



Rudianto Amirta <ramirta@fahatan.unmul.ac.id>

Manuscript Jurnal Ulin

Rudianto Amirta <ramirta@fahatan.unmul.ac.id>
To: UJHT <ulin.jhuttrop@gmail.com>

Mon, 11 Apr, 2022 at 10:52 AM

Yth Editor Jurnal Ulin,
Terlampir adalah naskah kami yang berjudul EFEKTIVITAS PERLAKUAN AWAL ALKALI DAN HIDROTERMAL TERHADAP PROSES DELIGNIFIKASI, POTENSI GULA REDUKSI DAN PRODUKSI ETANOL TEORITIS DARI KAYU *Vernonia amygdalina* Delile untuk dipublikasikan oleh Jurnal Ulin dan kami menyatakan bahwa karya ini asli dan belum pernah dipublikasikan di tempat lain, dan juga tidak sedang dalam pertimbangan untuk diterbitkan di tempat lain.
Mohon pertimbangkan naskah kami untuk publikasikan dalam "Jurnal Ulin".
Terima kasih banyak,

Salam,
Prof. Rudianto Amirta, Ph.D.
Fakultas Kehutanan Universitas Mulawarman,
Jl. Penajam, Kampus Gn. Kelua, Samarinda 75119, Kalimantan Timur,
Indonesia.
Telp/Faks.: +62-541-748683.
Email: ramirta@fahatan.unmul.ac.id

ULIN: Jurnal Hutan Tropis
<http://e-journals.unmul.ac.id/index.php/UJHT>

EFEKTIVITAS PERLAKUAN AWAL ALKALI DAN HIDROTERMAL TERHADAP PROSES DELIGNIFIKASI, POTENSI GULA REDUKSI DAN PRODUKSI ETANOL TEORITIS DARI KAYU *Vernonia amygdalina* Delile

Mardiatul Ufa, Nasriati. N, Aulia Fitria Ningrum, Wiwin Suwinarti, Rudianto Amirta*
Fakultas Kehutanan, Universitas Mulawarman, Kampus Gunung Kelua, Jalan Penajam, Samarinda 75123
E-Mail: rudiantoamirta@gmail.com*

Received : Accepted :20xx.

ABSTRACT

Vernonia amygdalina is a shrub species that is potentially used as an energy crop through a short rotation coppice (SRC) system since this species is able to generate more than a single stem after the pruning process. This technique is very popular for providing sustainable feedstock for energy production. Therefore, due to its characteristics, *V. amygdalina* receives great attention as one of the energy crops for the application in energy. Herein, this study aims to evaluate the suitability of the *V. amygdalina* woody biomass for ethanol production. The woody biomass was first pretreated by autoclave under various concentrations of sodium hydroxide (0, 1, 2, and 3% (w/v)) and reaction times (15, 30, 45, and 60 minutes). The pretreated wood sample was then hydrolyzed using a commercial cellulase enzyme to produce glucose monomers. The hydrolysis time at 12, 24, 36, and 48 hours was analyzed. The results showed that the addition of 3% sodium hydroxide at a reaction time of 15 minutes and a hydrolysis time of 36 hours was the best concentration to provide the highest ethanol potency (186.98 L/ton woody biomass). Finally, this study suggests that *V. amygdalina* will be a promising feedstock for ethanol production.

Key words: Alkaline Pretreatment, Bioethanol, Enzymatic Saccharification, *V. amygdalina*

ABSTRAK

Vernonia amygdalina merupakan salah satu jenis tanaman *Short Rotation Coppice* (SRC) atau trubusan yang secara alami dapat melakukan proses regenerasi setelah melalui proses pemangkasan. Selain itu juga sebagai bahan baku penyedia biomassa yang saat ini banyak digunakan dalam memproduksi energi di dunia. Oleh karena itu, *V. amygdalina* memiliki potensi pembangkitan energi yang besar dan memadai untuk digunakan salah satunya adalah sebagai bahan baku untuk produksi bioetanol. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas perlakuan awal yang dilakukan dengan menggunakan konsentrasi alkali dan waktu reaksi yang berbeda terhadap proses sakarifikasi dan gula tereduksi yang dihasilkan beserta potensi teoritis dari etanol yang diperoleh. Proses penelitian diawali dengan pengujian komponen kimia yang mengacu pada metode standar TAPPI. Sementara itu, untuk mengetahui potensi gula tereduksi menggunakan metode Somogyi-Nelson. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan awal dengan menggunakan NaOH dengan konsentrasi 3% pada waktu pemasakkan 15 menit dan waktu sakarifikasi 36 jam menghasilkan nilai potensi gula reduksi tertinggi sebesar 186,98 ml/kg atau 186,98 L/ton dari kayu *V. amygdalina*. Penggunaan *V. amygdalina* sebagai bahan baku alternatif untuk produksi etanol akan sangat menjanjikan bagi energi Indonesia yang ramah lingkungan di masa depan.

Kata kunci : Bioetanol, Perlakuan Awal Alkali, Sakarifikasi Enzimatik, *V. amygdalina*

PENDAHULUAN

Energi merupakan salah satu hal yang sangat penting di dunia. Banyak negara saling bersaing untuk mendapatkan atau mempertahankan sumber-sumber energi tersebut. Saat ini sumber energi utama umat manusia diperoleh dari bahan bakar fosil dan penggunaan bahan bakar fosil saat ini sangat besar. Hal ini tidak dapat dipungkiri karena penggunaan energi dunia masih berpusat pada minyak bumi. Selain itu peningkatan harga minyak bumi akan memberikan dampak yang besar bagi pembangunan suatu negara salah satunya ialah negara Indonesia. Permasalahannya, sumber energi ini merupakan sumber energi tak terbarukan yang suatu saat akan habis jika terus-menerus dipakai.

Negara-negara berkembang saat ini salah satunya negara Indonesia sedang ramai mengembangkan energi terbarukan dengan target yang cukup ambisius. Keadaan inilah yang menuntut kita untuk mengeksplorasi

sumber daya energi terbarukan yang meliputi air, biomassa, angin dan panas bumi. Di antara pilihan tersebut, bahan bakar berbasis biomassa yaitu biofuel salah satunya ialah bioetanol (Saha dkk., 2017). Bioetanol sangat berpotensi untuk menggantikan bensin karena memiliki beberapa keuntungan. Beberapa bahan dapat diolah menjadi bioetanol, salah satunya adalah biomassa lignoselulosa.

Indonesia merupakan negara dengan luas hutan alam terbesar ke-3 di dunia memiliki kawasan hutan khususnya di Kalimantan Timur diketahui memiliki ketersediaan cadangan biomassa berlignoselulosa yang sangat berlimpah dan beragam jenis dari tumbuhan berkayu yang memiliki kemampuan adaptasi dan kecepatan pertumbuhan yang tinggi (*pioneer/fast growing and lesser known species*) (Amirta dkk., 2016^a). Salah satu jenis bahan baku penyediaan biomassa yang saat ini banyak digunakan yaitu *Short Rotation Coppice* (SRC) yang memiliki siklus rotasi yang lebih pendek dan kepadatan penanaman yang lebih tinggi memungkinkan perolehan hasil panen (produktivitas) biomassa yang lebih tinggi per satuan luas lahan (Amirta, 2018; Haqiqi, dkk. 2018). Salah satu tanaman jenis ini ialah *Vernonia amygdalina*.

Berbagai sumber bahan lignoselulosa perlu dilakukan proses perlakuan awal lebih dahulu untuk mempermudah proses hidrolisis. Proses perlakuan awal akan membuat selulosa mudah ditembus oleh enzim selulolitik sehingga dapat mengurangi penggunaan enzim serta menekan biaya (Sari dkk., 2018). Proses perlakuan awal menggunakan metode hidrotermal dapat meningkatkan produk gula tereduksi hasil hidrolisis yang akan dikonversi menjadi bioetanol melalui proses enzimatik (Ninomiya dkk., 2013). Perlakuan awal secara alkali bertujuan untuk mengurangi kandungan lignin dalam lignoselulosa (delignifikasi). Proses kimia menggunakan senyawa basa kuat merupakan metode delignifikasi yang paling umum digunakan, karena memiliki daya degradasi terhadap lignin yang kuat dan biaya yang rendah. Kelemahannya adalah terbentuknya garam saat proses, namun dapat diatasi dengan cara pencucian menggunakan air bersih. Senyawa basa kuat yang pada umumnya digunakan untuk delignifikasi adalah Natrium hidroksida (NaOH) dengan konsentrasi yang bervariasi pada suhu rendah dengan waktu delignifikasi yang lama (1 jam) (Muryanto dkk., 2016).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas perlakuan awal yang dilakukan dengan menggunakan konsentrasi alkali dan waktu reaksi yang berbeda terhadap proses sakarifikasi dan gula tereduksi yang dihasilkan beserta potensi teoritis dari etanol yang diperoleh.

METODE

Lokasi Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Kimia Hasil Hutan dan Energi Terbarukan, Fakultas Kehutanan, Universitas Mulawarman, Samarinda.

Prosedur Penelitian

1. Persiapan Bahan Baku

Sampel kayu yang telah dipotong kemudian dipotong kecil-kecil menggunakan parang. Selanjutnya sampel berbentuk chip dikonversi menjadi serbuk dengan menggunakan alat *hammer mill*. Proses berikutnya dilakukan pengayakan dengan ukuran 40 mesh (sampel untuk perlakuan awal dan pengujian sifat kimia). Sampel yang telah di ayak kemudian disimpan di ruang konstan dan dimasukkan kedalam plastik klip. Untuk persiapan bahan baku selanjutnya, dilakukan pengukuran faktor kelembaban (*Moisture Factor*) dan kandungan air (*Water Content*) dengan menggunakan metode standar TAPPI.

$$MF = [B/A] \quad (1)$$

Keterangan :

MF = Faktor Kelembaban

A = Berat awal sampel (g)

B = Berat akhir sampel (g)

$$WC (\%) = [(A-B)/A] \times 100 \quad (2)$$

Keterangan :

WC = Kandungan air (%)

A = Berat awal sampel (g)

B = Berat akhir sampel (g)

2. Perlakuan Awal

Proses perlakuan awal dalam penelitian ini menggunakan larutan natrium hidroksida (NaOH). Pada kisaran konsentrasi masing-masing 10; 20 dan 30 g/l atau 1, 2 dan 3% serta temperatur yang digunakan dan waktu proses adalah 121°C selama 15, 30, 45 dan 60 menit dengan rasio antar substrat kayu dan larutan pemasak sebesar 1:10 (w/v).

3. Analisis Komponen Kimia

Analisis komponen kimia untuk mengetahui kandungan kimia dalam sampel yang terdiri dari kandungan lignin, holoselulosa dan α -selulosa. Hal ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan komponen kimia sebelum dan sesudah perlakuan awal menggunakan NaOH sebagai katalis. Pengukuran ini menggunakan metode standar TAPPI.

4. Sakarifikasi (Hidrolisis Enzimatis)

Serbuk dari proses perlakuan awal terhadap kayu *V. amygdalina* yang digunakan sebagai substrat dalam tahapan hidrolisis guna memecah komponen selulosa menjadi monomer gula sederhana. Proses hidrolisis bertujuan untuk memecah ikatan lignin, menghilangkan kandungan lignin dan hemiselulosa, merusak struktur kristal dari selulosa (Sun and Cheng, 2002). Sebelum proses sakarifikasi sampel pulp terlebih dahulu dikering udarkan pada temperatur ruang (25°C). Kemudian 0,2 gram (OD) pulp dimasukkan ke dalam tabung (*tube*) dan ditambahkan 10 ml larutan substrat enzim yang mengandung buffer tartrate 0,05 M pH 4,5, enzim selulase (40 FPU/g substrat) dan 0,02% Sodium Azide ke dalam substrat pada temperatur 45°C. Hidrolisis enzim ini dilakukan menggunakan *rotary shaker* dengan kecepatan 140 rpm selama 96 jam. Dilakukan 4 kali pengambilan sampel tiap 12 jam, 24 jam 36 jam dan 48 jam. Kemudian, sampel di *centrifuge* pada kecepatan putaran 6200 rpm selama 5 menit untuk dipisahkan antara filtrat dan *supernatant*-nya. *Supernatant* digunakan untuk menentukan gula tereduksi melalui metode Somogy-Nelson yang dimodifikasi (Amirta dkk., 2016^b). Enzim komersil selulase yang digunakan dalam penelitian ini adalah enzim meiselase yang diperoleh dari Meiji, Kyoto, Jepang.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Banyaknya komponen kayu yang tidak terdegradasi setelah proses pulping ini dinyatakan sebagai rendemen. Nilai rendemen serta kenampakan fisik dari pulp kayu *V. amygdalina* setelah perlakuan awal menggunakan NaOH dengan konsentrasi serta waktu pemasakan yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Berdasarkan Tabel 4.1 dapat dicermati bahwa dengan bertambahnya konsentrasi NaOH terjadi penurunan terhadap rendemen pulp yang dihasilkan. Menurut Kumar dkk., (2020) tingginya nilai rendemen yang dihasilkan dikarenakan katalis yang digunakan tidak mampu memecah struktur karbohidrat kompleks secara efisien serta menandakan bahwa struktur lignoselulosa tidak terurai secara sempurna, sehingga mempengaruhi kerja enzim dalam menghidrolisis selulosa menjadi glukosa pada proses sakarifikasi. Sedangkan rendahnya nilai rendemen yang didapat dipengaruhi oleh waktu pemasakan dan konsentrasi alkali (Panggabean dkk., 2018). Nurmiyah dkk., (2013) juga menyatakan bahwa penurunan nilai rendemen disebabkan oleh peningkatan konsentrasi NaOH dan interaksi temperatur atau suhu yang digunakan.

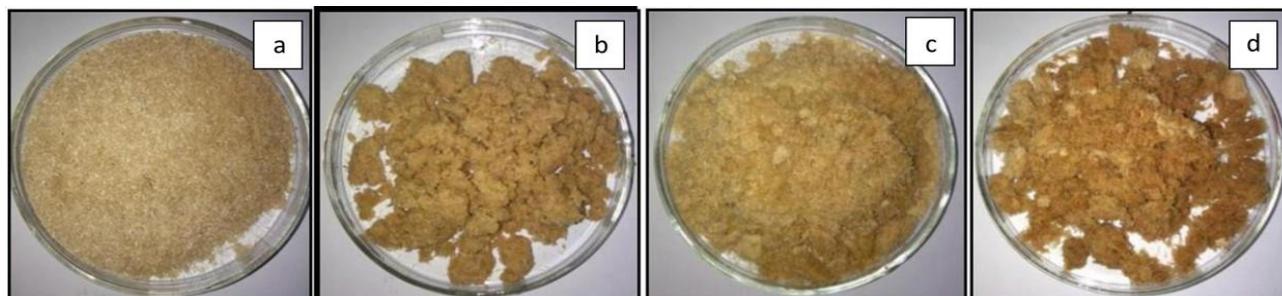
Selain rendemen pulp, parameter lain yang dicermati adalah perubahan pada sisa fraksi pulp (tekstur) dan warna pulp setelah perlakuan awal. Pada variasi konsentrasi perlakuan awal menghasilkan pulp yang berserat kasar (*hard fiber*) kecuali pada konsentrasi NaOH 3% yang menghasilkan pulp yang berserat

halus (*soft fiber*).

Sifat fisik yang diperoleh dari hasil pemasakan dengan proses alkali yaitu berupa sisa fraksi pulp dan warna pada setiap sampel dengan masing-masing konsentrasi alkali yang berbeda (Gambar 4.1). Sampel sebelum perlakuan berwarna coklat muda, sedangkan sampel dengan variasi konsentrasi NaOH berwarna coklat kekuningan sampai coklat tua kemerahan. Hal ini mungkin terjadi karena kandungan lignin pada sampel terdegradasi atau larut dalam lindi hitam pada saat proses perlakuan awal, dengan kata lain pengaruh konsentrasi alkali dan waktu pemasakan dapat mempengaruhi laju degradasi lignin yang terjadi selama proses pemasakan berlangsung. Hal ini juga dinyatakan oleh Muryanto dkk., (2016) bahwa semakin lama waktu proses perlakuan awal, maka delignifikasi juga semakin tinggi. Pembentukan sisa fraksi pulp tersebut juga tergantung pada konsentrasi alkali dan juga jenis biomassa yang digunakan (Amirta, 2016b).

Tabel 4.1 Persentase Rendemen Pulp Kayu *V. amygdalina* Setelah Perlakuan Awal

Waktu (menit)	Rendemen (%)		
	1% NaOH	2% NaOH	3% NaOH
15	70,71 ± 0,64	66,46 ± 0,28	64,30 ± 0,41
30	67,04 ± 0,06	62,69 ± 0,52	57,89 ± 0,72
45	66,89 ± 0,80	59,66 ± 0,65	57,19 ± 0,16
60	64,18 ± 0,66	57,87 ± 0,62	55,46 ± 0,32



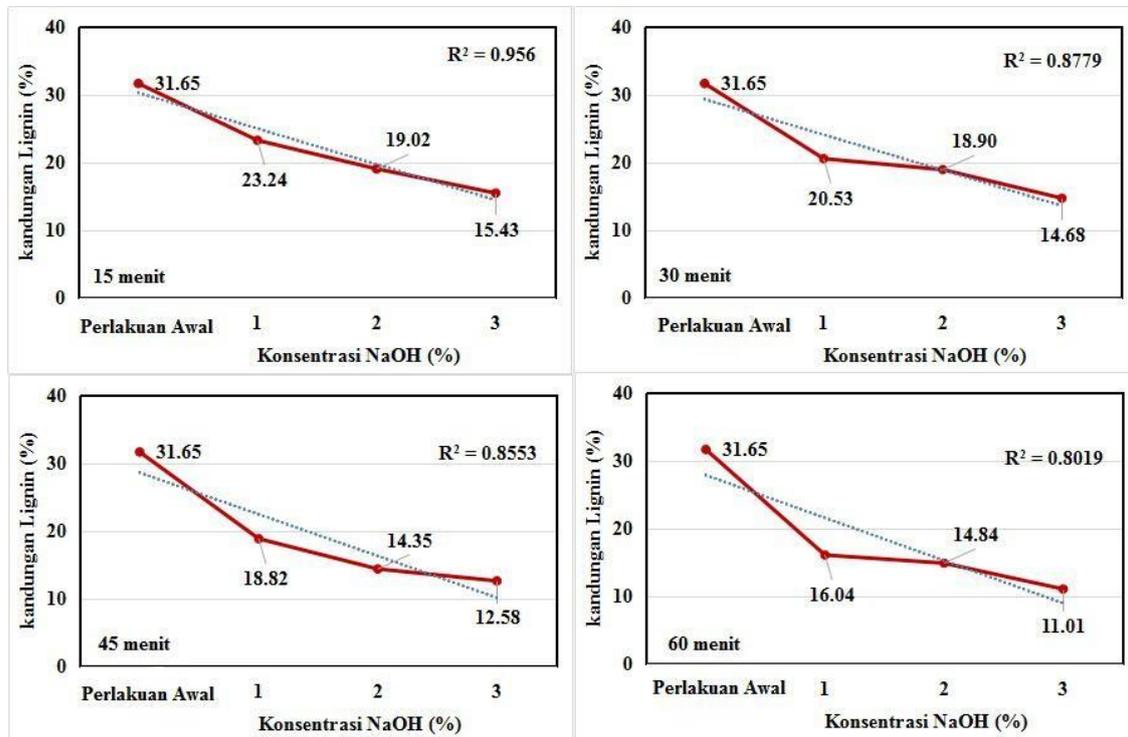
Gambar 4.1 Tekstur dan Warna Pulp *V. amygdalina* pada Konsentrasi yang Berbeda (a) Sebelum Perlakuan NaOH (b) NaOH 1% (c) NaOH 2% (d) NaOH 3% dengan suhu 121°C.

Adapun nilai persentase lignin setelah perlakuan awal alkali yang telah dilakukan pengujian dapat dilihat pada gambar 4.2. Berdasarkan gambar tersebut, menunjukkan hasil pengujian kandungan lignin setelah perlakuan awal mengalami penurunan seiring dengan meningkatnya konsentrasi alkali. Adapun kandungan lignin sebelum perlakuan yaitu 31,65% menurun hingga 11,01 - 32,19% setelah perlakuan awal. Berdasarkan teori, bahwa konsentrasi alkali sangat berpengaruh terhadap efektivitas penurunan lignin, ini menunjukkan bahwa terdapat kecenderungan menurunnya kadar lignin dan kandungan polisakarida setelah diberi perlakuan alkali. Hal ini sejalan dengan pendapat Larasati dkk., (2019) bahwa kandungan lignin akan semakin berkurang seiring bertambahnya konsentrasi alkali.

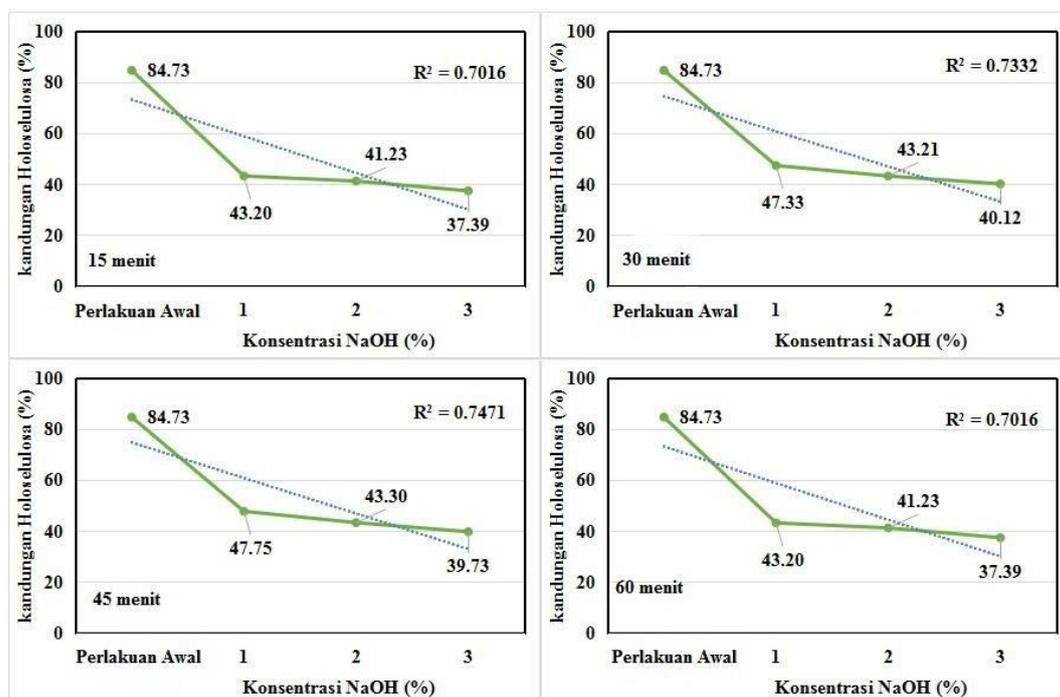
Pada Gambar 4.3 menunjukkan penurunan kandungan holoselulosa seiring dengan peningkatan konsentrasi dan waktu reaksi. Dari hasil analisis diatas, holoselulosa setelah perlakuan awal menurun menjadi 37,39 - 67,87% yang sebelumnya kandungan holoselulosa sebelum perlakuan awal ialah 84,73%. Berdasarkan data tersebut diperkirakan bahwa semakin tinggi penggunaan konsentrasi akan menurunkan tingkat polimerisasi selulosa sehingga dapat meningkatkan kinerja enzim pada proses sakarifikasi. Adapun penurunan kandungan tersebut mengindikasikan bahwa perlakuan delignifikasi yang diterapkan pada penelitian ini, tidak hanya menyebabkan degradasi lignin, tetapi depolimerisasi hemiselulosa juga (Saha dkk., 2017).

Berdasarkan Gambar 4.4 menunjukkan bahwa terjadi penurunan α -Selulosa seiring dengan penambahan konsentrasi dan waktu reaksi pemasakan. Nilai dari kandungan α -Selulosa sebelum perlakuan yang diperoleh batang sambung nyawa adalah sebesar 55,27% dan selanjutnya dilakukan analisis kandungan α -Selulosa dengan menggunakan konsentrasi NaOH 1, 2 dan 3%. Nilai yang diperoleh setelah dilakukan perlakuan awal

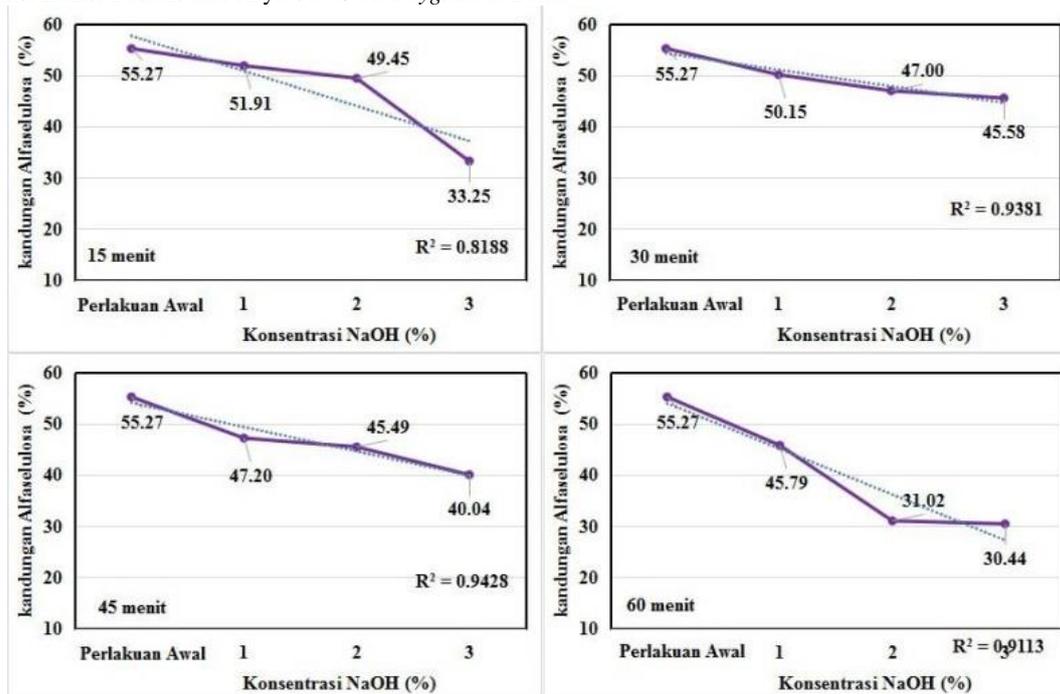
berkisar antara 30,44 - 61,62%. Berdasarkan gambar diatas terlihat bahwa dengan bertambahnya konsentrasi NaOH tidak begitu berpengaruh terhadap kandungan α -Selulosa. Menurut Sjöström (1995) menyatakan bahwa adanya perbedaan kandungan α -Selulosa tersebut sebagian besar disebabkan oleh banyak sedikitnya kristalin dalam selulosa. Jenis kayu yang memiliki kandungan α - Selulosa tinggi artinya memiliki kristalin yang banyak pada selulosa yang terkandung di dalam kayu. Terjadinya penurunan kandungan selulosa ini dapat disebabkan adanya struktur selulosa yang teratur terbuka dan molekul selulosa terdispersi secara bebas dalam solven (NaOH).



