

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sebagian besar energi Indonesia saat ini berasal dari bahan bakar fosil. Di Indonesia, bahan bakar fosil akan semakin langka karena permintaannya meningkat. Oleh karena itu, penelitian tentang sumber energi terbarukan dan alternatif lain untuk bahan bakar berbasis pembakaran sangat dibutuhkan. Biomassa yang mengandung lignoselulosa merupakan salah satu jenis energi terbarukan. Diproduksi dari berbagai sumber, termasuk limbah pertanian, perkebunan, industri, dan rumah tangga, Indonesia merupakan penghasil biomassa utama. Biomassa dari limbah pertanian meliputi tongkol jagung, serat tebu, dan tandan kosong kelapa sawit (TKKS), yang kaya akan lignoselulosa. Karena sumber daya pertanian yang kaya lignoselulosa melimpah, Indonesia memiliki peluang yang fantastis untuk mengubah biomassa menjadi energi terbarukan, khususnya bioetanol. Selain itu, ampas tebu merupakan produk sampingan padat dari proses penggilingan batu bata tebu (*Saccharum officinarum*).

Ampas tebu mudah diperoleh di Indonesia karena banyaknya pabrik gula, baik milik pemerintah maupun swasta, yang beroperasi dan dimiliki oleh pemerintah (PT. Perkebunan Nusantara). Data diperoleh dari PT. Pada tahun 2020, PTPN VII mengolah 971.500 ton tebu, menurut laporan perkebunan dari Perkebunan Nusantara VII. Sebanyak 97,15 ton ampas tebu dihasilkan dari tebu giling tersebut. Separuh dari ampas tebu tersebut, termasuk PTPN VII, digunakan sebagai bahan bakar boiler di banyak pabrik gula. Limbah yang tidak terlalu bernilai adalah ampas tebu yang tersisa setelah pembakaran bahan bakar boiler. Ampas tebu juga dapat dimanfaatkan untuk membuat bioetanol dengan menghasilkan gula pereduksi.

Pretreatment merupakan praktik umum untuk melakukan pra-perlakuan ampas tebu sebelum menghidrolisisnya untuk mengekstrak gula pereduksi. Proses hidrolisis melibatkan pemecahan polisakarida menjadi komponen monosakarida, yang juga dikenal sebagai gula pereduksi. Memperoleh gula pereduksi dalam

jumlah besar dimungkinkan melalui prosedur hidrolisis. Metode enzimatik adalah cara yang paling umum untuk menghidrolisis selulosa; metode ini menggunakan enzim dan asam serta basa pekat. Dibandingkan dengan hidrolisis dengan HCL, yang menggunakan H₂SO₄ sebagai katalis asam, metode yang terakhir menghasilkan jumlah yang lebih banyak. Ketika basa kuat seperti NaOH digunakan, hidrolisis alkali terjadi. Di sisi lain, hidrolisis enzimatik menggunakan enzim seperti selulase dan hemiselulase untuk membuat gula pereduksi yang ditargetkan. Contoh dari sejumlah besar penelitian tentang kandungan gula pereduksi dari sampel ampas tebu melalui hidrolisis enzimatik adalah penelitian Inova S, *dkk* (2023) menggunakan enzim selulase dan hemiselulase murni untuk memecah ampas tebu menjadi glukosa dan xilosa. Setelah 48 jam pada suhu 600C dan kecepatan pengadukan 125 rpm, dihasilkan gula reduksi sebanyak 3.360 g. Hidrolisis selulosa secara enzimatik dilakukan selama 96 jam dengan pengocok penangas air oleh Ramadhanti, *dkk* (2021). Konsentrasi akhir adalah 0,66 g/l, dan enzim yang digunakan adalah *Trichoderma viride* dan *Aspergillus niger*.

Berdasarkan uraian penelitian yang telah dilakukan, maka peneliti bermaksud untuk mengkaji proses hidrolisis enzimatik menggunakan enzim selulase dan hemiselulase menggunakan enzim Novozyme Cellic yang merupakan enzim selulase dan hemiselulase murni hingga menghasilkan kadar reduksi yang tinggi pada limbah ampas tebu. Limbah ampas tebu yang akan digunakan sebagai bahan baku didapatkan dari PTPN VII Bunga Mayang, Lampung Timur.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari Pemanfaatan Enzim Selulase dan Hemiselulase sebagai Biokatalisator Hidrolisis Enzimatik pada Ampas Tebu dengan *Pretreatment Basa* dan *Microwave* adalah :

1. Mengetahui volume enzim selulase dan hemiselulase dalam menghasilkan kadar gula reduksi yang tinggi dalam proses hidrolisis pada ampas tebu dengan *pretreatment* basa dan *microwave*.

2. Mengetahui waktu hidrolisis optimum dalam pemanfaatan enzim selulase dan hemiselulase pada ampas tebu dengan *pretreatment* basa dan *microwave*.
3. Mendapatkan kadar gula reduksi yang tinggi dari hasil hidrolisis enzimatik pada ampas tebu dengan *pretreatment* basa dan *microwave*.

1.3 Kerangka Pemikir

Bahan baku yang digunakan peneliti adalah ampas tebu yang merupakan limbah dari hasil proses penggilingan yang masih mengandung komponen lignoselulosa yang dapat dimanfaatkan dengan mengkonversi kandungan ampas tebu berupa selulosa 45,59%, hemiselulosa 29,98%, dan lignin 17,50%. Pada proses awal menggunakan bahan baku ampas tebu yang banyak mengandung lignoselulosa, harus dilakukan *pretreatment* yang bertujuan sebagai proses pemisahan ikatan antara lignin dan selulosa untuk mengurangi kandungan lignin serta meningkatkan kandungan selulosa dan hemiselulosa.

Pretreatment secara kimia dalam penelitian ini dilakukan dengan bantuan basa yaitu NaOH dengan konsentrasi 3 M, dimana menurut Widyawati & Argo (2014) kandungan selulosa tertinggi dengan rata-rata sebesar 86,85% dengan menggunakan perlakuan konsentrasi NaOH 3 M dan lama pemaparan menggunakan *microwave* 40 menit dengan daya 800 W. Sementara hasil penurunan lignin sebesar 17,56% menjadi 5,47% dan kandungan hemiselulosa dari 29,98% menjadi 2,58%. Sesuai dengan pernyataan Dawson & Boopathy (2008) yaitu cara kerja NaOH dalam mendegradasi lignin yang membungkus selulosa dan hemiselulosa yaitu dengan cara merusak lignin yang membungkus selulosa dan hemiselulosa sehingga lignin akan pecah atau rusak. Pada larutan ampas tebu yang mengandung NaOH (basa kuat), energi dapat disebar melalui konduksi ionik yang menyebabkan pemanasan. Oleh karena itu, agar proses degradasi lignin dapat meningkat maka diperlukan pemanasan dengan pemaparan *microwave* pada saat proses *pretreatment*.

