

3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

1.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi bahan utama dan bahan kimia. Bahan utama yang digunakan adalah alga coklat *Sargassum cristaefolium* yang diperoleh dari perairan Kabupaten Sumenep, Kepulauan Madura, Jawa Timur. Adapun bahan kimia yang digunakan dalam proses penelitian ini antara lain CaCO_3 , asam sulfat (H_2SO_4), natrium hidroksida (NaOH), plastik wrap, plastik klip, alumunium foil, kertas saring, selang, silika gel dan aquades.

1.2 Alat Penelitian

Alat – alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi peralatan untuk delignifikasi dan hidrolisis serta peralatan untuk analisis. Alat – alat yang digunakan untuk delignifikasi dan hidrolisis antara lain kompor gas, botol kaca 1000 ml, erlenmayer 300 ml, gelas ukur 150 ml, beaker glass 500 ml, timbangan digital, waterbath, corong, dan spatula. Adapun peralatan yang digunakan untuk proses analisa antara lain pendingin balik, boiling flask, desikator, botol timbang, timbangan anlalitik, timbang digital, oven, cawan porselin, pipet, spatula, dan corong.

1.3 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen eksploratif karena melihat pengaruh pemberian treatment pada proses hidrolisis dan memberikan informasi awal tentang kandungan alga coklat *Sargassum cristaefolium*. Eksperimen dalam penelitian ini dibagi menjadi dua tahap, yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Penjelasan lebih lanjut dapat

dilakukan dengan mencari tahu kolerasi antar variabel penelitian menggunakan metode kolerasional yang bertujuan untuk menentukan apakah terdapat asosiasi antara dua variabel atau lebih, serta seberapa jauh kolerasi yang ada diantara variabel yang diteliti.

1.3.1 Penelitian Tahap 1

Pada penelitian tahap ini terdapat 5 perlakuan untuk mendapatkan perlakuan terbaik, yaitu uji lignoselulosa pada *S. cristaefolium*, konsentrasi NaOH pada proses delignifikasi, perlakuan setelah proses deliginifikasi, konsentrasi H₂SO₄ pada proses hidrolisis dan waktu hidrolisis. Tahapan proses penelitian pendahuluan antara lain :

1. Uji Lignoselulosa pada *S. cristaefolium*

Pada penelitian ini dilakukan pada penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Perlakuan ini bertujuan untuk mengetahui kadar selulosa, kadar hemiselulosa dan kadar lignin pada alga coklat *S. cristaefolium* dengan menggunakan tiga ulangan dengan tanpa pemberian perlakuan apapun. Uji lignoselulosa dilakukan dengan menggunakan metode Chesson secara kuantitatif. Penelitian ini dilakukan sebagai acuan untuk penelitian pendahuluan selanjutnya dan penelitian utama. Prosedur perlakuan penelitian ini dapat dilihat pada Lampiran 11.

Dalam sebuah penelitian terdapat dua macam variabel, yaitu variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas adalah variabel yang diselidiki pengaruhnya, sedangkan variabel terikat adalah variabel yang diperkirakan akan timbul sebagai pengaruh dari variabel bebas (Surachmad, 1994). Variabel bebas dalam penelitian ini adalah perlakuan yang digunakan. Perlakuan yang pertama yaitu faktor kandungan lignoselulosa (F) dengan level selulosa (F1), hemiselulosa (F2), dan lignin (F3). Variabel terikat dalam penelitian ini adalah

parameter yang diamati, yaitu kandungan selulosa, hemiselulosa, dan lignin dengan sampel alga coklat *Sargassum cristaefolium*.

Rancangan penelitian yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) Sederhana yang terdiri dari 3 perlakuan dan 3 kali ulangan. Model desain rancangan penelitian dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rancangan Penelitian I

Waktu Hidrolisis	Ulangan			Total	Rata – Rata
	U1	U2	U3		
F1	1F1	2F1	3F1		
F2	1F2	2F2	3F2		
F3	1F3	2F3	3F3		

Keterangan : F1 : Selulosa
F2 : Hemiselulosa
F3 : Lignin

Langkah selanjutnya adalah membandingkan F hitung dan F tabel sebagai berikut:

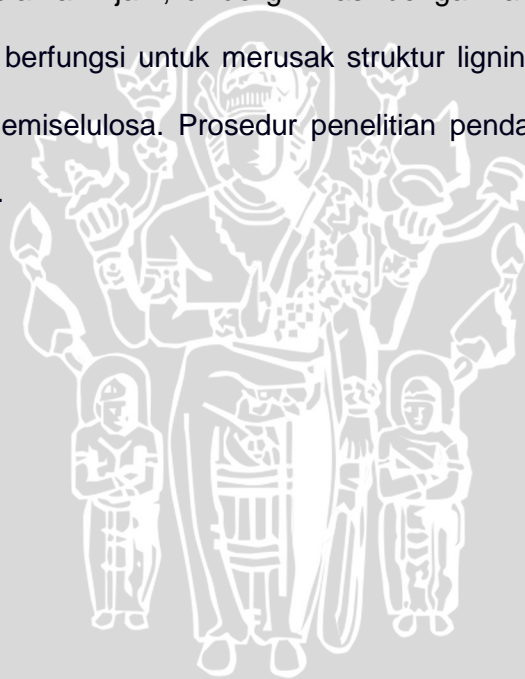
- Jika F hitung < F tabel 5%, maka perlakuan tidak beda nyata
- Jika F hitung > F tabel 1%, maka perlakuan menyebabkan hasil sangat beda nyata
- Jika F tabel 5% < F hitung < F tabel 1 %, maka perlakuan menyebabkan berbeda nyata.

