

**PENGHASILAN GULA BIOJISIM DARIPADA SISA  
BERLIGNOSELULOSA DENGAN TUMPUAN KEPADA SERBUK  
KAYU UNTUK PENGHASILAN ETANOL**

Oleh

**SUMATHI A/P GANESHAN**

**Tesis yang diserahkan untuk memenuhi  
keperluan bagi Ijazah Sarjana Sains**

**Disember 2000**

## **ISTIMEWA BUAT**

**KELUARGA KHASNYA KEPADA AYAH,  
EMAK, SERTA ADIK-ADIK MALINI DAN  
MUNISWARAN. RIBUAN TERIMA KASIH  
ATAS SEGALA GALAKAN, SOKONGAN  
DAN DOA SELAMA INI SEHINGGA TELAH  
MEMBANTU SAYA MENREALISASIKAN  
CITA-CITA SAYA**

## PENGHARGAAN

Terlebih dahulu ingin saya mengucapkan setinggi-tinggi terima kasih kepada penyelia saya Prof. Madya Dr. Darah Ibrahim dan Dr. Mohd. Yusoff bin Abdul Hamid. Sesungguhnya matlamat tesis ini tidak akan tercapai seandainya tiada bimbingan, motivasi dan galakan daripada mereka.

Ucapan terima kasih saya juga tujukan kepada semua kakitangan Pusat Pengajian Sains Kajian yang sudi menolong dan memberikan kerja sama sepanjang projek saya.

Akhir sekali, tidak lupa juga saya mengucapkan terima kasih atas sokongan yang tidak pernah pudar yang diberikan oleh ayah, ibu serta adik-adik yang disayangi. Ingin juga saya mengucapkan terima kasih kepada rakan-rakan di makmal (Choo, Oby dan K.Chik) atas segala sokongan, galakan dan kritikan yang membina. Saya juga ingin mengambil kesempatan ini untuk mengucapkan terima kasih kepada Kyu Kyu Win atas segala kritikan yang membina, cadangan dan galakan yang selalu diberikan.

Terima kasih,

Sumathi a/p Ganeshan.

## KANDUNGAN

| PERKARA   | MUKA SURAT |
|---|------------|
| PENGHARGAAN   | i          |
| KANDUNGAN   | ii         |
| SENARAI JADUAL  | viii       |
| SENARAI RAJAH   | ix         |
| SENARAI GAMBARFOTO                                      | xiv        |
| ABSTRAK   | xv         |
| ABSTRACT  | xvii       |
| <br>  |            |
| <b>1.0 PENGENALAN</b>                                   | <b>1</b>   |
| <b>1.1 Biojisim</b>                                     | <b>1</b>   |
| 1.1.1 Sumber-sumber biojisim                            | 4          |
| <b>1.2 Lignoselulosa semulajadi</b>                     | <b>10</b>  |
| 1.2.1 Komposisi lignoselulosa                           | 11         |
| 1.2.1.1 Selulosa  | 12         |
| 1.2.1.2 Mikrofibril                                     | 18         |
| 1.2.1.3 Hemiselulosa                                    | 20         |
| 1.2.1.4 Lignin  | 24         |
| 1.2.1.5 Bahan-bahan ekstrak                             | 31         |
| 1.2.1.6 Bahan-bahan mineral                             | 33         |
| 1.2.2 Taburan komposisi lignoselulosa di dalam tumbuhan | 34         |
| 1.2.2.1 Pembentukan lapisan dinding sel                 | 35         |
| 1.2.2.2 Pembentukan fibril kayu                         | 36         |
| 1.2.2.2.1 Bahagian lamela tengah                        | 36         |

|   |    |
|---|----|
| 1.2.2.2 Lapisan dinding primer  | 38 |
| 1.2.2.3 Lapisan dinding sekunder  | 39 |
| <b>1.3 Biopenukaran bahan berlignoselulosa menjadi bahan berlainan yang berguna</b> | 44 |
| 1.3.1 Selulosa  | 44 |
| 1.3.2 Hemiselulosa  | 47 |
| <b>1.4 Penghasilan gula biojisim melalui penghidrolisisan berenzim</b>              | 49 |
| 1.4.1 Gula tak terfermentasi  | 51 |
| 1.4.2 Gula terfermentasi  | 51 |
| 1.4.3 Penggunaan gula biojisim  | 52 |
| <b>1.5 Penghasilan etanol daripada gula biojisim melalui fermentasi</b>             | 54 |
| <b>1.6 Bahan-bahan daripada etanol</b>  | 55 |
| <b>1.7 Objektif penyelidikan</b>  | 56 |
| <b>2.0 BAHAN DAN KAEDAH</b>   | 58 |
| <b>2.1 Bahan dan kaedah am</b>  | 58 |
| 2.1.1 Penimbangan bahan   | 58 |
| 2.1.2 Penentuan pH  | 58 |
| 2.1.3 Pensterilan   | 58 |
| 2.1.4 Pengeringan sampel  | 59 |
| <b>2.2 Bahan dan kaedah khusus</b>  | 59 |
| 2.2.1 Pengolah substrat   | 60 |
| 2.2.1.1 Pengekstrakan substrat dengan air   | 60 |
| 2.2.1.2 Penyahligninan substrat   | 60 |
| 2.2.1.3 Pelunturan substrat   | 61 |

|  |    |
|--|----|
| 2.2.2 Penggulaan   | 62 |
| 2.2.2.1 Substrat   | 62 |
| 2.2.2.2 Larutan dan enzim  | 62 |
| 2.2.2.3 Campuran tindak balas dan penghidrolisisan                                   | 63 |
| 2.2.2.4 Penentuan kandungan gula penurun<br>(kaedah Somogyi-Nelson, 1952)            | 64 |
| 2.2.2.5 Berat kering substrat  | 64 |
| 2.2.2.6 Pengaruh kepekatan substrat ke atas daya<br>penghasilan gula penurun         | 65 |
| 2.2.2.7 Pengaruh kepekatan enzim ke atas daya<br>penghasilan gula penurun            | 65 |
| 2.3.3 Fermentasi penghasilan etanol  | 66 |
| 2.3.3.1 Mikroorganisma   | 66 |
| 2.3.3.1.1 Pengkulturan dan penyelenggaraan<br><i>Saccharomyces cerevisiae</i>        | 66 |
| 2.3.3.2 Penyediaan inokulum  | 66 |
| 2.3.3.3 Penginokulatan   | 68 |
| 2.3.3.4 Penyampelan  | 69 |
| 2.3.3.4.1 Penentuan berat kering sel   | 69 |
| 2.3.3.4.2 Penentuan gula penurun ditentukan<br>mengikut kaedah Somogyi-Nelson (1952) | 70 |
| 2.3.3.5 Penentuan kandungan etanol   | 70 |
| 2.3.3.6 Keupayaan fermentasi etanol oleh yis   | 71 |
| 2.3.3.7 Pengaruh kepekatan gula biojisim ke atas<br>penghasilan etanol               | 71 |
| 2.3.3.8 Penentuan saiz inokulum yang optimum   | 72 |
| 2.3.3.9 Pengaruh nutrien ke atas daya penghasilan etanol                             | 72 |

|  |     |
|--|-----|
| <b>3.0 KEPUTUSAN</b>   | 74  |
| <b>3.1 Pengekstrakan menggunakan air</b>   | 74  |
| <b>3.2 Penyah ligninan menggunakan larutan natrium hidroksida (NaOH)</b>   | 77  |
| 3.2.1 Penyah ligninan serbuk kayu yang diekstrak dengan air (perebusan selama 1 jam) menggunakan kepekatan NaOH yang berlainan | 77  |
| 3.2.2 Penyah ligninan serbuk kayu dengan 1% NaOH pada masa pendidihan yang berlainan   | 80  |
| 3.2.3 Penyah ligninan berulang serbuk kayu dengan larutan 1% NaOH selama 1 jam pendidihan                                      | 83  |
| <b>3.3 Pelunturan sampel serbuk kayu dengan larutan kloroks (NaOCl)</b>  | 85  |
| 3.3.1 Pelunturan serbuk kayu dengan pelbagai kepekatan NaOCl   | 85  |
| 3.3.2 Pelunturan berulang serbuk kayu dengan larutan 10% kloroks (NaOCl)   | 86  |
| <b>3.4 Kesan pengolahan yang berlainan ke atas penghasilan gula penurun dan peratus kehilangan berat kering substrat</b>       | 90  |
| <b>3.5 Kesan penghidrolisisan enzim ke atas serbuk kayu yang telah diberikan pelbagai pengolahan</b>                           | 93  |
| 3.5.1 Kesan sampel yang diolah dengan air ke atas penghidrolisisan berenzim  | 93  |
| 3.5.2 Kesan sampel yang dinyah ligninkan dengan NaOH ke atas penghidrolisisan berenzim   | 95  |
| 3.5.2.1 Kesan kepekatan NaOH yang berlainan ke atas penghidrolisisan berenzim  | 95  |
| 3.5.2.2 Kesan masa pendidihan yang berlainan dengan 1% NaOH ke atas penghidrolisisan berenzim                                  | 97  |
| 3.5.2.3 Kesan penyah ligninan berulang dengan larutan 1% NaOH ke atas penghidrolisisan berenzim                                | 102 |
| 3.5.3 Kesan pelunturan dengan kloroks (NaOCl) terhadap penghidrolisisan berenzim   | 104 |