Gambar 4.2 Kandungan Lignin Setelah Perlakuan Awal



Gambar 4.3 Kandungan Holoselulosa Setelah Perlakuan Awal



Gambar 4.3 Kandungan AlfaSelulosa Setelah Perlakuan Awal

Tabel 4.2 Persentase Glukosa pada Kayu *V. amygdalina*

Waktu Reaksi (Menit)	Konsentrasi NaOH (%)	Waktu Sakarifikasi (Jam)			
		12	24	36	48
15	1	21,50	18,10	24,95	23,65
	2	21,75	19,80	26,20	25,35
	3	25,35	20,70	27,90	26,80
30	1	13,00	21,50	24,90	13,20
	2	15,55	23,85	26,40	13,20
	3	16,60	24,95	27,70	30,05
45	1	30,50	20,90	24,90	27,05
	2	31,50	22,80	27,50	27,90
	3	33,00	34,30	31,75	29,20
60	1	24,10	27,70	24,10	30,50
	2	24,70	29,00	27,70	33,00
	3	27,90	30,07	33,90	37,90

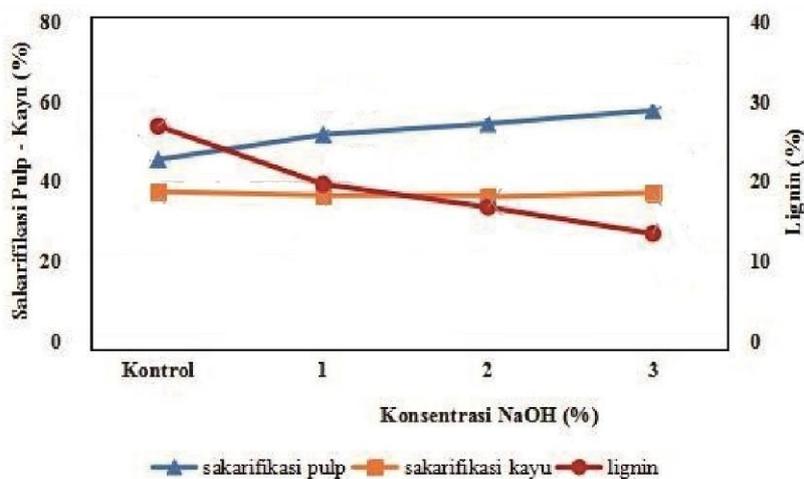
Berdasarkan Tabel 4.2 hasil glukosa tertinggi didapatkan dari perlakuan awal pada waktu reaksi 60 menit yaitu 37,90 %, sedangkan yang terendah yaitu 13,00 % pada waktu reaksi 30 menit. Persentase gula yang didapatkan secara umum meningkat seiring dengan meningkatnya waktu sakarifikasi. Namun, terdapat beberapa waktu sakarifikasi yang mengalami penurunan persentase glukosa. Hal ini dikarenakan jumlah enzim yang semakin terbatas (Ghose dan Ray, 2010).

Biomassa lignoselulosa terdiri dari karbohidrat (selulosa dan hemiselulosa), lignin dan komponen lainnya (protein, lipid dan zat organik) (Kim, 2013). Keberadaan lignin sangat menghambat proses degradasi selulosa dan hemiselulosa menjadi glukosa. Oleh karena itu, lignin harus dihilangkan baik secara kimia maupun enzimatik yang merupakan proses delignifikasi dan setelah itu dapat dilakukan proses fermentasi untuk produksi bioetanol.

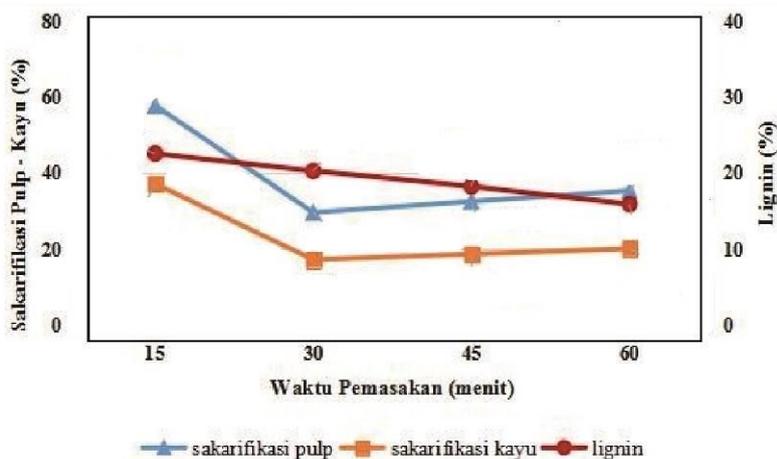
Proses hidrolisis pada batang *V. amygdalina* ini berfungsi untuk memecah rantai panjang polimer karbohidrat yaitu holoselulosa (hemiselulosa dan selulosa) menjadi monomer-monomer gula reduksi. Sebelum melakukan proses sakarifikasi secara enzimatik, aktifitas enzim diketahui sebesar 40 FPU. Pada proses sakarifikasi menggunakan temperatur optimum 45°C dan menggunakan buffer asam dengan pH 4,5

agar enzim yang digunakan dapat bekerja dengan optimum selama 48 jam. Hasil proses sakarifikasi dapat dilihat pada Gambar 4.4, 4.5 dan 4.6.

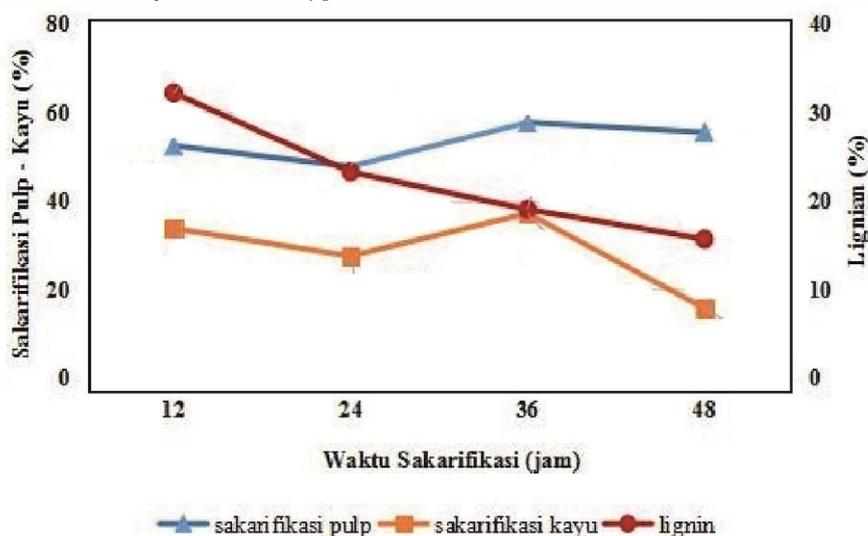
Pada variasi perlakuan awal menggunakan konsentrasi NaOH ini dihasilkan persentase sakarifikasi yang tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lain sebelumnya. Perolehan hasil sakarifikasi tertinggi yaitu 57,73% dari basis pulp dan 37,42% dari basis kayu. Jika dicermati terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi proses sakarifikasi, salah satunya persentase kandungan lignin yang dimana penurunan kandungan lignin berdampak baik pada proses hidrolisis dan mempermudah enzim dalam memecah struktur polisakarida menjadi monomer gula sehingga nilai sakarifikasi meningkat. Pada perlakuan awal ini juga memberikan dampak negatif yaitu penurunan perolehan persentase holoselulosa dan α -selulosa namun tidak dalam jumlah yang besar. Sehingga, adanya penurunan kandungan holoselulosa dan α - selulosa saat konsentrasi ditingkatkan ini tidak berpengaruh secara signifikan pada persentase hasil rendemen gula pereduksi atau persentase sakarifikasi yang dihasilkan, yang mana dihasilkan persentase hasil sakarifikasi yang meningkat, sebagai contoh dapat dilihat pada Gambar 4.4. Hal ini dapat terjadi diduga disebabkan oleh aksesibilitas enzim selulase yang menjadi lebih baik terhadap α -selulosa pada perlakuan awal dengan konsentrasi tinggi dikarenakan oleh berkurangnya kadar lignin. Selain itu proses degradasi oleh enzim ini diduga juga menyebabkan selulosa yang tersisa menjadi lebih pendek (derajat polimerisasinya rendah), sehingga lebih mudah dihidrolisis oleh enzim. Derajat polimerisasi yang rendah akan menyebabkan luas permukaan selulosa 68 menjadi lebih besar sehingga aksesibilitas enzim terhadap selulosa menjadi lebih tinggi dan dapat meningkatkan rendemen proses hidrolisis (Kuo dan Lee, 2009).



Gambar 4.4 Efektivitas Sakarifikasi Berdasarkan Konsentrasi terhadap Penurunan Kandungan Lignin dari Kayu *V. amygdalina* Menggunakan Perlakuan Awal Alkali



Gambar 4.5 Efektivitas Sakarifikasi Berdasarkan Waktu Reaksi terhadap Penurunan Kandungan Lignin dari Kayu *V. amygdalina* Menggunakan Perlakuan Awal Alkali



Gambar 4.6 Efektivitas Sakarifikasi Berdasarkan Waktu Reaksi terhadap Penurunan Kandungan Lignin dari Kayu *V. amygdalina* Menggunakan Perlakuan Awal Alkali Berdasarkan gambar 4.5 perlakuan awal yang dilakukan tidak terlepas dari peran berbagai faktor diantaranya yaitu suhu, konsentrasi dan waktu reaksi. Hal ini dibuktikan dengan penurunan kandungan lignin, dengan belum terputusnya ikatan lignoselulosa secara sempurna akan menyebabkan rendahnya hasil gula reduksi yang didapatkan pada proses hidrolisis. Seperti pada gambar diatas, perolehan hasil sakarifikasi pulp tertinggi yaitu 57,73% pada waktu pemasakan 15 menit dan pada waktu pemasakan 30 menit mengalami penurunan yang signifikan yaitu 29, 51% kemudian pada waktu pemasakan 45 dan 60 menit mengalami peningkatan sakarifikasi yaitu 32,44 dan 35,28% secara berturut. Hal ini juga sama terhadap hasil sakarifikasi berbasis kayu dimana mengalami turun naik terhadap nilai yang dihasilkan. Pada waktu pemasakan 15 menit diperoleh hasil sakarifikasi yaitu 37,12% dan pada waktu pemasakan 30 menit mengalami penurunan yang signifikan pula yaitu 17,08% kemudian waktu pemasakan 45 dan 60 menit mengalami peningkatan sakarifikasi yaitu 18,55 dan 20,00% secara berturut.

Apabila kita cermati bersama, berdasarkan waktu reaksi persentase sakarifikasi berbasis pulp maupun berbasis kayu mengalami penurunan pada waktu 30 menit dan mengalami peningkatan persentase sakarifikasi pada waktu 45 dan 60 menit walaupun nilainya tidak terlalu tinggi. Menurut Prasetyo dkk., (2010) hal ini disebabkan karena kemungkinan gula yang dihasilkan bisa berubah menjadi produk lain dikarenakan enzim selulase yang digunakan dalam proses sakarifikasi belum murni, sehingga dapat terjadi reaksi lain yang tidak diketahui.

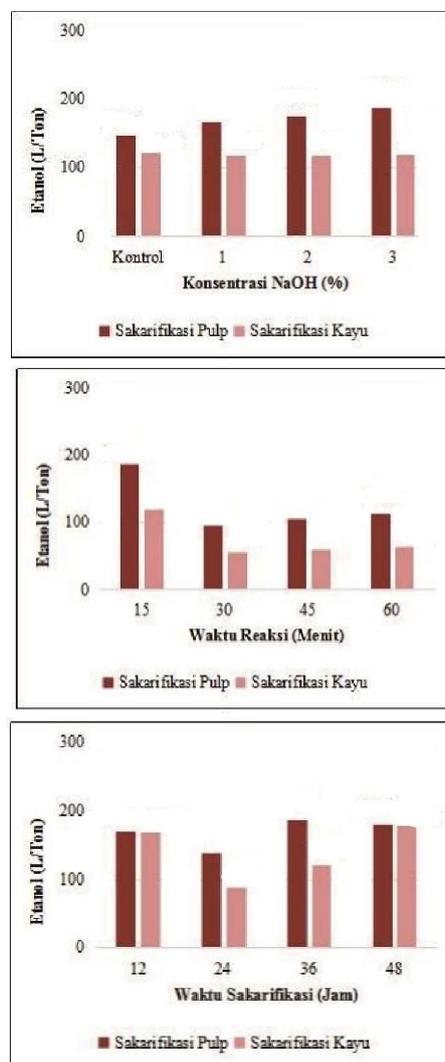
Berdasarkan Gambar 4.6 menunjukkan hasil yang sama pada Gambar 4.5 dimana hasil sakarifikasi yang didapatkan mengalami *trendline* yang tidak stabil juga. Pada waktu ke-12 jam persentase sakarifikasi pulp yaitu 52,41% dan mengalami penurunan pada waktu ke-24 jam yaitu 42,72% kemudian mengalami peningkatan persentase sakarifikasi pada waktu ke-36 jam yaitu 57,69% dan mengalami penurunan lagi waktu ke-48 jam yaitu 55,49%. Berdasarkan waktu sakarifikasi hasil persentase sakarifikasi berbasis pulp tertinggi diperoleh pada waktu ke-36 jam yaitu 57,69% dan persentase sakarifikasi berbasis kayu diperoleh 37,10% dengan waktu sakarifikasi yang sama. Hal ini disebabkan oleh menurunnya stabilitas dan ketahanan enzim yang digunakan pada proses sakarifikasi (Putri dkk., 2013). Namun, kandungan lignin dari gambar diatas mengalami penurunan dari 32,19% menjadi 15,65%. Hal ini erat kaitannya dengan penggunaan larutan NaOH yang dapat memutuskan ikatan hidrogen inter-molekul selulosa, sehingga penyerapan air lebih banyak dan mempermudah enzim selulase dalam menghidrolisis selulosa menjadi gula-gula sederhana (Gunam dkk., 2011). Mardina dkk., (2013) juga menyatakan bahwa persentase pengurangan kandungan lignin semakin besar dengan meningkatnya konsentrasi NaOH yang digunakan.

Hasil yang diperoleh tersebut dilakukan perhitungan potensi etanol oleh Premjet dkk., (2013) yang ditunjukkan pada gambar diagram (Gambar 4.7), berdasarkan perhitungan potensi produksi etanol secara

teoritis, hasil potensi produksi etanol yang diperoleh ialah persentase etanol pada perlakuan awal menggunakan NaOH berkisar antara 147,18 - 186,98 L/ton, pada pengaruh waktu reaksi berkisar antara 95,58 - 186,98 L/ton dan pengaruh waktu sakarifikasi berkisar antara 138,37 - 186,85 L/ton. Hasil perhitungan potensi produksi etanol tertinggi berasal dari sakarifikasi dengan perlakuan awal menggunakan konsentrasi NaOH 3% pada temperatur 121°C selama 15 menit dengan waktu sakarifikasi ke-36 jam. Hasil etanol tertinggi adalah 186,98 ml/kg atau 186,98 L/ton pada basis pulp sedangkan pada basis kayu yaitu 178,40 ml/kg atau 178,40 L/ton.

Pada variasi waktu pemasakan terjadi penurunan kadar etanol yang signifikan, hal ini disebabkan gula yang terdapat pada substrat terkonversi menjadi bioetanol dan sebagian digunakan sebagai sumber karbon untuk proses pertumbuhan mikroorganisme (Retno dan Nuri, 2011). Produksi bioetanol sangat dipengaruhi oleh substrat yang digunakan. Semakin tinggi kadar gula akan diperoleh kadar bioethanol yang semakin tinggi, akan tetapi apabila kadar gula terlalu pekat mengakibatkan proses fermentasi lambat. Jika ditinjau lebih jauh, maka produksi etanol dari pemanfaatan *V. amygdalina* dalam pembuatan etanol masih tergolong rendah. Dari penelitian terdahulu beberapa kayu tropis yang telah dipublikasikan, diantaranya *A. moluccana* (241 L/ton), *G. arborea* (239 L/ton), *A. cadamba* (233 L/ton), *A. altilis* (222 L/ton) dan *P. facataria* (220 L/ton) (Amirta dkk., 2016^b).

Dari penelitian terdahulu beberapa kayu tropis yang telah dipublikasikan, diantaranya *A. moluccana* (241 L/ton), *G. arborea* (239 L/ton), *A. cadamba* (233 L/ton), *A. altilis* (222 L/ton) dan *P. facataria* (220 L/ton) (Amirta dkk., 2016^b).



Gambar 4.7 Potensi Produksi Etanol dari Biomassa Kayu *V. amygdalina* dan Proses Sakarifikasi Enzimatis dan Perlakuan Awal Menggunakan Alkali

KESIMPULAN

1. Efektivitas perlakuan awal menggunakan NaOH terhadap proses delignifikasi pada kayu *V. amygdalina* dengan variasi konsentrasi mampu menghancurkan struktur lignin walaupun konsentrasi yang digunakan tergolong masih rendah.
2. Namun demikian, perlakuan awal alkali dengan konsentrasi NaOH yang rendah telah mampu secara efektif memberikan tingkat perolehan gula reduksi yang cukup tinggi yaitu sebesar 57,73%.
Perolehan potensi etanol tertinggi didapatkan dari proses sakarifikasi yang berlangsung selama 36 jam
3. yaitu 186,95 ml/kg atau 186,98 L/ton dan terendah pada sakarifikasi waktu ke-24 yaitu 88,97 ml/kg atau 88,97 L/ton.

DAFTAR PUSTAKA

- Amirta, R. 2018. Pelet kayu energi hijau masa depan. *Mulawarman University Press*. Samarinda.
- Amirta, R., Nafitri, S. I., Wulandari, R., Suwinarti, W., Candra, K.P., and Watanabe, T. 2016^a. Comparative characterization of Macaranga species collected from secondary forests in East Kalimantan for biorefinery of unutilized fast growing wood. *Biodiversitas : Journal of Biological Diversity*, 17(1), 116-123.
- Amirta, R., Mukhdlor, A., Mujiasih, D., Septia, E., Supriadi., and Susanto, D. 2016^b. Suitability and availability analysis of tropical forest wood species for ethanol production : a case study in East Kalimantan. *Biodiversitas : Journal of Biological diversity*, 17(2), 544-552.
- Gunam, I. B. W., Wartini, N. M., Anggraeni, A. A. M. D., Suparyana, P. M. 2011. Delignifikasi ampas tebu dengan larutan natrium hidrogen sebelum proses sakarifikasi secara enzimatik menggunakan enzim selulase kasar dari *Aspergillus niger* FNU 6018.
- Ghose, B and Ray, R.R. 2010. Saccharification of raw native starches by extracellular isoamylase of *Rhizopus Oryzae*. *Biotechnology*:9 (2) P 224-228.
- Haqiqi, M. T., Yuliansyah., Suwinarti, W., and Amirta, R. 2018. Response surface methodology to simplify calculation of wood energy potency from tropical short rotation coppice species. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*.
- Kim, T. H. 2013. Pretreatment of lignocellulosic biomass. In : Yang, S. T., El-Enshasy, H. A., Thongchul, N., Martin, Y., Bioprocessing Technologies in Integrated Biorefinery for Production of Biofuels, Biochemicals, and Biopolymers from Biomass. Wiley, New York, USA, pp. 91-109.
- Kumar, A., Singh, S., Rajulapati, V., and Goyal, A. 2020. Evaluation of pre-treatment methods for *Lantana camara* steam for enhanced enzymatic saccharification. *Biotech*, 10-37.
- Kuo, C.H., and Lee, C.K. 2009. Enhancement of enzymatic saccharification of cellulose by cellulose dissolution pre-treatments. *Carbohydrate Polymers* 77:41-46.
- Larasati, I. A., Argo, B. D., and Hawa, L. C. 2019. Proses delignifikasi kandungan lignoselulosa serbuk bambu betung dengan variasi NaOH dan tekanan. *Jurnal Keteknik Pertanian tropis dan Biosistem*, 7(3), 235-244.
- Mardina, P., Talalangi, A.I., Sitinjak, J.F.M., Nugroho, A., Fahrizal, M.R. 2013. Pengaruh proses delignifikasi pada produksi glukosa dari tongkol jagung dengan hidrolisis asam encer. *Konversi*, Vol. 2 No. 2.
- McKendry, P. 2002. Energy production from biomass (part 1) : overview of biomass. *Bioresource technology*, 83(1), 37-46.
- Muryanto., Sudiyani, Y., and Abimanyu, H. 2016. Optimasi proses perlakuan awal NaOH tandan kosong kelapa sawit untuk menjadi bioetanol. *Jurnal Kimia Terapan Indonesia*, 18(1), 27-35.
- Panggabean, J.E., Dotulong, V., Montolalu, R. I., Damongilala, L., Harikedua, S. D., dan Makapedua, D.M. 2018. Ekstraksi karagian rumput laut merah (*Kappaphycus alvarezii*) dengan perlakuan perendaman dalam larutan basa. *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan*, 6(3), 65-70.
- Putri, C. N., dan Utami, Budi. 2017. Pembuatan bioetanol dengan cara hidrolisis menggunakan kertas koran bekas serta pemurnian menggunakan agen pengering (MgSO₄, Na₂SO₄ dan CaCl₂). *Journal Cis-Trans (JC-T)*, 1(1) E-ISSN 2549-6573.
- Prasetyo, J., Kato, T., and Park, E. Y. 2010. Efficient cellulase-catalyzed saccharification of untreated paper sludge targeting for biorefinery. *Biomass and Bioenergy* 34, P 1906-1913.

- Retno, D. T., dan Nuri, W. 2011. Pembuatan Bioetanol dari Kulit Pisang. Jurusan Teknik Kimia FTI UPN “Veteran” Yogyakarta.
- Saha, K., Maharana, A., Sikdera, J., and Chakrabo, S. 2017. Continuous production of bioethanol from sugarcane bagasse and downstream purification using membrane integrated bioreactor. *Catalysis Today*, 331, 68-77.
- Sari, P. D., Puri, W. A., dan Hanum, D. 2018. Delignifikasi bonggol jagung dengan metode microwave alkali. *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian “AGRIKA”*, 12(2).
- Siregar, M. R., Hendrawan, Y., dan Nugroho, W. A. 2014. Pengaruh konsentrasi NaOH dan lama waktu pemanasan microwave dalam proses pretreatment terhadap kadar lignoselulosa *Chlorella vulgaris*. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 15(2), 129-138.
- Sjöström, E. 1995. Kimia kayu dasar-dasar penggunaan. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- TAPPI, 1988. Alpha-, beta- and gamma cellulose in pulp and wood. Technical Association of the Pulp and Paper Industry, T 203 om-93.
- TAPPI, 1998. Acid-insoluble lignin in wood and pulp. Technical Association of the Pulp and Paper Industry, T 222 om-98.



Rudianto Amirta <ramirta@fahutan.unmul.ac.id>

[UJHT] Editor Decision

Rita Diana <jurnal@unmul.ac.id>

Sat, July 11, 2022 at 1:53 PM

Reply-To: Karyati Karyati <karyati.hanapi@yahoo.com>

To: Rudianto Amirta <ramirta@fahutan.unmul.ac.id>

Cc: Mardiatul Ufa <mardiaufa01@gmail.com>, Nasriati N <nasriatinasir3@gmail.com>, Aulia Fitria Ningrum <auliafitria97@gmail.com>

The following message is being delivered on behalf of ULIN: Jurnal Hutan Tropis.

Rudianto Amirta:

We have reached a decision regarding your submission to ULIN: Jurnal Hutan Tropis, "Efektivitas perlakuan awal alkali dan hidrotermal terhadap proses delignifikasi, potensi gula reduksi dan produksi etanol teoritis dari kayu *Vernonia amygdalina* Delile".

