

## PENGARUH PROSES DELIGNIFIKASI BASA DAN HIDROLISIS ASAM DENGAN PENAMBAHAN $\text{FeSO}_4$ PADA PRODUKSI GLUKOSA DARI SPIRODELA POLYRHIZA

Hargono Hargono, Ika Nurcahyaningih, Permana Dwi Candra

Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro

Jl. Prof. Sudarto, S.H., Tembalang, Semarang 50275

\*Email: hargono@che.undip.ac.id

### Abstrak

*Spirodela polyrhiza* merupakan tanaman air yang mengambang bebas, tumbuh cepat, dan tersebar luas di badan air yang tenang atau mengalir lambat. Proses hidrolisis pada *Spirodela polyrhiza* mengalami hambatan karena adanya kandungan lignin. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh penambahan senyawa basa pada proses delignifikasi dan pengaruh konsentrasi  $\text{FeSO}_4$  pada proses hidrolisis untuk produksi glukosa dari tanaman *Spirodela polyrhiza*. Proses produksi glukosa dilakukan melalui beberapa tahapan yaitu proses pembuatan tepung *Spirodela polyrhiza*, proses pretreatment kimia (delignifikasi), dan proses hidrolisis asam. Proses delignifikasi dan hidrolisis dilakukan di dalam oven pada suhu  $121^\circ\text{C}$  dan tekanan 1 atm. Senyawa delignifikasi yang digunakan dalam proses delignifikasi adalah  $\text{NaOH}$ ,  $\text{KOH}$ , dan  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ . Proses hidrolisis ditambahkan senyawa  $\text{FeSO}_4$  pada berbagai konsentrasi yaitu 20 mmol/L, 40 mmol/L, dan 80 mmol/L. Hasil penelitian menunjukkan kadar glukosa terendah yaitu 4,55% yang diperoleh pada perlakuan delignifikasi menggunakan senyawa  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  dan penambahan katalis  $\text{FeSO}_4$  sebesar 20 mmol/L. Sedangkan, kadar glukosa terbesar yaitu 5,79% yang diperoleh dengan perlakuan delignifikasi menggunakan senyawa  $\text{NaOH}$  dan penambahan katalis  $\text{FeSO}_4$  sebesar 80 mmol/L pada proses hidrolisis asam.  $\text{NaOH}$  merupakan senyawa yang paling efektif dalam proses delignifikasi dan penambahan  $\text{FeSO}_4$  pada proses hidrolisis dapat meningkatkan kadar glukosa yang diperoleh.

### Abstract

*Spirodela polyrhiza* is a free-floating, fast-growing, and widely distributed aquatic plant in calm or slow-flowing bodies of water. The hydrolysis process in *Spirodela polyrhiza* was hampered due to the presence of lignin content. This study aims to study the effect of adding base compounds on the delignification process and the effect of  $\text{FeSO}_4$  concentration on the hydrolysis process on glucose production from *Spirodela polyrhiza*. The glucose production process is carried out through several stages, namely the process of making *Spirodela polyrhiza* flour, the chemical pretreatment process (delignification), and the acid hydrolysis process. The delignification and hydrolysis processes were carried out in an oven at a temperature of  $121^\circ\text{C}$  and a pressure of 1 atm. The delignification compounds used in the delignification process are  $\text{NaOH}$ ,  $\text{KOH}$ , and  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ . In the hydrolysis process,  $\text{FeSO}_4$  compounds were added at various concentrations, namely 20 mmol/L, 40 mmol/L, and 80 mmol/L. The results showed that the lowest glucose level was 4.55% which was obtained in the delignification treatment using  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  compound and the addition of a  $\text{FeSO}_4$  catalyst of 20 mmol/L. Meanwhile, the highest glucose level was 5.79% which was obtained by delignification treatment using  $\text{NaOH}$  compound and the addition of 80 mmol/L  $\text{FeSO}_4$  catalyst in the acid hydrolysis process.  $\text{NaOH}$  is the most effective compound in the delignification process and the addition of  $\text{FeSO}_4$  in the hydrolysis process can increase levels of glucose obtained.

