



## Optimasi *Pretreatment* melalui Metode *Hydrothermal Pressure* dan Pelarut Alkali pada Produksi Bioetanol dari *Lemna minor*

Abdur Rahman Arif<sup>a,c,\*</sup>, Andi Evi Erviani<sup>b</sup>, Hasnah Natsir<sup>a,c</sup>, Ilham Haidir<sup>c</sup>, Maudy Audina Affandy<sup>c</sup>

<sup>a)</sup> Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Hasanuddin University, Tamalanrea, Makassar, South Sulawesi, Indonesia, 90245.

<sup>b)</sup> Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Hasanuddin University, Tamalanrea, Makassar, South Sulawesi, Indonesia, 90245.

<sup>c)</sup> Biochemistry Laboratory, Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Hasanuddin University, Tamalanrea, Makassar, South Sulawesi, Indonesia, 90245.

\* Corresponding author

E-mail: [arrahman.arif@unhas.ac.id](mailto:arrahman.arif@unhas.ac.id) atau [ar\\_rahman\\_arif08@yahoo.com](mailto:ar_rahman_arif08@yahoo.com)

DOI: 10.20961/alchemy.14.1.15986.95-106

Received 15 November 2017, Accepted 18 December 2017, Published 1 March 2018

### ABSTRAK

Produk bioetanol dengan bahan dasar biomassa lignoselulosa perlahan banyak dikembangkan sebagai sumber energi alternatif. Tantangan utama dalam produksi lignoselulosa etanol berada pada tahap *pretreatment*. *Pretreatment* merupakan tahap yang memegang peranan penting dalam mendegradasi lignoselulosa menjadi selulosa. Pada penelitian ini digunakan *Lemna minor* yang merupakan gulma perairan dengan kombinasi dua tahap *pretreatment* untuk melihat efektivitas degradasi lignoselulosa dalam sampel. Tahap pertama dengan metode *hydrothermal pressure* pada suhu pemanasan uap 121 °C dan tekanan 15-20 psi dengan variasi waktu proses selama 5, 15, 30, 45, dan 60 menit. Tahap kedua *pretreatment* dengan metode kimiawi menggunakan NaOH dengan variasi konsentrasi 0,5; 1; 1,5; 2; dan 2,5 M. Hasil penelitian menunjukkan 60 menit merupakan waktu optimum dari metode *hydrothermal pressure* pada sampel *L. minor* dengan kadar lignin 11,32%, kadar selulosa 17,39%, kadar hemiselulosa 16,73% dan kadar gula total 0,82%. Untuk tahapan *pretreatment* dengan pelarut alkali (NaOH) kandungan kadar lignin *L. minor* setelah *pretreatment* dengan NaOH 2,0 M sebesar 5,36%, kadar. Kandungan kadar selulosa, hemiselulosa dan gula total optimum diperoleh pada konsentrasi 2,5 M dengan nilai kadar 31,03%; 5,57% dan 1,74%. Efektivitas penurunan kadar lignin pada *pretreatment hydrothermal pressure* sebesar 37,04% sedangkan *pretreatment* dengan NaOH sebesar 70,18%. Kombinasi proses *pretreatment* memberikan hasil yang cukup baik terhadap proses degradasi lignin yang terkandung dalam sampel *Lemna minor* sehingga sangat efektif digunakan dalam proses pembuatan bioetanol dengan bahan dasar biomassa.

**Kata kunci:** *hydrothermal pressure*, *Lemna minor*, lignoselulosa, NaOH, *pretreatment*

### ABSTRACT

**Optimization Pretreatment through Hydrothermal Pressure and Alkaline Solvent Methods in Bioethanol Production from *Lemna minor*.** Bioethanol products with lignocellulosic biomass feedstock have been developed as an alternative energy source. The main challenge in the production of lignocellulosic ethanol is on the pretreatment stage. Pretreatment is a stage that plays an important role in degrading lignocellulose into cellulose. In this study, we used a *Lemna minor* which is a water weed with a combination

of two stages of pretreatment to see the effectiveness of lignocellulosic degradation in the sample. The first stage is hydrothermal pressure method of steam heating temperature 121 °C and pressure 15-20 psi with variation of processing time for 5, 15, 30, 45, and 60 minutes. The second stage of pretreatment with chemical methods using NaOH with a concentration variation of 0.5; 1; 1.5; 2 and 2.5 M. The results showed that 60 minutes was the optimum time of the hydrothermal pressure method in the *L. minor* sample with the lignin content of 11.32%, the cellulose 17.39%, the hemicellulose 16.73% and the total sugar 0.82%. For the pretreatment stage with alkaline solvent (NaOH) the content of *L. minor* lignin after pretreatment with 2.0 M NaOH was 5.36%. The content of cellulose, hemicellulose and total sugars was obtained at a concentration of 2.5 M with a grade value of 31.03%, 5.57%, and 1.74%. The effectiveness of lignin decrease in pretreatment hydrothermal pressure was 37.04% while pretreatment with NaOH was 70.18%. The combination of pretreatment process gives a good result to the lignin degradation process contained in the *L. minor* sample in order that it is very effective in the process of making bioethanol with biomass feedstock.

