



# UNIVERSITAS NAHDLATUL ULAMA SURABAYA

## LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT

Kampus A Wonokromo : Jl. SMEA No.57 Tlp. 031-8291920, 8284508 Fax. 031-8298582 – Surabaya 60243

Kampus B RSIJemursari : Jl. Jemursari NO.51-57 Tlp. 031-8479070 Fax. 031-8433670 – Surabaya 60237

Website : unusa.ac.id Email: info@unusa.ac.id

## SURAT KETERANGAN

Nomor:068/UNUSA-LPPM/Adm.I/I/2022

Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat (LPPM) Universitas Nahdlatul Ulama Surabaya menerangkan telah selesai melakukan pemeriksaan duplikasi dengan membandingkan artikel-artikel lain menggunakan perangkat lunak **Turnitin** pada tanggal 17 Januari 2022.

Judul : Penentuan Laju Pembentukan Gula Reduksi Eceng Gondok  
Pada Proses Hidrolisis Kombinasi Dengan Bakteri Selulolitik

Penulis : Rizka Novembrianto, Muslikha Nourma Rhomadhoni

Identitas : Jurnal ENVIROTEK, Vol 13 No 2 (2021)

No. Pemeriksaan : 2022.01.20.058

Dengan Hasil sebagai Berikut:

**Tingkat Kesamaan diseluruh artikel (*Similarity Index*) yaitu 0%**

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Surabaya, 20 Januari 2022

Ketua LPPM

Achmad Syafiuddin, Ph.D

NPP: 20071300

**LPPM Universitas Nahdlatul Ulama Surabaya**

Website : [lppm.unusa.ac.id](http://lppm.unusa.ac.id)

Email : [lppm@unusa.ac.id](mailto:lppm@unusa.ac.id)

Hotline : 0838.5706.3867

# Penentuan Laju Pembentukan Gula Reduksi Eceng Gondok Pada Proses Hidrolisis Kombinasi Dengan Bakteri Selulolitik

*by Muslikha Nourma Rhomadhoni*

---

**Submission date:** 12-Jan-2022 02:55PM (UTC+0700)

**Submission ID:** 1740501798

**File name:** Pada\_Proses\_Hidrolisis\_Kombinasi\_Dengan\_Bakteri\_Selulolitik.pdf (212.95K)

**Word count:** 3017

**Character count:** 17422

---

**PENENTUAN LAJU PEMBENTUKAN GULA REDUKSI ECENG  
GONDOK PADA PROSES HIDROLISIS KOMBINASI  
DENGAN BAKTERI SELULOLITIK**

**Rizka Novembrianto<sup>1</sup>, Muslikha Nourma Rhomadhoni<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Program Studi Teknik Lingkungan, Universitas Pembangunan Nasional Veteran Jawa Timur

<sup>2</sup>Program Studi DIV-K3, Universitas Nahdlatul Ulama Surabaya

Email: rizka.tl@upnjatim.ac.id

**ABSTRAK**

Kehadiran eceng gondok dalam jumlah yang massif akan menjadi masalah untuk air permukaan. Namun eceng gondok juga memiliki kandungan selulosa yang bisa dikonversi menjadi gula reduksi sebagai bahan untuk pembuatan bioethanol. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan hasil gula reduksi tahap hidrolisis kombinasi dengan bakteri selulolitik dan laju reaksi maksimumnya. Kebutuhan eceng gondok yang digunakan adalah substrat pada variasi 0,025; 0,057; 0,100; 0,161 dan 0,232 % (b/v). Segmen *pretreatment* menggunakan kapang *Phanerochaete chrysosporium* dan dilanjutkan hidrolisis secara kimia dengan perlakuan 0,25 % dan 2 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan variasi tetap panas 100 ± 3 °C dan kombinasi menggunakan *Cellvibrio* selama 24, 48, 72, 96 dan 120 jam. Penelitian dilakukan pada suhu ruang. Metode untuk pengukuran gula reduksi menggunakan Nelson-Somogyi. Gula reduksi yang telah dihasilkan pada proses *pretreatment* adalah dengan variasi jamur *P. chrysosporium*, hidrolisa 0,25 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan pemanasan (didih) 100 ± 3°C selama 30 menit dan *Cellvibrio* dengan hasil terbanyak pada substrat eceng gondok 20 g dan waktu 96 jam. Laju pembentukan gula reduksi maksimum ( $V_{maks}$ ) sebesar 0,762 mg/g.jam dan  $K_m$  senilai 0,03 %.

Kata Kunci: Eceng gondok, Bakteri Selulolitik, Gula reduksi, Hidrolisis dan Laju reaksi

**ABSTRACT**

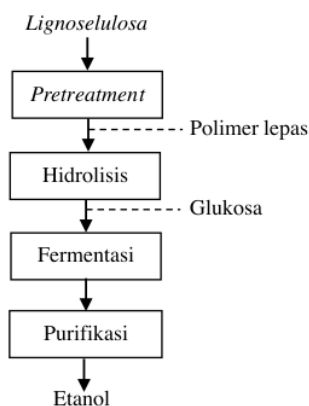
*The presence of water hyacinth in massive numbers will be a problem for surface water. However, water hyacinth also contains cellulose which can be converted into reducing sugar as an ingredient for making bioethanol. This study aims to determine the yield of reducing sugar in the combined hydrolysis stage with cellulolytic bacteria and its maximum reaction rate. Water hyacinth needs that are used are the substrate at a variation of 0.025; 0.057; 0.100; 0.161 and 0.232% (w / v). Pretreatment segment used Phanerochaete chrysosporium mold and continued chemical hydrolysis with treatment of 0.25% and 2% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and hot variations of 100 ± 3 °C and the combination using Cellvibrio for 24, 48, 72, 96 and 120 hours. The research was carried out at room temperature. The method for measuring reducing sugar using Nelson-Somogyi. Reduction sugar that has been produced in the pretreatment process is a variety of P. chrysosporium fungi, hydrolysis of 0.25% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and heating (boiling) 100 + 3°C for 30 minutes and Cellvibrio with the highest yields on water hyacinth substrate 20 g and time 96 hours. The maximum reducing sugar formation rate ( $V_{max}$ ) was 0.762 mg/g/hour and  $K_m$  was 0.03%.*

*Keywords: water hyacinth, cellulolytic bacteria, reducing sugar, hydrolysis and reaction rate*

## PENDAHULUAN

Dalam permasalahan pada perairan yang berada di sungai, kolam danau salah satunya disebabkan adanya kehadiran eceng gondok (Gunnarsson *et al.*, 2007). Sedangkan eceng gondok mempunyai kandungan *lignoselulosa* yang terdiri dari lignin, hemiselulosa dan selulosa (Ganguly *et al.*, 2012).

Produksi etanol dari bahan *lignoselulosa* melalui proses membuka ikatan terlebih dahulu menjadi polimer selulosa dan hemiselulosa. Tahapan proses tersebut dinamakan sebagai *pretreatment*. Hasil dari proses tersebut melalui proses hidrolisis polimer diubah menjadi glukosa. Selanjutnya mengubah glukosa menjadi etanol yang dilakukan oleh mikroorganisme serta proses distilasi dan dehidrasi (Tahezadeh dan Karimi, 2007). Skema secara umum dapat dilihat pada **Gambar-1** dibawah ini :



**Gambar-1:** Produksi etanol dari bahan *lignoselulosa* (Tahezadeh dan Karimi, 2007).

Proses penelitian ini dimulai dari *lignoselulosa* sampai terbentuknya hasil gula reduksi hasil proses hidrolisis.

