



SKRIPSI - TK 091383

PENGARUH FUNGAL TREATMENT, SERTA
PENAMBAHAN *Saccharomyces cerevisiae* DAN *Zymomonas
mobilis* PADA PROSES FERMENTASI PEMBUATAN
BIOETANOL DARI KULIT PISANG

Oleh :

M. Izati Iwani M.M

NRP. 2310100132

Affrida Eka Ramadhany

NRP. 2310100148

Dosen Pembimbing

Ir. Nuniek Hendrianie, MT.

NIP. 195711111986012001

**JURUSAN TEKNIK KIMIA
FAKULTAS TEKNOLOGI INDUSTRI
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA 2014**



FINAL PROJECT - TK 091383

THE INFLUENCE OF FUNGAL TREATMENT WITH *Saccaromyces cerevisiae's* AND *Zymomonas mobilis's* ADDITION, IN THE FERMENTATION PROCESS DURING THE PRODUCTION OF BIOETHANOL FROM BANANA PEELS

By :
M. Izati Iwani M.M
NRP. 2310100132

Affrida Eka Ramadhany
NRP. 2310100148

Advisor
Ir. Nuniek Hendrianie, MT.
NIP. 195711111986012001

**DEPARTMENT OF CHEMICAL ENGINEERING
FACULTY OF INDUSTRIAL TECHNOLOGY
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA 2014**

**PENGARUH *FUNGAL TREATMENT*, SERTA
PENAMBAHAN *Saccharomyces cerevisiae* DAN
Zymomonas mobilis PADA PROSES FERMENTASI
PEMBUATAN BIOETANOL DARI KULIT PISANG**

Nama Mahasiswa/NRP : 1. Moch. Izati Iwani M. / 2310100132

2. Affrida Eka R. / 2310100148

Jurusan : Teknik Kimia, FTI-ITS

Dosen Pembimbing : Ir. Nuniek Hendrianie, M.T.

ABSTRAK

Produksi buah pisang (*Musa paradisiacal*) terus meningkat dari tahun 1995 hingga tahun 2012 dengan total produksi mencapai 6 juta ton per tahun dan menduduki peringkat pertama hasil pertanian di Indonesia. Pemanfaatan buah pisang dalam skala industri secara besar-besaran akan menghasilkan limbah padat berupa kulit pisang. Bobot kulit pisang mencapai 35%-40% dari bobot buahnya, sehingga limbah padat yang dihasilkan mencapai 2-2,4 juta ton tiap tahun. Kandungan selulosa dari kulit pisang sekitar 12% - 18%, sehingga limbah kulit pisang dapat dijadikan sebagai sumber energi yang potensial untuk diolah menjadi bioetanol.

Pembuatan bioetanol dilakukan melalui tahap *pretreatment* asam, hidrolisis *likuifikasi*, hidrolisis *sakarifikasi* serta fermentasi. Pada pembuatan bioethanol ini dilakukan variasi: (1) penggunaan *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reseei* dengan perbandingan volume 1:0, 0:1, 1:1 dan 1:2 pada tahap hidrolisis *likuifikasi*, (2) penggunaan ragi *Saccharomyces cerevisiae* dan *Zymomonas mobilis* pada tahap fermentasi untuk menguraikan gula menjadi bioetanol.

Kulit pisang kepek sebagai bahan baku mula-mula dicuci, dihancurkan, dan dikeringkan. Kemudian bubuk kulit pisang dilakukan tahap *pretreatment* asam dengan ditambahkan H₂SO₄

2% 420 ml dan diikuti dengan selama 7 jam dengan suhu 30°C. Kemudian dilanjutkan dengan tahap hidrolisis likuifikasi dengan memasukkan *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei* sesuai variabel dengan aerasi selama 3 hari pada suhu 50°C. Campuran dari hasil hidrolisis likuifikasi dengan kadar etanol tertinggi dilanjutkan ke tahap hidrolisis sakarifikasi dengan menambahkan *Saccharomyces cerevisiae* 10% (v/v) dan diaerasi selama 3 hari pada suhu 30°C. Terakhir campuran tersebut difermentasi oleh *Saccharomyces cerevisiae* atau *Zymomonas mobilis* dalam 7 hari dengan menjaga suhu pada 30°C.

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, diketahui bahwa penambahan variabel *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei* dalam hidrolisis likuifikasi dengan perbandingan 1:2 pada suhu 50°C dan pH 5 selama 64 jam dapat menghasilkan glukosa dengan kandungan terbaik sebesar 0,52%. Sementara itu, penambahan jamur *Saccharomyces cerevisiae* 10% (v/v) pada proses hidrolisis sakarifikasi selama 3 hari pada suhu 30°C dan pH 5 dapat meningkatkan kandungan glukosa menjadi 1,63% dengan peningkatan sebesar 213,46%. Penggunaan variabel mikroorganisme *Saccharomyces cerevisiae* 20% (v/v) dalam proses fermentasi pada suhu 30°C dan pH 4 menghasilkan kadar etanol tertinggi sebesar 2,787% pada hari keempat. Proses fermentasi dengan menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* menghasilkan yield sebesar 87,37% sedangkan fermentasi dengan *Zymomonas mobilis* menghasilkan yield lebih rendah sebesar 69,38%.

Kata kunci : kulit pisang, bioetanol, likuifikasi, sakarifikasi, fermentasi, *Aspergillus niger*, *Trichoderma reesei*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Zymomonas mobilis*

THE INFLUENCE OF FUNGAL TREATMENT WITH *Saccaromyces cerevisiae*'s AND *Zymomonas mobilis*'s ADDITION, IN THE FERMENTATION PROCESS DURING THE PRODUCTION OF BIOETHANOL FROM BANANA PEELS

Nama Mahasiswa/NRP : 1. Moch. Izati Iwani M. / 2310100132
2. Affrida Eka R. / 2310100148
Jurusan : Teknik Kimia, FTI-ITS
Dosen Pembimbing : Ir. Nuniek Hendrianie, M.T.

Abstract

The banana's agriculture production in Indonesia increased continually from 1995 to 2012 by 6 million tons per year and got the first rank in the production of Indonesian agriculture. The use of bananas in industrial scales certainly produces some solid waste such as banana peels. The weight of a banana peel is about 35%-40% of its fruit, thus the solid waste produced about 2 to 2.4 million tons per year. The cellulose of banana peels around 12% - 18%, thereby waste banana peels can be utilized as a potential energy resource in order to produce bioethanol.

The production of bioethanol is conducted through a pretreatment phase, hydrolysis likuification, saccharification and fermentation. In the bioethanol production process, several elements are varied: (1) the use of *Aspergillus niger* and *Trichoderma reseei* with a volume ratio of 1:0, 0:1, 1:1 and 1:2 in hydrolysis likuification, (2) the use of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* and *Zymomonas mobilis* in fermentation to decompose sugar into bioethanol.

Banana peels as a raw material were washed firstly, crushed, and finally dried. Then the powders of banana peel were continued through a pretreatment phase by adding H₂SO₄ 2%, 420

mL, and followed by stirring for 7 hours at 30°C. Then it was proceed with the hydrolysis likuification by entering *Aspergillus niger* and *Trichoderma reesei* based on each variable with aeration for 3 days at 50°C. The mixture as a result of hydrolysis likuification with the highest content of etanol was continued to hydrolysis saccharification process by including *Saccharomyces cerevisiae* 10% (v/v) and aerated for 3 days at 30°C. Finallay these mixtures were fermented by *Saccharomyces cerevisiae* and *Zymomonas mobilis* in 7 days followed by controlling the temperature at 30°C.

From the research that has been accomplished, known that by adding the variable of *Aspergillus niger* and *Trichoderma reesei* in hydrolysis likuification with comparison 1:2 at 50°C and pH 5 for 64 hours could produce glucose in the highest level by 0,52%. Meanwhile, entering *Saccaromyces cerevisiae* 10% (v/v) in hydrolysis saccharification for 3 days at 30°C dan pH 5 could enhance the level of glucose by 1,63% with an increasing of 213,46%. The utilization of *Saccaromyces cerevisiae* 20% (v/v) in fermentation process at 30°C and pH 4 produced the highest ethanol by 2,787% in the fourth day. The fermentation process using *Saccaromyces cerevisiae* could produce its yield by 87,37% whereas the utilizing of *Zymomonas mobilis* could produce the lower yield by 69,38%.

Key words: banana peels, bioethanol, likuification, saccharification, fermentation, *Aspergillus niger*, *Trichoderma reesei*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Zymomonas mobilis*

Pengaruh Fungal Treatment, serta Penambahan *Saccharomyces cerevisiae* dan *Zymomonas mobilis* pada Proses Fermentasi Pembuatan Bioetanol dari Kulit Pisang

TUGAS AKHIR

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

Oleh :

M. Izati Iwani M.M

NRP. 2310 100 132

Affrida Eka Ramadhany

NRP. 2310 100 148

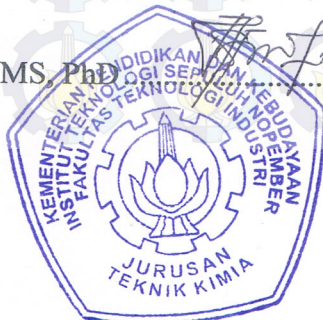
Disetujui oleh Tim Penguji Tugas Akhir :

1. Ir. Nuniek Hendrianie, M.T (Pembimbing)

2. Dr. Ir. Sri Rachmania Juliastuti, M.Eng (Penguji I)

3. Prof. Ir. Renanto, MSc. PhD (Penguji II)

4. Siti Nurkhamidah, ST, MS, PhD (Penguji III)



Surabaya,

Juli 2014

LEMBAR PENGESAHAN

Skripsi Dengan Judul :

**Pengaruh Fungal Treatment, serta Penambahan
Saccharomyces cerevisiae dan *Zymomonas mobilis* pada
Proses Fermentasi Pembuatan Bioetanol dari Kulit
Pisang**

Penyusun,

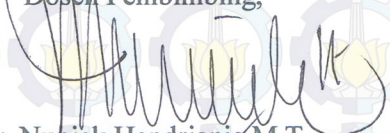


M. Izati Iwani M.M
NRP. 2310 100 132



Affrida Eka Ramadhany
NRP. 2310 100 148


Surabaya, Juli 2014
Dosen Pembimbing,



Ir. Nuniek Hendrianie M.T
NIP. 1957 11 11 1986 01 2001

Mengetahui,

Kepala Laboratorium Pengolahan Limbah Industri
Jurusan Teknik Kimia FTI-ITS



Dr. Ir. Sri Rachmania Juliastuti, M.Eng
NIP. 1959 07 30 1986 03 2001

KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kepada Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya, sehingga kami dapat menyelesaikan Skripsi ini.

Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk menyelesaikan program pendidikan sarjana di Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.