**Keywords:** Duckweed, *Spirodela*, delignifikasi, hidrolisis

### 1. PENDAHULUAN

Bahan dengan kandungan lignoselulosa sangat berpotensi sebagai bahan baku penghasil bahan bakar alternatif ramah lingkungan. Lignoselulosa diubah menjadi glukosa melalui hidrolisis dilanjutkan dengan proses fermentasi sehingga diperoleh bioetanol yang dapat digunakan sebagai bahan bakar alternatif (Zheng *et al.*, 2009).

*Duckweed* (*Lemnaceae*) atau rumput bebek merupakan tumbuhan berbunga terkecil dan paling cepat berkembang di bumi (Ge *et al.*, 2012). Rumput ini dapat tumbuh pada semua musim (Landesman, Parker, Fedler, & Konikoff, 2005; Xu *et al.*, 2011). Rumput bebek terdiri dari beberapa jenis utama yaitu *Lemna*, *Spirodela*, *Wolffia*, dan *Wolffiella*.

*Spirodela polyrhiza* merupakan tanaman air yang mengambang bebas, tumbuh cepat, dan tersebar luas di badan air yang tenang atau mengalir lambat. Secara morfologi, tumbuhan monokotil ini merupakan tumbuhan yang sederhana dan tidak memiliki struktur khusus seperti daun atau batang, tetapi terdiri dari struktur berbentuk bulat telur pipih yang disebut pelepah dengan akar untuk stabilisasi. Warna hijau cerah (bagian atas) dan ungu (bagian bawah) dari daun akan meningkatkan nilai estetika dalam akuarium (Sharma *et al.*, 2019).

Delignifikasi atau pengurangan lignin dapat dilakukan secara kimia, yaitu menggunakan asam atau basa. Delignifikasi bertujuan untuk mengubah atau merusak struktur dari komponen penyusun pada biomassa sehingga memudahkan enzim untuk menghidrolisis menjadi monomer-monomer gula. Metode delignifikasi mengacu pada proses pelarutan dan pemisahan satu atau lebih komponen-komponen dari bahan (biomassa) sehingga pada ikatan komponen bahan tersebut menjadi longgar dan memudahkan bahan kimia ataupun biologi masuk kemudian menguraikannya (Susmiati, 2018). Delignifikasi secara basa biasanya menggunakan basa seperti natrium, kalium, kalsium, dan amonia pada temperatur dan tekanan tertentu dengan tujuan untuk mendegradasi ester dan ikatan samping glikosida pada material sehingga menyebabkan kerusakan struktur lignin, pembengkakan selulosa, dan dekrystalisasi. (Bensah, 2013). Basa berkonsentrasi rendah (<4% b/b) sering digunakan pada temperatur dan tekanan yang tinggi. Beberapa basa seperti NaOH, KOH, Ca(OH)<sub>2</sub>, atau amonia anhidris sering digunakan dalam proses delignifikasi (Jędrzejczyk, 2019).

Hidrolisis adalah proses perubahan selulosa menjadi selobiosa dan selanjutnya menjadi gula-gula sederhana seperti glukosa (Hermiati, 2017). Proses hidrolisis secara asam dapat dilakukan dengan penambahan asam, seperti asam sulfat, asam perklorat, dan asam klorida. Asam ini dapat mengubah polisakarida (pati, selulosa) menjadi gula. Asam akan bersifat sebagai katalisator yang dapat membantu dalam proses pemecahan karbohidrat menjadi gula. Rendemen glukosa yang tinggi dapat dihasilkan dari hidrolisis asam bila dicapai kondisi yang optimum (Girisuta, 2007).

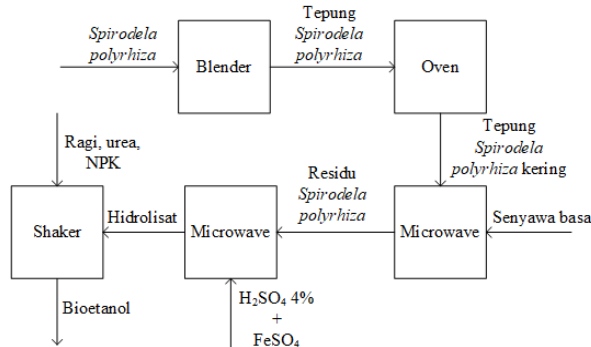
Penambahan FeSO<sub>4</sub> pada proses hidrolisis asam menggunakan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dapat meningkatkan konversi selulosa. Dalam reaksi katalisis,

