



SKRIPSI - TK 091383

**VARIASI RASIO CAMPURAN *TRICHODERMA VIRIDE*
DAN *ASPERGILLUS NIGER* PADA BIOLOGICAL
TREATMENT DAN STEAM TREATMENT UNTUK
TEMPURUNG KELAPA SEBAGAI SUMBER KARBON
ORGANIK BIOFUEL**

ABRAHAM ARIF
NRP 2308 100 126

KARTIKA RIZQIMAULIDA
NRP 2308 100 147

Dosen Pembimbing :
Dr.Ir.Sri Rachmania Juliastuti, M.Eng
Ir. Nuniek Hendriane, MT

LABORATORIUM PENGOLAHAN LIMBAH INDUSTRI
JURUSAN TEKNIK KIMA
FAKULTAS TEKNOLOGI INDUSTRI
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA 2012



FINAL PROJECT - TK 091383

VARIATION MIXTURE RATIO OF *TRICHODERMA VIRIDE* AND *ASPERGILLUS NIGER* IN BIOLOGICAL TREATMENT AND STEAM TREATMENT FOR COCONUT SHELL AS ORGANIC CARBON SOURCES BIOFUEL

ABRAHAM ARIF
NRP 2308 100 126

KARTIKA RIZQIMAULIDA
NRP 2308 100 147

Advisor :
Dr.Ir.Sri Rachmania Juliastuti, M.Eng
Ir. Nuniek Hendriane, MT

WASTE WATER TREATMENT LABORATORY
CHEMICAL ENGINEERING DEPARTMENT
FACULTY OF INDUSTRIAL TECHNOLOGY
SEPULUH NOPEMBER INSTITUTE OF TECHNOLOGY
SURABAYA 2012

KATA PENGANTAR

Puji syukur kami ucapkan ke hadirat Allah SWT, karena hanya berkat rahmat dan ridho-Nya lah maka kami dapat menyelesaikan laporan skripsi berjudul :

Variasi Rasio Campuran *Trichoderma Viride* dan *Aspergillus Niger* pada Biological Treatment dan Steam Treatment untuk Tempurung Kelapa sebagai Sumber Karbon Organik Biofuel.

Laporan skripsi ini merupakan salah satu persyaratan dalam menyelesaikan program studi S-1 di Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya. Untuk itu, kami mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Tri Widjaja, M.Eng selaku Ketua Jurusan Teknik Kimia FTI-ITS dan juga Dosen Penguji kami.
2. Bapak Setiyo Gunawan, ST., PhD. selaku Koordinator Tugas Akhir Jurusan Teknik Kimia FTI-ITS.
3. Ibu Dr. Ir. Sri Rachmania Juliastuti, M.Eng selaku Dosen Pembimbing I dan juga Kepala Laboratorium Teknologi Pengolahan Biologis Limbah Cair Industri serta Ibu Ir. Nuniek Hendriani, M.T. selaku Dosen Pembimbing II.
4. Bapak Edi Yanto selaku laboran Laboratorium Teknologi Pengolahan Biologis Limbah Cair Industri.
5. Bapak Prof. Dr. Ir. Soeprijanto, MT. selaku Dosen Penguji.
6. Seluruh dosen dan karyawan Jurusan Teknik Kimia FTI – ITS.
7. Orang tua dan keluarga kami yang telah memberikan dukungan moril dan materiil.
8. Teman-teman "Waste Water Treatment Laboratory" dan seluruh elemen Teknik Kimia, khususnya K-48, atas segala bantuannya

Kami menyadari bahwa penyusunan laporan skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh sebab itu kami mohon masukan dan saran dari pembaca. Akhir kata, semoga laporan skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Surabaya, Juli 2012

Penyusun



LEMBAR PENGESAHAN

Variasi Rasio Campuran *Trichoderma Viride* dan *Aspergillus Niger* pada Biological Treatment dan Steam Treatment untuk Tempurung Kelapa sebagai Sumber Karbon Organik Biofuel

TUGAS AKHIR

Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat
Memperoleh Gelar Sarjana Teknik pada
Program Studi S-1 Jurusan Teknik Kimia
Fakultas Teknologi Industri
Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Oleh :

Abraham Arif

NRP. 2308.100.126

Kartika Rizqimaulida

NRP. 2308.100.147

Disetujui oleh Tim Penguji Tugas Akhir :

- 1 Dr. Ir. Sri Racmania Juliastuti, M.Eng (Pembimbing 1)
- 2 Ir. Nuniek Hendrianie, M.T. (Pembimbing 2)
- 3 Prof. Dr. Ir. Tri Widjaja, M.Eng (Penguji 1)
- 4 Prof. Dr. Ir. Soeprijanto, M.Sc. (Penguji 2)



Surabaya,
17 Juli 2012

**VARIASI RASIO CAMPURAN *Trichoderma viride*
DAN *Aspergillus niger* PADA BIOLOGICAL
TREATMENT DAN STEAM TREATMENT UNTUK
TEMPURUNG KELAPA SEBAGAI SUMBER
KARBON ORGANIK BIOFUEL**

**Abraham Arif(2308100126), Kartika R.(2308100147)
Pembimbing : Dr.Ir.Sri Rachmania Juliastuti.M.Eng,
Ir. Nuniek Hendrianie, M. Eng.
Laboratorium Pengolahan Limbah Industri Kimia
Jurusan Teknik Kimia FTI-ITS
SURABAYA**

ABSTRAK

Biofuel saat ini menjadi salah satu aspek utama dalam bidang penelitian. Hal ini dikarenakan ketersediaan bahan bakar fosil yang semakin langka, namun konsumsi energinya semakin meningkat. Oleh karena itu, penelitian mengenai pre-treatment pengolahan limbah sebagai sumber karbon organik dirasa perlu untuk dilakukan agar dapat menghasilkan karbon organik yang selanjutnya dapat diolah menjadi biofuel.

Percobaan ini bertujuan untuk mengetahui kinerja terbaik campuran fungi *Trichoderma viride* dan *Aspergillus niger* terhadap *biological treatment* tempurung kelapa serta pengaruhnya terhadap kuantitas dan kualitas sumber karbon organik (dalam hal ini glukosa).

Penelitian ini diawali dengan proses *steam-treatment* pada kondisi optimum operasi pada penelitian sebelumnya (Arias, 2011) yaitu waktu 10 menit tekanan dan steam 2 bar, penambahan 2% H₂SO₄ dilanjutkan dengan steam treatment pada 210°C selama 5 menit. Setelah steam treatment, kemudian dilakukan *biological treatment* menggunakan jamur *Trichoderma viride* dan *Aspergillus niger* dengan konsentrasi campuran fungi sebesar 20% (v/v) dan variabel rasio *Trichoderma viride* : *Aspergillus*

niger sebesar 0:1, 1:0, 1:2, 1:3, 2:1, 3:1 (v/v). Proses *biological treatment* dilakukan selama 10 hari (sampai kadar glukosa konstan). Dari hasil penelitian didapatkan kadar glukosa terbaik sebagai sumber karbon untuk produksi biofuel terdapat pada kondisi rasio *A.niger* dan *T.viride* sebesar 1:2 (v/v) selama 96 jam dengan yield glukosa sebesar 41.168% (24.873 g/L) dan rasio *A.niger* dan *T.viride* sebesar 2:1 (v/v) selama 96 jam dengan yield glukosa sebesar 40,349% (24,378 g/L).

Kata kunci : *steam-treatment*, glukosa, tempurung kelapa, *Trichoderma viride*, *Aspergillus niger*.

**VARIATION MIXTURE RATIO OF *Trichoderma viride*
AND *Aspergillus niger* IN BIOLOGICAL
TREATMENT AND STEAM TREATMENT FOR
COCONUT SHELL AS ORGANIC CARBON
SOURCES BIOFUEL**

Abraham Arif(2308100126), Kartika. R.(2308100147)

**Advisors : Dr.Ir.Sri Rachmania Juliastuti.M.Eng,
Ir. Nuniek Hendrianie, M. Eng.**

**Laboratorium Pengolahan Limbah Industri Kimia
Jurusan Teknik Kimia FTI-ITS
SURABAYA**

ABSTRACT

Nowadays, biofuel is become one of the main aspect of the research. It is caused by the imbalance between the availability of fosil fuels in the world and the increasing of energy consumption. Because of that, the research on pre-treatment of waste treatment as the organic carbon resource has an urgency to be done, so it can produce the organic carbon that will be treated furthermore to be a biofuel.

The objective of this research is to define the best effect of *Trichoderma viride* and *Aspergillus niger* mixture to the biological treatment of coconut shell and also the effect to the quantity of organic carbon resource (in this case is glucose).

This research was started by steam-treatment process, in the optimum operating condition from the previous research (Arias, 2011) at 2 bar steam pressure (pre-steam-treatment) during 10 minutes, the addition of 2% H₂SO₄, continued with steam treatment at 210°C during 5 minute. After steam treatment, then the biological treatment using *Trichoderma viride* and *Aspergillus niger* were added by 20% (v/v) concentration of fungus mixture and the variables of mixture ratio *Aspergillus niger* : *Trichoderma viride* were 1:0, 1:2, 1:3, 0:1, 2:1, 3:1 (v/v).

This biological treatment process was done in 10 days (until glucose contains being constant). From the research results, it reports that the best amount of glucose as organic carbon source for biofuel production was *A.niger* and *T.viride* ratio 1:2 (v/v), during 96 hours with glucose yield of 41.168% (24.873 g/L) and *A.niger* and *T.viride* ratio 2:1 (v/v), during 96 hours with glucose yield of 40.349% (24.378 g/L).

Keywords : steam-treatment, glucose, coconut shell, *Trichoderma viride*, *Aspergillus niger*.

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	
ABSTRAK	i
ABSTRACT	iii
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	x
BAB I PENDAHULUAN	
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Perumusan Masalah	2
I.3 Tujuan Penelitian	2
I.4 Manfaat Penelitian	3
I.5 Batasan Masalah	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
II.1 Tempurung Kelapa	
II.1.1 Potensi dan Pemanfaatan Limbah Tempurung Kelapa	5
II.1.2 Struktur Tempurung Kelapa	6
II.2 Lignin	7
II.3 Hemiselulosa	9
II.4 Selulosa	10
II.5 Pretreatment Lignoselulosa	12
II.6 Physico-Chemical Pretreatment	13
II.7 Biological Treatment	14
II.8 Peneliti Terdahulu	18
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	
III.1 Variabel Penelitian dan Kondisi Operasi	
III.1.1 Kondisi Operasi	21
III.1.2 Variabel	21
III.2 Parameter yang dianalisa	
III.2.1 Analisa pendahuluan Tempurung Kelapa	21
III.2.2 Analisa Parameter Penelitian	21

III.3 Bahan-bahan Penelitian.....	22
III.4 Alat yang digunakan	22
III.5 Prosedur Penelitian	
III.5.1 Analisa kandungan Tempurung Kelapa.....	23
III.5.2 Persiapan Bahan Baku	23
III.5.3 Pre Steam Treatment	23
III.5.4 Steam Treatment	24
III.5.5 Biological Treatment	
III.5.5.1 Tahap persiapan	24
III.5.5.2 Tahap produksi glukosa	24
III.6 Prosedur Kerja	26
III.7 Gambar Alat.....	27
III.8 Prosedur Analisa	
III.8.1 Prosedur Analisa Kadar Lignin, Selulosa dan Hemiselulosa Menggunakan Metode Chesson (<i>Datta, 1981</i>).....	28
III.8.2 Tahap Analisa Kadar Glukosa	
III.8.2.1 Prosedur Analisa Kadar Glukosa Secara Spektrofotometri (Metode DNS).....	30
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	
IV.1 Pre-steam Treatment	33
IV.2 Steam Treatment	34
IV.3 Biological Treatment.....	35
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
V.1 Kesimpulan	39
V.2 Saran	39
DAFTAR PUSTAKA	xi
LAMPIRAN	

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Tempurung Kelapa.....	5
Gambar 2.2	Contoh Skema Struktur Molekul Lignin	8
Gambar 2.3	Skema Struktur Molekul Hemiselulosa	9
Gambar 2.4	Skema Struktur Molekul Selulosa	11
Gambar 2.5	Skema Struktur Lignoselulosa.....	11
Gambar 2.6	Skema <i>Pretreatment Lignocelullose</i>	12
Gambar 2.7	<i>Aspergillus niger</i>	15
Gambar 2.8	<i>Trichoderma Viride</i>	16
Gambar 4.1	Yield lignin, selulosa, hemiselulosa dan glukosa pada proses steam treatment	34
Gambar 4.2	Yield glukosa yang dihasilkan dalam biological treatment untuk variabel <i>A.niger</i> tetap.....	36
Gambar 4.3	Yield glukosa yang dihasilkan dalam biological treatment untuk variabel <i>T.viride</i> tetap	37

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Komposisi biomassa berdasarkan berat kering	7
Tabel 2.2	Peneliti Terdahulu	18
Tabel 4.1	Komposisi Tempurung Kelapa.....	33

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Kelapa telah ditanam hampir di seluruh Indonesia dan luas arealnya terus meningkat. Pada tahun 2004 luas areal perkebunan kelapa baru masing-masing adalah 3.334.000 Ha (Kompas, Juni 2007). Sejak tahun 1988 Indonesia menduduki urutan pertama sebagai negara yang memiliki areal kebun kelapa terluas di dunia. Dari seluruh luas areal perkebunan kelapa, sekitar 97.4% dikelola oleh perkebunan rakyat yang melibatkan sekitar 3,1 juta keluarga petani, sisanya sebanyak 2,1% dikelola perkebunan besar swasta dan 0,5% dikelola perkebunan besar negara (Palungkun,2001).

