**Analisis Holoselulosa dengan Metode Kimia Basah**

Chandra Apriana Purwita, Aminudin Sulaeman

Program Studi Kimia, Institut Teknologi Bandung

Jl. Ganesha10 Bandung 40132

Email: chandra.apriana@gmail.com

**Abstrak**

Holoselulosa merupakan fraksi karbohidrat yang merupakan gabungan antara selulosa dan selulosa. Holoselulosa menjadi penting karena merupakan langkah awal untuk diproses lebih lanjut menjadi berbagai produk yang memiliki nilai ekonomis tinggi. Kandungan holoselulosa bervariasi di antara berbagai spesies kayu. Penentuan kandungan holoselulosa penting untuk memahami karakteristik dan kualitas bahan baku, mengoptimalkan pemanfaatan sumber bahan baku, dan meningkatkan efisiensi proses sehingga memungkinan komersialisasi proses konversi biomassa menjadi bahan lain yang berekonomis tinggi. Prinsip analisis holoselulosa metode kimia basah adalah fraksinasi dan isolasi yaitu dengan menyisihkan lignin, ekstraktif, dan abu, namun menjaga selulosa dan hemiselulosa tetap utuh. Metode analisis holoselulosa biasanya menggunakan metode delignifikasi, menggunakan zat pengoksidasi kuat atau larutan asam atau basa pada suhu tinggi. Metode tersebut meliputi klor dioksida, klor-piridin, klor-etanol amina, klor-1,4-dioksan, klorit asam, dan asam perasetat. Metode natrium klorit banyak digunakan untuk menentukan kandungan holoselulosa dengan keuntungan operasi pemisahan sederhana dan delignifikasi cepat. Artikel ini memaparkan sejumlah metode analisis holoselulosa, prinsip penentuan, reaksi, keunggulan dan kelemahan masing-masing metode sehingga dapat memberikan gambaran pemilihan metode yang sesuai dan akurasi masing-masing metode tersebut.

Kata kunci: analisis holoselulosa, metode kimia basah, delignifikasi

**Abstract**

Holocellulose is a carbohydrate fraction which is a combination of cellulose and cellulose. Holocellulose is important because it is the first step to be further processed into various products that have high economic value. Holocellulose content varies among various wood species. Determination of the content of holocellulose is important to understand the characteristics and quality of raw materials, optimize the utilization of raw material sources, and improve process efficiency so that it is possible to commercialize the process of converting biomass into other high-economical materials. The principle of holocellulose analysis by wet chemistry method is fractionation and isolation by removing lignin, extractives and ash, but keeping cellulose and hemicellulose intact. Holocellulose analysis methods usually use the delignification method, using strong oxidizing agents or acidic or basic solutions at high temperatures. Such methods include chlorine dioxide, chlorine-pyridine, chlorine-ethanol amine, chlor-1,4-dioxane, acid chlorite, and peracetic acid. The sodium chlorite method is widely used to determine the holocellulose content with the advantages of simple separation operations and rapid delignification. This article presents a number of holocellulose analysis methods, principles of determination, reactions, strengths and weaknesses of each method so that they can provide an overview of the selection of the appropriate method and the accuracy of each method.

Keywords: holocellulose analysis, wet chemistry method, delignification

**Pendahuluan**

Kayu dan nonkayu mengandung komponen utama yaitu holoselulosa dan lignin. Jumlah komponen tersebut menyumbang 80% dari total berat bahan baku (Chen, 2014). Selain holoselulosa dan lignin, kayu dan nonkayu juga mengandung ekstraktif dan abu dengan kadar yang lebih rendah. Pada tanaman, selulosa dan hemiselulosa berfungsi memberi kekuatan pada struktur tanaman, sedangkan lignin merupakan komponen yang menyatukan serat (Basu, 2013). Selulosa merupakan polimer glukosa sindiotaktik (pengaturan tata ruang bergantian dari rantai samping) yang dihubungkan oleh ikatan β-(l→4)-glikosida. Hemiselulosa adalah campuran yang terdiri dari polisakarida yang berbeda, termasuk yang rantai lurus dan bercabang, untuk menghubungkan jumlah asetil dan metil yang berbeda. Lignin merupakan polimer aromatik hidrofobik dengan ikatan-silang yang kompleks. Polimer tersebut tersusun atas polikristalin tiga dimensi heterogen. Lignin dibentuk oleh unit struktural fenil propana melalui ikatan eter dan karbon-karbon, dan tidak memiliki keteraturan dan keteraturan unit berulang (Hongyan Chen dkk., 2017).

Perbedaan kandungan antara komponen-komponen tersebut akan mempengaruhi reaktivitas kimianya. Oleh karena itu, informasi mengenai jumlah total masing-masing komponen sangat penting untuk dapat memahami karakteristik dan mutu bahan baku, mengoptimalkan pemanfaatan sumber bahan baku, dan meningkatkan efisiensi proses sehingga memungkinkan komersialisasi proses konversi biomassa menjadi bahan lain yang bernilai ekonomis tinggi.