|   |     |
|---|-----|
| 3.5.3.1 Kesan pelunturan dengan kepekatan kloroks (NaOCl) yang berlainan ke atas penghidrolisisan berenzim                        | 104 |
| 3.5.3.2 Kesan pelunturan berulang dengan larutan 10% NaOCl ke atas penghidrolisisan berenzim                                      | 106 |
| 3.6 Kesan kepekatan enzim ke atas penghidrolisisann berenzim  | 108 |
| 3.7 Kesan kepekatan substrat ke atas penghidrolisisan berenzim  | 113 |
| 3.8 Kesan substrat yang berlainan ke atas penghidrolisisan berenzim   | 116 |
| 3.9 Pemfermentasian gula biojisim   | 119 |
| 3.9.1 Keupayaan yis <i>Saccharomyces cerevisiae</i> memfermentasikan gula biojisim  | 119 |
| 3.9.2 Kesan kepekatan gula biojisim ke atas pemfermentasian oleh yis <i>Saccharomyces cerevisiae</i>                              | 126 |
| 3.9.3 Penentuan saiz inokulum yis <i>Saccharomyces cerevisiae</i> yang optimum untuk pemfermentasian gula biojisim menjadi etanol | 131 |
| 3.9.4 Kesan penambahan medium tambahan ke atas pemfermentasian gula biojisim  | 135 |
| 4.0 PERBINCANGAN  | 142 |
| 4.1 Pengekstrakan menggunakan air   | 142 |
| 4.2 Penyahligninan menggunakan larutan natrium hidroksida (NaOH)  | 143 |
| 4.3 Pelunturan sampel serbuk kayu dengan larutan kloroks (NaOCl)  | 147 |
| 4.4 Kesan pengolahan yang berlainan ke atas penghasilan gula penurun dan kehilangan berat kering substrat                         | 150 |
| 4.5 Kesan penghidrolisisan enzim ke atas serbuk kayu yang telah diberikan pelbagai pengolahan                                     | 152 |
| 4.5.1 Kesan sampel yang diolah dengan air ke atas penghidrolisisan berenzim   | 152 |

|   |     |
|---|-----|
| 4.5.2 Kesan sampel yang dinyahligninkan dengan larutan NaOH ke atas penghidrolisisan berenzim                                     | 153 |
| 4.5.3 Kesan pelunturan dengan kloroks (NaOCl) terhadap penghidrolisisan berenzim  | 160 |
| 4.6 Kesan kepekatan enzim ke atas penghidrolisisann berenzim  | 162 |
| 4.7 Kesan kepekatan substrat ke atas penghidrolisisan berenzim  | 164 |
| 4.8 Kesan substrat yang berlainan ke atas penghidrolisisan berenzim   | 165 |
| 4.9 Pemfermentasian gula biojisim   | 166 |
| 4.9.1 Keupayaan yis <i>Saccharomyces cerevisiae</i> memfermentasikan gula biojisim  | 166 |
| 4.9.2 Kesan kepekatan gula biojisim ke atas pemfermentasian oleh yis <i>Saccharomyces cerevisiae</i>                              | 169 |
| 4.9.3 Penentuan saiz inokulum yis <i>Saccharomyces cerevisiae</i> yang optimum untuk pemfermentasian gula biojisim menjadi etanol | 173 |
| 4.9.4 Kesan penambahan medium tambahan ke atas pemfermentasian gula biojisim  | 175 |
| <b>5.0 PERBINCANGAN UMUM</b>  | 179 |
| <b>RUJUKAN</b>  | 182 |
| <b>LAMPIRAN</b>   | 196 |
| <b>PENERBITAN DARIPADA PENYELIDIKAN INI</b>   | 200 |

## SENARAI JADUAL

|            | MUKA SURAT   |
|------------|--|
| Jadual 1.1 | Jenis-jenis Hemiselulosa 22  |
| Jadual 1.2 | Ketebalan pelbagai lapisan dinding sel tumbuhan 40   |
| Jadual 3.1 | Kandungan gula penurun yang terbebas dan peratus kehilangan berat kering substrat bagi sampel serbuk kayu yang direbus atau diautoklafkan selama 1 atau 2 jam 76 |

## SENARAI RAJAH

## MUKA SURAT

|           |   |    |
|-----------|---|----|
| Rajah 1.1 | Struktur selulosa dalam formula Haworth (a) dan dalam formula konformasi (b)  | 13 |
| Rajah 1.2 | Molekul selulosa dengan rantaian antara ikatan hidrogen di antara OH <sub>3</sub> dan OH <sub>5</sub>   | 15 |
| Rajah 1.3 | Model struktur mikrofibril selulosa yang mengandungi rantaian selulosa yang berlipat (a) struktur berlipat atau (b) struktur lurus  | 17 |
| Rajah 1.4 | Struktur mikrofibril; a) mikrofibril yang terdiri daripada teras hablur segi empat tepat yang dikelilingi oleh korteks para-hablur. Garis lurus mewakili kewujudan sisa glukosa; garis terputus-putus mewakili orientasi molekul hemiselulosa. b) mikrofibril yang mengandungi pelbagai fibril asas yang terdiri daripada 15 hingga 40 molekul selulosa dan yang ditemberengkan kepada bahagian berhablur dan para-hablur. c) molekul selulosa yang pada mulanya dilipatkan menjadi reben leper dan dililitkan untuk membentuk pilin heliks yang ketat. A) Kawasan Berhablur B) Kawasan Para-hablur | 19 |
| Rajah 1.5 | Prekursor monomer lignin. I) alkohol p-Koumaril II) alkohol koniferil III) alkohol sinapil IV) asid p-koumarik V) asid ferulik  | 26 |
| Rajah 1.6 | Model yang dicadangkan untuk lignin kayu lembut   | 28 |
| Rajah 1.7 | Lapisan dinding sel yang menunjukkan orientasi dan saiz relatif setiap lapisan. A) Lamela Tengah B) Mikrofibril C) Dinding Sekunder D) Dinding Primer   | 37 |
| Rajah 1.8 | Skema yang dicadangkan untuk pemisahan dan penggunaan bahan berlignoselulosa  | 45 |
| Rajah 1.9 | Hasil fermentasi yang diterbitkan daripada glukosa  | 53 |
| Rajah 3.1 | Kandungan gula penurunan yang terbebas (A) dan peratus kehilangan berat kering substrat (B) semasa penyahligninan, dengan kepekatan larutan NaOH yang berlainan   | 79 |
| Rajah 3.2 | Kandungan gula penurunan yang terbebas (A) dan peratus kehilangan berat kering substrat (B) semasa  | 82 |

|            |   |     |
|------------|---|-----|
|            | penyahhigninan dengan larutan 1% NaOH, pada masa pendidihan yang berlainan  |     |
| Rajah 3.3  | Kandungan gula penurun yang terbebas (A) dan peratus kehilangan berat kering substrat (B) semasa penyahhigninan berulang dengan larutan 1% NaOH   | 84  |
| Rajah 3.4  | Kandungan gula penurun yang terbebas (A) dan peratus kehilangan berat kering substrat (B) semasa pelunturan dengan kepekatan larutan NaOCl yang berlainan   | 87  |
| Rajah 3.5  | Peratus kehilangan berat kering substrat semasa pelunturan berulang dengan 10% NaOCl  | 89  |
| Rajah 3.6  | Kesan pra-pengolahan yang berlainan ke atas penghasilan gula penurun (A) dan peratus kehilangan berat kering substrat (B) semasa penghidrolisisan berenzim  | 91  |
| Rajah 3.7  | Kandungan gula penurun yang terbebas (A) dan peratus kehilangan berat kering substrat (B) semasa penghidrolisisan berenzim ke atas sampel yang diekstrak dengan air dan yang tidak diekstrak dengan air                       | 94  |
| Rajah 3.8  | Kandungan gula penurun yang terbebas (A) dan peratus kehilangan berat kering substrat (B) semasa penghidrolisisan berenzim ke atas sampel yang diolah dengan kepekatan NaOH yang berlainan selama 8 hari                      | 96  |
| Rajah 3.9  | Kandungan gula penurun yang terbebas (A) dan peratus kehilangan berat kering substrat (B) semasa penghidrolisisan berenzim ke atas sampel yang diolah dengan kepekatan NaOH yang berlainan pada hari yang keempat             | 98  |
| Rajah 3.10 | Kandungan gula penurun yang terbebas (A) dan peratus kehilangan berat kering substrat (B) semasa penghidrolisisan berenzim ke atas sampel serbuk kayu yang dinyahhigninkan dengan 1% NaOH pada masa pendidihan yang berlainan | 100 |
| Rajah 3.11 | Kandungan gula penurun yang terbebas (A) dan peratus kehilangan berat kering substrat (B) semasa penghidrolisisan berenzim dengan penyahhigninan di dalam larutan 1% NaOH pada masa pendidihan yang berbeza                   | 101 |