Indonesia memiliki potensi sumber daya alam yang sangat besar untuk dapat dikembangkan dan dimanfaatkan dalam meningkatkan pendapatan petani kelapa. Namun saat ini masih ada beberapa kendala yang menyebabkan pendapatan petani masih rendah. Kendalanya adalah pengolahan lahan yang masih bersifat tradisional dan kurangnya industri pengolahan hasil. Pemanfaatan buah kelapa umumnya hanya daging buahnya saja untuk dijadikan kopra, minyak dan santan untuk keperluan rumah tangga. Sedangkan hasil samping lainnya seperti tempurung kelapa belum banyak dimanfaatkan. Berat tempurung mencapai 12% dari berat buah kelapa. Dengan demikian, apabila secara rata-rata produksi buah kelapa adalah sebesar 5,6 juta ton/tahun, maka terdapat sekitar 750 ribu ton/tahun tempurung yang dihasilkan. Potensi produksi tempurung yang sedemikian besar belum dimanfaatkan sepenuhnya untuk kegiatan produktif yang dapat meningkatkan nilai tambahnya. Dengan adanya ilmu pengetahuan dan teknologi

maka beberapa hasil samping pertanian kelapa seperti tempurung dapat diolah menjadi produk yang memiliki nilai ekonomi yang tinggi.

Disisi lain seiring dengan pertumbuhan penduduk, pengembangan wilayah, dan pembangunan dari tahun ke tahun, kebutuhan akan pemenuhan energi listrik dan juga bahan bakar secara nasional pun semakin besar. Selama ini kebutuhan energi dunia dipenuhi oleh sumber daya tak terbarukan seperti minyak bumi dan batu bara. Namun tidak selamanya energi tersebut bisa mencukupi seluruh kebutuhan manusia dalam jangka waktu yang panjang mengingat cadangan energi yang semakin lama semakin menipis dan juga proses produksinya yang membutuhkan waktu jutaan tahun. Untuk itu perlu adanya energi alternatif untuk mencukupi kebutuhan manusia dengan cara memanfaatkan biomassa, senyawa organik maupun limbah untuk dikonversi menjadi energi yang bersifat dapat diperbaharui. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi salah satu cara *Treatment* Lignoselulosa dari tempurung kelapa.

I.2 Perumusan Masalah

Permasalahan yang diangkat dalam penelitian ini adalah melimpahnya limbah tempurung kelapa yang belum dimanfaatkan secara maksimal sebagai salah satu sumber karbon organik untuk bahan baku produksi bioenergi.

I.3 Tujuan Penelitian

Mendapatkan kondisi terbaik pada kinerja campuran *Aspergillus niger* dan *Trichoderma viride* pada produksi bahan organik (glukosa) serta degradasi selulosa & hemiselulosa dari hasil proses *steam treatment* untuk

berbagai variabel percobaan.

I.4 Manfaat Penelitian

1. Mengetahui kondisi terbaik kinerja mikroba pada degradasi hemiselulosa dan selulosa pada proses hidrolisis diharapkan dapat diterapkan pada produksi bioenergi skala besar.
2. Mengetahui peran pemanfaatan tempurung kelapa sebagai bahan baku bioenergi selain sebagai briket atau asap cair. Sehingga dapat mengurangi limbah kelapa menjadi sesuatu yang lebih bermanfaat.

I.5 Batasan Masalah

1. Bahan baku konversi selulosa menjadi sumber karbon organik yang digunakan adalah tempurung kelapa.
2. Penelitian dilakukan secara *batch* dalam skala laboratorium di Laboratorium Pengolahan Limbah Industri Teknik Kimia ITS.



(HALAMAN INI SENGAJA DIKOSONGKAN)

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Tempurung Kelapa



Gambar 2.1 Tempurung Kelapa

(twotik.wordpress.com)

Tempurung kelapa adalah bagian dari kelapa yang memiliki fungsi sebagai pelindung buah utama dan terletak di bagian dalam dari serat kelapa dengan ketebalan sekitar 3 - 6 mm. Tempurung kelapa dapat dikategorikan sebagai kayu keras, karena memiliki tingkat lignin yang tinggi dan tingkat hemiselulosa yang lebih rendah, dengan tingkat air sekitar 6 - 9% (dihitung berdasarkan berat kering), dan terutama terdiri dari lignin, selulosa, dan hemiselulosa (J.Prananta, 2009).

Lignin adalah komponen yang paling kuat dalam mengikat selulosa dan hemiselulosa serta sulit di degradasi secara enzimatik oleh beberapa mikroorganisme (Bonnamme and Jeffries, 1998). Selulosa merupakan sepertiga sampai setengah dari sekitar 150 milyar ton bahan organik yang disintesis setiap tahunnya (Shewale and Sadana, 1978; Bayer and Moray, 1994).

II.1.1 Potensi dan Pemanfaatan Limbah Tempurung Kelapa

Indonesia adalah salah satu negara penghasil kelapa yang utama di dunia. Luas areal tanaman kelapa pada tahun 2008 mencapai 5,7 juta ha, dengan total produksi diperkirakan

sebanyak 15,5 milyar. Berat tempurung mencapai 12% dari berat buah kelapa. Dengan demikian apabila secara rata-rata produksi buah kelapa pertahun adalah sebesar 5,6 juta ton, itu berarti terdapat sekitar 750 ribu ton tempurung yang dihasilkan. (Statistik Perkebunan Indonesia 2008).

Pemanfaatan buah kelapa umumnya hanya daging buahnya saja yang dijadikan kopra, minyak, dan santan untuk keperluan rumah tangga, sedangkan hasil samping lainnya seperti tempurung kelapa belum banyak dimanfaatkan. Potensi produksi tempurung yang sedemikian besar tersebut belum dimanfaatkan sepenuhnya untuk kegiatan produktif yang dapat meningkatkan nilai tambah sekaligus meningkatkan kesejahteraan petani kelapa.

II.1.2 Struktur Tempurung Kelapa

Karena termasuk golongan kayu keras, tempurung kelapa secara kimiawi memiliki komposisi kimia yang hampir mirip dengan kayu yang tersusun dari lignin, selulosa, dan hemiselulosa, dengan komposisi yang berbeda-beda, seperti pada tabel 2.1.

Jaringan tanaman umumnya terdiri dari sel-sel ber dinding tebal yang bentuk dan ukurannya bervariasi. Pada umumnya, dinding sel pada tumbuhan dibagi menjadi dinding primer dan dinding sekunder. Pada dinding primer terutama terdiri dari polisakarida dan protein, meskipun zat fenolik dapat terjadi.

Distribusi selulosa, hemiselulosa dan lignin bervariasi antara lapisan ini. Dinding sel primer adalah lapisan tipis dan dapat dibagi menjadi permukaan luar dan dalam. Dinding primer ini *permeable* dan fleksibel dalam jaringan secara fisiologis aktif tetapi dapat menjadi sangat berlignin dalam batang sel kayu. Pengaturan dari mikrofibril di dinding primer semakin menyebar dari dalam ke permukaan luar.

Dinding sekunder lebih kaku dan tebal (1 – 3 mm) dari dinding primer. Ini menyediakan dukungan struktural melalui kemampuan mereka untuk melawan kekuatan tegangan dan tekanan. Impregnasi dinding dengan lignin membuat dinding

sekunder ini hidrophobik dan lebih tahan terhadap serangan dari mikroorganisme. Dinding sekunder dibentuk oleh urutan dari tiga lapisan yaitu lapisan luar, lapisan tengah, dan lapisan dalam.

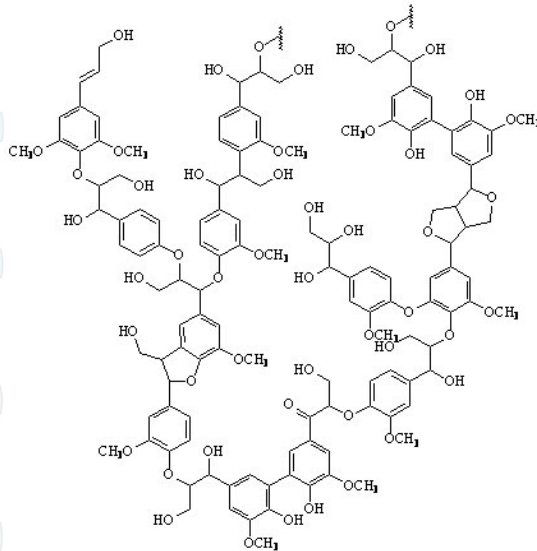
Tabel 2.1 Komposisi biomassa berdasarkan berat kering

Biomass Species	Cellulose	Hemi-cellulose	Lignin	Extractives	Ash
Bagasse	33.6-41.3	22.6-27.0	15.0-18.3	13.7-18.4	2.9
Coconut coir	47.7	25.9	17.8	6.8	0.8
Coconut shell	36.3	25.1	28.7	8.3	0.7
Coir pith	28.6	15.3	31.2	15.8	7.1
Corn cob	40.3	28.7	16.6	15.4	2.8
Corn stalks	42.7	23.6	17.5	9.8	6.8
Cotton gin waste	77.8	16.0	0.0	1.1	5.4
Rice husk	31.3	24.3	14.3	8.4	23.5
Rice straw	30.2-41.36	24.5-22.7	11.9-13.6	5.6-13.1	16.1-19.8
Wheat straw	30.5-40.0	28.9	16.4	7.38-13.4	7.0-11.2

(Nirmala Kaushik et al, 2007)

II.2 Lignin

Lignin adalah polimer penyusun kayu dengan kadar yang besar, namun berbeda dengan selulosa dan hemiselulosa. Selulosa dan hemiselulosa memiliki kemiripan struktur, dimana keduanya termasuk dalam polisakarida, sedangkan struktur molekul lignin sama sekali berbeda. Lignin adalah salah satu polimer alami yang memiliki kompleksitas yang tinggi baik menyangkut struktur maupun heterogenitasnya (seperti pada gambar 2.2)



Gambar 2.2 Contoh Skema Struktur Molekul Lignin

(www.bioquicknews.com/node/436)

Beberapa informasi dari literatur menyangkut lignin dapat diberikan sebagai berikut :

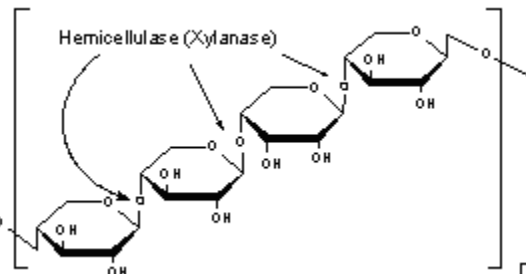
1. Lignin merupakan polimer amorf dengan berat molekul yang besar dan sulit untuk ditetapkan karena heterogenitas lignin yang sangat tinggi dan strukturnya kompleks.
2. Lignin terdiri dari senyawa aromatic yang tersusun atas unit fenilpropana. Sifat senyawa ini sangat stabil, sulit dipindahkan dan mempunyai bentuk yang bermacam-macam.
3. Lignin diproduksi melalui reaksi lignifikasi dalam dinding sel tumbuhan yang vital untuk penyatuan struktur dari tumbuhan, untuk pertahanan terhadap pathogen dan serangan dari bahan kimia. Dalam tumbuh-tumbuhan lignin merupakan produk akhir metabolisme. Hal ini menunjukkan bahwa lignin merupakan senyawa yang sangat stabil.
4. Dibandingkan dengan selulosa atau hemiselulosa, lignin dipecah amat lambat oleh jamur dan bakteri.