Hidrolisis menggunakan enzim dapat menghasilkan kadar gula reduksi yang lebih besar karena cara kerja enzim dalam menghidrolisis selulosa lebih spesifik dibandingkan dengan hidrolisis asam. Enzim selulase dan hemiselulase adalah

enzim yang mampu memecah senyawa selulosa dan hemiselulosa menjadi gula reduksi dan gula sederhana lain.

1.4 Hipotesis

Adapun hipotesis dari penelitian ini antara lain :

1. Dengan penambahan volume enzim selulase dan hemiselulase sebanyak 4% akan menghasilkan kadar gula reduksi yang tinggi dalam proses hidrolisis ampas tebu dengan *pretreatment* basa dan *microwave*.
2. Dengan waktu hidrolisis selama 24 jam akan menghasilkan gula reduksi yang optimum dengan pemanfaatan enzim selulase dan hemiselulase sebagai biokatalisator pada ampas tebu dengan *pretreatment* basa dan *microwave*.
3. Dengan menggunakan proses hidrolisis enzimatik akan menghasilkan gula reduksi yang optimum.

1.5 Kontribusi

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi antara lain :

1. Membantu mengoptimalkan pemanfaatan limbah khususnya pada limbah hasil pertanian diantaranya ampas tebu.
2. Mempunyai manfaat sebagai bahan referensi dalam pengolahan limbah ampas tebu dalam menghasilkan kadar gula reduksi yang tinggi sehingga dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku produksi bioetanol.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tebu (*Saccharum officinarum*)

Tebu (*Saccharum officinarum*) adalah tanaman yang tersebar hampir diseluruh kepulauan Indonesia yang dapat tumbuh sepanjang tahun. Tebu merupakan tanaman yang tergolong tanaman tropis, namun tebu juga dapat hidup di daerah beriklim subtropis. Daerah penyebaran tumbuhnya tebu berada di antara 35⁰ LS dan 39⁰ LU. Tebu dapat hidup di berbagai ketinggian mulai dari pantai sampai ketinggian 1400 m di atas permukaan laut. Sebagian besar bagian tanaman tebu dapat diolah menjadi gula, dengan konsentrasi yang bervariasi tergantung pada varietas, usia, dan metode pengolahan. Tanaman itu sendiri merupakan bahan baku penting untuk produksi gula.



Gambar 1. Ampas Tebu
Sumber : Fahmi, 2013

Tabel 1 menunjukkan bahwa produksi tebu pada tahun 2021 mencapai 2,24 juta ton. Sekitar 25–30% tebu yang digiling diolah di pabrik gula. Berdasarkan angka tersebut, jumlah ampas tebu yang diantisipasi untuk tahun 2021, yang meliputi sisa hasil pertanian dan sisa ladang adalah 600 ribu ton. Terdapat 63 pabrik gula di Indonesia, yang tersebar di berbagai daerah. Dari jumlah tersebut, 48 pabrik dikelola oleh perusahaan milik negara, sedangkan 15 pabrik dikelola oleh perusahaan swasta. Daerah dengan jumlah pabrik gula terbanyak adalah Jawa (51 unit), Sumatera (9 unit), dan Sulawesi (3 unit), (Saputra, 2020).

Tabel 1. Data Sebaran Produksi Tanaman Perkebunan Tebu Berdasarkan Wilayah

Provinsi	Produksi Tanaman Perkebunan Tebu di Tahun 2021	
	Ribu Ton	%
Sumatra Utara	20,50	0,85
Sumatra Selatan	107,00	4,42
Lampung	802,40	33,18
Jawa Barat	29,40	1,22
Jawa Tengah	177,30	7,33
DI Yogyakarta	11,50	0,48
Jawa Timur	1116,10	46,15
Nusa Tenggara Barat	10,70	0,44
Nusa Tenggara Timur	5,70	0,24
Sulawesi Selatan	67,50	2,79
Sulawesi Tenggara	18,80	0,78
Gorontalo	51,50	2,13
Total	2418,40	100,0

Sumber : Badan Pusat Statistik (2023)

Tabel 1 menunjukkan bahwa ampas tebu dihancurkan dan dimurnikan menjadi ampas tebu, yang menurut C.M. Priscila (2022), merupakan produk limbah terbanyak kedua di Indonesia, setelah sekam padi, dengan potensi volume 6,5 juta ton per tahun. Menurut Dwo et al. (2016), ampas tebu yang digiling menghasilkan ampas tebu yang mencapai 10% dari berat total; namun, sebagian besar ampas tebu ini masih mengandung lignoselulosa. Tabel 2 di bawah ini mencantumkan varietas tanaman tebu dan komposisinya.

Tabel 2. Komposisi Penyusun Tanaman Tebu dan Ampas Tebu

No	Komposisi Penyusun Tanaman Tebu		Komposisi Penyusun Ampas Tebu	
	Kandungan	Jumlah (%)	Senyawa	Jumlah (%)
1	Gula	8,0	Selulosa	45
2	Tetes	3,5	Pentosa	32
3	Blotong	5,0	Lignin	18
4	Ampas Tebu	83,5	Lain-lain	5

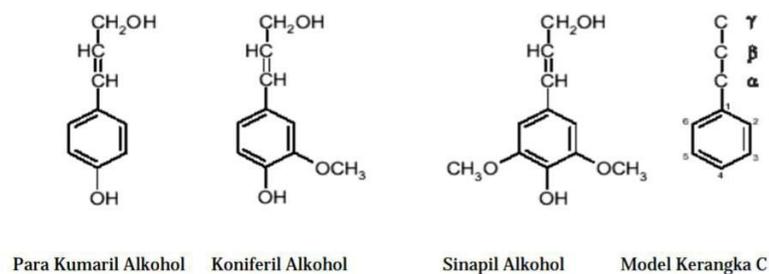
Sumber : Anshori (2008)

Komponen utama ampas tebu adalah lignoselulosa, yang berdiameter sekitar 20 mikron dan panjang 1,7 hingga 2 mm. Tabel 2 mencantumkan komposisi

tanaman dan ampas tebu. Ampas tebu dapat menghasilkan bioetanol jika dicampur dengan energi terbarukan.

Tergantung pada sumbernya, lignin, bahan kimia yang larut dalam air, polimer karbohidrat (selulosa dan hemiselulosa), dan komponen lain membentuk biomassa lignoselulosa. Kombinasi mikrobila, yang merupakan struktur yang terbuat dari selulosa, hemiselulosa, dan lignin, menyebabkan terbentuknya mikrofibril. Tanaman mengembangkan dinding sel yang tebal dan kokoh sebagai hasil dari struktur ini. Komponen polisakarida ampas tebu merupakan bahan utama dalam proses produksi bioetanol. Keberadaan lignin akan menghambat konversi polisakarida menjadi bioetanol karena lignin merupakan komponen lignoselulosa yang paling kuat. Akibatnya, upaya untuk mendegradasi lignin terus berlanjut di bidang energi terbarukan, dengan biomassa sebagai salah satu contohnya.

