

PENGARUH KONSENTRASI NaOH DAN LAMA WAKTU PEMANASAN MICROWAVE DALAM PROSES PRETREATMENT TERHADAP KADAR LIGNOSELULOSA *Chlorella vulgaris*

The Effect Of NaOH Concentration And Microwave Heating Time On Pretreatment Process Toward Lignocellulose Content Of Chlorella vulgaris

Moh. Risal Siregar*, Yusuf Hendrawan, Wahyunanto Agung Nugroho

Jurusan Keteknikan Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Brawijaya, Jl. Veteran – Malang 65145

*Penulis Korespondensi: email 115100601111003@ub.ac.id

ABSTRAK

Krisis energi mengakibatkan perlu adanya energi terbarukan salah satunya yakni *bioenergy* dengan bahan baku berupa biomassa. Salah satu sumber biomassa yang dapat dimanfaatkan adalah mikroalga *Chlorella vulgaris*. Tujuan dari penelitian ini adalah mempelajari pengaruh konsentrasi NaOH dan lama waktu pemanasan *microwave* terhadap kandungan selulosa, lignin dan hemiselulosa *Chlorella vulgaris*. 15 g bubuk *Chlorella vulgaris* dicampurkan dengan 150 mL NaOH (0.3 M; 0.5 M; 0.7 M) dan selanjutnya dilakukan pemanasan pada *microwave* PANASONIC model NN-GD371M ($f = 2450$ MHz; $P = 950$ Watt) pada level *low temperature* dengan variasi waktu 20, 30, dan 40 menit. Hasil ANOVA uji regresi linier berganda ($p\text{-value} = 0.05$) untuk kandungan selulosa dihasilkan signifikansi F 0.36, untuk kandungan hemiselulosa nilai signifikansi F sebesar 0.18 dan untuk kandungan lignin nilai signifikansi F sebesar 0.27. Dari hasil ANOVA uji regresi linier berganda didapat bahwa perlakuan tidak berpengaruh nyata terhadap kadar lignoselulosa. Hasil analisa indeks efektivitas, perlakuan terbaik didapat pada 0.7 M 40 menit. Kandungan selulosa mengalami penurunan dari 1.27% menjadi 0.53%, hemiselulosa mengalami kenaikan dari 17.02% menjadi 66.96% dan lignin mengalami kenaikan dari 0.27% menjadi 0.65%. Analisa kenampakan mikrostruktur dengan menggunakan uji SEM menunjukkan bahwa adanya struktur molekul yang berubah, rusak dan tidak kompak.

Kata Kunci: *Chlorella*, Lignoselulosa, Pretreatment

ABSTRACT

Energy crisis cause necessary a renewable energy such as *bioenergy* with biomass as resources. One of biomass resources which can be used is microalgae *Chlorella vulgaris*. The aim of this research is to learn the effect of NaOH concentration and microwave heating time toward content of cellulose, lignin and hemicellulose *Chlorella vulgaris*. 15 g powder of *Chlorella vulgaris* is mixing with 150 mL NaOH (0.3 M; 0.5 M; 0.7 M) and then be heated on microwave PANASONIC model NN-GD371M ($f = 2450$ MHz; $P = 950$ Watt) at low temperature level with time variations that 20, 30, and 40 minutes. The result of ANOVA double linier regression test ($p\text{-value} = 0.05$) for cellulose content produce F significance 0.36, for hemicellulose content value of F significance 0.18 and for lignin content value of F significance 0.27. From the result of ANOVA double linier regression test can be conclude that treatment not given a significant impact. The result of effectivity indeks analyze, the best treatment on 0.7 M 40 menit. Cellulose content go down from 1.27% to 0.53%, hemicellulose go up from 17.02% to 66.96% and lignin go up from 0.27% to 0.65% or can be said carbohydrate go up from 18.29% to 67.49%. Microstructure analysis with SEM show that structure of molecul changed, destroyed and not compact.

Keywords: *Chlorella*, Lignocellulose, Pretreatment

PENDAHULUAN

Di era modern ini, konsumsi energi menjadi salah satu kebutuhan penting yang harus terpenuhi demi berlangsungnya aktivitas. Hal ini dapat dibuktikan dengan cadangan dan produksi bahan bakar minyak bumi (fosil) di Indonesia yang mengalami penurunan $\pm 10\%$ setiap tahunnya sedangkan tingkat konsumsi minyak rata-rata naik $\pm 6\%$ per tahunnya (Kuncahyo, 2013). Oleh karena itu, perlu dikembangkan energi terbarukan pengganti bahan bakar fosil untuk mengatasi permasalahan ini seperti bioetanol maupun biobutanol.

Dalam proses produksi energi terbarukan, biomassa merupakan salah satu komponen penting. Biomassa merupakan campuran material organik yang kompleks, biasanya terdiri dari karbohidrat, lemak, protein dan beberapa mineral lain yang jumlahnya sedikit seperti sodium, fosfor, kalsium dan besi. Salah satu sumber biomassa yakni adalah mikroalga *Chlorella vulgaris*. *Chlorella vulgaris* merupakan genus mikroalga atau ganggang hijau bersel tunggal yang ukuran tubuhnya sangat renik dari $0.2\ \mu\text{m}$ hingga $0.02\ \text{cm}$ (10^{-6} - 10^{-4}m) dan dapat hidup di air tawar, laut serta tempat basah (Chisty, 2008). *Chlorella vulgaris* memiliki komposisi kimia protein (51-58%), karbohidrat (12-17%), lemak (14-22%), asam nukleat (4-5%) (Roziyah, 2008). Sebagai salah satu sumber biomassa mikroalga *Chlorella vulgaris* mempunyai potensi yang sangat baik dengan ketersediaan bahan baku mudah didapatkan, tidak bersaing dengan pangan, memiliki daya adaptasi yang cepat terhadap lingkungan kultur yang baru, cepat tumbuh dan cepat di panen (Prabowo, 2009).