5. Lignin bersifat hidrofobik. Adanya lignin mengakibatkan sifat kaku dan ketahanan tarik pada serat.
6. Lignin dapat dioksidasi oleh larutan alkali dan bahan oksidator lain.
7. Lignin tahan terhadap proses hidrolisis oleh asam-asam mineral tetapi mudah larut dalam larutan sulfit dalam keadaan biasa.

Pada umumnya hemiselulosa diperkirakan terikat dengan lignin meskipun ada juga kemungkinan terjadinya ikatan antara selulosa dengan lignin.

II.3 Hemiselulosa

Hemiselulosa merupakan gabungan dari polimer-polimer dengan rantai relative pendek dan bercabang, yang terdiri dari monomer xylosa, arabinosa, glukosa, manosa dan galaktosa, dengan struktur amorf, seperti yang terlihat pada gambar 2.3 (Bailey dan Ollis, 1986). Selulosa berfungsi sebagai penguat pada batang tumbuhan, lignin berfungsi untuk melindungi selulosa dari aksi kimiawi maupun biologis sedangkan hemiselulosa pengikat selulosa dengan lignin (Lee, 1992). Meskipun dilindungi oleh lignin, selulosa dan hemiselulosa masih dapat dihidrolisis menjadi glukosa oleh mikroorganisma selulolitik seperti *Trichoderma viride* (Pelczar dan Chan, 1986) maupun *Aspergillus niger* (Aderemi dkk., 2008).



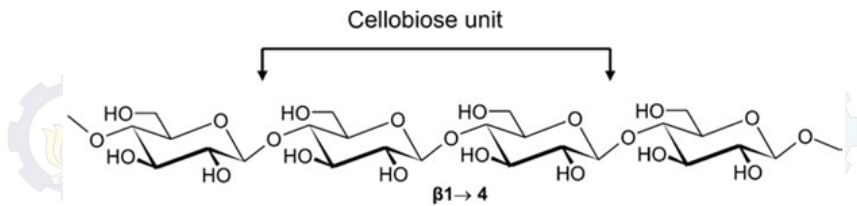
Gambar 2.3 Skema Struktur Molekul *Hemiselulosa*
(<http://blogs.princeton.edu>)

Secara struktural, hemiselulosa mempunyai sifat reaksi yang sama dengan selulosa tetapi komponen penyusun hemiselulosa berbeda dengan komponen penyusun selulosa. Beberapa karakteristik dari hemiselulosa yang membedakannya dari selulosa dapat dilihat sebagai berikut :

1. Hemiselulosa adalah heteropolisakarida, sedangkan selulosa adalah homopolisakarida.
2. Hemiselulosa relatif lebih mudah dihidrolisis oleh asam menjadi komponen-komponen monomernya yang terdiri dari D-glukosa, D-mannosa, D-galaktosa, D-xylosa, L-arabinosa, dan sejumlah kecil L-ramnosa disamping menjadi asam D-galakturonat dan asam 4-metil-D-glukoronat.
3. Hemiselulosa mempunyai derajat polimerisasi hanya 200.
4. Hemiselulosa akan mengalami reaksi oksidasi dan degradasi terlebih dahulu daripada selulosa, karena rantai molekul hemiselulosa lebih pendek dan bercabang.
5. Hemiselulosa tidak larut dalam air tetapi larut dalam larutan alkali encer dan lebih mudah dihidrolisa oleh asam daripada selulosa.

II.4 Selulosa

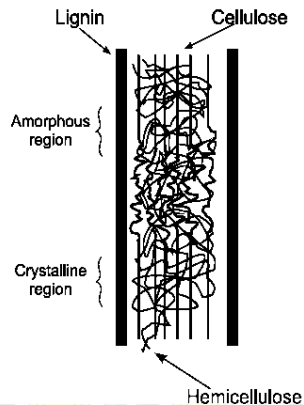
Selulosa adalah polimer linear yang merupakan komponen utama dalam dinding sel tumbuhan. Selulosa mempunyai rumus molekul $(C_6H_{10}O_5)_n$, dengan n adalah derajat polimerisasi. Panjang rangkaian molekul selulosa yang membentuk polimer ditentukan oleh jumlah unit glukosa yang terdapat dalam polimer tersebut, atau disebut sebagai *degree of polymerization* (DP). DP dari selulosa antara 500 – 25.000, tergantung dari jenis tumbuhan (Kuhad, et.al., 1997; Leschine, 1995).



Gambar 2.4 Skema Struktur Molekul Selulosa

(<http://www.namrata.co/category/diet-and-nutrition/theory-notes-diet-and-nutrition/>)

Semakin panjang suatu rangkaian selulosa, maka rangkaian selulosa tersebut mempunyai serat yang lebih kuat, lebih tahan terhadap pengaruh bahan kimia, cahaya dan mikroorganisme. Polimer selulosa terdiri dari β -1,4 D-glucose membentuk rantai panjang yang tidak larut (*microfibril*) yang dihubungkan bersama-sama oleh ikatan hidrogen dan *van der waals force*. *Microfibril* akan bergabung membentuk serat selulosa, seperti pada gambar 2.4. Selulosa secara alami berupa kristal yang dikelilingi oleh *amorphous* selulosa, hemiselulosa dan lignin (lignoselulosa). Karena strukturnya yang rigid, kristal selulosa akan sulit untuk diuraikan/didegradasi menjadi monosakarida.



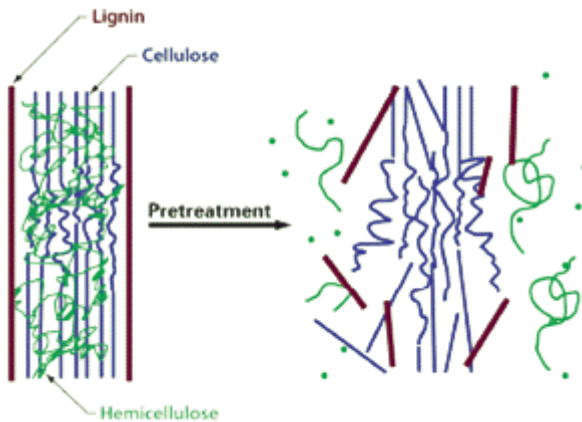
Gambar 2.5 Skema Struktur Lignoselulosa

(Bo Zhang and A.Shahbazi,2011)

Konversi *lignocellulosic* menjadi bahan baku bioenergi pada dasarnya terdiri dari 2 tahapan utama, yaitu (1) *pretreatment* untuk memecah/menguraikan lignin dan membuka struktur kristal selulosa (2) hidrolisa untuk memecah selulosa dan hemiselulosa menjadi glukosa. Penjelasan lengkapnya pada sub bab berikutnya.

II.5 Pretreatment Lignoselulosa

Kendala yang dihadapi dalam pengolahan *lignocellulosic material* menjadi bahan baku bioenergi adalah keberadaan lignin dan hemiselulosa serta struktur dari selulosa yang dapat menurunkan efisiensi hidrolisa. Oleh karena itu perlu dilakukan *pretreatment* sebelum proses hidrolisa.



Gambar 2.6 Skema *Pretreatment Lignocellulose*

(Mendel Biotechnology Inc., 2012)

Tujuan *pretreatment* adalah menguraikan lignin dan hemiselulosa, reduksi kristal selulosa dan meningkatkan porositas bahan. Pretreatment harus memenuhi beberapa persyaratan, diantaranya adalah meningkatkan pembentukan glukosa, meminimalkan degradasi karbohidrat, memperkecil pembentukan produk samping yang dapat menjadi inhibitor dalam proses selanjutnya dan membutuhkan biaya murah (Sun Cheng, 2002).

Pretreatment *lignocellulotic material* dapat dilakukan dengan beberapa metode, yaitu secara fisika (*physical pretreatment*), kimia-fisika (*physico-chemical pretreatment*), kimia (*chemical pretreatment*) dan biologis (*biological pretreatment*) (Sun Cheng, 2002).

II.6 Physico-Chemical Pretreatment

a) *Steam Explosion (autohydrolysis)*

Antara proses *physico-chemical*, penguapan baik menggunakan *explosion* ataupun tidak (autohidrolisis) telah mendapat perhatian besar dalam proses *pretreatment* baik dalam produksi ethanol maupun produksi biogas. *Pretreatment* ini bertujuan untuk menghilangkan sebagian besar hemiselulosa, sehingga meningkatkan proses enzimatik. Pada *steam explosion*, tekanan tiba-tiba berkurang dan membuat bahan menjadi dekomposisi eksplosif. Tekanan yang tinggi berakibat pada suhu tinggi, biasanya diantara 160 dan 260⁰C, selama beberapa detik (30 detik) hingga beberapa menit (kurang lebih 20 menit), ini yang digunakan pada *steam explosion*. Kenaikan suhu sampai di tingkat tertentu secara efektif dapat melepaskan gula hemiselulose. Namun, hilangnya gula akan terus meningkat dengan meningkatnya suhu dan mengakibatkan penurunan pada pembentukan gula total. *Steam explosion* dan pretreatment termal diselidiki secara luas untuk meningkatkan produksi biogas dari bahan khusus yang berbeda contohnya residual hutan dan limbah dari lumpur aktif, pupuk kandang ataupun limbah padatan kota. Penanganan khusus harus diambil dalam memilih kondisi *steam explosion* untuk menghindari degradasi berlebihan dari sifat fisik dan kimia selulosa. Dalam kondisi yang sangat kasar, pencernaan enzimatik lebih rendah dari lignoselulosa yang juga dapat diamati setelah *steam explosion*.

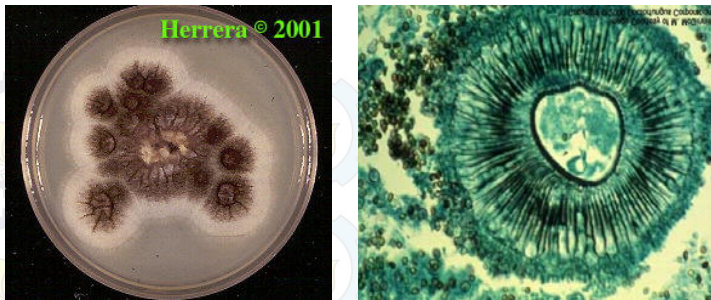
b) Steam Explosion dengan SO₂

Pretreatment bisa dilakukan dengan penambahan SO₂, sedangkan tujuan penambahan bahan kimia ini adalah untuk meningkatkan pembentukan fraksi antar hemiselulosa dan selulosa. Treatment ini bisa dilakukan dengan menggunakan 1-4% SO₂ (w/w *substrate*) pada temperature tinggi (160-230 °C), dengan waktu kurang lebih 10 menit. Mempelajari steam *pretreatment* dengan penambahan SO₂ atau H₂SO₄ dalam rangka untuk mendapatkan selulosa dan hemiselulosa. Hasil maksimum glukosa yang didapat 95% , ini diperoleh pada saat setelah proses treatment dengan 1% SO₂ pada suhu 200 °C.