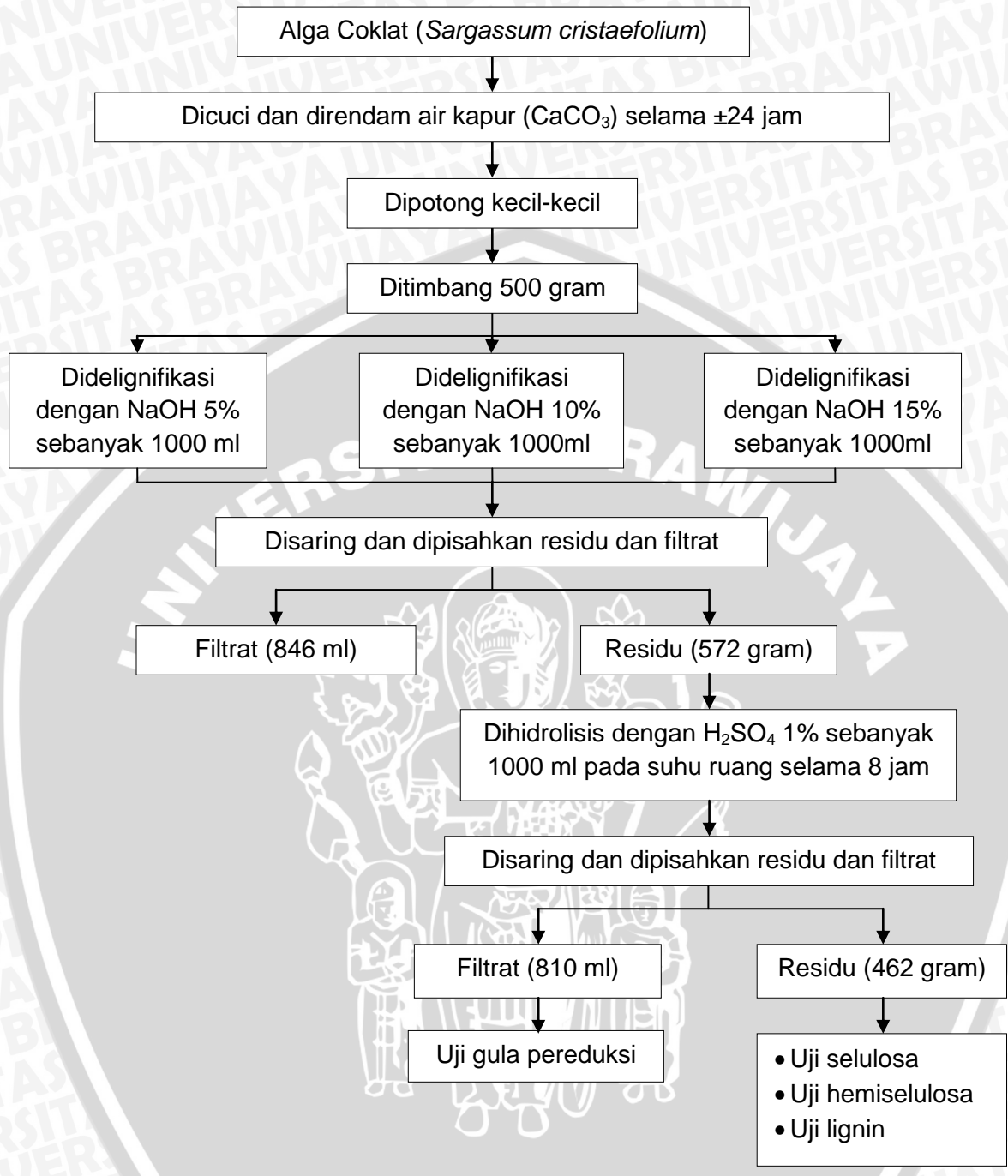
Apabila dari hasil perhitungan didapatkan perbedaan yang nyata (F hitung > F tabel 5%) atau (F hitung > F tabel 1%) perbedaan yang sangat nyata (maka dilanjutkan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk menentukan terbaik.

Hasil dari penelitian ini adalah mengetahui kandungan lignoselulosa pada *S. cristaefolium*, yaitu kadar selulosa 24,45%, kadar hemiselulosa 10,38%, dan kadar lignin sebesar 9,37%. Hal ini sesuai pernyataan Triwisari (2010), yang memperoleh kandungan *Sargassum sp.* adalah kadar selulosa sebesar 24,07%, hemiselulosa sebesar 10,11%, dan lignin sebesar 9,27%. Perhitungan penelitian pendahuluan ini dapat dilihat pada Lampiran 1.

2. Konsentrasi NaOH Pada Proses Delignifikasi

Pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi NaOH terbaik pada proses delignifikasi dengan tiga perlakuan dan tiga ulangan, yaitu dengan konsentrasi NaOH 5%, 10%, dan 15% dengan menggunakan parameter kadar selulosa, kadar hemiselulosa dan kadar lignin. Penelitian ini mengacu pada penelitian Wiratmaja *et al.* (2011), bahwa adapun proses delignifikasi ini menggunakan proses delignifikasi secara kimia yaitu dengan menggunakan senyawa NaOH sebagai katalis dalam proses delignifikasi dengan variasi yaitu di delignifikasi dengan larutan NaOH 10 % selama 1 jam, di delignifikasi dengan larutan NaOH 15% selama 1 jam, di delignifikasi dengan larutan NaOH 20 % selama 1 jam. NaOH berfungsi untuk merusak struktur lignin dan memisahkan sebagian lignin dan hemiselulosa. Prosedur penelitian pendahuuluan ini dapat dilihat pada Gambar 8.





Gambar 8. Prosedur Proses Delignifikasi Dengan Perbedaan Konsentrasi NaOH (Wiratmaja et al. 2011)

Dalam sebuah penelitian terdapat dua macam variabel, yaitu variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas adalah variabel yang diselidiki pengaruhnya, sedangkan variabel terikat adalah variabel yang diperkirakan akan timbul sebagai pengaruh dari variabel bebas (Surachmad, 1994). Variabel bebas dalam penelitian ini adalah perlakuan yang digunakan. Perlakuan yang pertama yaitu faktor konsentrasi NaOH proses delignifikasi (F) dengan level 5% (F1), 10% (F2), dan 15% (F3). Variabel terikat dalam penelitian ini adalah parameter yang diamati, yaitu kandungan selulosa, hemiselulosa, dan lignin dengan sampel alga coklat *Sargassum cristaefolium*.