Our decision is: Revisions Required

Karyati Karyati

Scopus ID: 57193062639, (Forest Climatology) - Mulawarman University

Phone +6281256283873

Fax +62541735379

karyati.hanapi@yahoo.com

Universitas Mulawarman

ULIN: Jurnal Hutan Tropis

<http://e-journals.unmul.ac.id/index.php/UJHT>

EFEKTIVITAS PERLAKUAN AWAL ALKALI DAN HIDROTERMAL TERHADAP PROSES DELIGNIFIKASI, POTENSI GULA REDUKSI DAN PRODUKSI ETANOL TEORITIS DARI KAYU *Vernonia amygdalina* Delile

ABSTRACT

Vernonia amygdalina is a shrub species that is potentially used as an energy crop through a short rotation coppice (SRC) system since this species is able to generate more than a single stem after the pruning process. This technique is very popular for providing sustainable feedstock for energy production. Therefore, due to its characteristics, *V. amygdalina* receives great attention as one of the energy crops for the application in energy. Herein, this study aims to evaluate the suitability of the *V. amygdalina* woody biomass for ethanol production. The woody biomass was first pretreated by autoclave under various concentrations of sodium hydroxide (0, 1, 2, and 3% (w/v)) and reaction times (15, 30, 45, and 60 minutes). The pretreated wood sample was then hydrolyzed using a commercial cellulase enzyme to produce glucose monomers. The hydrolysis time at 12, 24, 36, and 48 hours was analyzed. The results showed that the addition of 3% sodium hydroxide at a reaction time of 15 minutes and a hydrolysis time of 36 hours was the best concentration to provide the highest ethanol potency (186.98 L/ton woody biomass). Finally, this study suggests that *V. amygdalina* will be a promising feedstock for ethanol production.

Key words: Alkaline Pretreatment, Bioethanol, Enzymatic Saccharification, *V. amygdalina*

ABSTRAK

Vernonia amygdalina merupakan salah satu jenis tanaman *Short Rotation Coppice* (SRC) atau trubusan yang secara alami dapat melakukan proses regenerasi setelah melalui proses pemangkasan. Selain itu juga sebagai bahan baku penyedia biomassa yang saat ini banyak digunakan dalam memproduksi energi di dunia. Oleh karena itu, *V. amygdalina* memiliki potensi pembangkitan energi yang besar dan memadai untuk digunakan salah satunya adalah sebagai bahan baku untuk produksi bioetanol. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas perlakuan awal yang dilakukan dengan menggunakan konsentrasi alkali dan waktu reaksi yang berbeda terhadap proses sakarifikasi dan gula tereduksi yang dihasilkan beserta potensi teoritis dari etanol yang diperoleh. Proses penelitian diawali dengan pengujian komponen kimia yang mengacu pada metode standar TAPPI. Sementara itu, untuk mengetahui potensi gula tereduksi menggunakan metode Somogyi-Nelson. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan awal dengan menggunakan NaOH dengan konsentrasi 3% pada waktu pemasakan 15 menit dan waktu sakarifikasi 36 jam menghasilkan nilai potensi gula reduksi tertinggi sebesar 186,98 ml/kg atau 186,98 L/ton dari kayu *V. amygdalina*. Penggunaan *V. amygdalina* sebagai bahan baku alternatif untuk produksi etanol akan sangat menjanjikan bagi energi Indonesia yang ramah lingkungan di masa depan.

Kata kunci : Bioetanol, Perlakuan Awal Alkali, Sakarifikasi Enzimatik, *V. amygdalina*

PENDAHULUAN

Energi merupakan salah satu hal yang sangat penting di dunia. Banyak negara saling bersaing untuk mendapatkan atau mempertahankan sumber-sumber energi tersebut. Saat ini sumber energi utama umat manusia diperoleh dari bahan bakar fosil dan penggunaan bahan bakar fosil saat ini sangat besar. Hal ini tidak dapat dipungkiri karena penggunaan energi dunia masih berpusat pada minyak bumi. Selain itu peningkatan harga minyak bumi akan memberikan dampak yang besar bagi pembangunan suatu negara salah satunya ialah negara Indonesia. Permasalahannya, sumber energi ini merupakan sumber energi tak terbarukan yang suatu saat akan habis jika terus-menerus dipakai.

Negara-negara berkembang saat ini salah satunya negara Indonesia sedang ramai mengembangkan energi terbarukan dengan target yang cukup ambisius. Keadaan inilah yang menuntut kita untuk mengeksplorasi

sumber daya [AC4]energi terbarukan yang meliputi air, biomassa, angin dan panas bumi. Di antara pilihan tersebut, bahan bakar berbasis biomassa yaitu biofuel salah satunya [AC5]ialah bioetanol (Saha dkk., 2017). Bioetanol sangat berpotensi untuk menggantikan bensin karena memiliki beberapa keuntungan. Beberapa bahan dapat diolah menjadi bioetanol, salah satunya adalah biomassa lignoselulosa.

Indonesia merupakan negara dengan luas hutan alam terbesar ke-3 di dunia memiliki kawasan hutan khususnya di Kalimantan Timur diketahui memiliki ketersediaan cadangan biomassa berlignoselulosa yang sangat berlimpah dan beragam jenis dari tumbuhan berkayu yang memiliki kemampuan adaptasi dan kecepatan pertumbuhan yang tinggi (pioneer/fast growing and lesser known [AC6]species) (Amirta dkk., 2016^a). Salah satu jenis bahan baku penyediaan biomassa yang saat ini banyak digunakan yaitu *Short Rotation Coppice* (SRC) yang memiliki siklus rotasi yang [AC7] lebih pendek dan kepadatan penanaman yang lebih tinggi memungkinkan perolehan hasil panen (produktivitas) biomassa yang lebih tinggi per satuan luas lahan (Amirta, 2018; Haqiqi, dkk. [AC8]2018). Salah satu tanaman jenis ini ialah *Vernonia amygdalina*.

Berbagai sumber bahan lignoselulosa perlu dilakukan proses perlakuan awal lebih dahulu untuk mempermudah proses hidrolisis. Proses perlakuan awal akan membuat selulosa mudah ditembus oleh enzim selulolitik sehingga dapat mengurangi penggunaan enzim serta menekan biaya (Sari dkk., 2018). Proses perlakuan awal menggunakan metode hidrotermal dapat meningkatkan produk gula tereduksi hasil hidrolisis yang akan dikonversi menjadi bioetanol melalui proses enzimatik (Ninomiya dkk., 2013[AC9]). Perlakuan awal secara alkali bertujuan untuk mengurangi kandungan lignin dalam lignoselulosa (delignifikasi). Proses kimia menggunakan senyawa basa kuat merupakan metode delignifikasi yang paling umum digunakan, karena memiliki daya degradasi terhadap lignin yang kuat dan biaya yang rendah. Kelemahannya adalah terbentuknya garam saat proses, namun dapat diatasi dengan cara pencucian menggunakan air bersih. Senyawa basa kuat yang pada umumnya digunakan untuk delignifikasi adalah Natrium [AC10] hidroksida (NaOH) dengan konsentrasi yang bervariasi pada suhu rendah dengan waktu delignifikasi yang lama (1 jam) (Muryanto dkk., 2016).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas perlakuan awal yang dilakukan dengan menggunakan konsentrasi alkali dan waktu reaksi yang berbeda terhadap proses sakarifikasi dan gula tereduksi yang dihasilkan beserta potensi teoritis dari etanol yang diperoleh.

METODE

Lokasi Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Kimia Hasil Hutan dan Energi Terbarukan, Fakultas Kehutanan, Universitas Mulawarman, Samarinda.

Prosedur Penelitian

1. Persiapan Bahan Baku

Sampel kayu yang telah dipotong kemudian dipotong kecil-kecil menggunakan parang [AC11]. Selanjutnya sampel berbentuk chip [AC12] dikonversi menjadi serbuk dengan menggunakan alat *hammer mill*. Proses berikutnya dilakukan pengayakan dengan ukuran 40 mesh (sampel untuk perlakuan awal dan pengujian sifat kimia). Sampel yang telah di ayak [AC13]kemudian disimpan di ruang konstan dan dimasukkan kedalam plastik klip. Untuk persiapan bahan baku selanjutnya, dilakukan pengukuran faktor kelembaban (*Moisture Factor*) dan kandungan air (*Water Content*) dengan menggunakan metode standar TAPPI.

$$MF = [B/A] \quad (1)$$

Keterangan :

MF = Faktor Kelembaban

A = Berat awal sampel (g)

B = Berat akhir sampel (g) [AC14]

$$WC (\%) = [(A-B)/A] \times 100 \quad (2)$$

Keterangan :

WC = Kandungan air (%)

A = Berat awal sampel (g)

B = Berat akhir sampel (g)^[AC15]

2. Perlakuan Awal

Proses perlakuan awal dalam penelitian ini menggunakan larutan natrium hidroksida (NaOH). Pada kisaran konsentrasi masing-masing 10; 20 dan 30 g/l^[AC16] atau 1, 2 dan 3% serta temperatur yang digunakan dan waktu proses adalah 121°C selama 15, 30, 45 dan 60 menit dengan rasio antar substrat kayu dan larutan pemasak sebesar 1:10 (w/v).

3. Analisis Komponen Kimia

Analisis komponen kimia untuk mengetahui kandungan kimia dalam sampel yang terdiri dari kandungan lignin, holoselulosa dan α -selulosa. Hal ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan komponen kimia sebelum dan sesudah perlakuan awal menggunakan NaOH sebagai katalis. Pengukuran ini menggunakan metode standar TAPPI.

4. Sakarifikasi (Hidrolisis Enzimatis)

Serbuk dari proses perlakuan awal terhadap kayu *V. amygdalina* yang digunakan sebagai substrat dalam tahapan hidrolisis guna memecah komponen selulosa menjadi monomer gula sederhana. Proses hidrolisis bertujuan untuk memecah ikatan lignin, menghilangkan kandungan lignin dan hemiselulosa, merusak struktur kristal dari selulosa (Sun ^{and}^[AC17] Cheng, 2002). Sebelum proses sakarifikasi sampel pulp terlebih dahulu dikering udarkan pada temperatur ruang (25°C). Kemudian 0,2 gram^[AC18] (OD) pulp dimasukkan ke dalam tabung (*tube*) dan ditambahkan 10 ml larutan substrat enzim yang mengandung buffer tartrate 0,05 M pH 4,5, enzim selulase (40 FPU/g substrat) dan 0,02% Sodium Azide^[AC19] ke dalam substrat pada temperatur 45°C. Hidrolisis enzim ini dilakukan menggunakan *rotary shaker* dengan kecepatan 140 rpm selama 96 jam. Dilakukan 4 kali pengambilan sampel tiap 12 jam, 24 jam^[AC20] 36 jam dan 48 jam. Kemudian, sampel di^[AC21] *centrifuge* pada kecepatan putaran 6200 rpm selama 5 menit untuk dipisahkan antara filtrat dan *supernatant*-nya. *Supernatant* digunakan untuk menentukan gula tereduksi melalui metode Somogy-Nelson yang dimodifikasi (Amirta ^{dkk}^[AC22]., 2016^b). Enzim komersil selulase yang digunakan dalam penelitian ini adalah enzim meiselase yang diperoleh dari Meiji, Kyoto, Jepang.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Banyaknya komponen kayu yang tidak terdegradasi setelah proses pulping ini dinyatakan sebagai rendemen. Nilai rendemen serta kenampakan fisik dari pulp kayu *V. amygdalina* setelah perlakuan awal menggunakan NaOH dengan konsentrasi serta waktu pemasakan yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 4.1.^[AC23]

Berdasarkan Tabel 4.1^[AC24] dapat dicermati bahwa dengan bertambahnya konsentrasi NaOH terjadi penurunan terhadap rendemen pulp^[AC25] yang dihasilkan. Menurut Kumar ^{dkk.}., (2020) tingginya nilai rendemen yang dihasilkan dikarenakan katalis yang digunakan tidak mampu memecah struktur karbohidrat kompleks secara efisien serta menandakan bahwa struktur lignoselulosa tidak terurai secara sempurna, sehingga mempengaruhi kerja enzim dalam menghidrolisis selulosa menjadi glukosa pada proses sakarifikasi. Sedangkan rendahnya nilai rendemen yang didapat dipengaruhi oleh waktu pemasakan dan konsentrasi alkali (Panggabean ^{dkk.}., 2018). ^{Nurmiah} ^{dkk.}., (2013)^[AC26] juga menyatakan bahwa penurunan nilai rendemen disebabkan oleh peningkatan konsentrasi NaOH dan interaksi temperatur atau suhu yang digunakan.

Selain rendemen pulp, parameter lain yang dicermati adalah perubahan pada sisa fraksi pulp (tekstur) dan warna pulp setelah perlakuan awal. Pada variasi konsentrasi perlakuan awal menghasilkan pulp yang berserat

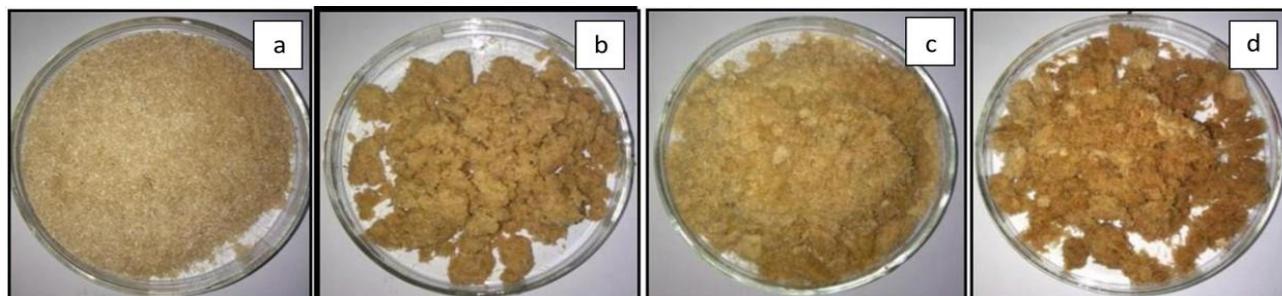
kasar (*hard fiber*) kecuali pada konsentrasi NaOH 3% yang menghasilkan pulp yang berserat

halus (*soft fiber*).^[AC27]

Sifat fisik yang diperoleh dari hasil pemasakan dengan proses alkali yaitu berupa sisa fraksi pulp dan warna pada setiap sampel dengan masing-masing konsentrasi alkali yang berbeda (Gambar 4.1^[AC28]). Sampel sebelum perlakuan berwarna coklat^[AC29] muda, sedangkan sampel dengan variasi konsentrasi NaOH berwarna coklat^[AC30] kekuningan sampai cokelat tua kemerahan. Hal ini mungkin terjadi karena kandungan lignin pada sampel terdegradasi atau larut dalam lindi hitam pada saat proses perlakuan awal, dengan kata lain pengaruh konsentrasi alkali dan waktu pemasakan dapat mempengaruhi laju degradasi lignin yang terjadi selama proses pemasakan berlangsung. Hal ini juga dinyatakan oleh Muryanto dkk., (2016) bahwa semakin lama waktu proses perlakuan awal, maka delignifikasi juga semakin tinggi. Pembentukan sisa fraksi pulp tersebut juga tergantung pada konsentrasi alkali dan juga jenis biomassa yang digunakan (Amirta, 2016^[AC31]).

Tabel 4.1^[AC32] Persentase Rendemen Pulp Kayu *V. amygdalina* Setelah Perlakuan Awal

Rendemen (%)			
Waktu (menit)	1% NaOH	2% NaOH	3% NaOH
15	70,71 ± 0,64	66,46 ± 0,28	64,30 ± 0,41
30	67,04 ± 0,06	62,69 ± 0,52	57,89 ± 0,72
45	66,89 ± 0,80	59,66 ± 0,65	57,19 ± 0,16
60	64,18 ± 0,66	57,87 ± 0,62	55,46 ± 0,32



Gambar 4.1^[AC33] Tekstur dan Warna Pulp *V. amygdalina* pada Konsentrasi yang Berbeda (a) Sebelum Perlakuan NaOH (b) NaOH 1% (c) NaOH 2% (d) NaOH 3% dengan suhu 121°C.

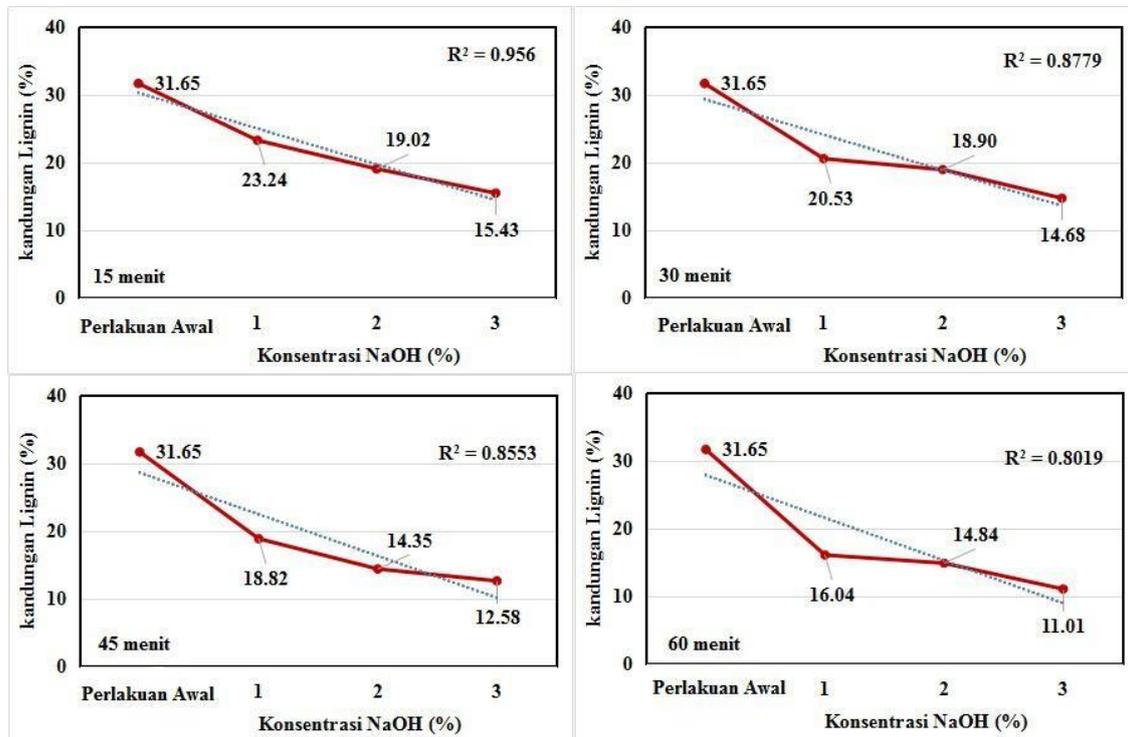
Adapun nilai persentase lignin setelah perlakuan awal alkali yang telah dilakukan pengujian dapat dilihat pada gambar 4.2.^[AC34] Berdasarkan gambar tersebut, menunjukkan hasil pengujian kandungan lignin setelah perlakuan awal mengalami penurunan seiring dengan meningkatnya konsentrasi alkali. Adapun kandungan lignin sebelum perlakuan yaitu 31,65% menurun hingga 11,01 - 32,19% setelah perlakuan awal. Berdasarkan teori, bahwa konsentrasi alkali sangat berpengaruh terhadap efektivitas penurunan lignin, ini menunjukkan bahwa terdapat kecenderungan menurunnya kadar lignin dan kandungan polisakarida setelah diberi perlakuan alkali. Hal ini sejalan dengan pendapat Larasati dkk., (2019) bahwa kandungan lignin akan semakin berkurang seiring bertambahnya konsentrasi alkali.

Pada Gambar 4.3^[AC35] menunjukkan penurunan kandungan holoselulosa seiring dengan peningkatan konsentrasi dan waktu reaksi. Dari hasil analisis diatas^[AC36], holoselulosa setelah perlakuan awal menurun menjadi 37,39 - 67,87% yang sebelumnya kandungan holoselulosa sebelum perlakuan awal ialah 84,73%. Berdasarkan data tersebut diperkirakan bahwa semakin tinggi penggunaan konsentrasi akan menurunkan tingkat polimerisasi selulosa sehingga dapat meningkatkan kinerja enzim pada proses sakarifikasi. Adapun penurunan kandungan tersebut mengindikasikan bahwa perlakuan delignifikasi yang diterapkan pada penelitian ini, tidak hanya menyebabkan degradasi lignin, tetapi depolimerisasi hemiselulosa juga (Saha dkk., 2017).

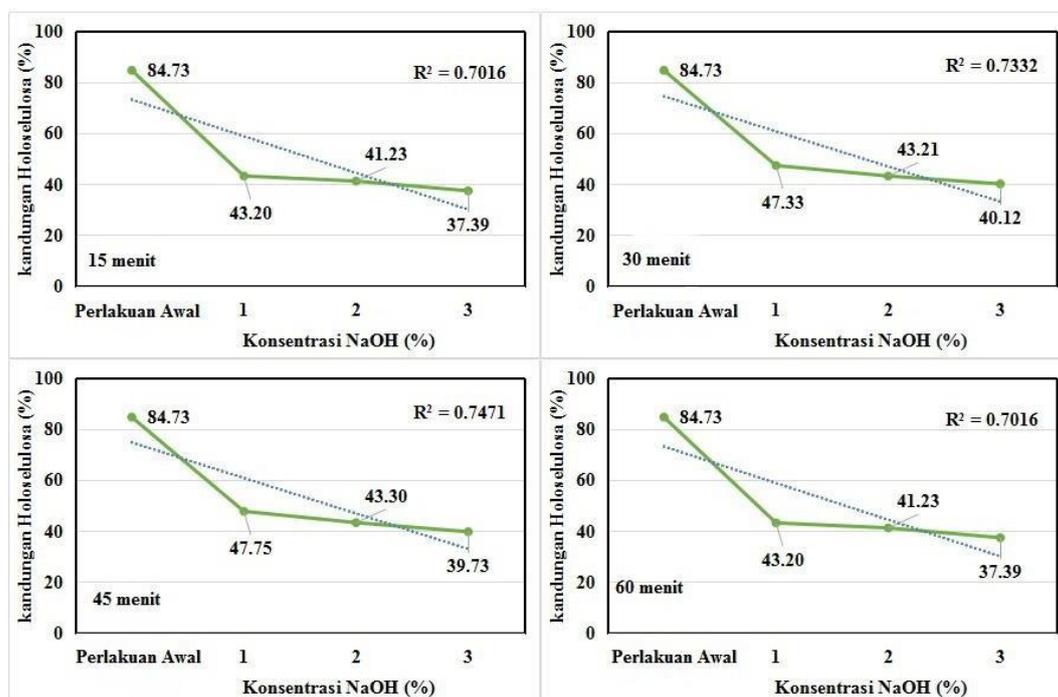
Berdasarkan Gambar 4.4^[AC37] menunjukkan bahwa terjadi penurunan α -Selulosa seiring dengan penambahan konsentrasi dan waktu reaksi pemasakan. Nilai dari kandungan α -Selulosa sebelum perlakuan yang diperoleh batang sambung nyawa adalah sebesar 55,27% dan selanjutnya dilakukan analisis kandungan

α -Selulosa dengan menggunakan konsentrasi NaOH 1, 2 dan 3%. Nilai yang diperoleh setelah dilakukan perlakuan awal

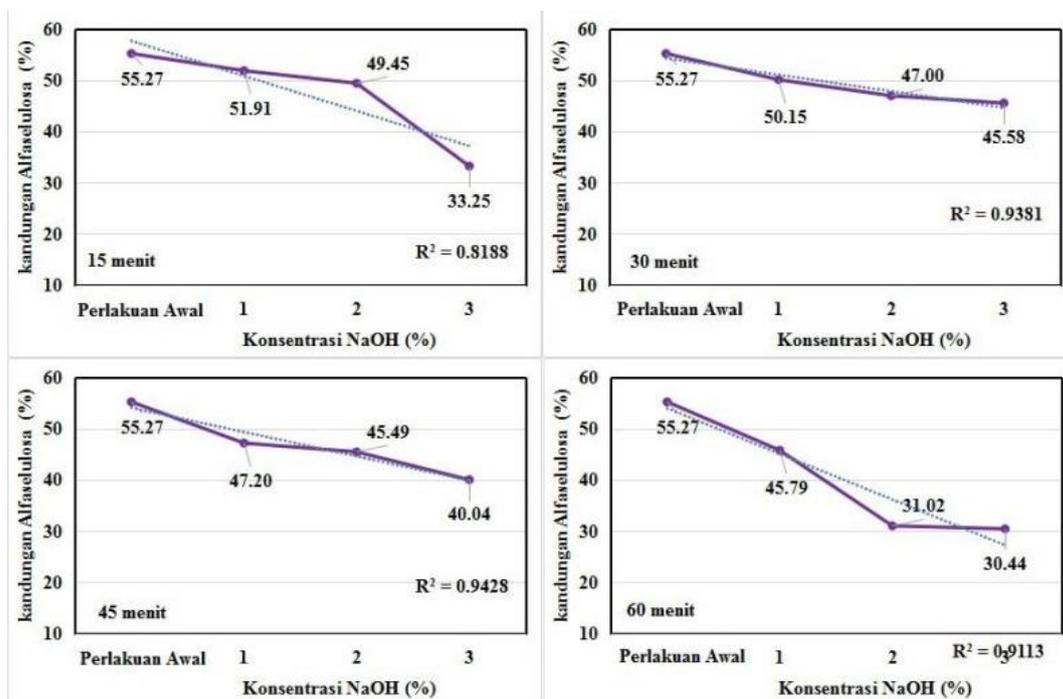
berkisar antara 30,44 - 61,62%. Berdasarkan gambar diatas [AC38] terlihat bahwa dengan bertambahnya konsentrasi NaOH tidak begitu berpengaruh terhadap kandungan α -Selulosa. Menurut Sjöström (1995) [AC39] menyatakan bahwa [AC40] adanya perbedaan kandungan α -Selulosa tersebut sebagian besar disebabkan oleh banyak sedikitnya kristalin dalam selulosa. Jenis kayu yang memiliki kandungan α -Selulosa tinggi artinya memiliki kristalin yang banyak pada selulosa yang terkandung di dalam kayu. Terjadinya penurunan kandungan selulosa ini dapat disebabkan adanya struktur selulosa yang teratur terbuka dan molekul selulosa terdispersi secara bebas dalam solven [AC41] (NaOH).