Holoselulosa mengacu pada semua selulosa dan hemiselulosa dalam bahan selulosa tumbuhan, yaitu jumlah total karbohidrat. Holoselulosa diperoleh dari bahan baku dengan metode delignifikasi, menggunakan zat pengoksidasi kuat atau larutan asam atau basa pada suhu tinggi (Baeza and Freer, 2001). Kandungan holoselulosa bervariasi tergantung pada spesies, variasi biologis seperti perbedaan genetik pada spesies yang sama, dan kondisi pertumbuhan (Bajpai, 2018). Holoselulosa pada *Eucalyptus spp.* (tanaman kayudaun) berkisar 55,40-76,68% ﻿(Kojima *et al.*, 2014; Antes and Joutsimo, 2015; Neiva *et al.*, 2015; Gallina *et al.*, 2016; Hou *et al.*, 2016; Pinto *et al.*, 2016), *Pinus ﻿spp.* (tanaman kayujarum) 61,45-70,48% (Ataç and Eroǧlu, 2013; Gulsoy and Tufek, 2013; Xiang and He, 2013; Cotana *et al.*, 2014; Herrera *et al.*, 2014; Castillo *et al.*, 2015; Reyes *et al.*, 2016; Valenzuela *et al.*, 2016) dan nonkayu 56,81-74,68% (Potůček and Milichovský, 2011; Ateş *et al.*, 2014; Barbash *et al.*, 2016; Sugesty and Setiawan, 2016; Purwita and Sugesty, 2018). Holoselulosa mendapatkan perhatian penting karena merupakan langkah awal untuk diproses lebih lanjut menjadi pulp dan kertas (Ramawat dan Ahuja, 2016), holoselulosa nanofibril (Park dkk., 2017), selulosa alfa (Sunardia dkk., 2019), biokomposit (Yang dkk., 2019), bioetanol (Vaz dkk., 2016), aerogel (Huang dkk., 2020), dan lain sebagainya.

Metode analisis holoselulosa bahan banyak menggunakan metode analitik kimia basah yang didasarkan pada fraksinasi bahan dilanjutkan dengan isolasi lebih lanjut untuk memurnikan dan mengkuantifikasi baik secara gravimetri maupun titrimetri (Carrier dkk., 2011). Karena menggunakan prinsip fraksinasi dan isolasi, metode analisis holoselulosa banyak digunakan untuk memperoleh fraksi holoselulosa murni untuk dikonversi menjadi senyawa kimia lainnya. Meskipun metode analisis holoselulosa telah berkembang menggunakan instrumentasi seperti *near-infrared spectroscopy* (NIRS), akan tetapi metode tersebut memerlukan kalibrasi dari kumpulan data spektra terhadap kadar holoselulosa dari berbagi jenis spesies tanaman yang dianalisis dengan metode analitik kimia basah misalnya metode klorit asam (Ishizuka, Sakai and Tanaka-Oda, 2014; Kothiyal *et al.*, 2015; Liang *et al.*, 2020). Oleh karena itu akurasi dari metode kimia basah akan menentukan akurasi dari metode instrumentasi tersebut (Wu *et al.*, 2018).

Prinsip analisis holoselulosa adalah dengan menyisihkan lignin, ekstraktif, dan abu, namun menjaga selulosa dan hemiselulosa tetap utuh. Metode tersebut meliputi klor dioksida, klor-piridin, klor-etanol amina, klor-1,4-dioksan, klorit asam, dan asam perasetat. Metode natrium klorit banyak digunakan untuk menentukan kandungan holoselulosa dengan keuntungan operasi pemisahan sederhana dan delignifikasi cepat (Chen, 2014). Metode analisis holoselulosa terus berkembang untuk mendapatkan hasil analisis yang akurat dan cepat.

Dalam tulisan artikel ini, dipaparkan sejumlah metode analisis holoselulosa menggunakan metode kimia basah, prinsip penentuan, reaksi, keunggulan dan kelemahan, serta akurasi masing-masing metode tersebut sehingga diharapkan dapat memberi gambaran mengenai pengembangan metode analisis holoselulosa.

**Metode Klor Dioksida**

Metode analisis holoselulosa pertama kali dikembangkan oleh Schmidt (1921) (Schmidt and Graumann, 1921) yang mengisolasi Skelettsubstanzen, fraksi karbohidrat yang mirip dengan holoselulosa. Kayu pinus diekstraksi selama 6 jam dengan larutan etanol benzena (1:1) untuk menyisihkan senyawa ekstraktif dan resin. Klor dioksida diproduksi dari natrium klorat dan asam oksalat yang dipanaskan dalam penangas air secara bertahap hingga suhu 60 °C. Kayu bebas ekstraktif kemudian diperlakukan dengan klor dioksida selama 24 jam. Residu dicuci dengan air kemudian direaksikan larutan natrium sulfit selama 1,5 jam sambil dipanaskan di penangas air. Perlakuan dengan klor dioksida dan natrium sulfit terus diulangi hingga diperoleh berat tetap. Metode tersebut membutuhkan waktu kurang lebih satu bulan dan selama proses delignifikasi terjadi degradasi karbohidrat. Metode klor dioksida jarang digunakan karena reaksinya lambat sehingga waktu analisis sangat panjang.

