

## Hidrolisis Lignoselulosa Hasil *Pretreatment* Pelepah Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq) menggunakan $H_2SO_4$ pada Produksi Bioetanol

### *Lignocellulose Hydrolysis of Oil Palm Frond (Elaeis guineensis Jacq) Pretreatment Result Using $H_2SO_4$ in Bioethanol Production*

Nada Mawarda Rilek, Nur Hidayat\*, Yusron Sugiarto  
Department of Agro-industrial Technology, Faculty of Agricultural Technology  
University of Brawijaya, Malang, Indonesia  
\*nhidayat@ub.ac.id

Received: 08<sup>th</sup> January, 2017; 1<sup>st</sup> Revision: 04<sup>th</sup> April, 2017; 2<sup>nd</sup> Revision: 12<sup>th</sup> July, 2017; Accepted: 14<sup>th</sup> July, 2017

#### Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi asam dan waktu hidrolisis terhadap kadar gula total serta kadar gula reduksi. Rancangan yang digunakan adalah Rancang Acak Kelompok (RAK) faktorial 2 faktor yaitu konsentrasi  $H_2SO_4$  dan lama waktu hidrolisis. Faktor pertama terdiri dari tiga level yaitu 0,4M, 0,6M dan 0,8M, sedangkan faktor kedua terdiri dari tiga level yaitu 60 menit, 80 menit dan 100 menit dari rancangan tersebut diperoleh sembilan kombinasi. Pada setiap kombinasi dilakukan tiga ulangan (27 sampel). Selanjutnya, dilakukan uji kadar gula total menggunakan refraktometer dan kadar gula reduksi menggunakan Nelson-Somogyi. Data kemudian dianalisis menggunakan ANOVA dan uji DMRT 5%. Hasil pengamatan menunjukkan kandungan gula total tertinggi saat proses hidrolisis adalah perlakuan  $H_2SO_4$  0,6M dengan waktu 100 menit yaitu 10,7%. Berdasarkan uji Anova dan DMRT 5% bahwa kedua faktor perlakuan berpengaruh signifikan terhadap kadar gula dan berbeda nyata. Gula reduksi yang dihasilkan pada proses hidrolisis sebesar 19,29%. Dari bahan tersebut didapatkan etanol hasil fermentasi sebesar 4%.

**Kata kunci:** bioetanol, gula, hidrolisis, pelepah sawit

#### Abstract

The purpose of this research was to determine the effect of acid concentrations and hydrolysis time. Randomized Completely Block Design were arranged in a factorial with two factors :  $H_2SO_4$  concentrations were 0.4M, 0.6M, 0.8M and hydrolysis time were 60 minutes, 80 minutes, 100 minutes. Each combination repeated three times. Samples were tested of total sugar content using refractometer and were tested of reducing sugar using Nelson-Somogyi. Data were analyzed used two-ways ANOVA and conducted further test using the DMRT 5%. The result showed that the highest total sugar content is 10.7% in the treatment of  $H_2SO_4$  concentration 0.6M and hydrolysis time 100 minutes. Based on ANOVA and DMRT test, all factors had significantly effect of the percentage of sugar. Beside that, in this research also have reduction sugar about 19.29% from sugar content of result hydrolysis process. Pretreatment oil palm frond using  $H_2SO_4$  was produced 4% ethanol after fermentation.

**Keywords:** bioethanol, hydrolysis, oil palm frond, sugar

## PENDAHULUAN

Bioetanol kini mulai banyak digunakan di bidang transprotasi menggantikan bahan bakar fosil yang semakin berkurang. Negara yang memulai penggunaan bioetanol adalah Jerman dan Perancis pada tahun 1984 (Demirbas and Karslioglu, 2007) yang kemudian berkembang ke Negara-negara maju lainnya. Brazil merupakan Negara yang secara intensif mengembangkan penggunaan bioetanol. Berdasarkan bahan bakunya, maka dikenal biotenaol generasi pertama yang banyak menggunakan bahan kaya sukrosa seperti tebu, gula bit, sorgum dan buah-buah, diikuti generasi kedua dengan bahan yang

kaya karbohidrat seperti jagung, beras, kentang, singkong, ubi jalar dan bahan kaya lignoselulosa seperti kayu dan jerami. Generasi ketiga mulai menggunakan alga termasuk mikro alga (Nigam and Sigh, 2011). Pelepah sawit adalah limbah perkebunan sawit yang mengandung selulosa cukup tinggi yakni 30-33% (Sahiba-Hanim, 2010) yang sangat potensial untuk digunakan sebagai bahan baku bioetanol generasi kedua. Luas perkebunan sawit di Indonesia mencapai 8,9 juta Ha. Menurut Dirjen Perkebunan (2013) dalam satu tahun setiap hektarnya akan menghasilkan 6.400–7.500 pelepah, atau pertahunnya Indonesia dapat menghasilkan limbah pelepah sawit sebesar 66.750 juta

pelepeh atau sekitar 300 juta ton/tahun. Dalam proses pembuatan bioetanol dari lignoselulosa terdapat proses yang cukup panjang yaitu *pretreatment*, hidrolisis dan fermentasi.