Chlorella vulgaris mengandung bahan-bahan lignoselulosa seperti selulosa, hemiselulosa dan lignin dimana selulosa dapat dikonversi menjadi glukosa dan dijadikan sebagai substrat energi alternatif. Selulosa secara alami diikat oleh hemiselulosa dan dilindungi oleh lignin. Adanya senyawa pengikat lignin inilah yang menyebabkan bahan-bahan lignoselulosa sulit untuk dihidrolisis (Iranmahboob *et al.*, 2002). Proses *pretreatment* dilakukan untuk mengkondisikan bahan lignoselulosa dengan tujuan memecah dan mengurangi kandungan lignin dan hemiselulosa, merusak struktur kristal dari selulosa serta meningkatkan porositas bahan (Sun dan Cheng, 2002).

Rusakanya struktur kristal selulosa akan mempermudah terurainya selulosa menjadi glukosa. Selanjutnya senyawa-senyawa gula sederhana tersebut yang akan difermentasi oleh mikroorganisme tertentu (Mosier *et al.*, 2005).

Pada penelitian ini metode *pretreatment* yang digunakan adalah metode *microwave*-NaOH, yakni kombinasi lama waktu pemanasan dengan penambahan konsentrasi senyawa NaOH pada *Chlorella vulgaris*. Parameter teknis yang diukur dalam penelitian ini adalah kandungan lignoselulosa (selulosa, hemiselulosa dan lignin) pada mikroalga *Chlorella vulgaris* sebelum dan sesudah *pretreatment*. Tujuan dari penelitian ini adalah mempelajari pengaruh konsentrasi NaOH dan lama waktu pemanasan *microwave* terhadap kandungan selulosa, lignin dan hemiselulosa pada *Chlorella vulgaris* sebagai salah satu sumber biomassa.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah Mikroalga *Chlorella vulgaris*, larutan NaOH 0.3 M; 0.5 M; 0.7 M, Aquades.

Alat

Microwave PANASONIC model NN-GD371M ($f = 2450\ \text{MHz}$ dan $P = 950\ \text{Watt}$), *Stopwatch*, pH meter SenseLine Plus F470, Timbangan Digital, Toples, Loyang Kecil & Loyang Besar, Botol sampel, Gelas Ukur, Erlenmeyer 250 mL, Oven, Spatula, Kertas Saring.

Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan pada *pretreatment* ini adalah menggunakan analisis pengaruh konsentrasi NaOH dan lama waktu pemanasan terhadap kandungan selulosa, hemiselulosa dan lignin pada *Chlorella vulgaris* dengan menggunakan metode *Chesson* dan foto *mikrostruktur* hasil dari *Scanning Electron Microscopy* (SEM). Pengamatan kadar lignoselulosa menggunakan metode *Chesson* ini dilakukan dengan mereaksikan sampel dengan H_2SO_4 dan H_2O , direfluks dengan suhu $100\ ^\circ\text{C}$ dan dipanaskan dengan oven suhu $105\ ^\circ\text{C}$. Reaksi tersebut dilakukan berulang kali hingga didapatkan residu yang dikeringkan, selanjutnya hasil residu ditimbang dan

dihitung kandungan selulosa, hemiselulosa dan lignin (Datta, 1981).

Pada penelitian *pretreatment Chlorella vulgaris* dengan metode *microwave*-NaOH dilakukan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang disusun secara faktorial dengan 2 faktor. Faktor I merupakan konsentrasi NaOH yang terdiri dari 3 level dan Faktor II merupakan lama waktu pemanasan dengan 3 level. Dari kombinasi faktor-faktor tersebut diperoleh 9 perlakuan dan dilakukan 2 kali ulangan sehingga akan didapatkan 18 perlakuan kombinasi dari pengaruh konsentrasi NaOH dan lama waktu pemanasan. Kombinasi perlakuan yang dihasilkan dapat dijelaskan sebagai berikut

Preparasi Sample Dan Pengenceran NaOH

Bahan utama yang digunakan pada penelitian ini adalah mikroalga *Chlorella vulgaris* yang didapatkan dari BPBAP (Balai Perikanan Budidaya Air Payau) Situbondo berupa mikroalga yang siap panen. *Chlorella vulgaris* di sedimentasi selama ± 24 jam untuk mengendapkan partikel-partikel halus mikroalga. Setelah dilakukan pengendapan ± 24 jam, air pada *Chlorella vulgaris* diambil hingga hanya tersisa sedikit. Kemudian mikroalga dikering-anginkan selama ± 7 jam hingga mikroalga berbentuk pasta. Setelah berbentuk pasta, dilakukan pengeringan menggunakan oven pada suhu 105°C selama ± 24 jam untuk mengurangi kadar air sampai batas perkembangan mikroorganisme dan kegiatan enzim yang dapat menyebabkan pembusukan terhambat atau terhenti. Dengan demikian bahan yang dikeringkan hingga berbentuk bubuk dapat mempunyai waktu simpan yang lebih lama. Disamping itu, dilakukan proses pengenceran NaOH 1 M dengan ditambahkan aquades untuk didapatkan NaOH dengan tingkat konsentrasi 0.3, 0.5, dan 0.7 M.