Gambar 4.2 [AC42]Kandungan Lignin Setelah Perlakuan Awal



Gambar 4.3 [AC43]Kandungan Holocelulosa Setelah Perlakuan Awal



Gambar 4.3 [AC44] Kandungan Alifaselulosa Setelah Perlakuan Awal

Tabel 4.2 [AC45] Persentase Glukosa pada Kayu *V. amygdalina*

Waktu Reaksi (Menit)	Konsentrasi NaOH (%)	Waktu Sakarifikasi (Jam)			
		12	24	36	48
15	1	21,50	18,10	24,95	23,65
	2	21,75	19,80	26,20	25,35
	3	25,35	20,70	27,90	26,80
30	1	13,00	21,50	24,90	13,20
	2	15,55	23,85	26,40	13,20
	3	16,60	24,95	27,70	30,05
45	1	30,50	20,90	24,90	27,05
	2	31,50	22,80	27,50	27,90
	3	33,00	34,30	31,75	29,20
60	1	24,10	27,70	24,10	30,50
	2	24,70	29,00	27,70	33,00
	3	27,90	30,07	33,90	37,90

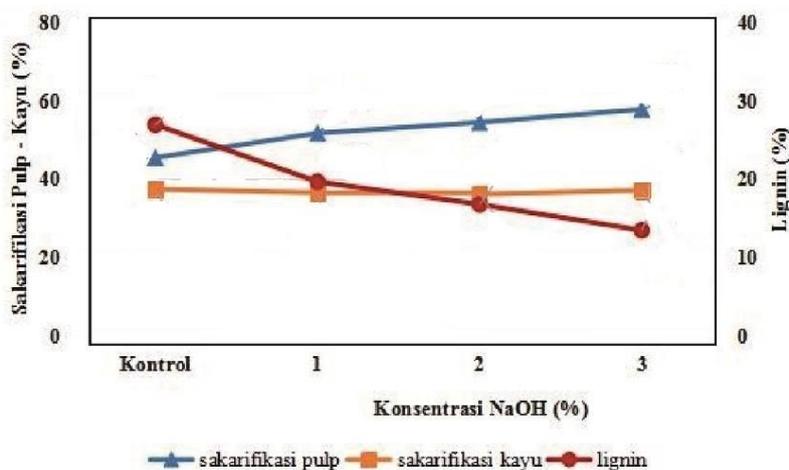
Berdasarkan Tabel 4.2 [AC46] hasil glukosa tertinggi didapatkan dari perlakuan awal pada waktu reaksi 60 menit yaitu 37,90%, sedangkan yang terendah yaitu 13,00% pada waktu reaksi 30 menit. Persentase gula yang didapatkan secara umum meningkat seiring dengan meningkatnya waktu sakarifikasi. Namun, terdapat beberapa waktu sakarifikasi yang mengalami penurunan persentase glukosa. Hal ini dikarenakan jumlah enzim yang semakin terbatas (Ghose dan Ray, 2010).

Biomassa lignoselulosa terdiri dari karbohidrat (selulosa dan hemiselulosa), lignin dan komponen lainnya (protein, lipid dan zat organik) (Kim, 2013). Keberadaan lignin sangat menghambat proses degradasi selulosa dan hemiselulosa menjadi glukosa. Oleh karena itu, lignin harus dihilangkan baik secara kimia maupun enzimatik yang merupakan proses delignifikasi dan setelah itu dapat dilakukan proses fermentasi untuk produksi bioetanol.

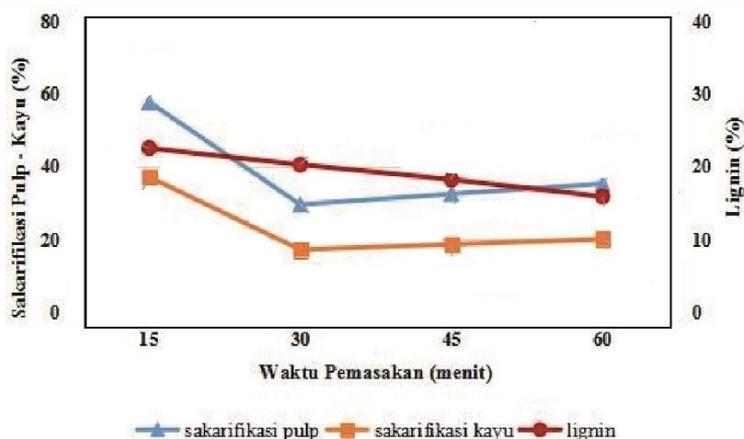
Proses hidrolisis pada batang *V. amygdalina* ini berfungsi untuk memecah rantai panjang polimer karbohidrat yaitu holoselulosa (hemiselulosa dan selulosa) menjadi monomer-monomer gula reduksi. Sebelum melakukan proses sakarifikasi secara enzimatik, aktifitas [AC47] enzim diketahui sebesar 40 FPU. Pada proses

sakarifikasi menggunakan temperatur optimum 45°C dan menggunakan buffer asam dengan pH 4,5 [AC48] agar enzim yang digunakan dapat bekerja dengan optimum selama 48 jam. Hasil proses sakarifikasi dapat dilihat pada Gambar 4.4, 4.5 dan 4.6 [AC49].

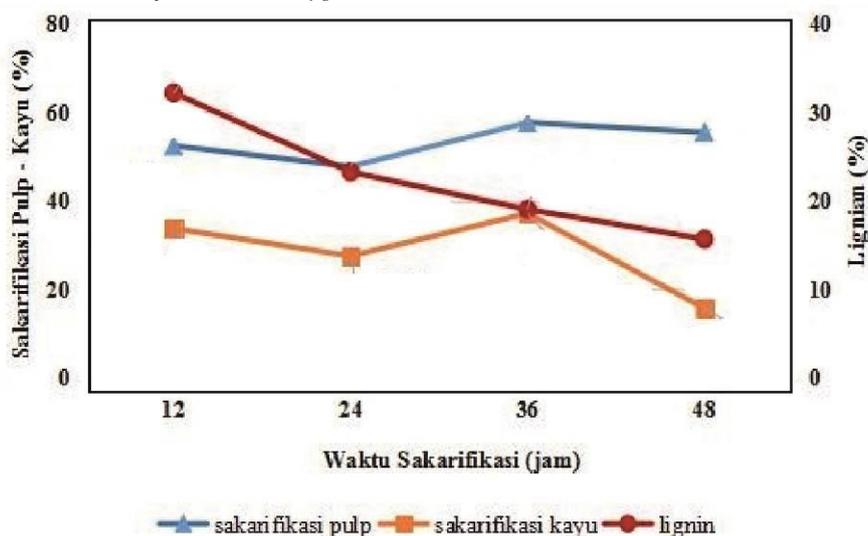
Pada variasi perlakuan awal menggunakan konsentrasi NaOH ini dihasilkan persentase sakarifikasi yang tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lain sebelumnya. Perolehan hasil sakarifikasi tertinggi yaitu 57,73% dari basis pulp dan 37,42% dari basis kayu. Jika dicermati terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi proses sakarifikasi, salah satunya persentase kandungan lignin yang dimana penurunan kandungan lignin berdampak baik pada proses hidrolisis dan mempermudah enzim dalam memecah struktur polisakarida menjadi monomer gula sehingga nilai sakarifikasi meningkat. Pada perlakuan awal ini juga memberikan dampak negatif yaitu penurunan perolehan persentase holoselulosa dan α -selulosa [AC50] namun tidak dalam jumlah yang besar. Sehingga, adanya penurunan kandungan holoselulosa dan α -selulosa saat konsentrasi ditingkatkan ini tidak berpengaruh secara signifikan pada persentase hasil rendemen gula pereduksi atau persentase sakarifikasi yang dihasilkan, yang mana dihasilkan persentase hasil sakarifikasi yang meningkat, sebagai contoh dapat dilihat pada Gambar 4.4. [AC51] Hal ini dapat terjadi diduga disebabkan oleh [AC52] aksesibilitas enzim selulase yang menjadi lebih baik terhadap α -selulosa pada perlakuan awal dengan konsentrasi tinggi dikarenakan oleh berkurangnya kadar lignin. Selain itu proses degradasi oleh enzim ini diduga juga menyebabkan selulosa yang tersisa menjadi lebih pendek (derajat polimerisasinya rendah), sehingga lebih mudah dihidrolisis oleh enzim. Derajat polimerisasi yang rendah akan menyebabkan luas permukaan selulosa 68 menjadi lebih besar sehingga aksesibilitas enzim terhadap selulosa menjadi lebih tinggi dan dapat meningkatkan rendemen proses hidrolisis (Kuo dan Lee, 2009).



Gambar 4.4 [AC53] Efektivitas Sakarifikasi Berdasarkan Konsentrasi terhadap Penurunan Kandungan Lignin dari Kayu *V. amygdalina* Menggunakan Perlakuan Awal Alkali



Gambar 4.5 [AC54] Efektivitas Sakarifikasi Berdasarkan Waktu Reaksi terhadap Penurunan Kandungan Lignin dari Kayu *V. amygdalina* Menggunakan Perlakuan Awal Alkali



Gambar 4.6 [AC55] Efektivitas Sakarifikasi Berdasarkan Waktu Reaksi terhadap Penurunan Kandungan Lignin dari Kayu *V. amygdalina* Menggunakan Perlakuan Awal Alkali Berdasarkan gambar 4.5 perlakuan awal yang dilakukan tidak terlepas dari peran berbagai faktor diantaranya yaitu suhu, konsentrasi dan waktu reaksi. Hal ini dibuktikan dengan penurunan kandungan lignin, dengan belum terputusnya ikatan lignoselulosa secara sempurna akan menyebabkan rendahnya hasil gula reduksi yang didapatkan pada proses hidrolisis. Seperti pada gambar diatas [AC57], perolehan hasil sakarifikasi pulp tertinggi yaitu 57,73% pada waktu pemasakan 15 menit dan pada waktu pemasakan 30 menit mengalami penurunan [AC58] yang signifikan yaitu 29,51% kemudian pada waktu pemasakan 45 dan 60 menit mengalami peningkatan sakarifikasi yaitu 32,44 dan 35,28% secara berturut. Hal ini juga sama terhadap hasil sakarifikasi berbasis kayu dimana mengalami turun naik terhadap nilai yang dihasilkan. Pada waktu pemasakan 15 menit diperoleh hasil sakarifikasi yaitu 37,12% dan pada waktu pemasakan 30 menit mengalami penurunan yang signifikan pula yaitu 17,08% [AC59] kemudian waktu pemasakan 45 dan 60 menit mengalami peningkatan sakarifikasi yaitu 18,55 dan 20,00% secara berturut.

Apabila kita cermati bersama, [AC60] berdasarkan waktu reaksi persentase sakarifikasi berbasis pulp maupun berbasis kayu mengalami penurunan pada waktu 30 menit dan mengalami peningkatan persentase sakarifikasi pada waktu 45 dan 60 menit walaupun nilainya tidak terlalu tinggi. Menurut Prasetyo dkk., (2010) hal ini disebabkan karena kemungkinan gula yang dihasilkan bisa berubah menjadi produk lain dikarenakan enzim selulase yang digunakan dalam proses sakarifikasi belum murni, sehingga dapat terjadi reaksi lain yang tidak diketahui.

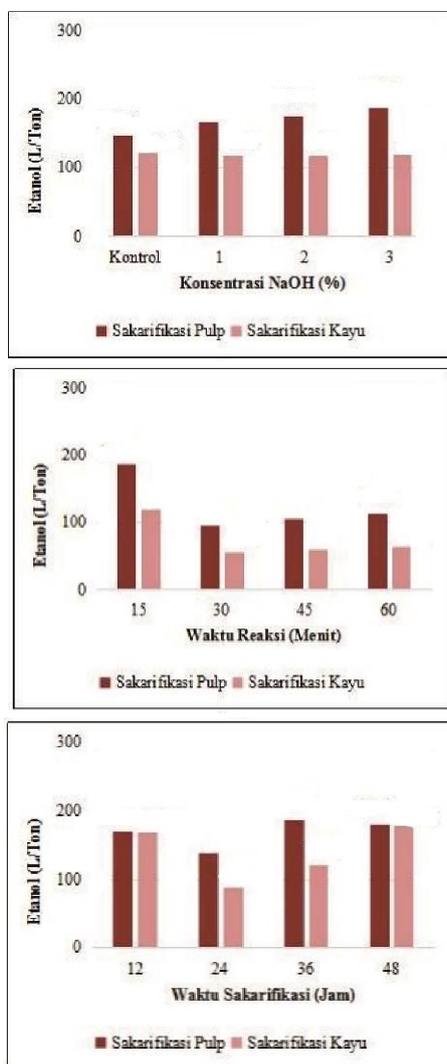
Berdasarkan Gambar 4.6 [AC61] menunjukkan hasil yang sama pada Gambar 4.5 [AC62] dimana hasil sakarifikasi yang didapatkan mengalami trendline yang tidak stabil juga. Pada waktu ke-12 jam persentase sakarifikasi pulp yaitu 52,41% dan mengalami penurunan pada waktu ke-24 jam yaitu 42,72% [AC63] kemudian mengalami peningkatan persentase sakarifikasi pada waktu ke-36 jam yaitu 57,69% dan mengalami penurunan lagi waktu ke-48 jam yaitu 55,49%. Berdasarkan waktu sakarifikasi hasil persentase sakarifikasi berbasis pulp tertinggi diperoleh pada waktu ke-36 jam yaitu 57,69% dan persentase sakarifikasi berbasis kayu diperoleh 37,10% dengan waktu sakarifikasi yang sama. Hal ini disebabkan oleh menurunnya stabilitas dan ketahanan enzim yang digunakan pada proses sakarifikasi (Putri dkk., 2013 [AC64]). Namun, kandungan lignin dari gambar diatas [AC65] mengalami penurunan dari 32,19% menjadi 15,65%. Hal ini erat kaitannya dengan penggunaan larutan NaOH yang dapat memutuskan ikatan hidrogen inter-molekul selulosa, sehingga penyerapan air lebih banyak dan mempermudah enzim selulase dalam menghidrolisis selulosa menjadi gula-gula sederhana (Gunam dkk., 2011). Mardina dkk., (2013) juga menyatakan bahwa persentase pengurangan kandungan lignin semakin besar dengan meningkatnya konsentrasi NaOH yang digunakan.

Hasil yang diperoleh tersebut dilakukan perhitungan potensi etanol oleh Premjet dkk., (2013) [AC66] yang ditunjukkan pada gambar diagram (Gambar 4.7 [AC67]), berdasarkan perhitungan potensi produksi etanol

teoritis, [AC68] hasil potensi produksi etanol yang diperoleh ialah persentase etanol pada perlakuan awal menggunakan NaOH berkisar antara 147,18 - 186,98 L/ton, pada pengaruh waktu reaksi berkisar antara 95,58 - 186,98 L/ton dan pengaruh waktu sakarifikasi berkisar antara 138,37 - 186,85 L/ton. Hasil perhitungan potensi produksi etanol tertinggi berasal dari sakarifikasi dengan perlakuan awal menggunakan konsentrasi NaOH 3% pada temperatur 121°C selama 15 menit dengan waktu sakarifikasi ke-36 jam. Hasil etanol tertinggi adalah 186,98 ml/kg atau 186,98 L/ton pada basis pulp sedangkan pada basis kayu yaitu 178,40 ml/kg atau 178,40 L/ton.

Pada variasi waktu pemasakan terjadi penurunan kadar etanol yang signifikan, hal ini disebabkan gula yang terdapat pada substrat terkonversi menjadi bioetanol dan sebagian digunakan sebagai sumber karbon untuk proses pertumbuhan mikroorganisme (Retno dan Nuri, 2011). Produksi bioetanol sangat dipengaruhi oleh substrat yang digunakan. Semakin tinggi kadar gula akan diperoleh kadar bioethanol [AC69] yang semakin tinggi, akan tetapi apabila kadar gula terlalu pekat mengakibatkan proses fermentasi lambat. Jika ditinjau lebih jauh, maka produksi etanol dari pemanfaatan *V. amygdalina* dalam pembuatan etanol masih tergolong rendah. Dari penelitian terdahulu beberapa kayu tropis yang telah dipublikasikan, diantaranya *A. moluccana* (241 L/ton), *G. arborea* (239 L/ton), *A. cadamba* (233, L/ton), *A. altilis* (222 L/ton) dan *P. facataria* (220 L/ton) (Amirta dkk., 2016^b).

Dari penelitian terdahulu beberapa kayu tropis yang telah dipublikasikan, diantaranya *A. moluccana* (241 L/ton), *G. arborea* (239 L/ton), *A. cadamba* (233 L/ton), *A. altilis* (222 L/ton) dan *P. facataria* (220 L/ton) (Amirta dkk., 2016^b). [AC70]



Gambar 4.7 [AC71] Potensi Produksi Etanol dari Biomassa Kayu *V. amygdalina* dan Proses Sakaridikasi Enzimatis dan Perlakuan Awal Menggunakan Alkali

KESIMPULAN

1. Efektivitas perlakuan awal menggunakan NaOH terhadap proses delignifikasi pada kayu *V. amygdalina* dengan variasi konsentrasi mampu menghancurkan struktur lignin walaupun konsentrasi yang digunakan tergolong masih rendah.
2. Namun demikian, perlakuan awal alkali dengan konsentrasi NaOH yang rendah telah mampu secara efektif memberikan tingkat perolehan gula reduksi yang cukup tinggi yaitu sebesar 57,73%. Perolehan potensi etanol tertinggi didapatkan dari proses sakarifikasi yang berlangsung selama 36 jam
3. yaitu 186,95 ml/kg atau 186,98 L/ton dan terendah pada sakarifikasi waktu ke-24 yaitu 88,97 ml/kg atau 88,97 L/ton.[AC72]

DAFTAR PUSTAKA

- Amirta, R. 2018. Pelet kayu energi hijau masa depan. *Mulawarman University Press*. Samarinda.
- Amirta, R., Nafitri, S. I., Wulandari, R., Suwinarti, W., Candra, K.P., and Watanabe, T. 2016^a. Comparative characterization of Macaranga species collected from secondary forests in East Kalimantan for biorefinery of unutilized fast growing wood. *Biodiversitas : Journal of Biological Diversity*, 17(1), 116-123.
- Amirta, R., Mukhdlor, A., Mujiasih, D., Septia, E., Supriadi., and Susanto, D. 2016^b. Suitability and availability analysis of tropical forest wood species for ethanol production : a case study in East Kalimantan. *Biodiversitas : Journal of Biological diversity*, 17(2), 544-552.
- Gunam, I. B. W., Wartini, N. M., Anggraeni, A. A. M. D., Suparyana, P. M. 2011. Delignifikasi ampas tebu dengan larutan natrium hidrogen sebelum proses sakarifikasi secara enzimatik menggunakan enzim selulase kasar dari *Aspergillus niger* FNU 6018.
- Ghose, B and Ray, R.R. 2010. Saccharification of raw native starches by extracellular isoamylase of *Rhizopus Oryzae*. *Biotechnology*:9 (2) P 224-228.
- Haqiqi, M. T., Yuliansyah., Suwinarti, W., and Amirta, R. 2018. Response surface methodology to simplify calculation of wood energy potency from tropical short rotation coppice species. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*.
- Kim, T. H. 2013. Pretreatment of lignocellulosic biomass. In : Yang, S. T., El-Enshasy, H. A., Thongchul, N., Martin, Y., Bioprocessing Technologies in Integrated Biorefinery for Production of Biofuels, Biochemicals, and Biopolymers from Biomass. Wiley, New York, USA, pp. 91-109.
- Kumar, A., Singh, S., Rajulapati, V., and Goyal, A. 2020. Evaluation of pre-treatment methods for *Lantana camara* steam for enhanced enzymatic saccharification. *Biotech*, 10-37.
- Kuo, C.H., and Lee, C.K. 2009. Enhancement of enzymatic saccharification of cellulose by cellulose dissolution pre-treatments. *Carbohydrate Polymers* 77:41-46.
- Larasati, I. A., Argo, B. D., and Hawa, L. C. 2019. Proses delignifikasi kandungan lignoselulosa serbuk bambu betung dengan variasi NaOH dan tekanan. *Jurnal Keteknik Pertanian tropis dan Biosistem*, 7(3), 235-244.
- Mardina, P., Talalangi, A.I., Sitinjak, J.F.M., Nugroho, A., Fahrizal, M.R. 2013. Pengaruh proses delignifikasi pada produksi glukosa dari tongkol jagung dengan hidrolisis asam encer. *Konversi*, Vol. 2 No. 2.
- McKendry, P. 2002. Energy production from biomass (part 1) : overview of biomass. *Bioresource technology*, 83(1), 37-46.[AC73]
- Muryanto., Sudiyani, Y., and Abimanyu, H. 2016. Optimasi proses perlakuan awal NaOH tandan kosong kelapa sawit untuk menjadi bioetanol. *Jurnal Kimia Terapan Indonesia*, 18(1), 27-35.
- Panggabean, J.E., Dotulong, V., Montolalu, R. I., Damongilala, L., Harikedua, S. D., dan Makapedua, D.M. 2018. Ekstraksi karaginan rumput laut merah (*Kappaphycus alvarezii*) dengan perlakuan perendaman dalam larutan basa. *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan*, 6(3), 65-70.
- Putri, C. N., dan Utami, Budi. 2017. Pembuatan bioetanol dengan cara hidrolisis menggunakan kertas koran bekas serta pemurnian menggunakan agen pengering (MgSO₄, Na₂SO₄ dan CaCl₂). *Journal Cis-Trans (JC-T)*, 1(1) E-ISSN 2549-6573.
- Prasetyo, J., Kato, T., and Park, E. Y. 2010. Efficient cellulase-catalyzed saccharification of untreated paper sludge targeting for biorefinery. *Biomass and Bioenergy* 34, P 1906-1913.

- Retno, D. T., dan Nuri, W. 2011. Pembuatan Bioetanol dari Kulit Pisang. Jurusan Teknik Kimia FTI UPN “Veteran” Yogyakarta.
- Saha, K., Maharana, A., Sikdera, J., and Chakrabo, S. 2017. Continuous production of bioethanol from sugarcane bagasse and downstream purification using membrane integrated bioreactor. *Catalysis Today*, 331, 68-77.
- Sari, P. D., Puri, W. A., dan Hanum, D. 2018. Delignifikasi bonggol jagung dengan metode microwave alkali. *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian “AGRIKA”*, 12(2).
- Siregar, M. R., Hendrawan, Y., dan Nugroho, W. A. 2014. Pengaruh konsentrasi NaOH dan lama waktu pemanasan microwave dalam proses pretreatment terhadap kadar lignoselulosa *Chlorella vulgaris*. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 15(2), 129-138.[AC74]
- Sjöström, E. 1995. Kimia kayu dasar-dasar penggunaan. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- TAPPI, 1988. Alpha-, beta- and gamma cellulose in pulp and wood. Technical Association of the Pulp and Paper Industry, T 203 om-93.
- TAPPI, 1998. Acid-insoluble lignin in wood and pulp. Technical Association of the Pulp and Paper Industry, T 222 om-98.



Rudianto Amirta <ramirta@fahutan.unmul.ac.id>

Efektivitas perlakuan awal alkali dan hidrotermal terhadap proses delignifikasi, potensi gula reduksi dan produksi etanol teoritis dari kayu Vernonia amygdalina Delile

Rudianto Amirta <ramirta@fahutan.unmul.ac.id>
To: Karyati Karyati <karyati.hanapi@yahoo.com>

Wed, 13 July, 2022 at 3:12 PM

Yth Editor Jurnal Ulin,
Terlampir adalah naskah kami yang berjudul EFEKTIVITAS PERLAKUAN AWAL ALKALI DAN HIDROTERMAL TERHADAP PROSES DELIGNIFIKASI, POTENSI GULA REDUKSI DAN PRODUKSI ETANOL TEORITIS DARI KAYU Vernonia amygdalina Delile yang telah direvisi seperti yang disarankan oleh reviewer. Saya berharap hasil yang telah direvisi ini sudah memenuhi syarat dengan komentar yang disarankan dan dapat segera diterbitkan. Terima kasih.

Rudianto Amirta

ULIN: Jurnal Hutan Tropis
<http://e-journals.unmul.ac.id/index.php/UJHT>

EFEKTIVITAS PERLAKUAN AWAL ALKALI DAN HIDROTERMAL TERHADAP PROSES DELIGNIFIKASI, POTENSI GULA REDUKSI DAN PRODUKSI ETANOL TEORITIS DARI KAYU SAMBUNG NYAWA (*Vernonia amygdalina* Delile)

ABSTRACT

Vernonia amygdalina is a shrub species that is potentially used as an energy crop through a short rotation coppice (SRC) system since this species is able to generate more than a single stem after the pruning process. This technique is very popular for providing sustainable feedstock for energy production. Therefore, due to its characteristics, *V. amygdalina* receives great attention as one of the energy crops for the application in energy. Herein, this study aims to evaluate the suitability of the *V. amygdalina* woody biomass for ethanol production. The woody biomass was first pretreated by autoclave under various concentrations of NaOH (0, 1, 2, and 3% (w/v)) and reaction times (15, 30, 45, and 60 minutes). The pretreated wood sample was then hydrolyzed using a commercial cellulase enzyme to produce glucose monomers. The hydrolysis time at 12, 24, 36, and 48 hours was analyzed. The results showed that the addition of 3% sodium hydroxide at a reaction time of 15 minutes and a hydrolysis time of 36 hours was the best concentration to provide the highest ethanol potency (186.98 L/ton woody biomass). Finally, this study suggests that *V. amygdalina* will be a promising feedstock for ethanol production.