Bakteri selulolitik yang digunakan adalah bakteri yang mampu mendegradasi selulosa seperti *Cellvibrio sp* (Ekawati, 2012). *Cellvibrio sp* dapat mendegradasi selulosa pada serat tanaman dalam keadaan *in vitro* dengan cepat, dari 77 isolat bakteri diantaranya 34 strain mendeskripsikan fenotipik dari genus *Cellvibrio sp* (Mergaert *et al.*, 2003). *Cellvibrio* merupakan bakteri selulolitik yang berada di

rumen (Lamid *et al.*, 2011). Bakteri yang berada di rumen merupakan bakteri selulolitik yang baik dalam mendegradasi tanaman (Wilson, 2011). Selain itu juga bakteri ini juga terdapat di pengolahan air limbah dengan pertumbuhan secara *attached system* (Cordero, 2012).

Penelitian dilakukan pada proses hidrolisis untuk menentukan laju reaksi. Gula reduksi tiap-tiap proses akan diukur dengan membandingkan kemampuan variasi *pretreatment* penambahan asam.

## METODE PENELITIAN

### Persiapan

Pengambilan eceng gondok disekitar sungai ITS Sukolilo Surabaya. Bahan baku eceng gondok dilakukan pemisahan antara batang, daun dan akarnya. Selanjutnya batang dicuci sampai bersih dan dipotong pada ukuran 2-2,5 mm (Ganguly *et al.*, 2012), selanjutnya direndam dalam air selama 6 jam kemudian sampel dikeringkan dengan oven 60±30°C selama 2 – 3 hari hingga kering (Harun *et al.*, 2011). Bahan yang telah menjadi bubuk dibuat variasi substrat (1; 2,5; 5; 10 dan 20 g) ditambahkan 12 mL air suling steril dengan pada substrat 5 g (Ma *et al.*, (2010); Handayani, 2014) sebagai acuan (12:5) dimasukkan dalam reaktor steril berukuran 140 mL (substrat 1; 2,5; dan 5 g) dan 250 mL (substrat 10 dan 20 g).

### Pretreatment

Substrat diinkubasi inokulan *P. chrysosporium* selama 10 hari suhu ruang dengan perbandingan 1 mL inokulan untuk 1 g substrat.

### Hidrolisis

Hidrolisis dengan menggunakan 3 kombinasi secara kimia 0,25 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Ma *et al.*, 2010) dan 2% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Mood *et al.*, 2013; Singh *et al.*, 2013; Stavrinides *et al.*, 2010 dan Corredor, 2008 dan), secara fisik/ panas 100°C selama 30 menit (Harun *et al.*, 2011), dan secara biologi menggunakan mikroorganisme *cellvibrio* (Saropah *et al.*, 2012; Schafer dan King, 1965; Kitaoka *et al.*, 1992). Pengecekan hasil gula reduksi dilakukan setiap 24 jam selama 5 hari.

### Analisa Pengujian

Kandungan lignoselulosa menggunakan metode Chesson (Datta, 1981). Pengukuran gula reduksi menggunakan metode Nelson Somogy. Semua pengujian dilakukan secara duplo.

### HASIL DAN PEMBAHASAN Pertumbuhan Biakan Bakteri Selulolitik

Pada laporan Sanito dkk., 2015 menyebutkan bahwa jumlah *Cellvibrio* dengan pertumbuhan tanpa *shaker* untuk mencapai pertumbuhan maksimum memerlukan waktu inkubasi hingga 144 jam dan waktu setengah laju pertumbuhan antara 72 hingga 96 jam. Pertumbuhan *Cellvibrio* dengan *shaker* memerlukan waktu hingga 36 jam dan waktu setengah laju pertumbuhan ( $1/2 v_{maks}$ ) adalah 10 jam. Kedua perlakuan tersebut didapatkan bahwa pertumbuhan yang cepat menggunakan *shaker*. Pada penelitian ini menggunakan pertumbuhan bakteri *Cellvibrio* menggunakan *shaker*. Hal ini dimaksudkan untuk mempercepat waktu *seeding* sehingga dapat digunakan untuk proses enzimatik hidrolisis lebih cepat dari pertumbuhan yang tanpa menggunakan *shaker*.

### Komponen Lignoselulosa

Sebelum melangkah melakukan penelitian pada tahap *pretreatment* dan hidrolisis, dilakukan dengan uji awal kandungan lignoselulosa terlebih dahulu dengan hasil seperti **Tabel-1** dibawah ini

**Tabel-1:** Perbandingan kandungan lignoselulosa eceng gondok terhadap penelitian lainnya

Kandungan lignoselulosa (%)			Literatur
Hemiselulosa	Selulosa	Lignin	
33,40	19,50	9,27	Gunnarson, 2007
33,95	12,38	8,76	Hasil penelitian

Pada **Tabel-1** hasil penelitian dengan kandungan hemiselulosa, selulosa dan lignin berturut-turut adalah 33,95%, 12,38 dan 8,76 % jika dibandingkan dengan penelitian Gunnarson, 2007 ada sedikit perbedaan. Kandungan umumnya hemiselulosa lebih tinggi dari pada kandungan lignin dan selulosa hal demikian juga disampaikan oleh Ma *et al.* (2010). Dinding sel tersusun rangka molekul selulosa dan lignin. Bagian tersebut yang

menyebabkan ikatan menjadi kuat. Hasil Analisa awal ini terjadi perbedaan karena likasi dan perlakuan terhadap sampel juga berbeda. Selain itu juga mempengaruhi hasil gula reduksi yang telah dihasilkan yang ditampilkan pada **Tabel-2**.

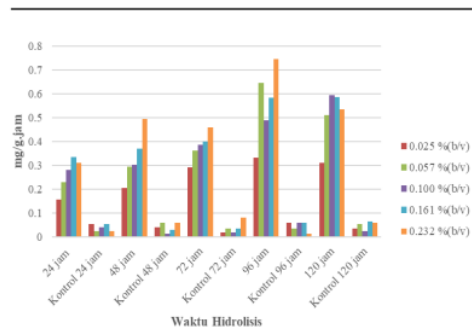
**Tabel-2:** Perlakuan pada substrat 5 g (0,1% b/v) setelah 5 hari dalam menguji Kandungan lignoselulosa

Kandungan	Perlakuan lignoselulosa dari berbagai treatment dan hasil gula reduksi (dalam mg/g)			
	Awal	JPP	Hidrolisa	
			0,25 %	2 %
Setelah oven	10 hari	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> Panas dan	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> panas dan	
		<i>Cellvibrio</i>	<i>Cellvibrio</i>	
Hemiselulosa	33,95	24,15	8,22	6,17
Selulosa	12,38	9,72	3,84	3,15
Lignin	8,76	6,55	4,26	3,45
Gula Reduksi	12,29	21,20	51,60	56,36
pH	7,43	6,89	7,52	7,12

**Tabel-2** juga menunjukkan bahwa proses hidrolisa mampu menghasilkan gula reduksi hingga mencapai lebih dari 2 kali lipat. Pada proses awal setelah oven hingga JPP 10 hari pernah dilakukan oleh Novembrianto, (2014) sebagai *pretreatment*. Proses pengeringan menggunakan oven dengan temperatur 60°C selama dua hari. Saat analisa awal yakni setelah melalui proses oven 60°C selama dua hari, eceng gondok didapatkan hasil gula reduksi sebesar 12,29 mg/g. Penelitian Harun *et al.* (2011) dengan cara pemanasan (oven kering) mampu menghasilkan gula reduksi sebesar 111,45 mg/g dan dengan menggunakan pemanasan 100±3°C (mendidih) sebesar 33,55 mg/g. Perbedaan nilai gula reduksi dipengaruhi oleh perlakuan saat proses persiapan bahan baku substrat. Nilai holoselulosa (hemiselulosa dan selulosa).