Rancangan penelitian yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) Sederhana yang terdiri dari 3 perlakuan dan 3 kali ulangan. Model desain rancangan penelitian dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rancangan Penelitian II

Waktu Hidrolisis	Ulangan			Total	Rata – Rata
	U1	U2	U3		
F1	1F1	2F1	3F1		
F2	1F2	2F2	3F2		
F3	1F3	2F3	3F3		

Keterangan : F1 : 5%
F2 : 10%
F3 : 15%

Langkah selanjutnya adalah membandingkan F hitung dan F tabel sebagai berikut:

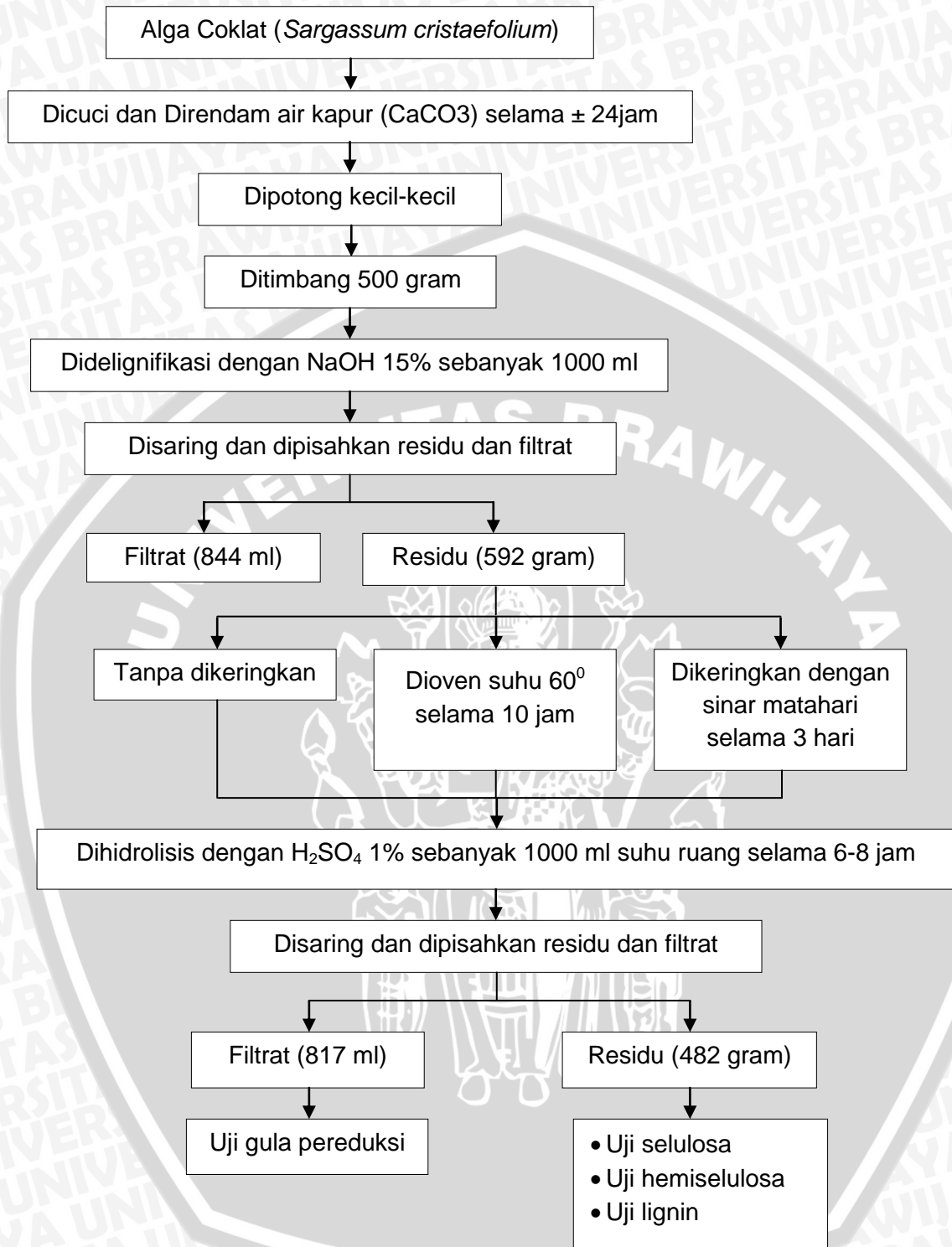
- Jika $F_{hitung} < F_{tabel 5\%}$, maka perlakuan tidak beda nyata
- Jika $F_{hitung} > F_{tabel 1\%}$, maka perlakuan menyebabkan hasil sangat beda nyata
- Jika $F_{tabel 5\%} < F_{hitung} < F_{tabel 1\%}$, maka perlakuan menyebabkan berbeda nyata.

Apabila dari hasil perhitungan didapatkan perbedaan yang nyata ($F_{hitung} > F_{tabel 5\%}$) atau ($F_{hitung} > F_{tabel 1\%}$) perbedaan yang sangat nyata (maka dilanjutkan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk menentukan terbaik.

Hasil dari penelitian ini mendapatkan konsentrasi NaOH terbaik yaitu 15% dimana semakin bertambahnya konsentrasi NaOH kadar selulosa, hemiselulosa dan lignin mengalami penurunan. Perhitungan hasil penelitian pendahuluan ini dapat dilihat pada Lampiran 2.