II.7 Biological Treatment

Aspergillus niger

Aspergillus niger adalah jamur berfilamen yang membentuk koloni dan terdiri atas felt putih atau kuning diselimuti oleh spora jamur yang dihasilkan secara asexual yang berwarna gelap. *Aspergillus niger* adalah mikroorganisme yang sangat penting pada bidang biologi. Jamur ini umumnya ditemukan pada lingkungan mesofilik seperti tumbuhan yang membusuk atau tanah. *Aspergillus niger* tidak hanya jamur xerofilik (jamur yang tidak memerlukan air bebas untuk tumbuh, dan dapat tumbuh pada lingkungan yang lembab), tetapi juga merupakan organisme *thermotolerant* (dapat tumbuh pada temperatur tinggi). Karena sifat ini, jamur befilamen memiliki toleransi yang tinggi terhadap suhu pembekuan.



Gambar 2.7 *Aspergillus niger*

([www.wikipedia/334.Aspergillus niger.com](http://www.wikipedia/334.Aspergillus_niger.com))

Aspergillus niger merupakan salah satu spesies yang paling umum dan mudah diidentifikasi dari genus *Aspergillus*, famili *Moniliaceae*, ordo *Moniliales* dan kelas *Fungi imperfecti*. *Aspergillus niger* dapat tumbuh dengan cepat, diantaranya digunakan secara komersial dalam produksi asam sitrat, asam glukonat dan pembuatan berupa enzim seperti amilase, pektinase, amiloglukosidase dan selulase. *Aspergillus niger* dapat tumbuh pada suhu 35°C - 37°C (optimum), 6°C-8°C (minimum), 45°C-47°C (maksimum) dan memerlukan oksigen yang cukup (aerobik). *Aspergillus niger* memiliki bulu dasar berwarna putih atau kuning dengan lapisan konidiospora tebal berwarna coklat gelap sampai hitam. Kepala konidia berwarna hitam, bulat, cenderung memisah menjadi bagian-bagian yang lebih longgar dengan bertambahnya umur. Konidiospora memiliki dinding yang halus, hialin berwarna coklat.

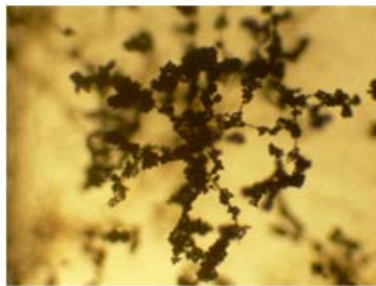
Bahan organik dengan kandungan nitrogen tinggi dapat di dekomposisi lebih cepat dari pada bahan organik yang rendah kandungan nitrogennya pada tahap awal dekomposisi. Tahap selanjutnya bahan organik yang rendah kandungan nitrogennya dapat di dekomposisi lebih cepat daripada bahan organik dengan kandungan nitrogen tinggi. Penurunan bahan organik sebagai sumber karbon dan nitrogen disebabkan oleh *Aspergillus niger* yang menggunakannya sebagai sumber energinya dan untuk bahan penunjang pertumbuhannya atau *Growth factor*. Pada penelitian yang dilakukan oleh Aderemi *et al.* mengenai kinetika

produksi glukosa dari beberapa bahan baku oleh *Aspergillus niger* diperoleh suhu operasi dan pH yang optimum 45 - 50°C dan pH 4 - 5. (Acharya *et al.*, 2008).

Trichoderma Viride

Klasifikasi kapang *Trichoderma viride* menurut Alexopoulos dan Mims (1979) adalah sebagai berikut ini :

- Kingdom Fungi
- Divisio Amastigomycota
- Subdivisio Deuteromycotina
- Classis Deuteromycetes
- Ordo Moniliales
- Family Moniliaceae
- Genus *Trichoderma*
- Species *Trichoderma viride*



Gambar 2.8 *Trichoderma Viride*

(http://en.wikipedia.org/wiki/Trichoderma_viride)

Koloni dari kapang *Trichoderma* berwarna putih, kuning, hijau muda, dan hijau tua (Alexopoulos and Mims, 1979). Dijelaskan lebih lanjut bahwa kultur jamur *Tichoderma viride* pada skala laboratorium berwarna hijau, hal ini disebabkan oleh adanya kumpulan konidia pada ujung hifa kapang tersebut (Pelczar dan Reid, 1974). Susunan sel jamur *Trichoderma* bersel banyak berderet membentuk benang halus yang disebut dengan hifa. Hifa pada jamur ini berbentuk pipih, bersekat, dan bercabang-cabang membentuk anyaman yang disebut miselium.

Miseliumnya dapat tumbuh dengan cepat dan dapat memproduksi berjuta-juta spora, karena sifatnya inilah *Trichoderma* dikatakan memiliki daya kompetitif yang tinggi (Alexopoulos and Mims, 1979). Dalam pertumbuhannya, bagian permukaan akan terlihat putih bersih, dan bermiselium kusam. Setelah dewasa, miselium memiliki warna hijau kekuningan (Larry, 1977).

Trichoderma viride adalah salah satu jenis jamur yang bersifat selulolitik karena dapat menghasilkan selulase. Menurut Judoamidjojo, dkk. (1989), menyatakan bahwa banyak jamur yang bersifat selulolitik tetapi tidak banyak yang menghasilkan enzim selulase yang cukup banyak untuk dapat dipakai secara langsung tanpa sel bagi usaha dalam skala besar. Jamur selulolitik yang cukup baik memproduksi enzim selulolitik adalah *Trichoderma viride* (Pelczar dan Chan, 1986). Menurut Wood (1985), *Trichoderma viride* yaitu mikroorganisme yang mampu menghancurkan selulosa tingkat tinggi dan memiliki kemampuan mensintesis beberapa faktor esensial untuk melarutkan bagian selulosa yang terikat kuat dengan ikatan hidrogen. Menurut Mandels (1982), *Trichoderma viride* merupakan jamur yang potensial memproduksi selulase dalam jumlah yang relatif banyak untuk mendegradasi selulosa. *Trichoderma viride* dan *Trichoderma reesei* merupakan kelompok jamur tanah sebagai penghasil selulase yang paling efisien (Davidek *et al.*, 1990). Enzim selulase yang dihasilkan *Trichoderma viride* mempunyai kemampuan dapat memecah selulosa menjadi glukosa (Mandels *et al.*, 1976). Menurut Enari (1983), suhu optimal untuk pertumbuhan jamur ini adalah 32 – 35°C dan pH optimal sekitar 4,0.

II.8 Peneliti Terdahulu

Tabel 2.2 Peneliti Terdahulu

No	Peneliti	Nama Jurnal, tahun, Judul penelitian	Hasil
1	Moumita Karmakar, Rina Rani Ray	Annals of Biological Research, Scholars Research Library, 2011, "Saccharification of Agro Wastes by The Endoglucanase of <i>Rhizopus Oryzae</i> "	Kadar glukosa tempurung kelapa hasil sakarifikasi paling rendah untuk pretreatment dengan <i>distilled water</i> , namun kadar glukosanya meningkat dengan <i>alkali</i> dan <i>acid pretreatment</i> .
2	Johanna S'oderstr'om, Linda Pilcher, Mats Galbe, Guido Zacchi	Biomass and Bioenergy, "Two step pretreatment of softwood by dilute H ₂ SO ₄ impregnation for ethanol production", 2002	Terdapat 2 langkah yg dilakukan untuk pretreatment pada softwood, yaitu melakukan pretreatment selama 10 menit pada tekanan 2 bar. Untuk mengoptimalkan jumlah hemiselulosa yang terhidrolisa.
3.	Gema Arias, Elsa Astriana	Skripsi Laboratorium Pengolahan Limbah Industri, Jurusan Teknik Kimia ITS, 2011, "Variasi Kondisi Operasi Steam Pretreatment Sawdust (Serbuk Kayu) Sebagai Bahan Baku Produksi Glukosa"	Kondisi terbaik untuk <i>steam-pretreatment</i> adalah pada suhu 210°C selama 5 menit dengan penambahan 2% H ₂ SO ₄ .

4.	Johannes H. Y, Bagus Okti A.	Skripsi Laboratorium Pengolahan Limbah Industri, Jurusan Teknik Kimia ITS, 2010, "Pembuatan Bioethanol dari Tandan Kosong Kelapa Sawit melalui Proses Fungal Treatment oleh Kombinasi <i>T. harzianum</i> , <i>T. viride</i> , dan <i>A. niger</i> dilanjutkan Proses Fermentasi oleh <i>Z. mobilis</i> "	Konsentrasi terbaik campuran mikroba terhadap feed sebesar 20% (v/v).
----	------------------------------	---	---



(HALAMAN INI SENGAJA DIKOSONGKAN)

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan secara *batch* di Laboratorium Pengolahan Limbah Industri, Jurusan Teknik Kimia, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya, dengan menggunakan tempurung kelapa. Sedangkan biakan murni *Aspergillus Niger* dan *Trichoderma Viride* yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Universitas Brawijaya Malang dan Laboratorium Mikologi Jurusan Biologi Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya

III.1. Variabel Penelitian dan Kondisi Operasi

III.1.1. Kondisi Operasi

- *Pre-steam Treatment* dan *Steam Treatment*
 - Massa Tempurung Kelapa : 50 gram
 - Lama *Pre-Steam Treatment* : 10 menit
 - Tekanan *Pre-Steam Treatment* : 2 Bar
 - Lama *Steam Treatment* : 5 menit
 - Temperatur *Steam Treatment* : 210°C
- *Biological Treatment* dengan menggunakan *Aspergillus niger* dan *Trichoderma viride* pada temperatur 28 - 30°C (suhu ruang), dan campuran mikroba terhadap feed = 20% (v/v).

III.1.2. Variabel

- Rasio pencampuran *A.niger* & *T.viride* = 0:1, 2:1, 3:1, 1:0, 1:2, 1:3 (v/v).

III.2. Parameter yang dianalisa

III.2.1. Analisa pendahuluan Tempurung Kelapa

Kadar Selulosa, Hemiselulosa, dan Lignin.

III.2.2. Analisa Parameter Penelitian

- Kadar Selulosa, Hemiselulosa, dan Lignin, sebelum *pre-steam treatment* dan setelah *steam-treatment*.

- Kadar Glukosa setelah *steam-treatment* dan setelah *biological treatment*.

III.3. Bahan-bahan Penelitian

1. Tempurung kelapa
2. H_2SO_4
3. *Tricoderma Viride*
4. *Aspergillus Niger*
5. Agar batang
6. PDA
7. Kentang
8. Glukosa
9. *Aquadest*
10. Reagen DNS

III.4. Alat yang digunakan

1. Reaktor Pre-Treatment
2. Kawat kasa
3. Erlenmeyer (Duran)
4. *Hot Plate & Stirrer*
5. *Analytical balance* (Ohaus)
6. Tabung Reaksi + rak kayu
7. Gelas Ukur (Pyrex)
8. Corong Kaca
9. Pipet Ukur (Pyrex)
10. Kertas Saring
11. Beaker Glass (Pyrex)
12. Labu Takar (Pyrex)
13. Oven
14. Karet Penghisap
15. Incase
16. Centrifuge
17. Furnace
18. Autoclave
19. Inkubator
20. Spektrofotometer

III.5 Prosedur Penelitian

III.5.1. Analisa kandungan Tempurung Kelapa

- Melakukan analisa kadar selulosa, hemiselulosa, lignin dalam tempurung kelapa.

III.5.2. Persiapan Bahan Baku

- Menumbuk tempurung kelapa sampai berukuran 10 - 16 mesh.
- Kemudian tempurung kelapa yang berukuran 10 – 16 mesh dioven pada suhu 105°C agar didapatkan berat keringnya.
- Menimbang tempurung kelapa yang sudah dioven sebanyak ± 50 gram.
- Membuat wadah tempurung kelapa, terbuat dari kertas saring dan kawat kassa
- Memasukkan tempurung kelapa yang sudah ditimbang kedalam wadah tempurung kelapa.