### Laju pembentukan gula reduksi pada variasi 0,25 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan *Cellvibrio*

Pembentukan gula reduksi pada dengan kombinasi 0,25 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan *Cellvibrio* menghasilkan 0,155 mg/g.jam sampai dengan 0,744 mg/g.jam. Gula reduksi yang dihasilkan memiliki laju pembentukan dibuat variasi waktu 24, 48, 72, 96 dan 120 jam serta variasi substrat 0,025; 0,057; 0,1; 0,161 dan 0,232 % (b/v).



**Gambar-2:** Laju pembentukan gula reduksi saat pretreatment 0,25 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan hidrolisis dengan Cellvibrio

**Gambar-2** memperlihatkan Cellvibrio dalam pembentukan gula reduksi menunjukkan peningkatan sampai mencapai optimum secara keseluruhan pada 96 jam dengan perolehan substrat 0,232 % (b/v) sebesar 0,744 mg/g.jam.

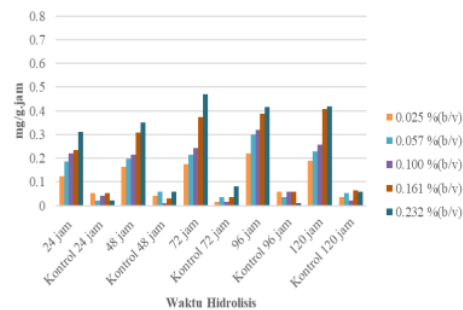
Pada jam ke-120 pembentukan gula reduksi terlihat mulai mengalami penurunan. Hal ini dapat dianalogikan karakter pertumbuhan mikroorganisme seperti penelitian Sanito dkk, (2015) Cellvibrio dalam media broth tanpa shaker yakni pada hari keempat laju pertumbuhan mulai tidak mengalami kenaikan signifikan. Selain itu juga menurut Fontes et al. (2000) pertumbuhan Cellvibrio pada fase eksponensial terjadi antara 30 jam dan 60 jam, Cellvibrio mixtus melokalisir xilanase dengan kehadiran protein periplasmik.

pH yang diukur saat setelah proses hidrolisis berkisar antara 7-7,98. Pada kisaran pH tersebut masih dapat hidup, karena pH Cellvibrio untuk hidup berkisar antara 6,4 hingga 8,2 (Kitaoka et al., 1992). Pertumbuhan Cellvibrio ditandai dengan adanya pembentukan biofilm. Menurut Khairiah et al. (2013) genus Cellvibrio menghasilkan enzim katalase yang mampu mendegradasi selulosa dan mengubah menjadi glukosa. Kemampuan bakteri pendegradasi selulosa diindikasikan terbentuknya daerah bening disekitar koloni (Perez et al., 2002).

#### Laju pembentukan gula reduksi pada variasi 2 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan Cellvibrio

Hasil penelitian menerangkan bahwa laju pembentukan gula reduksi dengan variasi 2 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> Cellvibrio berselang antara 0,125 hingga

0,469 mg/g.jam. Hasil tersebut lebih rendah daripada variasi 0,25 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> Cellvibrio.



**Gambar-3:** Peningkatan gula reduksi saat pretreatment 2 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan hidrolisis dengan Cellvibrio

**Gambar-3** menjelaskan laju pembentukan gula reduksi yang tinggi berada pada substrat 0,232 % (b/v) untuk waktu 24 jam menghasilkan laju 0,312 mg/g.jam dan meningkat sedikit pada 48 jam dengan laju 0,350 mg/g.jam dan terus meningkat pada jam ke 72 yakni 0,469 mg/g.jam. Laju menjadi menurun pada jam ke 96 menjadi 0,415 mg/g.jam. Laju meningkat kembali pada jam ke 120 jam dengan laju 0,418 mg/g.jam. Pada 72 jam terjadi peningkatan yang paling besar dari perubahan waktu lainnya dari 0,350 mg/g.jam ke 0,469 mg/g.jam. Hal itu juga sesuai dengan karakter pertumbuhan mikroorganisme dengan  $\frac{1}{2} V_{maks}$  Cellvibrio yakni 72 jam seperti yang pernah dilaporkan oleh Sanito, dkk., (2015).

Hasil laju pembentukan gula reduksi oleh Cellvibrio seperti yang ditunjukkan pada Gambar-3 menjelaskan peningkatan sangat kecil sekali dibandingkan dengan variasi sebelumnya. Kecenderungan peningkatan terbesar pada waktu 96 jam. Peningkatan laju pembentukan gula reduksi yang kecil dikarenakan suasana asam yang pada layer bagian tengah reaktor (ketinggiannya), kemungkinan masih terjadi pembentukan gula reduksi dikarenakan masih terdapat substrat dengan suasana netral antara 6,87 hingga 7,81 sedangkan menurut Kitaoka et al. (1992) cellvibrio dapat hidup pada pH 6,4 hingga 8,2 sehingga bakteri masih hidup. Hal ini dapat dibuktikan dengan terbentuknya biofilm pada layer bagian atas pada substrat eceng gondok.

**Perbandingan Laju Pembentukan Optimum dari berbagai variasi**

Laju pembentukan gula reduksi dari berbagai variasi dapat diambil yang paling optimum. Selanjutnya membandingkan untuk mengetahui laju yang optimum seperti pada Tabel 3.

**Tabel-3:** Perbandingan laju pembentukan gula reduksi dari berbagai variasi optimum

Substrat % (b/v)	0,25 % H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , <i>Cellvibrio</i> (mg/g.jam)	2 % H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , <i>Cellvibrio</i> (mg/g.jam)
0,025	0,331	0,220
0,057	0,645	0,299
0,100	0,487	0,320
0,161	0,584	0,387
0,232	0,744	0,469

**Tabel-3** Perbandingan laju pembentukan gula reduksi dari berbagai variasi menunjukkan bahwa substrat 0,232 % (b/v) dan untuk variasi 0,25 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, *Cellvibrio* memiliki 0,744 mg/g.jam. Untuk variasi 2 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, *Cellvibrio* yakni 0,469 mg/g.jam.



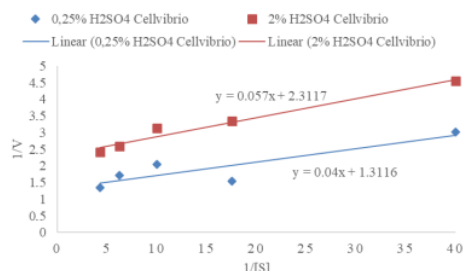
**Gambar-4:** Perbandingan laju pembentukan gula reduksi pada masing – masing variasi optimum.

