

III. BAHAN DAN METODE

A. Tempat Dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Analisis Hasil Pertanian, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung dan Politeknik Negeri Lampung pada bulan Juli sampai dengan November 2012.

B. Bahan Dan Alat

Bahan yang digunakan adalah biomasa limbah agroindustri berupa ampas tebu yang diperoleh dari PT. Gunung Madu Plantation Lampung Tengah, asam sulfat (H_2SO_4) 1 N, asam sulfat (H_2SO_4) 72 %, natrium hidroksida (NaOH) yang diperoleh dari CV. Yona Kimia, aquadest, reagensia Nelson A, Nelson B dan reagensia arsenomolibdat yang didapatkan dari Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Unila.

Alat-alat yang digunakan antara lain Erlenmeyer 100 mL, mikropipet 1000 μL (Thermo Scientific, Finnpiette F3), oven (Philip Harris Ltd), loyang, timbangan 4 digit (Mettler M3000 Swiszerlan), grinder, ayakan (40 mesh), baskom, *shaker waterbath* (Polyscience), inkubator (Memmert), kertas saring, jerigen, gelas ukur, tabung sentrifuse, kuvet spektrofotometer, gelas beker, spatula, aluminium foil, cawan porselin, desikator, corong, hot plate (Cimerec3),

autoklaf (Wiseclave™), spektrofotometer (Milton Ray Company), DR 4000 (Shimanzu, USA), dan termometer.

C. Metode Penelitian

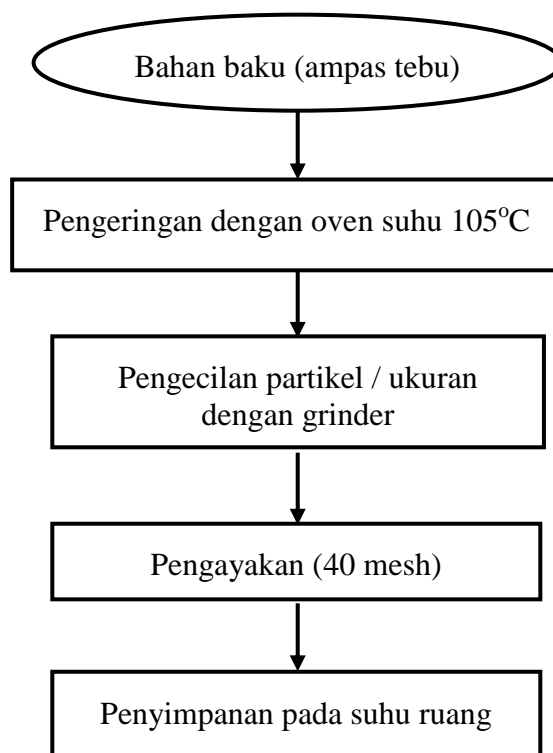
Penelitian ini dilakukan dua tahapan, yaitu tahap perlakuan awal dan tahap hidrolisis asam. Tahap perlakuan awal terdiri dari perlakuan awal dengan basa (NaOH) terhadap bahan baku, sedangkan tahap hidrolisis asam selulosa dan hemiselulosa ampas tebu dilakukan dengan menggunakan konsentrasi asam sulfat 0 M, 0,05 M, 0,10 M, 0,20 M, dan 0,30 M. Kemudian data hasil pengamatan disajikan dalam bentuk tabel dan grafik kemudian dianalisis secara deskriptif.

D. Pelaksanaan Penelitian

1. Perlakuan Awal

a. Persiapan Bahan Baku

Ampas tebu dikeringkan sampai berat konstan menggunakan oven (Philip Harris Ltd) pada suhu 105°C. Selanjutnya dilakukan pengecilan ukuran dengan ukuran 40 mesh. Bahan baku yang sudah kering dengan ukuran 40 mesh selanjutnya disimpan dalam kondisi kering (Gambar 7).