Proses Perlakuan

Sebagai bahan perlakuan *pretreatment*, *Chlorella vulgaris* bubuk yang digunakan

sebanyak 15 gram yang kemudian dicampur dengan NaOH pada konsentrasi yang telah ditentukan sebanyak 150 mL atau dengan kata lain perbandingan untuk bubuk *Chlorella vulgaris* dengan larutan NaOH adalah 1 : 10. Setiap perlakuan menggunakan tiga erlenmeyer dalam satu kali waktu pemanasan *Chlorella vulgaris* pada *microwave*. Erlenmeyer yang digunakan yaitu ukuran 250 mL. Setelah itu dilakukan pengukuran pH untuk mengetahui pH larutan bahan sebelum di *microwave*. Pengukuran pH menggunakan alat pH meter tipe Methrohm 740. Setelah itu ditutup rapat dengan kapas dan dilanjutkan dengan aluminium foil. Hal ini dilakukan untuk menghindari proses penguapan NaOH pada saat *pretreatment* berlangsung. Selanjutnya *pretreatment Chlorella vulgaris* dilakukan dengan *microwave* pada frekuensi 2450 MHz dan daya 950 Watt pada level waktu yang telah ditentukan (20, 30, dan 40 menit).

Suhu pemanasan untuk *pretreatment* yang dipilih yakni pada level suhu rendah (*low temperature*) yaitu suhu yang digunakan dibawah 100°C ($\pm 89^{\circ}\text{C}$). Alasan memilih level *low temperature* suhu rendah ini karena bahan uji yang digunakan adalah bahan berbasis mikroorganisme, yang mana bahan berukuran mikro akan mengalami reaksi autohidrolisis apabila dikenakan suhu terlalu tinggi serta menghindari kerusakan struktur biomasnya (Mahdy *et al.*, 2014). Gelombang mikro yang dipancarkan magnetron ke dalam ruang *microwave* akan terperangkap di dalamnya karena terlindung oleh dinding *microwave* yang terbuat dari logam. Selanjutnya apabila gelombang mikro mengenai larutan, maka energi gelombang mikro ini akan diserap oleh larutan tersebut. Itulah perbedaan yang dimiliki oleh *microwave* dalam proses *pretreatment*. *Pretreatment* ini dimaksudkan untuk meningkatkan kemampuan area permukaan selulosa sehingga dapat meningkatkan konversi selulosa menjadi glukosa (hidrolisis). Sehingga diharapkan *pretreatment* dengan *microwave* ini dapat menurunkan kandungan

Tabel 1. Rancangan Percobaan *Pretreatment Chlorella vulgaris*

	L ₁ (20 menit)	L ₂ (30 menit)	L ₃ (40 menit)
K ₁ (0.3 M)	K ₁ L ₁	K ₁ L ₂	K ₁ L ₃
K ₂ (0.5 M)	K ₂ L ₁	K ₂ L ₂	K ₂ L ₃
K ₃ (0.7 M)	K ₃ L ₁	K ₃ L ₂	K ₃ L ₃

lignin dan hemiselulosa serta meningkatkan kandungan selulosa pada *Chlorella vulgaris*.

Langkah selanjutnya proses *pretreatment Chlorella vulgaris* ini adalah pemisahan padatan *Chlorella vulgaris* dengan larutan NaOH dan penetralan pH. Tujuan dilakukan penetralan pH ini untuk mengkondisikan bahan agar tidak terkontaminasi bakteri pembusuk. Untuk menetralkan pH larutan ini digunakan aquades panas dan disaring dengan menggunakan kertas saring dengan ukuran mesh yang lebih kecil dengan tujuan untuk proses pemisahan padatan *Chlorella vulgaris* dengan cairan aquades.

Aquades yang digunakan adalah aquades yang telah dipanaskan, hal ini bertujuan untuk mempercepat proses penetralan pH dari campuran basa NaOH dengan *Chlorella vulgaris*. Karena aquades panas lebih cepat menguap dan cenderung dapat mempercepat larutan menjadi netral. Jika larutan dalam keadaan netral maka akan memudahkan untuk proses selanjutnya, yaitu mudah untuk diatur kondisi sampel sesuai dengan ketentuan prosedur atau proses analisis lanjutan dari bahan yang dinetralkan pH-nya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Komposisi Lignoselulosa Sebelum Pretreatment

Bubuk *Chlorella vulgaris* sebelum *pretreatment* di analisis kandungan selulosa, hemiselulosa dan lignin dengan menggunakan metode Chesson. Hasil pengukuran kandungan selulosa, hemiselulosa dan lignin bubuk *Chlorella vulgaris* sebelum proses *pretreatment* ditampilkan pada Tabel 2.

Pada Tabel 2 didapatkan nilai kandungan lignoselulosa *Chlorella vulgaris* rata-rata setelah dilakukan dua kali pengujian

dengan menggunakan metode Chesson secara berurutan sebelum *pretreatment* sebesar 1.27% untuk selulosa, 17.2% untuk hemiselulosa dan untuk lignin sebesar 0.27%.

Berdasarkan penelitian Roziyah (2008) kandungan karbohidrat pada *Chlorella vulgaris* adalah sebesar 12-17%, menurut Mahdy *et al* (2014) kandungan karbohidrat *Chlorella vulgaris* adalah sebesar 18.7% sedangkan pada penelitian ini dihasilkan kandungan karbohidrat *Chlorella vulgaris* sebesar 18.29%. Adanya perbedaan komposisi kimia (karbohidrat) sel mikroalga berbeda-beda disebabkan oleh kondisi kultivasi. Kondisi kultivasi yang dimaksudkan adalah adanya pengaruh faktor suhu, cahaya, pH, ketersediaan karbondioksida, garam dan nutrisi lainnya (Matakupan, 2009). Kondisi kultivasi berakibat pada berlangsungnya proses fotosintesis mikroalga.