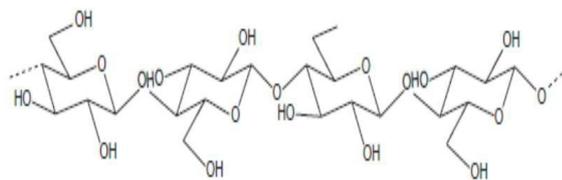
Polisakarida lignin mengikat dinding sel tanaman yang terdiri dari selulosa dan hemiselulosa. Lignin, yang merupakan polimer senyawa aromatik, tidak berasal dari gula. Lignin tidak dapat diubah menjadi bioetanol karena hal ini. Alkohol kumaril, alkohol koniferil, dan alkohol sinapil adalah tiga jenis senyawa fenilpropanoid yang membentuk lignin. Karena bertindak sebagai penghalang proses ini, lignin mencegah degradasi selulosa dan hemiselulosa, di antara komponen tanaman lainnya. Untuk memastikan konversi polisakarida menjadi alkohol yang paling efisien, diperlukan perlakuan persiapan untuk melarutkan ikatan lignin.



Gambar 2. Satuan penyusun lignin

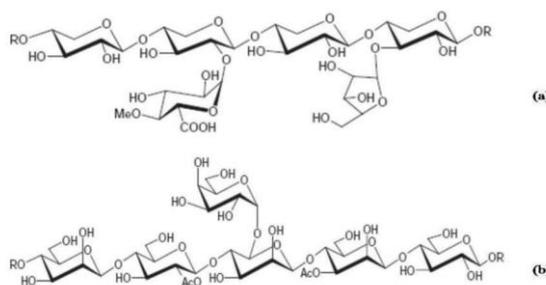
Sumber : Sixta, 1986

Selulosa ($C_6H_{10}O_5$)_n polisakarida dan karbohidrat umum, merupakan bahan penyusun semua struktur tanaman. Satu molekul air menghubungkan dua gula pereduksi yang berdekatan dalam ikatan glikosidik tipe pertama; molekul lainnya dilepaskan untuk membentuk monomer gula D yang membentuk selulosa. Berwarna putih, mengandung serat, dan tahan terhadap hidrolisis dan pelarut organik lainnya, gula pereduksi dicirikan oleh rantai yang konsisten dan sifat-sifat lainnya. Mikrofibril yang dibentuk oleh selulosa melalui ikatan antar dan intramolekul menghasilkan ikatan dan struktur yang sangat kuat dan stabil secara struktural.



Gambar 3. Molekul Selulosa
Sumber : Thauhidayatul, 2018

Rantai polisakarida bercabang dari gula heksosa dan pentosa, seperti xilosa, arabinosa, gula pereduksi, manosa, dan galaktosa, merupakan bahan penyusun hemiselulosa. Hemiselulosa berbeda dari selulosa dalam beberapa hal penting, termasuk plastisitasnya, area kontak antarmolekul yang lebih besar, dan kemudahan pencernaan dalam air. Serat amorf membentuk hemiselulosa, yang tidak dapat mengkristal. Hal ini memudahkan untuk memisahkan gula pereduksi menjadi gula menggunakan asam lemah pada konsentrasi rendah; proses ini dapat menghasilkan gula pentosa dan heksosa, tetapi pemisahan lebih lanjut dapat menghasilkan furfural dan zat pengurai lainnya.



Gambar 4. Struktur xilan (a) dan glukoman (b)
Sumber : Sixta, 198

2.2 Gula Reduksi sebagai Bahan Baku Bioetanol

Gula reduksi merupakan bahan baku utama proses fermentasi yang akan menghasilkan bioetanol dengan bantuan mikroorganisme. Proses fermentasi yang menghasilkan bioetanol, dengan bantuan mikroba, membutuhkan gula pereduksi sebagai bahan utamanya. Sumber energi alternatif cair yang dikenal sebagai bioetanol memiliki rumus kimia C_2H_5OH , rumus empiris C_2H_6OH , dan rumus struktur CH_3-CH_2-OH . Kelompok metil (CH_3-), kelompok metilen ($-CH_2-$), dan kelompok hidroksil ($-OH$) semuanya merupakan komponen bioetanol. Bioetanol merupakan bahan serbaguna dengan banyak aplikasi bahan bakar potensial di luar bensin. Berat molekul bioetanol adalah 46,07 dan titik didihnya adalah 780C, sebagaimana dinyatakan dalam SNI 7390:2012. Bahan tanaman yang menyusun bioetanol meliputi pati, gula, atau selulosa. Selain itu, bioetanol mudah terbakar, cair, dan transparan. Kemajuan teknologi setiap generasi dalam produksi bioetanol telah dicatat dan diklasifikasikan.

Seperti yang ditunjukkan pada Tabel 3, produksi bioetanol telah mengalami perkembangan.

Tabel 3. Perkembangan Bioetanol di Indonesia

Generasi Bioetanol	Bahan Baku
Generasi I	Bahan baku yang mengandung pati, seperti jagung, tebu, nira, ubi kayu, ubi jalar.
Generasi II	Bahan yang mengandung lignoselulosa (selulosa dan hemiselulosa) pada limbah padat agroindustri seperti jerami padi, batang sawit, tongkol dan batang jagung, serta ampas tebu.
Generasi III	Bahan baku dari kelompok alga, yaitu dari kelompok alga, mikroalga dan makroalga (rumput laut).

Sumber : (Jasman, 2022)

Adanya lignoselulosa dalam ampas tebu menunjukkan bahwa ampas tebu umumnya digunakan untuk menghasilkan gula pereduksi untuk produksi bioetanol, seperti yang ditunjukkan pada tabel di atas. Molekul karbohidrat mengandung gugus karbonil aldehida bebas, yang memungkinkannya menjalani proses yang dikenal sebagai reduksi gula. Contoh yang baik dari hal ini adalah fakta bahwa dalam beberapa senyawa, reaktivitas ion logam seperti ion Cu^{2+} dan Ag^+ menurun. Monosakarida (galaktosa, fruktosa, dan glukosa) dan disakarida (maltosa dan laktosa) membentuk keluarga gula pereduksi. Uji Tollens, uji Benedict, uji Fehling, dan metode DNS adalah cara untuk menemukan gula pereduksi.

Proses hidrolisis, di mana enzim bertindak sebagai biokatalis untuk menguraikan senyawa selulosa, adalah rute untuk memperoleh gula pereduksi. Perlakuan awal ampas tebu menghasilkan selulosa, yang selanjutnya dapat diproses menjadi glukosa.

2.2.1 *Pretreatment* atau Delignifikasi

Selulosa pada umumnya berbentuk serat-serat yang terpilih dan diikat oleh hemiselulosa, kemudian dilindungi oleh lignin yang sangat kuat. Lignin dan hemiselulosa yang sangat kuat ini mengakibatkan selulosa sulit untuk didegasi menjadi gula (proses hidrolisis). Langkah yang penting dalam proses biokonversi lignoselulosa menjadi etanol adalah dengan memecah perlindungan lignin melalui tahap delignifikasi (*pretreatment*).