Dalam menyusun skripsi ini, kami mendapatkan bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Pada kesempatan kali ini, kami mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Dr. Ir. Tri Widjaja, M.Eng. selaku Ketua Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.
2. Ibu Dr. Ir. Sri Rachmania Juliastuti, M.Eng selaku Ketua Lab. Pengolahan Limbah Cair Industri, Jurusan Teknik Kimia FTI - ITS, atas bimbingan, saran, dan motivasi yang diberikan.
3. Ibu Ir. Nuniek Hendrianie M.T. selaku Dosen Pembimbing Lab. Pengolahan Limbah Cair Industri, Jurusan Teknik Kimia FTI-ITS, atas bimbingan, saran, dan motivasi yang diberikan.
4. Seluruh dosen, staff, dan karyawan Jurusan Teknik Kimia, FTI – ITS yang telah memberikan dukungan moril kepada penulis.
5. Orang tua serta saudara-saudara kami, atas doa, bimbingan, perhatian, serta kasih sayang yang selalu tercurah selama ini.
6. Keluarga besar Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS), khususnya teman-teman di Laboratorium Pengolahan Limbah Cair Industri Jurusan Teknik Kimia FTI-ITS atas semua dukungan, semangat, serta kerjasamanya.
7. Serta semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah membantu dalam memberikan kesempatan, fasilitas, petunjuk, dan bimbingan selama penyusunan laporan ini.

Kami menyadari bahwa dalam penyusunan Skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu kami mengharapkan saran dan kritik yang membangun. Akhir kata, semoga ini dapat bermanfaat bagi kita semua. Amin.

Surabaya, Juli 2014

Penyusun

DAFTAR ISI

Lembar Pengesahan	
Abstrak.....	i
Kata Pengantar.....	v
Daftar Isi.....	vii
Daftar Gambar.....	ix
Daftar Tabel.....	xi
BAB I PENDAHULUAN	
I.1 Latar Belakang.....	1
I.2 Rumusan Masalah.....	3
I.3 Tujuan Penelitian.....	3
I.4 Manfaat Penelitian.....	4
I.5 Batasan Masalah.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
II.1 Bioetanol.....	5
II.2 Bahan Baku Pembuatan Bioetanol.....	6
II.3 Proses Pembuatan Bioetanol.....	8
II.3.1 <i>Pretreatment</i> Lignoselulosa.....	9
II.3.2 Hidrolisis Enzimatis.....	13
II.3.3 Mikroorganisme Penghasil Selulase.....	17
II.3.4 Fermentasi.....	20
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	
III.1 Variabel Penelitian.....	26
III.1.1 Kondisi Operasi.....	26
III.1.2 Variabel.....	27
III.2 Parameter yang Dianalisa.....	28
III.2.1 Analisa Pendahuluan Kulit Pisang.....	28
III.2.2 Analisa Parameter Penelitian.....	28
III.3 Bahan dan Peralatan.....	28
III.3.1 Bahan.....	28
III.3.2 Peralatan.....	28
III.4 Metode Penelitian.....	29
III.4.1 Perlakuan awal.....	29
III.4.2 <i>Pretreatment</i> dengan Penambahan Asam....	29

III.4.3 Hidrolisis Likuifikasi.....	30
III.4.4 Hidrolisis Sakarifikasi.....	30
III.4.4 Proses Fermentasi.....	30
III.5 Gambar Alat.....	31
III.6 Prosedur Kerja.....	32
III.7 Prosedur Analisa.....	34
III.7.1 Analisa Selulosa, Hemiselulosa, dan Lignin dengan Metode Chesson.....	34
III.7.2 Analisa Kadar Glukosa dengan Metode Luff Schoorl.....	35
III.7.3 Analisa Kadar Etanol dengan Alat Refraktometer.....	36
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
IV.1 Pengaruh <i>Pretreatment</i> dengan Penambahan Asam Sulfat (H ₂ SO ₄) Terhadap Penurunan Kadar Lignin dan Kenaikkan Kadar Selulosa.....	37
IV.2 Pengaruh <i>Fungal Treatment</i> (Hidrolisis Likuifikasi) pada Kulit Pisang dengan Menggunakan <i>Aspergillus niger</i> dan <i>Trichoderma</i> <i>reesei</i>	39
IV.3 Pengaruh <i>Fungal Treatment</i> (Hidrolisis Sakarifikasi) pada Kulit Pisang dengan Menggunakan <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	45
IV.4 Proses Fermentasi dengan Menggunakan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> dan <i>Zymomonas</i> <i>mobilis</i>	46
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
V.1 Kesimpulan.....	50
V.2 Saran.....	50
DAFTAR PUSTAKA.....	xii
LAMPIRAN A	
LAMPIRAN B	

DAFTAR TABEL

Tabel II.1 Komposisi pisang kepok.....	8
Tabel IV.1 Komposisi awal kulit pisang.....	37

DAFTAR GAMBAR

Gambar II.1 Pisang kepok.....	7
Gambar II.2 Proses <i>pretreatment</i> lignoselulosa.....	10
Gambar II.3 Struktur lignoselulosa.....	11
Gambar II.4 Struktur molekul selulosa.....	12
Gambar II.5 Struktur molekul glukosa.....	13
Gambar II.6 Mekanisme hidrolisis selulosa.....	15
Gambar II.7 <i>Trichoderma reseei</i>	18
Gambar II.8 <i>Aspergillus niger</i>	19
Gambar II.9 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	23
Gambar II.10 <i>Zymomonas mobilis</i>	25
Gambar III.1 <i>Waterbath reactor fungal treatment</i>	31
Gambar III.2 <i>Fermentor bath</i>	31
Gambar III.3 <i>Bagan pembuatan etanol</i>	33
Gambar IV.1 Perubahan kadar selulosa, hemiselulosa, lignin, air, dan abu pada penambahan asam sulfat (H ₂ SO ₄) 2%.....	38
Gambar IV.2 Hasil glukosa setelah tahap hidrolisis likuifikasi pada variabel penambahan <i>Aspergillus niger</i> dan <i>Trichoderma reseei</i>	39
Gambar IV.3 Hasil kadar lignin dalam 4 variabel penambahan <i>Aspergillus niger</i> dan <i>Trichoderma reseei</i>	42
Gambar IV.4 Persen penurunan kadar lignin dalam 4 variabel penambahan <i>Aspergillus niger</i> dan <i>Trichoderma reseei</i>	42
Gambar IV.5 Kadar selulosa dalam 4 variabel penambahan <i>Aspergillus niger</i> dan <i>Trichoderma reseei</i>	42
Gambar IV.6 Persen penurunan kadar lignin dalam 4 variabel penambahan <i>Aspergillus niger</i> dan <i>Trichoderma reseei</i>	43

Gambar IV.7	Perubahan kadar glukosa untuk penambahan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> setelah hidrolisis sakarifikasi.....	45
Gambar IV.8	Kadar etanol setelah fermentasi selama 7 hari dengan penambahan <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	47
Gambar IV.8	Kadar etanol setelah fermentasi selama 7 hari dengan penambahan <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	47

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Etanol atau etil alkohol merupakan senyawa organik yang terdiri dari karbon, hidrogen, oksigen dengan rumus molekul $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ dan merupakan derivat senyawa hidrokarbon yang mempunyai gugus hidroksil, sehingga dapat dioksidasi atau esterifikasi. Etanol menjadi salah satu alkohol yang paling sering digunakan dalam kehidupan sehari-hari karena sifatnya yang tidak beracun. Bahan ini banyak dipakai sebagai pelarut dalam dunia farmasi dan industri makanan dan minuman. Etanol tidak berwarna dan tidak berasa, tetapi etanol memiliki bau yang khas.

Bioetanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) adalah etanol yang dibuat dari proses fermentasi gula dari sumber karbohidrat menggunakan bantuan mikroorganisme. Bioetanol dapat diproduksi dari berbagai bahan baku yaitu *saccharine material*, *starchy material*, dan *lignocellulose* (Pandey, 2009). Saat ini sedang diusahakan secara intensif pemanfaatan bahan-bahan yang mengandung serat kasar dengan karbohidrat tinggi, dimana semua bahan yang mengandung karbohidrat dapat diolah menjadi etanol. Misalnya umbi kayu, ubi jalar, pisang, kulit pisang, dan lain-lain. Bioetanol dapat dihasilkan dari tanaman yang banyak mengandung senyawa selulosa dengan menggunakan bantuan dari aktivitas mikroba.

Selulosa banyak terdapat dalam limbah pertanian dan belum banyak dimanfaatkan. Limbah ini merupakan salah satu sumber energi yang cukup potensial dan pada umumnya merupakan bahan berselulosa yang dapat dikonversi menjadi bioetanol. Salah satu limbah pertanian yang dapat digunakan sebagai bahan baku bioetanol adalah kulit pisang (Bambang dan Rini, 2013). Pisang (*Musa paradisiacal*) merupakan jenis buah-buahan tropis yang banyak dihasilkan di wilayah Indonesia. Produksi buah pisang menduduki peringkat pertama hasil pertanian di Indonesia. Produksi buah pisang terus meningkat dari

tahun 1995 hingga pada tahun 2012 produksinya mencapai 6 juta ton per tahun (bps.go.id).

Di Indonesia sendiri selain dimanfaatkan secara langsung sebagai buah segar, pengolahan buah pisang juga dimanfaatkan sebagai bahan baku dalam dunia industri makanan. Pemanfaatan buah pisang yang besar untuk berbagai jenis makanan ini, tentunya akan menghasilkan limbah padat berupa kulit pisang. Bobot kulit pisang mencapai 35%-40% dari bobot buahnya (Farida, Martha, dan Irza, 2012). Dengan demikian, kulit pisang akan menghasilkan limbah padat dengan volume mencapai 2-2,4 juta ton tiap tahunnya. Pengolahan limbah kulit pisang yang tidak tepat tentunya akan mencemari lingkungan karena dapat meningkatkan keasaman tanah (Asteria dan Franky, 2013).

Proses konversi biomassa berlignoselulosa menjadi bioetanol pada dasarnya terdiri dari tiga tahap utama, yaitu perlakuan pendahuluan (*pre-treatment*), hidrolisis selulosa dan hemiselulosa menjadi gula sederhana, dan fermentasi gula sederhana menjadi bioetanol. Kandungan selulosa dari kulit pisang sekitar 12% - 18% (Annynomous, 1978). Kandungan selulosa yang tidak terlalu besar ini, akan mempengaruhi *yield* bioetanol yang dihasilkan. Beberapa penelitian mengenai produksi bioetanol dengan bahan baku kulit pisang telah dilakukan sebelumnya.