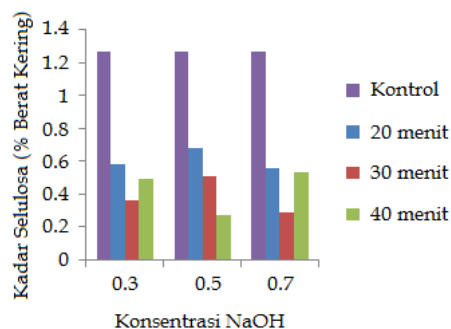
Pengaruh Konsentrasi NaOH dan Lama Waktu Pemanasan Terhadap Kandungan Selulosa Bubuk *Chlorella vulgaris*

Selulosa merupakan salah satu komposisi pada bubuk *Chlorella vulgaris* yang diharapkan semakin meningkat pada proses *pretreatment*. Hal ini dikarenakan semakin tinggi kandungan selulosa yang terkandung dalam sebuah biomassa (bubuk *Chlorella vulgaris*), maka semakin tinggi pula kadar glukosa yang mampu di hasilkan (tahap hidrolisis). Besar kandungan selulosa bubuk *Chlorella vulgaris* setelah di lakukan proses *pretreatment* dapat dilihat pada Gambar 1.

Dapat dilihat pada gambar diatas, bahwa kadar selulosa yang dihasilkan bubuk *Chlorella vulgaris* setelah proses *pretreatment* dengan perlakuan konsentrasi NaOH dan lama waktu pemanasan *microwave* mengalami penurunan dibandingkan dengan kadar selulosa sebelum *pretreatment*. Padahal menurut penelitian Zhao *et al.*, (2007) menyatakan bahwa *pretreatment*

Tabel 2. Kandungan Lignoselulosa Bubuk *Chlorella vulgaris* Sebelum Pretreatment

Komponen	Kandungan (% berat kering)	Rata-Rata (% berat kering)
Selulosa	1.42	1.27
	1.11	
Hemiselulosa	17.31	17.02
	16.73	
Lignin	0.29	0.27
	0.25	



Gambar 1. Histogram Kadar Selulosa Sesudah Pretreatment

dengan penambahan NaOH menghasilkan rasio konversi selulosa yang lebih tinggi dibandingkan *pretreatment* H_2SO_4 pada saat hidrolisis secara enzimatis. Kandungan selulosa pada sampel kontrol (*non pretreatment*) yakni sebesar 1.27%. Kandungan selulosa setelah *pretreatment* mengalami penurunan. Sampel setelah *pretreatment* yang mempunyai kandungan selulosa tertinggi yakni pada perlakuan konsentrasi NaOH 0.5 M dan lama waktu 20 menit dengan kadar 0.68% dan sample yang mempunyai kandungan selulosa terendah adalah pada perlakuan konsentrasi 0.7 M dan lama waktu 40 menit dengan kadar 0.27%.

Berdasarkan hasil uji regresi linier berganda, dihasilkan persamaan yakni $Y = -0.016 \cdot X_1 - 0.009 \cdot X_2 + 0.76$ dengan nilai R^2 (koefisien determinasi) yaitu 0.13 dan nilai r (koefisien korelasi) yaitu 0.36. Berdasarkan hasil uji ANOVA terhadap kandungan selulosa yang dihasilkan setelah *pretreatment* pada perlakuan konsentrasi NaOH dan lama waktu pemanasan *microwave* menunjukkan bahwa hasil F-hitung perlakuan sebesar 1.08. Hasil F-hitung dibandingkan dengan F-tabel. Hasil perbandingan yang diperoleh menyatakan bahwa nilai F-hitung lebih kecil dari nilai F-tabel 5% yakni 3.68. Besarnya nilai signifikansi F yakni 0.36, lebih besar dari *p-value* (0.05) yang berarti sangat tidak signifikan. Sehingga dapat dikatakan bahwa perlakuan *pretreatment* dengan perbedaan konsentrasi NaOH dan lama waktu pemanasan *microwave* tidak berbeda nyata atau tidak berpengaruh terhadap kandungan selulosa bubuk *Chlorella vulgaris*.

Selain itu didapatkan kandungan selulosa yang menurun setelah proses *pretreatment*, disebabkan adanya struktur selulosa yang teratur terbuka dan molekul selulosa terdispersi secara bebas dalam solven (NaOH). Dengan struktur selulosa

yang terdispersi secara bebas dalam solven, selulosa diduga akan ikut hanyut terbawa oleh solven ketika proses penyaringan. Selain itu sebagai pelarut dalam proses *pretreatment*, larutan NaOH ternyata dapat menimbulkan reaksi autohidrolisis yakni sebuah respon yang dihasilkan oleh suatu mikroorganisme yang disebabkan adanya pengaruh panas yang memenuhi syarat. Efek dari reaksi autohidrolisis adalah adanya pelepasan enzim hidrolisis dari mikroorganisme sehingga tidak perlu katalis berlebih.

Menurut Mahdy *et al* (2014), adanya penambahan NaOH pada *Chlorella vulgaris* sebanyak 5 % (w/w) pada suhu 50°C selama 24 jam menghasilkan tingkat kelarutan karbohidrat sebesar 9.8% lebih kecil dibanding dengan tidak adanya penambahan NaOH (autohidrolisis pada suhu 50 °C selama 24 jam) yang menghasilkan kelarutan karbohidrat sebesar 10.8%. Selain itu, penambahan konsentrasi NaOH sebanyak 0.05 % (w/w) pada suhu 50 °C selama 24 jam menghasilkan kelarutan karbohidrat lebih banyak dibanding dengan adanya penambahan NaOH sebanyak 5% (w/w) pada suhu dan waktu yang sama. Sedangkan pada mikroalga *Scenedesmus sp.*, semakin tinggi konsentrasi NaOH yang ditambahkan maka tingkat kelarutan karbohidrat juga semakin tinggi. Hal ini ditunjukkan dengan adanya penambahan NaOH 5% (w/w) mampu menaikkan tingkat kelarutan karbohidrat sebesar 40.4% pada suhu 50 °C selama 24 jam dari tanpa penambahan NaOH yang hanya memiliki kelarutan karbohidrat sebesar 31.3%. Sedangkan pada penambahan NaOH 0.05% (w/w), tingkat kelarutan karbohidrat turun dari 31.3% menjadi 14%. Hal ini dapat disimpulkan bahwa pada dosis penambahan NaOH yang rendah pada *Scenedesmus sp.*, tingkat kelarutan karbohidrat lebih lambat dibandingkan dengan oksidasi atau reaksi

dengan senyawa lain sehingga kandungan karbohidrat dalam media menurun.