Proses *pretreatment* dilakukan karena kandungan lignin dan hemiselulosa pada material lignoselulosa seperti pelepeh sawit membentuk struktur yang kuat melalui ikatan kovalen yang berfungsi melindungi sel tanaman dari serangan mikroorganisme. Struktur yang terbentuk dari ikatan kovalen antara lignin dan hemiselulosa melindungi selulosa sehingga selulosa sulit untuk di hidrolisis (Awatshi *et al.*, 2013). Bukan hanya proses *pretreatment* saja, optimalisasi masing-masing proses sangat menentukan rendemen dan kualitas bioetanol yang dihasilkan terutama pada proses hidrolisis. Hidrolisis adalah proses lanjutan dari *pre-treatment* yang akan mengubah selulosa menjadi glukosa. Glukosa ini nantinya akan dikonversi menjadi etanol oleh mikroorganisme diantaranya *Saccharomyces cerevisiae* (Putra, 2011).

Selulosa merupakan bahan homopolisakarida yang tersusun dari unit  $\beta$ -D glukopiranos, diikat oleh  $\beta$ -(1-4) ikatan glikosidik. Selobiosa merupakan monomer dari selulosa yang dapat dikonversi menjadi glukosa (Ganguly *et al.*, 2012). Selulosa dapat dihidrolisis secara kimiawi menggunakan larutan  $H_2SO_4$ . Larutan asam seperti asam sulfat dapat memotong ikatan beta 1,4 selulosa sehingga diharapkan dapat meningkatkan kadar gula yang dihasilkan dan dapat mengoptimalkan kadar bioetanol yang dihasilkan (Sukowati dkk., 2014). Seperti penelitian yang dilakukan oleh Ramdja dkk. (2010) bahwa penambahan dosis asam sulfat 4% mampu menghasilkan gula maksimum. Namun demikian, peningkatan konsentrasi dan waktu reaksi dapat mengakibatkan penurunan rendemen, sehingga diperlukan komposisi yang pas.

Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan proses *pretreatment* menggunakan teknologi nanofikasi dengan kombinasi konsentrasi NaOH 1M, 1,5M dan 2M dan juga frekuensi gelombang ultrasonik 30, 40 dan 50 KHz. Penelitian tersebut membuktikan proses mampu meningkatkan kandungan selulosa hingga 59,49%, hemiselulosa menjadi 11,8% dan lignin 19,61% pada NaOH 2M dan frekuensi 50 KHz (Sugiarto dkk., 2014). Setelah selulosa meningkat tahap selanjutnya adalah konversi selulosa menjadi glukosa, tahap ini terus dikembangkan salah satunya pada hidrolisis asam karena serat sangat rigid dan sulit dipecahkan menjadi glukosa.

Sukowati dkk. (2014) menunjukkan bahwa produksi bioetanol dari kulit pisang dengan hidrolisis asam sulfat konsentrasi  $H_2SO_4$  0,025M dan waktu hidrolisis 15 menit mampu menaikkan kadar gula reduksi dari 10,85 mg/100 ml menjadi 11,2 mg/100ml. Hal ini menunjukkan bahwa hidrolisis asam sangat memungkinkan untuk diterapkan pada penelitian proses hidrolisis dari hasil *pretreatment* pelepeh sawit.

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui konsentrasi  $H_2SO_4$  dan waktu hidrolisis terhadap kadar gula total serta kadar gula reduksi yang dihasilkan.

## METODE PENELITIAN

### Bahan

Bahan baku pelepeh sawit diperoleh dari Perkebunan Sawit di Lampung. Bahan kimia dan media mencakup NaOH, Aquades, YPDA (*Yeast extract Peptone Dextose Agar*),  $H_2SO_4$  teknis, etanol 70%, NaOH 2,5,  $NH_4OH$ , Asam Sitrat, *Saccharomyces cerevisiae*.