**Keywords:** hydrothermal pressure, *Lemna minor*, lignocellulose, NaOH, pretreatment

## PENDAHULUAN

Krisis energi di dunia telah mendorong pencarian bahan bakar alternatif sebagai pengganti bahan bakar yang berasal dari minyak bumi. Sifat dari bahan bakar fosil tidak dapat diperbaharui karena jumlahnya yang terbatas, selain itu pemakaian utama bahan bakar fosil banyak dikonsumsi oleh sektor industri dan transportasi menjadi faktor utama meningkatnya emisi gas rumah kaca, dan polusi (Atabani *et al.* 2012). Hal tersebut menjadi dasar utama pencarian bahan bakar baru. Bahan bakar alternatif yang layak dikembangkan adalah bahan bakar yang bersifat *renewable* atau terbarukan, ramah lingkungan, dan efisien. Beberapa sumber energi terbarukan yang saat ini digunakan sebagai energi alternatif antara lain berasal dari angin, panas bumi, sinar ultraviolet, air dan biomassa. Hal ini dapat dilakukan dengan mengembangkan energi yang berasal dari bahan biomassa. Secara kuantitas bahan baku biomassa begitu melimpah dan mudah untuk didapatkan. Salah satu biomassa yang potensial untuk dikembangkan adalah biomassa *Lemna minor* (*L. minor*).

*L. minor* merupakan gulma perairan yang hidup dipermukaan air dengan periode serta pola pertumbuhan yang panjang dan sangat cepat (Xu *et al.*, 2011). *L. minor* banyak tumbuh di pinggir sawah, tambak dan selokan dan terkadang menutupi keseluruhan permukaan air. Secara komposisi, *L. minor* mengandung karbohidrat sebesar 40-50%, lipid 3-7% dan abu 24% (Gwaze and Mwale, 2015; Zhao *et al.*, 2014). Kandungan karbohidrat yang cukup signifikan pada *L. minor* sangat potensial untuk dijadikan sebagai sumber bioetanol. Salah satu tantangan utama dalam produksi bioetanol berbasis biomassa adalah sulitnya memecah holoselulosa menjadi monomer gula yang bisa difermentasi menjadi etanol. Pengembangan teknologi *pretreatment* merupakan salah satu solusi untuk memecahkan permasalahan ini. Keberhasilan *pretreatment* biomassa lignoselulosa akan

membuka jalan dalam mengembangkan teknologi produksi bioetanol. Selama ini metode *pretreatment* telah banyak dikembangkan dalam proses pemecahan lignoselulosa pada biomassa. Beberapa penelitian tentang metode *pretreatment* lignoselulosa antara lain metode *pretreatment* jerami padi dengan amonia (Ko *et al.*, 2009) dan larutan ionik (Li *et al.*, 2010), *pretreatment* dengan metode *steam explosion* (Ballesteros *et al.*, 2006), *pretreatment* menggunakan *supercritical* CO<sub>2</sub> (Gu *et al.*, 2013), dan *pretreatment* secara biologi menggunakan mikroba baik bakteri maupun jamur (Parisutham *et al.*, 2014; Wan and Li, 2012). Pada penelitian ini dilakukan kombinasi *pretreatment* bertingkat secara fisika-kimia dengan metode *hydrothermal pressure* dan pelarut alkali natrium hidroksida sebagai agen pendegradasi lignoselulosa pada *L. minor*. Perpaduan kedua metode ini diharapkan efektif dalam meningkatkan produksi bioetanol berbasis biomassa.

## **METODE PENELITIAN**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain tanaman air *L. minor* yang dikumpulkan dari kolam yang airnya tergenang di Kabupaten Sinjai, Natrium hidroksida (NaOH) merk KGaA 99% CAS-No: 1310-73-2, aluminium foil *klin pak*, *cling wrap klin pak*, aquades, kertas saring whatman no. 42. Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain grinder *retschmuhle* type DR. 80 b/2q.q, *shieve shaker* restch AS 200 *basic Germany*, cawan petri *pyrex*, oven genlab Ltd 275 °C, *furnance nabertherm Tmax* 1100-1200 °C, neraca analitik *ohaus adventure pro* tipe AV264C, *multiple heating magnetic stirrer* AM4 *Velp scientifica*, tabung reaksi *pyrex*, autoklaf *napco* tipe 8000DES, penyaring *buchner pyrex*.

### **Persiapan bahan baku**

*L. minor* yang telah dikumpulkan diangin-anginkan hingga kering tanpa sinar matahari langsung. *L. minor* yang telah kering digiling menggunakan *grinder* unuk memperkecil ukuran partikelnya. Serbuk hasil penggilingan selanjutnya diayak dengan ayakan 60 mesh.