proton melemahkan ikatan energi dengan menarik elektron sehingga ikatan menjadi mudah rusak. Ion logam dapat memainkan peran yang sama dan lebih efektif daripada proton. Ion logam mempunyai muatan positif untuk berpasangan dengan elektron yang lain, namun proton hanya dapat berpasangan dengan satu elektron. FeSO<sub>4</sub> mempunyai proton lebih banyak daripada H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pada pH yang sama sehingga FeSO<sub>4</sub> dapat menyerap pada posisi C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>6</sub>, dan O<sub>5</sub> serta menyebabkan cincin piran mudah rusak. Penambahan FeSO<sub>4</sub> merusak struktur kristalin selulosa dan meningkatkan luas permukaan sehingga dapat meningkatkan kandungan glukosa (Zhao *et al.*, 2011).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari pengaruh delignifikasi dan pengaruh konsentrasi FeSO<sub>4</sub> terhadap kadar glukosa dalam *Spirodela polyrhiza*

## 2. METODOLOGI

Penelitian dilakukan di Laboratorium Pengolahan Limbah Teknik Kimia Universitas Diponegoro. Bahan-bahan yang digunakan antara lain *Spirodela polyrhiza* yang diperoleh dari kolam ikan di daerah Banyumas, NaOH, KOH, Ca(OH)<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, FeSO<sub>4</sub>, akuades, glukosa anhidrat, fehling A, fehling B, dan *methylene blue*. Skema pembuatan bioetanol ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Skema Pembuatan Bioetanol

### 2.1 Preparasi Bahan

*Spirodela polyrhiza* dibersihkan dari akarnya dan dicuci dengan air bersih hingga tidak ada kotoran yang menempel.

### 2.2 Pembuatan Tepung *Spirodela polyrhiza*

*Spirodela polyrhiza* yang telah dibersihkan kemudian dikeringkan di bawah terik matahari selama 3 hari, selanjutnya bahan tersebut dimasukkan ke dalam microwave pada suhu 60°C agar kandungan air menjadi 4-5%. Bahan

yang telah kering dihaluskan menggunakan blender dan diayak sampai lolos ukuran 80 mesh.

### 2.3 Delignifikasi

Sebanyak 10% b/v tepung *Spirodela polyrhiza* dilarutkan ke dalam masing-masing jenis senyawa dengan konsentrasi 4% (b/v) dan dimasukkan ke dalam microwave dengan tekanan 15 psi pada suhu 121°C selama 60 menit. Setelah didinginkan, residu dicuci dengan akuades sampai pH netral. Residu dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C.

### 2.4 Hidrolisis

Residu dengan persentase 10% (b/v) dihidrolisis menggunakan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 4% dalam erlenmeyer 1000 ml yang ditutup rapat dan ditambahkan FeSO<sub>4</sub> dengan variasi konsentrasi 20 mmol/L; 40 mmol/L; dan 80 mmol/L di dalam microwave dengan tekanan 15 psi dan suhu 121°C selama 15 menit. Hidrolisat dipanaskan sampai suhu 50°C selama 15 menit untuk mengurangi konsentrasi bahan volatil. Ca(OH)<sub>2</sub> ditambahkan sebanyak 34 g/L ke dalam hidrolisat tersebut dan diaduk selama 30 menit menggunakan *magnetic stirrer* untuk membersihkan bahan berbahaya dalam hidrolisat. Hidrolisat disaring menggunakan kertas saring untuk menghilangkan endapan CaSO<sub>4</sub> yang terbentuk.