### Alat

Peralatan yang dipergunakan meliputi pipet, *pen disk milling*, *hot plate stirrer*, Ultrasonik (*Power sony 405*), blender Philips, timbangan analitik, ayakan 100 *mesh*, *water bath shaker*, *centrifuge*, *spektrofotometer*, *laminar air flow*, *autoclave*, jarum ose, *micropipet*, *magnetic stirrer*, bunsen, erlenmeyer, gelas ukur, pH meter, *inkubator*, tabung reaksi, *rotary shaker*, *alkohol meter*.

### Metode

#### Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan rancangan acak kelompok (RAK) yang terdiri dari dua faktor yaitu konsentrasi  $H_2SO_4$  (K) dan lama waktu hidrolisis (W). Faktor pertama terdiri dari tiga level yaitu 0,4M, 0,6M dan 0,8M, sedangkan faktor kedua terdiri dari tiga level yaitu 60 menit, 80 menit dan 100 menit dari rancangan tersebut diperoleh sembilan kombinasi. Pada setiap kombinasi dilakukan tiga ulangan sehingga didapatkan 27 sampel. Seluruh sampel selanjutnya akan diteliti untuk mengetahui kadar gula hasil hidrolisis dengan refraktrometer dan gula pereduksi dianalisis dengan menggunakan metode Nelson-Somogyi yang dibaca oleh spektrofotometer dengan panjang gelombang 540 nm. Perlakuan terbaik adalah perlakuan dengan kandungan gula tertinggi.

**Tabel 1.** Kombinasi rancang acak kelompok

| Konsentrasi H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub><br>(K) | Waktu Hidrolisis (W)          |                               |                               |
|---|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
|   | W <sub>1</sub>                | W <sub>2</sub>                | W <sub>3</sub>                |
| K <sub>1</sub>                                    | K <sub>1</sub> W <sub>1</sub> | K <sub>1</sub> W <sub>2</sub> | K <sub>1</sub> W <sub>3</sub> |
| K <sub>2</sub>                                    | K <sub>2</sub> W <sub>1</sub> | K <sub>2</sub> W <sub>2</sub> | K <sub>2</sub> W <sub>3</sub> |
| K <sub>3</sub>                                    | K <sub>3</sub> W <sub>1</sub> | K <sub>3</sub> W <sub>2</sub> | K <sub>3</sub> W <sub>3</sub> |

Keterangan:

Faktor I (K) : Konsentrasi H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

(K<sub>1</sub> : 0,4M, K<sub>2</sub> : 0,6M, K<sub>3</sub> : 0,8M)

Faktor II (W) : Waktu Hidrolisis

(W<sub>1</sub>: 60 menit, W<sub>2</sub>:80 menit, W<sub>3</sub>: 100menit)

Pada penelitian ini dilakukan tiga rangkaian proses yang difokuskan pada proses hidrolisis. Tiga proses tersebut meliputi proses *pretreatment*, hidrolisis dan fermentasi. Proses *pretreatment* bertujuan membuka struktur lignoselulosa dari bahan yang digunakan yaitu berupa pelepah sawit menggunakan NaOH untuk mengurai lignin yang mengikat selulosa dan hemiselulosa sehingga nantinya memudahkan akses H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> yang akan memecah polimer polisakarida menjadi glukosa. Proses kedua adalah hidrolisis yang bertujuan memecah selulosa dan hemiselulosa ke dalam bentuk yang sederhana menggunakan asam yaitu berupa glukosa. Proses terakhir adalah fermentasi yang berfungsi untuk merubah glukosa menjadi etanol dengan bantuan *Sacharomyces cerevisiae*.

### Pelaksanaan Penelitian

#### Perlakuan Awal

Langkah-langkah dalam proses *pretreatment* adalah sebagai berikut:

1. Pelepah sawit varietas Tenera hasil pemanenan kelapa sawit diambil dari daerah Lampung.
2. Pelepah dibersihkan dari kotoran.
3. Pelepah sawit dipreparasi dengan proses pemotongan menggunakan pisau berukuran ±1 cm.
4. Pelepah sawit dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 120<sup>o</sup>C selama 2 jam.
5. Pelepah kering digiling menggunakan *disk mill* (60 mesh).
6. Serbuk pelepah hasil gilingan diayak menggunakan *electromagnetic shaker* (75µm).
7. NaOH dibuat menjadi larutan dengan ditimbang sebanyak 8 gram dan dihancurkan menggunakan mortal dan alu kemudian dilarutkan dalam 100 ml aquades.
8. Serbuk pelepah sawit yang lolos ayakan diambil 5 gram kemudian diletakkan dalam erlenmeyer 250 ml yang berisi larutan NaOH 2M.