**Gambar-4** dapat dilihat perbandingan laju pembentukan gula reduksi pada dari berbagai variasi yang optimum didapatkan hasil yang terbaik adalah kombinasi dengan 0,25 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> *Cellvibrio* dengan substrat 0,232 % (b/v). Hal ini disebabkan bakteri mempunyai ukuran lebih kecil sehingga dapat melakukan penetrasi atau berdifusi lebih mudah ke substrat

yang mengandung selulosa (Li dan Gao dalam Saropah *et al.*, 2012).

**Laju Reaksi pada hidrolisis 96 jam**

Nilai V<sub>maks</sub> untuk mengetahui kecenderungan laju pembentukan gula reduksi terbesar. Nilai K<sub>m</sub> berfungsi untuk mengetahui afinitas enzim terhadap substrat. Semakin nilai K<sub>m</sub> rendah maka afinitas enzim terhadap substrat semakin baik (Putra, 2009). Untuk plot grafik antara substrat [S] dan aktivitas enzim (V) diubah menjadi berbanding terbalik terhadap (1/[S]) dan (1/V). Nilai V<sub>maks</sub> dan K<sub>m</sub> dapat ditetapkan melalui Kurva Lineweaver-Burk dengan cara : 1/V = 1/V<sub>maks</sub> + K<sub>m</sub>/V<sub>maks</sub>.1/[S] , bila 1/V = Y dan 1/S = X, sehingga rumusnya menjadi : Y = a + bX sehingga a = 1/ V<sub>maks</sub> dan b = K<sub>m</sub>/V<sub>maks</sub>.



**Gambar-3:** Grafik hubungan antara 1/[S] dan 1/V

Kurva pada Gambar 3, menjelaskan hubungan antara 1/[S] dan 1/V berdasarkan persamaan regresi linier Y= 0,04x + 1,3116 untuk 0,25 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> *Cellvibrio*, didapatkan V<sub>maks</sub> dan K<sub>m</sub> sebesar 0,762 mg/g.jam dan 0,03%; serta V<sub>maks</sub> dan K<sub>m</sub> berdasarkan persamaan regresi linier Y= 0,057x + 2,3117 untuk 2 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> sebesar V<sub>maks</sub> sebesar 0,432 mg/g.jam dan K<sub>m</sub> senilai 0,025 %.

**KESIMPULAN**

Berdasarkan penelitian diatas, kesimpulan yang didapatkan laju pembentukan gula reduksi tertinggi pada substrat eceng gondok 20 gram menggunakan kombinasi pretreatment jamur *P. chrysosporium*, dan hidrolisis kombinasi 0,25 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; pemanasan (didih) 100 ± 3°C selama 30 menit Serta penambahan *Cellvibrio* dan hidrolisis selama 96 jam. Laju pembentukan gula reduksi maksimum dalam hidrolisis (V<sub>maks</sub>) adalah 0,762 mg/g.jam dan K<sub>m</sub>senilai 0,03%.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Cordero, O. X., 2012. Enriching spatially structured communities of cellulose degraders. Massachusetts Institute of Technology.
- Ekawati, E. R., Matuzahroh, N. dan Supriyanto., A., 2012. Eksplorasi dan Identifikasi Bakteri Selulolitik pada Limbah Daduk Tebu (*Saccharum Officinarum* L). Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga Surabaya. Berk. Penel. Hayati 18 : 31–34.
- Fontes, C. M. G. A., Gilbert, H. J., Hazlewood G. P. dan Clarke, J. H., 2000. A novel *Cellvibrio mixtus* family 10 xylanase that is both intracellular and expressed under non-inducing conditions. *Microbiology* 146 : 1959–1967
- Ganguly, A., Chatterjee P.K., Dey A., (2012) Studies on ethanol production from water hyacinth—A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 16 : 966–972.
- Gunnarsson, C. C., Petersen, C. M. (2007). Water hyacinths as a resource in agriculture and energy production: A literature review. *Waste Management* 27 : 117–129
- Handayani, A. G. dan Pandebesie, E. S. (2014). Hidrolisis *Eichhornia crassipes* menggunakan proses fisika, kimia, dan biologis. *Prosiding Seminar Nasional Waste Management II*. ISBN 978-602-95595-7-6
- Harun, M. Y., Radiah A. B., Abidin Z. Z. dan Yunus, R. (2011). Effect of physical *pretreatment* on dilute acid hydrolysis of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). *Bioresource Technology* 102 : 5193–5199
- Khairiah E., Khotimah S., Mulyadi A., 2013. Karakterisasi dan Kepadatan Bakteri Pendegradasi Selulosa pada Tanah Gambut di Desa Parit Banjar Kabupaten Pontianak. *Jurnal Protobiont* vol. 2 (2) : 87- 92
- Kitaoka, M., Sasaki, T., Taniguchi, H., 1992. Phosphorolytic Reaction of *Cellvibrio gilvus* cellobiose phosphorylase. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 56 (4) : 652-655.
- Ma, F., Yang, N., Xu, C., Yu, H., Wu, Y. dan Zhang. (2010). Combination of biological *pretreatment* or enzymatic hydrolysis and ethanol production from water hyacinth. *Bioresource Technology* 101 : 9600-9604
- Mergaert, J., Lednicka D., Goris J., Cnockaert M. C, Vos P. D. and Swings J., 2003. Taxonomic study of *Cellvibrio* strains and description of *Cellvibrio ostraviensis* sp. nov., *Cellvibrio fibrivorans* sp. nov. and *Cellvibrio gandavensis* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 53 : 465–471.
- Mood, S. H., Golfeshan A. H., Tabatabaei M., Jouzani G. S., Najafi G. H., Gholami M., Ardjman M. (2013). Lignocellulosic biomass to bioethanol, a comprehensive review with a focus on *pretreatment*. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 27 : 77–93.
- Putra, G. P. G. 2009. Determination of enzyme kinetics of endogenous polygalacturonase (pg) from cocoa pulp. *Jurnal Biologi XIII* (1) : 21 -24
- Perez, J., Dorado, J. M., Rubia, T. R. dan Martinez, J., 2002. Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin : an overview. *Int. microbial* 5 : 53-63.
- Schafer, M. L dan King. K., 1965. Utilization of cellulose oligosaccharides by *Cellvibrio gilvus*. *Bacteriology*, vol. 89 No 1.
- Sanito R. C., Novembrianto, R., Pandebesie, E. S., (2015). Kajian Penentuan Fase Pertumbuhan Kapang dan Bakteri Selulolitik pada Media Pertumbuhan, *Prosiding Seminar Nasional Manajemen Teknologi XII*.
- Saropah, D. A., Jannah A., dan Maunatin A. (2012). Kinetika reaksi enzimatis ekstrak kasar enzim selulase bakteri selulolitik hasil isolasi dari bekatul. *Alchemy*, Vol. 2 No. 1. hal 34-45.
- Singh, A. dan Bishnoi, N. R. (2013). Comparative study of various *pretreatment* techniques for ethanol production from water hyacinth *Industrial Crops and Products* 44 (2013) 283– 289.
- Taherzadeh, M. dan Karimi K. (2007). Enzyme-Based Hydrolysis Processes for Ethanol From Lignocellulosic Materials : Review. *Bioresources* 2(4), 707-738.