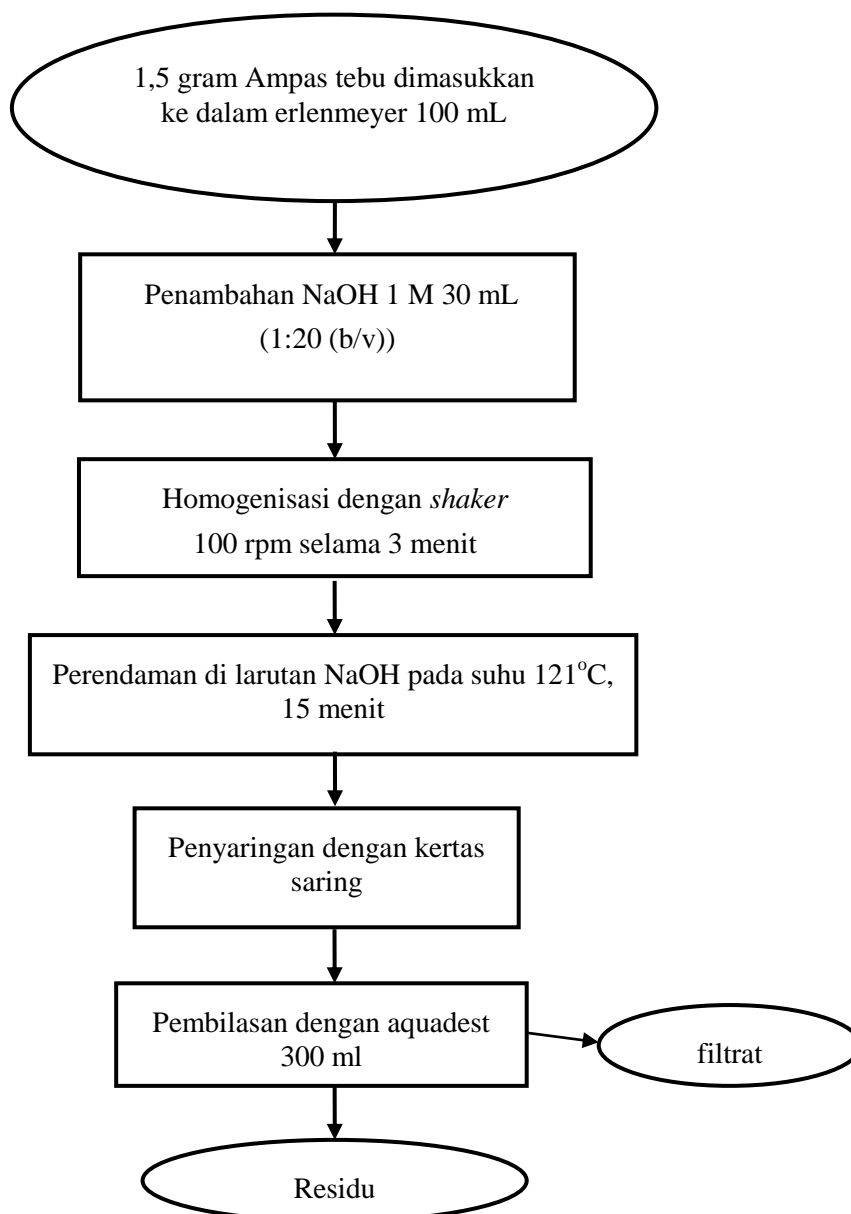


Gambar 7 . Persiapan bahan baku

Sumber : Samsuri *et al.*, 2007 yang telah dimodifikasi

b. Perlakuan Awal dengan Basa (NaOH)

Perlakuan awal bahan baku menggunakan metode Sutikno *et al.*, (2010). Sampel ampas tebu dengan berat konstan dan ukuran 40 mesh ditimbang sebanyak 1,5 gram dimasukkan dalam erlenmayer ukuran 100 mL, kemudian diberi larutan NaOH dengan konsentrasi 1 M sebanyak 30 mL. Setelah itu, sampel ampas tebu tersebut dihomogenisasi menggunakan shaker (Adolf Kuhner AG CH-4127) dengan kecepatan 100 rpm selama 3 menit dan dipanaskan dalam otoklaf (WiseclaveTM) pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah itu, sampel dicuci dan dibilas menggunakan aquades sebanyak 300 mL. Kemudian bagian padat dikeringkan dalam oven (Philip Harris Ltd) pada suhu 105°C selama 24 jam (Gambar 8).