Proses *pretreatment* adalah suatu proses dengan tujuan untuk pemecahan lignin yang mengikat hemiselulosa dan selulosa sehingga perlu dilakukan pemecahan. Proses awal bahan baku dilakukan pengecilan ukuran. Tujuan dari pengecilan ukuran yaitu mengecilkan luas permukaan bahan sehingga dapat mempercepat reaksi yang dilakukan. Pengecilan ukuran ini merupakan tahap awal dari proses biokonversi dari bahan lignoselulosa yang menghasilkan akan bioetanol. Pemilihan metode pada proses *pretreatment* ini sangat penting untuk dilakukannya proses hidrolisis serta fermentasi dengan tepat, apabila pemilihan metode yang digunakan tidak tepat, maka akan menyebabkan pendegadasian hemiselulosa dan lignin secara parsial dan akan menghasilkan senyawa-senyawa

kimia beracun yang akan menghambat pertumbuhan khamir. Oleh karenanya, pada setiap bahan baku memiliki komposisi hemiselulosa, lignin, dan selulosa yang berbeda-beda.

Pretreatment bertujuan untuk memecah struktur lignoselulosa yang terdiri dari lignin, selulosa, dan hemiselulosa agar enzim dan selulosa yang digunakan dapat bereaksi dengan optimal. Proses *pretreatment* lignin akan mengikat karbohidrat dengan karbohidrat, maka apabila lignin tidak dihilangkan atau dipecah akan menghambat proses hidrolisis pada tahap selanjutnya dan akibatnya selulosa tidak dapat dikonversi menjadi monomer gula sederhana. Tujuan lain dari tahap *pretreatment* ini yaitu untuk memperbesar porositas bahan yang digunakan sebagai bahan baku dan juga untuk mengurangi biaya yang dibutuhkan.

Kegunaan dari proses *pretreatment* antara lain menghindari hilangnya karbohidrat, menghindari terbentuknya produk samping ataupun hasil yang tidak diinginkan, meningkatkan pembentukan gula sederhana, dan mengurangi biaya proses sehingga lebih ekonomis.

Adapun jenis-jenis proses pada *pretreatment* yang umumnya dapat digunakan, antara lain :

1. *Pretreatment* Secara Fisika

Pretreatment secara mekanik atau fisika bertujuan untuk mengurangi ukuran partikel bahan baku menjadi lebih kecil serta mempunyai pengaruh dalam memperbesar akses enzim ke bahan lignoselulosa. *Pretreatment* dengan cara ini adalah salah satu cara yang sangat efektif untuk dilakukan. Kelebihan menggunakan *pretreatment* ini adalah ramah lingkungan karena dalam prosesnya tidak menggunakan penambahan zat-zat kimia yang akan menimbulkan pencemaran lingkungan dan residu yang berbahaya. Kekurangan dari *pretreatment* ini yaitu membutuhkan banyak energi sehingga akan mempengaruhi dari segi ekonomis. *Pretreatment* secara fisika dapat dilakukan dengan beberapa metode yaitu penggilingan, penggunaan pada suhu tinggi, iradiasi dengan sinar gamma, gelombang ultrasonik, maupun dengan steam explosion.

2. *Pretreatment* Secara Kimiawi

Pretreatment secara kimia merupakan proses *pretreatment* yang menggunakan bahan kimia sebagai pelarut asam atau basa. *Pretreatment* secara kimia bertujuan untuk menaikkan biodegradasi selulosa yaitu dengan cara menghilangkan kandungan lignin dan hemiselulosa pada biomassa selulosa. *Pretreatment* ini mempunyai beberapa macam metode yang digunakan, antara lain :

a. *Pretreatment* dengan Pelarut Asam

Pelarut asam pada *pretreatment* ini digunakan sebagai katalis untuk melarutkan dari hemiselulosa agar enzim selulosa dapat menjangkau seluruh struktur selulosa. Metode *pretreatment* dengan pelarut asam ini dibagi menjadi dua kelompok yaitu perlakuan dengan menggunakan pelarut asam pekat dan menggunakan pelarut asam encer.

Perlakuan dengan menggunakan asam pekat jarang digunakan karena dapat meningkatkan kandungan senyawa inhibitor serta dapat menyebabkan korosi pada peralatan yang digunakan. Sedangkan perlakuan dengan menggunakan asam encer lebih banyak digunakan untuk produksi bioetanol. Pelarut asam encer yang digunakan tidak hanya dapat melarutkan hemiselulosa tetapi dapat mengubah hemiselulosa yang terlarut menjadi gula serta dapat mengurangi penggunaan hemiselulosa dalam proses enzimatik. Larutan asam yang sering digunakan adalah asam sulfat (H_2SO_4), asam klorida (HCl), asam nitrat (HNO_3), asam fosfat (H_3PO_4).

b. *Pretreatment* dengan Pelarut Basa

Pelarut basa berfungsi untuk menghilangkan kandungan lignin yang terdapat di bahan biomassa lignoselulosa. Penggunaan pelarut basa dapat menyebabkan perubahan struktur lignin dengan cara mendegradasi ester dan rantai samping glikosidiknya, serta mengakibatkan dekrystalisasi parsial, solvani parsial hemiselulosa dan menyebabkan selulosa menjadi besar. Pelarut basa yang

biasanya digunakan yaitu natrium hidroksida (NaOH), kalium hidroksida (KOH), amonium hidroksida (NH₃) dan lainnya.

c. *Pretreatment* secara Biologis

Pretreatment secara biologis ini merupakan *pretreatment* yang menggunakan penambahan mikroorganisme pendegradasi kayu maupun zat lainnya seperti hemiselulosa, lignin, dan selulosa. Jenis mikroorganisme yang sering digunakan antara lain jamur pelapuk putih, jamur pelapuk coklat, serta jamur pelapuk lunak untuk degradasi lignin dan selulosa pada biomassa. Kelebihan dari proses *pretreatment* ini yaitu biaya yang rendah, penggunaan energi yang rendah, tidak memerlukan banyak bahan kimia, serta tidak menghasilkan zat pada inhibitor. Kekurangan pada proses ini yaitu laju hidrolisis yang dihasilkan rendah sehingga memerlukan waktu yang cukup panjang dan sistem pengontrolan yang rutin pada pertumbuhan mikroba.