3. Perlakuan Setelah Proses Delignifikasi

Pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perlakuan terbaik setelah proses delignifikasi dengan menggunakan tiga perlakuan dan tiga ulangan, yaitu dengan penguapan NaOH dengan pengeringan dengan sinar matahari selama kurang lebih 3 hari, dioven pada suhu 60° selama 10 jam dan tanpa pengeringan menggunakan parameter kadar selulosa, kadar hemiselulosa dan kadar lignin. Penelitian ini mengacu pada Hidayat (2013), bahwa bahan kering mengalami *pretreatment* berupa perlakuan perendaman dalam air, NaOH 0,05 N, dan NaOH 0,1 N selama tiga hari, dibilas dan kembali dijemur di bawah sinar matahari. Perlakuan ini pengeringan ini bertujuan untuk menguapkan NaOH yang masih ada pada sampel sehingga saat penambahan H_2SO_4 pada proses hidrolisis asam. Prosedur penelitian pendahuluan ini dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Prosedur Perbedaan Perlakuan Setelah Proses Delignifikasi (Hidayat, 2013)

Dalam sebuah penelitian terdapat dua macam variabel, yaitu variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas adalah variabel yang diselidiki pengaruhnya, sedangkan variabel terikat adalah variabel yang diperkirakan akan timbul sebagai pengaruh dari variabel bebas (Surachmad, 1994). Variabel bebas dalam penelitian ini adalah perlakuan yang digunakan. Perlakuan yang pertama yaitu faktor perlakuan setelah proses delignifikasi (F) dengan level tanpa dikeringkan (F1), Dioven suhu 60°C selama 10 jam (F2), dan dikeringkan dengan sinar matahari selama 3 hari (F3). Variabel terikat dalam penelitian ini adalah parameter yang diamati, yaitu kandungan selulosa, hemiselulosa, lignin, dan gula pereduksi dengan sampel alga coklat *Sargassum cristaefolium*.

Rancangan penelitian yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) Sederhana yang terdiri dari 3 perlakuan dan 3 kali ulangan. Model desain rancangan penelitian dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Rancangan Penelitian III

Waktu Hidrolisis	Ulangan			Total	Rata – Rata
	U1	U2	U3		
F1	1F1	2F1	3F1		
F2	1F2	2F2	3F2		
F3	1F3	2F3	3F3		

Keterangan : F1 : Tanpa dikeringkan

F2 : Dioven dengan suhu 60°C selama 10 jam

F3 : Dekeringkan dengan sinar matahari selama 3 hari

Langkah selanjutnya adalah membandingkan F hitung dan F tabel

sebagai berikut:

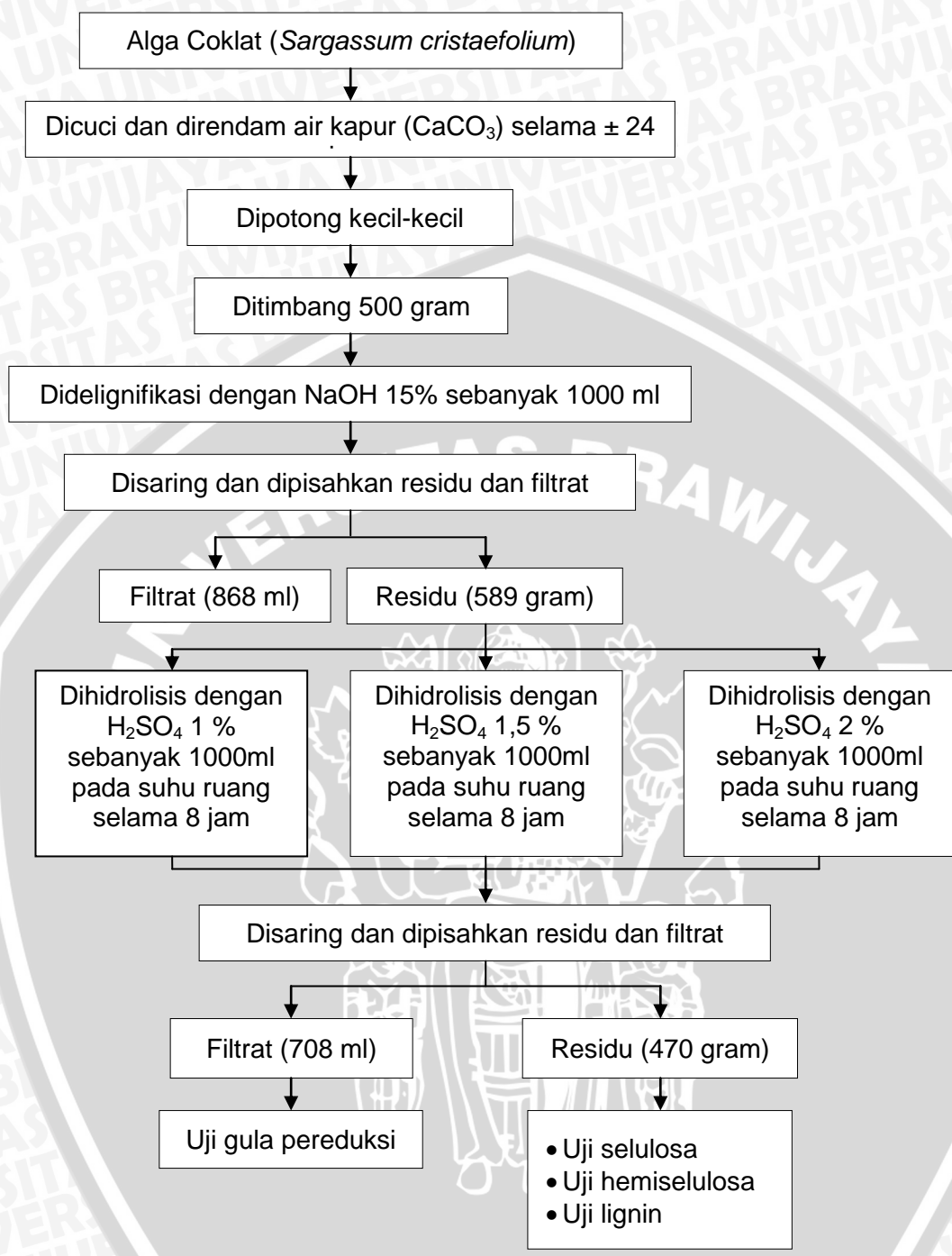
- Jika $F_{hitung} < F_{tabel 5\%}$, maka perlakuan tidak beda nyata
- Jika $F_{hitung} > F_{tabel 1\%}$, maka perlakuan menyebabkan hasil sangat beda nyata
- Jika $F_{tabel 5\%} < F_{hitung} < F_{tabel 1\%}$, maka perlakuan menyebabkan berbeda nyata.