|            |   |     |
|------------|---|-----|
| Rajah 3.12 | Kandungan gula penurun yang terbebas (A) dan peratus kehilangan berat kering substrat (B) semasa penghidrolisisan berenzim dengan sampel yang telah dilakukan penyahligninan berulang dengan NaOH                 | 103 |
| Rajah 3.13 | Kandungan gula penurun yang terbebas (A) dan peratus kehilangan berat kering substrat (B) semasa penghidrolisisan berenzim dengan sampel yang dilunturkan dengan kepekatan larutan kloroks (NaOCl) yang berlainan | 105 |
| Rajah 3.14 | Kandungan gula penurun yang terbebas (A) dan peratus kehilangan berat kering substrat (B) semasa penghidrolisisan berenzim ke atas sampel yang dilunturkan oleh kepekatan larutan kloroks (NaOCl) yang berlainan  | 107 |
| Rajah 3.15 | Kandungan gula penurun yang terbebas (A) dan peratus kehilangan berat kering substrat (B) semasa penghidrolisisan berenzim dengan pelunturan berulang dengan larutan kloroks (NaOCl)                              | 109 |
| Rajah 3.16 | Kandungan gula penurun yang terbebas (A) dan peratus kehilangan berat kering substrat (B) semasa penghidrolisisan berenzim dengan kepekatan enzim yang berlainan  | 110 |
| Rajah 3.17 | Kandungan gula penurun yang terbebas (A) dan peratus kehilangan berat kering substrat (B) semasa penghidrolisisan berenzim dengan kepekatan enzim yang berlainan  | 112 |
| Rajah 3.18 | Kandungan gula penurun yang terbebas (A) dan peratus kehilangan berat kering substrat (B) semasa penghidrolisisan berenzim pada kepekatan substrat yang berlainan   | 114 |
| Rajah 3.19 | Kandungan gula penurun yang terbebas (A) dan peratus kehilangan berat kering substrat (B) semasa penghidrolisisan berenzim pada kepekatan substrat yang berlainan selepas empat hari penghidrolisisan             | 115 |
| Rajah 3.20 | Kandungan gula penurun yang terbebas (A) dan peratus kehilangan berat kering substrat (B) semasa penghidrolisisan berenzim dengan jenis substrat yang berlainan   | 117 |
| Rajah 3.21 | Perubahan biojisim sel yis <i>Saccharomyces cerevisiae</i> dengan gula penurun yang berlainan semasa fermentasi selama lima hari pada suhu 35°C tanpa   | 120 |

|            |   |     |
|------------|---|-----|
|            | goncangan   |     |
| Rajah 3.22 | Keupayaan penggunaan gula penurun yang berlainan oleh sel yis <i>Saccharomyces cerevisiae</i> untuk proses fermentasi   | 121 |
| Rajah 3.23 | Perubahan pH semasa pemfermentasian oleh sel yis <i>Saccharomyces cerevisiae</i> dengan gula penurun yang berlainan   | 123 |
| Rajah 3.24 | Keupayaan penghasilan etanol oleh <i>Saccharomyces cerevisiae</i> menggunakan gula penurun yang berlainan   | 124 |
| Rajah 3.25 | Perubahan biojisim sel yis <i>Saccharomyces cerevisiae</i> dengan peratus kepekatan gula biojisim yang berlainan semasa fermentasi selama lima hari pada suhu 35 <sup>0</sup> C tanpa goncangan | 126 |
| Rajah 3.26 | Keupayaan penggunaan peratus kepekatan gula biojisim yang berlainan oleh sel yis <i>Saccharomyces cerevisiae</i> untuk proses fermentasi  | 128 |
| Rajah 3.27 | Perubahan pH semasa pemfermentasian oleh sel yis <i>Saccharomyces cerevisiae</i> dengan peratus kepekatan gula biojisim yang berlainan  | 129 |
| Rajah 3.28 | Keupayaan penghasilan etanol oleh sel yis <i>Saccharomyces cerevisiae</i> menggunakan peratus kepekatan gula biojisim yang berlainan  | 130 |
| Rajah 3.29 | Perubahan biojisim sel yis <i>Saccharomyces cerevisiae</i> dengan saiz inokulum awal yang berlainan semasa fermentasi selama lima hari pada suhu 35 <sup>0</sup> C tanpa goncangan              | 132 |
| Rajah 3.30 | Keupayaan penggunaan gula biojisim oleh saiz inokulum awal <i>Saccharomyces cerevisiae</i> yang berlainan untuk proses fermentasi   | 133 |
| Rajah 3.31 | Perubahan pH semasa pemfermentasian oleh sel yis <i>Saccharomyces cerevisiae</i> menggunakan saiz inokulum awal yang berlainan  | 134 |
| Rajah 3.32 | Keupayaan penghasilan etanol oleh sel yis <i>Saccharomyces cerevisiae</i> menggunakan saiz inokulum awal yang berlainan   | 136 |
| Rajah 3.33 | Perubahan biojisim sel yis <i>Saccharomyces cerevisiae</i> dengan 10% gula biojisim dengan dan tanpa medium   | 137 |

tambahan semasa fermentasi selama lima hari pada suhu 35<sup>0</sup>C tanpa goncangan

- Rajah 3.34 Keupayaan penggunaan gula biojisim oleh sel yis *Saccharomyces cerevisiae* dengan dan tanpa medium tambahan (fermentasi) untuk proses fermentasi 139
- Rajah 3.35 Perubahan pH semasa pemfermentasian oleh sel yis *Saccharomyces cerevisiae* dengan 10% gula biojisim dengan dan tanpa medium tambahan (fermentasi) 140
- Rajah 3.36 Keupayaan penghasilan etanol oleh sel yis *Saccharomyces cerevisiae* menggunakan 10% gula biojisim dengan dan tanpa medium tambahan (fermentasi) 141

## SENARAI GAMBARFOTO

|                |   | MUKA SURAT |
|----------------|---|------------|
| Gambarfoto 3.1 | Sampel serbuk kayu bersaiz di antara 0.5 – 4.0 mm yang digunakan. Ia tidak diberikan sebarang bahan pengawet  | 75         |
| Gambarfoto 3.2 | Sampel serbuk kayu yang telah direbus di dalam air mendidih selama 1 jam  | 78         |
| Gambarfoto 3.3 | Sampel serbuk kayu yang telah direbus di dalam air mendidih selama 1 jam dan dinyah ligninkan di dalam larutan 1% NaOH selama 1 jam   | 81         |
| Gambarfoto 3.4 | Sampel serbuk kayu yang telah diolah secara perebusan di dalam air mendidih selama 1 jam, diikuti dengan penyah ligninan di dalam larutan 1% NaOH selama 1 jam dan dilunturkan pula sebanyak tiga kali di dalam larutan 10% kloroks | 88         |

## Abstrak

Pengolahan melalui pengekstrakan dengan air, penyahligninan dengan NaOH dan pelunturan dengan NaOCl, dan seterusnya penghidrolisisan berenzim keatas serbuk kayu telah dikaji sementara mempertimbangkan hasil hidrolisat serbuk kayu untuk penghasilan etanol. Nilai penggulaan maksimum untuk serbuk kayu telah dicapai setelah diolah melalui pengekstrakan dengan air pada nisbah pepejal kepada cecair 1:150 (b/i), diyahligninkan sekali dengan 1.0% (b/i) larutan NaOH selama 1 jam pada suhu 100°C menggunakan nisbah pepejal kepada cecair 1:10 (b/i) dan diikuti dengan pelunturan tiga kali dengan 10% larutan kloroks (NaOCl) selama 1 jam pada suhu 50°C, juga menggunakan nisbah pepejal kepada cecair 1:10 (b/i). Penghidrolisisan berenzim dijalankan menggunakan campuran enzim piawai Celluclast 1.5L dan Novozym 188 dengan nisbah 5:1 (i/i) pada pH yang dikawal pada 4.8 menggunakan penimbal sitrat, digoncang pada 200 psm dengan suhu eraman 50°C. Tahap penghidrolisisan berenzim serat sehingga 82.4%, dengan penghasilan gula penurun sehingga 37.27 mg/ml telah dicapai dalam masa empat hari pengeraman. Hasil penghidrolisisan juga didapati meningkat dengan kepekatan enzim sehingga mencapai 1% campuran enzim. Kepekatan enzim yang lebih tinggi meningkatkan lagi hidrolisis. Telah diperhatikan juga bahawa nilai penggulaan dipengaruhi oleh kepekatan substrat. Kepekatan substrat sebanyak 5% (b/i) berat kering didapati lebih baik untuk dihidrolisiskan berbanding dengan kepekatan yang lebih rendah. Hidrolisat daripada serbuk kayu seterusnya difermentasikan menggunakan yis *Saccharomyces cerevisiae* menggunakan keadaan anaerob pada suhu bilik ( $30 \pm 2^\circ\text{C}$ ). Hidrolisat tersebut telah difermentasikan sekurang-kurangnya sehingga mencapai 86.5% daripada penghasilan nilai teori apabila menggunakan 10% (i/i) hidrolisat dan  $\text{OD}_{540} = 10.0$  dengan kehadiran medium, dan

mencapai sehingga 74.2% apabila tiada kehadiran medium dalam masa empat hari pengeraman. Sebaliknya, kepekatan 10% hidrolisat dengan medium dan saiz inokulum awal  $OD_{540}$  bersamaan dengan 1.0 didapati mampu menghasilkan etanol sebanyak 60.7% kecekapan daripada nilai penghasilan teori, dalam jangka masa yang sama.