Berikut ini terdapat beberapa metode yang digunakan untuk proses *pretreatment* untuk material lignoselulosa, antara lain :

Tabel 4. Metode *Pretreatment* untuk Material Lignoselulosa

Metode	Prosedur	Material	Referensi
<i>Hot Compressed Water</i>	Metode <i>hot compressed water</i> umumnya dilakukan pada temperature 160 ⁰ C - 220 ⁰ C dan tekanan operasi dibawah 5 Mpa dengan kisaran waktu 1 -30 menit	Biomassa seperti kayu, pelepah sawit, tandan kosong kelapa sawit.	Purnomo, dkk (2020)
<i>Steam Explosion</i>	Metode <i>steam explosion</i> biomassa biasanya dilakukan perlakuan pada temperatur <i>steam</i> yang	Biomassa seperti kayu, pelepah sawit, yang	Amarasekara, (2013); Stelte, (2013)

	berkisar 180 ⁰ C - 220 ⁰ C dan tekanan operasi berkisar 1 – 2.3 Mpa dan memiliki rentang waktu 1 -10 menit. Sedangkan <i>steam explosion</i> biomassa biasanya diberi perlakuan dengan uap panas dan kisaran temperatur sebesar 180 ⁰ C - 240 ⁰ C dengan tekanan 1 – 3,5 Mpa.	dan tandan sawit.	
<i>Liquid Hot Water</i>	Menggunakan air panas dengan temperatur 170 ⁰ C - 230 ⁰ C dengan tekanan 5 Mpa serta waktu pemasakan 1 – 46 menit.	<i>Bagasse, olive pulp, and corn stover.</i>	Chen, <i>dkk</i> (2022)
<i>Dilute-acid Hydrolysis</i>	Menggunakan larutan asam seperti 0,75% - 5% H ₂ SO ₄ , HCl atau dengan HNO ₃ dan diberi tekanan sebesar 1 Mpa pada proses kontinyu dengan jumlah padatan 5% - 10% wt dari bahan kering per campuran pada suhu 130 ⁰ C selama 130 menit.	Gandum dan sekam padi.	Fernandes, <i>dkk</i> (2016)
<i>Concentrated-acid Hydrolysis</i>	Menggunakan larutan asam pekat seperti 10% - 30% H ₂ SO ₄ , dengan temperatur 170 ⁰ C - 190 ⁰ C, rasio padatan-cairan 1 : 1,6 dengan konsentrasi 21% -	Serbuk kayu	Seema, <i>dkk</i> (2016)

	60% <i>peracetic acid</i> , <i>silotype</i> <i>system</i> .
<i>Basane</i>	Menggunakan larutan Jenis kayu Stelte, (2013)
<i>Hydrolysis</i>	NaOH dengan waktu 24 jam keras pada suhu 60 ⁰ C; Ca(OH) ₂ 4 (<i>hardwood</i>), jam 120 ⁰ C lalu kemudian bagas, tongkol dapat ditambahkan H ₂ O (0,5 jagung, jerami – 2,15 vol %) pada yang memiliki temperatur 35 ⁰ C. kandungan lignin 10% - 18% dan daun tebu.

Berdasarkan *United State Patent* pada “*Process for producing Bioethanol From Lignocellulosic Plant Raw Material*”, *pretreatment* yang digunakan untuk material lignoselulosa dipilih proses *basane hydrolysis* dengan berbagai kelebihan antara lain yang telah dikemukakan oleh beberapa peneliti sebagai berikut :

Tabel 5. Perbandingan Hasil *Pretreatment* Basa

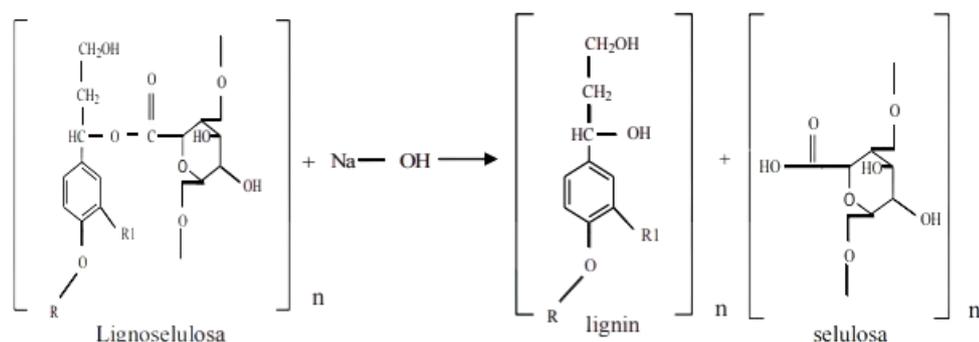
Metode	Parameter	Hasil	Nama
<i>Pretreatment</i> Basa dengan <i>Microwave</i>	Bahan baku yang digunakan adalah jerami padi dengan pemaparan <i>microwave</i> selama 30 menit dan daya 700, 500 dan 300 W. Konsentrasi NaOH yang	Proses <i>pretreatment</i> dengan metode basa dapat meningkatkan kandungan selulosa serta dapat menurunkan tingkat polimerisasi selulosa sehingga dapat meningkatkan kinerja enzim dalam proses sakarifikasi. Dengan	Zhu, <i>dkk</i> (2005)

	digunakan sebesar 1% dengan massa bahan 20 g.	menggunakan metode <i>pretreatment basa</i> dengan pemaparan <i>microwave</i> dapat menaikkan kadar selulosa sebesar 69,2%, menurunkan kadar lignin menjadi 4,9% dan hemiselulosa 10,2%.
<i>Pretreatment Basa</i>	Bahan baku dan yang digunakan yaitu jerami sorgum dengan 2% NaOH pada suhu 121 ⁰ C selama 60 menit.	Dengan metode <i>pretreatment</i> yang dilakukan dapat menghasilkan 18,5%, 24%, dan 33% solubilitas dari komponen hemiselulosa.

Berdasarkan beberapa uraian dari beberapa peneliti diatas, maka dipilih proses *pretreatment Alkaline hydrolysis* menggunakan NaOH dengan pertimbangan, antara lain :

1. Proses tidak memerlukan *recovery* pelarut serta ramah lingkungan.
2. Proses relatif murah daripada menggunakan reagen kimia lainnya.
3. Perlakuan dengan proses *pretreatment basane hydrolysis* menyebabkan pemekaran (*swelling*) pada selulosa. Pemekaran selulosa tersebut akan meningkatkan luas permukaan lignoselulosa, serta menurunkan derajat polimerisasi, mengurangi area kristalinitas, terjadinya pemisahan ikatan antara lignin dan karbohidrat, dan dapat mengacaukan struktur lignin.
4. Larurtan NaOH dipilih karena dapat menyerang dan merusak struktur lignin serta cukup efektif dalam meningkatkan hasil hidrolisis.

Natrium Hidroksida (NaOH) merupakan bahan kimia berbentuk kristal putih padat yang apabila memasuki lingkungan akan mudah bereaksi memecah dengan bahan kimia lain. Natrium hidroksida mudah larut dalam air dan akan menghasilkan panas (eksoterm). Ion OH^- pada larutan basa tersebut akan menjadi promotor pada reaksi aluminium dengan air. Ketika reaksi antara Al dan air dibantu oleh basa, ion OH^- dapat merusak lapisan oksida pelindung pada permukaan aluminium (Kumar dan Raman, 2013). Ion OH^- dari NaOH akan memutuskan ikatan-ikatan dari struktur dasar lignin sedangkan ion Na^+ akan berikatan dengan lignin membentuk natrium fenolat. Garam fenolat bersifat polar yang akan larut dalam air (Esse, 2018)



Gambar 5. Mekanisme Pemecahan Lignin dengan NaOH

Tabel 6. Sifat Fisik Natrium Hidroksida (NaOH)