Apabila dari hasil perhitungan didapatkan perbedaan yang nyata ($F_{hitung} > F_{tabel 5\%}$) atau ($F_{hitung} > F_{tabel 1\%}$) perbedaan yang sangat nyata (maka dilanjutkan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk menentukan terbaik.

Hasil dari penelitian ini terbaik yaitu pada perlakuan dikeringkan dengan sinar matahari selama 3 hari yang ditunjukkan dari penurunan kadar selulosa, hemiselulosa, dan lignin dimana selulosa dan hemiselulosa terdegradasi menjadi gula pereduksi pada proses hidrolisis. Hal ini didukung oleh pernyataan Hidayat (2013), bahwa setelah rumput laut mendapatkan treatment dengan NaOH dikeringkan di bawah sinar matahari dapat mengurangi NaOH yang tersisa sehingga proses hidrolisis dapat berjalan. Perhitungan hasil penelitian pendahuluan ini dapat dilihat pada Lampiran 3.

4. Konsentrasi H_2SO_4 Pada Proses Hidrolisis

Pada penelitian bertujuan untuk mengetahui konsentrasi H_2SO_4 yang optimum dengan menggunakan tiga perlakuan dan tiga ulangan, yaitu konsentrasi H_2SO_4 1 %, 1,5 %, dan 2 % dengan parameter kadar selulosa, kadar hemiselulosa dan kadar lignin. Penelitian ini mengacu dari penelitian Hidayat (2013), bahwa bahan yang telah mengalami perlakuan perendaman masing-masing dihidrolisis dengan konsentrasi padatan 5% menggunakan asam sulfat konsentrasi 2%. Penambahan H_2SO_4 bertujuan untuk memecah selulosa dan hemiselulosa menjadi monomer gula yang menyusunnya. Prosedur penelitian pendahuluan ini dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Prosedur Proses Hidrolisis Perbedaan Konsentrasi H₂SO₄ (Hidayat, 2013)



Dalam sebuah penelitian terdapat dua macam variabel, yaitu variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas adalah variabel yang diselidiki pengaruhnya, sedangkan variabel terikat adalah variabel yang diperkirakan akan timbul sebagai pengaruh dari variabel bebas (Surachmad, 1994). Variabel bebas dalam penelitian ini adalah perlakuan yang digunakan. Perlakuan yang pertama yaitu faktor konsentrasi H_2SO_4 pada proses hidrolisis (F) dengan level 1% (F1), 1,5% (F2), dan 2% (F3). Variabel terikat dalam penelitian ini adalah parameter yang diamati, yaitu kandungan selulosa, hemiselulosa, lignin, dan gula pereduksi dengan sampel alga coklat *Sargassum cristaefolium*.

Rancangan penelitian yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) Sederhana yang terdiri dari 3 perlakuan dan 3 kali ulangan. Model desain rancangan penelitian dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Rancangan Penelitian IV

Waktu Hidrolisis	Ulangan			Total	Rata – Rata
	U1	U2	U3		
F1	1F1	2F1	3F1		
F2	1F2	2F2	3F2		
F3	1F3	2F3	3F3		

Keterangan : F1 : 1%
F2 : 1,5%
F3 : 2%

Langkah selanjutnya adalah membandingkan F hitung dan F tabel sebagai berikut:

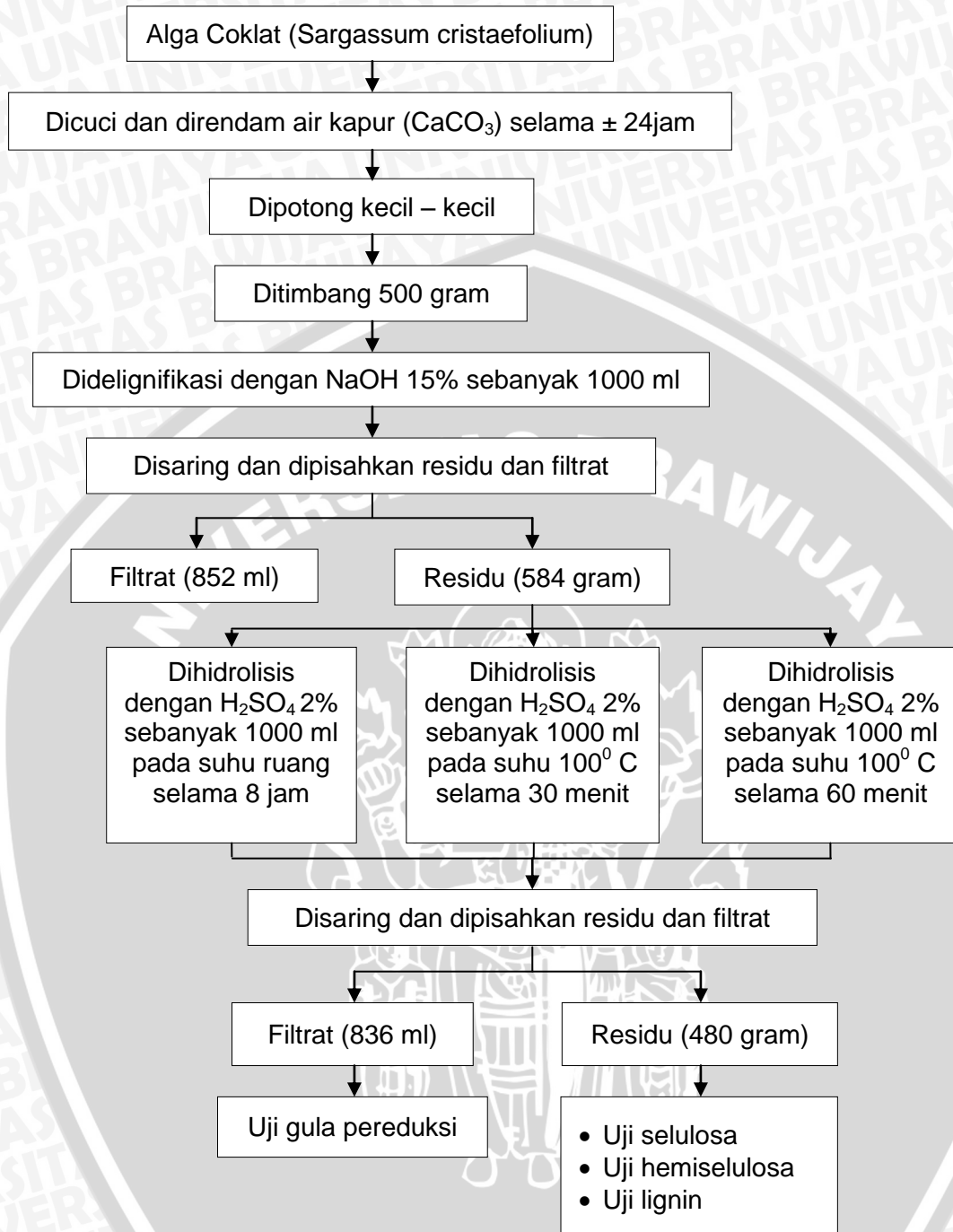
- Jika F hitung < F tabel 5%, maka perlakuan tidak beda nyata
- Jika F hitung > F tabel 1%, maka perlakuan menyebabkan hasil sangat beda nyata
- Jika F tabel 5% < F hitung < F tabel 1 %, maka perlakuan menyebabkan berbeda nyata.