Menurut Winarsih (2013), proses perusakan struktur pada ikatan lignin dan hemiselulosa mampu mengakibatkan peningkatan jumlah selulosa bebas yang ada pada suatu biomassa. Adanya penambahan larutan NaOH (basa kuat) pada bubuk *Chlorella vulgaris* dapat menyebarkan energi melalui konduksi ionik yang menyebabkan pemanasan. Pemanasan *microwave* pada cairan atau padatan dapat mengubah energi elektromagnetik menjadi energi panas. Proses interaksi *microwave* dengan bahan ini mengakibatkan kandungan hemiselulosa yang mengikat selulosa dapat terlepas dan kandungan lignin pada dinding sel yang menghalangi selulosa mulai turun.

Pengaruh Konsentrasi NaOH dan Lama Waktu Pemanasan Terhadap Kandungan Hemiselulosa Bubuk *Chlorella vulgaris*

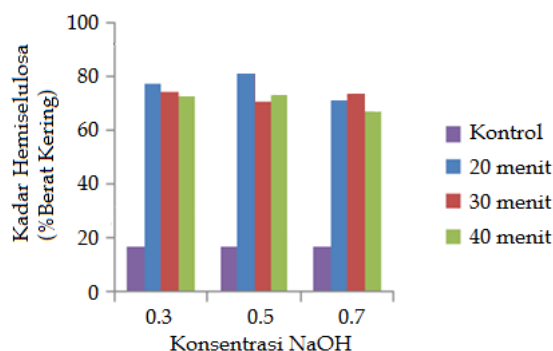
Berdasarkan data yang ditampilkan pada histogram Gambar 2, kadar hemiselulosa yang dihasilkan bubuk *Chlorella vulgaris* setelah proses *pretreatment* dengan perlakuan konsentrasi NaOH dan lama waktu pemanasan *microwave* mengalami kenaikan dibandingkan dengan kadar hemiselulosa sebelum *pretreatment*. Padahal menurut Gaspar *et al.* (2007), metode alkali *treatment* lebih efektif merusak ikatan ester antara lignin, hemiselulosa dan selulosa. Kandungan hemiselulosa pada sample kontrol (non *pretreatment*) yakni sebesar 17.02%. Sample setelah *pretreatment* yang mempunyai kandungan hemiselulosa terendah yakni pada perlakuan konsentrasi NaOH 0.7 M dan lama waktu 40 menit dengan kadar 66.96% dan kandungan hemiselulosa tertinggi pada perlakuan konsentrasi 0.5 M dan lama waktu pemanasan 20 menit dengan kadar 80.98%.

Berdasarkan hasil uji regresi linier berganda, dihasilkan persamaan yakni $Y = -11.17 \cdot X_1 - 0.26 \cdot X_2 + 87.02$ dengan nilai koefisien determinasi (R^2) yaitu 0.20 dan nilai koefisien korelasi (r) yaitu 0.45. Berdasarkan hasil uji Anova terhadap kandungan selulosa yang dihasilkan setelah *pretreatment* pada perlakuan konsentrasi NaOH dan lama waktu pemanasan *microwave* menunjukkan bahwa hasil F-hitung perlakuan sebesar 1.93. Hasil F-hitung dibandingkan dengan F-tabel. Hasil perbandingan yang diperoleh menyatakan bahwa nilai F-hitung lebih kecil dari nilai F-tabel 5% yakni 3.68. Besarnya nilai signifikansi F yakni 0.18, lebih besar dari *p-value* (0.05) yang berarti sangat tidak signifikan. Sehingga dapat dikatakan bahwa perlakuan *pretreatment* dengan perbedaan konsentrasi NaOH dan lama waktu pemanasan *microwave* tidak berbeda nyata terhadap kandungan selulosa bubuk *Chlorella vulgaris*.

Selain itu didapatkan kandungan hemiselulosa yang naik sangat drastis setelah proses *pretreatment* disebabkan karena pengaruh adanya penambahan larutan NaOH mengakibatkan tingkat kelarutan karbohidrat lebih lambat dibandingkan dengan oksidasi atau reaksi dengan senyawa lain sehingga kandungan karbohidrat dalam media menurun. Ketika tingkat kelarutan karbohidrat melambat terjadi reaksi oksidasi untuk membentuk senyawa yang lebih kompleks dan akhirnya terakumulasi hingga kandungan hemiselulosa naik (Mahdy *et al.*, 2014).

Pengaruh Konsentrasi NaOH dan Lama Waktu Pemanasan Terhadap Kandungan Lignin Bubuk *Chlorella vulgaris*

Berdasarkan data yang ditampilkan pada histogram diatas, kadar lignin yang dihasilkan bubuk *Chlorella vulgaris* setelah



Gambar 2. Histogram Kadar Hemiselulosa Sesudah Pretreatment

proses *pretreatment* dengan perlakuan konsentrasi NaOH dan lama waktu pemanasan *microwave* mengalami kenaikan dibandingkan dengan kadar lignin sebelum *pretreatment*. Menurut Gaspar *et al.* (2007), Metode alkali *treatment* lebih efektif merusak ikatan ester antara lignin, hemiselulosa dan selulosa dan mencegah fragmentasi polimer hemiselulosa. Kandungan lignin pada sample kontrol (non *pretreatment*) yakni sebesar 0.27%. Sample setelah *pretreatment* yang mempunyai kandungan lignin terendah yakni pada perlakuan konsentrasi NaOH 0.3 M dan lama waktu 30 menit dengan kadar 0.39% dan sample yang mempunyai kandungan lignin tertinggi yakni pada perlakuan konsentrasi 0.7 M dan lama waktu 20 menit dengan kadar 0.69%.