Parameter	Natrium Hidroksida (NaOH)
Fungsi	Sebagai agen pen delignifikasi
Rumus Molekul	NaOH
Berat Molekul	40 g/mol
Bentuk	Cairan
Titik Leleh	12 ⁰ C
Titik Didih Normal	140 ⁰ C
<i>Specific Gavity</i>	1,53
Warna	Tidak berwarna
Kemurnian	98%
Kelarutan	Larut dalam air

Sumber : (Yaws, 1999)

Selain menggunakan NaOH pada proses *pretreatment* juga terdapat penambahan surfaktan. Pada *pretreatment* dengan penambahan surfaktan dapat meningkatkan penghilangan lignin selama pra-perlakuan serta dapat mengurangi

pengikatan enzim yang tidak produktif pada biomassa. Surfaktan yang digunakan pada penambahan *pretreatment* ini yaitu surfaktan tween 80, dimana dengan menggunakan surfaktan tween 80 dapat meningkatkan hasil hidrolisis enzimatis dan meningkatkan pemulihan gula total lebih dari dua lainnya. *Pretreatment* surfaktan ditemukan untuk meningkatkan kelarutan lignin, yang dapat meningkatkan daya cerna selulosa dengan mengurangi pengikatan yang tidak produktif pada enzim, dan juga meningkatkan kinerja biomassa (Qing dkk., 2010).

2.2.2 Hidrolisis

Hidrolisis adalah suatu reaksi pemecahan molekul besar menjadi bagian-bagian yang lebih kecil yang merupakan komponen monomer dari senyawa itu sendiri, melalui tahap adisi oleh air. Prinsip hidrolisis pada polisakarida adalah pemutusan rantai polimer pati menjadi unit-unit dekstrosa ($C_6H_{12}O_6$). Hidrolisis juga merupakan salah satu reaksi persenyawaan yang terjadi antara air dan zat-zat pencampur lain yang dapat menghasilkan paling sedikit satu zat baru dengan menggunakan suatu larutan.



Polisakarida + Air \longrightarrow Gula reduksi

Pada reaksi diatas, antara polisakarida dan air terjadi reaksi yang sangat lambat sehingga perlu adanya penambahan katalisator yang berguna untuk memperbesar kereaktifan air. Katalisator yang dapat digunakan berupa asam maupun enzim. Proses ini bertujuan untuk mengubah polisakarida menjadi monomer yang sederhana. Pada proses hidrolisis, terdapat 4 metode yang dapat dilakukan antara lain :

1. Hidrolisis Asam

Asam klorida (HCl) atau asam sulfat (H_2SO_4) adalah larutan katalis yang umum digunakan untuk meningkatkan aktivasi air dari konsentrasi asam yang rendah. Hidrolisis dengan asam pekat untuk menghasilkan gula dan alkohol lebih efisien daripada dengan asam encer. Bahan-bahan yang mengandung lignoselulosa mengalami hidrolisis asam dengan

memanaskannya dalam penangas asam pada tekanan tinggi untuk waktu yang singkat. Suhu dan tekanan rendah juga dapat digunakan untuk melakukan proses ini, tetapi akan menambah waktu dari keseluruhan durasi. Pada dasarnya, ada dua tahap dalam proses hidrolisis ini. Tujuan utama dari tahap pertama adalah menghidrolisis hemiselulosa menjadi komponen gulanya; tujuan kedua adalah mendegradasi selulosa yang tersisa. Tujuannya adalah menghasilkan cukup gula dengan memanfaatkan kedua langkah hidrolisis ini. Selain mengurangi produk keasaman dan menghilangkan kebutuhan akan proses pemulihan asam, penggunaan larutan asam encer memungkinkan proses detoksifikasi, yang pada gilirannya meningkatkan hasil etanol selama fermentasi.

2. Hidrolisis Basa

Pada hidrolisis basa biasanya menggunakan basa pekat, basa encer, maupun basa padat. Hidrolisis basa dengan reaksi bentuk cair atau padat menghasilkan reaksi yang sama.

3. Hidrolisis Murni

Karena hanya bergantung pada air dan tidak menggunakan bahan kimia lain sebagai katalis, proses hidrolisis relatif lambat saat melakukan hidrolisis murni, yang merupakan kebalikan dari hidrolisis katalitik.

4. Hidrolisis Enzimatis

Hidrolisis yang menggunakan enzim jenis selulase atau jenis enzim lain yang dapat memecah selulosa menjadi gula reduksi karena enzim pada proses hidrolisis ini berperan sebagai katalisator yang dapat mempercepat reaksi. Hidrolisis secara enzimatis merupakan suatu proses pemecahan polimer menjadi monomer penyusunnya dengan menggunakan enzim, Enzim berperan sebagai katalis yang dapat mempercepat laju reaksi, proses hidrolisis memanfaatkan enzim berbasis selulase atau enzim lain yang dapat menguraikan selulosa menjadi gula sederhana. Penggunaan enzim dalam hidrolisis memecah polimer menjadi monomernya masing-masing. Fase hidrolisis adalah waktu terbaik untuk menggunakan enzim, dan pendekatan kimia dan enzimatik sangat berbeda dalam spesifisitasnya untuk polimerisasi pati. Rantai polimer selulosa dipisahkan secara acak selama

hidrolisis kimia, tetapi dipisahkan dengan cara tertentu saat enzim digunakan. Pada tahap proses, hidrolisis yang dikatalisis enzim menawarkan banyak keuntungan, seperti jumlah produk sampingan yang tidak diinginkan yang rendah, biaya pemurnian yang wajar, kondisi proses yang ringan (karena pH netral), dan tidak ada penurunan jumlah gula pereduksi yang dihasilkan.

Hidrolisis adalah proses yang menggunakan katalis, yang dapat berupa zat yang bersifat asam, basa, atau berbasis enzim. Katalis adalah bahan tambahan atau bahan pembantu yang mempercepat reaksi kimia. Proses hidrolisis enzimatik dapat dipengaruhi oleh faktor-faktor ini:

1. Kandungan Selulosa pada Bahan Baku

Kandungan selulosa pada ampas tebu terdapat 45% selulosa yang menjadi faktor penting untuk terjadinya proses hidrolisis. Apabila bahan baku yang digunakan mengandung sedikit komposisi selulosa maka gula yang dihasilkan tidak maksimal.

2. pH pada Proses Hidrolisis

pH dan konsentrasi asam atau basa dalam proses hidrolisis juga sangat berpengaruh karena apabila konsentrasi asam atau basa yang dihasilkan terlalu tinggi maka pH yang dihasilkan rendah begitupun sebaliknya. pH yang digunakan dalam penelitian ini yaitu pada pH 5, karena pada pH tersebut enzim dapat bekerja secara maksimal

3. Waktu pada Proses Hidrolisis

Pada proses hidrolisis, semakin lama waktu hidrolisis maka semakin banyak konsentrasi gula sederhana yang dihasilkan. Pada penelitian ini, digunakan variasi waktu selama 48, 72, dan 120 jam untuk mendapatkan kombinasi data sehingga mendapatkan waktu yang optimal.