### **Analisis awal lignin, selulosa dan hemiselulosa**

Sampel yang telah diayak selanjutnya dilakukan analisis awal terhadap kadar selulosa, hemiselulosa dan lignin dengan metode *Chesson* (Datta, 1981).

### **Pretreatment bertingkat**

#### ***Hydrothermal pressure pretreatment***

Proses *pretreatment* awal dilakukan secara fisika dengan metode *hydrothermal pressure*. Masing-masing serbuk *L. minor* sebanyak 10 g dimasukkan ke dalam 5 buah

cawan petri. Setelah itu sampel dimasukkan ke dalam autoklaf, kemudian dipanaskan dengan *hydrothermal pressure* pada suhu 121 °C, tekanan 15-21 psi dengan variasi waktu perlakuan yaitu 5; 15; 30; 45; dan 60 menit. Sampel kemudian didinginkan lalu dilakukan analisis kandungan kadar lignin, selulosa, hemiselulosa dengan metode *Chesson* dan kadar gula total dengan metode *Luff Schoorl*. Waktu optimum degradasi lignoselulosa digunakan sebagai acuan untuk melakukan proses *pretreatment* secara kimiawi dengan pelarut alkali (NaOH).

#### **Metode kimiawi dengan pelarut alkali (NaOH)**

Sampel hasil pemanasan *hydrothermal pressure* sebanyak 10 g kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri. Selanjutnya dipanaskan dengan *hydrothermal pressure* pada waktu optimum, dilanjutkan dengan *pretreatment* menggunakan larutan NaOH dengan variasi konsentrasi 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; dan 3%. Dilakukan dengan cara perendaman dan pengadukan selama 1 jam. Residu dan filtrat dipisahkan kemudian dikeringkan di oven pada suhu 105 °C sampai berat konstan (Selig *et al.*, 2009). Setelah itu dilanjutkan dengan proses analisis lignin, hemiselulosa, selulosa dengan metode *Chesson* dan kadar gula total dengan metode *Luff Schoorl*.

#### **Analisis kadar lignin, hemiselulosa dan selulosa dengan metode *Chesson* (Datta, 1981)**

Sebanyak 1 g (a) sampel kering ditambahkan 150 mL akuades, direfluks pada suhu 100 °C dengan *water bath* selama 1 jam. Hasilnya disaring, residu dicuci dengan air panas (300 mL). Residu kemudian dikeringkan dengan oven sampai konstan kemudian ditimbang (b). Residu ditambahkan dengan 150 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1 N kemudian direfluks dengan *water bath* selama 1 jam pada suhu 100 °C. Hasilnya disaring dan dicuci dengan akuades sampai netral (300 mL) lalu dikeringkan (c). Residu kering ditambahkan 10 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 72% dan direndam pada suhu kamar selama 4 jam. Ditambahkan 150 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1 N dan direfluks pada *water bath* selama 1 jam pada pendingin balik. Residu disaring dan dicuci dengan akuades sampai netral (400 mL) kemudian dipanaskan dalam oven pada suhu 105 °C dan hasilnya ditimbang sampai bobot tetap (d), selanjutnya residu diabukan dan ditimbang (e). Perhitungan kadar selulosa dan kadar lignin didasarkan pada persamaan (1), (2) dan (3):

$$\text{Kadar selulosa} \quad : \frac{c - d}{a} \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{Kadar lignin} \quad : \frac{d - e}{a} \times 100\% \quad (2)$$

$$\text{Kadar hemiselulosa} \quad : \frac{b - c}{a} \times 100\% \quad (3)$$

Dimana :        a = berat sampel (g)  
                  b = berat residu penimbangan kedua (g)

c = berat residu pada penimbangan ketiga (g)  
 d = berat residu pada penimbangan keempat (g)  
 e = berat abu (g)

### Analisis kadar gula total dengan metode *Luff Schoorl* (Marrubini *et al.*, 2017)

Penentuan kadar gula total diawali dengan preparasi sampel terlebih dahulu. Ditimbang sampel halus sebanyak 2,5 g ke dalam labu ukur 250 mL, ditambahkan akuades sebanyak 50 mL, 40 mL Pb-asetat 5%, dikocok, ditambah 5 mL Na-fosfat 5%, kocok kuat selama 1 menit, tambahkan akuades sampai batas labu ukur. Filtrat yang diperoleh, diuapkan dengan *hotplate* sampai didapat  $\frac{1}{2}$  volume awal, didinginkan, dipindahkan ke labu ukur 100 mL, dan ditambah akuades sampai tanda batas sehingga diperoleh larutan A. Sebanyak 50 mL larutan A, ditambah 5 tetes indikator metil orange dan 20 mL HCl 4 N, larutan dipanaskan selama 30 menit, dinginkan sampai suhu menjadi 20 °C. Kemudian dinetralkan dengan NaOH 4 N, ditepatkan dengan akuades sampai tanda batas sehingga diperoleh larutan B. Setelah larutan sampel telah siap, dilakukan prosedur penetapan gula total dengan memasukkan 25 mL sampel ke dalam labu destilasi dan direfluks selama 15 menit, didinginkan, ditambah 10 mL KCl 30% dan 25 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 6 N, kemudian dititrisi dengan larutan tiosulfat 0,1 N hingga berwarna kuning jerami. Hasil titrasi ditambahkan dengan 2 mL amilum 1% dan dititrisi dengan natrium tiosulfat 0,1 N sampai berwarna putih susu. Titrasi juga dilakukan terhadap blanko. Penentuan kadar gula reduksi ditentukan dengan perhitungan selisih dari titrasi blanko dengan titrasi sampel yang kemudian hasilnya dikorelasikan dengan tabel *Luff Schoorl*. Kadar gula reduksi dihitung menggunakan persamaan (4), (5), dan (6):