Berdasarkan hasil uji regresi linier berganda, dihasilkan persamaan yakni $Y = 0.44 \cdot X_1 - 0.001 \cdot X_2 + 0.36$ dengan nilai koefisien determinasi (R^2) yaitu 0.16 nilai koefisien korelasi (r) yaitu 0.40. Berdasarkan hasil uji ANOVA terhadap kandungan selulosa yang dihasilkan setelah *pretreatment* pada perlakuan konsentrasi NaOH dan lama waktu pemanasan *microwave* menunjukkan bahwa hasil F-hitung perlakuan sebesar 1.42. Hasil F-hitung dibandingkan dengan F-tabel. Hasil perbandingan yang diperoleh menyatakan bahwa nilai F-hitung lebih kecil dari nilai F-tabel 5% yakni 3.68. Besarnya nilai signifikansi F yakni 0.27, lebih besar dari p -value (0.05) yang berarti sangat tidak signifikan. Sehingga dapat dikatakan bahwa perlakuan *pretreatment* dengan perbedaan konsentrasi NaOH dan lama waktu pemanasan *microwave* tidak berbeda nyata terhadap kandungan selulosa bubuk *Chlorella vulgaris*.

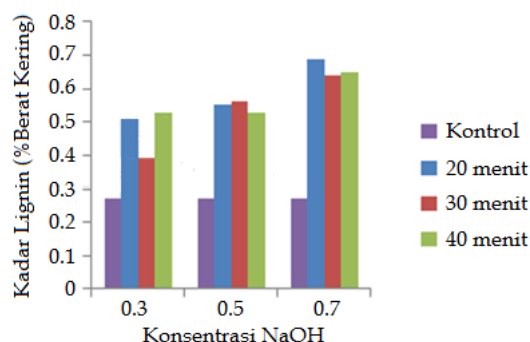
Adanya penambahan larutan NaOH mengakibatkan degradasi lignin yang akan

mengakibatkan struktur lignin lisis yang kemudian mengakibatkan molekulnya sebagian terkondensasi dan mengendap (Fengel dan Wegener, 1995). Adanya molekul lignin yang terendapkan akan berpengaruh pada akumulasi bobot molekul rata-rata, yang pada hal ini dapat mengakibatkan bobot molekul lignin naik.

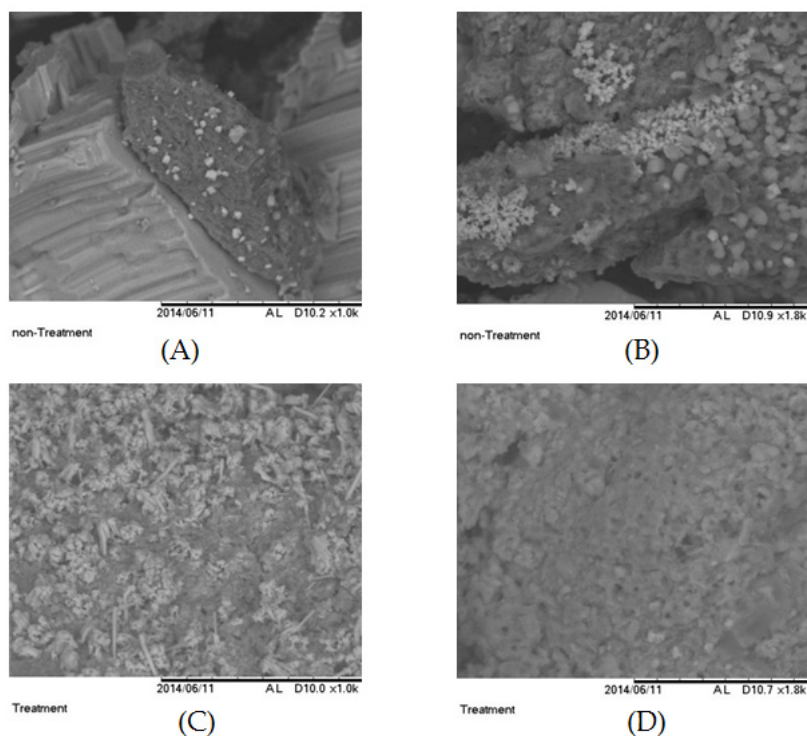
Hasil Uji SEM (Scanning Electron Microscopy) Bubuk *Chlorella vulgaris*

Setelah diketahui hasil perlakuan terbaik, maka tahap selanjutnya yakni dilakukan uji *Scanning Electron Microscopy* (SEM). Sampel yang diujikan meliputi bahan sebelum dan setelah dilakukannya proses *pretreatment*. Sampel bubuk *Chlorella vulgaris* setelah *pretreatment* yang diujikan hanya perlakuan terbaik saja, yaitu bubuk *Chlorella vulgaris* dengan perlakuan konsentrasi NaOH 0.7 M dan lama waktu pemanasan 40 menit. Uji SEM dilakukan untuk mengetahui perubahan secara fisiologis atau kenampakan struktur dari bubuk *Chlorella vulgaris* sebelum dan sesudah proses *pretreatment* dengan *microwave*. Berikut adalah gambar perbandingan struktur mikro hasil uji SEM pada bubuk *Chlorella vulgaris* sebelum dan sesudah proses *pretreatment* dengan berbagai perbesaran yang dapat dilihat pada Gambar 4.