III.5.3. Pre Steam Treatment

- Mengisi reaktor dengan aquades sebanyak 600 ml.
- Memasukkan tempurung kelapa kedalam reaktor dengan posisi menggantung.
- Menutup reaktor dengan rapat.
- Menyalakan *electric heater*.
- Menunggu hingga tekanan naik menjadi 2 bar.
- Menjaga tekanan pada 2 bar selama 10 menit.
- Jika tekanan tetap naik, valve dibuka secara perlahan agar tekanan didalam reaktor turun.
- Setelah 10 menit, kemudian mematikan *electric heater* dan mengeluarkan tempurung kelapa dari dalam reaktor.
- Setelah tempurung kelapa dingin, lalu mencampurkan tempurung kelapa dengan larutan 2% H_2SO_4 , kemudian didiamkan selama kurang lebih 3 jam agar larutan merata.

III.5.4. Steam Treatment

- Tempurung kelapa yang tadinya telah disimpan selama kurang lebih 3 jam kemudian dimasukkan lagi kedalam reaktor yang telah diisi dengan aquadest sebanyak 800 ml dan dipanaskan sampai suhu 210°C.
- Steam treatment dilakukan selama 5 menit.
- Menjaga suhu di dalam reaktor dilakukan dengan cara mematikan heater ketika suhu sudah berada pada variabel dan jika kenaikan suhu cukup tinggi bisa diturunkan dengan membuka valve pembuangan steam
- Steam treatment dilakukan selama 5 menit.
- Selesai steam treatment, kemudian mengeluarkan wadah tempurung kelapa dari dalam reaktor, lalu wadah dibuka dan memasukkan tempurung kelapa ke dalam oven.
- Setelah dioven, kemudian tempurung kelapa ditimbang beratnya.
- Air sisa steam treatment di ambil untuk dianalisa glukosa yang ada. Sedangkan tempurung kelapa yang telah di oven tadi diambil 1 gr lalu di analisa selulosa, hemiselulosa dan ligninnya.

III.5.5. Biological Treatment

III.5.5.1 Tahap persiapan

- Membuat larutan PDA. Kemudian menuangkan larutan PDA kedalam tabung reaksi dan mensterilkannya dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.
- Setelah 15 menit, PDA yang telah disterilkan kemudian dimiringkan dan dibiarkan hingga menjadi padat.
- Setelah PDA padat, lalu menginokulasikan *A.niger* dan *T.viride* pada media PDA dan menginkubasikannya pada suhu 30°C selama ± 7 hari.

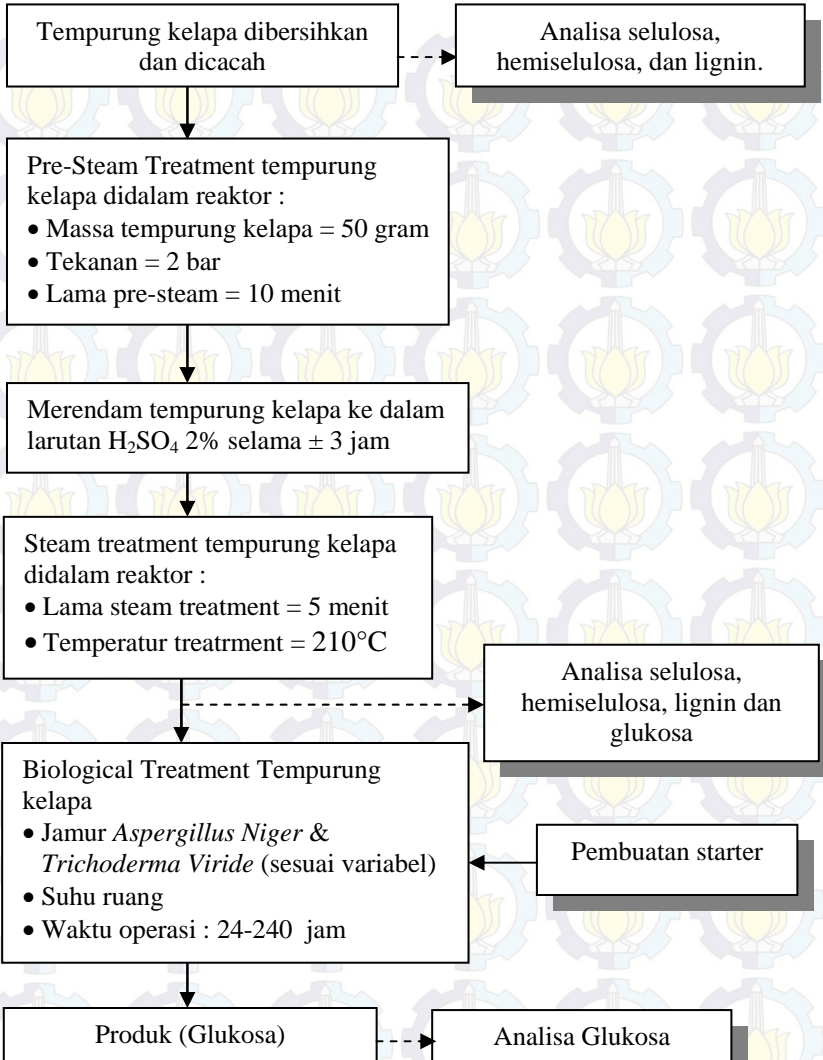
III.5.5.2 Tahap produksi glukosa

- Membuat media nutrisi untuk *A.niger* dan *T.viride* masing-masing sebanyak 500 ml. Media nutrisi terbuat

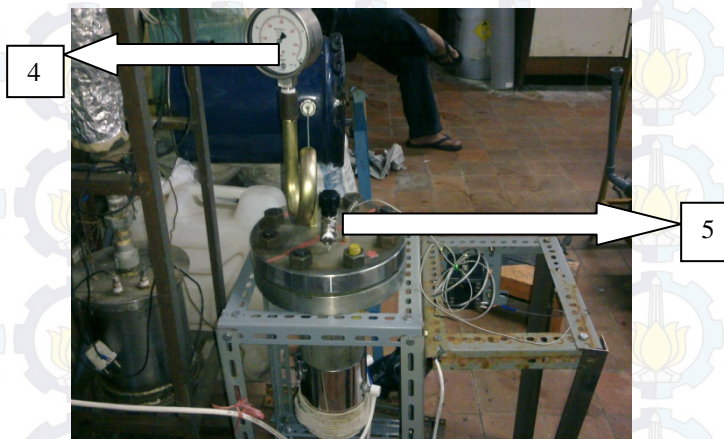
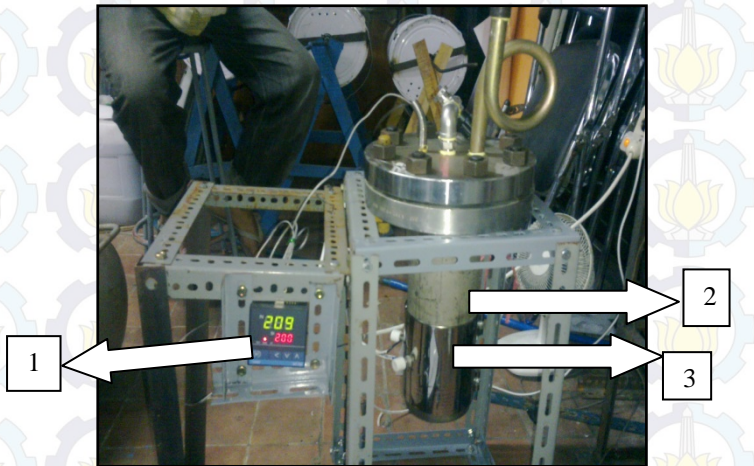
dari glukosa, kentang, dan aquadest yang dimasak pada suhu 100°C.

- Setelah media nutrisi dingin, kemudian menginokulasikan *A.niger* dan *T.viride* pada masing-masing media nutrisi, dan menginkubasikannya. *A.niger* dan *T.viride* yang digunakan untuk proses ini sebanyak $4,5 \times 10^6$ spora/ml dan $4,5 \times 10^7$ spora/ml, yang diperoleh pada *phase log* kurva pertumbuhan mikroba.
- Setelah diinkubasi selama 24 jam, kemudian mencampurkan *A.niger* dan *T.viride* pada tempurung kelapa hasil dari steam treatment (sebanyak 3 gram) sesuai dengan variabel.
- Substrat dan campuran fungi diaduk dengan cara mengocok perlahan wadah biological treatment. Melakukan analisa glukosa setelah 24 – 240 jam (setiap 24 jam), sampai jumlah glukosa konstan.

III.6. Prosedur Kerja



III.7. Gambar Alat



Keterangan alat :

1. Indikator Temperatur
2. Reaktor
3. Band Heater
4. Pressure gauge
5. Valve

III.8. Prosedur Analisa

III.8.1. Prosedur Analisa Kadar Lignin, Selulosa dan Hemiselulosa Menggunakan Metode Chesson (Datta, 1981)

1. 1 gr sampel kering (berat a) ditambahkan 150 ml H₂O dan direflux pada suhu 100°C dengan *hot plate* selama 2 jam.
2. Hasilnya disaring, residu dicuci dengan aquadest ±300 ml.
3. Residu kemudian dipanaskan dengan oven pada suhu 105°C sampai beratnya konstan dan ditimbang (berat b).
4. Residu ditambahkan 150 ml H₂SO₄ 1N, kemudian direflux dengan *hot plate* selama 2 jam pada suhu 100°C.
5. Hasilnya disaring dan dicuci dengan aquadest sampai netral (±300 ml).
6. Residu kemudian dipanaskan dengan oven pada suhu 105°C sampai beratnya konstan dan ditimbang (berat c).
7. Residu kering ditambahkan 10 ml H₂SO₄ 72% dan direndam pada suhu kamar selama 4 jam.
8. Setelah direndam selama 4 jam, kemudian ditambahkan 150 ml H₂SO₄ 1N dan direflux pada suhu 100°C dengan *hot plate* selama 2 jam.
9. Residu kemudian disaring dan dicuci dengan aquadest sampai netral (±400 ml).
10. Residu kemudian dipanaskan dengan oven pada suhu 105°C sampai beratnya konstan dan ditimbang (berat d).
11. Selanjutnya residu diabukan dan ditimbang (berat e).

Perhitungan kadar Lignin, Hemiselulosa, dan Selulosa menggunakan rumus berikut ini :

$$\text{Kadar Lignin} = (d-e)/a \times 100\%$$

$$\text{Kadar Hemiselulosa} = (b-c)/a \times 100\%$$

$$\text{Kadar Selulosa} = (c-d)/a \times 100\%$$

III.8.2. Tahap Analisa Kadar Glukosa

Dalam pemilihan metode analisa glukosa terdapat beberapa cara, yaitu:

1. Metode Spektofotometri (Metode DNS)

Metode DNS adalah metode yang digunakan untuk tes keberadaan gugus karbonil bebas (C=O), yang dikenal dengan gula pereduksi metode ini melibatkan proses oksidasi dari gugus fungsional aldehid yang ada. Proses itu akan menghasilkan warna pada larutan, tiap gula reduksi, memiliki intensitas warna yang berbeda, sehingga diperlukan kalibrasi terlebih dahulu dalam ketika akan melakukan analisa. Keuntungan dari metode ini adalah keakuratan dalam pembacaan gula pereduksi sehingga error yang dihasilkan kecil. (Miller, G. Lorenz. 1959)

2. Metode Refraktometer (Kadar Brix)

Refraktometer brix menyediakan kemudahan dan kecepatan dalam menganalisa kandungan gula, namun hal itu sebenarnya merupakan hasil perhitungan dari semua larutan yang terkandung didalamnya, bukan hanya kadar gula saja. Dimana penggunaan °Brix adalah bukan pengukuran kadar gula terfermentasi yang sebenarnya. Sehingga meskipun hasil analisa bisa langsung cepat diketahui, penggunaan refraktometer ini memiliki error yang cukup tinggi yang dapat menyebabkan kurang validnya data yang didapat mengenai kadar glukosa yang dianalisa. (www.etslab.com)

3. Metode analisa Luff Schrool (Kadar Gula Reduksi)

Merupakan metode analisa kadar gula reduksi secara titrasi, yang berdasarkan ion alkali dalam reduksi copper(III) dari gula.