Key words: Alkaline Pretreatment, Bioethanol, Enzymatic Saccharification, *V. amygdalina*

ABSTRAK

Vernonia amygdalina merupakan salah satu jenis tanaman *Short Rotation Coppice* (SRC) atau trubusan yang secara alami dapat melakukan proses regenerasi setelah melalui proses pemangkasan. Selain itu juga sebagai bahan baku penyedia biomassa yang saat ini banyak digunakan dalam memproduksi energi di dunia. Oleh karena itu, *V. amygdalina* memiliki potensi pembangkitan energi yang besar dan memadai untuk digunakan salah satunya adalah sebagai bahan baku untuk produksi bioetanol. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas perlakuan awal yang dilakukan dengan menggunakan konsentrasi alkali dan waktu reaksi yang berbeda terhadap proses sakarifikasi dan gula tereduksi yang dihasilkan beserta potensi teoritis dari etanol yang diperoleh. Biomassa kayu terlebih dahulu diolah dengan autoklaf pada berbagai konsentrasi NaOH (0, 1, 2, dan 3% (g/L)) dan waktu reaksi (15, 30, 45, dan 60 menit). Sampel kayu yang telah diolah kemudian dihidrolisis menggunakan enzim selulase komersial untuk menghasilkan monomer glukosa. Waktu hidrolisis pada 12, 24, 36, dan 48 jam dianalisis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan NaOH 3% pada waktu reaksi 15 menit dan waktu hidrolisis 36 jam merupakan konsentrasi terbaik untuk memberikan potensi etanol tertinggi (186,98 L/ton biomassa kayu). Akhirnya, penelitian ini menunjukkan bahwa *V. amygdalina* akan menjadi bahan baku yang menjanjikan untuk produksi etanol.

Kata kunci : Bioetanol, Perlakuan Awal Alkali, Sakarifikasi Enzimatik, *V. amygdalina*

PENDAHULUAN

Energi merupakan salah satu hal yang sangat penting di dunia. Banyak negara saling bersaing untuk mendapatkan atau mempertahankan sumber-sumber energi tersebut. Saat ini sumber energi utama umat manusia diperoleh dari bahan bakar fosil dan penggunaan bahan bakar fosil saat ini sangat besar. Hal ini tidak dapat dipungkiri karena penggunaan energi dunia masih berpusat pada minyak bumi. Selain itu peningkatan harga minyak bumi akan memberikan dampak yang besar bagi pembangunan suatu negara salah satunya ialah negara Indonesia. Permasalahannya, sumber energi ini merupakan sumber energi tak terbarukan yang suatu saat akan habis jika terus-menerus dipakai.

Negara-negara berkembang saat ini salah satunya negara Indonesia sedang ramai mengembangkan energi terbarukan dengan target yang cukup ambisius. Keadaan inilah yang menuntut kita untuk mengeksplorasi

sumber daya energi terbarukan yang meliputi air, biomassa, angin dan panas bumi. Di antara pilihan tersebut, bahan bakar berbasis biomassa yaitu biofuel salah satunya ialah bioetanol (Saha dkk., 2017). Biotanol sangat berpotensi untuk menggantikan bensin karena memiliki beberapa keuntungan. Beberapa bahan dapat diolah menjadi bioetanol, salah satunya adalah biomassa lignoselulosa.

Indonesia merupakan negara dengan luas hutan alam terbesar ke-3 di dunia memiliki kawasan hutan khususnya di Kalimantan Timur diketahui memiliki ketersediaan cadangan biomassa berlignoselulosa yang sangat berlimpah dan beragam jenis dari tumbuhan berkayu yang memiliki kemampuan adaptasi dan kecepatan pertumbuhan yang tinggi (*pioneer/fast growing and lesser known species*) (Amirta dkk., 2016^a). Salah satu jenis bahan baku penyediaan biomassa yang saat ini banyak digunakan yaitu *Short Rotation Coppice* (SRC) yang memiliki siklus rotasi yang lebih pendek dan kepadatan penanaman yang lebih tinggi memungkinkan perolehan hasil panen (produktivitas) biomassa yang lebih tinggi per satuan luas lahan (Amirta, 2018; Haqiqi, dkk. 2018). Salah satu tanaman jenis ini ialah *Vernonia amygdalina*.

Berbagai sumber bahan lignoselulosa perlu dilakukan proses perlakuan awal lebih dahulu untuk mempermudah proses hidrolisis. Proses perlakuan awal akan membuat selulosa mudah ditembus oleh enzim selulolitik sehingga dapat mengurangi penggunaan enzim serta menekan biaya (Sari dkk., 2018). Proses perlakuan awal menggunakan metode hidrotermal dapat meningkatkan produk gula tereduksi hasil hidrolisis yang akan dikonversi menjadi bioetanol melalui proses enzimatik (Ninomiya dkk., 2013). Perlakuan awal secara alkali bertujuan untuk mengurangi kandungan lignin dalam lignoselulosa (delignifikasi). Proses kimia menggunakan senyawa basa kuat merupakan metode delignifikasi yang paling umum digunakan, karena memiliki daya degradasi terhadap lignin yang kuat dan biaya yang rendah. Kelemahannya adalah terbentuknya garam saat proses, namun dapat diatasi dengan cara pencucian menggunakan air bersih. Senyawa basa kuat yang pada umumnya digunakan untuk delignifikasi adalah Natrium hidroksida (NaOH) dengan konsentrasi yang bervariasi pada suhu rendah dengan waktu delignifikasi yang lama (1 jam) (Muryanto dkk., 2016).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas perlakuan awal yang dilakukan dengan menggunakan konsentrasi alkali dan waktu reaksi yang berbeda terhadap proses sakarifikasi dan gula tereduksi yang dihasilkan beserta potensi teoritis dari etanol yang diperoleh.

METODE

Lokasi Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Kimia Hasil Hutan dan Energi Terbarukan, Fakultas Kehutanan, Universitas Mulawarman, Samarinda.

Prosedur Penelitian

1. Persiapan Bahan Baku

Sampel kayu yang telah dipotong kemudian dipotong kecil-kecil menggunakan parang. Selanjutnya sampel berbentuk chip dikonversi menjadi serbuk dengan menggunakan alat *hammer mill*. Proses berikutnya dilakukan pengayakan dengan ukuran 40 mesh (sampel untuk perlakuan awal dan pengujian sifat kimia). Sampel yang telah di ayak kemudian disimpan di ruang konstan dan dimasukkan ke dalam plastik klip. Untuk persiapan bahan baku selanjutnya, dilakukan pengukuran faktor kelembaban (*Moisture Factor*) dan kandungan air (*Water Content*) dengan menggunakan metode standar TAPPI.

$$MF = [B/A]$$

Keterangan :

MF = Faktor Kelembaban

A = Berat awal sampel (g)

B = Berat akhir sampel (g)

$$WC (\%) = [(A-B)/A] \times 100$$

Keterangan :

- WC = Kandungan air (%)
A = Berat awal sampel (g)
B = Berat akhir sampel (g)

2. Perlakuan Awal

Proses perlakuan awal dalam penelitian ini menggunakan larutan natrium hidroksida (NaOH). Pada kisaran konsentrasi masing-masing 10; 20 dan 30 g/l atau 1, 2 dan 3% serta temperatur yang digunakan dan waktu proses adalah 121°C selama 15, 30, 45 dan 60 menit dengan rasio antar substrat kayu dan larutan pemasak sebesar 1:10 (w/v).

3. Analisis Komponen Kimia

Analisis komponen kimia untuk mengetahui kandungan kimia dalam sampel yang terdiri dari kandungan lignin, holoselulosa dan α -selulosa. Hal ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan komponen kimia sebelum dan sesudah perlakuan awal menggunakan NaOH sebagai katalis. Pengukuran ini menggunakan metode standar TAPPI.

4. Sakarifikasi (Hidrolisis Enzimatis)

Serbuk dari proses perlakuan awal terhadap kayu *V. amygdalina* yang digunakan sebagai substrat dalam tahapan hidrolisis guna memecah komponen selulosa menjadi monomer gula sederhana. Proses hidrolisis bertujuan untuk memecah ikatan lignin, menghilangkan kandungan lignin dan hemiselulosa, merusak struktur kristal dari selulosa (Sun and Cheng, 2002). Sebelum proses sakarifikasi sampel pulp terlebih dahulu dikering udarakan pada temperatur ruang (25°C). Kemudian 0,2 gram (OD) pulp dimasukkan ke dalam tabung (*tube*) dan ditambahkan 10 ml larutan substrat enzim yang mengandung *buffer tartrate* 0,05 M pH 4,5, enzim selulase (40 FPU/g substrat) dan 0,02% Sodium Azide ke dalam substrat pada temperatur 45°C. Hidrolisis enzim ini dilakukan menggunakan *rotary shaker* dengan kecepatan 140 rpm selama 96 jam. Dilakukan 4 kali pengambilan sampel tiap 12 jam, 24 jam 36 jam dan 48 jam. Kemudian, sampel di *centrifuge* pada kecepatan putaran 6200 rpm selama 5 menit untuk dipisahkan antara filtrat dan *supernatant*-nya. *Supernatant* digunakan untuk menentukan gula tereduksi melalui metode Somogy-Nelson yang dimodifikasi (Amirta *dkk.*, 2016^b). Enzim komersil selulase yang digunakan dalam penelitian ini adalah enzim meiselase yang diperoleh dari Meiji, Kyoto, Jepang.

5. Perhitungan Potensi Produksi Etanol Secara Teoritis

Pengolahan dan perhitungan produksi etanol secara teoritis didasarkan pada potensi jumlah etanol yang dihasilkan dari gula hexose yang terkandung di dalam biomassa dan direpresentasikan oleh kandungan selulosa yang telah disakarifikasi (HEXTEL) sepenuhnya atau 100% terfermentasi menjadi etanol. Jumlah gula *Hexosa* (HEXTEL) dalam bahan lignoselulosa diperoleh dari sakarifikasi enzimatik fraksi pulp yang larut. Perhitungan hasil etanol (ETOH BIO) dihitung berdasarkan berat biomassa asli dengan rumus sebagai berikut:

HEXTEL	=	HEX × a	(mg/kg)
ETOH BIO	=	HEXTEL × Ye.h	(ml/kg)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Banyaknya komponen kayu yang tidak terdegradasi setelah proses pulping ini dinyatakan sebagai rendemen. Nilai rendemen serta kenampakan fisik dari pulp kayu *V. amygdalina* setelah perlakuan awal menggunakan NaOH dengan konsentrasi serta waktu pemasakan yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 4.1.

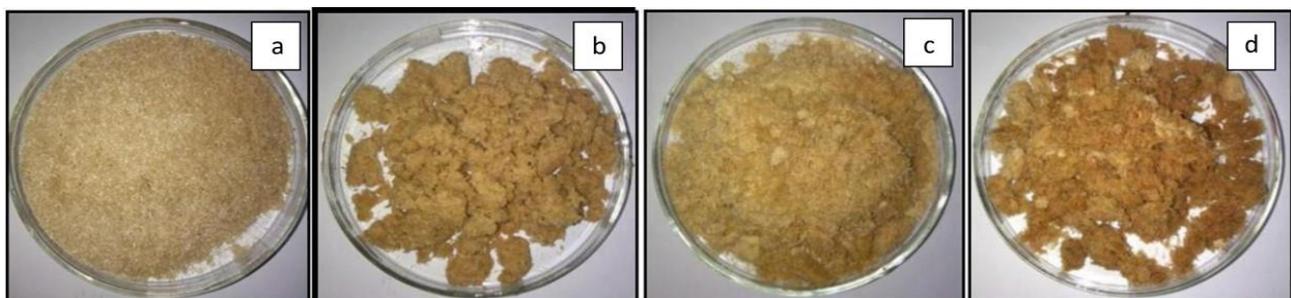
Berdasarkan Tabel 4.1 dapat dicermati bahwa dengan bertambahnya konsentrasi NaOH terjadi penurunan terhadap rendemen pulp yang dihasilkan. Menurut Kumar dkk., (2020) tingginya nilai rendemen yang dihasilkan dikarenakan katalis yang digunakan tidak mampu memecah struktur karbohidrat kompleks secara efisien serta menandakan bahwa struktur lignoselulosa tidak terurai secara sempurna, sehingga mempengaruhi kerja enzim dalam menghidrolisis selulosa menjadi glukosa pada proses sakarifikasi. Sedangkan rendahnya nilai rendemen yang didapat dipengaruhi oleh waktu pemasakan dan konsentrasi alkali (Panggabean dkk., 2018). Nurmiyah dkk., (2013) juga menyatakan bahwa penurunan nilai rendemen disebabkan oleh peningkatan konsentrasi NaOH dan interaksi temperatur atau suhu yang digunakan.

Selain rendemen pulp, parameter lain yang dicermati adalah perubahan pada sisa fraksi pulp (tekstur) dan warna pulp setelah perlakuan awal. Pada variasi konsentrasi perlakuan awal menghasilkan pulp yang berserat kasar (*hard fiber*) kecuali pada konsentrasi NaOH 3% yang menghasilkan pulp yang berserat halus (*soft fiber*).

Sifat fisik yang diperoleh dari hasil pemasakan dengan proses alkali yaitu berupa sisa fraksi pulp dan warna pada setiap sampel dengan masing-masing konsentrasi alkali yang berbeda (Gambar 4.1). Sampel sebelum perlakuan berwarna coklat muda, sedangkan sampel dengan variasi konsentrasi NaOH berwarna coklat kekuningan sampai coklat tua kemerahan. Hal ini mungkin terjadi karena kandungan lignin pada sampel terdegradasi atau larut dalam lindi hitam pada saat proses perlakuan awal, dengan kata lain pengaruh konsentrasi alkali dan waktu pemasakan dapat mempengaruhi laju degradasi lignin yang terjadi selama proses pemasakan berlangsung. Hal ini juga dinyatakan oleh Muryanto dkk., (2016) bahwa semakin lama waktu proses perlakuan awal, maka delignifikasi juga semakin tinggi. Pembentukan sisa fraksi pulp tersebut juga tergantung pada konsentrasi alkali dan juga jenis biomassa yang digunakan (Amirta, 2016b).

Tabel 4.1 Persentase Rendemen Pulp Kayu *V.amygdalina* Setelah Perlakuan Awal

Rendemen (%)			
Waktu (menit)	1% NaOH	2% NaOH	3% NaOH
15	70,71 ± 0,64	66,46 ± 0,28	64,30 ± 0,41
30	67,04 ± 0,06	62,69 ± 0,52	57,89 ± 0,72
45	66,89 ± 0,80	59,66 ± 0,65	57,19 ± 0,16
60	64,18 ± 0,66	57,87± 0.62	55,46 ± 0,32



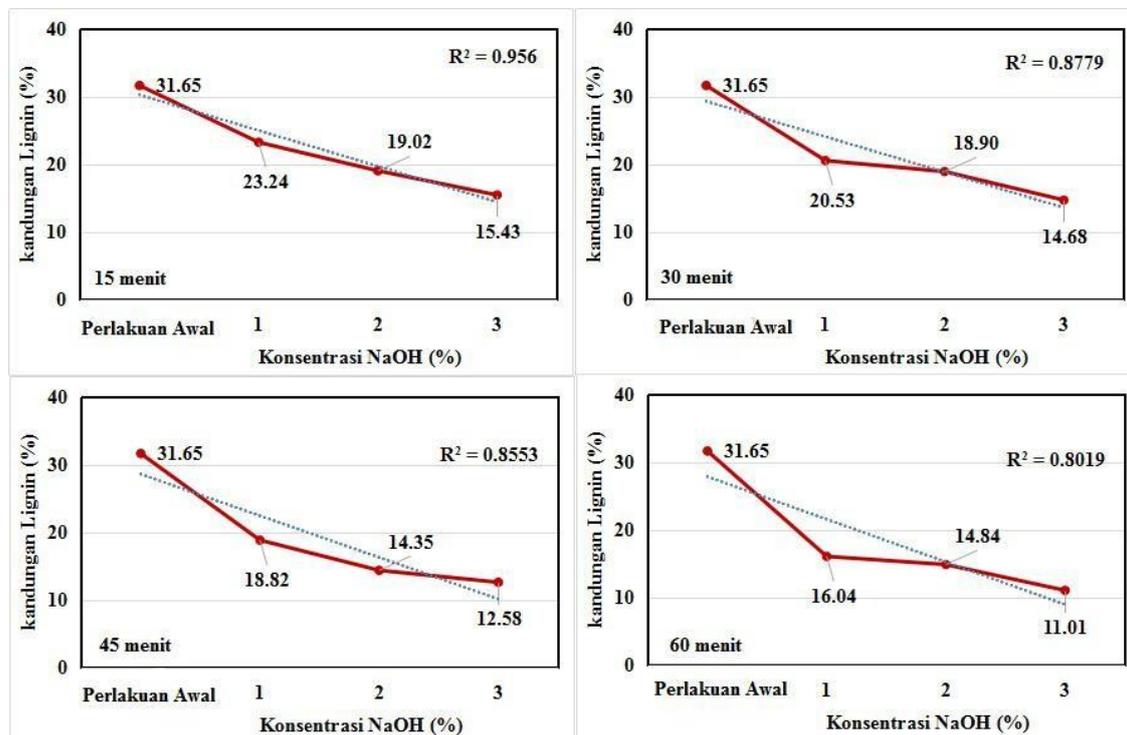
Gambar 4.1 Tekstur dan Warna Pulp *V. amygdalina* pada Konsentrasi yang Berbeda (a) Sebelum Perlakuan NaOH (b) NaOH 1% (c) NaOH 2% (d) NaOH 3% dengan suhu 121°C.

Adapun nilai persentase lignin setelah perlakuan awal alkali yang telah dilakukan pengujian dapat dilihat pada gambar 4.2. Berdasarkan gambar tersebut, menunjukkan hasil pengujian kandungan lignin setelah perlakuan awal mengalami penurunan seiring dengan meningkatnya konsentrasi alkali. Adapun kandungan lignin sebelum perlakuan yaitu 31,65% menurun hingga 15,43% - 11,01% setelah perlakuan awal. Berdasarkan teori, bahwa konsentrasi alkali sangat berpengaruh terhadap efektivitas penurunan lignin, ini menunjukkan bahwa terdapat kecenderungan menurunnya kadar lignin dan kandungan polisakarida setelah diberi perlakuan alkali. Hal ini sejalan dengan pendapat Larasati dkk., (2019) bahwa kandungan lignin akan semakin berkurang seiring bertambahnya konsentrasi alkali.

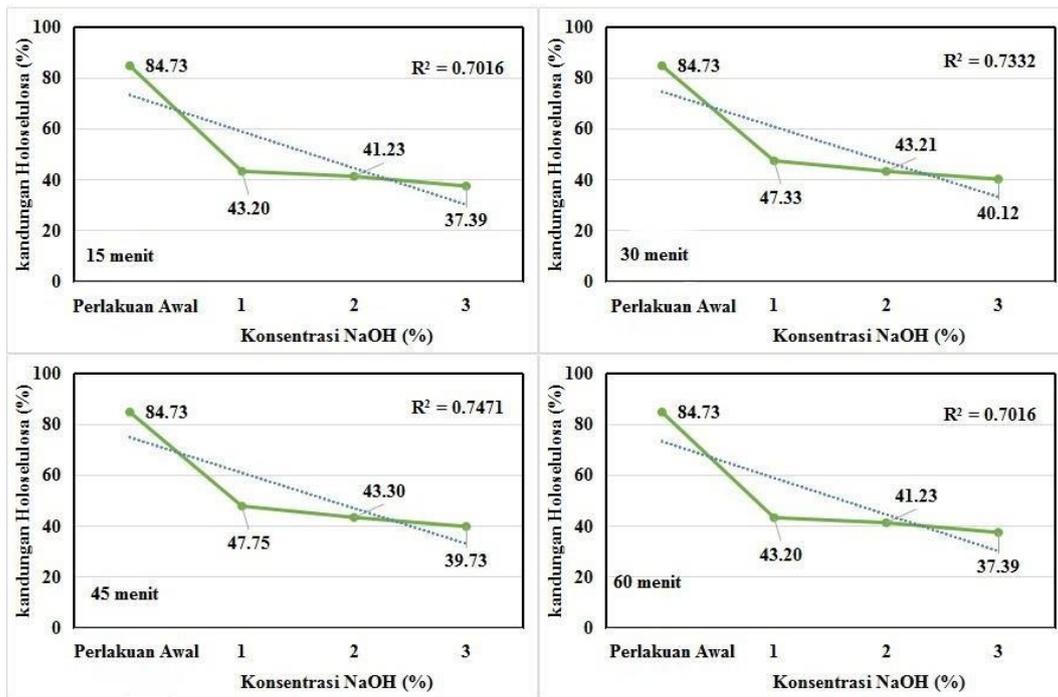
Pada Gambar 4.3 menunjukkan penurunan kandungan holoselulosa seiring dengan peningkatan konsentrasi dan waktu reaksi. Dari hasil analisis, holoselulosa setelah perlakuan awal menurun menjadi

40,12% - 37,39% yang sebelumnya kandungan holoselulosa sebelum perlakuan awal ialah 84,73%. Berdasarkan data tersebut diperkirakan bahwa semakin tinggi penggunaan konsentrasi akan menurunkan tingkat polimerisasi selulosa sehingga dapat meningkatkan kinerja enzim pada proses sakarifikasi. Adapun penurunan kandungan tersebut mengindikasikan bahwa perlakuan delignifikasi yang diterapkan pada penelitian ini, tidak hanya menyebabkan degradasi lignin, tetapi depolimerisasi hemiselulosa juga (Saha dkk., 2017).

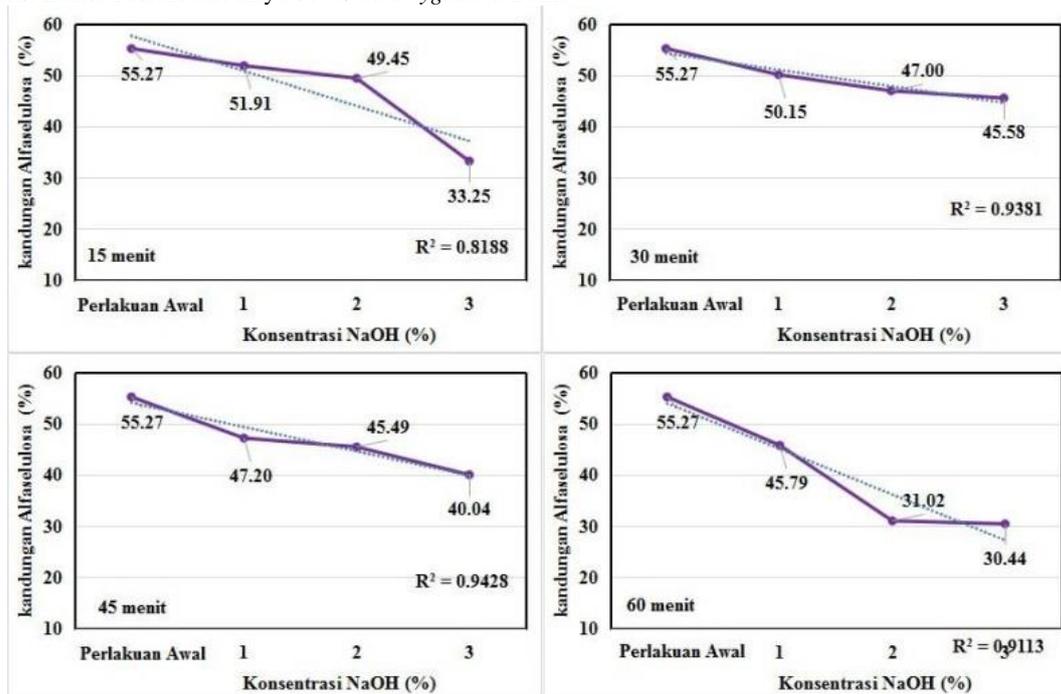
Berdasarkan Gambar 4.4 menunjukkan bahwa terjadi penurunan α -Selulosa seiring dengan penambahan konsentrasi dan waktu reaksi pemasakan. Nilai dari kandungan α -Selulosa sebelum perlakuan yang diperoleh batang sambung nyawa adalah sebesar 55,27% dan selanjutnya dilakukan analisis kandungan α -Selulosa dengan menggunakan konsentrasi NaOH 1, 2 dan 3%. Nilai yang diperoleh setelah dilakukan perlakuan awal berkisar antara 45,58% - 30,44%. Berdasarkan gambar diatas terlihat bahwa dengan bertambahnya konsentrasi NaOH tidak begitu berpengaruh terhadap kandungan α -Selulosa. Menurut Sjöström (1995) menyatakan bahwa adanya perbedaan kandungan α -Selulosa tersebut sebagian besar disebabkan oleh banyak sedikitnya kristalin dalam selulosa. Jenis kayu yang memiliki kandungan α - Selulosa tinggi artinya memiliki kristalin yang banyak pada selulosa yang terkandung di dalam kayu. Terjadinya penurunan kandungan selulosa ini dapat disebabkan adanya struktur selulosa yang teratur terbuka dan molekul selulosa terdispersi secara bebas dalam solven (NaOH).