## Production Of Biomass Sugars From Lignocellulosic Waste With Emphasize On Sawdusts For Ethanol Production.

### Abstract

Water extraction treatment, delignification with NaOH, bleaching with NaOCl, and subsequent enzymatic hydrolysis of sawdusts was evaluated while considering the use of sawdust's hydrolysate for ethanol production. Maximum saccharification values for sawdust were reached after water extraction treatment at a solid to liquid ratio of 1:150 (w/v), delignified once with 1.0% (w/v) NaOH solution for 1 hour at 100°C using a solid to liquid ratio of 1:10 (w/v) and followed by bleaching three times with 10% Clorox solution (NaOCl) for 1 hour at 50°C, also using a solid to liquid ratio of 1:10 (w/v). The enzymatic hydrolysis was carried out using a mixture of standard enzymes Celluclast 1.5L and Novozym 188 at a ratio of 5:1 (v/v) with pH maintained at 4.8 using citrate buffer, shaken at 200 rpm with incubation temperature of 50°C. The extent of enzymatic fiber hydrolysis up to 82.4%, with reducing sugar production of up to 37.27 mg/ml was reached in four days. The hydrolysis yield also increased with enzyme concentration up to 1% enzyme-mixture. Higher concentrations of enzymes did not enhance hydrolysis further. It was also observed that the saccharification yield was also influenced by the substrate concentration, being 5% (w/v) dry matter better hydrolyzed than lower concentrations. The hydrolysate from the sawdust was later fermented with yeast *Saccharomyces cerevisiae* using anaerobic condition at room temperature (30 ± 2°C). The hydrolysate was fermented to at least 86.5% of theoretical yield with 10% (v/v) hydrolysate and OD<sub>540</sub> = 10.0 in the presence of medium, and to at least 74.2% without the presence of medium in four days. Besides that, 10% hydrolysate with the medium

and initial inoculums of  $OD_{540}$  of 1.0 gave a yield of ethanol with 60.7% efficiency of theoretical yield over the same period of time.

## 1.0 PENGENALAN

Tidak boleh dinafikan bahawa kekayaan bumi kita dengan pelbagai jenis tumbuhan telah menjadikannya sebagai tempat penyimpanan sumber tenaga suria dalam bentuk tenaga kimia semulajadi yang terbesar. Samada ianya ditanam oleh manusia, ataupun tumbuh meliar, bahan tumbuhan mewakili sebahagian besar daripada sumber yang sentiasa dapat diperbaharui yang dipanggil biojisim. Biojisim mempunyai pelbagai kegunaan dan kegunaannya yang utama ialah sebagai bahan api atau bahan bakar. Selain daripada itu, biojisim juga dapat digunakan sebagai sumber tenaga. Jumlah penghasilan biojisim tahunan adalah dianggarkan sebanyak 2,740 Quads (1 Quad = 10,000,000,000,000 Btus) dimana penghasilan biojisim adalah lebih kurang lapan kali ganda daripada jumlah penggunaan tenaga tahunan dunia, yang merangkumi pelbagai sumber (lebih kurang 340 Quads). Dengan yang demikian, biojisim mewakili sebahagian besar daripada sumber tenaga tersebut. Populasi dunia sekarang ini telah dianggarkan hanya menggunakan lebih kurang 7% sahaja daripada penghasilan biojisim tahunan. Dengan yang demikian, kajian yang teliti patut dilakukan untuk meningkatkan penggunaan sumber biojisim yang banyak terdapat di dunia ini dan yang sentiasa diperbaharui.

### 1.1 Biojisim

Menurut Hall (1981), biojisim dapat ditakrifkan sebagai semua bentuk bahan tumbuhan dan haiwan yang tumbuh di darat, di air dan benda-benda yang berasal daripada pertumbuhan biologi seperti haiwan, tumbuhan dan sisa bahan buangan manusia yang mengandungi karbon, nitrogen dan oksigen. Biojisim juga boleh ditakrifkan sebagai semua bahan organik yang wujud di daratan dan di lautan yang berasal daripada tumbuhan dan haiwan (Eliason, 1981). Antara contoh bahan biojisim ini termasuklah tumbuhan, haiwan, bahan buangan

manusia, sisa tanaman daripada pertanian, sisa perbandaran dan akuakultur. Di samping itu, tisu tumbuhan dan bahan buangan organik merupakan sumber biojisim yang utama (Eliason, 1981). Goodman (1981) pula telah menakrifkan biojisim sebagai bahan tumbuhan yang tersedia ada untuk diproseskan menjadi makanan, serabut dan bahan kimia dan ia merupakan sumber tenaga yang paling asas dan tertua yang dapat diperbaharui. Sumber biojisim untuk tenaga tidak hanya terhad kepada tumbuhan sahaja malah mikroorganisma, tumbuhan, haiwan, minyak daripada tumbuhan dan haiwan serta bahan buangan organik juga termasuk di dalam kumpulan biojisim. Disamping itu, Hall (1979) pula mengatakan bahawa biojisim berasal daripada bekalan tenaga daripada proses fotosintesis yang disimpan dalam bentuk biojisim, contohnya pada pokok-pokok.

Istilah biojisim juga boleh digunakan ke atas sebarang tumbuhan samada yang ditanam oleh manusia, yang tumbuh meliar di muka bumi ataupun sisa berlignoselulosa serta juga bahan-bahan organik yang lain, yang terbentuk dalam jumlah yang banyak. Biojisim juga dirujuk kepada bahan-bahan tumbuhan, termasuk karbohidrat berlignoselulosa, sebahagian daripada keseluruhan bahan berlignin dan sebagainya. Selulosa, hemiselulosa dan lignin merupakan komponen utama bahan tumbuhan dan dengan yang demikian mereka secara langsung sememangnya menjadi sebahagian daripada biojisim. Selain daripada itu, kehadiran bahan pektin yang juga merupakan sebahagian daripada komponen tumbuhan juga dianggap sebagai biojisim. Walaupun hadir dalam kuantiti yang kecil, pektin memainkan peranan yang penting dalam pembentukan struktur dinding sel tumbuhan yang kukuh. Kehadiran bahan-bahan berkanji seperti bijirin (beras, jagung dan gandum) dan ubi (ubi kentang dan ubi kayu) juga digolongkan dalam kumpulan biojisim. Ia digolongkan sebagai biojisim kerana, walaupun mereka digunakan untuk tujuan berasingan, pada masa-masa tertentu mereka diproseskan bersama-sama dengan bahagian berlignoselulosa tumbuhan tersebut, misalnya dalam penghasilan makanan haiwan dan etanol (Linko, 1989).

Selain daripada itu, kayu-kayan dan sisa buangan bahan pertanian seperti rumput, hampas tebu, jerami padi, sekam padi dan bahan buangan daripada kelapa sawit seperti pelepah, tempurung, batang, tandan dan hampas daripada buah kelapa sawit yang telah diperah minyaknya juga menjadi sumber biojisim yang penting dan dapat digunakan untuk penghasilan etanol.

Program "The Biomass Energy Systems (BES)" daripada Department of Energy (DOE), USA pula menimbangkan semua bentuk bahan tumbuhan, iaitu yang tumbuh di daratan dan di dalam atau di atas air sebagai biojisim. Ini termasuklah tumbuhan hutan, sisa tanaman, tanaman yang ditanam untuk tenaga di ladang tenaga "energy farms" dan baja haiwan. Walaupun program tersebut tidak memberi penekanan kepada bahan buangan pepejal daripada bandar dan sisa buangan industri, tetapi ia masih menganggapkannya sebagai biojisim yang boleh ditukarkan kepada tenaga (Ward, 1981).

Walau apapun takrifan yang diberikan kepada biojisim, ia sebenarnya merangkumi sebarang tumbuhan, haiwan dan bahan-bahan organik lain yang mengandungi unsur-unsur karbon, hidrogen, nitrogen dan oksigen atau yang sering dikatakan sebagai bahan berlignoselulosa. Kandungan biojisim selalunya berbeza antara sumber-sumbernya, namun lazimnya ia terdiri daripada 25% lignin dan 75% karbohidrat atau gula. Sebenarnya, di antara julat dua komponen yang utama ini, kebanyakan spesies juga mengandungi lebih kurang 5% bahagian ketiga pecahan molekul kecil yang dipanggil bahan ekstrak. Bahagian karbohidrat ini terdiri daripada banyak molekul gula yang digabungkan bersama dalam rantaian yang panjang atau dipolimerisasikan. Dua kategori karbohidrat yang besar, yang mempunyai nilai yang signifikan adalah selulosa dan hemiselulosa. Bahagian lignin pula terdiri daripada molekul jenis bukan-gula yang digabungkan bersama dalam dua dimensi besar struktur seperti kepingan yang terbentuk daripada ikatan rawak unit-unit polimer.

### 1.1.1 Sumber-sumber Biojisim

Komponen primer sumber biojisim yang asas termasuklah kayu-kayan hutan, baja, tanaman tenaga, tumbuhan, sisa buangan perbandaran dan industri, sisa air buangan, dan najis. Berikut adalah beberapa sumber biojisim dan ketersediaannya untuk digunakan (Ward, 1983).