4. Suhu pada Proses Hidrolisis

Suhu yang digunakan pada proses hidrolisis ini yaitu 50°C yang merupakan kondisi optimum untuk menghidrolisis selulosa dengan enzim.

5. Tekanan pada Proses Hidrolisis

Tekanan pada proses hidrolisis yang biasa digunakan adalah sebesar 1 atm.

6. Konsentrasi Enzim

Konsentrasi enzim sangat mempengaruhi kadar gula reduksi yang dihasilkan.

Berikut ini merupakan uraian perbandingan pada proses hidrolisis yang telah dikemukakan oleh beberapa peneliti, antara lain :

Tabel 7. Proses Hidrolisis Enzimatik dari Beberapa Penelitian

Metode	Parameter	Hasil	Nama
Hidrolisis Enzimatik	Bahan baku yang digunakan yaitu Ampas Tebu dengan proses hidrolisis enzim pada suhu 60 ⁰ C pH 3 selama 48 jam dengan menggunakan enzim selulase, dan xilanese.	Hidrolisis enzim menghasilkan gula reduksi sebesar 0,48 g gula reduksi/g ampas tebu.	Ayu, <i>dkk</i> (2013)
Hidrolisis Enzimatik	Bahan baku yang digunakan yaitu Ampas Tebu dengan proses hidrolisis enzim pada suhu 50 ⁰ C pH 4,8 selama 120 jam.	Hidrolisis ini menggunakan enzim selulase kasar dari <i>Aspergillus niger</i> yang menghasilkan gula reduksi sebanyak 54,47 mg/100 ml.	Wayan, <i>dkk</i> (2011)
Hidrolisis Enzimatik	Bahan baku yang digunakan yaitu Ampas Tebu dengan proses hidrolisis pada massa ampas 10 g dengan 50 ⁰ C	Hidrolisis ini menggunakan enzim selulase dari mikrofungi <i>Trichoderma reesei</i> dan <i>Aspergillus niger</i>	Ika, <i>dkk</i> (2014)

	selama 48 jam di <i>waterbath</i> .	dengan variasi volume. Hasil terbaik didapatkan dari variasi 0 <i>T.reesei</i> : 1 <i>A.niger</i> dengan waktu hidrolisis 12 jam menghasilkan gula reduksi 47,213%.	
Hidrolisis Enzimatik	Bahan baku yang digunakan yaitu Limbah Batang Sawit dengan proses hidrolisis pada suhu 50 ⁰ C selama 48 jam.	Proses hidrolisis enzimatis akan memaksimalkan pembentukan gula reduksi dari proses sebelumnya yaitu <i>pretreatment</i> . Pada saat proses hidrolisis, rantai panjang polisakarida diputus oleh bantuan enzim yang spesifik, yaitu selulase menjadi gula rantai pendek atau gula reduksi.	Winarni, <i>dkk</i> (2016)

Adapun perbandingan antara proses hidrolisis asam dan hidrolisis enzimatik yang disajikan dalam Tabel 8. dibawah ini.

Tabel 8. Perbandingan Proses Hidrolisis Asam dan Hidrolisis Enzim

Parameter	Jenis Hidrolisis	
	Asam	Enzim
Agen Penghidrolisis	Asam	Enzim atau Jamur
Kondisi Operasi	Asam encer : pada suhu dan tekanan yang tinggi. Asam pekat : pada suhu dan tekanan yang rendah.	Suhu : 30 ⁰ C - 50 ⁰ C pH : 4 – 5
Waktu Hidrolisis	Singkat	Lama
Cara Hidrolisis	Larutan asam akan memecah ikatan selulosa secara acak sehingga memungkinkan dapat terbentuk samping memerlukan pemisahan gula dari asam (detoksifikasi).	Bekerja secara spesifik dengan cara memecah ikatan β-glikosidik pada substrat tertentu sehingga tidak dapat terbentuk produk atau senyawa yang tidak diharapkan dan yield etanol yang dihasilkan lebih tinggi.
Sifat	Bersifat korosif pada fermentor dan tidak ramah lingkungan.	Tidak korosif dan ramah lingkungan.
Harga	Murah	Mahal

Sumber M. Ica, *dkk* (2022)

Berdasarkan uraian perbandingan kelebihan dan kekurangan dari jenis proses hidrolisis pada Tabel 8. maka dipilih proses hidrolisis secara enzimatik. Secara umum, proses hidrolisis secara enzimatik ini memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan proses hidrolisis asam. Sesuai dengan pernyataan Murf dan Murraf, (1996), menyatakan bahwa hidrolisis enzimatik lebih menguntungkan daripada menggunakan hidrolisis dengan asam.

Enzim yang dikenal sebagai endo-1,4- β -glukanase, ekso-1,4- β -glukanase, dan β -D-glukosidase terkait dengan selulase. Pemecahan selulosa dan pelepasan gula pereduksi berikutnya adalah proses yang difasilitasi oleh hubungan kerja sama antara ketiga enzim ini. Endoglikosida-1,4- β -glukanase memperpendek selulosa dengan memutus ikatannya, ekso-1,4- β -glukanase melakukan hal yang sama dengan memperpendek rantai selulosa pada ujungnya, dan β -D-glukosidase membagi molekul menjadi dua gula yang lebih kecil.

Tabel 9. Sifat Fisis dan Kimia Enzim *Novozyme*

Parameter	Enzim Selulase dan Hemiselulase
Fungsi	Katalis untuk mengkonversi selulosa menjadi glukosa dan hemiselulosa menjadi gula sederhana.
Berat Molekul	10000 g/gmol
pH	4,5 – 5,5
Densitas	1,46 g/mL
Sifat Kimia	Enzim α -selulase, β -selulase, β -glukosidase dan hemiselulase

Sumber : www.shinsu-u.ac.jp

Enzim selulase merupakan enzim yang bersifat induktif. Produksi enzim selulase oleh mikroba membutuhkan adanya induser dalam medium fermentasinya. Induser tersebut yang akan menginduksi pembentukan enzim selulase pada sel mikroba. Jumlah enzim yang ada di dalam sel tidak tetap, bergantung indusernya. Jumlahnya akan bertambah beberapa kali lipat apabila dalam medium mengandung substrat yang menginduksi. Senyawa induser yang diperlukan umumnya berupa substrat enzim tersebut (Setyoko dan Utami, 2016).

2.3 Metode Pengujian

Terdapat beberapa metode pengujian yang dilakukan dalam proses pembuatan bioetanol atau dalam proses hidrolisisnya sendiri, antara lain :

1. Pengujian Kadar Gula Reduksi dengan Metode *Dinitrosalicylic acid* (DNS)
Metode DNS merupakan metode yang digunakan dalam penentuan gula reduksi seperti gula reduksi, galaktosa, laktosa, dan maltosa. Prinsip metode DNS adalah gula reduksi akan bereaksi dengan reagen DNS membentuk

senyawa asam 3-amino-5nitrosalisilat yang berwarna kuning kecoklatan. Pengukuran absorbansi pada metode DNS dilakukan pada panjang gelombang 540 nm (Pratiwi dkk., 2018).