**Metode Gas Klor**

Pada tahun 1933, Ritter dan Kurth mengembangkan metode analisis holoselulosa yang lebih cepat. Kayu maple diekstraksi menggunakan larutan etanol-benzena dilanjutkan dengan air panas. Kayu maple bebas ekstraktif diperlakukan dengan gas klorin selama 3-4 menit kemudian diekstraksi dengan alat Soxhlet menggunakan larutan etanol-piridin selama 2,5 jam yang berfungsi untuk menetralkan semua asam klorida yang terbentuk selama klorinasi dan untuk meningkatkan kelarutan klorolignin dalam air. Contoh dicuci dengan air dingin. Tahapan klorinasi dan ekstraksi diulang hingga diperoleh berat tetap. Prosedur tersebut menyisakan 1-2% lignin sehingga perlu untuk dilakukan delignifikasi lebih lanjut menggunakan larutan kalsium hipoklorit yang dinetralkan dengan asam asetat untuk menyempurnakan delignifikasi. Setelah diperlakukan dengan kalsium hipoklorit, rendemen holoselulosa lebih rendah yang mengindikasikan adanya senyawa lain selain holoselulosa yang larut. Contoh diperlakukan dengan larutan natrium hipoklorit selama 30 menit dalam bak perendam air es dengan suhu 10 °C sambil sesekali diaduk. Perlakuan contoh dengan larutan natrium hipoklorit cukup selektif untuk menyisihkan lignin karena hanya sedikit senyawa selain lignin yang terdegradasi. Rendemen dan kandungan holoselulosa pada metode ini mirip dengan Skekttsubstanzen namun memiliki kelebihan karena waktu analisis lebih singkat yaitu 10 jam. Ritter dan Kurth mengganti istilah Skelettsubstanzen dengan holoselulosa karena bahan tersebut mengandung selulosa dan hemiselulosa.

Prosedur tersebut dikembangkan lebih lanjut oleh Van Beckum dan Ritter, (1937) dengan mengganti piridin dengan monoetanol amina. Contoh kayu bebas ekstraktif diperlakukan secara bergantian dengan gas klorin dan larutan panas 3% monoetanol amina dalam etanol 95%. Waktu analisis sekitar tiga jam. Klorinasi dan ekstraksi diulang sampai residu menjadi putih dan tidak berubah warna setelah ditambahkan pelarut monoetanol amina.

Serbuk kayu (60-80 mesh) disisihkan senyawa ekstraktifnya menggunakan etanol 95%, etanol-benzena, dan air selama masing-masing 4 jam. Serbuk kayu ditempatkan pada cawan masir lalu dialirkan gas klor yang diproduksi dari kalsium klorit dan HCl selama 2 menit. Selama klorinasi contoh direndam dalam bak es karena gas klor bersifat eksoterm. Contoh berturut-turut dicuci dengan etanol 95% dan larutan monoetanol amina dalam etanol (±75 °C selama 2 menit. Prosedur tersebut terus diulangi hingga contoh berwarna putih dan tidak berubah warna menjadi coklat ketika dicuci dengan larutan monoetanol amina panas. Pencucian dilanjutkan dengan etanol, air dingin, alkohol, dan eter, lalu dikeringkan dalam oven. Prosedur ini kemudian digunakan sebagai metode analitik Tappi Standard, T 9-m (Technical Association of the Pulp and Paper Industry, 1954), ASTM D1104 (1958) (American Society for Testing and Materials, 1958) dan diadopsi oleh SNI 01-1303-1989.

Prosedur klorinasi dengan gas klor dan monoetanol amina dalam alkohol dikembangkan lebih lanjut oleh Holmes dan Kurth (Holmes dan Kurth, 1959) yang mengganti larutan 3% monoetanol amina dalam etanol 95% dengan 5% monoetanol amina dalam 1,4-dioksan karena pelarut tersebut lebih efektif menyisihkan untuk klorolignin. Suhu reaksi diturunkan dari 75 °C menjadi 50 °C.

**Metode Klorit Asam**

Metode klorit asam untuk analisis holoselulosa pertama kali dikembangkan oleh Jayme Wise dan Jahn pada tahun 1942 dan dimodifikasi oleh Wise dkk., (1946). Jayme menggunakan natrium klorit dalam larutan asam untuk menjaga hemiselulosa secara kuantitatif agar tidak terdegradasi selama penentuan. Metode ini menghasilkan rendemen holoselulosa yang lebih tinggi dibandingkan dengan metode klor-etanol amina.

Natirum klorit bereaksi dengan asam untuk membentuk asam klorit yang kemudian terdekomposisi membentuk senyawa volatil klor dioksida sebagai produk utama, klorat dan ion klorida sebagai produk samping (Taylor *et al.*, 1940)

Reaksi natrium klorit pada suhu 60 °C dan pH 3-5 sebagai berikut (Deshwal, Jo and Lee, 2004):

4ClO2- + 2H+ → 2ClO2 + ClO3- + Cl- + H2O

Rasio molar klor dioksida terhadap ion klorat kira-kira 2 (White, Taylor and Vincent, 1942). Reaksi dekomposisi klorit dalam asam dikatalis oleh ion klorida yang merupakan produk samping reaksi dekomposisi klorit. Reaksi klorit dengan adanya ion klorida sebagai berikut (Gordon, 1983):

5NaClO2 + 4HCl → 4ClO2 + 5NaCl + 2H2O

Reaksi natrium klorit pada suhu 95 °C adalah:

5ClO2- + 2H+ → 4ClO4­- + Cl- + 2OH-

Sejumlah kecil ion klorit dikonversi menjadi klorat. Dan beberapa klorit lainnya digunakan untuk membentuk oksigen bebas (Browning, 1967).