#### a) Sisa buangan tanaman pertanian

Di kebanyakan negara, maklumat hanya tersedia untuk bahagian tanaman pertanian yang boleh diniagakan, manakala bahagian-bahagian sisa yang tertinggal di lapangan atau di tapak pemrosesan yang boleh digunakan sebagai sumber tenaga tidak didapati. Sisa-sisa ini dikenali sebagai sisa pertanian primer tetapi tidak semua sisa ini ditinggalkan di lapangan untuk mengawal hakisan dan pengitaran semula nutrisi. Pelbagai kaedah juga telah dikembangkan untuk menganggarkan jumlah dan kos sisa tanaman yang tersedia untuk kegunaan tenaga.

Bahan mentah sekunder pula ditakrifkan sebagai bahan yang tertinggal selepas pemrosesan rasmi tanaman pertanian. Sebagai contohnya, padi yang dituai di sawah dan kemudiannya akan di bawa ke kilang padi di mana ia dibersihkan dan digredkan. Oleh yang demikian, sisa di sawah akan menjadi bahan mentah primer dan sisa di kilang akan menjadi bahan mentah sekunder yang boleh digunakan sebagai bahan asas untuk proses-proses lain.

b) Sisa Kayu-kayan Hutan

Istilah sisa kayu-kayan hutan yang digunakan untuk meliputi pelbagai sisa yang dihasilkan daripada pertumbuhan dan pembalakan kayu balak kormersial. Sisa kayu-kayan hutan ini termasuklah sisa pembalakan, penyingkiran pokok untuk penipisan hutan (pemotongan serta-merta), penyingkiran pokok-pokok yang muda di kalangan pokok-pokok yang tidak sama tua, dan penyingkiran pokok yang mati secara semula jadi.

c) Baja Haiwan

Negara-negara yang membangun yang mempunyai kawasan hutan yang terhad menggunakan baja haiwan yang kering untuk menggantikan bahan api kayu. Di setengah-setengah negara yang lain pula, baja haiwan digunakan sebagai bahan mentah untuk proses pembiometanasian. Faktor sisa buangan haiwan telah diperkembangkan untuk pelbagai jenis binatang ternakan di bawah keadaan yang berlainan. Sistem pengumpulan baja yang paling berkesan adalah daripada binatang ternakan yang dikurung di mana baja dan kencing yang segar dapat dikumpulkan.

d) Tumbuhan Hidup

Tumbuhan hidup ditakrifkan sebagai bahan daripada pokok yang mati atau berpenyakit, tumbuhan berkayu, dan semak atau belukar. Keterdapatan dan ketumpatan tumbuhan ini adalah luas dan berbeza di seluruh dunia berdasarkan kepada keadaan ekologiannya. Apabila tumbuhan ini tersebar luas, pengumpulan, penuaian, dan pengangkutan menjadikan tumbuhan ini tidak menguntungkan dari segi ekonomi, jika ia digunakan.

### e) Tanaman Tenaga

Konsep tentang penanaman tanaman tenaga melibatkan penggunaan tanah yang terbiar atau yang tidak digunakan sepenuhnya, yang mana dapat dikendalikan sebagai ladang tenaga atau hutan. Tanahnya boleh berubah daripada ladang tanaman yang terbiar ke gurun dan ke badan air yang mempunyai keupayaan untuk menghasilkan hasil yang banyak. Di antara tanaman tenaga yang telah dicadangkan termasuklah tebu, ubi kayu, kacang soya, rumput dan lain-lain lagi.

Konsep ladang tenaga adalah untuk menggunakan pokok-pokok ladang yang mempunyai masa pusingan yang singkat di mana objektif penghasilan adalah untuk mengoptimumkan penghasilan biojisim dengan menimbangkan kos untuk operasi. Pokok-pokok di ladang tenaga ditumbuhkan rapat-rapat diantara satu sama lain dan untuk jangka masa yang singkat berbanding dengan tanaman di hutan. Dengan yang demikian istilah 'hutan berpusingan singkat' dapat digunakan untuk barangan yang dihasilkan daripada sistem tersebut. Sebagai contoh, spesies tumbuhan yang tumbuh dengan cepat, yang ditumbuhkan pada ketumpatan yang tinggi, dapat dipotong dalam jangka masa yang pendek (misalnya antara 3 hingga 4 tahun), dan membiarkan spesies tersebut untuk tumbuh semula daripada batang kayu yang masih tertinggal dalam tanah (iaitu dengan terus memotongnya sepanjang jangka masa 20-30 tahun). Pada masa ini, hutan berpusingan pendek ini sudah pun dapat bersaing dengan sumber tenaga yang tidak dapat diperbaharui.

Penanaman pelbagai spesies tumbuhan atau kion atau pelbagai tumbuhan daripada spesies yang sama dijangka dapat mengurangkan risiko bahaya biologi yang mungkin disebabkan oleh monokultur. Di samping itu sistem ini kelihatan dapat membenarkan

penyaraan hidupan liar, menjanjikan hasil yang pelbagai, dan memudahkan penubuhan ladang tenaga sedemikian di dalam sistem penggunaan tanah yang efisien di luar bandar.

Dari segi perhutanan pula, pelbagai kebaikan dapat diperhatikan seperti penggunaan hasil daripada kayu balak, pulpa kayu dan tenaga. Pelbagai jenis tanaman juga boleh ditanam di ladang tenaga herba. Perbezaan yang asas yang terdapat di antara tumbuhan berkayu dan tanaman herba ialah, tanaman herba mempunyai batang yang lembut dan tidak membentuk tisu berkayu. Beberapa tanaman herba juga mempunyai kebaikan berbanding dengan tanaman berkayu sama ada dari segi hasil atau proses penukaran, iaitu tanaman gula dapat difermentasikan menjadi etanol atau tanaman berminyak yang dapat digunakan untuk menggantikan bahan api diesel.

f) Biojisim Akuatik

Dengan pertumbuhan populasi dunia yang mendadak, persaingan untuk mendapatkan tanah meningkat di kebanyakan negara. Akibat daripada itu, hanya kawasan tanah pinggir dan tanah yang tidak digunakan sahaja boleh didapati untuk penghasilan biojisim. Oleh yang demikian, sudah menjadi kebiasaan untuk mempertimbangkan tumbuhan akuatik sebagai sumber tenaga. Tumbuhan air sudah pun mula digunakan untuk makanan dan setengah-setengah spesies rumpai laut pula digunakan secara kormersial untuk menghasilkan bahan-bahan kimia. Tumbuhan akuatik ini kelihatan menawarkan potensi yang tinggi berbanding dengan alga kerana ia dapat dituai dengan lebih mudah dan cepat.

#### g) Penyediaan Bahan Mentah

Satu keburukan utama biojisim berbanding dengan arang adalah, biojisim mempunyai saiz ketumpatan yang rendah dan mempunyai julat kandungan air yang luas. Ciri-ciri ini menghalang pengangkutan biojisim melalui jarak yang jauh. Kayu dalam pelbagai rupa bentuk boleh digunakan. Ini termasuklah bentuk kayu yang bulat, serpihan dan serbuk. Pelbagai sistem komersial juga adalah tersedia untuk memperbaiki nisbah joule/jisim kayu-kayan tersebut. Sistem-sistem ini boleh menggunakan sisa pertanian atau kayu-kayan hutan yang dikisar menjadi saiz yang sesuai, dikeringkan dan dimampatkan. Walaupun demikian, pelbagai masalah masih dihadapi dalam penyimpanan ketulan-ketulan kecil biojisim tersebut sebab ia mudah menyerap air dan menjadi hancur. Jika keadaan ini berlaku, penyimpanan secara kering akan diperlukan, yang mana akan meningkatkan lagi kos pengendaliannya.

#### h) Sisa Buangan Pepejal

Di mana sahaja manusia tinggal atau bekerja, sejumlah sisa buangan pepejal pasti dihasilkan. Kuantiti dan ciri-ciri sisa ini berubah mengikut masa dan keadaan perkembangan ladang, desa, atau bandar. Pengumpulan dan pelupusan bahan-bahan buangan di kawasan luar bandar dan kampung-kampung di negara-negara yang sedang membangun ini adalah terserah kepada individu. Di tempat-tempat yang lain pula, iaitu di desa dan bandar, mereka mempunyai suatu sistem untuk pengumpulan dan pelupusan sisa buangan pepejal ini. Oleh kerana sisa buangan pepejal ini dipandang sebagai bahan pencemaran yang serius dari segi kesihatan, ia patut ditukarkan menjadi sebarang sumber tenaga yang mungkin.

i) Efluen Industri

Sebahagian besar daripada kilang pemprosesan makanan dan setengah-setengah industri kimia menghasilkan sisa organik yang boleh ditukarkan kepada tenaga. Contoh kilang pemprosesan makanan adalah kilang pengetinan, kilang pembekuan, rumah penyembelihan, kilang gula, kilang bir, kilang penyulingan dan kilang membuat roti. Kilang organik dan kemudahan karbonisasi arang juga adalah di antara contoh-contoh industri kimia dan efluen yang boleh dibiouraikan.