Reaksi dengan DNS merupakan reaksi redoks pada gugus aldehid gula dan teroksidasi menjadi gugus karboksil. Reaksi berjalan dalam suasana basa, apabila terdapat gula reduksi pada sampel, maka larutan akan berubah warna menjadi jingga kemerahan (Kolo dan Edi, 2018).

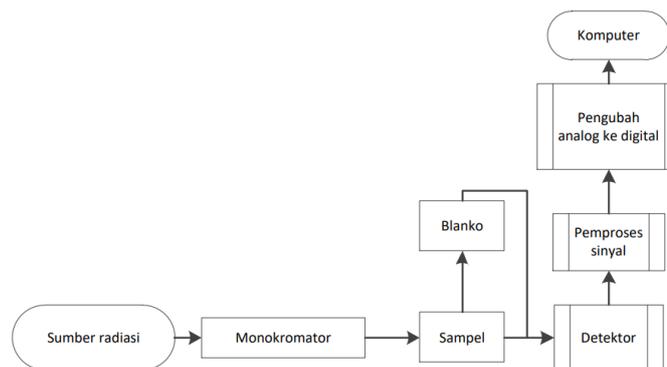
2. Pengujian Gula Total (⁰Brix)

Indeks bias adalah salah satu dari beberapa sifat optis yang terpenting dari suatu medium. Pengukuran indeks bias suatu zat cair ini merupakan hal penting dalam penilaian sifat serta kemurnian cairan, konsentrasi larutan, serta sebagai perbandingan komponen dalam campuran dua zat cair atau kadar yang diekstrakkan dalam pelarutnya (Brink, O.G., 1894) (Rahma dkk., 2015). Indeks bias zat cair dapat diukur dengan menggunakan berbagai metode diantaranya yaitu metode interferometri yang meliputi Mach-Zender, Feby-Perot, dan Michelson. Metode lainnya adalah dengan spektrofotometri serta alat Refraktometer Abbe (Pedroti F.L 1993).

Metode Refraktometer Abbe merupakan suatu metode sederhana yang tidak membutuhkan waktu yang lama, serta tidak membutuhkan sampel yang banyak dapat mengukur indeks bias cairan, padatan dalam cairan atau serbuk dengan indeks bias dari 1,300 – 1,700 dan persentase padatan 0% - 95% (Rahma dkk., 2015).

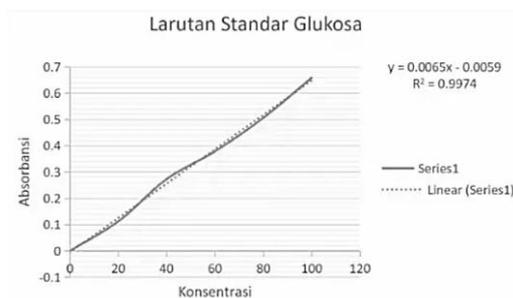
3. Spektrofotometer

Spektrofotometer yang sesuai untuk pengukuran di daerah spektrum ultraviolet dan sinar tampak terdiri atas suatu sistem optik dengan kemampuan menghasilkan sinar monokromator dalam jangkauan panjang gelombang 200-800 nm (Gholib, 2007). Suatu diagram sederhana spektrofotometer Uv-Vis ditunjukkan pada gambar 5 dibawah ini.



Gambar 6. Mekanisme Kerja Spektrofotometer Uv-Vis

Keuntungan utama dari metode spektrofotometri yaitu memberikan cara sederhana untuk menetapkan kuantitas zat yang kecil, hasil yang diperoleh cukup akurat karena angka yang terbaca langsung tercatat dan terbaca oleh detektor dan berbentuk grafik (Mubarok, 2021). Panjang gelombang yang digunakan dalam pengujian gula reduksi dengan metode DNS yang dilakukan dalam penelitian ini berkisar di 540 nm. Hasil pengujian dengan spektrofotometer Uv-Vis akan mendapatkan nilai absorbansi dan nilai konsentrasi dari masing-masing sampel dengan persamaan regresi yang didapatkan.



Gambar 7. Grafik Hubungan Absorbansi dan Konsentrasi

4. Pengujian Kadar Lignin dengan *Fourrier Transform Infra Red* (FTIR)

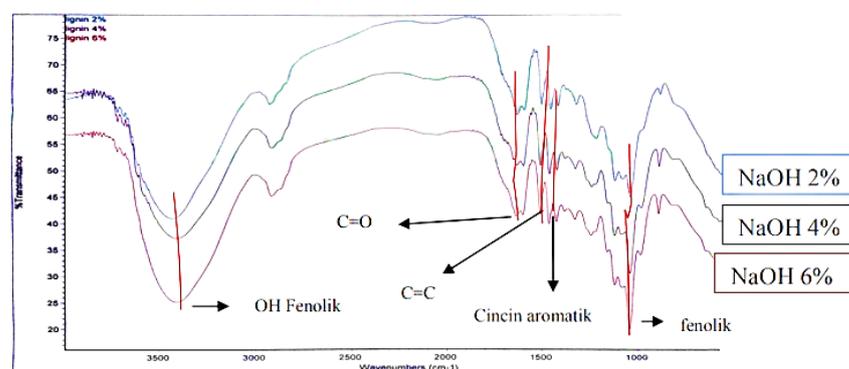
Analisis menggunakan instrument FTIR merupakan analisis yang bertujuan untuk mengidentifikasi gugus fungsi yang terkandung pada suatu sampel. Analisis ini dilakukan untuk mengetahui struktur gugus fungsi yang terdapat pada ampas tebu dengan penambahan garam KBr, kemudian dihomogenkan menggunakan lumping dan dicetak hingga berbentuk pelet. Sampel

selanjutnya dianalisis dengan instrument FTIR. Menurut (Chadijah, 2011), mengidentifikasi gugus fungsi yang ada pada lignin dengan menggunakan alat FTIR seperti tabel 10 berikut.

Tabel 10. Bilangan Gelombang Gugus Lignin

Standar Kisaran Pita Serapan (cm^{-1})	Keterangan Gugus Fungsi
3400 – 3450	OH fenolik
1660 – 1675	Vibrasi ulur C=O
1505 – 1515	Vibrasi ulur C-C
1460 – 1470	Vibrasi cincin aromatic
1000 – 1260	Senyawa fenolik

Sumber Chadijah (2011)



Gambar 8. Hasil Uji Gugus Fungsi Lignin

Sumber : Esse (2018)

Menurut penelitian Indo, (2018) Hasil yang didapatkan dari hasil penyerapan lignin pada radikal hidroksil golongan fenolik mengungkapkan bahwa frekuensi menurun seiring dengan meningkatnya konsentrasi NaOH. Teori Dachriyanus (2004) menjelaskan bahwa hal ini terjadi karena alkohol dengan bilangan gelombang yang lebih tinggi cenderung tidak memiliki ikatan hidrogen, karena proses netralisasi menciptakannya. Temuan studi (Esse, 2018) menghubungkan lignin dengan spektrum gemit dalam kisaran 400-4000 cm^{-1} .