$$a = \frac{(V_{\text{blanko}} - V_{\text{natio}})(\text{rata-rata standarisasi})}{\text{Normalitas standar}} \quad (4)$$

$$b = \frac{X_a + (a - B_b)(X_b - X_a)}{B_a - B_b} \times 0,09531 \quad (5)$$

Kadar gula total dihitung dengan persamaan:

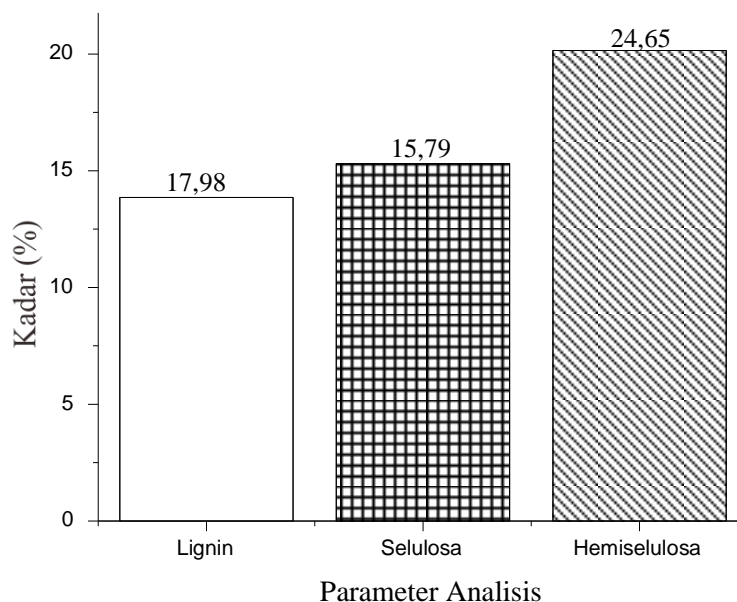
$$\text{Kadar gula total} = \frac{b}{W_{\text{sampel}}} \times F_p \times 100\% \quad (6)$$

## PEMBAHASAN

### Analisa awal lignin, selulosa dan hemiselulosa

Proses awal analisis komposisi *L. minor* dilakukan untuk melihat perbandingan kadar lignin, selulosa dan hemiselulosa dengan kadar sampel setelah dilakukan proses *pretreatment*. Metode analisis lignin, selulosa dan hemiselulosa yang diadopsi adalah metode *chesson* (Datta, 1981). Hasil analisis kadar lignin, selulosa dan hemiselulosa dari

10,245 g sampel *L. minor* menunjukkan komposisi kadar yang berbeda. Data komposisi disajikan pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Kandungan lignin, selulosa dan hemiselulosa pada *L. minor*

Data awal ini nantinya akan digunakan sebagai data pembandingan untuk melihat efektivitas dari proses *pretreatment* yang dilakukan.

### ***Pretreatment* bertingkat**

*Pretreatment* merupakan proses yang memegang peranan sangat penting dalam pembuatan bioetanol dari biomassa. Hal tersebut disebabkan karena pada tahap ini dilakukan proses degradasi terhadap lignin dan hemiselulosa. Lignin dan hemiselulosa menjadi kendala utama dalam proses pembuatan bioetanol disebabkan struktur lignin dan hemiselulosa yang begitu keras dan kaku sehingga pada tahap fermentasi, yaitu tahap biokonversi gula menjadi bioetanol mejadi tidak maksimal. Pada penelitian ini proses *pretreatment* dilakukan secara bertingkat yaitu dengan metode fisika (*hydrothermal pressure*) dan metode kimiawi (pelarut alkali natrium hidroksida).