# Penentuan Laju Pembentukan Gula Reduksi Eceng Gondok Pada Proses Hidrolisis Kombinasi Dengan Bakteri Selulolitik

---

## ORIGINALITY REPORT

---

0%

SIMILARITY INDEX

0%

INTERNET SOURCES

0%

PUBLICATIONS

0%

STUDENT PAPERS

---

## PRIMARY SOURCES

---

Exclude quotes Off  
Exclude bibliography Off

Exclude matches < 12%

---

## **PENENTUAN LAJU PEMBENTUKAN GULA REDUKSI ECENG GONDOK PADA PROSES HIDROLISIS KOMBINASI DENGAN BAKTERI SELULOLITIK**

**Rizka Novembrianto<sup>1</sup>, Muslikha Nourma Rhomadhoni<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Program Studi Teknik Lingkungan, Universitas Pembangunan Nasional Veteran Jawa Timur

<sup>2</sup>Program Studi DIV-K3, Universitas Nahdlatul Ulama Surabaya

Email: rizka.tl@upnjatim.ac.id

### **ABSTRAK**

Kehadiran eceng gondok dalam jumlah yang massif akan menjadi masalah untuk air permukaan. Namun eceng gondok juga memiliki kandungan selulosa yang bisa dikonversi menjadi gula reduksi sebagai bahan untuk pembuatan bioethanol. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan hasil gula reduksi tahap hidrolisis kombinasi dengan bakteri selulolitik dan laju reaksi maksimumnya. Kebutuhan eceng gondok yang digunakan adalah substrat pada variasi 0,025; 0,057; 0,100; 0,161 dan 0,232 % (b/v). Segmen *pretreatment* menggunakan kapang *Phanerochaete chrysosporium* dan dilanjutkan hidrolisis secara kimia dengan perlakuan 0,25 % dan 2 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan variasi tetap panas 100 ± 3 °C dan kombinasi menggunakan *Cellvibrio* selama 24, 48, 72, 96 dan 120 jam. Penelitian dilakukan pada suhu ruang. Metode untuk pengukuran gula reduksi menggunakan Nelson-Somogyi. Gula reduksi yang telah dihasilkan pada proses *pretreatment* adalah dengan variasi jamur *P. chrysosporium*, hidrolisa 0,25 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan pemanasan (didih) 100 ± 3°C selama 30 menit dan *Cellvibrio* dengan hasil terbanyak pada substrat eceng gondok 20 g dan waktu 96 jam. Laju pembentukan gula reduksi maksimum ( $V_{maks}$ ) sebesar 0,762 mg/g.jam dan  $K_m$  senilai 0,03 %.

**Kata Kunci:** Eceng gondok, Bakteri Selulolitik, Gula reduksi, Hidrolisis dan Laju reaksi

### **ABSTRACT**

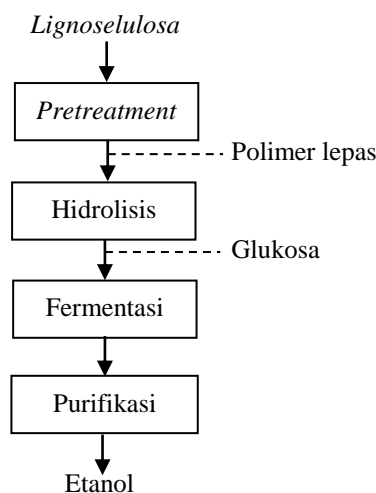
*The presence of water hyacinth in massive numbers will be a problem for surface water. However, water hyacinth also contains cellulose which can be converted into reducing sugar as an ingredient for making bioethanol. This study aims to determine the yield of reducing sugar in the combined hydrolysis stage with cellulolytic bacteria and its maximum reaction rate. Water hyacinth needs that are used are the substrate at a variation of 0.025; 0.057; 0.100; 0.161 and 0.232% (w / v). Pretreatment segment used Phanerochaete chrysosporium mold and continued chemical hydrolysis with treatment of 0.25% and 2% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and hot variations of 100 ± 3 °C and the combination using Cellvibrio for 24, 48, 72, 96 and 120 hours. The research was carried out at room temperature. The method for measuring reducing sugar using Nelson-Somogyi. Reduction sugar that has been produced in the pretreatment process is a variety of P. chrysosporium fungi, hydrolysis of 0.25% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and heating (boiling) 100 + 3°C for 30 minutes and Cellvibrio with the highest yields on water hyacinth substrate 20 g and time 96 hours. The maximum reducing sugar formation rate ( $V_{max}$ ) was 0.762 mg/g/hour and  $K_m$  was 0.03%.*

**Keywords:** water hyacinth, cellulolytic bacteria, reducing sugar, hydrolysis and reaction rate

## PENDAHULUAN

Dalam permasalahan pada perairan yang berada di sungai, kolam danau salah satunya disebabkan adanya kehadiran eceng gondok (Gunnarsson *et al.*, 2007). Sedangkan eceng gondok mempunyai kandungan *lignoselulosa* yang terdiri dari lignin, hemiselulosa dan selulosa (Ganguly *et al.*, 2012).

Produksi etanol dari bahan *lignoselulosa* melalui proses membuka ikatan terlebih dahulu menjadi polimer selulosa dan hemiselulosa. Tahapan proses tersebut dinamakan sebagai *pretreatment*. Hasil dari proses tersebut melalui proses hidrolisis polimer diubah menjadi glukosa. Selanjutnya mengubah glukosa menjadi etanol yang dilakukan oleh mikroorganisme serta proses distilasi dan dehidrasi (Taherzadeh dan Karimi, 2007). Skema secara umum dapat dilihat pada **Gambar-1** dibawah ini :



**Gambar-1:** Produksi etanol dari bahan *lignoselulosa* (Taherzadeh dan Karimi, 2007).

Proses penelitian ini dimulai dari *lignoselulosa* sampai terbentuknya hasil gula reduksi hasil proses hidrolisis.

Bakteri selulolitik yang digunakan adalah bakteri yang mampu mendegradasi selulosa seperti *Cellvibrio sp* (Ekawati, 2012). *Cellvibrio sp* dapat mendegradasi selulosa pada serat tanaman dalam keadaan *in vitro* dengan cepat, dari 77 isolat bakteri diantaranya 34 strain mendeskripsikan fenotipik dari genus *Cellvibrio sp* (Mergaert *et al.*, 2003). *Cellvibrio* merupakan bakteri selulolitik yang berada di

rumen (Lamid *et al.*, 2011). Bakteri yang berada di rumen merupakan bakteri selulolitik yang baik dalam mendegradasi tanaman (Wilson, 2011). Selain itu juga bakteri ini juga terdapat di pengolahan air limbah dengan pertumbuhan secara *attached system* (Cordero, 2012).

Penelitian dilakukan pada proses hidrolisis untuk menentukan laju reaksi. Gula reduksi tiap-tiap proses akan diukur dengan membandingkan kemampuan variasi *pretreatment* penambahan asam.