Prosedur analisis holoselulosa menurut Wise dkk., (1946), serbuk contoh dengan ukuran 40-60 mesh ditimbang sebanyak 5 gram dan disisihkan ekstraktifnya melalui ekstraksi Soxhlet menggunakan pelarut etanol 95% kemudian dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer 250 mL. Secara berturut-turut ditambahkan air 160 mL, asam asetat glasial 0,5 mL, dan natrium klorit 1,5 g kemudian dipanaskan pada suhu 70-80 °C dalam penangas air selama 1 jam sambil sesekali diaduk. Setelah 1 jam, ditambahkan asam asetat glasial 0,5 mL dan 1,5 g natrium klorit dan terus diulang sejam kemudian. Empat siklus klorinasi biasanya diperlukan untuk tanaman kayujarum, sedangkan tanaman kayudaun memerlukan tiga kali siklus. Setelah siklus klorinasi berakhir, labu Erlenmeyer ditempatkan pada bak perendam es dan didinginkan hingga suhu 10 C. Residu holoselulosa kemudian disaring menggunakan cawan masir dan dicuci dengan aseton, diekstraksi dengan etanol 95% dalam Soxhlet, dicuci dengan air dingin lalu dikeringkan dalam oven 105 °C.

**Modifikasi Metode Klorit Asam dengan Koreksi Kadar Lignin, Abu, dan Protein**

Metode analisis komponen kimia kayu tidak sepenuhnya cocok untuk untuk spesies biomassa nonkayu. Hal ini disebabkan karena selain selulosa, hemiselulosa, lignin, ekstraktif dan abu beberapa jenis nonkayu juga mengandung komponen lain seperti pati dan protein yang menyebabkan total kandungan komponen kimia bahan kurang atau lebih dari 100% (Sari *et al.*, 2015; Kaur *et al.*, 2016). Na dan Cl terbentuk sebagai produk samping hasil reaksi natrium klorit pada analisis holoselulosa menyebabkan kontaminasi pada residu holoselulosa sehingga kadar holoselulosa lebih besar dari kadar sebenarnya. Tingginya kandungan zat mineral pada nonkayu menyebabkan kontaminasi pada residu holoselulosa dan lignin Klason sehingga analisis lignin dan holoselulosa perlu dilakukan koreksi kadar abu dan protein untuk mendapatkan hasil analisis dengan akurasi tinggi (Rabemanolontsoa and Saka, 2012).

Rabemanolontsoa and Saka, (2011) dan Rabemanolontsoa and Saka, (2012) melakukan analisis holoselulosa pada 6 jenis spesis kayu dan nonkayu. Spesis kayu diwakili oleh cedar jepang（*Cryptomeria japonica*) dan beech jepang (*Fagus crenata*), dan spesis nonkayu diwakili oleh ﻿bambu (*Phyllostachys heterocycla*), sargasum (*Sargassum horneri*), ﻿ padi ﻿(*Oryza sativa*), ﻿jagung (*Zea mays*), dan kelapa sawit (*Elaeis guineensis*).

Metode analisis holoselulosa yang digunakan merupakan modifikasi metode klorit asam Wise dkk., (1946). Sebanyak 2,5 gram contoh bebas ekstraktif ditambahkan 150 mL bufer asam asetat 0,2 M yang menggantikan air sebagai media reaksi yang merupakan modifikasi prosedur Timell, (1961). Ke dalam larutan tersebut ditambahkan 1 gram natrium klorit dan 0,2 mL asam asetat glasial kemudian dipanaskan dalam penangas air selama 1 jam pada suhu 70-80 ºC. Natrium klorit dengan asam asetat ditambahkan selama selang waktu 1 jam. Larutan kemudian disaring, dicuci dengan air dan aseton. Kandungan holoselulosa kemudian ditentukan secara gravimetri.

Seiring dengan penambahan jumlah siklus klorinasi, residu contoh yang berwarna coklat akan memudar menjadi kekuningan, dan kemudian keputihan (**Gambar 1**). Klorinasi biasanya dilakukan hingga contoh berubah keputihan, namun dengan bertambahnya siklus klorinasi maka rendemen holoselulosa akan lebih rendah karena terjadi degradasi karbohidrat (Rabemanolontsoa and Saka, 2011).