Dalam rangka membandingkan proses dan mikroorganisme yang dapat digunakan dalam pembuatan bioetanol dari kulit pisang, maka penelitian ini akan dilakukan variasi proses konversi biomassa berlignoselulosa agar diperoleh *yield* bioetanol terbaik. Pada penelitian ini, dilakukan proses *pre-treatment* secara kimiawii dengan penambahan asam sulfat (H_2SO_4) 2% untuk menghilangkan lignin, mengurangi kristalinitas selulosa, dan meningkatkan porositas bahan. Proses hidrolisis terdiri dari tahap likuifikasi dan sakarifikasi. Tahap likuifikasi digunakan jamur *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei* yang menghasilkan enzim α -amilasi untuk mendegradasi pati. Tahap sakarifikasi digunakan ragi *Saccharomyces cerevisiae*

yang menghasilkan enzim glukoamilase untuk mengubah polisakarida menjadi gula yang dapat difermentasi (glukosa, galaktosa, manosa, dan sebagainya) (Fitria dan Yulinah, 2011). Tahap fermentasi digunakan ragi *Saccharomyces cerevisiae* dan *Zymomonas mobilis* yang berfungsi untuk menguraikan gula menjadi bioetanol dan karbondioksida yang disebabkan enzim yang dihasilkan oleh massa sel mikroba (Dyah dan Wasir, 2012). Hasil penelitian ini bertujuan untuk mengkonversi limbah kulit pisang dan meningkatkan nilai produktifitasnya, sehingga menghasilkan *yield* bioetanol yang tinggi.

1.2 Rumusan Masalah

1. Ketersediaan limbah kulit pisang yang jumlahnya cukup banyak, sehingga perlu dimanfaatkan sebagai bahan baku bioetanol.
2. Pemanfaatan kandungan selulosa dari limbah kulit pisang melalui proses hidrolisis enzimatik dengan variasi penambahan volume mikroorganisme *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei*.
3. Pemanfaatan mikroorganisme *Saccharomyces cerevisiae* dan *Zymomonas mobilis* pada proses fermentasi untuk membuat bioetanol dari limbah kulit pisang.

1.3 Tujuan Penelitian

Terdapat 3 (tiga) tujuan pokok yang hendak dicapai dalam penelitian ini, yaitu:

1. Untuk meningkatkan potensi limbah kulit pisang menjadi bahan baku pembuatan bioetanol.
2. Untuk membandingkan pengaruh *fungus treatment* dengan penambahan *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei* agar diperoleh kadar glukosa terbaik.
3. Untuk membandingkan pengaruh *Saccharomyces cerevisiae* dan *Zymomonas mobilis* pada konversi glukosa menjadi etanol, sehingga didapatkan peningkatan kadar bioetanol terbaik.

1.4 Manfaat Penelitian

Ada beberapa kegunaan yang diharapkan dari program penelitian ini, yaitu sebagai berikut:

1. Data hasil penelitian akan sangat bermanfaat dalam pencarian energi alternatif, yaitu bioetanol dari limbah kulit pisang.
2. Dapat membantu mengurangi ketergantungan akan penggunaan sumber energi fosil sebagai bahan bakar yang semakin langka dari waktu ke waktu.
3. Dapat digunakan sebagai referensi/rujukan dalam produksi bioetanol dari limbah kulit pisang dalam jumlah besar berskala industri.

1.5 Batasan Masalah

1. Bahan baku pembuatan bioetanol yang digunakan adalah buah pisang dari varietas pisang kepok.
2. Proses hidrolisis pada tahap likuifikasi menggunakan fungi mikroorganisme *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei* dengan variasi penambahan volume.
3. Proses hidrolisis tahap sakarifikasi menggunakan ragi *Saccharomyces cerevisiae*.
4. Tahap fermentasi glukosa menjadi bioetanol dilakukan dengan memanfaatkan ragi *Saccharomyces cerevisiae* dan *Zymomonas mobilis* dengan variasi penambahan volume.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Bioetanol

Bioetanol adalah cairan biokimia dari proses fermentasi gula dari sumber karbohidrat menggunakan bantuan mikroorganisme. Bioetanol saat ini yang diproduksi umumnya berasal dari etanol generasi pertama, yaitu etanol yang dibuat dari gula (tebu, molases) atau pati-patian seperti jagung, singkong, dll. Bahan-bahan tersebut merupakan bahan pangan (Bambang Prastowo, 2007). Produksi etanol/bioetanol (alkohol) dengan bahan baku tanaman yang mengandung selulosa, dilakukan melalui proses konversi selulosa menjadi gula (glukosa) larut air, kemudian dari glukosa dikonversi lagi menjadi etanol (Anggraeni, dkk, 2009).

Bioetanol, tidak seperti bensin, merupakan bahan bakar oksigenat yang mengandung 35% oksigen yang dapat mereduksi partikulat dan emisi NO_x dari hasil pembakaran (Demirbas, 2005). Bioetanol dapat digunakan sebagai substitusi sebagian ataupun keseluruhan bahan bakar bensin (Greer,2005). Pencampuran bioetanol dengan bensin dapat menaikkan angka oktan pada bahan bakar itu. Bensin memiliki angka oktan kurang dari 90. Penambahan *etanol* ke dalam bensin sebanyak 10% akan menaikkan angka oktan pada kisaran angka 110, sementara *etanol* murni memiliki angka oktan 112 (Wheals dkk., 1999). Penggunaan bioetanol sebagai bahan bakar akan menimbulkan gas berbahaya hasil pembakaran yang relatif lebih rendah daripada penggunaan bensin sebagai bahan bakar. Sehingga bioetanol menjadi pilihan utama karena mudah terurai dan aman bagi lingkungan karena tidak mencemari air, serta pembakaran dari bioetanol hanya menghasilkan karbondioksida dan air (Hambali *et al.*, 2006). Oleh karenanya bioetanol memiliki predikat *clean energy* karena mampu menurunkan emisi karbondioksida hingga 18% (Fauzi, 2011).

Manfaat pemakaian bioetanol di Indonesia antara lain sebagai berikut :

1. Memperbesar basis sumber daya bahan bakar cair
2. Mengurangi impor bahan bakar minyak
3. Memperkuat *security of supply* bahan bakar
4. Berpotensi mengurangi ketimpangan pendapatan individu dan antar daerah
5. Meningkatkan kemampuan nasional dalam teknologi pertanian dan industri
6. Mengurangi kecenderungan pemanasan global dan pencemaran udara (bahan bakar ramah lingkungan)
7. Berpotensi mendorong ekspor komoditi baru (Martono dan Sasongko, 2007).

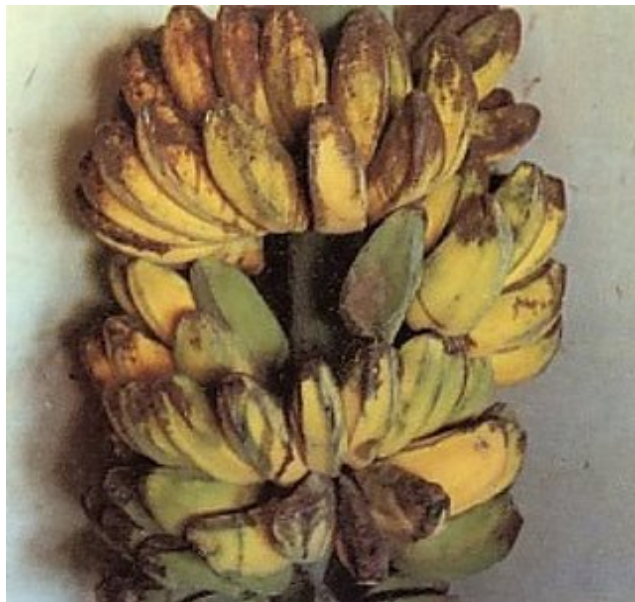
II.2 Bahan Baku Pembuatan Bioetanol

Terhadap banyak variasi bahan baku yang dapat digunakan dalam industri fermentasi. Hampir semua bahan baku yang digunakan dalam proses fermentasi, baik secara langsung maupun tidak langsung menggunakan hasil pertanian seperti: tebu, jagung, umbi-umbian, nira, limbah tumbuhan yang mengandung selulosa, pati, karbohidrat dan gula. Misalnya, jerami, tongkol jagung, sisa-sisa sayuran (tomat, cabe yang hampir membusuk), sisa-sisa buah-buahan (kulit nanas, kulit pisang, melon, semangka dll). Produksi *etanol* dengan cara fermentasi dapat diproduksi dari 3 macam karbohidrat, yaitu:

1. Bahan yang mengandung gula atau disebut juga substansi sakarin yang rasanya manis, seperti misalnya gula tebu, gula bit, molase (tetes), macam-macam sari buah-buahan dan lain-lain. Molase mengandung 50-55% gula yang dapat difermentasi, yang terdiri dari 69% sukrosa dan 30% gula inversi.
2. Bahan yang mengandung pati misalnya: padi-padian, jagung, gandum, kentang sorgum, malt, barley, ubi kayu dan lain-lain.

3. Bahan-bahan yang mengandung selulosa, misalnya: kayu, jerami, tongkol jagung, cairan buangan pabrik pulp dan kertas (*waste sulfire liquor*).

Salah satu bahan baku yang dapat dimanfaatkan untuk memproduksi bioetanol adalah kulit pisang. Kulit pisang merupakan bahan buangan (limbah buah pisang) yang cukup banyak jumlahnya, yaitu kira-kira $\frac{1}{3}$ dari buah pisang yang belum dikupas. Pada umumnya limbah kulit pisang ini belum dimanfaatkan secara nyata oleh masyarakat, hanya dibuang begitu saja sebagai sampah. Jenis pisang olahan yang banyak ada di Indonesia adalah pisang olahan dari jenis pisang kepok. Pisang kepok merupakan pisang yang produksinya sangat melimpah dan sangat mudah dijumpai. Berikut merupakan gambar dan komposisi kandungan gizi pisang kepok.



Gambar II.1 Pisang kepok

Tabel II.1 Komposisi pisang kepek

Analisis	Komposisi pisang kepek (%)
Kadar air	11,09
Kadar abu	4,82
Kadar lemak	16,47
Kadar protein	5,92
Kadar serat kasar	20,96
Kadar karbohidrat	40,74
Kadar selulosa	14,04
Kadar lignin	33,79

*berdasarkan berat basah

(Direktorat Gizi, Dept. Kesehatan RI, 1981)

Kandungan selulosa dan hemiselulosa dalam kulit pisang muda lebih tinggi dari kulit pisang yang telah tua. Bobot daging buah makin tua makin bertambah sedang kulit pisang makin tua makin berkurang bobotnya sehingga nisbah bobot daging buah / kulit makin tua makin besar. Hal ini dikarenakan kandungan selulosa dan hemiselulosa dalam kulit pisang yang sedang mengalami proses penuaan diubah menjadi zat pati.

