of microalgal biomass for bioethanol production. *Chem. Eng. J.* 168. 1079–1084.
- Husin, A., Sarto, Syamsiah, S., dan Prasetyo, I., (2014), Produksi Biohidrogen dari Hidrolisat Ampas Tahu Secara Fermentasi Anaerob Menggunakan Kultur Campuran, *Reaktor*, 15(2), 87-96.
- Kim, M.S. and Lee, D.Y., (2010), Fermentative hydrogen production from tofu-processing waste and anaerobic digester sludge using microbial consortium, *Bioresource Technology*, 101, pp. S48-S52.
- Sun R, Lawther JM, dan Banks WB. 1995. Influence of alkaline pre-treatments on the cell wall components of wheat straw. *Industrial crops and products*, 4(2): 127-145.
- Yachmenev, V., Condon, B., Klasson, T., Lambert, A., 2009. Acceleration of the

- enzymatic hydrolysis of corn stover and sugar cane bagasse celluloses by low intensity uniform ultrasound. *J. Biobased Mater. Bioenergy* 3, 25–31.
- Yat, S.T., Alan Berger, David R. Shonnard, 2008. Kinetic characterization for dilute sulfuric acid hydrolysis of timber varieties and switchgrass. *Bioresource Technology* 99 (9), 3855-3863.
- Yunus R, Salleh SF, Abdullah N, dan BiakDRA. 2010. Effect of ultrasonic pretreatment on low temperature acid hydrolysis of oil palm empty fruit bunch. *Bioresource technology*, 101(24): 9792-9796.
- Zhang, Y. Q., E. H. Fu and J. H. Liang (2008). "Effect of Ultrasonic Waves on the Saccharification Processes of Lignocellulose." *Chemical Engineering & Technology* 31(10): 1510-1515.
- Zheng, Y., Pan, Z., Zhang, R. 2009. Overview of biomass pretreatment for cellulosic ethanol production. *Int. J. Agric. Biol. Eng.* 2(3). 51-58.