j) Sisa Air Buangan dan Buangan Manusia

Kebanyakan bandar dan desa menggunakan sistem pembawa air untuk mengangkut sisa buangan ke tapak pelupusan. Selagi sistem-sistem ini tidak mengandungi sisa industri yang toksik, bahagian organik sisa tersebut dapat dibiouraikan dan ditukarkan kepada tenaga. Di kawasan-kawasan yang tidak menggunakan sistem pembawa air ini, buangan manusia dan sisa bahan makanan dari rumah, restoran dan kemudahan yang lain ini menjadi sumber yang dapat ditukarkan kepada tenaga. Masyarakat pula berpendapat bahawa sisa buangan rumah tangga dan sisa air buangan patut dirawat untuk mengurangkan kemungkinan penyebaran sesuatu penyakit berjangkit

## 1.2 Lignoselulosa semulajadi

Lignoselulosa ditakrifkan sebagai bahan-bahan polisakarida yang terdapat pada tumbuhan hidup yang membentuk struktur rangka dinding sel tumbuhan tersebut, yang dapat dihidrolisiskan menjadi glukosa (Paul, 1980). Di alam semulajadi, selulosa biasanya dikaitkan dengan pelbagai jenis polisakarida yang lain seperti kanji, pektin dan pelbagai hemiselulosa. Hemiselulosa adalah polimer atau heteropolimer galaktosa, manosa, xilosa, arabinosa dan gula lain. Di samping itu, semua selulosa di alam semulajadi ini dimendapkan dengan campuran lignin, suatu polimer berfenol yang jelas berbeza daripada selulosa dan hemiselulosa yang bersekutu dengannya (Cowling & Kirk, 1976). Suatu yang menarik tentang lignin adalah ia tidak berkembang tanpa kehadiran karbohidrat. Ini mungkin disebabkan oleh perkembangan polilignol di dalam selnya yang memerlukan pelekatan kepada permukaan polisakarida (Freundenberg, 1968).

Dinding sel biojisim berlignoselulosa pula dianggarkan mempunyai dua fasa ; iaitu fasa berangka dan fasa tidak berangka. Kedua-dua fasa ini terdiri daripada polisakarida, walaupun pada masa-masa tertentu, protein dan lignin boleh juga menjadi juzuk yang penting. Komponen struktur berangka ini mewakili bahagian dinding sel tumbuhan yang paling rintang terhadap tindak balas kimia dan pendegradasian. Ia juga menjadi sebahagian daripada agregat berhablur homopolisakarida yang kelihatan sebagai mikrofibril di bawah mikroskop elektron. Di antara komponen fibril yang paling dikenali dan yang paling biasa ditemui adalah selulosa iaitu suatu polimer 1,4- yang terikat kepada  $\beta$ -D-glukosa. Bahagian yang tidak berfibril (tidak berangka) pula adalah suatu bahan yang berkompleks secara kimia dan biasanya dibahagikan lagi kepada

hemiselulosa dan bahan-bahan pektin. Bahagian ini dikenali sebagai bahagian amorfus (Atkins, 1985).

Selulosa dan hemiselulosa terdapat pada kedua-dua tumbuhan darat dan laut. Walau bagaimanapun, di dalam tumbuhan darat lignin menjadi juzuk unik pada tumbuhan bervaskular. Fungsi utama lignin adalah untuk memberikan ketegasan kepada dinding sel tumbuhan, dengan yang demikian membolehkannya bertambah tinggi dan kuat (Timell, 1965).

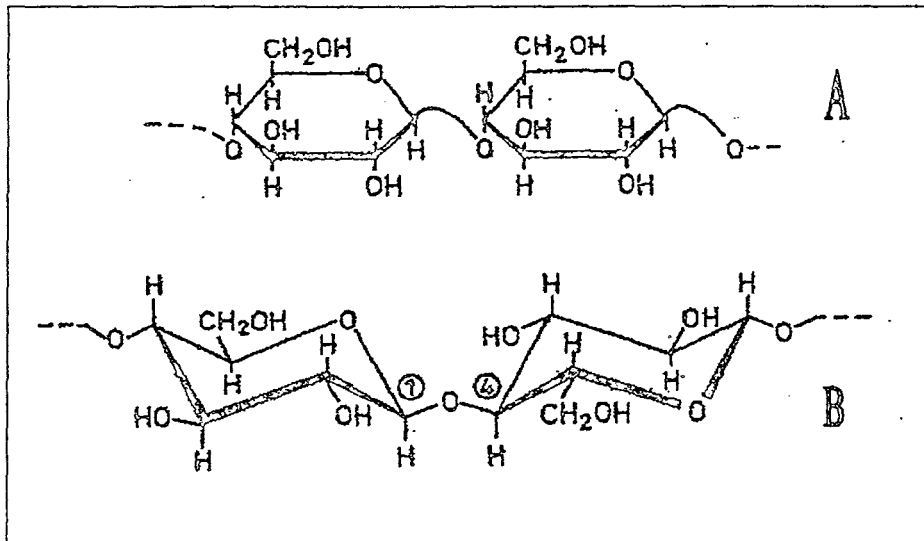
### 1.2.1 Komposisi lignoselulosa

Komposisi kimia kayu terdiri daripada pelbagai komponen seperti selulosa, hemiselulosa, lignin, pelbagai bahan ekstrak termasuk sesetengah bahan bernitrogen dan sedikit bahan tidak organik (Cowling & Brown, 1969). Sebahagian besar daripada biojisim berlignoselulosa ini, biasanya sekitar 35-50% terdiri daripada polimer yang dikenali sebagai selulosa. Pecahan yang kedua terbesar, iaitu sekitar 20-35%, pula adalah hemiselulosa. Hemiselulosa ini merupakan suatu polimer gula, tetapi jenis dan taburan gula ini adalah berubah-ubah bergantung kepada sumber biojisim yang tertentu. Untuk kebanyakan jenis biojisim berlignoselulosa, gula lima karbon, xilosa menjadi sebahagian besar daripada komponen hemiselulosa. Bahagian yang ketiga terbesar, iaitu sekitar 15-25% biasanya adalah lignin iaitu sejenis polimer fenil-propana dengan komposisi yang kompleks, yang tidak boleh dipecahkan untuk menghasilkan molekul gula. Komposisi kimia kayu keras juga sangat berbeza daripada komposisi kimia kayu lembut. Pada amnya, kayu keras mempunyai kandungan lignin yang kurang dan kandungan hemiselulosa yang lebih tinggi berbanding dengan kayu lembut (Lewis,

1954). Selain daripada itu, bahan-bahan ekstrak yang lain seperti minyak tumbuhan, protein dan abu didapati memenuhi pecahan biojisim berlignoselulosa yang tinggal (Wyman, 1994).

### 1.2.1.1 Selulosa

Selulosa adalah suatu polimer lurus unit-unit anhidro-D-glukopironosa yang disambungkan dengan ikatan  $\beta$ -1-4 glikosidik (Rajah 1.1). Ikatan kovalen di dalam dan di antara unit-unit glukosa menghasilkan suatu molekul lurus dan keras dengan ketegangan yang tinggi (Thomas, 1981). Apabila lignin disingkirkan melalui rawatan kimia, bahagian selulosa boleh diuraikan dengan rawatan secara mekanikal atau kimia yang sesuai kepada struktur halus seperti bebenang yang dikenali sebagai fibril. Dengan adanya molekul-molekul rantaian panjang yang tersusun selari sepanjang fibril, selulosa akan menghasilkan suatu corak hablur berterusan. Sebenarnya corak selulosa yang terbentuk pada dinding sel tumbuhan adalah tidak berterusan. Walaupun demikian, molekul-molekul rantaian panjang ini adalah selari di antara kepada satu sama lain secara memanjang, walaupun hanya pada jarak yang tertentu sahaja. Apabila lebih jauh di antara zon-zon keselarian, ia menjadi separa selari dan tidak teratur, lalu menghasilkan bahagian yang dipanggil amorfus. Bahagian selari molekul rantaian yang mengandungi hablur, dipercayai dipegang bersama melintangi fibril oleh ikatan hidrogen yang kuat dan daya Van der Waal's yang lemah. Kumpulan OH sisi membekalkan tapak untuk ikatan hidrogen (Thomas, 1981). Ikatan di antara segmen-segmen fibril ini juga adalah tiga dimensi. Pada zon amorfus, terdapat kurang atau sedikit sahaja ikatan antara rantaian molekul yang melintangi fibril. Ini disebabkan oleh



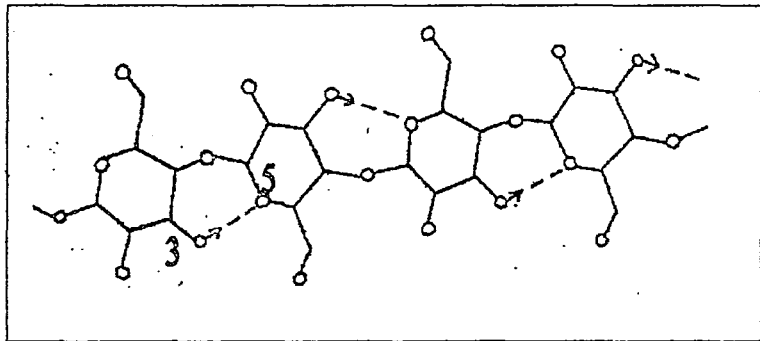
Rajah 1.1: Struktur selulosa dalam formula Haworth (A) dan dalam formula konformasi (B) (Theander & Aman, 1984)

susunan ketidaksiannya, tetapi ikatan kovalen primer yang kuat mengikat unit-unit anhidrida-glukosa bersama di sini dan daya-daya ikatan kovalen ini juga tersebar sepanjang rangkaian molekulnya (Brown, 1952).