## METODE PENELITIAN

### Persiapan

Pengambilan eceng gondok disekitar sungai ITS Sukolilo Surabaya. Bahan baku eceng gondok dilakukan pemisahan antara batang, daun dan akarnya. Selanjutnya batang dicuci sampai bersih dan dipotong pada ukuran 2-2,5 mm (Ganguly *et al.*, 2012), selanjutnya direndam dalam air selama 6 jam kemudian sampel dikeringkan dengan oven  $60 \pm 30^\circ\text{C}$  selama 2 – 3 hari hingga kering (Harun *et al.*, 2011). Bahan yang telah menjadi bubuk dibuat variasi substrat (1; 2,5; 5; 10 dan 20 g) ditambahkan 12 mL air suling steril dengan pada substrat 5 g (Ma *et al.*, (2010); Handayani, 2014) sebagai acuan (12:5) dimasukkan dalam reaktor steril berukuran 140 mL (substrat 1; 2,5; dan 5 g) dan 250 mL (substrat 10 dan 20 g).

### Pretreatment

Substrat diinkubasi inokulan *P. chrysosporium* selama 10 hari suhu ruang dengan perbandingan 1 mL inokulan untuk 1 g substrat.

### Hidrolisis

Hidrolisis dengan menggunakan 3 kombinasi secara kimia 0,25 %  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (Ma *et al.*, 2010) dan 2%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (Mood *et al.*, 2013; Singh *et al.*, 2013; Stavrinides *et al.*, 2010 dan Corredor, 2008 dan), secara fisik/ panas  $100^\circ\text{C}$  selama 30 menit (Harun *et al.*, 2011), dan secara biologi menggunakan mikroorganisme *cellvibrio* (Saropah *et al.*, 2012; Schafer dan King, 1965; Kitaoka *et al.*, 1992). Pengecekan hasil gula reduksi dilakukan setiap 24 jam selama 5 hari.

### Analisa Pengujian

Kandungan lignoselulosa menggunakan metode Chesson (Datta, 1981). Pengukuran gula reduksi menggunakan metode Nelson Somogy. Semua pengujian dilakukan secara duplo.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pertumbuhan Biakan Bakteri Selulolitik

Pada laporan Sanito dkk., 2015 menyebutkan bahwa jumlah *Cellvibrio* dengan pertumbuhan tanpa *shaker* untuk mencapai pertumbuhan maksimum memerlukan waktu inkubasi hingga 144 jam dan waktu setengah laju pertumbuhan antara 72 hingga 96 jam. Pertumbuhan *Cellvibrio* dengan *shaker* memerlukan waktu hingga 36 jam dan waktu setengah laju pertumbuhan ( $1/2 v_{maks}$ ) adalah 10 jam. Kedua perlakuan tersebut didapatkan bahwa pertumbuhan yang cepat menggunakan *shaker*. Pada penelitian ini menggunakan pertumbuhan bakteri *Cellvibrio* menggunakan *shaker*. Hal ini dimaksudkan untuk mempercepat waktu *seeding* sehingga dapat digunakan untuk proses enzimatik hidrolisis lebih cepat dari pertumbuhan yang tanpa menggunakan *shaker*.

### Komponen Lignoselulosa

Sebelum melangkah melakukan penelitian pada tahap *pretreatment* dan hidrolisis, dilakukan dengan uji awal kandungan *lignoselulosa* terlebih dahulu dengan hasil seperti **Tabel-1** dibawah ini

**Tabel-1:** Perbandingan kandungan *lignoselulosa* eceng gondok terhadap penelitian lainnya

Kandungan <i>lignoselulosa</i> (%)			Literatur
Hemiselulosa	Selulosa	Lignin	
33,40	19,50	9,27	Gunnarson, 2007
33,95	12,38	8,76	Hasil penelitian

Pada **Tabel-1** hasil penelitian dengan kandungan hemiselulosa, selulosa dan lignin berturut-turut adalah 33,95%, 12,38 dan 8,76 % jika dibandingkan dengan penelitian Gunnarson, 2007 ada sedikit perbedaan. Kandungan umumnya hemiselulosa lebih tinggi dari pada kandungan lignin dan selulosa hal demikian juga disampaikan oleh Ma *et al.* (2010). Dinding sel tersusun rangka molekul selulosa dan lignin. Bagian tersebut yang

menyebabkan ikatan menjadi kuat. Hasil Analisa awal ini terjadi perbedaan karena likasi dan perlakuan terhadap sampel juga berbeda. Selain itu juga mempengaruhi hasil gula reduksi yang telah dihasilkan yang ditampilkan pada **Tabel-2**.

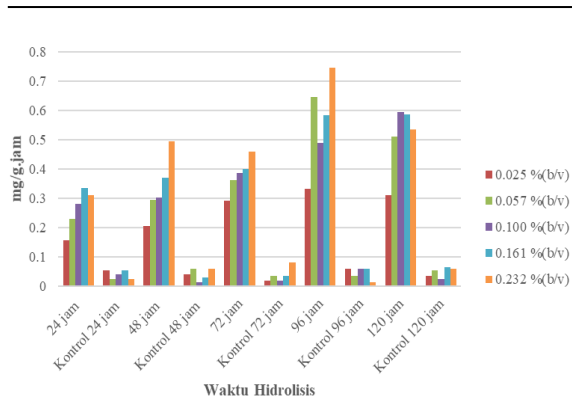
**Tabel-2:** Perlakuan pada substrat 5 g (0,1% b/v) setelah 5 hari dalam menguji Kandungan *lignoselulosa*

Perlakuan <i>lignoselulosa</i> dari berbagai treatment dan hasil gula reduksi (dalam mg/g)	Hidrolisa			
	Awal	JPP		
Kandungan	Setelah oven	10 hari	Hidrolisa 0,25 % H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> Panas dan <i>Cellvibrio</i>	Hidrolisa 2 % H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> panas dan <i>Cellvibrio</i>
Hemiselulosa	33,95	24,15	8,22	6,17
Selulosa	12,38	9,72	3,84	3,15
Lignin	8,76	6,55	4,26	3,45
Gula Reduksi	12,29	21,20	51,60	56,36
pH	7,43	6,89	7,52	7,12

**Tabel-2** juga menunjukkan bahwa proses hidrolisa mampu menghasilkan gula reduksi hingga mencapai lebih dari 2 kali lipat. Pada proses awal setelah oven hingga JPP 10 hari pernah dilakukan oleh Novembrianto, (2014) sebagai *pretreatment*. Proses pengeringan menggunakan oven dengan temperatur 60°C selama dua hari. Saat analisa awal yakni setelah melalui proses oven 60°C selama dua hari, eceng gondok didapatkan hasil gula reduksi sebesar 12,29 mg/g. Penelitian Harun *et al.* (2011) dengan cara pemanasan (oven kering) mampu menghasilkan gula reduksi sebesar 111,45 mg/g dan dengan menggunakan pemanasan 100±3°C (mendidih) sebesar 33,55 mg/g. Perbedaan nilai gula reduksi dipengaruhi oleh perlakuan saat proses persiapan bahan baku substrat. Nilai holoselulosa (hemiselulosa dan selulosa).

### Laju pembentukan gula reduksi pada variasi 0,25 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan *Cellvibrio*

Pembentukan gula reduksi pada dengan kombinasi 0,25 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan *Cellvibrio* menghasilkan 0,155 mg/g.jam sampai dengan 0,744 mg/g.jam. Gula reduksi yang dihasilkan memiliki laju pembentukan dibuat variasi waktu 24, 48, 72, 96 dan 120 jam serta variasi substrat 0,025; 0,057; 0,1; 0,161 dan 0,232 % (b/v).