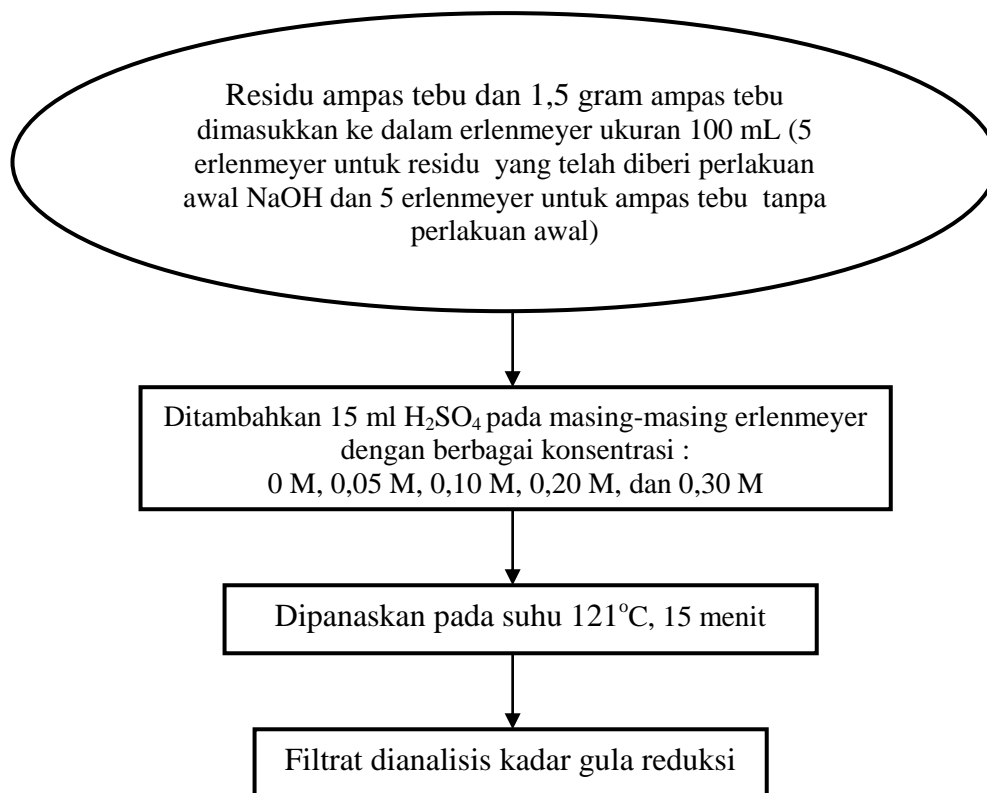
Gambar 8. Perlakuan awal dengan basa (NaOH)
Sumber : Sutikno *et al.*, 2010

2. Hidrolisis Asam

a. Perlakuan konsentrasi asam (H_2SO_4)

Ampas tebu ditimbang sebanyak 1,5 gram (untuk perlakuan awal basa dengan NaOH dan tanpa perlakuan awal basa dengan NaOH) dimasukkan ke dalam erlenmeyer ukuran 100 mL, kemudian ditambahkan 15 mL H_2SO_4 pada masing-

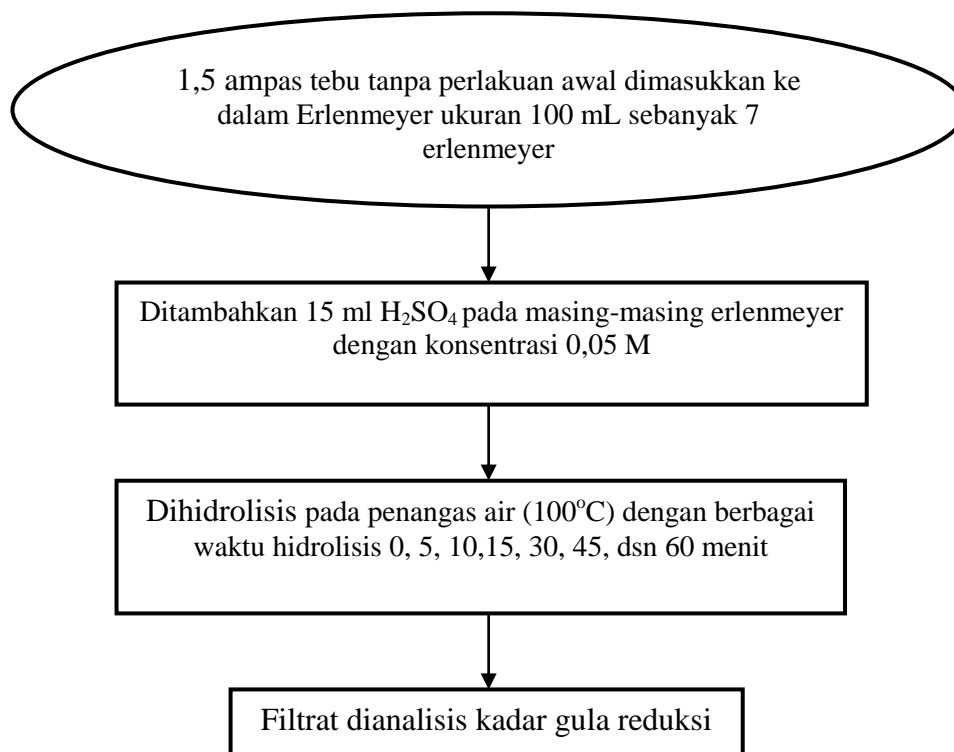
masing erlenmeyer dengan berbagai konsentrasi (0 M, 0,05 M, 0,10 M, 0,20 M, dan 0,30 M) dan dipanaskan dalam autoclave pada suhu 121 °C selama 15 menit. Kemudian filtrat dianalisis kadar gula reduksinya (Gambar 9).