III.8.2.1 Prosedur Analisa Kadar Glukosa Secara Spektrofotometri (Metode DNS)

A. Prosedur Pembuatan Larutan Standar Glukosa

1. Membuat larutan persediaan dengan cara mencampurkan 0,9 g glukosa dalam 100 mL aquadest.
2. Membuat larutan standar glukosa dengan mengencerkan larutan persediaan (1) dengan pengenceran 1 : 1 (tanpa pengenceran), 1 : 2, 1 : 3, 1 : 4 dan 1 : 5.

B. Prosedur Pembuatan Larutan DNS

1. Melarutkan 16 g NaOH dalam 200 mL aquades, kemudian ditambahkan 10 g larutan DNS dan diaduk menggunakan stirrer sampai benar-benar larut.
2. Melarutkan 30 g NaK-tartrat dan 8 g Na-metabisulfit kedalam 500 ml aquadest.
3. Mencampurkan larutan (1) dengan (2) dan ditambahkan aquades sampai 1000 mL.

C. Prosedur Pembuatan Kurva Standar Glukosa

1. Mencampurkan 2 mL larutan persediaan yang mengandung glukosa dengan 3 mL larutan DNS.
2. Memanaskan campuran dalam air mendidih selama 15 menit.
3. Mendinginkan campuran (2) menggunakan es atau air mengalir.
4. Mengulangi langkah (1) – (3) untuk konsentrasi larutan glukosa berbeda.
5. Mengukur dan mencatat absorbansi pada spektrophotometer dengan panjang gelombang 540 nm.
6. Membuat grafik dengan memplot antara kadar glukosa sebagai gula reduksi dengan absorbansi.

D. Prosedur Pembuatan Larutan Blanko

1. Mencampurkan 2 mL aquades dengan 3 mL larutan DNS.
2. Memanaskan campuran dalam air mendidih selama 5 menit.
3. Mendinginkan campuran (2) menggunakan es atau air mengalir.

E. Prosedur Analisa Sampel

1. Mencampurkan larutan sampel yang telah diencerkan 50 kali menggunakan aquades dengan 3 mL larutan DNS.
2. Memanaskan campuran dalam air mendidih selama 15 menit.
3. Mendinginkan campuran (2) menggunakan es atau air mengalir.
4. Mengulangi langkah (1) – (3) untuk sampel yang berbeda.
5. Mengukur dan mencatat absorbansi pada spektrophotometer dengan panjang gelombang 540 nm.
6. Mensubstitusi absorbansi yang diperoleh dengan persamaan dari kurva standar glukosa.
7. Didapat kadar glukosa dalam air sampel.



BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan kondisi terbaik pada kinerja campuran *Aspergillus niger* dan *Trichoderma viride* pada produksi bahan organik (glukosa) serta degradasi selulosa dan hemiselulosa dari hasil proses *steam treatment* untuk berbagai variabel percobaan.

Hasil analisa komposisi awal dari tempurung kelapa yang digunakan sebagai bahan baku penelitian ini ditunjukkan pada tabel 4.1

Tabel 4.1 Komposisi Tempurung Kelapa

Komponen	% berat
Lignin	33,962
Selulosa	32,193
Hemiselulosa	20,872
<i>Hot Water Soluble Content</i>	12,774
<i>Ash</i>	0,2

Komposisi ini merupakan komposisi awal dari tempurung kelapa sebelum dilakukan pre-steam treatment. Cara perhitungan, data hasil analisa dan perhitungan disajikan dalam lampiran.

IV.1 Pre-steam treatment

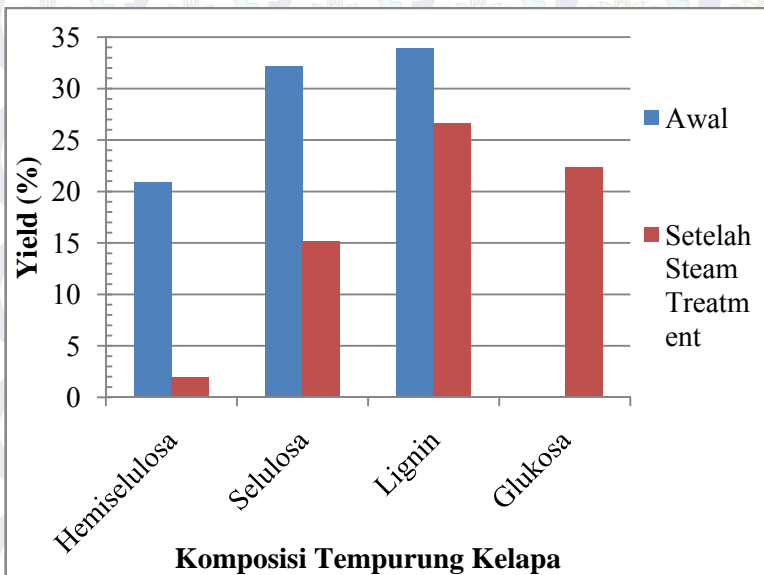
Pada proses pre-steam treatment, tempurung kelapa awalnya ditumbuk sampai ukuran sebesar 10-16 mesh kemudian ditimbang dan dimasukkan ke dalam kawat kasa yang telah dilapisi dengan kertas saring. Hal ini dilakukan untuk menghindari jatuhnya tempurung kelapa ke dalam reaktor.

Sebelum dilakukan proses steam treatment maka dilakukan proses pre-steam treatment. Proses ini dilakukan dengan mengkontakkan sampel dengan steam yang bertekanan 2 bar

selama kurang lebih 10 menit, yang bertujuan untuk mengkondisikan sampel agar pada proses steam treatment terjadi pengurangan Lignin, Hemiselulosa dan Selulosa yang lebih sempurna.

IV.2 Steam Treatment

Setelah proses pre-steam treatment, tempurung kelapa lalu direndam dengan larutan H_2SO_4 2% selama 3 jam. Setelah 3 jam, tempurung kelapa disaring dan dilanjutkan ke proses steam treatment. Penurunan kadar lignin, selulosa dan hemiselulosa selama proses steam treatment dapat dilihat pada gambar 4.1



Gambar 4.1 Yield lignin, selulosa, hemiselulosa dan glukosa pada proses steam treatment

Dari gambar 4.1 yang menunjukkan pengaruh proses steam treatment terhadap degradasi lignin, pengurangan ini terjadi karena lapisan lignin berkontak langsung dengan asam dan steam

bertekanan tinggi. Kadar lignin tersebut berkurang dari analisa komposisi awal yang ditunjukkan pada tabel 4.1 sebesar 33.962% menjadi 26.636% berat tempurung kelapa. Pengaruh steam treatment terhadap pengurangan lignin sangat sedikit, ini disebabkan karena lignin memiliki derajat polimerisasi yang tinggi

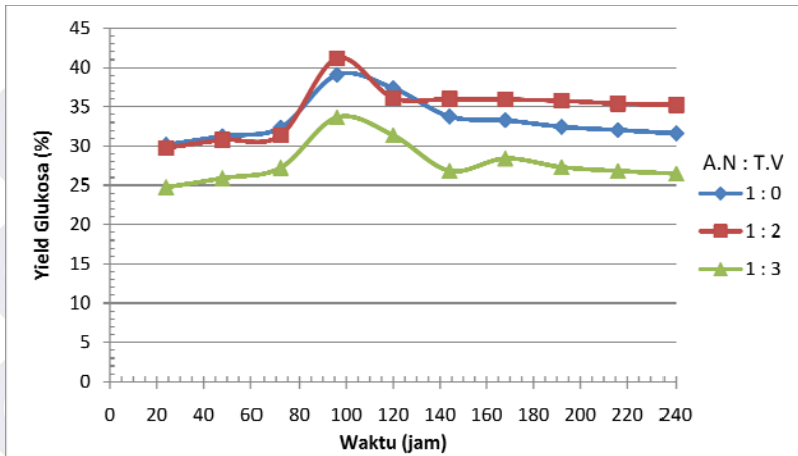
Dari gambar 4.1 juga ditunjukkan pengaruh proses steam treatment terhadap degradasi hemiselulosa, pengurangan ini terjadi karena adanya proses autohidrolisis antara hemiselulosa dengan steam. Pada proses autohidrolisis ini hemiselulosa terurai menjadi glukosa. Kadar hemiselulosa tersebut berkurang dari analisa komposisi awal yang ditunjukkan pada tabel 4.1 sebesar 20.872% menjadi hanya 1.960% berat tempurung kelapa.

Gambar 4.1 juga menunjukkan pengaruh proses steam treatment terhadap degradasi selulosa. Pengaruh steam treatment terhadap selulosa lebih sedikit dibandingkan dengan degradasi hemiselulosa, ini dikarenakan adanya ikatan hidrogen yang sangat kuat disetiap rantainya. Kadar selulosa berkurang menjadi sebesar 15.227% setelah steam treatment ini dari kadar awalnya sebesar 32.193% berat tempurung kelapa.

Pada steam treatment didapat yield glukosa sebesar 14 g/L (22.36%). Yield glukosa yang dihasilkan cukup kecil karena merupakan hasil dari autohidrolisis yang ditunjukkan dengan berkurangnya kadar hemiselulosa dan selulosa.

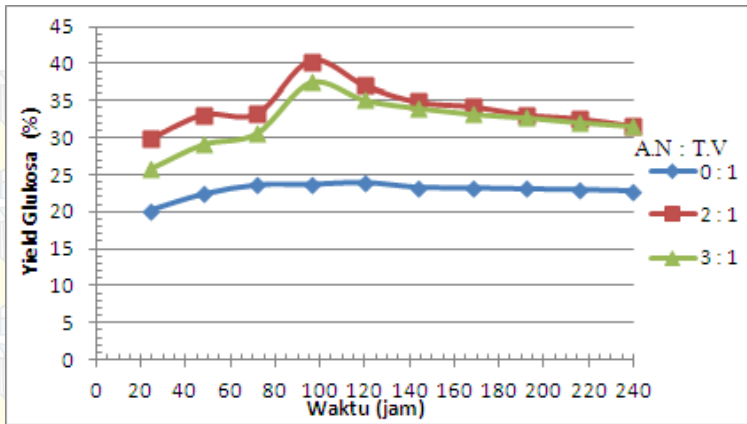
IV.3 Biological Treatment

Produksi glukosa adalah dengan cara menginokulasikan masing-masing *Aspergillus niger* dan *Trichoderma viride* dari media nutrisi ke dalam erlenmeyer yang berisi substrat (tempurung kelapa hasil steam treatment). Tempurung kelapa berfungsi sebagai sumber karbon dan substrat yang merangsang aktifitas dan produksi enzim, sedangkan media nutrisi merupakan medium nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan jamur. Produksi glukosa dapat dilihat dalam gambar 4.2, 4.3, dan 4.4 berikut ini.



Gambar 4.2 Yield glukosa yang dihasilkan dalam biological treatment untuk variabel *A.niger* tetap

Dari gambar 4.2 didapatkan produksi glukosa paling besar ada pada variabel *Aspergillus niger* : *Trichoderma viride* = 1:2. Dimana produksi glukosa tertinggi diadapat pada saat hari ke-3 atau 96 jam. Sedangkan produksi glukosa paling sedikit terdapat pada variabel 1:3.



Gambar 4.3 Yield glukosa yang dihasilkan dalam biological treatment untuk variabel *T.viride* tetap

Pada gambar 4.3 produksi glukosa paling besar terdapat pada variabel 2:1 dan hasil produksi glukosa paling tinggi dicapai pada hari ke-3 atau 96 jam. Sedangkan produksi glukosa paling sedikit terdapat pada variabel 0:1 dimana hanya *Trichoderma viride* sebagai variabelnya.

Dari gambar 4.2 dan gambar 4.3 diperoleh variabel *Aspergillus niger* : *Trichoderma viride* = 1:2 merupakan rasio campuran terbaik dibandingkan rasio campuran 2:1. Pada hari ke-3 atau 96 jam rasio campuran 1:2 memproduksi glukosa sebesar 41,2% sedangkan rasio campuran 2:1 hanya memproduksi glukosa sebesar 40,35%.