**Gambar-2:** Laju pembentukan gula reduksi saat pretreatment 0,25 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan hidrolisis dengan Cellvibrio

**Gambar-2** memperlihatkan Cellvibrio dalam pembentukan gula reduksi menunjukkan peningkatan sampai mencapai optimum secara keseluruhan pada 96 jam dengan perolehan substrat 0,232 % (b/v) sebesar 0,744 mg/g.jam.

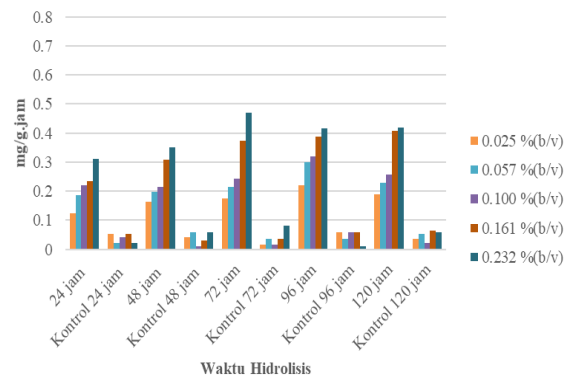
Pada jam ke-120 pembentukan gula reduksi terlihat mulai mengalami penurunan. Hal ini dapat dianalogikan karakter pertumbuhan mikroorganisme seperti penelitian Sanito dkk, (2015) Cellvibrio dalam media broth tanpa shaker yakni pada hari keempat laju pertumbuhan mulai tidak mengalami kenaikan signifikan. Selain itu juga menurut Fontes et al. (2000) pertumbuhan Cellvibrio pada fase eksponensial terjadi antara 30 jam dan 60 jam, Cellvibrio mixtus melokalisasi xilanase dengan kehadiran protein periplasmik.

pH yang diukur saat setelah proses hidrolisis berkisar antara 7-7,98. Pada kisaran pH tersebut masih dapat hidup, karena pH Cellvibrio untuk hidup berkisar antara 6,4 hingga 8,2 (Kitaoka et al., 1992). Pertumbuhan Cellvibrio ditandai dengan adanya pembentukan biofilm. Menurut Khairiah et al. (2013) genus Cellvibrio menghasilkan enzim katalase yang mampu mendegradasi selulosa dan mengubah menjadi glukosa. Kemampuan bakteri pendeградasi selulosa diindikasikan terbentuknya daerah bening disekitar koloni (Perez et al., 2002).

### Laju pembentukan gula reduksi pada variasi 2 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan Cellvibrio

Hasil penelitian menerangkan bahwa laju pembentukan gula reduksi dengan variasi 2 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> Cellvibrio berselang antara 0,125 hingga

0,469 mg/g.jam. Hasil tersebut lebih rendah daripada variasi 0,25 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> Cellvibrio.



**Gambar-3:** Peningkatan gula reduksi saat pretreatment 2 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan hidrolisis dengan Cellvibrio

**Gambar-3** menjelaskan laju pembentukan gula reduksi yang tinggi berada pada substrat 0,232 % (b/v) untuk waktu 24 jam menghasilkan laju 0,312 mg/g.jam dan meningkat sedikit pada 48 jam dengan laju 0,350 mg/g.jam dan terus meningkat pada jam ke 72 yakni 0,469 mg/g.jam. Laju menjadi menurun pada jam ke 96 menjadi 0,415 mg/g.jam. Laju meningkat kembali pada jam ke 120 jam dengan laju 0,418 mg/g.jam. Pada 72 jam terjadi peningkatan yang paling besar dari perubahan waktu lainnya dari 0,350 mg/g.jam ke 0,469 mg/g.jam. Hal itu juga sesuai dengan karakter pertumbuhan mikroorganisme dengan ½ V<sub>maks</sub> Cellvibrio yakni 72 jam seperti yang pernah dilaporkan oleh Sanito, dkk., (2015).

Hasil laju pembentukan gula reduksi oleh Cellvibrio seperti yang ditunjukkan pada Gambar-3 menjelaskan peningkatan sangat kecil sekali dibandingkan dengan variasi sebelumnya. Kecenderungan peningkatan terbesar pada waktu 96 jam. Peningkatan laju pembentukan gula reduksi yang kecil dikarenakan suasana asam yang pada layer bagian tengah reaktor (ketinggiannya), kemungkinan masih terjadi pembentukan gula reduksi dikarenakan masih terdapat substrat dengan suasana netral antara 6,87 hingga 7,81 sedangkan menurut Kitaoka et al. (1992) cellvibrio dapat hidup pada pH 6,4 hingga 8,2 sehingga bakteri masih hidup. Hal ini dapat dibuktikan dengan terbentuknya biofilm pada layer bagian atas pada substrat eceng gondok.

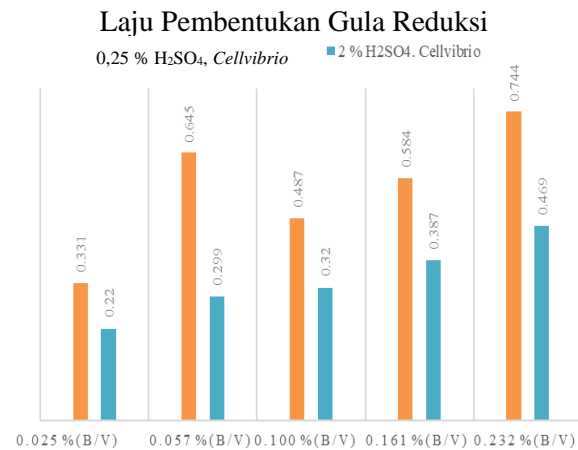
**Perbandingan Laju Pembentukan Optimum dari berbagai variasi**

Laju pembentukan gula reduksi dari berbagai variasi dapat diambil yang paling optimum. Selanjutnya membandingkan untuk mengetahui laju yang optimum seperti pada Tabel 3.

**Tabel-3:** Perbandingan laju pembentukan gula reduksi dari berbagai variasi optimum

Substrat % (b/v)	0,25 % H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , <i>Cellvibrio</i> (mg/g.jam)	2 % H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , <i>Cellvibrio</i> (mg/g.jam)
0,025	0,331	0,220
0,057	0,645	0,299
0,100	0,487	0,320
0,161	0,584	0,387
0,232	0,744	0,469

**Tabel-3** Perbandingan laju pembentukan gula reduksi dari berbagai variasi menunjukkan bahwa substrat 0,232 % (b/v) dan untuk variasi 0,25 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, *Cellvibrio* memiliki 0,744 mg/g.jam. Untuk variasi 2 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, *Cellvibrio* yakni 0,469 mg/g.jam.



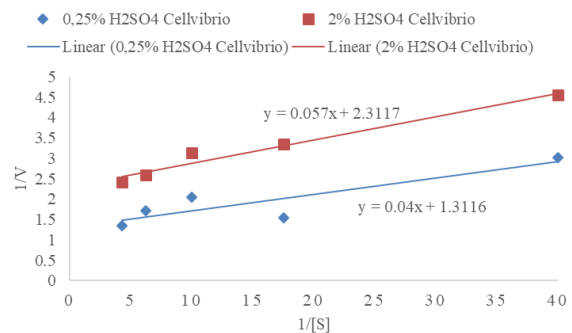
**Gambar-4:** Perbandingan laju pembentukan gula reduksi pada masing – masing variasi optimum.