Berdasarkan uji hasil SEM terlihat bahwa terdapat perbedaan kenampakan mikrostruktur pada bubuk *Chlorella vulgaris* sebelum *pretreatment* (Gambar 4. (A) dan Gambar 4. (B)) dan sesudah *pretreatment* (Gambar 4. (C) dan Gambar 4. (D)). Pada Gambar 4. (A) dan Gambar 4. (B) menunjukkan bahwa bubuk *Chlorella vulgaris* sebelum *pretreatment* mempunyai kenampakan mikrostruktur yang kompak dengan hanya sedikit terlihat rongga didalamnya. Hal ini disebabkan karena



Gambar 3. Histogram Kadar Lignin Sesudah Pretreatment



Gambar 4. Kenampakan Mikrostruktur Permukaan Bubuk *Chlorella vulgaris* Hasil Uji SEM : (A) Bubuk *Chlorella vulgaris* sebelum *pretreatment* perbesaran 1000x, (B) Bubuk *Chlorella vulgaris* sebelum *pretreatment* perbesaran 1800x, (C) Bubuk *Chlorella vulgaris* sesudah *pretreatment* perbesaran 1000x, (D) Bubuk *Chlorella vulgaris* sesudah *pretreatment* perbesaran 1800x

dinding sel belum mengalami degradasi oleh adanya perlakuan penambahan larutan NaOH dan pemanasan *microwave*. Berbeda dengan kenampakan pada Gambar 4. (C) dan Gambar 4. (D), dimana terlihat bubuk *Chlorella vulgaris* mempunyai struktur yang tidak kompak, lebih tidak beraturan dan rongga didalamnya nampak lebih besar. Terlihat kenampakan mikrostruktur yang berongga ini dikarenakan terdegradasinya struktur lignin dan hemiselulosa, mengakibatkan permukaan luar rusak, terbuka dan tidak kompak lagi.

Dengan terbukanya permukaan luar bubuk *Chlorella vulgaris* mengakibatkan mudahnya proses hidrolisis selulosa menjadi glukosa. Hal ini dikarenakan rusaknya permukaan luar bubuk *Chlorella vulgaris* diikuti dengan proses degradasi lignin dan hemiselulosa, sehingga mengakibatkan selulosa terbebaskan dan mudah diakses oleh enzim untuk diubah menjadi glukosa dengan hasil yang lebih maksimal. Terdegradasinya lignin dan hemiselulosa dapat terlihat pada perbedaan Gambar 4. (A) dan Gambar 4. (C), dimana pada Gambar 4. (A) nampak struktur lignin dan hemiselulosa

masih kompak, sedangkan pada Gambar 4. (C) nampak struktur lignin dan hemiselulosa terlihat seperti terpotong-potong dan rusak.

Menurut Zheng (2009), radiasi tinggi pada biomassa selulosa akan menambah luas permukaan, mengurangi derajat polimerisasi dan kiralinitas selulosa, menghidrolisis hemiselulosa dan menyebabkan depolimerisasi sebagian lignin. Semakin besar akses area yang ada, glukosa yang dihasilkan oleh selulosa akan semakin meningkat (Winarsih, 2013).

Perbandingan Penelitian Terdahulu

Penelitian *pretreatment Chlorella vulgaris* masih sangat jarang. Hal ini dapat dilihat dari beberapa publikasi jurnal penelitian mengenai *pretreatment Chlorella vulgaris* di tahun 2014. Pada penelitian ini, parameter yang digunakan adalah kandungan lignoselulosa, sedangkan untuk jenis penelitian yang sama parameter yang digunakan adalah kelarutan karbohidrat. Maka dari itu, sebagai perbandingan digunakan parameter total karbohidrat. Berikut ini adalah perbandingan hasil peningkatan total karbohidrat dari penelitian

Tabel 3. Perbandingan Hasil *Pretreatment Chlorella vulgaris*

Perlakuan	Peningkatan Kelarutan Karbohidrat (%)	Referensi
<i>Pretreatment</i> NaOH (2% w/w) - <i>waterbath</i> (50 °C, 100 rpm, 48 jam)	18.2	Mahdy <i>et al.</i> , 2014
<i>Pretreatment Autoclave</i> (180 °C; 10 menit)	70	Mendez <i>et al.</i> , 2014
<i>Pretreatment</i> Oven-Organosolv (Methanol 32% v/v, 0.6 M H ₂ SO ₄) 75 °C	0.17	Andres <i>et al.</i> , 2014
<i>Pretreatment Microwave</i> -NaOH 0.7 M 40 Menit (P = 950 W; 89 °C)	67.49	Hasil penelitian ini

sebelumnya dengan penelitian sekarang dapat dilihat pada Tabel 3.

Berdasarkan sumber beberapa penelitian mengenai *pretreatment Chlorella vulgaris*, terdapat hasil peningkatan kelarutan karbohidrat yang berbeda-beda. Peningkatan kelarutan karbohidrat tertinggi terdapat pada *pretreatment autoclave* dengan tingkat kelarutan karbohidrat 70% dan kelarutan karbohidrat terendah pada *pretreatment* Oven-Organosolv dengan kelarutan karbohidrat 0.17%. Hasil penelitian ini menunjukkan tingkat kelarutan karbohidrat sebesar 68.13%. Angka kelarutan ini tergolong tinggi, namun pada penelitian parameter yang ditekankan adalah pada kadar lignoselulosanya. Penelitian ini ditekankan pada peningkatan selulosa, dan penurunan lignin serta hemiselulosa.