9. Campuran tersebut dihomogenisasi menggunakan *hot plate* dan *stirer* pada suhu 110<sup>o</sup>C selama 2 jam dengan kecepatan 400 rpm.
  10. Setelah proses selesai, erlenmeyer ditutup menggunakan aluminium foil dan siap untuk dilakukan *pretreatment*.
  11. *Pretreatment* dilakukan dengan cara memasukkan sampel pada ultrasonikator pada frekuensi 50 kHz selama 30 menit.
  12. Pelepah sari hasil *pretreatment* dinetralkan menggunakan aquades hingga pH 7.
  13. Pelepah sawit netral dikeringkan menggunakan oven bersuhu 70<sup>o</sup>C selama 2 jam.
- Proses terakhir adalah pengujian persentase kandungan lignoselulosa hasil *pretreatment*.

### Hidrolisis

Langkah-langkah dalam proses hidrolisis adalah sebagai berikut:

1. Proses diawali dengan pembuatan larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dengan tiga variasi konsentrasi yaitu 0,4M, 0,6M dan 0,8M sebanyak masing-masing 600 ml dengan cara penambahan aquades.
2. Masing-masing larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> diambil 200 ml di masukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml yang berbeda sebanyak 3 sampel setiap konsentrasi, kemudian dicampurkan dengan 8 gram serbuk pelepah hasil *pretreatment*.
3. Larutan dihomogenisasi menggunakan spatula dan ditutup menggunakan aluminium foil.
4. Larutan dengan konsentrasi yang berbeda tersebut dimasukkan kedalam *autoclave*.
5. Bahan dihidrolisis pada suhu 121<sup>o</sup>C dengan lama waktu yang berbeda pada variasi konsentrasi yang berbeda.
6. Proses yang sama dilakukan sebanyak 3 kali, atau 3 kali ulangan sehingga didapatkan 27 sampel.
7. Hasil yang diperoleh kemudian dianalisis kandungan gulanya menggunakan refraktometer dan pengujian kandungan gula tereduksi menggunakan spektrofotometer dan dilakukan analisa pada data yang diperoleh.

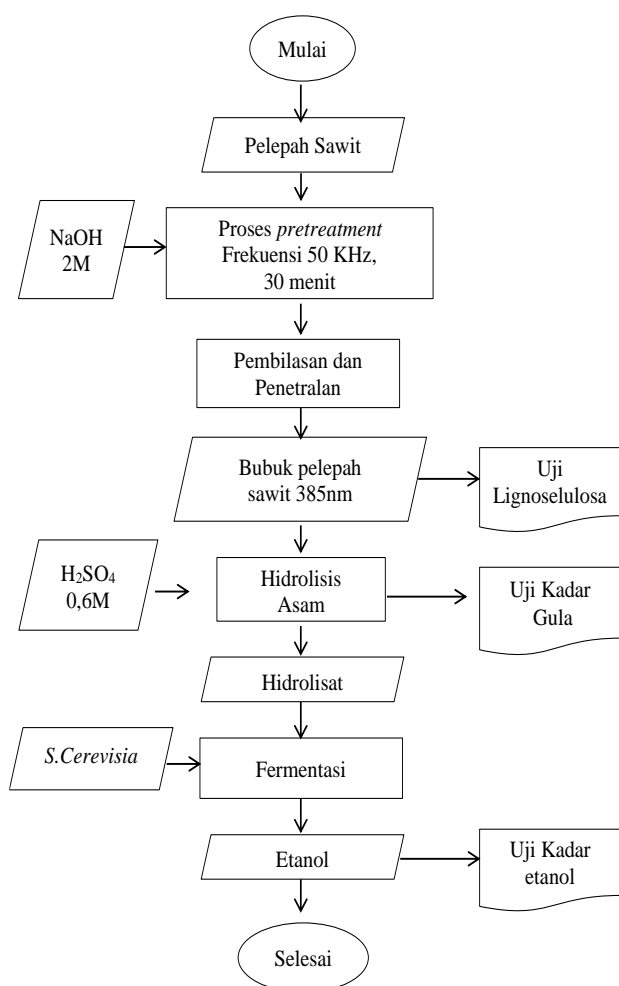
### Fermentasi

Langkah-langkah dalam proses fermentasi adalah sebagai berikut:

1. Hidrolisat dengan kandungan gula tertinggi digunakan untuk proses fermentasi.
2. Hidrolisat sebanyak 100 ml dimasukkan dalam erlenmeyer 250 ml dan pH diatur ke pH 4 menggunakan NaOH.