II.3 Proses Pembuatan Bioetanol

Proses pembuatan *etanol* secara industri tergantung bahan bakunya. Bahan yang mengandung gula biasanya tidak atau sedikit saja memerlukan pengolahan pendahuluan. Tetapi bahan-bahan yang mengandung pati atau selulosa harus dihidrolisa terlebih dahulu menjadi gula barulah dilakukan fermentasi menjadi *etanol*. Produksi *etanol*/bioetanol (alkohol) dengan bahan baku tanaman yang mengandung pati atau karbohidrat, dilakukan melalui proses konversi karbohidrat menjadi gula (glukosa) larut air (Nurdyastuti, 2008). Penggunaan lignoselulosa sebagai bahan

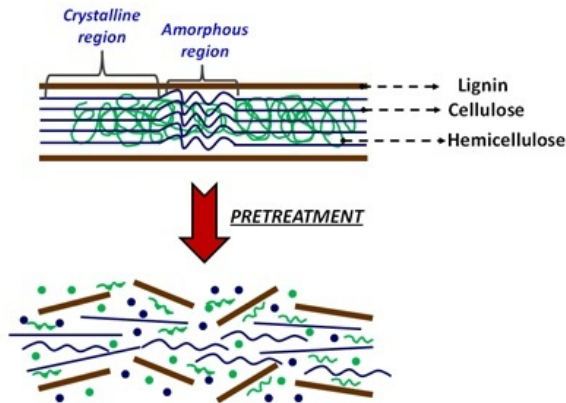
baku untuk memproduksi *etanol* dapat menurunkan biaya produksi dari segi harga bahan baku dibandingkan penggunaan gula dan jagung sebagai bahan baku (Wheals dkk., 1999).

Proses konversi biomassa berlignoselulosa menjadi bioetanol pada dasarnya terdiri dari tiga tahap utama, yaitu perlakuan pendahuluan (*pretreatment*), hidrolisis selulosa dan hemiselulosa menjadi gula sederhana, dan fermentasi gula sederhana menjadi *etanol*.

II.3.1 Pretreatment Lignoselulosa

Bioetanol dari bahan lignoselulosa pada umumnya dapat diperoleh dari fraksi selulosa dan hemiselulosa karena struktur lignin tidak dapat digunakan untuk memproduksi etanol melalui proses hidrolisis. Oleh karena itu *pretreatment lignoselulosa* merupakan suatu tahap penting dalam proses konversi biomassa berlignoselulosa. Menurut (Sun & Cheng, 2002) *pretreatment* seharusnya memenuhi kebutuhan berikut ini: 1) meningkatkan pembentukan gula atau kemampuan menghasilkan gula pada proses berikutnya melalui hidrolisis enzimatis; 2) menghindari degradasi atau kehilangan karbohidrat; 3) menghindari pembentukan produk samping yang dapat menghambat proses hidrolisis dan fermentasi, 4) biaya yang dibutuhkan ekonomis. *Pretreatment* dapat digunakan untuk menghilangkan lignin, mengurangi kristalinitas selulosa, dan meningkatkan porositas bahan sehingga memudahkan proses hidrolisis serta fermentasi gula. Ada beberapa metode *pretreatment* yang dapat dilakukan, yaitu secara kimiawi, biologi dan fisik. *Pretreatment* kimiawi yang memanfaatkan larutan asam kuat dan tidak membutuhkan enzim saat proses hidrolisis berlangsung (Sun & Cheng, 2002). Keuntungan dari penggunaan metode ini adalah mudah disesuaikan dengan jenis bahan baku, selain itu gula yang dihasilkan tinggi, dan temperatur yang diinginkan rendah. Sedangkan kelemahan dari metode ini adalah asam yang digunakan bersifat korosif dan membutuhkan recycle asam untuk menekan biaya kebutuhan asam.

Tujuan utama dari proses pre-treatment ini yaitu untuk membuka struktur lignoselulosa sehingga selulosa menjadi lebih mudah untuk diakses oleh enzim yang akan memecah polymer polisakarida menjadi monomer gula. Secara skematis proses pre-treatment ditunjukkan pada gambar dibawah ini :



Gambar II.2 Proses *pretreatment* lignoselulosa

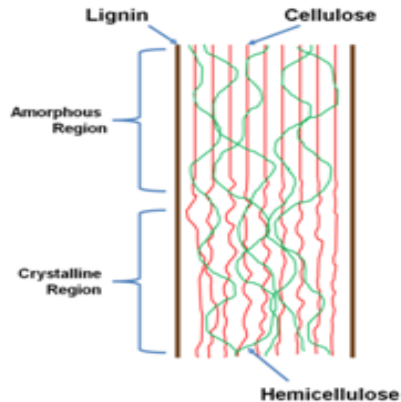
Dengan menggunakan pre-treatment asam, ikatan hydrogen dalam selulosa dapat terputus sehingga selulosa dapat terurai menjadi monosakarida dan oligosakarida. Namun kendala yang ditemui dalam menggunakan pre-treatment asam ini yaitu produk harus dipisahkan terlebih dahulu dari asam sebelum dimanfaatkan.

Lignoselulosa

Lignoselulosa merupakan senyawa yang tersusun terutama atas lignin, selulosa, dan hemicelulosa. Kandungan ketiganya bervariasi tergantung pada jenis dan umur tanaman (Khairil, 2009). Komponen ini merupakan sumber penting untuk menghasilkan produk bermanfaat seperti gula dari proses fermentasi, bahan kimia dan bahan bakar cair. Lignoselulosa bisa diperoleh dari bahan kayu, jerami, rumput-rumputan, limbah

pertanian/hutan, limbah industri (kayu, kertas) dan bahan berserat lainnya.

Enzim yang dapat digunakan untuk mendegradasi lignoselulosa adalah selulase yang banyak digunakan dalam berbagai industri seperti industri makanan, farmasi, tekstil, detergen dan sebagainya.



Gambar II.3 Struktur lignoselulosa

a. Lignin

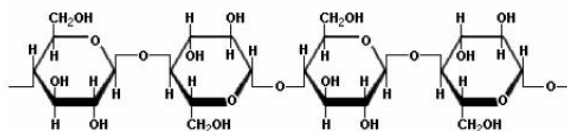
Secara morfologi lignin merupakan senyawa amorf yang terdapat dalam lamela tengah majemuk maupun dalam dinding sekunder. Selama perkembangan sel, lignin dimasukkan sebagai komponen terakhir di dalam dinding sel, menembus di antara fibril-fibril sehingga memperkuat dinding sel (Fengel dan Wegener 1995). Lignin merupakan polimer yang strukturnya heterogen dan kompleks yang terdiri dari koniferil alkohol, sinaphil alkohol, dan kumaril alkohol sehingga sulit untuk dirombak. Sekitar 30% material pohon adalah lignin yang berfungsi sebagai penyedia kekuatan fisik pohon, pelindung dari biodegradasi dan serangan mikroorganisme (Schlegel, 1994; Singh, 2006). Lignin dapat dibagi menjadi beberapa kelas menurut unsur-unsur strukturnya. Lignin yang terdapat di hampir semua kayu lunak disebut dengan lignin guaiasil di mana sebagian besar merupakan produk polimerisasi dari koniferil

alkohol. Dinding sel tersusun oleh suatu rangka molekul selulosa, antara lain terdapat pula lignin. Kedua bagian ini merupakan satu kesatuan erat, yang menyebabkan dinding sel menjadi kuat menyerupai beton bertulang besi. Lignin terletak terutama dalam lamela tengah dan dinding primer (Dumanauw 2001).

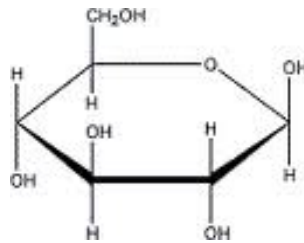
b. Selulosa

Selulosa adalah komponen organik dengan rumus molekul $(C_6H_{10}O_5)_n$ yang merupakan polisakarida yang tersusun atas beta-glukosa. Selulosa menyusun dinding sel tanaman hijau dan merupakan konstituen kayu. Kurang lebih 40% sampai dengan 45% bahan kering kayu, baik kayu daun jarum maupun kayu daun lebar terdiri dari selulosa terutama dinding sekunder. Selulosa dapat dihidrolisis dengan asam kuat maupun dengan enzim selulase. Selain itu juga bisa dihidrolisis oleh mikroba seperti bakteri dan kapang. Hidrolisis sempurna akan menghasilkan glukosa dan hidrolisis tidak sempurna menghasilkan disakarida berupa selobiosa (Winarno, 1980). Ketersediaan selulosa yang sangat melimpah di bumi karena keberadaannya sebagai penyusun dinding sel tumbuhan hijau membuat bahan berselulosa dapat dijadikan alternatif pilihan yang tepat sebagai bahan baku pembuatan etanol.

Selulosa merupakan homopolisakarida yang tersusun atas unit-unit β -D-glukopiranosida yang terikat satu sama lain dengan ikatan-ikatan glikosida. Molekul-molekul selulosa seluruhnya berbentuk linier dan mempunyai kecenderungan kuat membentuk ikatan hydrogen intra dan intramolekul (Sjostrom, 1995). Selulosa dapat dihidrolisis secara kuantitatif menjadi glukosa, hal ini menunjukkan bahwa molekul selulosa terdiri dari satu rangkaian unit glukosa.



Gambar II.4 Struktur molekul selulosa



Gambar II.5 Struktur molekul glukosa

c. Hemiselulosa

Hemiselulosa merupakan heteropolisakarida yang berfungsi sebagai bahan pendukung dalam dinding-dinding sel. Hemiselulosa relatif mudah dihidrolisis oleh asam menjadi komponen-komponen monomernya yang terdiri dari D-glukosa, D-manosa, D-galaktosa, D-xilosa, L-arabinosa, dan sejumlah kecil L-ramnosa. Jumlah hemiselulosa dari berat kering kayu biasanya antara 20 dan 30% (Sjostrom 1995).

Hemiselulosa memiliki sifat-sifat yaitu tidak tahan terhadap perlakuan panas, strukturnya amorf dan mudah dimasuki pelarut, dapat diekstraksi menggunakan alkali dan ikatannya lemah sehingga mudah dihidrolisis (Fengel dan Wegener 1995). Hemiselulosa tersusun oleh gula bermartabat lima dengan rumus $C_5H_{10}O_5$ (*pentosan*) atau gula bermartabat enam $C_6H_{12}O_6$ (*hexosan*). Zat-zat ini berfungsi sebagai bahan bangunan dinding-dinding sel dan juga sebagai bahan zat cadangan (Dumanauw 2001). Menurut Anggorodi (1979) mengatakan bahwa hemiselulosa merupakan golongan zat karbohidrat yang tidak larut dalam air mendidih, tetapi larut dalam alkali encer dan hancur dalam asam encer.