Kumpulan OH juga meningkatkan afiniti selulosa kepada air. Bilangan ikatan hidrogen yang tinggi ini menghasilkan gabungan molekul selulosa sisi yang kukuh, yang mengakibatkan terletaknya bahagian berhablur di dalam dinding sel. Darjah penghabluran untuk kayu adalah di antara 67-90% (Thomas, 1981).

Di alam semulajadi, bentuk selulosa berhablur tersusun sebagai fibril, di mana rangkaian selulosa dikumpulkan rapat bersama-sama dalam agregat padat yang di kelilingi oleh matriks juzuk dinding sel yang lain (Theander & Aman, 1984). Rangkaian selulosa di dalam selulosa berhablur yang semulajadi, selalunya mengandungi ikatan-ikatan hidrogen (Rajah 1.2) di dalam rangkaian antara OH<sub>3</sub> untuk satu unit glukosa dan O<sub>5</sub> untuk unit glukosa yang berikutnya (Ranby, 1969). Bahagian berhablur, yang panjangnya di sekitar 60 nm, diganggu oleh bahagian yang tidak berhablur (amorfus). Molekul selulosa berukuran di antara 2,500 hingga 5,000 nm panjang dan akan melalui beberapa bahagian berhablur dan beramorfus. Oleh kerana sebahagian besar molekul selulosa bersekutu rapat di antara satu sama lain dan amat sedikit yang melencong ke sisi, ia menampakkan darjah orientasi memanjang yang agak tinggi (Thomas, 1981).

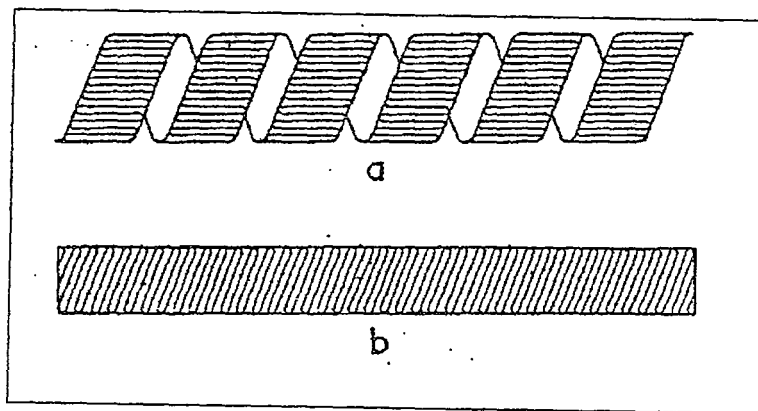
Kesemua rangkaian selulosa mempunyai kebarangkalian yang lebih kurang sama untuk bertindak dan tindak balas berlaku dengan cara yang sama sepanjang ke keseluruhan fibril; walaupun mungkin lebih cepat pada bahagian amorfus. Ini adalah jenis tindakan



Rajah 1.2: Molekul selulosa dengan rantaian antara ikatan hydrogen di antara  $\text{OH}_3$  dan  $\text{O}_5$  (Ranby, 1969)

di dalam perubahan susunannya. Pada masa ini, telah diterima umum bahawa tindak balas tersebut diiringi oleh pembengkakan fibril atau sebelum pembengkakan melalui pembengkakan sebatian tambahan seperti selulosa alkali dan besar kemungkinan perubahan dari segi susunan. Dalam kes ini, tindak balas di anggap bermula dari permukaan fibril dan bersambung ke dalamnya melalui dinding fibril dari satu lapisan ke lapisan yang lain. Terdapat banyak perbezaan di antara tindak balas bahagian amorfus (juga dikenali sebagai bahagian yang mudah dimasuki, tidak teratur atau antara habtur) dan bahagian berhabtur fibril selulosa. Perbezaan tindakan ini bukan disebabkan oleh perbezaan sebenar dalam keupayaan bertindak molekul selulosa pada kawasan berlainan tetapi adalah kepada kemudahan tindakannya (Jahn, 1952).

Pada dasarnya selulosa semulajadi terdiri daripada mikrofibril dengan kelebaran 100 Å (Ranby, 1969). Selulosa adalah dalam bentuk fibril-fibril yang berpilin pada sudut yang berlainan dan arah yang berlainan dalam siri lapisan atau dinding sel kayu (Warwicker, 1985). Tiada misel pinggirannya yang tersirat, tiada membran, dan tiada rangkaian rantaian selulosa yang berlaku kecuali apabila terbentuk daripada mikrofibril, tersusun di bawahnya sebagai unit-unit dalam struktur morfologi. Fibril yang tebal, lamela yang kebanyakannya selari dengan mikrofibril, dan lapisan serta dinding unit-unit fibril yang bersilang mengandungi mikrofibril-mikrofibril yang ketebalannya lebih jelas, dengan panjang yang tidak tentu. Model heliks (Rajah 1.3) rantaian selulosa yang berlipat untuk struktur mikrofibril selulosa, di anggap terbina sebagai lipatan rantaian reben yang berpilin (Ranby, 1969).

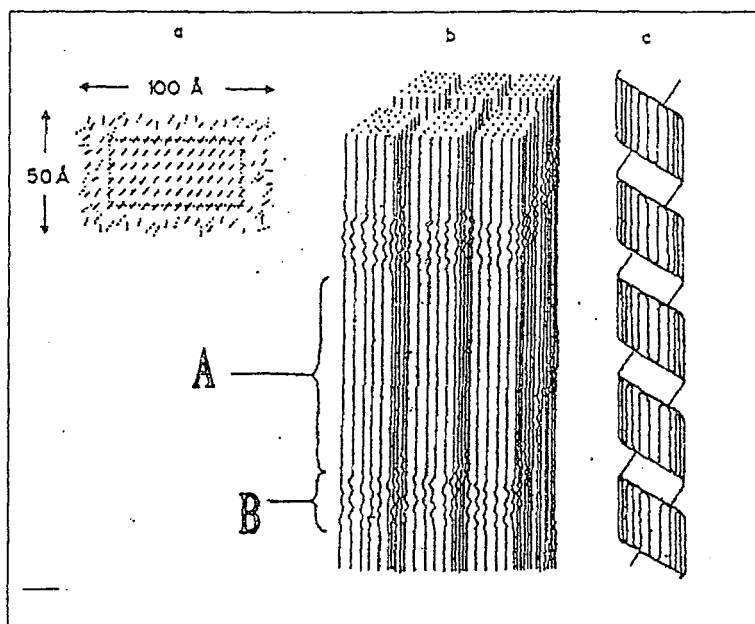


Rajah 1.3: Model struktur mikrofibril selulosa yang mengandungi rantaian selulosa yang berlipat (Ranby, 1969). (a) struktur berlipat atau heliks (b) struktur lurus

### 1.2.1.2 Mikrofibril

Mikrofibril yang kelihatan seperti struktur bebenang, mudah diperhatikan di bawah mikroskop elektron. Kelebaran mikrofibril, bergantung kepada sumber bahan, dan berubah-ubah daripada 10-30 nm dan ketebalannya adalah setengah daripada kelebarannya. Panjangnya belum lagi ditentukan dan struktur dalaman mikrofibril juga belum dibuktikan dengan jelas. Setengah penyelidik percaya bahawa mikrofibril terdiri daripada teras berhablur selulosa yang dikelilingi oleh bahagian amorfus yang mengandungi hemiselulosa dan lignin. Bergantung kepada penyelidik, saiz teras berhablur dianggarkan berada dalam julat di antara  $3 \times 5$  hingga  $4 \times 10$  nm. Dengan yang demikian, jumlah diameter mikrofibril adalah sama dengan jumlah teras berhablur dan jumlah hemiselulosa yang berada di sekitar teras berhablur tersebut. Pengumpulan mikrofibril dengan suatu teras berhablur kepada struktur yang bergaris pusat yang lebih besar akan kelihatan sebagai suatu mikrofibril yang besar. Kajian dengan mikroskop elektron yang beresolusi tinggi dan diikuti dengan teknik pewarnaan negatif telah membolehkan ukuran lebar fibril selulosa yang digelar fibril asas, yang merupakan struktur asas ditentukan iaitu selebar 3.5 nm. Satu cadangan yang lain pula telah memperlihatkan mikrofibril sebagai terdiri daripada empat fibril asas dengan hemiselulosa, lignin dan air di sekitar bahagian luar dan juga di antara fibril asas. Kajian yang terbaru pula telah menunjukkan fibril yang dikenali sebagai 'fibril di bawah keadaan asas' berada dalam julat 1 nm. Walau bagaimanapun, struktur dalaman mikrofibril tidak diketahui dengan tepat (Thomas, 1981).