### 2.5 Penentuan Kadar Lignin

Menurut Yasuda (2001) penentuan kadar lignin dapat dilakukan dengan menggunakan Metode Klason. Sampel ditimbang sebanyak 2g kemudian dimasukkan dalam bejana gelas dan ditambahkan sedikit demi sedikit H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 72% sebanyak 40 ml sambil diaduk sampai semua sampel terendam dan terdispersi. Setelah terdispersi, bejana gelas ditutup dan dijaga pada temperatur 20°C selama 2 jam, selanjutnya larutan ditambahkan 400 mL dan dididihkan selama 4 jam, didiamkan sampai terbentuk endapan. Campuran yang berisi endapan ini disaring unruk mendapatkan endapan lignin. Lignin dicuci dengan air panas lalu dikeringkan dalam oven dan setelah kering didinginkan di dalam desikator dan ditimbang tiap 15 menit sampai berat lignin konstan. Kadar lignin dihitung dengan persamaan berikut.

$$\text{Kadar lignin} = \frac{\text{Berat endapan}}{\text{Berat sampel}} \times 100\% \quad (1)$$

### 2.6 Penentuan Kadar Glukosa

Menurut Hildreth dan Brown (1942), penentuan kadar glukosa dapat dilakukan menggunakan metode Lane-Eynondengan diawali pembuatan glukosa standar dan standarisasi kadar glukosa. Glukosa standar dibuat dengan cara melarutkan 1,25 g glukosa anhidrit dalam 500 ml akuades. Standarisasi kadar glukosa dilakukan dengan cara 5 ml glukosa standar diencerkan sampai 100 ml dan diambil 5 ml. pH dibuat netral. Larutan ditambahkan 5 ml Fehling A dan 5 ml Fehling B. Kemudian larutan dipanaskan hingga 60°C-70°C. Larutan dititrasi dengan glukosa standar sambil dipanaskan 60°C-70°C sampai warna biru hampir hilang dan ditambahkan 2 tetes *Methylene Blue*. Larutan dititrasi lagi dengan glukosa standar sambil dipanaskan 60°C-70°C sampai warna biru menjadi merah bata. Kebutuhan titran dicatat volumenya (F = V titran).

Sampel sebanyak 5 ml diencerkan hingga 100 ml dan diambil 5 ml untuk dinetralkan pH-nya. Larutan ditambahkan 5 ml Fehling A, 5 ml Fehling B, dan 5 ml glukosa standar yang telah diencerkan. Kemudian larutan dipanaskan hingga 60°C-70°C. Larutan dititrasi dengan glukosa standar sambil dipanaskan 60°C-70°C sampai warna biru hampir hilang dan ditambahkan 2 tetes *Methylene Blue*. Larutan dititrasi lagi dengan glukosa standar sambil dipanaskan 60°C-70°C sampai warna biru menjadi merah bata. Kebutuhan titran dicatat volumenya (M = V titran).

Kadar glukosa (X) dihitung menggunakan rumus berikut.

$$X = \frac{(F - M) \times \frac{V_{\text{total}}}{V_{\text{titrasi}}} \times \frac{V_{\text{pengenceran}}}{V_{\text{yang diambil}}}}{V_{\text{total}} \times p} \times 0,0025 \times 100\% \quad (2)$$

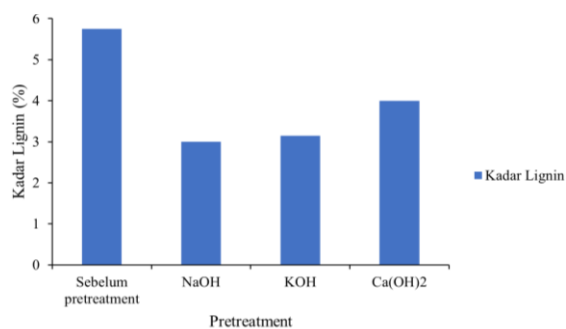
## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan hasil dari pengaruh jenis alkali terhadap kadar lignin dan pengaruh konsentrasi FeSO<sub>4</sub> terhadap kadar glukosa.

### 3.1 Pengaruh Jenis Alkali pada Proses

#### Delignifikasi

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, diperoleh kadar lignin bahan baku pada proses sebelum dan sesudah delignifikasi seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.