II.3.2 Hidrolisis Enzimatis

Hidrolisis adalah reaksi kimia antara air dengan suatu zat lain yang menghasilkan satu zat baru atau lebih dan juga dekomposisi suatu larutan dengan menggunakan air. Proses ini

melibatkan pengionan molekul air ataupun peruraian senyawa yang lain (Pudjatmaka dan Qodratillah, 2002). Proses tersebut dapat terjadi dalam suasana asam, basa, atau netral tergantung pada senyawa yang bereaksi serta karena enzim. Hidrolisa selulosa merupakan suatu proses yang dilakukan untuk menghasilkan glukosa. Terdapat dua metode yang digunakan untuk hidrolisa selulose yaitu dalam suasana asam dan secara enzimatik.

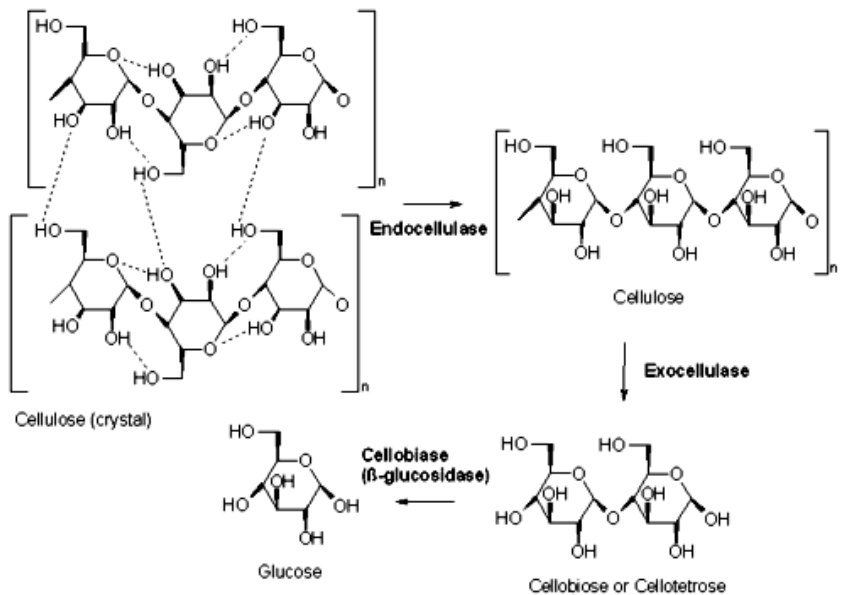
Enzim merupakan protein alam yang dapat mengkatalisis reaksi tertentu. Untuk dapat bekerja, enzim harus kontak langsung dengan substrat yang akan dihidrolisa. Karena selulosa secara alami terikat oleh lignin yang bersifat permeable terhadap air sebagai pembawa enzim, maka untuk proses hidrolisis secara enzimatik membutuhkan pretreatment sehingga enzim dapat berkontak langsung dengan selulosa. Hidrolisis secara enzimatik memanfaatkan enzim penghidrolisis selulosa, yaitu selulase atau bisa juga langsung menggunakan mikroba penghasil selulase, misalnya *Trichoderma reesei*. Keuntungan hidrolisis secara enzimatik adalah efisiensi reaksi tinggi karena enzim bersifat selektif sehingga pembentukan produk samping bias diminimalisasi, kondisi reaksi temperature dan tekanan tidak tinggi, bahkan dapat dilakukan pada temperature ruang dan tekanan atmosfer sehingga tidak membutuhkan peralatan khusus untuk reaksi. Selain itu, hidrolisis secara enzimatik lebih menguntungkan karena ramah lingkungan. (Trisanti Anindyawati, 2009). Sedangkan kekurangan metode hidrolisis enzimatik ini adalah waktu reaksi yang dibutuhkan lebih lama, bisa mencapai 72 jam. Hidrolisa enzim ini dilakukan oleh enzim selulase yang akan mengubah selulosa menjadi glukosa. Enzim ini akan digunakan untuk menghidrolisa sehingga memecah polisakarida menjadi komponen-komponen yang lebih pendek salah satunya adalah glukosa.

Selulase adalah enzim yang mampu memutuskan ikatan glikosidik β (1,4) pada selulosa, selodekstrin, selobiosa, dan turunan selulosa lainnya. Enzim selulase terdiri dari

endoglucanase, *exoglucanase*, dan β -glukosidase. *Endoglucanase* berfungsi untuk memecah polisakarida selulosa menjadi rantai yang lebih pendek yaitu oligosakarida. Sedangkan *exoglucanase* berfungsi mengubah satuan oligosakarida menjadi molekul-molekul disakarida. Bagian lain adalah β -glukosidase yang berfungsi untuk mengkonversi atau memecah satuan disakarida menjadi dua molekul glukosa yang merupakan gula sederhana yang dapat diubah menjadi etanol.

Proses hidrolisis merupakan langkah untuk memecah struktur polisakarida menjadi monosakarida. Rantai selulosa yang terhidrolisis akan menghasilkan disakarida selobiosa. Selanjutnya selobiosa yang terhidrolisis lebih lanjut akan menghasilkan glukosa. Selobiosa merupakan disakarida yang tersusun dari dua unit monomer glukosa. Selobiosa diperoleh dari hidrolisis parsial selulosa.

Mekanisme hidrolisis selulosa oleh enzim selulase dapat dilihat dalam gambar dibawah ini.



Gambar II.6 Mekanisme hidrolisis selulosa

Proses hidrolisis terdiri dari tahap likuifikasi dan sakarifikasi. Tahap likuifikasi digunakan jamur *Aspergillus niger* yang menghasilkan enzim α -amilase dan glukoamilase untuk mendegradasi pati. Enzim α -amilase mampu memutus ikatan α -1,4 glikosida secara acak di bagian dalam pati. Akibat dari aktivitas tersebut, rantai pati terputus-putus menjadi maltosa, maltotriosa, glukosa dan dekstrin. Sedangkan enzim glukoamilase akan memecah ikatan α -1,4 glikosida dan α -1,6 glikosida pada molekul pati menjadi gula reduksi (Purwantari dkk., 2004). Selain menghasilkan enzim α -amilase dan glukoamilase, *Aspergillus niger* juga menghasilkan enzim selulase. Enzim ini menghidrolisis acak dari ikatan β -(1,4) glikosida dari selulosa.

Selain menggunakan *Aspergillus niger*, hidrolisis likuifikasi juga dapat menggunakan *Trichoderma reesei*. Fungi jenis *Trichoderma reesei* dapat menghasilkan endo- β -1,4-glukanase dan ekso- β -1,4-glukanase sampai dengan 80% tetapi β -glukosidasenya rendah (Martins Dkk 2008) sedangkan fungi jenis *Aspergillus niger* dapat menghasilkan glukosidase lebih tinggi jika dibandingkan dengan endo- β -1,4-glukanase dan ekso- β -1,4-glukanase. Setelah terjadi likuifikasi, selanjutnya bahan akan mengalami proses sakarifikasi oleh enzim glukoamilase. Glukoamilase merupakan eksoenzim yang terutama memecah ikatan α -1,4 dengan melepaskan unit-unit glukosa dari ujung non reduksi molekul amilosa dan amilopektin untuk memproduksi β -D-glukosa (Nikolov dan Reilly, 1991). Tahap sakarifikasi digunakan ragi *Saccharomyces cerevisiae* yang menghasilkan enzim glukoamilase untuk mengubah polisakarida menjadi gula yang dapat difermentasi (glukosa, galaktosa, manosa dan sebagainya).

Faktor-faktor yang berpengaruh dalam proses hidrolisa adalah sebagai berikut :

- a. Jumlah kandungan karbohidrat pada bahan baku

Jumlah kandungan karbohidrat pada bahan baku sangat berpengaruh terhadap hasil hidrolisis asam, dimana bila kandungan karbohidrat sedikit maka jumlah gula yang

terjadi juga sedikit, dan sebaliknya bila suspensi terlalu tinggi mengakibatkan kekentalan campuran akan semakin meningkat, sehingga tumbukan antara molekul karbohidrat dan air akan semakin berkurang, dengan demikian maka reaksi pembentukan glukosa semakin berkurang. Bahan yang hendak dihidrolisa diaduk dengan air panas dan jumlah bahan kering umumnya sekitar 18–22%.

- b. pH
pH berpengaruh terhadap jumlah produk hidrolisa. pH ini erat hubungannya dengan konsentrasi asam yang digunakan pada umumnya. pH terbaik sekitar 2,3.
- c. Tekanan
Tekanan berpengaruh terhadap jumlah produk hidrolisis. Pada umumnya waktu hidrolisa yang dibutuhkan sekitar 40–50 menit. Untuk hidrolisis yang berlangsung pada tekanan atmosfer titik didih larutan 100°C (Soebijanto,1986).
- d. Suhu
Pengaruh suhu terhadap kecepatan hidrolisa karbohidrat akan mengikuti persamaan Arrhenius, bahwa semakin tinggi suhunya semakin tinggi konversi yang didapat.

II.3.3 Mikroorganisme Penghasil Selulase

Enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme dapat diproduksi secara intraseluler atau ekstraseluler. Enzim intraseluler mempunyai aktivitas didalam sel, sedangkan enzim ekstraseluler di luar sel. Fungsi enzim ekstraseluler tersebut yaitu menghidrolisa senyawa yang yang berbobot molekul tinggi menjadi senyawa sederhana sehingga dapat dimanfaatkan oleh mikroorganisme tersebut. semua enzim ekstraseluler termasuk dalam golongan hidrolase (Judoamidjojo dkk, 1989).

Mikroorganisme penghasil enzim selulase secara ekstraseluler tersebar pada kapang dan bakteri. Sumber dari kapang yang baik untuk memproduksi enzim selulase adalah

Trichoderma reesei, *Trichoderma viride*, *Trichoderma koningii*, *Aspergillus niger*, *Penicillium triensis*, *Penicillium verruculosum*, *Penicillium funiculosum*, *Myrothecium verrucaria*, *Furasium solani*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Pellicularia filamentosa*, dan *Eupenicillium javanicum* (Enari, 1983).

II.3.3.1 *Trichoderma reesei*

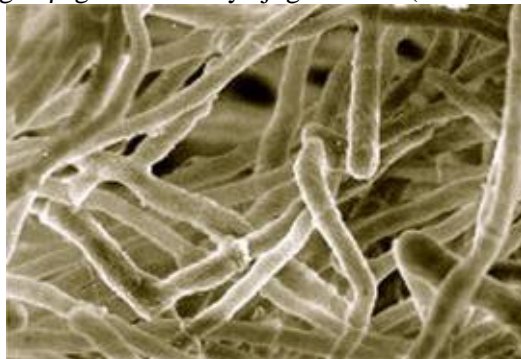
Sistem kerja enzim selulase membutuhkan enzim dari *Aspergillus Niger* dan *Trichoderma Reesei*, dimana genus *Trichoderma Reesei* ini mampu menghasilkan endoglukanase sampai 80%, tetapi β -glukanase rendah sehingga produk utama hidrolisisnya bukan glukosa melainkan selobiosa (Juhasz dkk, 2003; Martins dkk., 2008; Ahmed dan Vermentte, 2008), yang merupakan inhibitor kuat terhadap endo dan eksoglukanase.