Seperti terlihat pada Gambar 2, setelah 5 kali siklus klorinasi pada bambu rendemen holoselulosa turun yang disebabkan oleh terjadinya hidrolisis karbohidrat menjadi gula-gula sederhana yang larut pada air (Ely and Moore, 1955). Oleh karena itu, untuk mendapatkan hasil analisis yang akurat maka siklus klorinasi dilakukan hanya hingga contoh berwarna kekuningan lalu dilakukan koreksi lignin dan abu pada residu holoselulosa (Rabemanolontsoa and Saka, 2011). Sebanyak 3 kali siklus klorinasi untuk kayudaun, 4 kali untuk kayujarum dan maksimal 5 kali untuk nonkayu. Contoh dengan kandungan protein tinggi seperti sargasum dan daun jagung, koreksi protein juga harus dilakukan (Rabemanolontsoa and Saka, 2012). Analisis lignin pada residu holoselulosa ditentukan tidak hanya berasal dari lignin tak larut asam atau lignin Klasson, tetapi karena residu holoselulosa mengandung senyawa lignin yang termodifikasi yang tidak dapat ditentukan dengan asam sulfat 72% dan senyawa lignin tersebut kehilangan kemampuan kondensasi ketika dioksidasi oleh natrium klorit (Suzuki, 1953). Oleh karena itu, kandungan lignin ditentukan berdasarkan jumlah total dari lignin larut dan tak larut asam (Yoshihara *et al.*, 1984). Kadar abu ditentukan secara gravimetri berdasarkan pengabuan contoh pada suhu ﻿600 ºC selama 4 jam dan kadar protein ditentukan dengan metode ﻿Kjeldahl (Thiex *et al.*, 2002).



**Jumlah siklus klorinasi**

**Kandungan holoselulosa, % b/b**

**Jumlah siklus klorinasi**

**Kandungan holoselulosa, %**

**Gambar 1** Residu holoselulosa dari (a) bambu dan (b) sargasum setelah berbagai siklus klorinasi



**Gambar 2** Perubahan rendemen holoselulosa, lignin, dan abu selama klorinasi pada bambu (kiri) dan sargasum (kanan)

Modifikasi metode tersebut memungkinkan untuk melakukan analisis holoselulosa pada sebagian besar contoh biomassa baik kayu dan nonkayu dengan hasil analisis dengan akurasi yang lebih baik.

**Modifikasi Metode ASTM dengan Meningkatkan Suhu dan Mempersingkat Waktu Reaksi**

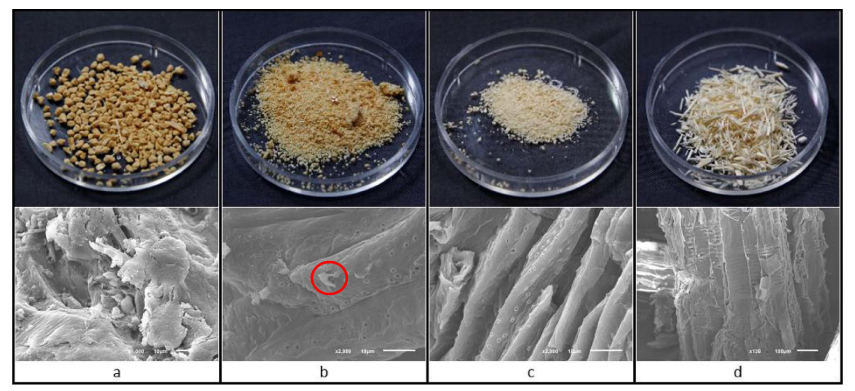
Metode standar analisis holoselulosa (ASTM D1104-58 1978) dikembangkan dikembangkan umumnya untuk tanaman berserat terutama untuk kayu dan kurang cocok untuk nonserat seperti biji, cangkang, kernel karena kecenderungannya memberikan hasil yang lebih tinggi dari nilai sebenarnya yang disebabkan oleh rendahnya delignifikasi contoh oleh klorit asam. Oleh karena itu, pengembangan metode analisis holoselulosa perlu dilakukan dengan meningkatkan degradasi lignin dan meminimalkan degradasi fraksi karbohidrat dan mempersingkat waktu analisis (Álvarez dkk., 2018).

Sebelum analisis, contoh diekstraksi dua kali menggunakan Soxhlet selama 7-8 kali masing-masing menggunakan aseton dan air untuk menyisihkan senyawa ekstraktif seperti resin, wax, sterol, tanin, lemak, asam lemak, gum, gula, dan senyawa berwarna lainnya (Taflick *et al.*, 2017; Kumar *et al.*, 2020). Sebanyak 5 g contoh biomassa tak-berserat yang bebas ekstraktif dimasukkan gelas kimia yang berisi 150 mL air, kemudian ditambahkan 5 g natrium klorit dan 1,08 mL asam asetat glasial. Suhu reaksi lebih tinggi dibandingkan metode ASTM yaitu 96 ºC dengan waktu yang lebih singkat yaitu 90 menit. Hasil kemudian dibandingkan dengan hasil yang diperoleh dengan menggunakan metode ASTM.