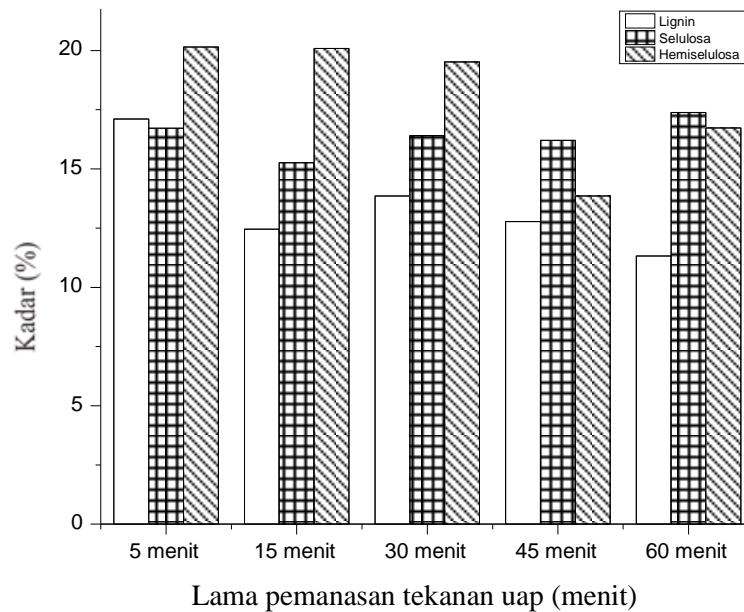
### ***Hydrothermal pressure pretreatment***

*Pretreatment* dengan metode *hydrothermal pressure* dilakukan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C dengan tekanan 15-20 psi. Sampel *L. minor* dengan jumlah yang sama ditimbang sebanyak 10 g dan diberikan perlakuan dengan variasi lama pemanasan. Pada proses ini pemanasan dilakukan dengan 5 variasi waktu yang berbeda yaitu 5, 15, 30, 45, dan 60 menit. Hal ini bertujuan untuk menentukan efektivitas waktu *pretreatment* dengan *hydrothermal pressure* terhadap laju degradasi lignin dan

hemiselulosa serta peningkatan kadar selulosa. Berdasarkan penelitian yang di lakukan diperoleh hasil berdasarkan data pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil analisis kadar lignin, selulosa dan hemiselulosa dengan metode *hydrothermal pressure pretreatment*

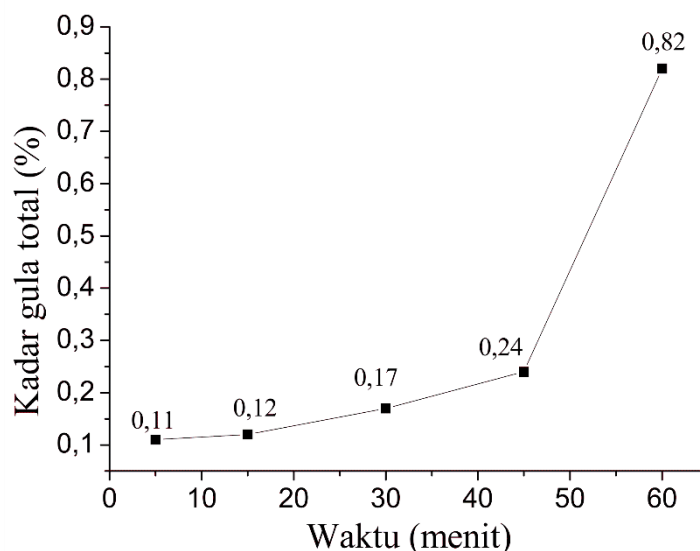
Sampel	Lignin (%)	Selulosa (%)	Hemiselulosa (%)
5 menit	17,11	16,72	20,15
15 menit	12,46	15,26	20,09
30 menit	13,86	16,41	19,52
45 menit	12,78	16,21	13,86
60 menit	11,32	17,39	16,73



**Gambar 2.** Pengaruh lama pemanasan *hydrothermal pressure* terhadap penurunan dan peningkatan kadar lignin, hemiselulosa, selulosa

Berdasarkan data pada Gambar 2 selama 5 menit, 10 menit, 15 menit, 30 menit dan 45 menit berturut-turut menyebabkan degradasi kadar lignin sebesar 4,84%, 30,70%, 22,91%, 22,91%, 28,92% dan 37,04%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa waktu *pretreatment* optimum diperoleh pada waktu 60 menit. Hal tersebut terjadi karena pada pemanasan 60 menit kadar lignin dan hemiselulosa mengalami degradasi yang cukup signifikan serta peningkatan kadar selulosa dalam sampel dan penurunan kadar hemiselulosa jika dibandingkan dengan data tahap awal sampel tanpa perlakuan seperti pada Gambar 1. Terlihat bahwa *pretreatment* dengan metode *hydrothermal pressure* yang semakin lama cenderung menyebabkan kadar lignin pada sampel *L.minor* menurun. Penurunan tersebut diindikasikan karena lignin mengalami degradabilitas oleh pengaruh panas tinggi dan tekanan dengan intensitas waktu yang cukup lama, akibatnya stabilitas struktur

lignin yang kaku dan rigid menjadi menurun. Pada tahap ini efektivitas reduksi kadar lignin yang terkandung dalam *L.minor* sebesar 37,04%. Tahap selanjutnya dilakukan analisis terhadap kadar gula total untuk masing-masing perlakuan. Berdasarkan hasil analisis kadar gula total dengan metode *Luff Schoorl* (AOAC, 2000) diperoleh data seperti pada Gambar 3.