3. Hidrolisat disterilisasi menggunakan *autoclave* (121,1°C 15 menit).
4. Hidrolisat steril diinokulasi dengan *Saccharomyces cerevisiae* menggunakan konsentrasi 0,5% selama 48 jam.
5. Fermentasi dilakukan secara anaerob.
6. Larutan terfermentasi kemudian dipisahkan dari *Saccharomyces cerevisiae* dengan cara sentrifugasi kecepatan 10.000 rpm pada suhu 4°C selama 10 menit.
7. Larutan terfermentasi diuji kandungan etanolnya menggunakan alkohol meter.

Keseluruhan proses dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Diagram alir seluruh proses

### Pengamatan dan Analisa Data

Dalam uji kandungan lignoselulosa terdapat 3 kandungan yang diukur yaitu selulosa, hemiselulosa dan lignin. Selanjutnya pengujian dilanjutkan dengan pengujian kadar gula total serta gula reduksi dan yang terakhir adalah uji kadar etanol.

### Kadar Gula Total

1. Analisa diawali dengan proses kalibrasi refraktometer menggunakan aquades, lalu kalibrasi lagi menggunakan gula murni.
2. Timbang 100 gram hidrolisat, lalu dilakukan penambahan aquades 100 ml, diaduk sampai merata, kemudian disaring menggunakan kain saring.
3. Filtrat yang didapatkan ditampung pada wadah.
4. Langkah terakhir filtrat diteteskan pada prisma refraktometer dan diukur kadar gula totalnya.

Kadar Gula Reduksi diukur menggunakan metode Nelson-Somogyi.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pretreatment

Penelitian diawali dengan melakukan proses *pretreatment*, dimana hasilnya tampak pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Kandungan komponen lignoselulosa pada *pretreatment*

| Komponen Bahan | Sebelum Pretreatment | Sesudah Pretreatment |
|----------------|----------------------|----------------------|
| Lignin         | 20,13%               | 19,6%                |
| Selulosa       | 32,58%               | 59,49%               |
| Hemiselulosa   | 8,37%                | 11,8%                |

Keterangan: ukuran material 385,2 nm (18,8%)

Berdasarkan Tabel 2 tersebut dapat terlihat bahwa pemberian perlakuan penambahan basa kuat berupa NaOH 2M dan gelombang ultrasonik sebesar 50 KHz mampu meningkatkan kandungan selulosa dan hemiselulosa serta penurunan lignin pada bahan lignoselulosa pelepah sawit. Hasil ini lebih tinggi dari yang dilaporkan oleh Elwin dkk. (2014). Pada penelitian tersebut digunakan perlakuan penambahan NaOH 2 molar selama 30 menit dalam *microwave*. Proses ini hanya mampu meningkatkan selulosa 20%, dan menurunkan lignin 4%. Dari hasil tersebut terbukti bahwa penggunaan *pretreatment* menggunakan NaOH dan gelombang ultrasonik mampu meningkatkan kandungan selulosa lebih tinggi dibandingkan menggunakan *microwave*.

Salah satu metode yang digunakan dalam nanoteknologi untuk menghasilkan nanopartikel adalah ultrasonikasi. Ultrasonikasi memanfaatkan gelombang ultrasonik untuk mengubah ukuran partikel menjadi nanometer. Aplikasi gelombang ultrasonik yang terpenting adalah

pemanfaatannya dalam menimbulkan efek kavitas akustik. Efek ini akan digunakan dalam pembuatan bahan berukuran nano dengan metode emulsifikasi (Nakahira *et al.*, 2007).

*Pretreatment* biomassa menggunakan NaOH sebagai peroksida alkali merupakan cara yang efektif. Berdasarkan penelitian Elwin dkk. (2014), NaOH berfungsi sebagai solven yang merendam eceng gondok dan memecah stuktur lignin dan hemiselulosanya. Dampak dari perombakan lignin ini akan terjadi penambahan konsentrasi selulosa. Saha dan Cotta (2006) menunjukkan bahwa dengan menggunakan peroksida alkali seperti NaOH untuk *pretreatment*, jerami gandum dapat dikonversi menjadi gula dan selanjutnya difermentasi serta didapatkan hasil yang sangat baik (97%) secara enzimatis pada proses sakarifikasi. Zhao *et al.* (2007) menyatakan bahwa *pretreatment* dengan NaOH menghasilkan rasio konversi selulosa cukup lebih tinggi. Hal inilah yang menyebabkan kandungan selulosa pada *pretreatment* menggunakan NaOH dan gelombang ultrasonik mengalami peningkatan yang cukup tinggi.