**Gambar-4** dapat dilihat perbandingan laju pembentukan gula reduksi pada dari berbagai variasi yang optimum didapatkan hasil yang terbaik adalah kombinasi dengan 0,25 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> *Cellvibrio* dengan substrat 0,232 % (b/v). Hal ini disebabkan bakteri mempunyai ukuran lebih kecil sehingga dapat melakukan penetrasi atau berdifusi lebih mudah ke substrat

yang mengandung selulosa (Li dan Gao dalam Saropah *et al.*, 2012).

**Laju Reaksi pada hidrolisis 96 jam**

Nilai V<sub>maks</sub> untuk mengetahui kecenderungan laju pembentukan gula reduksi terbesar. Nilai K<sub>m</sub> berfungsi untuk mengetahui afinitas enzim terhadap substrat. Semakin nilai K<sub>m</sub> rendah maka afinitas enzim terhadap substrat semakin baik (Putra, 2009). Untuk plot grafik antara substrat [S] dan aktivitas enzim (V) diubah menjadi berbanding terbalik terhadap (1/[S]) dan (1/V). Nilai Vmaks dan Km dapat ditetapkan melalui Kurva Lineweaver-Burk dengan cara : 1/V = 1/V<sub>maks</sub> + K<sub>m</sub>/V<sub>maks</sub>.1/[S] , bila 1/V = Y dan 1/S = X, sehingga rumusnya menjadi : Y = a + bX sehingga a = 1/ V<sub>maks</sub> dan b = K<sub>m</sub>/V<sub>maks</sub>.



**Gambar-3:** Grafik hubungan antara 1/[S] dan 1/V

Kurva pada Gambar 3, menjelaskan hubungan antara 1/[S] dan 1/V berdasarkan persamaan regresi linier Y= 0,04x + 1,3116 untuk 0,25 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> *Cellvibrio*, didapatkan V<sub>maks</sub> dan K<sub>m</sub> sebesar 0,762 mg/g.jam dan 0,03%; serta V<sub>maks</sub> dan K<sub>m</sub> berdasarkan persamaan regresi linier Y= 0,057x + 2,3117 untuk 2 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> sebesar Vmaks sebesar 0,432 mg/g.jam dan K<sub>m</sub> senilai 0,025 %.

**KESIMPULAN**

Berdasarkan penelitian diatas, kesimpulan yang didapatkan laju pembentukan gula reduksi tertinggi pada substrat eceng gondok 20 gram menggunakan kombinasi pretreatment jamur *P. chrysosporium*, dan hidrolisis kombinasi 0,25 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; pemanasan (didih) 100 ± 3°C selama 30 menit Serta penambahan *Cellvibrio* dan hidrolisis selama 96 jam. Laju pembentukan gula reduksi maksimum dalam hidrolisis (V<sub>maks</sub>) adalah 0,762 mg/g.jam dan K<sub>m</sub> senilai 0,03%.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Cordero, O. X., 2012. Enriching spatially structured communities of cellulose degraders. Massachusetts Institute of Technology.
- Ekawati, E. R., Matuzahroh, N. dan Supriyanto., A., 2012. Eksplorasi dan Identifikasi Bakteri Selulolitik pada Limbah Daduk Tebu (Saccharum Officinarum L). Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga Surabaya. Berk. Penel. Hayati 18 : 31–34.
- Fontes, C. M. G. A., Gilbert, H. J., Hazlewood G. P. dan Clarke, J. H., 2000. A novel Cellvibrio mixtus family 10 xylanase that is both intracellular and expressed under non-inducing conditions. Microbiology 146 : 1959–1967
- Ganguly, A., Chatterjee P.K., Dey A., (2012) Studies on ethanol production from water hyacinth—A review. Renewable and Sustainable Energy Reviews 16 : 966–972.
- Gunnarsson, C. C., Petersen, C. M. (2007). Water hyacinths as a resource in agriculture and energy production: A literature review. Waste Management 27 : 117–129
- Handayani, A. G. dan Pandebesie, E. S. (2014). Hidrolisis Eichhornia crassipes menggunakan proses fisika, kimia, dan biologis. Prosiding Seminar Nasional Waste Management II. ISBN 978-602-95595-7-6
- Harun, M. Y., Radiah A. B., Abidin Z. Z. dan Yunus, R. (2011). Effect of physical *pretreatment* on dilute acid hydrolysis of water hyacinth (Eichhornia crassipes). Bioresource Technology 102 : 5193–5199
- Khairiah E., Khotimah S., Mulyadi A., 2013. Karakterisasi dan Kepadatan Bakteri Pendegradasi Selulosa pada Tanah Gambut di Desa Parit Banjar Kabupaten Pontianak. Jurnal Protobiont vol. 2 (2) : 87- 92
- Kitaoka, M., Sasaki, T., Taniguchi, H., 1992. Phosphorolytic Reaction of Cellvibrio gilvus cellobiose phosphorylase. Biosci. Biotech. Biochem., 56 (4) : 652-655.
- Ma, F., Yang, N., Xu, C., Yu, H., Wu, Y. dan Zhang. (2010). Combination of biological *pretreatment* or enzymatic hydrolysis and ethanol production from water hyacinth. Bioresource Technology 101 : 9600-9604
- Mergaert, J., Lednicka D., Goris J., Cnockaert M. C, Vos P. D. and Swings J., 2003. Taxonomic study of Cellvibrio strains and description of Cellvibrio ostraviensis sp. nov., Cellvibrio fibrivorans sp. nov. and Cellvibrio gandavensis sp. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 53 : 465–471.
- Mood, S. H., Golfeshan A. H., Tabatabaei M., Jouzani G. S., Najafi G. H., Gholami M., Ardjman M. (2013). Lignocellulosic biomass to bioethanol, a comprehensive review with a focus on *pretreatment*. Renewable and Sustainable Energy Reviews 27 : 77–93.
- Putra, G. P. G. 2009. Determination of enzyme kinetics of endogenous polygalacturonase (pg) from cocoa pulp. Jurnal Biologi XIII (1) : 21 -24
- Perez, J., Dorado, J. M., Rubia, T. R. dan Martinez, J., 2002. Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin : an overview. Int. microbial 5 : 53-63.
- Schafer, M. L dan King. K., 1965. Utilization of cellulose oligosaccharides by Cellvibrio gilvus. Bacteriology, vol. 89 No 1.
- Sanito R. C., Novembrianto, R., Pandebesie, E. S., (2015). Kajian Penentuan Fase Pertumbuhan Kapang dan Bakteri Selulolitik pada Media Pertumbuhan, Prosiding Seminar Nasional Manajemen Teknologi XII.
- Saropah, D. A., Jannah A., dan Maunatin A. (2012). Kinetika reaksi enzimatik ekstrak kasar enzim selulase bakteri selulolitik hasil isolasi dari bekatul. Alchemy, Vol. 2 No. 1. hal 34-45.
- Singh, A. dan Bishnoi, N. R. (2013). Comparative study of various *pretreatment* techniques for ethanol production from water hyacinth Industrial Crops and Products 44 (2013) 283– 289.
- Taherzadeh, M. dan Karimi K. (2007). Enzyme-Based Hydrolysis Processes for Ethanol From Lignocellulosic Materials : Review. Bioresources 2(4), 707-738.