**Gambar 3.** Kadar gula total sampel hasil *pretreatment* dengan metode *hydrothermal pressure*

Hasil analisis kadar gula total menunjukkan bahwa waktu optimum *pretreatment* dengan metode *hydrothermal pressure* pada selang waktu 60 menit. Kadar gula total yang diperoleh pada waktu optimum sebesar 0,82%. Pada *pretreatment hydrothermal pressure* selama 5 menit, 15 menit, 30 menit dan 45 menit diperoleh kadar gula total berturut-turut sebesar 0,11%, 0,12%, 0,17%, dan 0,24%. *Pretreatment* dengan *hydrothermal pressure* diindikasikan menyebabkan terjadinya pemecahan gula kompleks menjadi gula sederhana. Selulosa dan hemiselulosa yang terkandung dalam biomassa *L.minor* mengalami pemecahan ikatan glikosidik akibat pemanasan tinggi dengan tekanan sehingga menyebabkan terbentuknya oligomer, dimer maupun monomer dari glukosa. Hal tersebut berpengaruh terhadap meningkatnya kadar gula total pada sampel *L.minor* dengan perlakuan awal *hydrothermal pressure* yang lebih lama (Brebua and Vasile, 2010).

#### ***Pretreatment* dengan Pelarut Alkali**

Pada proses *pretreatment* dengan pelarut alkali (NaOH) dilakukan dengan variasi konsentrasi NaOH. Penggunaan variasi konsentrasi bertujuan untuk melihat pengaruh konsentrasi terhadap laju degradasi lignin dan hemiselulosa. Perlakuan awal terhadap sampel dilakukan dengan metode *hydrothermal pressure* selama 60 menit. Hal tersebut

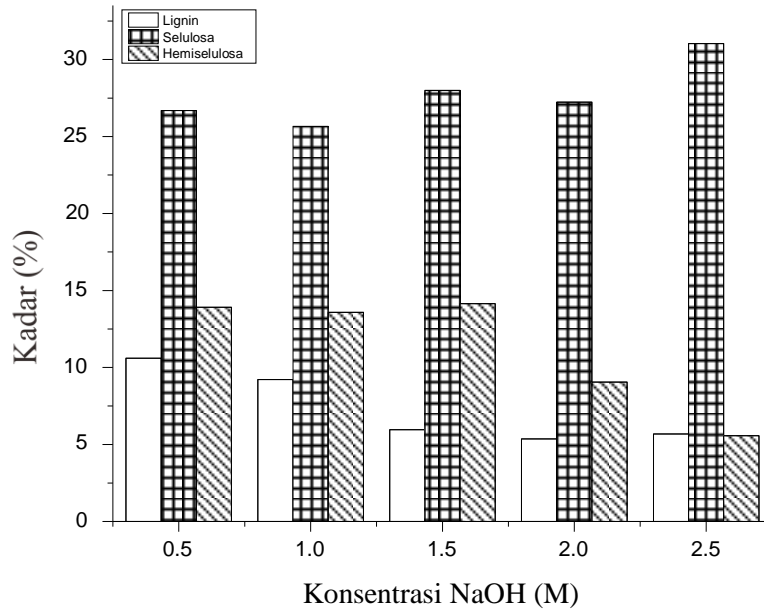


untuk memudahkan proses degradasi lignin dengan NaOH. Sampel ditimbang sebanyak 10 gram lalu kemudian di larutkan dengan NaOH dengan perbandingan 1 : 10 lalu diaduk dengan *magnetic stirrer* selama 1 jam. Variasi konsentrasi NaOH yang digunakan antara lain 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; dan 2,5 M. Indikasi larutnya lignin pada NaOH dapat dilihat dari filtrat sampel yang berwarna hitam kecoklatan. Setelah satu jam sampel dicuci dengan akuades hingga netral lalu di keringkan dalam oven pada suhu 80 °C. Selanjutnya, kadar lignin, selulosa dan hemiselulosa dianalisis dengan metode metode *Chesson* (Datta, 1981). Berdasarkan hasil analisis diperoleh data seperti yang terlihat pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil analisis kadar lignin, selulosa dan hemiselulosa dengan *alkaline pretreatment*