Gambar 4.2 Kandungan Lignin Setelah Perlakuan Awal



Gambar 4.3 Kandungan Holoselulosa Setelah Perlakuan Awal



Gambar 4.4 Kandungan Alfaselulosa Setelah Perlakuan Awal

Tabel 4.2 Persentase Glukosa pada Kayu *V. amygdalina*

Waktu Reaksi (Menit)	Konsentrasi NaOH (%)	Waktu Sakarifikasi (Jam)			
		12	24	36	48
15	1	21,50	18,10	24,95	23,65
	2	21,75	19,80	26,20	25,35
	3	25,35	20,70	27,90	26,80
30	1	13,00	21,50	24,90	13,20
	2	15,55	23,85	26,40	13,20
	3	16,60	24,95	27,70	30,05
45	1	30,50	20,90	24,90	27,05
	2	31,50	22,80	27,50	27,90
	3	33,00	34,30	31,75	29,20
60	1	24,10	27,70	24,10	30,50
	2	24,70	29,00	27,70	33,00
	3	27,90	30,07	33,90	37,90

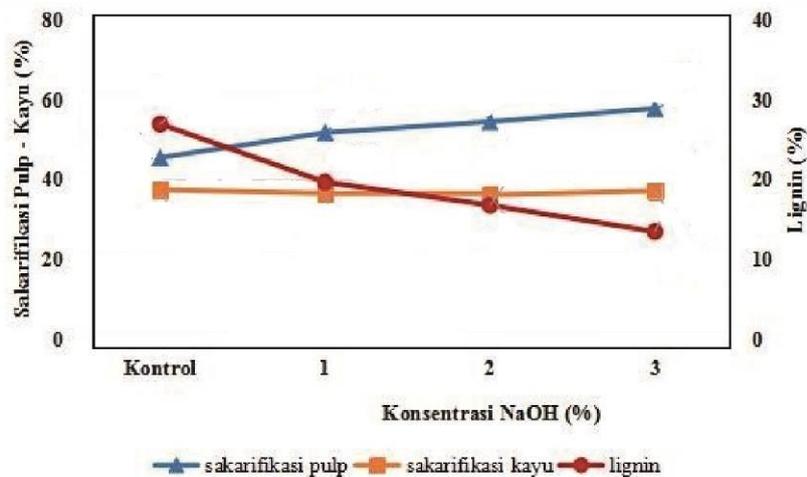
Berdasarkan Tabel 4.2 hasil glukosa tertinggi didapatkan dari perlakuan awal pada waktu reaksi 60 menit yaitu 37,90 %, sedangkan yang terendah yaitu 13,00 % pada waktu reaksi 30 menit. Persentase gula yang didapatkan secara umum meningkat seiring dengan meningkatnya waktu sakarifikasi. Namun, terdapat beberapa waktu sakarifikasi yang mengalami penurunan persentase glukosa. Hal ini dikarenakan jumlah enzim yang semakin terbatas (Ghose dan Ray, 2010).

Biomassa lignoselulosa terdiri dari karbohidrat (selulosa dan hemiselulosa), lignin dan komponen lainnya (protein, lipid dan zat organik) (Kim, 2013). Keberadaan lignin sangat menghambat proses degradasi selulosa dan hemiselulosa menjadi glukosa. Oleh karena itu, lignin harus dihilangkan baik secara kimia maupun enzimatik yang merupakan proses delignifikasi dan setelah itu dapat dilakukan proses fermentasi untuk produksi bioetanol.

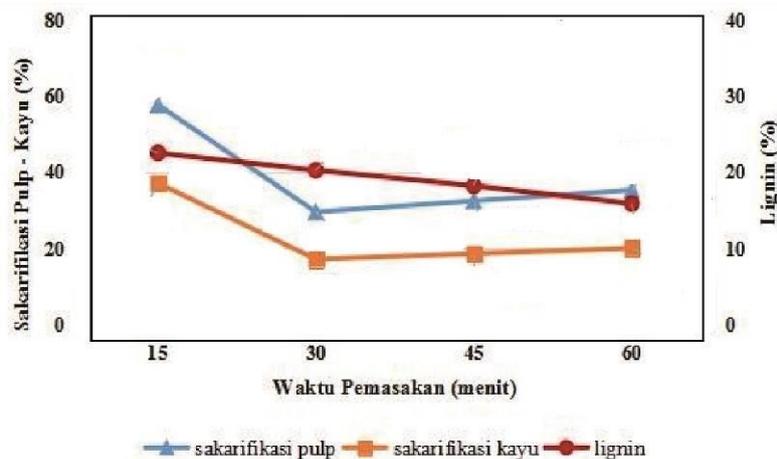
Proses hidrolisis pada batang *V. amygdalina* ini berfungsi untuk memecah rantai panjang polimer karbohidrat yaitu holoselulosa (hemiselulosa dan selulosa) menjadi monomer-monomer gula reduksi. Sebelum melakukan proses sakarifikasi secara enzimatik, aktifitas enzim diketahui sebesar 40 FPU. Pada proses sakarifikasi menggunakan temperatur optimum 45°C dan menggunakan buffer asam dengan pH 4,5

agar enzim yang digunakan dapat bekerja dengan optimum selama 48 jam. Hasil proses sakarifikasi dapat dilihat pada Gambar 4.5, 4.6 dan 4.7.

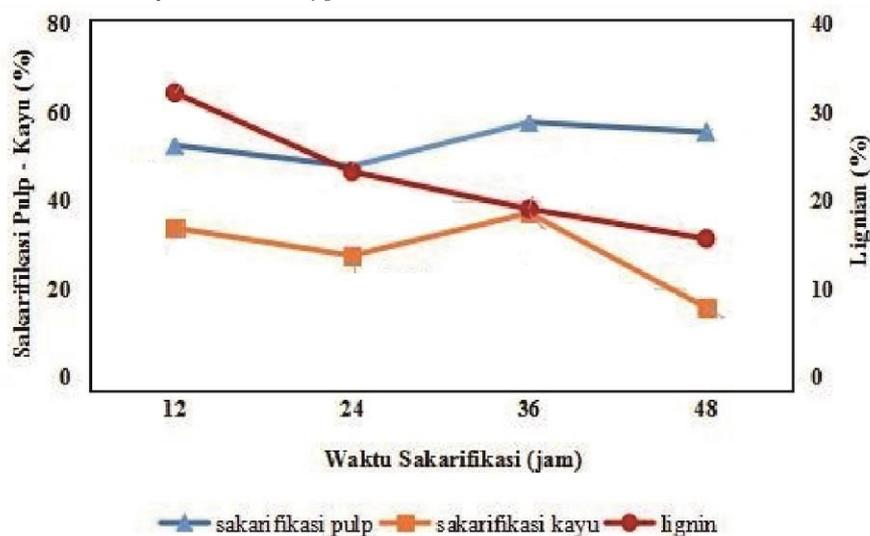
Pada variasi perlakuan awal menggunakan konsentrasi NaOH ini dihasilkan persentase sakarifikasi yang tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lain sebelumnya. Perolehan hasil sakarifikasi tertinggi yaitu 57,73% dari basis pulp dan 37,42% dari basis kayu. Jika dicermati terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi proses sakarifikasi, salah satunya persentase kandungan lignin yang dimana penurunan kandungan lignin berdampak baik pada proses hidrolisis dan mempermudah enzim dalam memecah struktur polisakarida menjadi monomer gula sehingga nilai sakarifikasi meningkat. Pada perlakuan awal ini juga memberikan dampak negatif yaitu penurunan perolehan persentase holoselulosa dan α -selulosa namun tidak dalam jumlah yang besar. Sehingga, adanya penurunan kandungan holoselulosa dan α -selulosa saat konsentrasi ditingkatkan ini tidak berpengaruh secara signifikan pada persentase hasil rendemen gula pereduksi atau persentase sakarifikasi yang dihasilkan, yang mana dihasilkan persentase hasil sakarifikasi yang meningkat, sebagai contoh dapat dilihat pada Gambar 4.5. Hal ini dapat terjadi diduga disebabkan oleh aksesibilitas enzim selulase yang menjadi lebih baik terhadap α -selulosa pada perlakuan awal dengan konsentrasi tinggi dikarenakan oleh berkurangnya kadar lignin. Selain itu proses degradasi oleh enzim ini diduga juga menyebabkan selulosa yang tersisa menjadi lebih pendek (derajat polimerisasinya rendah), sehingga lebih mudah dihidrolisis oleh enzim. Derajat polimerisasi yang rendah akan menyebabkan luas permukaan selulosa 68 menjadi lebih besar sehingga aksesibilitas enzim terhadap selulosa menjadi lebih tinggi dan dapat meningkatkan rendemen proses hidrolisis (Kuo dan Lee, 2009).



Gambar 4.5 Efektivitas Sakarifikasi Berdasarkan Konsentrasi terhadap Penurunan Kandungan Lignin dari Kayu *V. amygdalina* Menggunakan Perlakuan Awal Alkali



Gambar 4.6 Efektivitas Sakarifikasi Berdasarkan Waktu Pemasakan terhadap Penurunan Kandungan Lignin dari Kayu *V. amygdalina* Menggunakan Perlakuan Awal Alkali



Gambar 4.7 Efektivitas Sakarifikasi Berdasarkan Waktu Sakarifikasi terhadap Penurunan Kandungan Lignin dari Kayu *V. amygdalina* Menggunakan Perlakuan Awal Alkali

Berdasarkan Gambar 4.6 perlakuan awal yang dilakukan tidak terlepas dari peran berbagai faktor diantaranya yaitu suhu, konsentrasi dan waktu reaksi. Hal ini dibuktikan dengan penurunan kandungan lignin, dengan belum terputusnya ikatan lignoselulosa secara sempurna akan menyebabkan rendahnya hasil gula reduksi yang didapatkan pada proses hidrolisis. Seperti pada gambar diatas, perolehan hasil sakarifikasi pulp tertinggi yaitu 57,73% pada waktu pemasakan 15 menit dan pada waktu pemasakan 30 menit mengalami penurunan yang signifikan yaitu 29, 51% kemudian pada waktu pemasakan 45 dan 60 menit mengalami peningkatan sakarifikasi yaitu 32,44 dan 35,28% secara berturut. Hal ini juga sama terhadap hasil sakarifikasi berbasis kayu dimana mengalami turun naik terhadap nilai yang dihasilkan. Pada waktu pemasakan 15 menit diperoleh hasil sakarifikasi yaitu 37,12% dan pada waktu pemasakan 30 menit mengalami penurunan yang signifikan pula yaitu 17,08% kemudian waktu pemasakan 45 dan 60 menit mengalami peningkatan sakarifikasi yaitu 18,55 dan 20,00% secara berturut.

Apabila kita cermati bersama, berdasarkan waktu reaksi persentase sakarifikasi berbasis pulp maupun berbasis kayu mengalami penurunan pada waktu 30 menit dan mengalami peningkatan persentase sakarifikasi pada waktu 45 dan 60 menit walaupun nilainya tidak terlalu tinggi. Menurut Prasetyo dkk., (2010) hal ini disebabkan karena kemungkinan gula yang dihasilkan bisa berubah menjadi produk lain dikarenakan enzim selulase yang digunakan dalam proses sakarifikasi belum murni, sehingga dapat terjadi reaksi lain yang tidak diketahui.

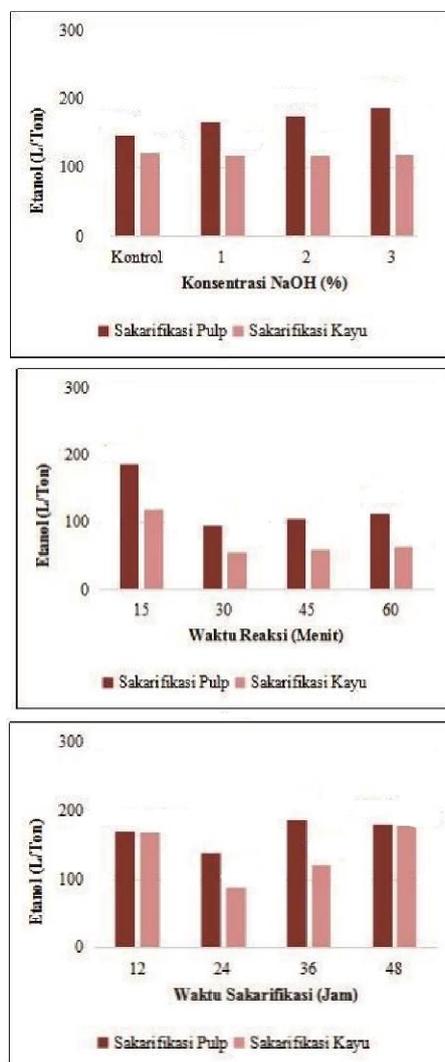
Berdasarkan Gambar 4.7 menunjukkan hasil yang sama pada Gambar 4.6 dimana hasil sakarifikasi yang didapatkan mengalami *trendline* yang tidak stabil juga. Pada waktu ke-12 jam persentase sakarifikasi pulp yaitu 52,41% dan mengalami penurunan pada waktu ke-24 jam yaitu 42,72% kemudian mengalami peningkatan persentase sakarifikasi pada waktu ke-36 jam yaitu 57,69% dan mengalami penurunan lagi waktu ke-48 jam yaitu 55,49%. Berdasarkan waktu sakarifikasi hasil persentase sakarifikasi berbasis pulp tertinggi diperoleh pada waktu ke-36 jam yaitu 57,69% dan persentase sakarifikasi berbasis kayu diperoleh 37,10% dengan waktu sakarifikasi yang sama. Hal ini disebabkan oleh menurunnya stabilitas dan ketahanan enzim yang digunakan pada proses sakarifikasi (Putri dkk., 2013). Namun, kandungan lignin dari gambar diatas mengalami penurunan dari 32,19% menjadi 15,65%. Hal ini erat kaitannya dengan penggunaan larutan NaOH yang dapat memutuskan ikatan hidrogen inter-molekul selulosa, sehingga penyerapan air lebih banyak dan mempermudah enzim selulase dalam menghidrolisis selulosa menjadi gula-gula sederhana (Gunam dkk., 2011). Mardina dkk., (2013) juga menyatakan bahwa persentase pengurangan kandungan lignin semakin besar dengan meningkatnya konsentrasi NaOH yang digunakan.

Hasil yang diperoleh tersebut dilakukan perhitungan potensi etanol oleh Premjet dkk., (2013) yang ditunjukkan pada gambar diagram (Gambar 4.8), berdasarkan perhitungan potensi produksi etanol secara

teoritis, hasil potensi produksi etanol yang diperoleh ialah persentase etanol pada perlakuan awal menggunakan NaOH berkisar antara 147,18 - 186,98 L/ton, pada pengaruh waktu reaksi berkisar antara 95,58 - 186,98 L/ton dan pengaruh waktu sakarifikasi berkisar antara 138,37 - 186,85 L/ton. Hasil perhitungan potensi produksi etanol tertinggi berasal dari sakarifikasi dengan perlakuan awal menggunakan konsentrasi NaOH 3% pada temperatur 121°C selama 15 menit dengan waktu sakarifikasi ke-36 jam. Hasil etanol tertinggi adalah 186,98 ml/kg atau 186,98 L/ton pada basis pulp sedangkan pada basis kayu yaitu 178,40 ml/kg atau 178,40 L/ton.

Pada variasi waktu pemasakan terjadi penurunan kadar etanol yang signifikan, hal ini disebabkan gula yang terdapat pada substrat terkonversi menjadi bioetanol dan sebagian digunakan sebagai sumber karbon untuk proses pertumbuhan mikroorganisme (Retno dan Nuri, 2011). Produksi bioetanol sangat dipengaruhi oleh substrat yang digunakan. Semakin tinggi kadar gula akan diperoleh kadar bioethanol yang semakin tinggi, akan tetapi apabila kadar gula terlalu pekat mengakibatkan proses fermentasi lambat. Jika ditinjau lebih jauh, maka produksi etanol dari pemanfaatan *V. amygdalina* dalam pembuatan etanol masih tergolong rendah. Dari penelitian terdahulu beberapa kayu tropis yang telah dipublikasikan, diantaranya *A. moluccana* (241 L/ton), *G. arborea* (239 L/ton), *A. cadamba* (233, L/ton), *A. altilis* (222 L/ton) dan *P. facataria* (220 L/ton) (Amirta dkk., 2016^b).

Dari penelitian terdahulu beberapa kayu tropis yang telah dipublikasikan, diantaranya *A. moluccana* (241 L/ton), *G. arborea* (239 L/ton), *A. cadamba* (233 L/ton), *A. altilis* (222 L/ton) dan *P. facataria* (220 L/ton) (Amirta dkk., 2016^b).



Gambar 4.8 Potensi Produksi Etanol dari Biomassa Kayu *V. amygdalina* dan Proses Sakarifikasi Enzimatis dan Perlakuan Awal Menggunakan Alkali

KESIMPULAN

1. Efektivitas perlakuan awal menggunakan NaOH terhadap proses delignifikasi pada kayu *V. amygdalina* dengan variasi konsentrasi mampu menghancurkan struktur lignin walaupun konsentrasi yang digunakan tergolong masih rendah.
2. Namun demikian, perlakuan awal alkali dengan konsentrasi NaOH yang rendah telah mampu secara efektif memberikan tingkat perolehan gula reduksi yang cukup tinggi yaitu sebesar 57,73%.
3. Perolehan potensi etanol tertinggi didapatkan dari proses sakarifikasi yang berlangsung selama 36 jam yaitu 186,95 ml/kg atau 186,98 L/ton dan terendah pada sakarifikasi waktu ke-24 yaitu 88,97 ml/kg atau 88,97 L/ton.

DAFTAR PUSTAKA

- Amirta, R. 2018. Pelet kayu energi hijau masa depan. *Mulawarman University Press*. Samarinda.
- Amirta, R., Nafitri, S. I., Wulandari, R., Suwinarti, W., Candra, K.P., and Watanabe, T. 2016^a. Comparative characterization of Macaranga species collected from secondary forests in East Kalimantan for biorefinery of unutilized fast growing wood. *Biodiversitas : Journal of Biological Diversity*, 17(1), 116-123.
- Amirta, R., Mukhdlor, A., Mujiasih, D., Septia, E., Supriadi., and Susanto, D. 2016^b. Suitability and availability analysis of tropical forest wood species for ethanol production : a case study in East Kalimantan. *Biodiversitas : Journal of Biological diversity*, 17(2), 544-552.
- Gunam, I. B. W., Wartini, N. M., Anggraeni, A. A. M. D., Suparyana, P. M. 2011. Delignifikasi ampas tebu dengan larutan natrium hidrogen sebelum proses sakarifikasi secara enzimatik menggunakan enzim selulase kasar dari *Aspergillus niger* FNU 6018.
- Ghose, B and Ray, R.R. 2010. Saccharification of raw native starches by extracellular isoamylase of *Rhizopus Oryzae*. *Biotechnology*:9 (2) P 224-228.
- Haqiqi, M. T., Yuliansyah., Suwinarti, W., and Amirta, R. 2018. Response surface methodology to simplify calculation of wood energy potency from tropical short rotation coppice species. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science.
- Kim, T. H. 2013. Pretreatment of lignocellulosic biomass. In : Yang, S. T., El-Enshasy, H. A., Thongchul, N., Martin, Y., *Bioprocessing Technologies in Integrated Biorefinery for Production of Biofuels, Biochemicals, and Biopolymers from Biomass*. Wiley, New York, USA, pp. 91-109.
- Kumar, A., Singh, S., Rajulapati, V., and Goyal, A. 2020. Evaluation of pre-treatment methods for *Lantana camara* steam for enhanced enzymatic saccharification. *Biotech*, 10-37.
- Kuo, C.H., and Lee, C.K. 2009. Enhancement of enzymatic saccharification of cellulose by cellulose dissolution pre-treatments. *Carbohydrate Polymers* 77:41-46.
- Larasati, I. A., Argo, B. D., and Hawa, L. C. 2019. Proses delignifikasi kandungan lignoselulosa serbuk bambu betung dengan variasi NaOH dan tekanan. *Jurnal Keteknikan Pertanian tropis dan Biosistem*, 7(3), 235-244.
- Mardina, P., Talalangi, A.I., Sitingjak, J.F.M., Nugroho, A., Fahrizal, M.R. 2013. Pengaruh proses delignifikasi pada produksi glukosa dari tongkol jagung dengan hidrolisis asam encer. *Konversi*, Vol. 2 No. 2.
- McKendry, P. 2002. Energy production from biomass (part 1) : overview of biomass. *Bioresource technology*, 83(1), 37-46.
- Muryanto., Sudiyani, Y., and Abimanyu, H. 2016. Optimasi proses perlakuan awal NaOH tandan kosong kelapa sawit untuk menjadi bioetanol. *Jurnal Kimia Terapan Indonesia*, 18(1), 27-35.
- Panggabean, J.E., Dotulong, V., Montolalu, R. I., Damongilala, L., Harikedua, S. D., dan Makapedua, D.M. 2018. Ekstraksi karagian rumput laut merah (*Kappaphycus alvarezii*) dengan perlakuan perendaman dalam larutan basa. *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan*, 6(3), 65-70.
- Putri, C. N., dan Utami, Budi. 2017. Pembuatan bioetanol dengan cara hidrolisis menggunakan kertas koran bekas serta pemurnian menggunakan agen pengering (MgSO₄, Na₂SO₄ dan CaCl₂). *Journal Cis-Trans (JC-T)*, 1(1) E-ISSN 2549-6573.
- Prasetyo, J., Kato, T., and Park, E. Y. 2010. Efficient cellulase-catalyzed saccharification of untreated paper sludge targeting for biorefinery. *Biomass and Bioenergy* 34, P 1906-1913.

- Retno, D. T., dan Nuri, W. 2011. Pembuatan Bioetanol dari Kulit Pisang. Jurusan Teknik Kimia FTI UPN “Veteran” Yogyakarta.
- Saha, K., Maharana, A., Sikdera, J., and Chakrabo, S. 2017. Continuous production of bioethanol from sugarcane bagasse and downstream purification using membrane integrated bioreactor. *Catalysis Today*, 331, 68-77.
- Sari, P. D., Puri, W. A., dan Hanum, D. 2018. Delignifikasi bonggol jagung dengan metode microwave alkali. *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian “AGRIKA”*, 12(2).
- Siregar, M. R., Hendrawan, Y., dan Nugroho, W. A. 2014. Pengaruh konsentrasi NaOH dan lama waktu pemanasan microwave dalam proses pretreatment terhadap kadar lignoselulosa *Chlorella vulgaris*. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 15(2), 129-138.
- Sjöström, E. 1995. Kimia kayu dasar-dasar penggunaan. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- TAPPI, 1988. Alpha-, beta- and gamma cellulose in pulp and wood. Technical Association of the Pulp and Paper Industry, T 203 om-93.
- TAPPI, 1998. Acid-insoluble lignin in wood and pulp. Technical Association of the Pulp and Paper Industry, T 222 om-98.



Rudianto Amirta <ramirta@fahatan.unmul.ac.id>

[UJHT] Editor Decision

Rita Diana <jurnal@unmul.ac.id>

Fri, July 15, 2022 at 10:27 AM

Reply-To: Karyati Karyati <karyati.hanapi@yahoo.com>

To: Rudianto Amirta <ramirta@fahatan.unmul.ac.id>

Cc: Mardiatul Ufa <mardiau01@gmail.com>, Nasriati N <nasriatinasir3@gmail.com>, Aulia Fitria Ningrum <auliafitria97@gmail.com>

The following message is being delivered on behalf of ULIN: Jurnal Hutan Tropis.

Rudianto Amirta:

We have reached a decision regarding your submission to ULIN: Jurnal Hutan Tropis, "Efektivitas perlakuan awal alkali dan hidrotermal terhadap proses delignifikasi, potensi gula reduksi dan produksi etanol teoritis dari kayu *Vernonia amygdalina* Delile".

Our decision is to: Accept Submission

Karyati Karyati

Scopus ID: 57193062639, (Forest Climatology) - Mulawarman University

Phone +6281256283873

Fax +62541735379

karyati.hanapi@yahoo.com

Universitas Mulawarman

ULIN: Jurnal Hutan Tropis

<http://e-journals.unmul.ac.id/index.php/UJHT>

EFEKTIVITAS PERLAKUAN AWAL ALKALI DAN HIDROTERMAL TERHADAP PROSES DELIGNIFIKASI, POTENSI GULA REDUKSI DAN PRODUKSI ETANOL TEORITIS DARI KAYU SAMBUNG NYAWA (*Vernonia amygdalina* Delile)

Mardiatul Ufa, Nasriati. N, Aulia Fitria Ningrum, Rudianto Amirta*
Fakultas Kehutanan, Universitas Mulawarman, Kampus Gunung Kelua, Jalan Penajam, Samarinda 75123
*E-Mail: rudiantoamirta@gmail.com

Received : 04 April 2022. Accepted : 16 Agustus 2022

ABSTRACT

Vernonia amygdalina is a shrub species that is potentially used as an energy crop through a short rotation coppice (SRC) system since this species is able to generate more than a single stem after the pruning process. This technique is very popular for providing sustainable feedstock for energy production. Therefore, due to its characteristics, *V. amygdalina* receives great attention as one of the energy crops for the application in energy. Herein, this study aims to evaluate the suitability of the *V. amygdalina* woody biomass for ethanol production. The woody biomass was first pretreated by autoclave under various concentrations of NaOH (0, 1, 2, and 3% (w/v)) and reaction times (15, 30, 45, and 60 minutes). The pretreated wood sample was then hydrolyzed using a commercial cellulase enzyme to produce glucose monomers. The hydrolysis time at 12, 24, 36, and 48 hours was analyzed. The results showed that the addition of 3% sodium hydroxide at a reaction time of 15 minutes and a hydrolysis time of 36 hours was the best concentration to provide the highest ethanol potency (186.98 L/ton woody biomass). Finally, this study suggests that *V. amygdalina* will be a promising feedstock for ethanol production.