## Hidrolisis

### Kadar Gula Total

Data pengukuran kadar gula menggunakan refraktrometer tampak pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Rerata kadar gula (%) setelah hidrolisis

| Waktu,<br>(Menit) (W) | Konsentrasi H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (Molar) |                      |                     |
|-----------------------|--|----------------------|---------------------|
|                       | 0,4  | 0,6                  | 0,8                 |
| 60                    | 5,4% <sup>c</sup>                                  | 6,189% <sup>bc</sup> | 10,14% <sup>b</sup> |
| 80                    | 6,87% <sup>c</sup>                                 | 8,45% <sup>a</sup>   | 9,576% <sup>b</sup> |
| 100                   | 8,45% <sup>ab</sup>                                | 10,7% <sup>ab</sup>  | 9,576% <sup>b</sup> |

Keterangan: data yang didampingi huruf yang sama dalam kolom yang sama berarti tidak ada beda nyata

Tabel 3 tersebut menunjukkan kadar gula total hidrolisat hasil hidrolisis pelepah sawit hasil pengukuran menggunakan refraktrometer. Dari Tabel 3 dapat diketahui bahwa kandungan gula tertinggi yang didapatkan sebesar 10,7%. Kandungan tersebut terdapat pada perlakuan waktu proses hidrolisis 100 menit dengan penambahan konsentrasi H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,6M. Tabel 3 tersebut menunjukkan bahwa pada waktu hidrolisis yang berbeda, maka semakin tinggi konsentrasi H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> akan meningkatkan rendemen gula yang dihasilkan. Bahkan semakin tinggi konsentrasi H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan lama waktu hidrolisis maka semakin tinggi pula yield gula yang dihasilkan. Akan tetapi dapat dilihat pada Tabel 3 pula bahwa pada konsentrasi H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,8M dan

waktu hidrolisis 100 menit mengalami penurunan yield gula yaitu 9,6%. Hal ini dikarenakan semakin lama waktu hidrolisis pada konsentrasi yang semakin tinggi mampu menurunkan kadar glukosa yang dihasilkan.

Hasil penelitian Bondesson *et al.* (2013) menunjukkan bahwa *pretreatment* dengan asam sulfat pada suhu 200°C selama 10 menit akan meningkatkan glukosa sebanyak 76% dari bahan tongkol jagung. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Fatmawati dkk. (2008), meskipun konsentrasi asam sulfat yang digunakan tidak terlampau besar dalam hal ini 0,3% v/v, namun suhu 100°C yang dipengaruhi waktu proses menghasilkan yield yang besar dibandingkan dengan konsentrasi asam sulfat 0,9% v/v.

Hasil uji DMRT dan Tabel 3 menunjukkan bahwa persentase kadar gula tertinggi dihasilkan pada perlakuan K2W3 (penambahan 0,6M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dengan lama hidrolisis 100 menit). Pada penelitian ini didapatkan kadar gula 10,7% pada perlakuan hidrolisis menggunakan penambahan asam H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,6M dan waktu hidrolisis 100 menit yaitu 10,7%. Berdasarkan Sutresna (2007), semakin banyak gula reduksi yang dimanfaatkan oleh *Saccharomyces cerevisiae* maka semakin tinggi pula kadar etanol yang dihasilkan. Hal ini dikarenakan komponen selulosa menghasilkan glukosa dan hemiselulosa tersusun dari bermacam-macam jenis gula. Hemiselulosa lebih mudah dihidrolisis dari pada selulosa, tapi lebih sulit difermentasi menjadi etanol (Pérez *et al.*, 2002). Untuk itu, selanjutnya sampel hidrolisat dengan kadar gula tertinggi ini dilakukan analisa gula pereduksi untuk mengetahui kandungan gula pereduksi pada hidrolisat berupa glukosa.

### Kadar Gula Reduksi

Berdasarkan hasil pengukuran kadar gula pereduksi menggunakan Nelson-Somogyi dengan nilai adsorbansi didapatkan persamaan regresi  $y = 0.0072x - 0.0116$  dengan nilai  $R^2 = 0.9916$ . Nilai ini menunjukkan bahwa adsorbansi dengan konsentrasi memberikan hubungan yang linier. Kadar gula reduksi berupa glukosa yang diperoleh dari pembacaan spektrofotometer adalah sebesar 1949,38 ppm atau 19,49% (b/v). Kadar tersebut menunjukkan jika dalam gula total yang dihasilkan sebanyak 10,7% terdapat besaran gula pereduksi berupa glukosa sebesar 19,49%.