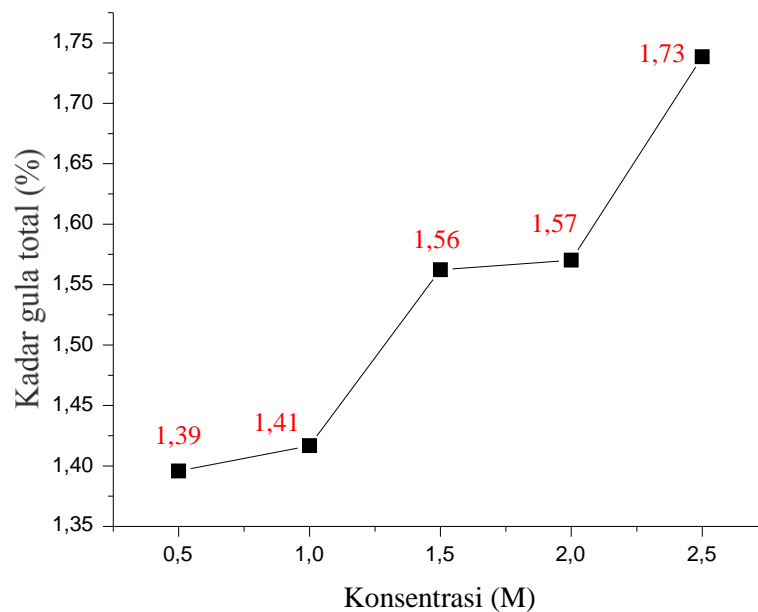
Konsentrasi sampel (M)	Lignin (%)	Selulosa (%)	Hemiselulosa (%)
0,5	10,6	26,69	13,91
1	9,22	25,66	13,58
1,5	5,96	27,99	14,14
2	5,36	27,23	9,05
2,5	5,68	31,03	5,57

Hasil analisis yang diperoleh menunjukkan bahwa efektivitas optimum degradasi lignin yang terkandung dalam sampel *L.minor* diperoleh pada konsentrasi NaOH 2 M dengan nilai reduksi lignin sebesar 52,63%. Adapun reduksi lignin pada NaOH 0,5 M sebesar 6,36%, reduksi lignin pada konsentrasi NaOH 1,0 M sebesar 18,57%, reduksi lignin pada konsentrasi NaOH 1,5 M sebesar 47,33% dan reduksi lignin pada konsentasi NaOH 2,5 M sebesar 49,78%. Efektivitas degradasi lignin dengan NaOH menunjukkan hasil yang cukup baik hal tersebut terlihat dari nilai efektivitas degradasi lebih dari 50%. Namun, terjadi perbedaan pada konsentrasi 2,0 M dan 2,5 M. Pada tahapan preparasi sampel reduksi ukuran partikel telah dilakukan hingga 60 mesh sehingga efektivitas sampel seharusnya diperoleh pada konsentrasi 2,5 M. Menurut Sun *and* Cheng (2002) ukuran partikel akan meningkatkan porositas sampel yang mempengaruhi kontak terhadap senyawa delignifikator dan juga sebagai salah satu cara untuk memutuskan rantai polimer menjadi lebih pendek sehingga lignin lebih mudah untuk terpisah. Penggunaan senyawa alkali seperti NaOH pada proses *alkaline pretreatment* dapat menyebabkan pecahnya struktur lignin sehingga kadar lignin semakin berkurang. Adanya perbedaan tersebut diindikasikan terjadi karena faktor pengadukan sampel yang kurang homogen sehingga interaksi antara pelarut dengan sampel kurang menjadi maksimal.



**Gambar 4.** Data pengaruh konsentrasi NaOH terhadap penurunan dan peningkatan kadar liginin, hemiselulosa, selulosa

Analisis kadar gula total sampel dilakukan dengan metode *Luff Schoorl* (AOAC, 2000) seperti ditunjukkan pada Gambar 5.



**Gambar 5.** Kadar gula total sampel hasil *alkaline pretreatment*

Hasil analisis kadar gula total menunjukkan konsentrasi 2,5 M merupakan konsentrasi optimum dengan nilai kadar gula total sebesar 1,74%. Adapun nilai kadar gula total konsentrasi alkali dapat dilihat pada Gambar 5. Peningkatan kadar gula total semakin tinggi seiring dengan bertambahnya konsentrasi larutan. Peningkatan konsentrasi NaOH mengakibatkan terdegradasinya ikatan glikosidik pada rantai polimer selulosa dan

hemiselulosa. Faktor peningkatan porositas sampel juga memegang peranan penting dalam meningkatkan kadar gula total pada konsentrasi tinggi. Hal ini dikarenakan NaOH dengan konsentrasi tinggi efektif melarutkan lignin, mendegradasi struktur hemiselulosa sehingga meningkatkan kadar gula total pada sampel.