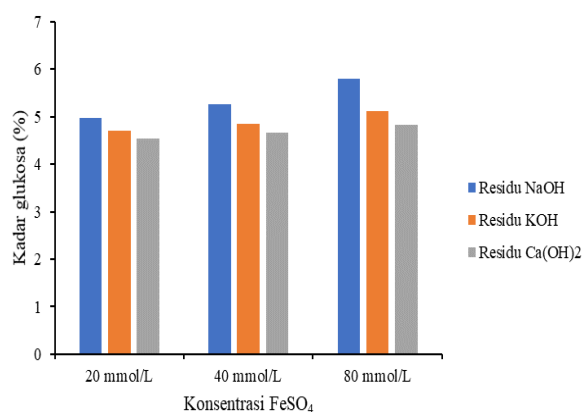


**Gambar 2. Pengaruh jenis senyawa alkali terhadap kadar lignin**

Delignifikasi *Spirodela polyrhiza* dilakukan pada suhu  $121\pm 3^\circ\text{C}$  dan tekanan 15 psi selama 60 menit menggunakan senyawa NaOH, KOH, dan  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  pada konsentrasi 4% (b/v). Seperti ditunjukkan pada Gambar 2, diperoleh kadar lignin pada proses sebelum delignifikasi adalah 5,8%, sedangkan pada proses delignifikasi didapatkan kadar lignin masing-masing 3,0%, 3,2%, dan 4,0%. Berdasarkan fenomena di atas, dapat diamati bahwa senyawa yang paling efektif dalam proses delignifikasi adalah NaOH dan KOH diikuti dengan  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ . Fenomena tersebut disebabkan oleh sifat basa NaOH dan KOH lebih tinggi dibandingkan  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ . Kelarutan  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  dalam air menurun seiring dengan naiknya temperatur air sedangkan kelarutan NaOH dan KOH meningkat seiring dengan naiknya temperatur air. Pada proses delignifikasi dengan suhu  $121^\circ\text{C}$ , NaOH dan KOH mempunyai kelarutan dalam air yang lebih besar dibandingkan dengan  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  sehingga reduksi lignin yang dihasilkan pada  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  lebih rendah dibandingkan NaOH dan KOH (Green dan Perry, 2008).

### 3.2 Pengaruh Konsentrasi $\text{FeSO}_4$ pada Proses Hidrolisis

Hasil penelitian menunjukkan kadar glukosa pada proses hidrolisis pada suhu  $121\pm 3^\circ\text{C}$ , tekanan 15 psi selama 15 menit seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3. Berdasarkan Gambar 3, diperoleh kadar glukosa hasil hidrolisis asam dengan penambahan  $\text{FeSO}_4$  pada konsentrasi 20 mmol/L, 40 mmol/L, dan 80 mmol/L pada residu hasil delignifikasi NaOH, KOH, dan  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  masing-masing 4,97%, 4,70%, dan 4,55% (NaOH); 5,27%, 4,85%, dan 4,67% (KOH); 5,79%, 5,12%, dan 4,82% (CaOH).



**Gambar 3. Pengaruh konsentrasi  $\text{FeSO}_4$  terhadap kadar glukosa**

Dari penelitian yang dilakukan, dapat diamati bahwa semakin besar konsentrasi  $\text{FeSO}_4$  maka semakin besar pula kadar glukosa yang diperoleh. Fenomena tersebut disebabkan oleh penambahan  $\text{FeSO}_4$  dalam air akan menyebabkan terbentuknya ion  $\text{H}^+$  sehingga semakin besar konsentrasi yang ditambahkan maka semakin besar pula ion  $\text{H}^+$  yang terbentuk (Miliordos dan Xantheas, 2015). Ion  $\text{H}^+$  berperan sebagai katalisator pada proses hidrolisis yang menyebabkan selulosa menjadi tidak stabil. Hal tersebut terjadi karena ikatan C-O pada selulosa semakin banyak yang rusak dan mengakibatkan peningkatan glukosa yang dilepaskan pada saat hidrolisis. Ion  $\text{Fe}^{2+}$  juga mampu mengabsorpsi atom oksigen glukosa pada selulosa untuk membentuk kompleks intermediet sehingga mampu menurunkan energi aktivasi dan meningkatkan efisiensi hidrolisis (Igbojionu *et al.*, 2020).

## 4. KESIMPULAN DAN SARAN

Kadar lignin *Spirodela polyrhiza* paling rendah yaitu sebesar 3,0% diperoleh dengan perlakuan delignifikasi menggunakan senyawa NaOH. Produksi glukosa yang dihasilkan dari proses hidrolisis paling tinggi adalah 5,79% dengan penambahan konsentrasi sebanyak 80 mmol/L  $\text{FeSO}_4$ . Dapat disimpulkan bahwa NaOH merupakan senyawa paling efektif dibandingkan KOH dan  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ . Semakin tinggi konsentrasi  $\text{FeSO}_4$  maka semakin banyak kompleks  $\text{H}_3\text{O}^+$  yang terbentuk sehingga glukosa yang dihasilkan akan semakin tinggi.