Tiga model mikrofibril yang terbaru, ditunjukkan dalam Rajah 1.4. Mengikut konsep yang ditunjukkan oleh a dalam Rajah 1.4, mikrofibril berukuran kira-kira  $50 \times 100$  nm



Rajah 1.4: Struktur mikrofibril; a) Mikrofibril yang terdiri daripada terashablur segi empat tepat yang dikelilingi oleh korteks para-hablur. Garis lurus mewakili kewujudan sisa glukosa; garis terputus-putus mewakili orientasi molekul hemiselulosa. b) Mikrofibril yang mengandungi pelbagai fibril asas yang terdiri daripada 15 hingga 40 molekul selulosa dan yang ditemberengkan kepada bahagian berhablur dan para-hablur. c) Molekul selulosa yang pada mulanya dilipatkan menjadi rebèn leper dan dililitkan untuk membentuk pilin heliks yang ketat (Cowling & Kirk, 1976). A) Kawasan berhablur B) Kawasan para-hablur

dalam arah melintang dan ia terdiri daripada suatu 'teras berhablur' molekul-molekul selulosa yang padat yang tersusun dalam bentuk reben rata, berbentuk segi empat tepat dalam arah melintang. Teras berhablur ini dilingkari oleh lapisan para-hablur yang juga mengandungi molekul-molekul lignin dan hemiselulosa di dalam kayu. Teras berhablur mungkin tidak berterusan. Model dengan ketidakterusan teras berhablur pada masa-masa yang tertentu adalah disebabkan oleh pelbagai bahagian berhablur dan amorfus. Berdasarkan model ini, gabungan molekul-molekul selulosa adalah kurang tersusun pada bahagian-bahagian tertentu sepanjang arah memanjang mikrofibril. Konsep yang baru yang ditunjukkan oleh dalam Rajah 1.4 mecadangkan bahawa molekul-molekul selulosa wujud sebagai kekisi rantaian berlipat yang berbentuk sebagai reben yang berpilin di dalam heliks yang ketat (Cowling & Brown, 1969).

Pembentukan mikrofibril selulosa dipercayai sebagai suatu proses bukan berenzim yang hanya disebabkan oleh daya tarikan molekul yang berasal daripada kebolehan kumpulan hidroksil pada C<sub>3</sub> dan C<sub>6</sub> molekul yang bersebelahan yang mendorong kepada pembentukan kepingan glukosa yang panjang dan nipis yang terikat bersama oleh daya Van der Waal's (Krassig, 1985).

### 1.2.1.2 Hemiselulosa

Hemiselulosa adalah polisakarida yang pendek atau polimer bercabang yang dikaitkan dengan selulosa dan merangkumi 50% daripada selulosa fibril kayu. Hemiselulosa banyak dijumpai dalam tumbuhan tahunan. Hemiselulosa, pada amnya tidak larut di dalam air, larut di dalam alkali, dan mudah dihidrolisiskan oleh asid berbanding dengan selulosa. Kelas yang utama adalah xilan yang dijumpai dalam kuantiti yang banyak di

dalam pokok yang meluruhkan daun dan tumbuhan tahunan dan sedikit di dalam pokok-pokok pain. Pokok-pokok pain mempunyai glukomanan dalam kuantiti yang banyak (Goldstein, 1976).

Hemiselulosa juga ditakrifkan sebagai polisakarida (selain daripada selulosa dan simpanan karbohidrat lain seperti kanji, glikogen dan lain-lain) yang perlu untuk pertumbuhan, kematangan dan pembentukan struktur dinding sel tumbuhan berfibril. Secara empirikal, hemiselulosa boleh diklasifikasikan sebagai glukana, xilan, manan, galaktan dan galakturonan seperti yang ditunjukkan dalam Jadual 1.1 (Thompson, 1983). Pada amnya, kayu lembut mengandungi kandungan manan di antara 5.0 dan 16.0%. Sebaliknya, kayu keras mempunyai kandungan xilan yang lebih tinggi berbanding dengan kayu lembut (Lewis, 1954).

Hemiselulosa juga termasuk di dalam kumpulan polisakarida amorfus yang membentuk sebahagian daripada sistem yang menembusi di antara dan mentatah rangka selulosa. Ia juga merupakan rantaian pendek polisakarida yang membentuk sebahagian daripada rangka selulosa itu sendiri (Norman, 1954). Hemiselulosa, seperti selulosa, adalah polimer unit anhidro-glukosa. Ia berbeza daripada selulosa di mana molekul hemiselulosa mungkin mengandungi beberapa unit gula yang berlainan jenis (Thomas, 1981). Hemiselulosa adalah heteroglik yang mengandungi pelbagai jenis gula seperti D-xilosa, D-manosa, D-glukosa, D-galaktosa, L-arabinosa dan L-rhamnosa. Selain daripada gula ini, kumpulan heksuronik juga mungkin hadir (Han, 1983).

Kebanyakan hemiselulosa tidak terbentuk sebagai homopolisakarida tetapi adalah sebagai heteropolisakarida, yang mengandungi pelbagai jenis gula sebagai rantaian

Jadual 1.1: Jenis-jenis Hemiselulosa (Thompson, 1983)

| Jenis-jenis hemiselulosa |
|--------------------------|
| Glukan                   |
| Xilan                    |
| Manan                    |
| Galaktan I dan II        |
| Galakturonan             |
| Serbaneka                |

23

tulang belakang dan rangkaian sisi atau sampingannya. Unit-unit gula ini adalah D-glukosa, L-arabinosa, D-glukosa, D-galaktosa, asid D-glukuronik, asid D-4-O-metilglukuronik, asid D-galakturonik, kumpulan O-asetil atau ikatan ester-ester feruloil dan koumaril iaitu L-arabinosa yang membentuk tulang belakang hemiselulosa (Puls & Pautanen, 1989). Untuk hemiselulosa kayu pula, hanya sekumpulan kecil gula sahaja yang sesuai sebagai unit-unit binaannya. Unit-unit ini adalah D-xilosa, D-manosa, D-glukosa dan sebahagian kecil L-arabinosa, dan L-rhamnosa (Wise, 1952a). Unit-unit monosakarida dan terbitannya akan terikat bersama oleh ikatan glikosidik 1→3, 1→6, dan 1→4. Kebanyakannya adalah molekul linear, walaupun sesetengahnya memiliki cabang yang pendek. Jisim molekul hemiselulosa adalah lebih rendah daripada selulosa. Sebilangan kumpulan asetil juga hadir sebagai pengganti terutamanya pada glukomanan gimnosperma dan xilan angiosperma (Cowling & Brown, 1969).

Pada dasarnya, hemiselulosa mempunyai sifat-sifat yang boleh larut di dalam alkali cair (Puls & Pautanen, 1989). Hemiselulosa juga biasanya dikaitkan dengan polisakarida yang boleh diekstrak dengan larutan alkali daripada tumbuhan (Han, 1983). Hemiselulosa adalah polisakarida yang boleh dipindahkan daripada tisu yang tidak diolah melalui pengekstrakan dengan alkali sejuk atau panas, dan juga yang dapat dihidrolisis dengan mendidihkannya dengan asid cair untuk mendapatkan jujuk unit monosakarida. Hemiselulosa mudah dilarutkan sama ada di dalam larutan yang panas, cair atau asid mineral dengan pembentukan gula ringkas (Wise, 1952a). Lebih daripada satu jenis gula mungkin boleh dijumpai selepas proses penghidrolisisan, dan ini termasuklah kumpulan heksuronik (Norman, 1954). Ia juga boleh larut di dalam larutan 5% sodium hidroksida yang sejuk, tetapi keterlarutannya di dalam reagen sejuk ini adalah agak lambat (Wise, 1952a).

Hemiselulosa juga dapat dibezakan daripada komponen dinding sel yang lain di mana ia mempunyai kerintangan yang paling kurang terhadap tindakan asid cair (Wise, 1952a). Hemiselulosa termasuk di dalam bahagian dinding sel tumbuhan yang mudah dihidrolisiskan, iaitu berbanding dengan selulosa yang lebih rintang (Puls & Pautanen, 1989). Hemiselulosa dan lignin sering mengelilingi struktur selulosa yang berhablur (Thomas, 1981). Bersama-sama dengan selulosa dan lignin, hemiselulosa menjadi komponen utama dinding sel kayu dan tumbuhan tahunan (Zimmermann, 1989). Polisakarida hemiselulosa menjadi struktur yang penting dalam dinding sel kayu, di mana ia bersekutu rapat dengan lignin dan selulosa (Williams, 1989). Dengan yang demikian, pengolahan pada kayu untuk menyingkirkan lignin, biasanya akan menyingkirkan sebahagian daripada kandungan hemiselulosa sekali (Wise, 1952a). Di samping itu, terdapat juga kemungkinan untuk hemiselulosa bergabung dengan komponen-komponen lain yang mempunyai jisim molekul yang tinggi (Wise, 1952a).

### 1.2.1.3 Lignin

Lignin adalah sekumpulan polimer bermolekul tinggi dan merupakan sebatian amorfus yang berkait rapat secara kimia dengan bahan-bahan semulajadi yang bermolekul tinggi lain seperti selulosa, hemiselulosa, kanji dan protein (Brauns, 1952). Lignin adalah komponen bukan karbohidrat yang utama di dalam kayu dan kandungannya berubah-ubah di antara 15 dan 35% (Kratzl, 1965). Ia juga adalah kompleks yang mempunyai ikatan silang dan merupakan polimer tiga dimensi yang terbentuk daripada unit-unit fenol (Thomas, 1981) dan fenil-propana (Goldstein, 1976). Bilangan unit bahan binaannya juga berubah-ubah daripada beberapa unit hingga ke beberapa ratus unit (Thomas, 1981).