Hal ini terjadi karena *Trichoderma viride* merupakan penghasil enzim selulolitik yang sangat efisien, terutama enzim yang mampu menghidrolisis kristal selulosa. *Trichoderma viride* juga tidak dapat mendegradasi lignin, dan menghasilkan β -glukosidase dalam level yang rendah. *Trichoderma viride* menghasilkan selobiohidrolase yang merupakan enzim yang mempunyai afinitas terhadap selulosa tingkat tinggi yang mampu memecah selulosa kristal. Dan juga menghasilkan endoglukonase

yang bekerja pada selulosa amorf. Selobiohidrolase memecah selulosa melalui pemotongan ikatan hidrogen yang menyebabkan rantai-rantai glukosa mudah untuk dihidrolisis lebih lanjut. Hidrolisa selanjutnya berlangsung sehingga diperoleh selobiosa dan akhirnya glukosa dilakukan oleh enzim β -glukosidase.

Sedangkan *Aspergillus niger* merupakan jamur yang dapat menghasilkan β -glukosidase yang efektif sehingga akan mengubah selobiosa dan menghasilkan produk glukosa yang besar. Dari beberapa penelitian menyebutkan bahwa *Aspergillus niger* dapat mendegradasi lignin meski tidak efektif. Dengan penambahan *Aspergillus niger* yang cukup banyak akan menurunkan konsentrasi glukosa dikarenakan selobiosa yang dihasilkan sangat sedikit sehingga glukosa yang akan dihasilkan akan sedikit.

Setelah 10 hari dilakukan biological treatment kemudian dicoba dilakukan analisa pada substrat tempurung kelapa dan didapatkan penurunan kadar hemiselulosa dan selulosa masing-masing menjadi 0,64% dan 10,07% berat massa substrat tempurung kelapa pada rasio campuran 1:2. Hal ini disebabkan oleh *Trichoderma viride* yang telah menguraikan selulosa dan hemiselulosa menjadi selobiosa yang kemudian dilanjutkan oleh *Aspergillus niger* sehingga menjadi glukosa.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 KESIMPULAN

1. Tempurung kelapa dapat dijadikan sebagai bahan baku produksi glukosa
2. Didapatkan kadar glukosa setelah di *Steam Treatment* sebesar 22,36%.
3. *Steam Treatment* dapat mendegradasi Lignin sebesar 7,326% (kadar lignin menjadi 26,636%), Hemiselulosa sebesar 18,912% (kadar hemiselulosa menjadi 1,960%), dan juga Selulosa sebesar 16,966% (kadar selulosa menjadi 15,227%) pada kondisi 210°C selama 5 menit dengan *physical treatment* 2% H₂SO₄ (v/v)
4. Yield glukosa terbaik diperoleh setelah *Biological Treatment* yaitu sebesar 41,2% dengan menggunakan perbandingan *A.niger* dan *T.viride* 1:2 (v/v) dan 40,349% dengan menggunakan perbandingan *A.niger* dan *T.viride* 2:1 (v/v).

V.2 SARAN

Penelitian ini bisa dilanjutkan untuk melihat pengaruh *A.niger* : *T.viride* pada rasio 1:1 pada produksi glukosa.



APPENDIKS A CARA PERHITUNGAN

Analisa Hemiselulosa, Lignin dan Selulosa pada *Pre-steam* dan *Steam Treatment*

I.1. Perhitungan Kadar Hemiselulosa Metode Chesson

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

Keterangan:

- (a) = Berat sampel, gram
- (b) = Berat sampel yang telah di reflux dengan menggunakan 150ml H₂O (reflux ke-1), gram.
- (c) = Berat sampel yang telah di reflux dengan menggunakan 150ml H₂SO₄ 1N (reflux ke-2), gram.

Contoh Perhitungan:

- (a) = 1,0344 gram
- (b) = 0,9017 gram
- (c) = 0,6858 gram

$$\text{Kadar Hemiselulosa} = \frac{0,9017 - 0,6858}{1,0344} \times 100 \% = 20,872 \%$$

I.2. Perhitungan Selulosa Metode Chesson

$$\text{Kadar Selulosa} = \frac{(c)-(d)}{(a)} \times 100\%$$

Keterangan:

- (a) = Berat sampel
- (c) = Berat sampel yang telah di reflux dengan menggunakan 150 ml H₂SO₄ 1N (reflux ke-2), gram.
- (d) = Berat sampel yang telah di rendam dengan H₂SO₄ 72% dan di reflux menggunakan 150 ml H₂SO₄ 1 N (reflux ke-3), gram.

Contoh Perhitungan:

$$(a) = 1,0344 \text{ gram}$$

$$(c) = 0,6858 \text{ gram}$$

$$(d) = 0,3528 \text{ gram}$$

$$\text{Kadar Selulosa} = \frac{0,6858 - 0,3528}{1,0344} \times 100 \% = 32,1925 \%$$

I.3. Perhitungan Lignin Metode Chesson

$$\text{Kadar Lignin} = \frac{(d)-(e)}{(a)} \times 100\%$$

Keterangan:

(a) = Berat sampel, gram.

(d) = Berat sampel yang telah di rendam dengan H₂SO₄ 72% dan di reflux menggunakan 150 ml H₂SO₄ 1 N (reflux ke-3), gram.

(e) = Berat sampel yang telah di furnace, gram.

Contoh Perhitungan:

$$(a) = 1,0344 \text{ gram}$$

$$(d) = 0,3528 \text{ gram}$$

$$(e) = 0,0015 \text{ gram}$$

$$\text{Kadar Lignin} = \frac{0,3528 - 0,0015}{1,0344} \times 100 \% = 33,9617 \%$$

I.4. Perhitungan Yield Selulosa, Hemiselulosa, dan Lignin Setelah *Steam Treatment*

Yield selulosa dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$\text{Yield selulosa} = \frac{S_1}{S_0} \times 100 \%$$

Keterangan :

S₀ = massa total sebelum steam treatment, gram

S₁ = massa selulosa sesudah steam treatment, gram
= kadar selulosa sesudah steam treatment (%) * massa total sesudah steam treatment

Contoh Perhitungan:

$$S_0 = 50,09$$

$$S_1 = 26,764/100 \times 28,4987 = 7,6274$$

$$\text{Yield selulosa} = \frac{7,6274}{50,09} \times 100 \% = 15,2274 \%$$

Untuk perhitungan yield hemiselulosa dan lignin, cara perhitungannya sama dengan perhitungan yield selulosa, dengan :
 S_1 = massa hemiselulosa atau lignin setelah steam treatment

I.5. Perhitungan Persen Massa Glukosa Setelah *Steam Treatment*

Massa tempurung kelapa awal sebelum steam treatment (M) = 50,09 gram

Kadar glukosa setelah steam treatment (G) = 14 gram/L

Volume H₂O yang digunakan pada steam treatment (V) = 800 mL

$$\begin{aligned} \text{Massa glukosa setelah steam treatment (G')} &= G \frac{V}{1000} \\ &= 14 \times \frac{800}{1000} \\ &= 11,2 \text{ gram} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Persen massa glukosa setelah steam treatment} &= \frac{G'}{M} \times 100\% \\ &= \frac{11,2}{50,09} \times 100\% \\ &= 22,36 \% \end{aligned}$$

I.6. Perhitungan Persen Massa Glukosa Setelah *Biological Treatment*

- Massa lignin, hemiselulosa, dan selulosa untuk feed (g/mL)

Feed tempurung kelapa untuk biological treatment = 3 g dalam 15 mL

Kadar hemiselulosa setelah steam treatment (h) = 3,445%

Kadar selulosa setelah steam treatment (s) = 26,764%

Kadar lignin setelah steam treatment (l) = 46,815%

$$\begin{aligned} \text{Massa hemiselulosa setelah steam treatment (H)} \\ &= \frac{3,445}{100} \times 3\text{g} = 0,103 \text{ g} \end{aligned}$$

$$\text{Massa selulosa setelah steam treatment (S)} = \frac{26,764}{100} \times 3\text{g}$$

$$\begin{aligned} &= 0,803 \text{ g} \\ \text{Massa lignin setelah steam treatment (L)} &= \frac{46,815}{100} \times 3 \text{ g} \\ &= 1,404 \text{ g} \end{aligned}$$

- Massa lignin, hemiselulosa, dan selulosa untuk feed (g/L)

Massa hemiselulosa setelah steam treatment (H)

$$= \frac{1000 \text{ ml}}{15 \text{ ml}} \times 0,103 \text{ g} = 6,89 \text{ g}$$

Massa selulosa setelah steam treatment (S)

$$= \frac{1000 \text{ ml}}{15 \text{ ml}} \times 0,803 \text{ g} = 53,528 \text{ g}$$

Massa lignin setelah steam treatment (L)

$$= \frac{1000 \text{ ml}}{15 \text{ ml}} \times 1,404 \text{ g} = 93,63 \text{ g}$$

- Yield glukosa dalam % massa

Kadar glukosa dalam g/L = G

$$\text{Yield glukosa dalam \% massa} = \frac{G}{S+H} \times 100\%$$

Contohnya, untuk variable 1:2 pada t = 96 jam :

$$G = 24,873 \text{ g/L}$$

$$S + H = 53,528 + 6,89 = 60,418 \text{ g/L}$$

$$\begin{aligned} \text{Yield glukosa dalam \% massa} &= \frac{24,873}{60,418} \times 100\% \\ &= 41,168 \% \end{aligned}$$

APPENDIKS B

HASIL ANALISA DAN PERHITUNGAN

2.1 Hasil Analisa Hemiselulosa, Selulosa Lignin, dan Glukosa Sebelum dan Sesudah Steam Treatment

Proses	Yield (%)			
	Hemiselulosa	Selulosa	Lignin	Glukosa
Awal	20,872	32,193	33,962	0
Setelah Steam Treatment	1,960	15,227	26,636	22,36

2.2 Hasil Analisa Glukosa pada Biological Treatment

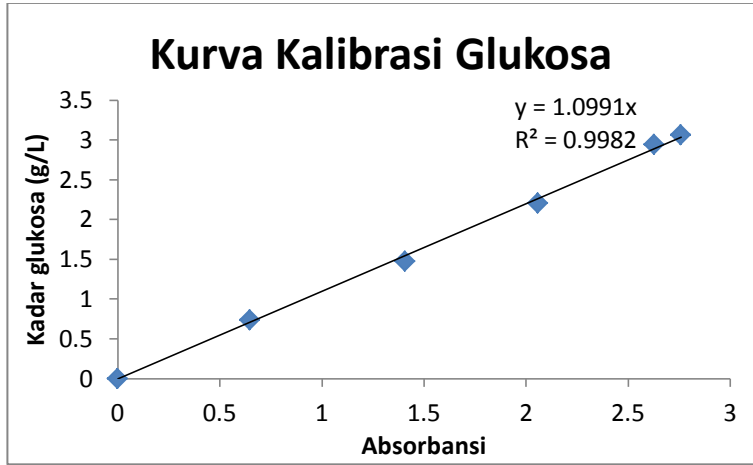
- Kadar glukosa dalam g/L

Jam Ke-	Kadar glukosa tiap Variabel (A.N : T.V), g/L					
	1 : 0	1 : 2	1 : 3	3 : 1	2 : 1	0 : 1
24	18,223	17,981	14,948	15,607	18,003	12,178
48	18,883	18,597	15,651	17,630	20,026	13,519
72	19,542	18,970	16,465	18,531	20,114	14,266
96	23,609	24,873	20,333	22,663	24,378	14,310
120	22,576	21,828	18,948	21,213	22,356	14,464
144	20,399	21,751	16,223	20,553	21,048	14,068
168	20,114	21,707	17,168	20,081	20,685	14,025
192	19,608	21,608	16,508	19,795	20,004	13,948
216	19,355	21,399	16,212	19,399	19,685	13,893
240	19,102	21,301	16,003	19,102	19,080	13,794

- Yield glukosa dalam %massa

Jam Ke-	Yield glukosa tiap Variabel (A.N : T.V), %					
	1 : 0	1 : 2	1 : 3	3 : 1	2 : 1	0 : 1
24	30,162	29,761	24,741	25,832	29,798	20,156
48	31,253	30,780	25,905	29,179	33,145	22,376
72	32,345	31,399	27,251	30,671	33,291	23,613
96	39,076	41,168	33,654	37,511	40,349	23,685
120	37,366	36,129	31,362	35,110	37,002	23,940
144	33,764	36,001	26,851	34,018	34,837	23,285
168	33,291	35,928	28,415	33,236	34,237	23,212
192	32,454	35,765	27,324	32,763	33,109	23,085
216	32,035	35,419	26,833	32,108	32,581	22,994
240	31,617	35,255	26,487	31,617	31,581	22,830

APPENDIKS C
CARA PERHITUNGAN ANALISA GLUKOSA
MENGGUNAKAN REAGEN DNS



Grafik kalibrasi Glukosa dengan kadar 0-3,5 g/L

Grafik diatas merupakan grafik kalibrasi glukosa dengan kadar glukosa dari 0-3,5 g/L. Pada percobaan hasil presteam treatment didapatkan glukosa dengan pembacaan absorbansi pada spektrofotometer sebesar 1,274. Sehingga dengan mengplotkan besar absorbansi terhadap kadar glukosa dari kurva kalibrasi tersebut, akan didapatkan kadar glukosa sebesar 1,4 g/L. Dimana, karena factor pengenceran 10x maka, kadar glukosa dikali dengan 10.