Keuntungan penggunaan *Trichoderma* sebagai sumber selulase adalah sebagai berikut:

- a. Menghasilkan selulase yang lengkap dengan semua komponen yang dibutuhkan untuk hidrolisis total selulase kristal
- b. Memberikan rendemen protein selulase yang tinggi

Sedangkan kerugian dari penggunaan *Trichoderma* dalam proses hidrolisis ini yaitu antara lain :

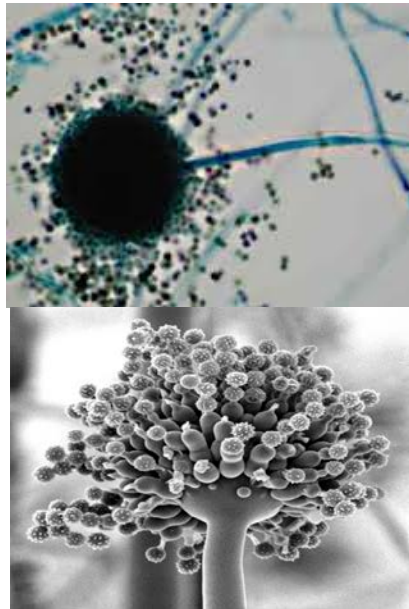
- a. Ketidakmampuan *Trichoderma* dalam mencerna lignin
- b. Aktivitas spesifik dari enzim selulasenya rendah
- c. Kandungan β -glukosidasenya juga rendah (Mendels, 1982).



Gambar II.7 *Trichoderma reesei*

II.3.3.2 *Aspergillus Niger*

Aspergillus niger bersifat aerobik sehingga dalam pertumbuhannya membutuhkan oksigen dalam jumlah yang cukup banyak. Selain itu pertumbuhan *Aspergillus niger* dalam pertumbuhannya juga sangat dipengaruhi oleh ketersediaan senyawa-senyawa nitrogen baik nitrogen organik maupun nitrogen anorganik. Sumber nitrogen organik yang baik adalah pepton, sedangkan sumber nitrogen anorganik yang sering digunakan adalah garam-garam amonium dan nitrat (Enari,1983). Suhu pertumbuhan kapang tersebut adalah 35-37 °C, sedangkan suhu untuk memproduksi selulase adalah 25-28 °C (Frazier dan Westhoff, 1981). *Aspergillus niger* dapat tumbuh pada kisaran pH antara 2,6 dan 8,8. *Aspergillus niger* merupakan kapang penghasil enzim selulase yang banyak mengandung β -glukosidase tetapi rendah akan ekso dan endoglukanase (Mendels, 1982).

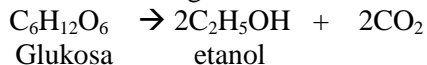


Gambar II.8 *Aspergillus niger*

2.3.4 Fermentasi

Fermentasi adalah suatu proses oksidasi karbohidrat anaerob jenuh atau sebagian. Dalam suatu proses fermentasi bahan pangan seperti Natrium Klorida bermanfaat untuk membatasi pertumbuhan organisme pembusuk dan mencegah pertumbuhan sebagian besar organisme yang lain. Suatu fermentasi yang busuk biasanya adalah fermentasi yang mengalami kontaminasi, sedangkan fermentasi yang normal adalah perubahan karbohidrat menjadi alkohol.

Mikroba yang digunakan untuk fermentasi dapat berasal dari makanan tersebut dan dibuat pemupukan terhadapnya. Tetapi cara tersebut biasanya berlangsung agak lambat dan banyak menanggung resiko pertumbuhan mikroba yang tidak dikehendaki lebih cepat. Maka untuk mempercepat perkembangbiakan biasanya ditambahkan mikroba dari luar dalam bentuk kultur murni ataupun starter (bahan yang telah mengalami fermentasi serupa). Fermentasi bioetanol dapat didefinisikan sebagai proses penguraian gula menjadi bioetanol dan karbondioksida yang disebabkan enzim yang dihasilkan oleh masa sel mikroba. Perubahan yang terjadi selama proses fermentasi adalah perubahan glukosa menjadi bioetanol oleh sel *Saccharomyces cerevisiae* sebagai berikut :



Pada awal fermentasi aktivitas enzim masih sangat rendah. Aktivitas enzim akan meningkat sejalan dengan bertambahnya waktu fermentasi dan menurun pada hari ke-10. Hal ini mengikuti pola pertumbuhan mikroorganisme yang mengalami beberapa fase pertumbuhan yaitu fase adaptasi, fase eksponensial, fase stasioner, dan fase kematian (Abdul Aziz Darwis dkk, 1995). Alkohol yang dihasilkan dari proses fermentasi hasilnya masih rendah kadarnya (dibawah 12%) sehingga diproses “destilasi” secara bertahap supaya menghasilkan kadar alkohol 96%.

Berikut merupakan factor-faktor yang mempengaruhi proses fermentasi :

a. Kadar gula

Hampir semua mikroorganisme dapat memfermentasikan glukosa, fruktosa, sukrosa, dan galaktosa sampai kadar gula optimum, massa sel akan bertambah sesuai dengan kadar oksigen yang tersedia hal ini penting dalam proses pembuatan starter dan ragi roti, konsentrasi gula yang baik antara 10–18%, apabila dipergunakan konsentrasi lebih dari 18% akan mengakibatkan pertumbuhan ragi terhambat dan waktu fermentasi lama mengakibatkan banyak gula yang tidak terfermentasi, sehingga hasil alkohol akan rendah begitu juga bila konsentrasi kurang dari 10%, maka alkohol yang dihasilkan juga rendah (D.Syamsul Bahri,1973).

b. Suhu

Suhu berpengaruh terhadap proses fermentasi melalui dua hal yaitu:

Secara langsung mempengaruhi aktifitas enzim mikroorganisme dan secara tidak langsung mengurangi hasil alkohol karena penguapan, suhu yang baik untuk fermentasi sekitar 31-33°C, pertumbuhan mikroorganisme, pembentukan produk, reaksi pertumbuhan mikrobial juga dipengaruhi oleh suhu. Pembentukan produk juga bergantung pada suhu (E.Gumbira Said,1987).

c. pH

pH untuk proses fermentasi berkisar 4,5–5. pH adalah pH yang cocok untuk *saccharomyces cereviseae* dan pada pH ini dapat mencegah pertumbuhan bakteri jenis lain. Pertumbuhan organisme sebagian besar sangat peka terhadap perubahan pH, akan tetapi setiap kelompok organisme mempunyai nilai optimum yang tertentu. Pada keasaman dibawah pH 3 proses fermentasi akan berkurang kecepatannya karena adanya aktifitas fermentasi.

d. Nutrient yang dibutuhkan

Bahan nutrient yang ditambahkan kedalam bahan yang difermentasi adalah zat–zat yang mengandung phosphor dan nitrogen seperti super phosphat, ammonium sulfat, ammonium

phosphat, urea, dan lain – lain. Selain itu juga biasa ditambahkan magnesium sulfat. Karena bakteri terdiri dari unsur–unsur C,H,O,N, dan P, maka dapat dipastikan bahwa bila kekurangan unsur–unsur tersebut maka bakteri tidak akan tumbuh dengan baik atau berkembang biak. Hal ini mempengaruhi produk fermentasi, bila nutrient yang ditambahkan terlalu banyak maka akan terjadi kejenuhan yang akan menghambat pertumbuhan sel yang berakibat produk fermentasi terpengaruhi.

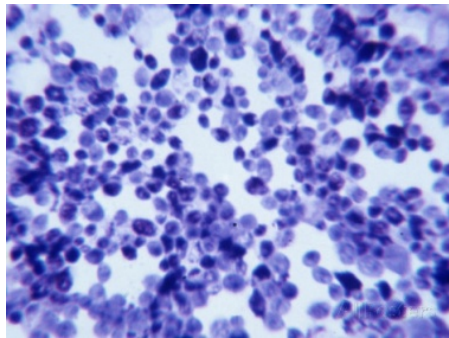
e. Waktu fermentasi

Waktu fermentasi diperlukan dipengaruhi oleh temperature, konsentrasi gula, dan faktor-faktor lainnya tetapi biasanya waktu yang diperlukan antara 30–72 jam.

II.3.4.1 *Saccharomyces cerevisiae*

Mikroorganisme yang umumnya digunakan dalam proses produksi bioetanol adalah *Saccharomyces cerevisiae*. *Saccharomyces cerevisiae* memiliki beberapa kelebihan dibandingkan dengan mikroorganisme lain yang dapat memproduksi bioetanol. Kelebihan tersebut antara lain lebih mudah beradaptasi dengan lingkungan, lebih tahan terhadap kadar alkohol tinggi, dan lebih mudah didapat di pasaran. *Saccharomyces cerevisiae* dapat mengkonversi gula menjadi *etanol* karena adanya enzim invertase dan zimase. Dengan adanya enzim-enzim ini *Saccharomyces cerevisiae* memiliki kemampuan untuk mengkonversi baik gula dari kelompok monosakarida maupun dari kelompok disakarida. Jika gula yang tersedia dalam substrat merupakan gula disakarida maka enzim invertase akan bekerja menghidrolisis disakarida menjadi monosakarida. Setelah itu, enzim zymase akan mengubah monosakarida tersebut menjadi alkohol dan CO₂ (Judoamidjojo, 1992). *Saccharomyces cerevisiae* akan tumbuh optimal dalam kisaran suhu 30-35°C dan puncak produksi alkohol dicapai pada suhu 33°C. Jika suhu terlalu rendah, maka fermentasi akan berlangsung secara lambat dan sebaliknya jika suhu terlalu tinggi maka *Saccharomyces cerevisiae* akan mati sehingga proses fermentasi tidak akan

berlangsung (Kumalasari, 2011). Kisaran pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* adalah pada pH 3,5-6,5. pada kondisi basa *Saccharomyces cerevisiae* tidak dapat tumbuh (Roukas, 1994). Ditambahkan oleh Elevri dan Putra (2006), bahwa produksi *etanol* oleh *Saccharomyces cerevisiae* paling maksimal dapat dicapai pada pH 4,5. *Saccharomyces cerevisiae* dapat tumbuh dengan baik pada kondisi aerob, tetapi untuk melakukan proses fermentasi alkohol, dibutuhkan kondisi anaerob. Berikut merupakan gambar *Saccharomyces cerevisiae* :



Gambar II.9 *Saccharomyces cerevisiae*

Faktor-faktor Yang Mempengaruhi Kehidupan *Saccharomyces cerevisiae*

Ada berbagai factor yang mempengaruhi kehidupan ragi *saccharomyces cerevisiae*, yaitu sebagai berikut :

1. Nutrisi (Zat Gizi)

Dalam kegiatannya khamir memerlukan penambahan nutrisi untuk pertumbuhan dan

perkembangbiakan, yaitu :

- a. Unsur C, ada factor karbohidrat Unsur N, dengan penambahan pupuk yang mengandung nitrogen, misal ZA, urea, ammonia, dan sebagainya.
- b. Unsur P, dengan penambahan pupuk fosfat, misal NPK, TSP, DSP, dan sebagainya.