Gambar 9. Perlakuan hidrolisis asam (H₂SO₄)
Sumber : Taherzadeh *et al.*, 2007 yang telah dimodifikasi

b. Perlakuan waktu hidrolisis (dengan variable tetap = suhu 100 °C)

Ampas tebu ditimbang sebanyak 1,5 gram dimasukkan ke dalam erlenmeyer 100 mL, kemudian ditambahkan 15 mL H₂SO₄ dengan konsentrasi perlakuan terbaik dan dihidrolisis pada penangas air 100 °C selama 0, 5, 10, 15, 30, 45, dan 60 menit. Kemudian diamati kadar gula reduksinya (Gambar 10).



Gambar 10. Perlakuan waktu hidrolisis asam (H_2SO_4)
Sumber : Taherzadeh *et al.*, 2007 yang telah dimodifikasi

D. Pengamatan

Pengamatan yang dilakukan dalam penelitian ini adalah komponen lignoselulosa (lignin, hemiselulosa, dan selulosa) pada bahan baku (Chesson dalam Datta (1981)) dan kadar gula reduksi (Nelson-Somogy dalam Sudarmadji, *et al.*, (1984)). Analisis kadar lignin dilakukan untuk mengetahui kandungan lignin yang terdapat pada bahan baku. Analisis kadar selulosa, kadar hemiselulosa dilakukan untuk mengetahui kandungan selulosa dan hemiselulosa yang terdapat pada bahan baku. Sedangkan analisis gula reduksi bertujuan untuk mengetahui kadar gula reduksi yang terdapat pada sampel.

1. Analisis Komponen Lignoselulosa

Analisis komponen lignoselulosa menggunakan metode Chesson dalam Datta (1981). Pertama sampel ampas tebu dikeringkan dengan oven (Philip Harris Ltd) pada suhu 70°C sampai kadar air nya maksimal 5%. Kemudian ampas tebu sebanyak 1 gram dimasukkan dalam erlenmayer 250 mL dan diberi penambahan aquadest sebanyak 150 ml lalu dipanaskan dengan menggunakan hot plate suhu 100°C selama 2 jam. Kemudian sampel disaring dengan kertas saring dengan penambahan aquadest sampai dengan volume filtrat 300 ml lalu keringkan residu dengan oven (Philip Harris Ltd) pada suhu 105°C sampai dengan berat konstan. Setelah didapat berat konstan. Maka didapatlah berat a. Residu (a) dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 mL lalu ditambahkan H₂SO₄ 1 N sebanyak 150 ml. Kemudian dipanaskan dengan hot plate suhu 100°C selama 1 jam. Lalu disaring dan residu dicuci dengan aquadest sampai dengan volume filtrat 300 ml dan dikeringkan dengan suhu 105°C sampai berat konstan. Maka didapatlah berat b.