Fraksi holoselulosa yang diperoleh dianalisis menggunakan SEM. Tingginya kandungan lignin pada biji zaitun menyebabkan struktur serat kasar (**Gambar 3a**). Foto serat fraksi holoselulosa pada biji zaitun yang diperoleh dengan metode standar masih menununjukkan adanya lignin yang ditunjukkan dengan lingkaran (**Gambar 3b)**. Fraksi holoselulosa yang diperoleh dengan metode yang dimodifikasi menunjukkan permukaan serat yang lebih halus (**Gambar 3c)**. Hasil ini menunjukkan bahwa prosedur penetapan holoselulosa standar tidak cocok untuk contoh biomassa non-kayu karena metode tersebut tidak mampu melakukan delignifikasi sempurna pada contoh, tetapi metode yang dimodifikasi sebaliknya.

Indeks kristalinitas fraksi holoselulosa yang diperoleh dengan menggunakan metode yang dimodifikasi tidak berubah meskipun analisis menggunakan suhu reaksi yang lebih tinggi dibandingkan metode standar. Hal tersebut dibuktikan oleh difraktogram contoh yang kemudian dibandingkan dengan *microcrystalline cellulose* (MCC) sebagai bahan acuan. Selain itu, tidak ada perbedaan signifikan antara komposisi monomer kedua fraksi holoselulosa sehingga dapat disimpulkan bahwa suhu yang lebih tinggi dari metode baru dapat meningkatkan proses delignifikasi tanpa mempengaruhi kandungan karbohidrat.

﻿



**Gambar 3** SEM mikrograf biomassa dan fraksi holoselulosa. (a) biji zaitun, (b) fraksi holoselulosa biji zaitun yang diperoleh pada 70–80 °C mengikuti metode standar, (c) fraksi holoselulosa biji zaitun diisolasi dengan metode yang dimodifikasi, (d) holoselulosa pohon ceri diperoleh dengan mengikuti metode standar

**Kesimpulan**

Metode klorit asam merupakan metode analisis holoselulosa yang paling banyak digunakan karena prosedurnya sederhana dan proses delignifikasi cepat. Namun demikian, metode tersebut tidak sepenuh cocok untuk berbagai jenis bahan baku. Misalnya tanaman nonkayu yang mengandung komponen kimia lain seperti pati, protein, dan kandungan abu tinggi. Oleh kerena itu fraksi holoselulosa harus dikoreksi terhadap kadar pati, protein, dan abu karena komponen tersebut ikut tertimbang secara gravimetri pada fraksi holoselulosa. Bahan baku yang tidak berserat seperti biji, cangkang, dan kernel juga tidak cocok menggunakan metode klorit asam karena metode tersebut didisain untuk tanaman kayu yang berserat. Ketidakmampuan metode analisis untuk mencapai pemisahan yang tepat dari fraksi lignin dan holoselulosa dari bahan baku menyebabkan akurasi analisis holoselulosa menjadi rendah sehingga perlu dilakukan pengembangan metode analisis holoselulosa dengan melakukan optimasi proses delignifikasi bahan. Variasi dosis reagen, suhu, pH, waktu reaksi dilakukan sehingga diharapkan hasil analisis yang diperoleh akan lebih akurat dan waktu analisis lebih cepat.

**Daftar Pustaka**

Álvarez, A. *et al.* (2018) ‘Novel method for holocellulose analysis of non-woody biomass wastes’, *Carbohydrate Polymers*. Elsevier, 189 (November 2017), pp. 250–256.

American Society for Testing and Materials (1958) *ASTM D1104 : Method of Test for Holocellulose in Wood*.

Antes, R. and Joutsimo, O. P. (2015) ‘Effect of modified cooking on bleachability of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus nitens*’, *BioResources*, 10(1), pp. 597–612.

Ataç, Y. and Eroǧlu, H. (2013) ‘The effects of heartwood and sapwood on kraft pulp properties of P*inus nigra J.F.Arnold* and *Abies bornmuelleriana Mattf*’, *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 37(2), pp. 243–248.

Ateş, S. *et al.* (2014) ‘Comparison of pulping and bleaching behaviors of some agricultural residues’, *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 39(1), pp. 144–153.

Baeza, J. and Freer, J. (2001) ‘Chemical Characterization of Wood and Its Components’, in Hon, D. N.-S. and Shiraishi, N. (eds) *Wood and Cellulosic Chemistry*. 2nd Editio. New York: Marcel Dekker, pp. 275–384.

Bajpai, P. (2018) *Biermann’s Handbook of Pulp and Paper*. 3rd edn, *Biermann’s Handbook of Pulp and Paper*. 3rd edn. Amsterdam: Elsevier.

Barbash, V. *et al.* (2016) ‘Comparative pulping of sunflower stalks’, *ScienceRise*, 3(2 (20)), p. 71.

Basu, P. (2013) *Biomass Gasification, Pyrolysis and Torrefaction: Practical Design and Theory*. Second, *Biomass Gasification, Pyrolysis and Torrefaction: Practical Design and Theory*. Second. London: Academic Press.

Van Beckum, W. G. and Ritter, G. J. (1937) ‘Rapid method for determination of holocellulose and cross and bevan cellulose in wood’, *Paper Trade Journal*, 104(19), pp. 49–50.

Browning, B. L. (1967) *Methods of Wood Chemistry*. New York: Interscience Publishers.

Carrier, M. *et al.* (2011) ‘Thermogravimetric analysis as a new method to determine the lignocellulosic composition of biomass’, *Biomass and Bioenergy*, 35(1), pp. 298–307.