Key words: Alkaline Pretreatment, Bioethanol, Enzymatic Saccharification, *V. amygdalina*

ABSTRAK

Vernonia amygdalina merupakan salah satu jenis tanaman *Short Rotation Coppice* (SRC) atau trubusan yang secara alami dapat melakukan proses regenerasi setelah melalui proses pemangkasan. Selain itu juga sebagai bahan baku penyedia biomassa yang saat ini banyak digunakan dalam memproduksi energi di dunia. Oleh karena itu, *V. amygdalina* memiliki potensi pembangkitan energi yang besar dan memadai untuk digunakan salah satunya adalah sebagai bahan baku untuk produksi bioetanol. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas perlakuan awal yang dilakukan dengan menggunakan konsentrasi alkali dan waktu reaksi yang berbeda terhadap proses sakarifikasi dan gula tereduksi yang dihasilkan beserta potensi teoritis dari etanol yang diperoleh. Biomassa kayu terlebih dahulu diolah dengan autoklaf pada berbagai konsentrasi NaOH (0, 1, 2, dan 3% (g/L)) dan waktu reaksi (15, 30, 45, dan 60 menit). Sampel kayu yang telah diolah kemudian dihidrolisis menggunakan enzim selulase komersial untuk menghasilkan monomer glukosa. Waktu hidrolisis pada 12, 24, 36, dan 48 jam dianalisis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan NaOH 3% pada waktu reaksi 15 menit dan waktu hidrolisis 36 jam merupakan konsentrasi terbaik untuk memberikan potensi etanol tertinggi (186,98 L/ton biomassa kayu). Akhirnya, penelitian ini menunjukkan bahwa *V. amygdalina* akan menjadi bahan baku yang menjanjikan untuk produksi etanol.

Kata kunci : Bioetanol, Perlakuan Awal Alkali, Sakarifikasi Enzimatik, *V. amygdalina*

PENDAHULUAN

Energi merupakan salah satu hal yang sangat penting di dunia. Banyak negara saling bersaing untuk mendapatkan atau mempertahankan sumber-sumber energi tersebut. Saat ini sumber energi utama umat manusia diperoleh dari bahan bakar fosil dan penggunaan bahan bakar fosil saat ini sangat besar. Hal ini tidak dapat dipungkiri karena penggunaan energi dunia masih berpusat pada minyak bumi. Selain itu peningkatan harga minyak bumi akan memberikan dampak yang besar bagi

pembangunan suatu negara salah satunya ialah negara Indonesia. Permasalahannya, sumber energi ini merupakan sumber energi tak terbarukan yang suatu saat akan habis jika terus-menerus dipakai.

Negara-negara berkembang saat ini salah satunya negara Indonesia sedang ramai mengembangkan energi terbarukan dengan target yang cukup ambisius. Keadaan inilah yang menuntut kita untuk mengeksplorasi sumber daya energi terbarukan yang meliputi air, biomassa, angin dan panas bumi. Diantara pilihan tersebut, bahan bakar berbasis biomassa yaitu biofuel salah



satunya ialah bioetanol (Saha dkk., 2017). Biotanol sangat berpotensi untuk menggantikan bensin karena memiliki beberapa keuntungan. Beberapa bahan dapat diolah menjadi bioetanol, salah satunya adalah biomassa lignoselulosa.

Indonesia merupakan negara dengan luas hutan alam terbesar ke-3 di dunia memiliki kawasan hutan khususnya di Kalimantan Timur diketahui memiliki ketersediaan cadangan biomassa berlignoselulosa yang sangat berlimpah dan beragam jenis dari tumbuhan berkayu yang memiliki kemampuan adaptasi dan kecepatan pertumbuhan yang tinggi (*pioneer/fast growing and lesser known species*) (Amirta dkk., 2016^a). Salah satu jenis bahan baku penyediaan biomassa yang saat ini banyak digunakan yaitu *Short Rotation Coppice* (SRC) yang memiliki siklus rotasi yang lebih pendek dan kepadatan penanaman yang lebih tinggi memungkinkan perolehan hasil panen (produktivitas) biomassa yang lebih tinggi per satuan luas lahan (Amirta, 2018; Haqiqi, dkk. 2018). Salah satu tanaman jenis ini ialah *Vernonia amygdalina*.

Berbagai sumber bahan lignoselulosa perlu dilakukan proses perlakuan awal lebih dahulu untuk mempermudah proses hidrolisis. Proses perlakuan awal akan membuat selulosa mudah ditembus oleh enzim selulolitik sehingga dapat mengurangi penggunaan enzim serta menekan biaya (Sari dkk., 2018). Proses perlakuan awal menggunakan metode hidrotermal dapat meningkatkan produk gula tereduksi hasil hidrolisis yang akan dikonversi menjadi bioetanol melalui proses enzimatis (Ninomiya dkk., 2013). Perlakuan awal secara alkali bertujuan untuk mengurangi kandungan lignin dalam lignoselulosa (delignifikasi). Proses kimia menggunakan senyawa basa kuat merupakan metode delignifikasi yang paling umum digunakan, karena memiliki daya degradasi terhadap lignin yang kuat dan biaya yang rendah. Kelemahannya adalah terbentuknya garam saat proses, namun dapat diatasi dengan cara pencucian menggunakan air bersih. Senyawa basa kuat yang pada umumnya digunakan untuk delignifikasi adalah Natrium Hidroksida (NaOH) dengan konsentrasi yang bervariasi pada suhu rendah dengan waktu delignifikasi yang lama (1 jam) (Muryanto dkk., 2016).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas perlakuan awal yang dilakukan dengan menggunakan konsentrasi alkali dan waktu reaksi yang berbeda terhadap proses sakarifikasi dan gula tereduksi yang dihasilkan beserta potensi teoritis dari etanol yang diperoleh.

METODE

Lokasi Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Kimia Hasil Hutan dan Energi Terbarukan, Fakultas Kehutanan, Universitas Mulawarman, Samarinda.

Prosedur Penelitian

1. Persiapan Bahan Baku

Sampel kayu yang telah dipotong kemudian dipotong kecil-kecil menggunakan parang. Selanjutnya sampel berbentuk chip dikonversi menjadi serbuk dengan menggunakan alat *hammer mill*. Proses berikutnya dilakukan pengayakan dengan ukuran 40 mesh (sampel untuk perlakuan awal dan pengujian sifat kimia). Sampel yang telah diayak kemudian disimpan di ruang konstan dan dimasukkan ke dalam plastik klip. Untuk persiapan bahan baku selanjutnya, dilakukan pengukuran faktor kelembaban (*Moisture Factor*) dan kandungan air (*Water Content*) dengan menggunakan metode standar TAPPI.

$$MF = [B/A]$$

Keterangan :

MF = Faktor Kelembaban

A = Berat awal sampel (g)

B = Berat akhir sampel (g)

$$WC (\%) = [(A-B)/A] \times 100$$

Keterangan :

WC = Kandungan air (%)

A = Berat awal sampel (g)

B = Berat akhir sampel (g)

2. Perlakuan Awal

Proses perlakuan awal dalam penelitian ini menggunakan larutan Natrium Hidroksida (NaOH). Pada kisaran konsentrasi masing-masing 10; 20 dan 30 g/l atau 1, 2 dan 3% serta temperatur yang digunakan dan waktu proses adalah 121°C selama 15, 30, 45 dan 60 menit dengan rasio antar substrat kayu dan larutan pemasak sebesar 1:10 (w/v).

3. Analisis Komponen Kimia

Analisis komponen kimia untuk mengetahui kandungan kimia dalam sampel yang terdiri dari kandungan lignin, holoselulosa dan α -selulosa. Hal ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan komponen kimia sebelum dan sesudah perlakuan awal menggunakan NaOH sebagai katalis. Pengukuran ini menggunakan metode standar TAPPI.

4. Sakarifikasi (Hidrolisis Enzimatis)

Serbuk dari proses perlakuan awal terhadap kayu

V. amygdalina yang digunakan sebagai substrat dalam tahapan hidrolisis guna memecah komponen selulosa menjadi monomer gula sederhana. Proses hidrolisis bertujuan untuk memecah ikatan lignin, menghilangkan kandungan lignin dan hemiselulosa, merusak struktur kristal dari selulosa (Sun and Cheng, 2002). Sebelum proses sakarifikasi sampel pulp terlebih dahulu dikering udarakan pada temperatur ruang (25°C). Kemudian 0,2 gram (OD) pulp dimasukkan ke dalam tabung (*tube*) dan ditambahkan 10 ml larutan substrat enzim yang mengandung *buffer tartrate* 0,05 M pH 4,5, enzim selulase (40 FPU/g substrat) dan 0,02% Sodium Azide ke dalam substrat pada temperatur 45°C. Hidrolisis enzim ini dilakukan menggunakan *rotary shaker* dengan kecepatan 140 rpm selama 96 jam. Dilakukan 4 kali pengambilan sampel tiap 12 jam, 24 jam 36 jam dan 48 jam. Kemudian, sampel di *centrifuge* pada kecepatan putaran 6200 rpm selama 5 menit untuk dipisahkan antara filtrat dan *supernatant*-nya. *Supernatant* digunakan untuk menentukan gula tereduksi melalui metode Somogy-Nelson yang dimodifikasi (Amirta dkk., 2016^b). Enzim komersil selulase yang digunakan dalam penelitian ini adalah enzim meiselase yang diperoleh dari Meiji, Kyoto, Jepang.

5. Perhitungan Potensi Produksi Etanol Secara Teoritis

Pengolahan dan perhitungan produksi etanol secara teoritis didasarkan pada potensi jumlah etanol yang dihasilkan dari gula hexose yang terkandung di dalam biomassa dan direpresentasikan oleh kandungan selulosa yang telah disakarifikasi (HEXTEL) sepenuhnya atau 100% terfermentasi menjadi etanol. Jumlah gula *Hexosa* (HEXTEL)

dalam bahan lignoselulosa diperoleh dari sakarifikasi enzimatik fraksi pulp yang larut. Perhitungan hasil etanol (ETOH BIO) dihitung berdasarkan berat biomassa asli dengan rumus sebagai berikut:

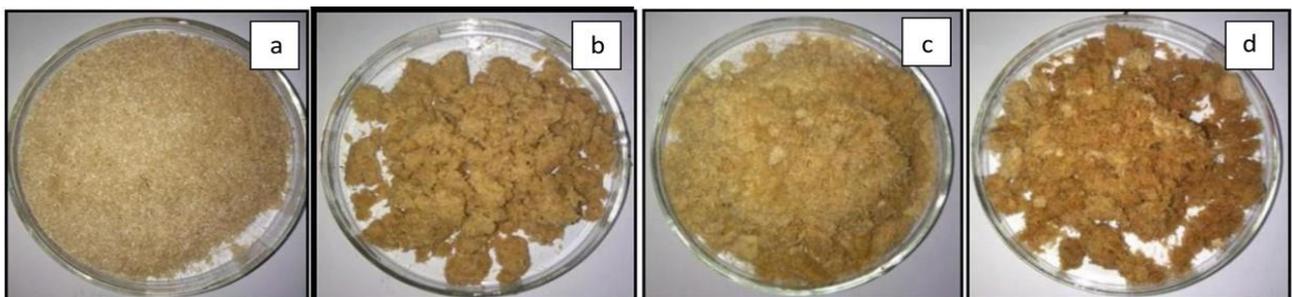
$$\begin{aligned} \text{HEXTEL} &= \text{HEX} \times a && (\text{mg/kg}) \\ \text{ETOH BIO} &= \text{HEXTEL} \times \text{Ye.h} && (\text{ml/kg}) \end{aligned}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Banyaknya komponen kayu yang tidak terdegradasi setelah proses pulping ini dinyatakan sebagai rendemen. Nilai rendemen serta kenampakan fisik dari pulp kayu *V. amygdalina* setelah perlakuan awal menggunakan NaOH dengan konsentrasi serta waktu pemasakan yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 4.1. Berdasarkan tabel tersebut dapat dicermati bahwa dengan bertambahnya konsentrasi NaOH terjadi penurunan terhadap rendemen pulp yang dihasilkan. Menurut Kumar dkk., (2020) tingginya nilai rendemen yang dihasilkan dikarenakan katalis yang digunakan tidak mampu memecah struktur karbohidrat kompleks secara efisien serta menandakan bahwa struktur lignoselulosa tidak terurai secara sempurna, sehingga mempengaruhi kerja enzim dalam menghidrolisis selulosa menjadi glukosa pada proses sakarifikasi. Sedangkan rendahnya nilai rendemen yang didapat dipengaruhi oleh waktu pemasakan dan konsentrasi alkali (Panggabean dkk., 2018).

Tabel 4.1 Persentase Rendemen Pulp Kayu *V. amygdalina* Setelah Perlakuan Awal

Rendemen (%)			
Waktu (menit)	1% NaOH	2% NaOH	3% NaOH
15	70,71 ± 0,64	66,46 ± 0,28	64,30 ± 0,41
30	67,04 ± 0,06	62,69 ± 0,52	57,89 ± 0,72
45	66,89 ± 0,80	59,66 ± 0,65	57,19 ± 0,16
60	64,18 ± 0,66	57,87 ± 0,62	55,46 ± 0,32



Gambar 4.1 Tekstur dan Warna Pulp *V. amygdalina* pada Konsentrasi yang Berbeda (a) Sebelum Perlakuan NaOH (b) NaOH 1% (c) NaOH 2% (d) NaOH 3% dengan suhu 121°C.

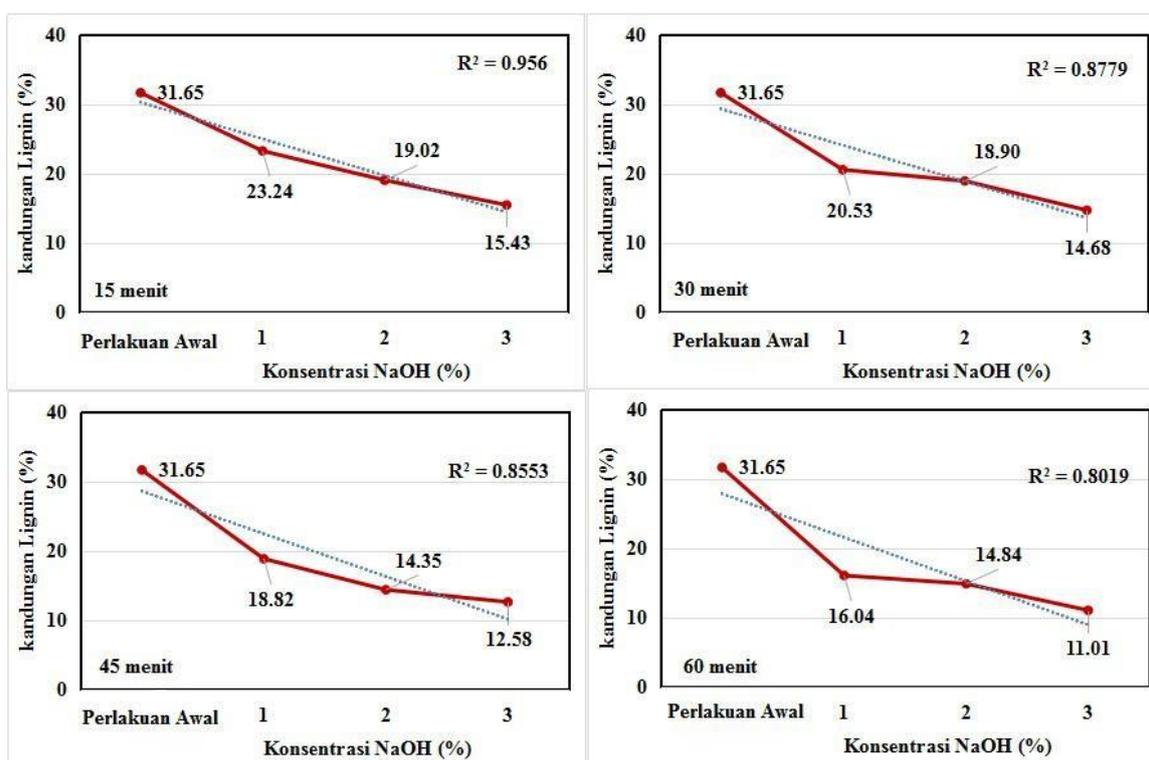
Nurmiah dkk., (2013) juga menyatakan bahwa penurunan nilai rendemen disebabkan oleh peningkatan konsentrasi NaOH dan interaksi temperatur atau suhu yang digunakan.

Selain rendemen pulp, parameter lain yang dicermati adalah perubahan pada sisa fraksi pulp (tekstur) dan warna pulp setelah perlakuan awal. Pada variasi konsentrasi perlakuan awal menghasilkan pulp yang berserat kasar (*hard fiber*) kecuali pada konsentrasi NaOH 3% yang menghasilkan pulp yang berserat halus (*soft fiber*).

Sifat fisik yang diperoleh dari hasil pemasakan dengan proses alkali yaitu berupa sisa fraksi pulp dan warna pada setiap sampel dengan masing-masing konsentrasi alkali yang berbeda (Gambar 4.1). Sampel sebelum perlakuan berwarna coklat muda, sedangkan sampel dengan variasi konsentrasi NaOH berwarna coklat kekuningan sampai cokelat tua kemerahan. Hal ini mungkin terjadi karena kandungan lignin pada sampel terdegradasi atau larut dalam lindi hitam pada saat proses perlakuan awal, dengan kata lain pengaruh konsentrasi alkali dan waktu pemasakan dapat mempengaruhi laju degradasi lignin yang terjadi selama proses

pemasakan berlangsung. Hal ini juga dinyatakan oleh Muryanto dkk., (2016) bahwa semakin lama waktu proses perlakuan awal, maka delignifikasi juga semakin tinggi. Pembentukan sisa fraksi pulp tersebut juga tergantung pada konsentrasi alkali dan juga jenis biomassa yang digunakan (Amirta, 2016b).

Adapun nilai persentase lignin setelah perlakuan awal alkali yang telah dilakukan pengujian dapat dilihat pada Gambar 4.2. Berdasarkan gambar tersebut, menunjukkan hasil pengujian kandungan lignin setelah perlakuan awal mengalami penurunan seiring dengan meningkatnya konsentrasi alkali. Adapun kandungan lignin sebelum perlakuan yaitu 31,65% menurun hingga 11,01% setelah perlakuan awal. Berdasarkan teori, bahwa konsentrasi alkali sangat berpengaruh terhadap efektivitas penurunan lignin, ini menunjukkan bahwa terdapat kecenderungan menurunnya kadar lignin dan kandungan polisakarida setelah diberi perlakuan alkali. Hal ini sejalan dengan pendapat Larasati dkk., (2019) bahwa kandungan lignin akan semakin berkurang seiring bertambahnya konsentrasi alkali.



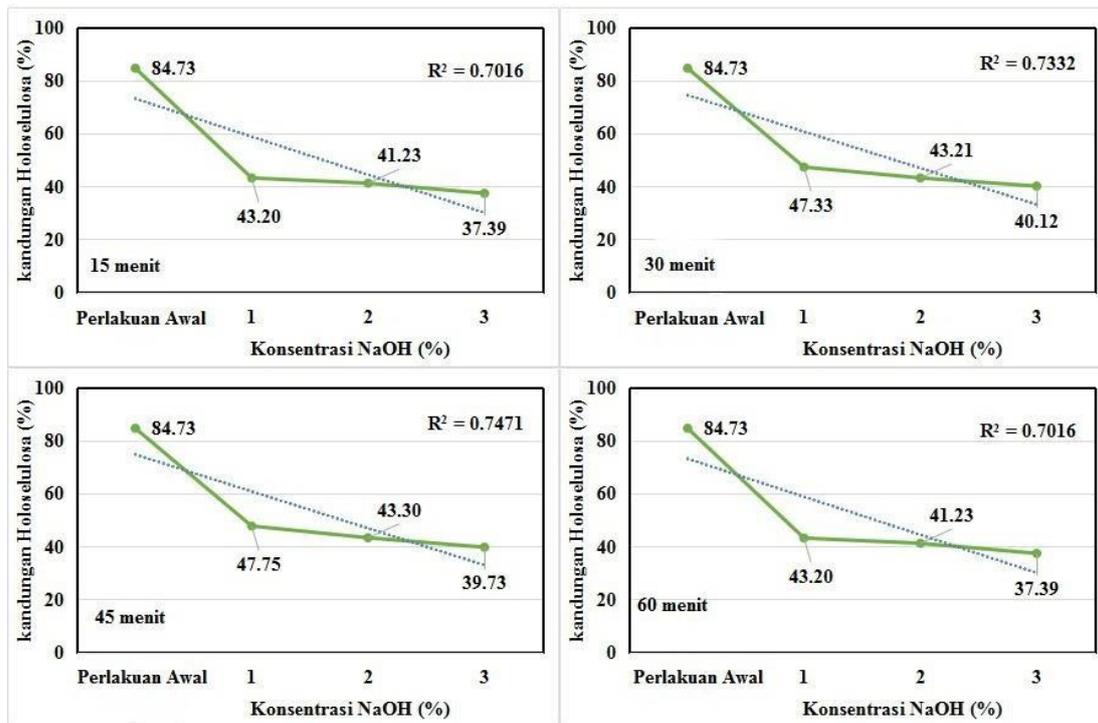
Gambar 4.2 Kandungan Lignin Setelah Perlakuan Awal

Pada Gambar 4.3 menunjukkan penurunan kandungan holoselulosa seiring dengan peningkatan konsentrasi dan waktu reaksi. Dari hasil analisis, holoselulosa setelah perlakuan awal menurun menjadi 37,39% yang sebelumnya kandungan holoselulosa sebelum perlakuan awal ialah 84,73%. Berdasarkan data tersebut diperkirakan bahwa semakin tinggi penggunaan

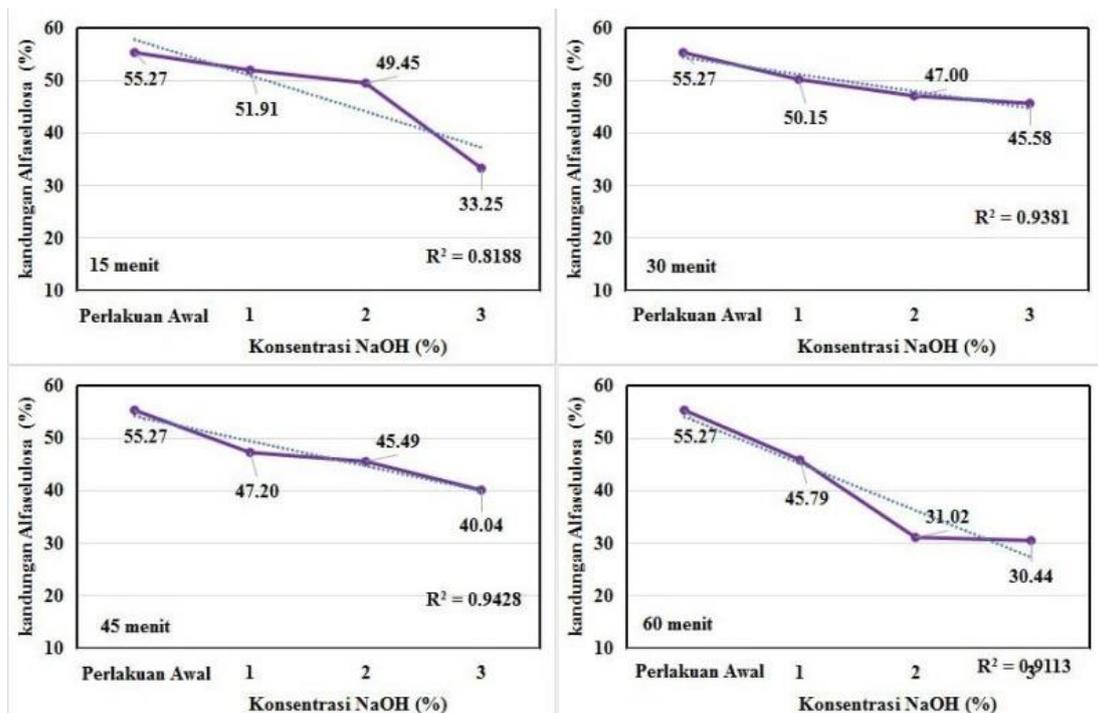
konsentrasi akan menurunkan tingkat polimerisasi selulosa sehingga dapat meningkatkan kinerja enzim pada proses sakarifikasi. Adapun penurunan kandungan tersebut mengindikasikan bahwa perlakuan delignifikasi yang diterapkan pada penelitian ini, tidak hanya menyebabkan degradasi lignin, tetapi depolimerisasi hemiselulosa juga (Saha dkk., 2017).

Berdasarkan Gambar 4.4 menunjukkan bahwa terjadi penurunan α -Selulosa seiring dengan penambahan konsentrasi dan waktu reaksi pemasakan. Nilai dari kandungan α -Selulosa sebelum perlakuan yang diperoleh batang Sambung Nyawa adalah 55,27% dan setelah perlakuan awal menurun hingga 30,44%. Berdasarkan gambar tersebut terlihat bahwa dengan bertambahnya konsentrasi NaOH tidak begitu berpengaruh terhadap kandungan α -Selulosa. Menurut Sjöström

(1995) menyatakan bahwa adanya perbedaan kandungan α -Selulosa tersebut sebagian besar disebabkan oleh banyak sedikitnya kristalin dalam selulosa. Jenis kayu yang memiliki kandungan α -Selulosa tinggi artinya memiliki kristalin yang banyak pada selulosa yang terkandung di dalam kayu. Terjadinya penurunan kandungan selulosa ini dapat disebabkan adanya struktur selulosa yang teratur terbuka dan molekul selulosa terdispersi secara bebas dalam solven (NaOH).