Namun, pada penelitian ini didapatkan hal yang berbeda dimana kandungan selulosa mengalami penurunan, lalu lignin dan hemiselulosa mengalami kenaikan. Adanya penurunan selulosa sebesar 0.74% dari 1.27% ke 0.53% disebabkan oleh beberapa hal. Pertama, menurut Mahdy *et al.* (2014) adanya penurunan total karbohidrat terlarut disebabkan karena adanya pemberian dosis NaOH yang tinggi, sehingga menyebabkan karbohidrat yang terlarut teroksidasi dan membentuk ikatan yang kompleks. Adanya pembentukan ikatan kompleks ini dapat dibuktikan dengan semakin naiknya kandungan hemiselulosa selama proses *pretreatment* yakni sebesar 49.94% dari 17.02% menjadi 66.96%. Kedua, diduga penurunan selulosa disebabkan karena adanya efek pencucian aquades dan proses penyaringan, dimana selulosa yang mulai

terkonversi menjadi gula ikut hanyut selama proses pencucian dan penyaringan. Ketiga, dimungkinkan ada kesalahan pada saat proses pengujian lignoselulosa menggunakan metode Chesson. Metode ini dilakukan dengan mereaksikan sampel (1 gram) dengan H₂SO₄ dan H₂O, direfluks dengan suhu 100 °C dan dipanaskan dengan oven suhu 105 °C.

SIMPULAN

Perlakuan konsentrasi NaOH dan lama waktu pemanasan *microwave* tidak memberikan pengaruh nyata terhadap hasil kandungan lignoselulosa. Hal ini dapat dilihat dari hasil ANOVA uji regresi linier berganda bahwa nilai signifikansi F (p -value = 0.05) ketiga parameter yakni selulosa = 0.36, hemiselulosa = 0.18 dan lignin = 0.27. Kandungan selulosa mengalami penurunan dan hemiselulosa mengalami kenaikan karena terjadi reaksi autohidrolisis dan pembentukan senyawa kompleks. Sedangkan kandungan lignin mengalami kenaikan karena dinding sel mengalami kondensasi dan mengendap dan berpengaruh terhadap bobot molekul. Hasil perlakuan terbaik diperoleh pada perlakuan *pretreatment Chlorella vulgaris* dengan perlakuan konsentrasi 0.7 M dan lama waktu pemanasan 40 menit dengan kandungan selulosa 0.53%, kandungan hemiselulosa 66.96% dan kandungan lignin 0.65%.

DAFTAR PUSTAKA

Andres F, Barajas S, Angel DGD, Viatcheslas K. 2014. Effect of Thermal Pre-Treatment on Fermentable Sugar

- Production of *Chlorella vulgaris*. *Chemical Engineering Transactions* (37): 655-660.
- Chisty Y. 2008. Biodiesel from Microalgae Beats Bioethanol. *Trend in Biotechnology* 26(3): 126-131.
- Datta A, Betterman A, dan Kirk TK. 1981. Identification of Specific Manganese Peroxidase Among Lignolytic Enzym Secreted by *Phanerochaete chrysosporium* During Wood decay. *Appl. Environ. Microbiol.* (57): 1453-1460.
- Fengel D dan Wegener G. 1995. Kayu; Kimia, Ultrastruktur dan Reaksi-reaksi. Gajah Mada University Press: Yogyakarta. Terjemahan dari: wood; Chemistry, Ultrastructure, Reaction.
- Gaspar M, Kalman G, dan Reczey K. 2007. Corn Fiber As A Raw Material For Hemicellulose And Ethanol Production. *Process Biochem* (42): 1135-1139.
- Iranmahboob J, Nadim F, dan Monemi S. 2002. Optimizing Acid-Hydrlysis: A Critical Step for Production of Ethanol from Mixed Wood Chips. *Biomass and Bioenergy* (22): 401-404.
- Kunahyo P, Aguk ZM, dan Fathallah S. 2013. Analisa Prediksi Potensi Bahan Baku Biodiesel Sebagai Suplemen Bahan Bakar Motor Diesel di Indonesia. *Jurnal Teknik Pomits* 2(1): ISSN: 2337-3539 (2301-9271 Print).
- Matakupan J. 2009. Studi Kepadatan Tetraselmischui yang Dikultur Pada Intensitas Cahaya yang Berbeda. *Jurnal Triton* 5 (2)
- Mahdy A, Lara M, Mercedes B, Cristina GF. 2014. Autohydrolysis and Alkaline Pretreatment Effect on *Chlorella vulgaris* and *Schenedesmus sp.* Methane Production. *Energy* (30) : 1-5.
- Mendez L, Ahmed M, Marie D, Mercedes B, and Cristina GF. 2014. Effect of High Pressure Thermal Pretreatment on *Chlorella vulgaris* Biomass: Organic Matter Solubilization and Biochemical Methane Potential. *Fuel* (117) : 674-679
- Mosier NS, Wyman C, dan Dale B. 2005. Features Of Promising Technologies for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass. *Bioresour. Technol.* (96): 673-686.
- Prabowo DA. 2009. Optimasi Pengembangan Media untuk Pertumbuhan *Chlorella vulgaris* Skala Laboraturium. Skripsi Fakultas Kelautan dan Ilmu Perikanan. IPB. Malang.
- Roziyah A. 2008. Potensi Mikroalga *Chlorella Vulgaris* sebagai Bahan Baku Penghasil Biodiesel yang Terbaharui, Ekonomis dan Ramah Lingkungan. Skripsi. FMIPA Universitas Brawijaya. Malang.
- Sun Y and Cheng J. 2002. Hydrolysis of Lignocellulosic Materials for Ethanol Production: A Review. *Bioresource Technol* (83) : 1-11.
- Winarsih S. 2013. Pemanfaatan Jerami Padi untuk Produksi Bioetanol dengan Pretreatment Microwave Alkali dan Hidrolisis Menggunakan Enzim Kasar dari *Trichoderma ressei* dan *Aspergillus niger*. FTP. UB. Malang
- Zhao X, Zhang L, and Liu D, 2007. Comparative Study on Chemical Pretreatment Methods for Improving Enzymatic Digestibility of Crofton Weed Stem. *Bioresource Technol* (99): 3729-3736.
- Zheng Y, Pan Z, and Zhang R. 2009. Overview of Biomass Pretreatment for Cellulosic Ethanol Production. *Int. J Agric & Biol Eng* 2(3): 51 - 68.