Apabila dari hasil perhitungan didapatkan perbedaan yang nyata (F hitung > F tabel 5%) atau (F hitung > F tabel 1%) perbedaan yang sangat nyata (maka dilanjutkan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk menentukan terbaik.

Hasil penelitian ini terbaik yaitu konsentrasi H_2SO_4 2% dimana semakin naiknya konsentrasi H_2SO_4 kadar selulosa, hemiselulosa dan lignin mengalami penurunan. Hal ini menunjukkan bahwa selulosa dan hemiselulosa terdegradasi dengan baik pada konsentrasi tersebut. Perhitungan hasil penelitian pendahuluan ini dapat dilihat pada Lampiran 4.

5. Waktu hidrolisis

Pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui waktu yang optimum pada proses hidrolisis menggunakan tiga perlakuan dan tiga ulangan, yaitu proses hidrolisis dengan suhu ruang selama 8 jam, suhu 100° selama 30 menit dan suhu $100^{\circ}C$ selama 60 menit dengan parameter kadar selulosa, kadar hemiselulosa dan kadar lignin. Penelitian ini mengacu pada Devis (2008), bahwa Tepung ampas rumput laut sebanyak 100 gr dibuat larutan suspensi dengan cara tepung dicampurkan dengan pelarut dengan perbandingan 1:20, kemudian diaduk hingga rata sambil dipanaskan pada suhu $100^{\circ}C$ selama 1 jam. Pemberian suhu tinggi bertujuan untuk mempercepat proses hidrolisis. Prosedur penelitian pendahuluan ini dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Prosedur Proses Hidrolisis Dengan Perbedaan Waktu

(Devis, 2008)

Dalam sebuah penelitian terdapat dua macam variabel, yaitu variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas adalah variabel yang diselidiki pengaruhnya, sedangkan variabel terikat adalah variabel yang diperkirakan akan timbul sebagai pengaruh dari variabel bebas (Surachmad, 1994). Variabel bebas dalam penelitian ini adalah perlakuan yang digunakan. Perlakuan yang pertama yaitu faktor waktu proses hidrolisis (F) dengan level kontrol (F1), 30 menit (F2), dan 60 menit (F3). Variabel terikat dalam penelitian ini adalah parameter yang diamati, yaitu kandungan selulosa, hemiselulosa, lignin, dan gula pereduksi dengan sampel alga coklat *Sargassum cristaefolium*.

Rancangan penelitian yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) Sederhana yang terdiri dari 3 perlakuan dan 3 kali ulangan. Model desain rancangan penelitian dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Rancangan Penelitian V

Waktu Hidrolisis	Ulangan			Total	Rata – Rata
	U1	U2	U3		
F1	1F1	2F1	3F1		
F2	1F2	2F2	3F2		
F3	1F3	2F3	3F3		

Keterangan : F1 : Kontrol

F2 : 30 menit

F3 : 60 menit

Langkah selanjutnya adalah membandingkan F hitung dan F tabel sebagai berikut:

- Jika $F_{hitung} < F_{tabel 5\%}$, maka perlakuan tidak beda nyata
- Jika $F_{hitung} > F_{tabel 1\%}$, maka perlakuan menyebabkan hasil sangat beda nyata
- Jika $F_{tabel 5\%} < F_{hitung} < F_{tabel 1\%}$, maka perlakuan menyebabkan berbeda nyata.

Apabila dari hasil perhitungan didapatkan perbedaan yang nyata ($F_{hitung} > F_{tabel 5\%}$) atau ($F_{hitung} > F_{tabel 1\%}$) perbedaan yang sangat nyata (maka dilanjutkan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk menentukan terbaik.

Hasil dari penelitian ini terbaik yaitu hidrolisis dengan suhu 100°C selama 60 menit dimana ditunjukkan dengan semakin lama proses hidrolisis kadar selulosa, hemiselulosa dan lignin mengalami penurunan. Perhitungan hasil penelitian pendahuluan ini dapat dilihat pada Lampiran 5.

1.3.2 Penelitian Tahap 2

Hasil penelitian tahap 1 digunakan sebagai dasar penelitian tahap 2. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui waktu hidrolisis alga coklat yang optimum untuk mendapatkan kadar selulosa, kadar hemiselulosa, kadar lignin dan kadar gula pereduksi, sehingga dapat diterapkan pada hidrolisis alga coklat yang tepat dan mendapatkan nilai efektivitas yang tinggi dalam proses hidrolisis.

1.3.3 Perlakuan dan Rancangan Penelitian

Dalam sebuah penelitian terdapat dua macam variabel, yaitu variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas adalah variabel yang diselidiki pengaruhnya, sedangkan variabel terikat adalah variabel yang diperkirakan akan timbul sebagai pengaruh dari variabel bebas (Surachmad, 1994).