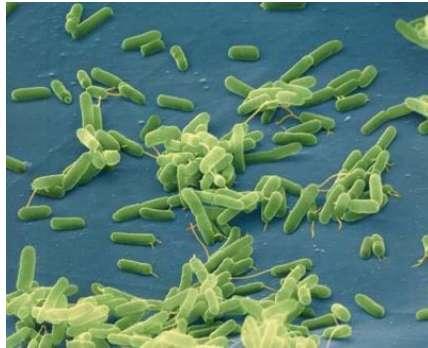
- c. Mineral-mineral
 - d. Vitamin-vitamin
2. Keasaman (pH)
- Untuk fermentasi alkohol, khamir memerlukan media dengan suasana asam, yaitu antara pH 4,8 – 5,0. Pengaturan pH dapat dilakukan dengan penambahan asam sulfat jika substratnya alkalis atau dengan natrium bikarbonat jika substratnya asam.
3. Suhu
- Suhu optimum untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan adalah 28° - 30°C. Pada waktu fermentasi terjadi kenaikan panas, karena reaksinya eksoterm. Untuk mencegah agar suhu fermentasi tidak naik, perlu pendinginan agar dipertahankan tetap 26° – 30°C.
4. Udara
- Fermentasi alkohol berlangsung secara anaerobic (tanpa udara). Namun demikian udara diperlukan pada proses pembibitan sebelum fermentasi untuk perkembangbiakan khamir tersebut. (Nur Hidayat, 2006).

II.3.4.2 *Zymomonas mobilis*

Bakteri *Zymomonas mobilis* tumbuh secara anaerob dan mempunyai toleransi suhu tinggi, kemampuan untuk mencapai konversi yang lebih tinggi, tahan terhadap kadar *etanol* yang tinggi jika dibandingkan dengan *Saccharomyces cerevisiae* (Gunasekaran, 1999). Selain itu *Zymomonas mobilis* memiliki beberapa kelebihan dibandingkan *Saccharomyces cerevisiae*, diantaranya pH rendah (Zhang *et al.*, 2010). pH yang efektif untuk pertumbuhan *Zymomonas mobilis* adalah 4- 6,5 dan *Zymomonas mobilis* dapat menguraikan glukosa, fruktosa, dan sukrosa untuk memproduksi *etanol* (Nowak, 2000). Semakin banyak gula reduksi yang dapat dimanfaatkan oleh sel *Zymomonas mobilis*, makin tinggi pula kadar *etanol* yang dihasilkan (Yang *et al.*, 2009).

Konsentrasi inokulum *Zymomonas mobilis* yang optimum adalah 5% (Chaudhary *et al.*, 2006) dan ada juga yang menyebutkan bahwa konsentrasi inokulum *Zymomonas mobilis*

yang optimum adalah 10% (Onsoy *et al.*, 2007). Sedangkan konsentrasi inokulum *Zymomonas mobilis* 0% adalah sebagai kontrol. Pada waktu fermentasi 0 hari, konsentrasi inokulum tidak akan memberikan pengaruh pada kadar *etanol* yang dihasilkan karena bakteri *Zymomonas mobilis* tidak memiliki waktu untuk melakukan proses fermentasi.



Gambar II.10 *Zymomonas mobilis*

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan secara batch di Laboratorium Pengolahan Limbah Industri, Jurusan Teknik Kimia, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, dengan menggunakan limbah kulit pisang kepok. Biakan murni yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Aspergillus niger*, *Trichoderma reesei*, *Saccharomyces cerevisiae*, dan *Zymomonas mobilis* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Universitas Airlangga, Surabaya dan Laboratorium Mikrobiologi Industri, Jurusan Teknik Kimia, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya.

Pada penelitian kali ini dilakukan tiga tahapan utama, yaitu perlakuan pendahuluan (*pre-treatment*) secara kimiawi dengan menggunakan penambahan asam sulfat (H_2SO_4) 2%, proses hidrolisis selulosa dan hemiselulosa menjadi gula sederhana melalui tahap likuifikasi dan sakarifikasi, dan fermentasi gula sederhana menjadi bioetanol.

III.1 Variabel Penelitian

III.1.1 Kondisi Operasi

III.1.1.1 Pretreatment dengan Penambahan Asam Sulfat (H_2SO_4)

❖ Massa kulit pisang	: 25 gram
❖ Volume H_2SO_4 2%	: 420 mL
❖ Volume NaOH 6M	: 30 mL
❖ Volume buffer asetat 0,1M	: 50 mL
❖ Temperatur operasi	: 30 °C
❖ pH	: 4 – 5
❖ Konsentrasi asam sulfat (% v/v)	: 2%
❖ Pengadukan	: 7 jam

III.1.1.2 Hidrolisis Likuifikasi

❖ Temperatur operasi	: 50 °C
❖ pH	: 4 – 5
❖ Waktu hidrolisis likuifikasi	: 64 jam

- ❖ Kecepatan pengadukan : 75 rpm

III.1.1.3 Hidrolisis Sakarifikasi

- ❖ pH : 4 – 5
- ❖ Temperatur operasi : 30 °C
- ❖ Penambahan *Saccharomyces cerevisiae* : 10% (v/v)

III.1.1.4 Fermentasi

- ❖ Temperatur inkubasi : 19-32 °C
- ❖ Waktu inkubasi : 2-7 hari
- ❖ pH fermentasi : 3,4 - 4

III.1.2 Variabel

III.1.2.1 Hidrolisis Likuifikasi

- ❖ Persen volume enzim yang ditambahkan:
 1. *Aspergillus niger* (pada log phase dengan jumlah $2,35 \times 10^6$ spora/ml) 10% volume bahan
 2. *Trichoderma Reesei* (pada log phase dengan jumlah 2×10^6 spora/ml) 10% volume bahan
 3. *Aspergillus niger* + *Trichoderma Reesei* dengan perbandingan volume 1 : 1 (total 10% volume bahan)
 4. *Aspergillus niger* + *Trichoderma Reesei* dengan perbandingan volume 1 : 2 (total 10% volume bahan)

III.1.2.2 Fermentasi

- ❖ Mikroorganisme yang digunakan untuk proses fermentasi bioetanol:
 1. *Saccharomyces cerevisiae* (pada log phase dengan jumlah $1,25 \times 10^6$ spora/ml) 20% (v/v)
 2. *Zymomonas mobilis* (pada log phase dengan jumlah $1,2 \times 10^6$ spora/ml) 20% (v/v)
- ❖ Lama proses fermentasi bioetanol adalah 2 sampai 7 hari.

III.2 Parameter yang Dianalisa

III.2.1 Analisa Pendahuluan Kulit Pisang

Kadar selulosa, hemiselulosa, lignin, air, dan abu

III.2.2 Analisa Parameter Penelitian

- ❖ Kadar selulosa, hemiselulosa, lignin, air, dan abu setelah pretreatment dengan penambahan asam sulfat.
- ❖ Kadar selulosa, hemiselulosa, lignin, air, dan abu setelah hidrolisis likuifikasi dengan *Aspergillus niger* dan *Trichoderma Reesei*.
- ❖ Kadar selulosa, hemiselulosa, lignin, air, dan abu setelah hidrolisis sakarifikasi dengan *Saccharomyces cerevisiae*.

Kadar etanol setelah fermentasi dengan *Saccharomyces cerevisiae* dan *Zymomonas mobilis*

III.3 Bahan dan Peralatan

III.3.1. Bahan

1. Kulit pisang
2. H_2SO_4
3. NaOH
4. $MgCH_3COO$
5. *Aspergillus niger*
6. *Trichoderma Reesei*
7. *Saccharomyces cerevisiae*
8. *Zymomonas mobilis*
9. Nutrien Broth Agar (NBA)
10. Potato Dextrose Agar (PDA)

III.3.2. Peralatan

1. Blender
2. Oven
3. Cawan porselen
4. Martil
5. Gelas ukur
6. *Beaker Glass*
7. Erlenmeyer

8. *Hot plate*
9. *Analitical balance* (Ohaus)
10. Kertas saring
11. *Waterbath reaktor*
12. Pipet ukur
13. Kawat ose
14. Tabung reaksi
15. *Autoclave*
16. Inkubator

III.4 Metode Penelitian

III.4.1 Perlakuan awal

1. Mempersiapkan bahan baku berupa kulit pisang kepok yang dipasok dari limbah pabrik keripik pisang di Sidoarjo.
2. Membersihkan kulit pisang kepok tersebut terlebih dahulu dengan air dan memotongnya kecil-kecil, kemudian menghancurkan dengan menggunakan blender untuk memperluas permukaan kulit pisang sebelum proses pengeringan.
3. Mengeringkan kulit pisang yang telah hancur tersebut ke dalam oven dengan suhu ± 180 °C selama 1 hari, sehingga hasilnya adalah tepung kulit pisang.
4. Tepung kulit pisang tersebut diayak dengan saringan hingga diperoleh tepung kulit pisang berukuran 20 mesh.
5. Melakukan analisa kadar selulosa, hemiselulosa, lignin, air, dan abu.

III.4.2 Pretreatment dengan Penambahan Asam

1. Menyiapkan 25 gram tepung kulit pisang yang telah kering.
2. Menambahkan 420 mL asam sulfat 2% (v/v) ke dalam tepung kulit pisang, kemudian dilakukan pengadukan selama 7 jam dengan suhu 50°C dengan menggunakan *waterbath reactor* yang dilengkapi dengan agitator
3. Selanjutnya, suspensi kulit pisang dinetralkan dengan 30 mL NaOH 6 M dan ditambah 50 mL buffer asetat 0,1 M (pH 5).

4. Melakukan analisa kadar selulosa, hemiselulosa, lignin, air, dan abu.

III.4.3 Hidrolisis Likuifikasi

1. Membiakkan jamur *Aspergillus niger* dan *Trichoderma Reesei* pada *Potato Dextrose Agar* (PDA).
2. Menghitung jumlah jamur pada *log phase* menggunakan mikroskop, sehingga diperoleh konsentrasi jamur *Aspergillus niger* $2,35 \times 10^6$ spora/ml dan konsentrasi jamur *Trichoderma Reesei* 2×10^6 spora/ml.
3. Menambahkan jamur *Aspergillus niger* dan *Trichoderma Reesei* pada *log phase* sesuai dengan variabel yang disebutkan diatas.
4. Memasukkan ke dalam *waterbath reactor* selama 64 jam dengan suhu 50°C dan kecepatan pengadukan 75 rpm.
5. Melakukan analisa kadar glukosa pada masing-masing variabel dan mengambil feed dengan kadar glukosa tertinggi untuk melakukan tahap selanjutnya.