Residu (b) dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 mL dengan penambahan H₂SO₄ 72% sebanyak 10 ml lalu residu (b) direndam dan biarkan selama 4 jam pada suhu ruang, kemudian residu (b) diberi penambahan H₂SO₄ 1 N sebanyak 150 ml dan dipanaskan dengan suhu 100°C selama 2 jam. Lalu sampel tersebut disaring dengan penambahan aquadest sampai dengan volume filtrat 400 ml dan keringkan dalam oven pada suhu 105°C sampai berat konstan. Maka didapatlah berat c. Setelah didapat berat c, maka dilakukan pengukuran kadar abu dengan memasukkan residu (c) ke dalam furnace suhu 600°C selama 4 jam lalu ditimbang untuk mendapatkan berat d.

Kadar Hemiselulosa dapat dihitung dengan rumus :

$$\text{Hemiselulosa (\%)} = \frac{a - b}{\text{Berat Sampel}} \times 100$$

Kadar Selulosa dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Selulosa (\%)} = \frac{b - c}{\text{Berat Sampel}} \times 100$$

Kadar Lignin dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Lignin (\%)} = \frac{c - d}{\text{Berat Sampel}} \times 100$$

2. Analisis gula reduksi (*Metode Nelson - Somogyi*)

Penyiapan kurva standar

Larutan glukosa standar dibuat dengan melarutkan 10 mg glukose anhidrat/ dalam 100 mL air suling, dan dilakukan 6 pengenceran sehingga diperoleh larutan glukosa dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 mg/100 mL. Lima tabung reaksi disiapkan, masing-masing diisi dengan 1 mL larutan glukosa standar tersebut di atas. Satu tabung diisi 1 mL air suling sebagai blanko, masing-masing tabung di atas ditambahkan 1 mL reagensia Nelson, dan semua tabung dipanaskan pada penangas air mendidih selama 20 menit. Semua tabung diambil dan segera didinginkan bersama-sama dalam gelas piala yang berisi air dingin sehingga suhu tabung mencapai 25°C. Setelah dingin 1 mL reagensia Arsenomolybdat ditambahkan dan digojog sampai semua endapan CuSO_4 yang ada larut kembali. Setelah semua endapan CuSO_4 larut sempurna, 7 mL air suling ditambahkan ke dalam tabung tersebut dan digojog sampai homogen. *Optical density* (OD) masing-masing larutan tersebut dibaca pada panjang gelombang 540 nm. Kurva standar dibuat yang menunjukkan hubungan antara konsentrasi glukosa dan OD (Sudarmadji *et al.*, 1984).

Penentuan Kadar Gula Reduksi Pada Contoh

Larutan contoh yang perlu diperhatikan bahwa larutan pada contoh ini harus jernih, karena itu bila dijumpai larutan contoh yang keruh atau berwarna maka perlu dilakukan penjernihan terlebih dahulu dengan menggunakan Pb-asetat atau bubuk Aluminium hidroksida. Kemudian larutan contoh yang jernih tersebut diambil sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang bersih. Reagensia Nelson sebanyak 1 mL ditambahkan ke dalam tabung tersebut dan selanjutnya diperlakukan seperti pada penyiapan kurva standar di atas. Jumlah gula reduksi dapat ditentukan berdasarkan OD larutan contoh dan kurva standar larutan glukosa.

Cara Pembuatan Reagensia

1. Reagensia Nelson

Reagensia Nelson A: 12,5 g Natrium karbonat anhidrat, 12,5 g garam Rochelle, 10 g Natrium bikarbonat dan 100 g Natrium sulfat anhidrat dilarutkan dalam 350 mL air suling kemudian diencerkan sampai 500 mL. Reagensia Nelson B: 7,5 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dilarutkan dalam 50 mL air suling dan ditambahkan 1 tetes asam sulfat pekat. Reagensia Nelson dibuat dengan cara mencampur 25 bagian Reagensia Nelson A dan 1 bagian Reagensia Nelson B. Pencampuran dikerjakan pada setiap hari akan digunakan.

2. Reagensia Arsenomolybdat

Dua puluh lima gram Ammonium molybdat dilarutkan dalam 450 mL air suling dan ditambahkan 25 mL asam sulfat pekat. Pada tempat yang lain 3 g $\text{Na}_2\text{HASO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dilarutkan dalam 25 mL air suling. Kemudian larutan ini

dituang ke dalam larutan yang pertama. Lalu disimpan dalam botol berwarna coklat dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Reagensia ini baru dapat digunakan setelah masa inkubasi tersebut, dan reagensia ini berwarna kuning.