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah perlakuan yang digunakan. Perlakuan yang pertama yaitu faktor waktu proses hidrolisis (F) dengan level kontrol (F1), 60 menit (F2), 90 menit (F3), dan 120 menit (F4). Variabel terikat dalam penelitian ini adalah parameter yang diamati, yaitu kandungan selulosa, hemiselulosa, lignin, dan gula pereduksi dengan sampel alga coklat *Sargassum cristaefolium*.

Rancangan penelitian yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) Sederhana yang terdiri dari 4 perlakuan dan 3 kali ulangan. Model desain rancangan penelitian dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 7. Rancangan Penelitian Utama

Waktu Hidrolisis	Ulangan			Total	Rata – Rata
	U1	U2	U3		
F1	1F1	2F1	3F1		
F2	1F2	2F2	3F2		
F3	1F3	2F3	3F3		
F4	1F4	2F4	3F4		

Keterangan : F1 : Suhu Ruang

F2 : 60 menit

F3 : 90 menit

F4 : 120 menit

Langkah selanjutnya adalah membandingkan F hitung dan F tabel

sebagai berikut:

- Jika F hitung < F tabel 5%, maka perlakuan tidak beda nyata
- Jika F hitung > F tabel 1%, maka perlakuan menyebabkan hasil sangat beda nyata
- Jika F tabel 5% < F hitung < F tabel 1 %, maka perlakuan menyebabkan berbeda nyata.

Apabila dari hasil perhitungan didapatkan perbedaan yang nyata ($F_{hitung} > F_{tabel 5\%}$) atau ($F_{hitung} > F_{tabel 1\%}$) perbedaan yang sangat nyata (maka dilanjutkan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk menentukan terbaik.

1.4 Prosedur Penelitian

1.4.1 Persiapan Sampel

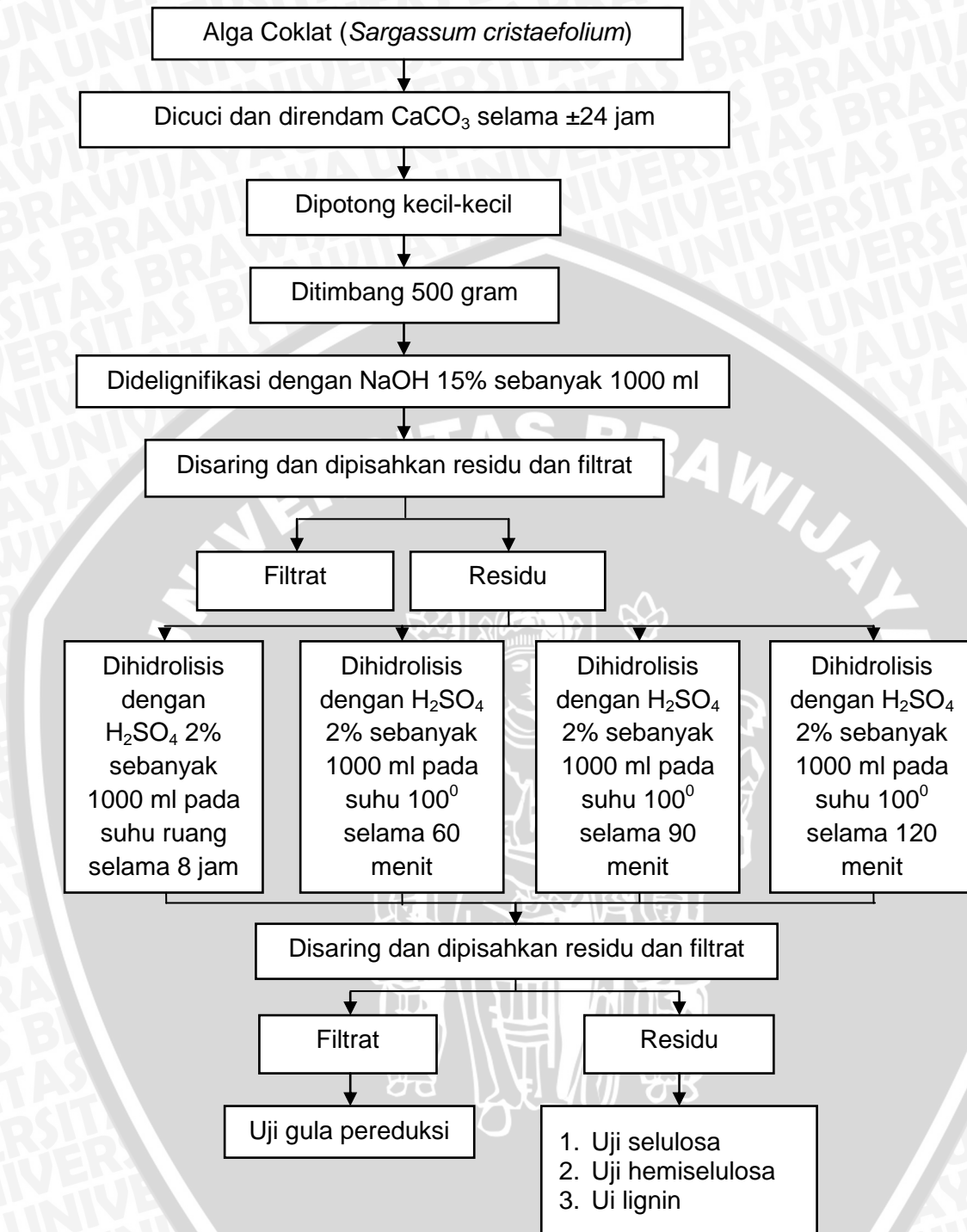
Setelah sampel alga coklat sebanyak 5 kg diambil dari laut kepulauan Madura, sampel dicuci dengan air kran untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel. Selanjutnya sampel direndam dalam larutan CaCO_3 selama 24 jam untuk menghilangkan garam–garam mineral yang ada pada alga coklat. Kemudian sampel dipotong kecil–kecil dan ditimbang seberat 500 gram dan dimasukkan ke dalam beaker glass 1000 ml.