## DAFTAR PUSTAKA

Bensah, E. C., & Mensah, M. (2013). Chemical pretreatment methods for the production of cellulosic ethanol: Technologies and

- innovations. *International Journal of Chemical Engineering*, 2013.
- Ge, X., Zhang, N., Phillips, G. C., and Xu, J. (2012). Growing Lemna minor in agricultural wastewater and converting the duckweed biomass to ethanol. *Biosource Technology* 124, pp. 485.
- Girisuta, B. (2007). *Levulinic Acid from Lignocellulosic Biomass*. In University Gronigen (Issue May).
- Green, D. W., dan Perry, R. H. (2008). *Perry's Chemical Engineers' Handbook 8th Edition*. McGraw Hill.
- Hermiati, E., Mangunwidjaja, D., Sunarti, T. C., & Suparno, O. (2017). Pemanfaatan biomassa lignoselulosa ampas tebu untuk produksi bioetanol. *Jurnal Penelitian Dan Pengembangan Pertanian*, 29(4), pp. 121–130.
- Hildreth, A.C. & Brown, G.B. (1942). Modification of Lane-Eynon method for sugar determination. *Journal of the Association of Official Agricultural Chemists*, 25, 775-778.
- Igbojionu, L. I., Laluca, C., Silva, J. P., dan Silva, J. L. (2020). Optimization of FeSO<sub>4</sub>-Assisted Sulfuric Acid Hydrolysis for Improved Sugar Yield from Sugarcane Bagasse. *Industrial Biotechnology*, 16(5), pp. 271-280.
- Jędrzejczyk, M., Soszka, E., Czapnik, M., Ruppert, A. M., & Grams, J. (2019). Physical and chemical pretreatment of lignocellulosic biomass. *Second and Third Generation of Feedstocks*, pp. 143-196.
- Miliordos, E., dan Xantheas, S. S. (2015). Ground and Excited States of the [Fe(H<sub>2</sub>O)<sub>6</sub>]<sup>2+</sup> and [Fe(H<sub>2</sub>O)<sub>6</sub>]<sup>3+</sup> Clusters: Insight into the Electronic Structure of the [Fe(H<sub>2</sub>O)<sub>6</sub>]<sup>2+</sup>-[Fe(H<sub>2</sub>O)<sub>6</sub>]<sup>3+</sup> Complex. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 11(4), pp. 1549-1563.
- Sharma, J. G., Clark, W. D., Shrivastav, A. K., Goswami, R. K., Tocher, D. R., & Chakrabarti, R. (2019). Production potential of greater duckweed Spirodela polyrhiza (L. Schleiden) and its biochemical composition evaluation. *Aquaculture*, 513, 734419.
- Susmiati, Y. (2018). The Prospect of Bioethanol Production from Agricultural Waste and Organic Waste. *Industria: Jurnal Teknologi Dan Manajemen Agroindustri*, 7(2), pp. 67–80.
- Xu, J., Cui, W., Cheng, J. J., and Stomp, A. (2011). Production of high-starch duckweed and its conversion to bioethanol. *Biosystem Engineering*, 110, pp. 67-72.
- Yasuda, S., Fukushima, K. & Kakehi, A. 2001. Formation and chemical structures of acid-soluble lignin I: sulfuric acid treatment time and acid-soluble lignin content of hardwood. *J Wood Sci*, 47, 69-72.
- Zhao, J., Zhang, H., Zheng, R., Lin, Z., dan Huang, H. (2011). The Enhancement of Pretreatment and Enzymatic Hydrolysis of Corn Stover by FeSO<sub>4</sub> Pretreatment. *Biochemical Engineering Journal*, 56(3), pp. 158-164.
- Zheng, Y., Pan, Z., dan Zhang, R., (2009). Overview of Biomass Pretreatment for Cellulosic Ethanol Production. *Int J Agric & Biol Eng*. 2(3), pp. 51-68.