Gambar 4.3 Kandungan Holocelulosa Setelah Perlakuan Awal



Gambar 4.4 Kandungan Alfa-selulosa Setelah Perlakuan Awal

Tabel 4.2 Persentase Glukosa pada Kayu *V. amygdalina*

Waktu Reaksi (Menit)	Konsentrasi NaOH (%)	Waktu Sakarifikasi (Jam)			
		12	24	36	48
15	1	21,50	18,10	24,95	23,65
	2	21,75	19,80	26,20	25,35
	3	25,35	20,70	27,90	26,80
30	1	13,00	21,50	24,90	13,20
	2	15,55	23,85	26,40	13,20
	3	16,60	24,95	27,70	30,05
45	1	30,50	20,90	24,90	27,05
	2	31,50	22,80	27,50	27,90
	3	33,00	34,30	31,75	29,20
60	1	24,10	27,70	24,10	30,50
	2	24,70	29,00	27,70	33,00
	3	27,90	30,07	33,90	37,90

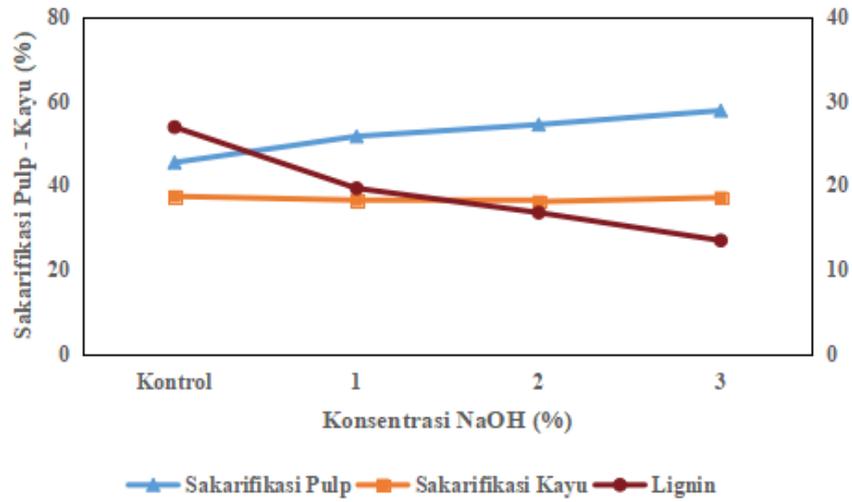
Berdasarkan Tabel 4.2 hasil glukosa tertinggi didapatkan dari perlakuan awal pada waktu reaksi 60 menit yaitu 37,90%, sedangkan yang terendah yaitu 13,00% pada waktu reaksi 30 menit. Persentase gula yang didapatkan secara umum meningkat seiring dengan meningkatnya waktu sakarifikasi. Namun, terdapat beberapa waktu sakarifikasi yang mengalami penurunan persentase glukosa. Hal ini dikarenakan jumlah enzim yang semakin terbatas (Ghose dan Ray, 2010).

Biomassa lignoselulosa terdiri dari karbohidrat (selulosa dan hemiselulosa), lignin dan komponen lainnya (protein, lipid dan zat organik) (Kim, 2013). Keberadaan lignin sangat menghambat proses degradasi selulosa dan hemiselulosa menjadi glukosa. Oleh karena itu, lignin harus dihilangkan baik secara kimia maupun enzimatik yang merupakan proses delignifikasi dan setelah itu dapat dilakukan proses fermentasi untuk produksi bioetanol.

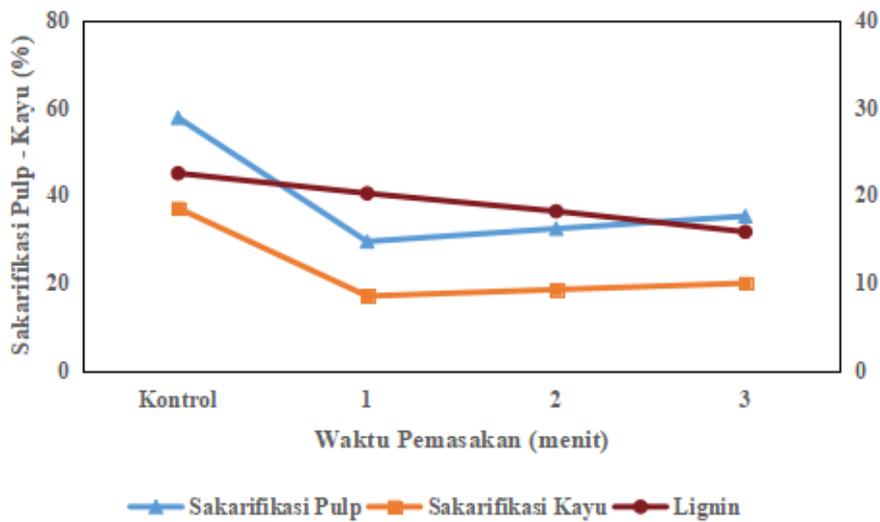
Proses hidrolisis pada kayu *V. amygdalina* ini berfungsi untuk memecah rantai panjang polimer karbohidrat yaitu holoselulosa (hemiselulosa dan selulosa) menjadi monomer-monomer gula reduksi. Sebelum melakukan proses sakarifikasi secara enzimatik, aktifitas enzim diketahui sebesar 40 FPU. Pada proses sakarifikasi menggunakan temperatur optimum 45°C dan menggunakan buffer asam dengan pH 4,5 agar enzim yang digunakan dapat bekerja dengan optimum selama 48 jam. Hasil proses sakarifikasi dapat dilihat pada Gambar 4.5, 4.6 dan 4.7.

Pada variasi perlakuan awal menggunakan konsentrasi NaOH ini dihasilkan persentase sakarifikasi yang tertinggi dibandingkan dengan

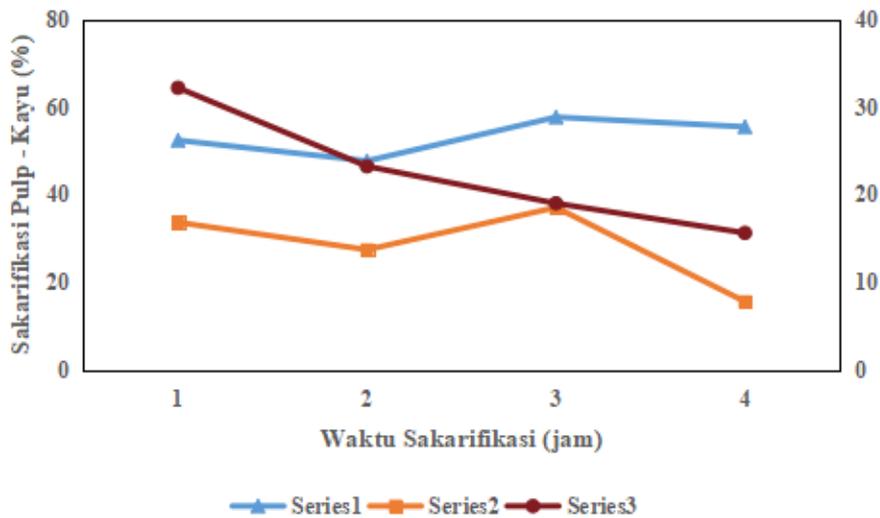
perlakuan lain sebelumnya. Perolehan hasil sakarifikasi tertinggi yaitu 57,73% dari basis pulp dan 37,42% dari basis kayu. Jika dicermati terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi proses sakarifikasi, salah satunya persentase kandungan lignin yang dimana penurunan kandungan lignin berdampak baik pada proses hidrolisis dan mempermudah enzim dalam memecah struktur polisakarida menjadi monomer gula sehingga nilai sakarifikasi meningkat. Pada perlakuan awal ini juga memberikan dampak negatif yaitu penurunan perolehan persentase holoselulosa dan α -selulosa namun tidak dalam jumlah yang besar. Sehingga, adanya penurunan kandungan holoselulosa dan α -selulosa saat konsentrasi ditingkatkan ini tidak berpengaruh secara signifikan pada persentase hasil rendemen gula pereduksi atau persentase sakarifikasi yang dihasilkan, yang mana dihasilkan persentase hasil sakarifikasi yang meningkat, sebagai contoh dapat dilihat pada Gambar 4.5. Hal ini dapat terjadi diduga disebabkan oleh aksesibilitas enzim selulase yang menjadi lebih baik terhadap α -selulosa pada perlakuan awal dengan konsentrasi tinggi dikarenakan oleh berkurangnya kadar lignin. Selain itu proses degradasi oleh enzim ini diduga juga menyebabkan selulosa yang tersisa menjadi lebih pendek (derajat polimerisasinya rendah), sehingga lebih mudah dihidrolisis oleh enzim. Derajat polimerisasi yang rendah akan menyebabkan luas permukaan selulosa 68 menjadi lebih besar sehingga aksesibilitas enzim terhadap selulosa menjadi lebih tinggi dan dapat meningkatkan rendemen proses hidrolisis (Kuo dan Lee, 2009).



Gambar 4.5 Efektivitas Sakarifikasi Berdasarkan Konsentrasi terhadap Penurunan Kandungan Lignin dari Kayu *V. amygdalina* Menggunakan Perlakuan Awal Alkali



Gambar 4.6 Efektivitas Sakarifikasi Berdasarkan Waktu Pemasakan terhadap Penurunan Kandungan Lignin dari Kayu *V. amygdalina* Menggunakan Perlakuan Awal Alkali



Gambar 4.7 Efektivitas Sakarifikasi Berdasarkan Waktu Sakarifikasi terhadap Penurunan Kandungan Lignin dari Kayu *V. amygdalina* Menggunakan Perlakuan Awal Alkali

Berdasarkan Gambar 4.6 perlakuan awal yang dilakukan tidak terlepas dari peran berbagai faktor diantaranya yaitu suhu, konsentrasi dan waktu reaksi. Hal ini dibuktikan dengan penurunan kandungan lignin, dengan belum terputusnya ikatan lignoselulosa secara sempurna akan menyebabkan rendahnya hasil gula reduksi yang didapatkan pada proses hidrolisis. Seperti pada gambar diatas, perolehan hasil sakarifikasi pulp tertinggi yaitu 57,73% pada waktu pemasakan 15 menit dan pada waktu pemasakan 30 menit mengalami penurunan yang signifikan yaitu 29, 51% kemudian pada waktu pemasakan 45 dan 60 menit mengalami peningkatan sakarifikasi yaitu 32,44 dan 35,28% secara berturut. Hal ini juga sama terhadap hasil sakarifikasi berbasis kayu dimana mengalami turun naik terhadap nilai yang dihasilkan. Pada waktu pemasakan 15 menit diperoleh hasil sakarifikasi yaitu 37,12% dan pada waktu pemasakan 30 menit mengalami penurunan yang signifikan pula yaitu 17,08% kemudian waktu pemasakan 45 dan 60 menit mengalami peningkatan sakarifikasi yaitu 18,55 dan 20,00% secara berturut.

Apabila kita cermati bersama, berdasarkan waktu reaksi persentase sakarifikasi berbasis pulp maupun berbasis kayu mengalami penurunan pada waktu 30 menit dan mengalami peningkatan persentase sakarifikasi pada waktu 45 dan 60 menit walaupun nilainya tidak terlalu tinggi. Menurut Prasetyo dkk., (2010) hal ini disebabkan karena kemungkinan gula yang dihasilkan bisa berubah menjadi produk lain dikarenakan enzim selulase yang digunakan dalam proses sakarifikasi belum murni, sehingga dapat terjadi reaksi lain yang tidak diketahui.

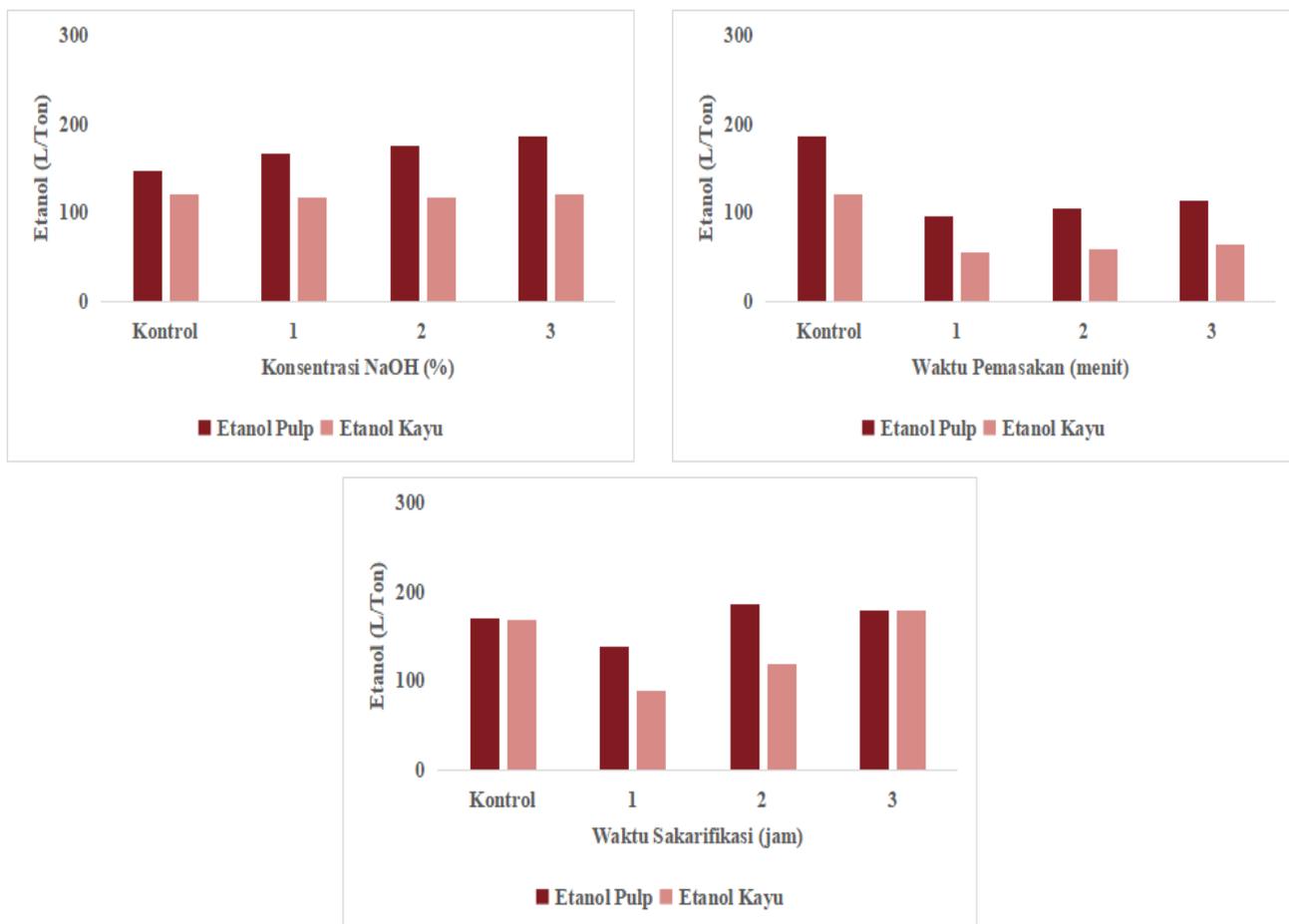
Berdasarkan Gambar 4.7 menunjukkan hasil yang sama pada Gambar 4.6 dimana hasil sakarifikasi yang didapatkan mengalami *trendline* yang tidak stabil juga. Pada waktu ke-12 jam persentase sakarifikasi pulp yaitu 52,41% dan mengalami penurunan pada waktu ke-24 jam yaitu 42,72% kemudian mengalami peningkatan persentase sakarifikasi pada waktu ke-36 jam yaitu 57,69% dan mengalami penurunan lagi waktu ke-48 jam yaitu 55,49%. Berdasarkan waktu sakarifikasi hasil persentase sakarifikasi berbasis pulp tertinggi diperoleh pada waktu ke-36 jam yaitu 57,69% dan persentase sakarifikasi berbasis kayu diperoleh 37,10% dengan waktu sakarifikasi yang sama. Hal ini disebabkan oleh menurunnya stabilitas dan ketahanan enzim yang digunakan pada proses sakarifikasi (Putri dkk., 2013). Namun, kandungan lignin dari gambar diatas mengalami

penurunan dari 32,19% menjadi 15,65%. Hal ini erat kaitannya dengan penggunaan larutan NaOH yang dapat memutuskan ikatan hidrogen intermolekul selulosa, sehingga penyerapan air lebih banyak dan mempermudah enzim selulase dalam menghidrolisis selulosa menjadi gula-gula sederhana (Gunam dkk., 2011). Mardina dkk., (2013) juga menyatakan bahwa persentase pengurangan kandungan lignin semakin besar dengan meningkatnya konsentrasi NaOH yang digunakan.

Hasil yang diperoleh tersebut dilakukan perhitungan potensi etanol oleh Premjet dkk., (2013) yang ditunjukkan pada gambar diagram (Gambar 4.8), berdasarkan perhitungan potensi produksi etanol secara teoritis, hasil potensi produksi etanol yang diperoleh ialah persentase etanol pada perlakuan awal menggunakan NaOH berkisar antara 147,18 - 186,98 L/ton, pada pengaruh waktu reaksi berkisar antara 95,58 - 186,98 L/ton dan pengaruh waktu sakarifikasi berkisar antara 138,37 - 186,85 L/ton. Hasil perhitungan potensi produksi etanol tertinggi berasal dari sakarifikasi dengan perlakuan awal menggunakan konsentrasi NaOH 3% pada temperatur 121°C selama 15 menit dengan waktu sakarifikasi ke-36 jam. Hasil etanol tertinggi adalah 186,98 ml/kg atau 186,98 L/ton pada basis pulp sedangkan pada basis kayu yaitu 178,40 ml/kg atau 178,40 L/ton.

Pada variasi waktu pemasakan terjadi penurunan kadar etanol yang signifikan, hal ini disebabkan gula yang terdapat pada substrat terkonversi menjadi bioetanol dan sebagian digunakan sebagai sumber karbon untuk proses pertumbuhan mikroorganisme (Retno dan Nuri, 2011). Produksi bioetanol sangat dipengaruhi oleh substrat yang digunakan. Semakin tinggi kadar gula akan diperoleh kadar bioethanol yang semakin tinggi, akan tetapi apabila kadar gula terlalu pekat mengakibatkan proses fermentasi lambat. Jika ditinjau lebih jauh, maka produksi etanol dari pemanfaatan *V. amygdalina* dalam pembuatan etanol masih tergolong rendah. Dari penelitian terdahulu beberapa kayu tropis yang telah dipublikasikan, diantaranya *A. moluccana* (241 L/ton), *G. arborea* (239 L/ton), *A. cadamba* (233, L/ton), *A. altilis* (222 L/ton) dan *P. facataria* (220 L/ton) (Amirta dkk., 2016^b).

Dari penelitian terdahulu beberapa kayu tropis yang telah dipublikasikan, diantaranya *A. moluccana* (241 L/ton), *G. arborea* (239 L/ton), *A. cadamba* (233 L/ton), *A. altilis* (222 L/ton) dan *P. facataria* (220 L/ton) (Amirta dkk., 2016^b).



Gambar 4.8 Potensi Produksi Etanol dari Biomassa Kayu *V. amygdalina* dan Proses Sakarifikasi Enzimatik dan Perlakuan Awal Menggunakan Alkali

KESIMPULAN

1. Efektivitas perlakuan awal menggunakan NaOH terhadap proses delignifikasi pada kayu *V. amygdalina* dengan variasi konsentrasi mampu menghancurkan struktur lignin walaupun konsentrasi yang digunakan tergolong masih rendah.
2. Namun demikian, perlakuan awal alkali dengan konsentrasi NaOH yang rendah telah mampu secara efektif memberikan tingkat perolehan gula reduksi yang cukup tinggi yaitu sebesar 57,73%.
3. Perolehan potensi etanol tertinggi didapatkan dari proses sakarifikasi yang berlangsung selama 36 jam yaitu 186,95 ml/kg atau 186,98 L/ton dan terendah pada sakarifikasi waktu ke-24 yaitu 88,97 ml/kg atau 88,97 L/ton.

DAFTAR PUSTAKA

Amirta, R. 2018. Pelet kayu energi hijau masa depan. *Mulawarman University Press*. Samarinda.

- Amirta, R., Nafitri, S. I., Wulandari, R., Suwinarti, W., Candra, K.P., and Watanabe, T. 2016^a. Comparative characterization of *Macaranga* species collected from secondary forests in East Kalimantan for biorefinery of unutilized fast growing wood. *Biodiversitas : Journal of Biological Diversity*, 17(1), 116-123.
- Amirta, R., Mukhdlor, A., Mujiasih, D., Septia, E., Supriadi., and Susanto, D. 2016^b. Suitability and availability analysis of tropical forest wood species for ethanol production : a case study in East Kalimantan. *Biodiversitas : Journal of Biological diversity*, 17(2), 544-552.
- Gunam, I. B. W., Wartini, N. M., Anggraeni, A. A. M. D., Suparyana, P. M. 2011. Delignifikasi ampas tebu dengan larutan natrium hidrogen sebelum proses sakarifikasi secara enzimatik menggunakan enzim selulase kasar dari *Aspergillus niger* FNU 6018.
- Ghose, B and Ray, R.R. 2010. Saccharification of raw native starches by extracellular isoamylase of *Rhizopus Oryzae*. *Biotechnology*:9 (2) P 224-228.
- Haqiqi, M. T., Yuliansyah., Suwinarti, W., and Amirta, R. 2018. Response surface

- methodology to simplify calculation of wood energy potency from tropical short rotation coppice species. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science.
- Kim, T. H. 2013. Pretreatment of lignocellulosic biomass. In : Yang, S. T., El-Enshasy, H. A., Thongchul, N., Martin, Y., Bioprocessing Technologies in Integrated Biorefinery for Production of Biofuels, Biochemicals, and Biopolymers from Biomass. Wiley, New York, USA, pp. 91-109.
- Kumar, A., Singh, S., Rajulapati, V., and Goyal, A. 2020. Evaluation of pre-treatment methods for *Lantana camara* steam for enhanced enzymatic saccharification. Biotech, 10-37.
- Kuo, C.H., and Lee, C.K. 2009. Enhancement of enzymatic saccharification of cellulose by cellulose dissolution pre-treatments. Carbohydrate Polymers 77:41–46.
- Larasati, I. A., Argo, B. D., and Hawa, L. C. 2019. Proses delignifikasi kandungan lignoselulosa serbuk bambu betung dengan variasi NaOH dan tekanan. *Jurnal Keteknik Pertanian tropis dan Biosistem*, 7(3), 235-244.
- Mardina, P., Talalangi, A.I., Sitinjak, J.F.M., Nugroho, A., Fahrizal, M.R. 2013. Pengaruh proses delignifikasi pada produksi glukosa dari tongkol jagung dengan hidrolisis asam encer. *Konversi*, Vol. 2 No. 2.
- McKendry, P. 2002. Energy production from biomass (part 1) : overview of biomass. *Bioresour technology*, 83(1), 37-46.
- Muryanto., Sudiyani, Y., and Abimanyu, H. 2016. Optimasi proses perlakuan awal NaOH tandan kosong kelapa sawit untuk menjadi bioetanol. *Jurnal Kimia Terapan Indonesia*, 18(1), 27-35.
- Panggabean, J.E., Dotulong, V., Montolalu, R. I., Damongilala, L., Harikedua, S. D., dan Makapedua, D.M. 2018. Ekstraksi karagian rumput laut merah (*Kappaphycus alvarezii*) dengan perlakuan perendaman dalam larutan basa. *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan*, 6(3), 65-70.
- Putri, C. N., dan Utami, Budi. 2017. Pembuatan bioetanol dengan cara hidrolisis menggunakan kertas koran bekas serta pemurnian menggunakan agen pengering (MgSO₄, Na₂SO₄ dan CaCl₂). *Journal Cis-Trans (JC-T)*, 1(1) E-ISSN 2549-6573.
- Prasetyo, J., Kato, T., and Park, E. Y. 2010. Efficient cellulase-catalyzed saccharification of untreated paper sludge targeting for biorefinery. *Biomass and Bioenergy* 34, P 1906-1913.
- Retno, D. T., dan Nuri, W. 2011. Pembuatan Bioetanol dari Kulit Pisang. Jurusan Teknik Kimia FTI UPN “Veteran” Yogyakarta.
- Saha, K., Maharana, A., Sikdera, J., and Chakrabo, S. 2017. Continuous production of bioethanol from sugarcane bagasse and downstream purification using membrane integrated bioreactor. *Catalysis Today*, 331, 68-77.
- Sari, P. D., Puri, W. A., dan Hanum, D. 2018. Delignifikasi bonggol jagung dengan metode microwave alkali. *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian “AGRIKA”*, 12(2).
- Siregar, M. R., Hendrawan, Y., dan Nugroho, W. A. 2014. Pengaruh konsentrasi NaOH dan lama waktu pemanasan microwave dalam proses pretreatment terhadap kadar lignoselulosa *Chlorella vulgaris*. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 15(2), 129-138.
- Sjöström, E. 1995. Kimia kayu dasar-dasar penggunaan. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- TAPPI, 1988. Alpha-, beta- and gamma cellulose in pulp and wood. Technical Association of the Pulp and Paper Industry, T 203 om-93.
- TAPPI, 1998. Acid-insoluble lignin in wood and pulp. Technical Association of the Pulp and Paper Industry, T 222 om-98.