Castillo, R. del P. *et al.* (2015) ‘Fourier transform infrared imaging and microscopy studies of Pinus radiata pulps regarding the simultaneous saccharification and fermentation process’, *Analytica Chimica Acta*. Elsevier B.V., 866(January), pp. 10–20.

Chen, H. (2014) *Biotechnology of Lignocellulose*, *Biotechnology of Lignocellulose*. Beijing: Chemical Industry Press and Springer.

Chen, H. *et al.* (2017) ‘A review on the pretreatment of lignocellulose for high-value chemicals’, *Fuel Processing Technology*. Elsevier B.V., 160, pp. 196–206.

Cotana, F. *et al.* (2014) ‘Production of bioethanol in a second generation prototype from pine wood chips’, *Energy Procedia*. Elsevier B.V., 45, pp. 42–51.

Deshwal, B. R., Jo, H. D. and Lee, H. K. (2004) ‘Reaction kinetics of decomposition of acidic sodium chlorite’, *Canadian Journal of Chemical Engineering*, 82(3), pp. 619–623.

Ely, R. E. and Moore, L. A. (1955) ‘Yields of holocellulose prepared from ruminant feces by acid chlorite treatment’, *Journal of Dairy Science*. Elsevier, 38(9), pp. 1017–1022.

Gallina, G. *et al.* (2016) ‘Optimal conditions for hemicelluloses extraction from *Eucalyptus globulus* wood: Hydrothermal treatment in a semi-continuous reactor’, *Fuel Processing Technology*. Elsevier B.V., 148, pp. 350–360.

Gordon, G. (1983) ‘Improved methods of analysis for chlorate, chlorite and hypochlorite ions at the sub-mg/L level’, *Proceedings - AWWA Water Quality Technology Conference*, pp. 175–189.

Gulsoy, S. K. and Tufek, S. (2013) ‘Effect of chip mixing ratio of Pinus pinaster and Populus tremula on Kraft pulp and paper properties’, *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 52(6), pp. 2304–2308.

Herrera, R. *et al.* (2014) ‘Characterization of hydrothermally treated wood in relation to changes on its chemical composition and physical properties’, *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 107, pp. 256–266.

Holmes, G. W. and Kurth, E. F. (1959) ‘Improvements in the determination of holocellulose’, *Technical Association of Pulp and Paper Industry*, 42, pp. 837–840.

Hou, Y. *et al.* (2016) ‘Application of alkaline ionic liquids in the pretreatment process of eucalyptus kraft pulping’, *Bio Resources*, 11(4), pp. 9036–9046.

Huang, H. *et al.* (2020) ‘Ultralight industrial bamboo residue-derived holocellulose thermal insulation aerogels with hydrophobic and fire resistant properties’, *Materials*, 12(2), p. 447.

Ishizuka, S., Sakai, Y. and Tanaka-Oda, A. (2014) ‘Quantifying lignin and holocellulose content in coniferous decayed wood using near-infrared reflectance spectroscopy’, *Journal of Forest Research*, 19(1), pp. 233–237.

Kaur, P. J. *et al.* (2016) ‘Chemical characterization and decay resistance analysis of smoke treated bamboo species’, *European Journal of Wood and Wood Products*. Springer Berlin Heidelberg, (March), pp. 10–14.

Kojima, Y. *et al.* (2014) ‘Photoyellowing of chemically modified chemithermomechanical pulps (CTMP) from *Eucalyptus globulus* under various atmospheres’, *Holzforschung*, 68(2), pp. 143–149.

Kothiyal, V. *et al.* (2015) ‘Multi-species NIR calibration for estimating holocellulose in plantation timber’, *Wood Science and Technology*. Springer Berlin Heidelberg, pp. 769–793.

Kumar, B. *et al.* (2020) ‘Current perspective on pretreatment technologies using lignocellulosic biomass: An emerging biorefinery concept’, *Fuel Processing Technology*, 199(July 2019).

Liang, L. *et al.* (2020) ‘Prediction of holocellulose and lignin content of pulp wood feedstock using near infrared spectroscopy and variable selection’, *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. Elsevier B.V., 225, p. 117515. d

Neiva, D. *et al.* (2015) ‘Chemical composition and kraft pulping potential of 12 eucalypt species’, *Industrial Crops and Products*, 66, pp. 30–30.

Park, C. W. *et al.* (2017) ‘Preparation and properties of holocellulose nanofibrils with different hemicellulose content’, *BioResources*, 12(3), pp. 6298–6308.

Pinto, E. M. *et al.* (2016) ‘Thermal degradation and charring rate of and wood species’, *The Open Construction and Building Technology Journal*, 10(Suppl 3: M8), pp. 450–456.

Potůček, F. and Milichovský, M. (2011) ‘Rapeseed straw as a possible source of non-wood fibre materials’, *Cellulose Chemistry and Technology*, 45(1–2), pp. 23–28.