Contoh: $y = 1,0991x$

$$x = 1,0991 \times 1,274$$

Sehingga $x = 1,4 \text{ g/L}$

Karena factor pengenceran 10x, maka :

$$\text{kadar glukosa} = 1,4 \times 10 = 14 \text{ g/L}$$

Dimana: $y = \text{kadar glukosa (g/L)}$; $x = \text{absorbansi}$

(HALAMAN INI SENGAJA DIKOSONGKAN)

APPENDIKS D
GAMBAR HASIL PENELITIAN

Tempurung Kelapa Sebelum Steam Treatment



Tempurung Kelapa Hasil Steam Treatment



Trichoderma viride



Aspergillus niger



DAFTAR PUSTAKA

- Acharya, P. B., D. K. Acharya and H. A. Modi. 2008. "Optimization for Cellulase Production by *Aspergillus niger* Using Sawdust as Substrate". **African Journal of Biotechnology** 7. 22:4147-4152.
- Aderemi, B.O. , Abu, E., and Highina, B. K., June. 2008. "The Kinetics of Glucose Production from Rice Straw by *Aspergillus niger*". **African Journal of Biotechnology** 7, 11:1745-1752.
- Alexopoulos, C.J. and C. W. Mims. 1979. **Introductory Mycology 3rd Ed.** New York : John Wiley and Sons.
- Arias, G., Elsa A., Nuniek H. dan S.R. Juliastuti. 2011. "Variasi Kondisi Operasi Steam Pretreatment Sawdust (Serbuk Kayu) Sebagai Bahan Baku Produksi Glukosa". **Skripsi Lab. Pengolahan Limbah Industri**, Teknik Kimia ITS.
- Bailey J.E. and Ollis D.F. 1986. **Biochemical Engineering Fundamentals, 2nd Edition.** USA: McGraw-Hill Book Company.
- Bayer FAE, Moray, 1994. "The cellulose a-treasure-trove for biotechnology". **TIBTECH** 12: 379-386
- Bonnarme D, Jeffries TW, 1998. "Mn (II) regulation of lignin peroxidase and mangares – dependent peroxidase from lignin – degrading white – rot-fungi". **Appl. Environ. Microbiol.**, 56: 210-217
- Datta, and Chesson, A. 1981. "Effects of Sodium Hydroxide on Cereal Straws in Relation to the Enhanced Degradation of Structural Polysaccharides by Rumen Microorganisms". **J. Sci. Food Agric**, 32: 745-758.
- Davidek, J., J. Velisek and J. Pokorny. 1990. **Chemical Changes During Food Processing.** Amsterdam: Elsevier Science Publ. Co. Inc., 448 p
- Detroy, Robert W., and Julian, Grant St.. "Biomass Conversion : Fermentation Chemicals and Fuels". **CRC Critical Reviews in Microbiology** 10, 3: 203-228.

- Enari, T.M. 1983. "Microbial Cellulases". **Microbial enzymes and biotechnology, Applied Sciences publishers, London.** p. I 83-223
- Fan L.T., Gharpuray, M.M. and Lee, Y.H, "Cellulose Hydrolysis" **Springer-Verlag 3:** 1-68.
- Fengel, D. dan G. Wegener. 1989. **Wood: Chemistry, Ultrastructure, Reactions.** New York : Walter De Gruyter Inc.
- Gusakov, Alexander V., Kondratyeva, Elena G., and Sinityn, Arkady P., 2011. "Comparison of Two Methods for Assaying Reducing Sugars in the Determination of Carbohydrase Activities". **International Journal of Analytical Chemistry** 2011, 283658:1-4.
- Ja'afaru, Moh. I., and Fagade, O. E., 2007. "Cellulase Production and Enzymatic Hydrolysis of Some Selected Local Lignocellulosic Substrates by a Strain of *Aspergillus niger*". **Medwell Journal : Research Journal of Biological Sciences** 2, 1:13-16.
- Judoamidjojo, M., A. Darwis, E. Gumbira. 1990. **Teknologi Fermentasi.** Bogor: Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor.
- K., Nirmala, Biswas, S., and Basak, P.R., 2007. "BIOFUELS – Technology Trends & Opportunities". **SEARCH**, Vol. 10. 9:92-97 and 10:82-86
- Karmakar, Moumita and Ray, Rina Rani, 2011. "Saccharification of Agro Wastes by the Endoglucanase of *Rhizopus Oryzae*". **Scholars Research Library : Annals of Biological Research** 2, 1:201-208.
- Kopkhar, SM. 1990. **Konsep Dasar Kimia Analitik.** Jakarta: Penerbit UI Press.
- Kuhad RC, Singh A & Eriksson KEL, 1997. "Microorganisms and enzymes involved in the degradation of plant fiber cell walls". **Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.**, 57: 45–125
- Kumar, P., Barret, Diane M., Delwiche, Michael J., and Stroeve, P., 2009. "Methods for Pretreatment of Lignocellulosic

- Biomass for Efficient Hydrolysis and Biofuel Production”. **American Chemical Society** 48, 3713-3729.
- Larry, R. 1977. **Food and Beverage Mycology**. Department of Food Science Agricultural Experiment Station. University of Georgia.
- Lee., J.M. 1992. **Biochemical Engineering**. London: Prentice – Hall, Inc.
- Leschine SB, 1995. “Cellulose degradation in anaerobic environments” **Annu. Rev. Microbiol.** 49:399–426
- Mandels, M. 1970. **Cellulases**. In. G. T. Tsao (ed) Annual Report on Fermentation Processes. Vol 5. New York : Academic Press.
- Miller, G. Lorenz, 1959. “Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar”. **Analytical Chemistry** 31, 3:426-428.
- Mosier, N., Wyman, C., Dale, B., Elander, R., Lee, Y. Y., Holtzapple, M., and Ladisch, M., 2005. “Features of Promising Technologies for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass”. **Science Direct : Bioresource Technology** 96, 673-686.
- Palungkun, R. 2003. **Aneka Produk Olahan Kelapa**. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Pelczar, M. J., and R. D. Reid. 1974. **Microbiology**. New York: McGraw Hill Book Company.
- Prananta, J. 2009. **Pemanfaatan Sabut dan Tempurung Kelapa Sawit untuk Pembuatan Asap Cair Sebagai Pengawet Makan Alami**. (Dipublikasikan pada situs : <http://www.scribd.com/doc/4142857>)
- Shewale JG, Sadana JC, 1978. “Enzymatic hydrolysis of cellulosic materials by *sclerotium rolfisii*, culture filtrate of sugar production”. **Can. J. Microbiol.**, 25: 773-783.
- Söderstörn, J., Linda P., Mats G., and Guido Z. 2002. “Two-step Steam Pretreatment of Softwood by Dilute H₂SO₄ Impregnation for Ethanol Production”. **Biomass and Bioenergy, Elsevier Science Direct** Vol. 24, 6:475-486.

Statistik Perkebunan Indonesia. 2008.

Sun, Y. and Cheng, J., 2002. "Hydrolysis of Lignocellulosic Materials for Ethanol Production: a review". **Biores. Technol.** .83:1-11.

Wood, T.M. 1985. "Properties of Cellulolytic Enzyme System". **Biochemical Society Transactions.** 13:407-410.

Wu Z, Lee YY, 1997. "Inhibition of the enzymatic hydrolysis of cellulose by ethanol". **Biotechnol. Lett.** 19: 977-979.

Zhang, Bo and Shahbazi, Abolghasem. 2011. "Recent Developments in Pretreatment Technologies for Production of Lignocellulosic Biofuels". **Journal of Petroleum & Environmental Biotechnology.** 2:108

<http://blogs.princeton.edu>

<http://id.wikipedia.org/wiki/>

<http://twotik.wordpress.com/>

<http://www.bioquicknews.com/node/436/>

<http://www.namrata.co/category/diet-and-nutrition/theory-notes-diet-and-nutrition/>

BIOGRAFI PENULIS



Kartika Rizqimaulida

Lahir pada 10 Oktober 1990 di Surabaya, Jawa Timur dari pasangan Djoko Sujitno dan Emi Muftiutami sebagai anak ketiga dari empat bersaudara. Pendidikan formal yang telah ditempuh di SDN Pacarkeling VI Surabaya, SMP N 6 Surabaya, dan SMA N 6 Surabaya.

Penulis melanjutkan ke jenjang perguruan tinggi di Jurusan Teknik Kimia ITS Surabaya di tahun 2008, dan pada Juli 2012, penulis telah menyelesaikan masa studinya setelah merampungkan tugas akhir pra desain pabrik **“ANILIN DENGAN PROSES REDUKSI NITROBENZENE”** dan skripsi **“VARIASI RASIO CAMPURAN *Trichoderma viride* DAN *Aspergillus niger* PADA BIOLOGICAL TREATMENT DAN STEAM TREATMENT UNTUK TEMPURUNG KELAPA SEBAGAI SUMBER KARBON ORGANIK BIOFUEL”** yang menjadikan penulis seorang Sarjana Teknik Kimia yang dapat memberikan sumbangsihnya terhadap pembangunan tanah air.

Personal Info :

Nama : Kartika Rizqimaulida

HP : 0819 3836 6939

Email : kartika.rizqimaulida@gmail.com

BIOGRAFI PENULIS



Abraham Arif

Lahir pada 22 September 1989 di Lumajang, Jawa Timur dari pasangan Purbatin dan Suntatil sebagai anak kedua dari dua bersaudara. Pendidikan formal yang telah ditempuh di SDN Pabean 1 Sidoarjo, SMP N 1 Sidoarjo, dan SMA N 1 Sidoarjo.

Penulis melanjutkan ke jenjang perguruan tinggi di Jurusan Teknik Kimia ITS Surabaya di tahun 2008, dan pada Juli 2012, penulis telah menyelesaikan masa studinya setelah merampungkan tugas akhir pra desain pabrik **“ANILIN DENGAN PROSES REDUKSI NITROBENZENE”** dan skripsi **“VARIASI RASIO CAMPURAN *Trichoderma viride* DAN *Aspergillus niger* PADA BIOLOGICAL TREATMENT DAN STEAM TREATMENT UNTUK TEMPURUNG KELAPA SEBAGAI SUMBER KARBON ORGANIK BIOFUEL”** yang menjadikan penulis seorang Sarjana Teknik Kimia yang dapat memberikan sumbangsuhnya terhadap pembangunan tanah air.

Personal Info :

Nama : Abraham Arif

HP : 0856 4832 7426

Email : abe_tekkim@yahoo.com