## KESIMPULAN

Perlakuan awal dengan metode *hydrothermal pressure* memberikan efektivitas penurunan kadar lignin sebesar 37,04% dengan waktu optimum selama 60 menit. Kandungan kadar lignin sampel *L. minor* setelah waktu *pretreatment* selama 60 menit sebesar 11,32%, kadar selulosa 17,39%, kadar hemiselulosa 16,73% dan kadar gula total 0,82%. Untuk tahapan *pretreatment* dengan pelarut alkali (NaOH) memberikan efektivitas penurunan kadar lignin sebesar 70,18% dengan konsentrasi NaOH 2,0 M. Kandungan kadar lignin *L. minor* setelah *pretreatment* dengan NaOH 2,0 M sebesar 5,36%, kadar. Kandungan kadar selulosa, hemiselulosa dan gula total optimum diperoleh pada konsentrasi 2,5 M dengan nilai kadar 31,03; 5,57; dan 1,74%. Proses *pretreatment* bertingkat dengan mengkombinasikan metode *hydrothermal pressure* dan pelarut alkali (NaOH) memberikan hasil yang cukup baik terhadap proses degradasi lignin yang terkandung dalam sampel *L. minor* sehingga sangat efektif digunakan dalam proses pembuatan bioetanol dengan bahan dasar biomassa.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini di biayai penuh oleh Universitas Hasanuddin melalui Hibah Penelitian Dosen Pemula tahun 2017.

## DAFTAR PUSTAKA

- AOAC, 2000. *Official Methods of Analysis 17<sup>th</sup> Edn, Official Association of Official Analysis Chemists*. Gaithersburg, MD.
- Atabani A.E., Silitonga A.S., Anjum, B.I., Mahlia, T.M.I., Masjuki, H.H., dan Mekhilef, S., 2012. A Comprehensive Review on Biodiesel as an Alternative Energy Resource and Its Characteristics. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 16 (4), 2070–93.
- Ballesteros, I., Negro, M. J., Oliva, J. M., Cabañas, A., Manzanares, P., & Ballesteros, M. (2006). Ethanol Production From Steam-Explosion Pretreated Wheat Straw. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 129, 496–508.
- Brebu, M., dan Vasile, C., 2010. Thermal Degradation of Lignin—a Review. *Cellulose Chemistry & Technology* 44 (9), 353–63.

- Datta, R., 1981. Acidogenic Fermentation of Lignocellulose-Acid Yield and Conversion of Components. *Biotechnology and Bioengineering* 23 (9), 2167–70.
- Gu, T., Held, M. A., and Faik, A., 2013. Supercritical CO<sub>2</sub> and Ionic Liquids for the Pretreatment of Lignocellulosic Biomass in Bioethanol Production. *Environmental Technology* 34 (13–14), 1735–49.
- Gwaze, F.R., and Mwale, M., 2015. The Prospect of Duckweed in Pig Nutrition: A Review. *Journal of Agricultural Science* 7 (11), 189–99.
- Ko, J. K., Bak, J. S., Jung, M. W., Lee, H. J., Choi, I. G., Kim, T. H., & Kim, K. H., 2009. Ethanol Production from Rice Straw Using Optimized Aqueous-Ammonia Soaking Pretreatment and Simultaneous Saccharification and Fermentation Processes. *Bioresource Technology* 100 (19), 4374–80.
- Li, C., Knierim, B., Manisseri, C., Arora, R., Scheller, H.V., Auer, M., Vogel, K.P., Simmons, B.A., and Singh, S., 2010. Comparison of Dilute Acid and Ionic Liquid Pretreatment of Switchgrass: Biomass Recalcitrance, Delignification and Enzymatic Saccharification. *Bioresource Technology* 101 (13), 4900–4906.
- Marrubini, G., Papetti, A., Genorini, E., and Ulrici, A., 2017. Determination of the Sugar Content in Commercial Plant Milks by Near Infrared Spectroscopy and Luff-Schoorl Total Glucose Titration. *Food Analytical Methods* 10 (5), 1556–67.
- Parisutham, V., Kim, T.H., and Lee, S.K., 2014. Feasibilities of Consolidated Bioprocessing Microbes: From Pretreatment to Biofuel Production. *Bioresource Technology* 161, 431–40.
- Selig, M.J., Vinzant, T.B., Himmel, M.E., and Decker, S.R., 2009. The Effect of Lignin Removal by Alkaline Peroxide Pretreatment on the Susceptibility of Corn Stover to Purified Cellulolytic and Xylanolytic Enzymes. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 155 (1–3), 397–406.
- Sun, Y., and Cheng, J., 2002. Hydrolysis of Lignocellulosic Materials for Ethanol Production : A Review Q. *Bioresource Technology* 83 (1), 1–11.
- Wan, C., and Li, Y., 2012. Fungal Pretreatment of Lignocellulosic Biomass. *Biotechnology Advances* 30 (6), 1447–57.
- Xu, J., Cui, W., Cheng, J.J., and Stomp, A.M., 2011. Production of High-Starch Duckweed and Its Conversion to Bioethanol. *Biosystems Engineering* 110 (2), 67–72.
- Zhao X., Moates G. K., Wellner N., Collins S. R A., Coleman M. J., and Waldron K. W., 2014. Chemical Characterisation and Analysis of the Cell Wall Polysaccharides of Duckweed (*Lemna Minor*). *Carbohydrate Polymers* 111, 410–18.