1.4.2 Delignifikasi dengan NaOH

Proses pemisahan atau penghilangan lignin dari serat-serat selulosa disebut delignifikasi atau pulping. Sampel seberat 500 gram dimasukan ke dalam beaker glass 1000 ml, kemudian di tambahkan larutan NaOH 15% sebanyak 1000 ml yang bertujuan untuk menghilangkan kandungan lignin pada alga coklat sehingga didapatkan selulosa dan hemiselulosa, yang dapat mempermudah proses hidrolisis selulosa dan hemiselulosa menjadi gula sederhana. Selanjutnya beaker glass ditutup menggunakan alumunium foil dan ditunggu selama 1 jam agar lignin dapat rusak secara sempurna. Setelah 1 jam dipisahkan larutan antara residu dan filtrat dengan cara disaring menggunakan kertas saring. Kemudian residu dikeringkan bertujuan untuk menguapkan NaOH yang masih tersisa.

1.4.3 Proses Hidrolisis

Hidrolisis bertujuan untuk memecah hemiselulosa dan selulosa menjadi gula-gula sederhana/monosakarida. Sampel kering setelah mengalami proses delignifikasi dimasukkan dalam botol kaca 1000 ml kemudian ditambahkan larutan H_2SO_4 2% dan botol kaca di tutup dengan alumunium foil dan di wrap. Selanjutnya dilakukan pengukusan dengan waktu yang berbeda, yaitu 60 menit, 90 menit dan 120 menit, pengukusan dilakukan bertujuan untuk mempercepat proses hidrolisis. Satu sampel lagi tidak dilakukan pengukusan, tetapi dibiarkan selama 8 jam. Setelah itu disaring dipisahkan antara filtrat dan residu. Filtrat di uji kadar gula pereduksi, sedangkan residu di uji kadar selulosa, hemiselulosa dan lignin. Prosedur proses penelitian dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 13. Prosedur Proses Hidrolisis Sargassum cristaefolium Dengan Perbedaan Waktu Hidrolisis

1.4.4 Analisis Kandungan Lignoselulosa (Metode Chesson)

Metode ini adalah analisis gravimetri setiap komponen setelah dihidrolisis atau dilarutkan. Tahapan langkahnya adalah: pertama, mengilangkan kandungan ekstraktif (dalam metode ini disebut Hot Water Soluble (HWS)), kemudian hidrolisis hemiselulosa dengan menggunakan asam kuat tanpa pemanasan, dilanjutkan dengan hidrolisis menggunakan asam encer pada suhu tinggi. Bagian terakhir yang tidak larut adalah lignin. Kandungan lignin dikoreksi dengan kandungan abu. Prosedur analisis kandungan Lignoselulosa dapat dilihat pada Lampiran 11.

1.4.4.1 Analisa Kadar Hemiselulosa (Metode Chesson)

Pengukuran kadar hemiselulosa dianalisis dengan metode *Chesson* (Datta,1981), yaitu sebanyak 1 gram (a) sampel dicampur dengan 150 ml air destilat, dipanaskan pada suhu 100°C selama 2 jam, difiltrasi dengan kertas saring dan terakhir dibilas dengan air destilat, bagian padat dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C sampai konstan dan ditimbang beratnya (b). Selanjutnya sampel dicampur dengan 150 ml larutan H₂SO₄ 1 N, dipanaskan pada suhu 100°C selama 1 jam, difiltrasi dengan kertas saring dan terakhir dibilas dengan air destilat. Kemudian bagian padat dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C sampai konstan dan ditimbang beratnya (c).

$$\text{Kadar hemiselulosa} = \frac{b-c}{a} \times 100\%$$

1.4.4.2 Analisa Kadar Selulosa (Metode Chesson)

Pengukuran kadar selulosa dianalisis dengan metode *Chesson* (Datta, 1981), yaitu sampel yang telah dikeringkan pada analisis hemiselulosa (c) dicampur dengan larutan H₂SO₄ 72% sebanyak 10 ml, dilakukan perendaman selama 4 jam, lalu dicampur dengan 150 ml larutan H₂SO₄ 1 N, dipanaskan pada suhu 100°C selama 4 jam, difiltrasi dengan kertas saring dan terakhir dibilas

dengan air destilat. Kemudian bagian padat dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C sampai konstan dan ditimbang beratnya (d).

$$\text{Kadar selulosa} = \frac{c-d}{a} \times 100\%$$

1.4.4.3 Analisa Kadar Lignin (Metode Chesson)

Pengukuran kadar lignin dianalisis dengan metode *Chesson* (Datta, 1981), yaitu sampel yang telah dikeringkan pada analisis selulosa (d), selanjutnya dipanaskan pada suhu 600°C selama 4 – 6 jam lalu ditimbang beratnya (e).

$$\text{Kadar lignin} = \frac{d-e}{a} \times 100\%$$

1.4.5 Analisa Kadar Gula Reduksi (Metode Nelson)

Pengujian gula reduksi menggunakan metode Nelson-Somogyi (Sudarmadji *et al.*, 1984). Sampel 1 mL ditambah akuades sampai volume akhir 10 mL. Campuran diambil 1 mL dan ditambah 9 mL akuades. Sampel diambil 1 mL dan dicampur 1 mL larutan Nelson (campuran Nelson A&B; 25:1 v/v), kemudian dipanaskan pada suhu 100°C selama 20 menit. Sampel didinginkan sampai mencapai suhu kamar. Sampel ditambah 1 mL larutan arsenomolybdat dan 7 mL akuades kemudian digojok. Campuran tersebut dimasukkan cuvet dan diukur penyerapan cahaya tampak (*visible*) pada panjang gelombang 510 nm. Nilai absorbansi yang diperoleh dikurangi nilai absorbansi blanko sehingga diperoleh nilai absorbansi sampel. Nilai absorbansi sampel dikonversi ke kadar gula reduksi (mg/mL) berdasarkan persamaan regresi larutan standar. Prosedur uji gula pereduksi dapat dilihat pada Lampiran 12.