Purwita, C. A. and Sugesty, S. (2018) ‘Pembuatan dan karakterisasi dissolving pulp serat panjang dari bambu duri (*Bambusa blumeana*)’, *Jurnal Selulosa*, 8(01), p. 21. d

Rabemanolontsoa, H. and Saka, S. (2011) ‘Holocellulose determination in biomass’, in Yao, T. (ed.) *Zero-Carbon Energy Kyoto 2011*. Tokyo: Springer, pp. 135–140. d

Rabemanolontsoa, H. and Saka, S. (2012) ‘Method applicable to characterize various Biomass species in their chemical Composition’, in *Proceedings of the 4th AUN/SEED-Net Regional Conference on Biotechnology Faculty of Engineering, Chulalongkorn University and Burapha University, Thailand*, pp. 1–6.

Ramawat, K. G. and Ahuja, M. R. (2016) ‘Fiber plants : biology, biotechnology and applications’, *Sustainable Development and Biodiversity*, 13, p. 263.

Reyes, P. *et al.* (2016) ‘Evaluation of combined dilute acid-kraft and steam explosion-kraft processes as pretreatment for enzymatic hydrolysis of Pinus radiata wood chips’, *BioResources*, 11(1), pp. 612–625.

Ritter, G. J. and Kurth, E. F. (1933) ‘Holocellulose, total carbohydrate fraction of extractive-free maple wood: Its isolation and properties’, *Industrial and Engineering Chemistry*, 25(11), pp. 1250–1253.

Sari, Y. W. *et al.* (2015) ‘How biomass composition determines protein extractability’, *Industrial Crops and Products*. Elsevier B.V., 70, pp. 125–133. d

Schmidt, E. and Graumann, E. (1921) ‘Incrusting substances of plants substances. I. Methods for the preparation of pure plant skeletal’, *Deusche Chemische Gesellschaft Berichte*, 54, pp. 1860–1873.

Sugesty, S. and Setiawan, Y. (2016) ‘Dissolving pulp from kenaf by bio-bleaching process’, *Jurnal Selulosa*, 3(02).

Sunardia, Istikowatib, W. T. and Sari, D. I. (2019) ‘Extraction of α-cellulose from Eleocharis dulcis holocellulose using NaOH and KOH’, *Journal of Physics: Conference Series*, 1(1397), pp. 1–7.

Suzuki, M. (1953) ‘A study on the deviation between yield and lignin contents of holocellulose’, *Journal of the Japanese Technical Association of the Pulp and Paper Industry*, 7(1), pp. 9–14.

Taflick, T. *et al.* (2017) ‘Cellulose nanocrystals from acacia bark–Influence of solvent extraction’, *International Journal of Biological Macromolecules*. Elsevier B.V., 101, pp. 553–561. \

Taylor, M. C. *et al.* (1940) ‘Sodium chlorite: Properties and reactions’, *Industrial and Engineering Chemistry*, 32(7), pp. 899–903. doi: 10.1021/ie50367a007.

Technical Association of the Pulp and Paper Industry (1954) *T 9m-54 : Holocellulose in Wood*.

Thiex, N. J. *et al.* (2002) ‘Determination of crude protein in animal feed, forage, grain, and oilseeds by using block digestion with a copper catalyst and steam distillation into boric acid: Collaborative study’, *Journal of AOAC International*, 85(2), pp. 309–317.

Timell, T. E. (1961) ‘Isolation of galactoglucomannans from the wood of gymnosperms’, *Tappi*, 44, pp. 88–96.

Valenzuela, R. *et al.* (2016) ‘Fiber modifications by organosolv catalyzed with H2SO4 improves the SSF of Pinus radiata’, *Industrial Crops and Products*. Elsevier B.V., 86, pp. 79–86.

Vaz, R. P., de Souza Moreira, L. R. and Ferreira Filho, E. X. (2016) ‘An overview of holocellulose-degrading enzyme immobilization for use in bioethanol production’, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*. Elsevier B.V., 133, pp. 127–135.

White, J. F., Taylor, M. C. and Vincent, G. P. (1942) ‘Chemistry of Chlorites’, *Industrial & Engineering Chemistry*, 34(7), pp. 782–792.

Wise, L. E. and Jahn, E. C. (1942) *Wood Chemistry*. 2nd edn. New York: Reinhold.

Wise, L. E., Maxine, M. and D’Addieco, A. A. (1946) ‘Chlorite holocellulose, its fractionation and bearing on summative wood analysis and on studies on the hemicelluloses’, *Paper Trade Journal*.

Wu, T. *et al.* (2018) ‘Analysis of mixed pulping raw materials of eucalyptus globulus and Acacia mangium by near infrared spectroscopy technique combined with LASSO algorithm’, *BioResources*, 13(1), pp. 1348–1359.

Xiang, H. L. and He, J. (2013) ‘Mechanisms and defiberation point of *Pinus kesiya* diethanolamine pulping’, *Advanced Material Research*, 807–809, pp. 505–508.

Yang, X., Berthold, F. and Berglund, L. A. (2019) ‘High-density molded cellulose fibers and transparent biocomposites based on oriented holocellulose’, *ACS Applied Materials and Interfaces*. American Chemical Society, 11(10), pp. 10310–10319.

Yoshihara, K. *et al.* (1984) ‘A novel modification of Klason lignin quantitaitve method’, *Japan Tappi Journal*, 38(4), pp. 466–475.