Gula reduksi pada percobaan ini menunjukkan bahwa hidrolisis selulosa dan hemise-

lulosa dapat berlangsung dengan baik meskipun persentase kenaikan tidak tinggi karena suhu *pretreatment*nya hanya sampai 121°C. Proses pembentukan gula pereduksi ini dipengaruhi oleh penggunaan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pada proses hidrolisis. Penambahan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pada konsentrasi yang rendah akan meningkatkan kualitas gula karena ion H<sup>+</sup> pada asam kuat dapat memutuskan ikatan glikosida yang terdapat pada selulosa (Samsuri, 2007). Semakin tinggi asam yang ditambahkan, maka gula yang dihasilkan akan semakin meningkat namun kualitasnya menjadi menurun. Selulosa yang terhidrolisis dalam suasana asam akan menghasilkan banyak molekul glukosa. Rantai selulosa terhidroisis menjadi disakarida selobiosa yang selanjutnya akan menghasilkan glukosa (Merina, 2011).

Bahan hasil *pretreatment* juga mempengaruhi hasil dari gula reduksi yang dihasilkan dimana berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Naufala dkk. (2015), gula reduksi yang dihasilkan adalah 3,54 mg/g atau 3,54% pada bahan sekam padi dengan menggunakan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pemanasan 100°C selama 60 menit. Hal ini kemungkinan lignin pada bahan masih tinggi sehingga menghalangi asam dalam pemecahan selulosa. Hasil *pretreatment* juga berpengaruh, dimana pada *pretreatment* digunakan nanoteknologi berupa ultrasonik sehingga ukuran pelepah hasil hidrolisis berukuran nanometer. Tahap ini terbukti mampu menurunkan kadar lignin dan meningkatkan kandungan selulosa bahan. Menurut Fatmawati dkk. (2008), semakin kecil ukuran bahan, maka semakin tinggi gula pereduksi yang dihasilkan karena luas permukaan kontak larutan asam dengan bahan semakin luas. Hal inilah yang menyebabkan kadar gula pereduksi berupa glukosa pada penelitian ini mencapai 19,49%.

### Fermentasi

Berdasarkan uji kadar etanol didapatkan kadar etanol sebesar 4%. Kadar 0,5% *Saccharomices cerevisiae* digunakan karena berdasarkan Syaunyah (2015), dalam fermentasi semakin banyak yeast yang ditambahkan maka mikroorganisme yang mengurai glukosa menjadi etanol juga semakin banyak akan tetapi setelah penambahan *Saccharomices cerevisiae* 0,6% kadar etanol yang dihasilkan menurun. Hal ini disebabkan yeast yang ditambahkan dalam jumlah yang banyak menimbulkan persaingan hidup, sehingga yeast banyak yang mati dan pemecahan glukosa menjadi etanol semakin berkurang.

Dari hasil penelitian tersebut diketahui jika etanol yang dihasilkan masih rendah yaitu 4% dari bahan hidrolisat dengan kadar gula 10,7% dan gula reduksi berupa glukosa 19,49%. Hal ini dikarenakan *Saccharomices cerevisiae* hanya mendapatkan sumber karbon dalam jumlah yang rendah sehingga pertumbuhan khamir tidak optimum. Namun demikian, hasil ini lebih tinggi dibandingkan menggunakan *Zymomonas mobilis* (Anggarini dkk., 2016).

### KESIMPULAN

Konsentrasi H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan waktu hidrolisis berpengaruh terhadap kadar gula yang dihasilkan. Konsentrasi 0,6M dan waktu hidrolisis 100 menit merupakan konsentrasi dan waktu terbaik dalam proses hidrolisis. Proses tersebut mampu menghasilkan gula total sebesar 10,7% dan gula reduksi pada sampel bahan hidrolisat sebesar 19,49%.

### Daftar pustaka

- Anggarini, S., Pulungan, M.H., Wignyanto, Hidayat, N., Nurika, I. dan Ihwah, A. (2016). Pengaruh tekanan suhu dan penambahan suplemen metal ion pada fermentasi etanol oleh *Zymomonas mobilis*. *Industria*. 5(3): 125-131.
- Awatshi, M., Kaur, J., and Rana, S. (2013). Bioetanol production through water hyacinth *Eichornia crassipes* via optimization of the preteratment condition. *International Journal of Emerging Technology and Advanced Engineering*. 3(3): 42-46.
- Bondesson, P.M., Galbe, M., and Zacchi, G. (2013). Ethanol and biogas production after steam pretreatment of corn stover with or without the addition of sulphuric acid. *Biotechnology for Biofuels*. 6(11): 1-11.
- Demirbas, A., and Karslioglu, S. (2007). Biodiesel production facilities from vegetable oils and animal fats. *Energy Source*. 29(2): 133 – 141.
- Direktorat Jendral Perkebunan. (2013). *Kebijakan Pengembangan Kelapa Sawit Berkelanjutan. Makalah Seminar Implementasi RSPO di Indonesia*. Jakarta: Dirjen Perkebunan.
- Elwin, Lutfi, M., Hendrawan, Y. (2014). Analisis pengaruh waktu pretreatment dan konsentrasi NaOH terhadap kandungan selulosa, lignin dan hemiselulosa enceng gondok pada proses pretreatment pembuatan bioetanol. *Jurnal Keteknik Pertanian Tropis dan Biosistem*. 2(2): 110-116.

- Fatmawati, A., Soeseno, N., Chiptadi, N., dan Natalia, S. (2008). Hidrolisis batang padi dengan menggunakan asam sulfat encer. *Jurnal Teknik Kimia*. 3(1): 187-191.
- Ganguly, A., Das, S., and Dey, A. (2012). Optimization of xylose yield from water hyacinth for ethanol production using Taguchi Technique. *Journal of Pharmacy and Biological Sciences*. 2(5): 1-9.
- Merina, F. (2011). *Produksi bioetanol dari eceng gondok (Eichhornia crassipes) dengan Zymomonas mobilis dan Saccharomyces cerevisiae*. Tesis. Fakultas Teknik. ITS. Surabaya
- Nakahira, A., Nakamura, S., dan Horimoto, M. (2007). Synthesis of modified hydroxyapatite (HAP) substituted with Fe ion for DDS application. *IEEE Transactions on Magnetic*. 43(6): 2463-2467.
- Naufala, W.A., dan Pandebesie, E.S. (2015). Hidrolisis eceng gondok dan sekam padi untuk menghasilkan gula reduksi sebagai tahap awal produksi bioetanol. *Jurnal Teknik ITS*. 4(2): 109-114.
- Nigam, P.S., and Singh, A. (2011). Production of liquid biofuels from renewable resources. *Progress in Energy and Combustion Science*. 37: 52-68.
- Pérez, J., Dorado, J.M., Rubia, T., and Martinez, J.M. (2002). Biodegradation and biological treatment of cellulose, hemicellulose and lignin. *International Microbiology*. 5(1): 53-63.
- Putra I.N.W., Kusuma, I.G.B.W., dan Winaya, I.N.S. (2011). Proses treatment dengan menggunakan NaOCl dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> untuk mempercepat pembuatan etanol dari limbah rumput laut *Eucheuma Cottonii*. *Jurnal Energi dan Manufaktur*. 3(1): 64-68.
- Ramdja, A.F., Silalahi, R.A., Sihombing, N. (2010). Pengaruh waktu, temperatur dan dosis H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pada hidrolisa asam terhadap kadar etanol berbahan baku alang-alang. *Jurnal Teknik Kimia*. 17(2): 42-54.
- Saha, B.C., and Cotta, M.A. (2006). Ethanol production from alkaline peroxide pretreated enzymatically saccharified wheat straw. *Biotechnology Progress*. 22(2): 449-453.
- Sahiba-Hanim, S., Noor, M.A.M., and Rosma, A. (2010). Effect of autohydrolysis and enzymatic treatment on oil palm (*Elaeis Guineensis Jacq.*) frond fibres for xylose and xylooligosaccharides production. *Bioresource Technology*. 102(2): 1234-1239.
- Samsuri, M., Gozan, M., Mardias, R., Baiquin, M., Hermansyah, H., Wijanarko, A., Prasetya, B., dan Nasikin, M. (2007). Pemanfaatan selulosa bagas untuk produksi etanol melalui sakarifikasi dan fermentasi serentak dengan enzim xylanase. *Makara Journal of Technology*. 11(1): 17-24.
- Sugiarto, Y., Mahfut, L.N., Rilek, N.M., Atrinto, A.C.P., dan Khotimah, M. (2014). Pengaruh frekuensi ultrasonik dan konsentrasi NaOH pada proses pretreatment bioetanol pelepah sawit. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 15(3): 213-222.
- Sukowati, A., Sutikno dan Rizal, S. (2014). Produksi bioetanol dari kulit pisang melalui hidrolisis asam sulfat. *Jurnal Teknologi dan Industri Hasil Pertanian*. 19(3): 274-288.
- Sutresna, N. (2007). *Cerdas Belajar Kimia*. Jakarta: Grafindo Media Pratama.
- Syauqiah, I. (2015). Pengaruh waktu fermentasi dan persentase starter pada nira aren (*Arenga pinnata*) terhadap bioetanol yang dihasilkan. *Infoteknik*. 16(2): 217-226.
- Zhao, X., Zhang, L., dan Liu, D. (2007). Comparative study on chemical pretreatment methods for improving enzymatic digestibility of crofton weed stem. *Bioresource Technology*. 99(9): 3729-3736.