III.4.4 Hidrolisis Sakarifikasi

1. Membiakkan jamur *Saccharomyces cerevisiae* pada *Potato Dextrose Agar* (PDA).
2. Menghitung jumlah jamur pada *log phase* menggunakan mikroskop, sehingga diperoleh konsentrasi jamur *Saccharomyces cerevisiae* 2×10^6 spora/ml.
3. Menambahkan mikroba *Saccharomyces cerevisiae* pada *log phase* sebanyak 10% (v/v).
4. Melakukan proses hidrolisis sakarifikasi pada suhu 30°C selama 3 hari dengan aerasi.
5. Melakukan analisa kadar glukosa pada feed hasil hidrolisis sakarifikasi.

III.4.5 Proses Fermentasi

1. Memasukkan *feed* hasil hidrolisis sakarifikasi ke dalam fermentor.

2. Menambahkan mikroba *Saccharomyces cerevisiae* dan *Zymomonas mobilis* sesuai dengan variabel yang telah ditentukan ke dalam fermentor.
3. Melakukan proses fermentasi dilakukan sampai dengan 7 hari dengan menjaga pH pada suasana asam dan suhu 30°C.
4. Menganalisa kadar etanol hasil fermentasi.

III.5 Gambar Alat

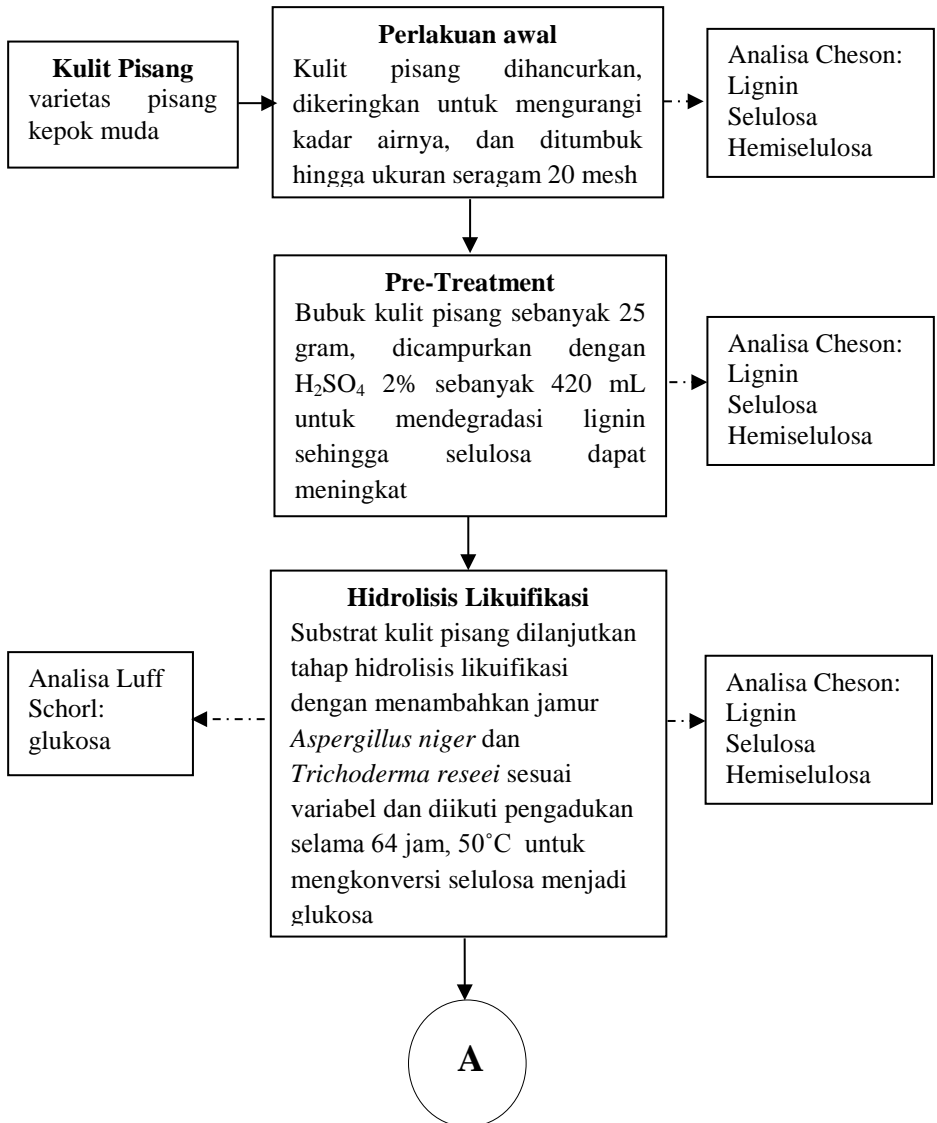


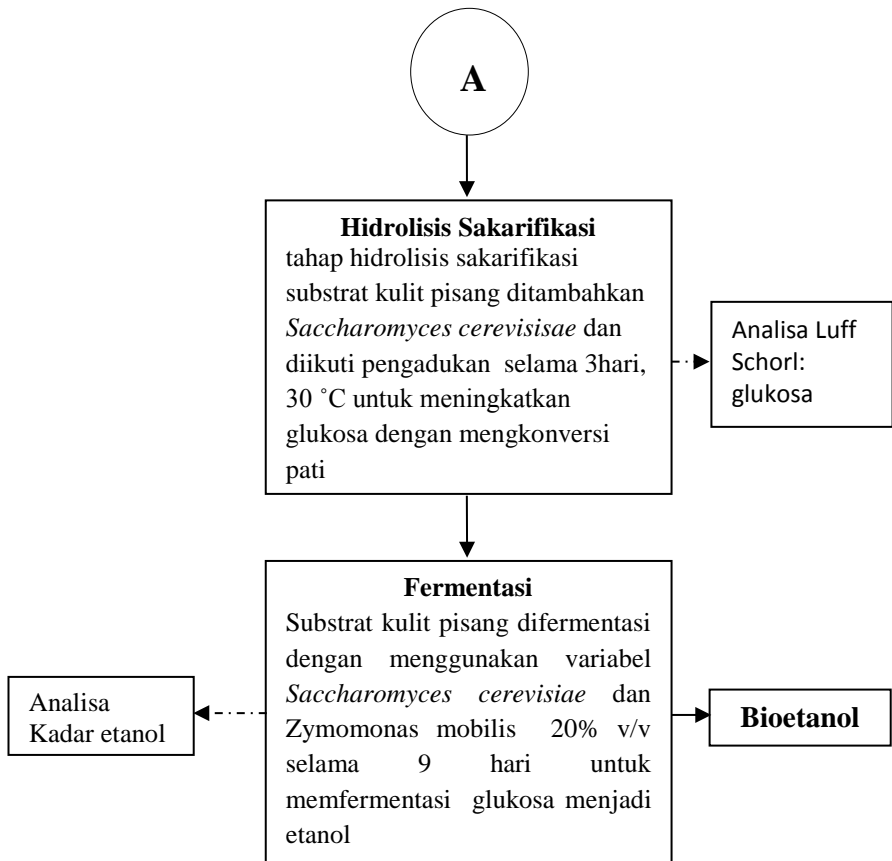
Gambar III.1 *Waterbath reactor fungal treatment*



Gambar III.2 *Fermentor batch*

III.6 Prosedur Kerja





Gambar III.3 Bagan pembuatan etanol

III.7 Prosedur Analisa

III.7.1 Analisa Selulosa, Hemiselulosa, dan Lignin dengan Metode Chesson

1. Mengambil 1 gram sampel kering (massa a) dan menambahkan 150 ml H₂O. Kemudian mereflux pada suhu 100°C dengan *waterbath* selama 1 jam.
2. Menyaring hasilnya dan mencuci residu dengan air panas 300 ml.
3. Mengeringkan residu dengan oven sampai massanya konstan dan menimbang residu tersebut (massa b).
4. Menambahkan 150 ml H₂SO₄ 1N dalam residu kering, kemudian mereflux dengan *waterbath* selama 1 jam pada suhu 100°C.
5. Menyaring hasilnya dan menyuci sampai netral. Kemudian mengeringkan residu hingga massanya konstan (massa c).
6. Menambahkan 100 ml H₂SO₄ 72% ke dalam residu dan merendamnya pada suhu kamar selama 4 jam.
7. Menambahkan 150 ml H₂SO₄ 1N dan mereflux pada suhu 100°C dengan *waterbath* selama 1 jam.
8. Menyaring residu dan menyucinya dengan H₂O sampai netral.
9. Memanaskan residu dengan oven pada suhu 105°C sampai massanya konstan dan menimbangnya (massa d).
10. Memasukkan residu ke dalam furnace untuk mengabukannya dan menimbang massanya (massa e).

Perhitungan:

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

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

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

III.7.2 Analisa Kadar Glukosa dengan Metode Luff Schoorl

1. Menimbang 2-3 gram sampel uji di dalam *beaker glass*.
2. Menambahkan 50 ml aquades.
3. Menambahkan Timbal Asetat $\frac{1}{2}$ Basis tetes demi tetes hingga endapan tidak terjadi lagi saat ditetesi dengan Timbal Asetat $\frac{1}{2}$ Basis tersebut.
4. Menambahkan 6-7 tetes Na_3PO_4 10% agar air menjadi jernih.
5. Menambahkan 3-4 tetes Na_2HPO_4 10%.
6. Menyaring larutan dari *beaker glass* ke dalam labu ukur 100 ml dan menambahkan aquades hingga tanda tera.
7. Menghomogenkan di dalam *beaker glass* (Larutan L1) dan mengambil 25 ml L1 menggunakan pipet volumetri
8. Memasukkan dalam Erlenmeyer dan menambahkan pereaksi *Luff Schoorl*.
9. Menambahkan batu didih ke dalamnya untuk mempercepat pemanasan.
10. Memanaskan menggunakan hot plate dan refluks selama kurang lebih 10 menit.
11. Mendinginkan secara mendadak menggunakan air mengalir.
12. Menambahkan H_2SO_4 25% sebanyak 25 ml dan harus dilewatkan pada dinding erlenmeyer secara hati-hati.
13. Menambahkan KI 15% sebanyak 20 ml menggunakan pipet volumetri
14. Mentitrasi menggunakan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1 N hingga saat ditetesi menggunakan Indikator Amylum 1%, tetesan indikator tidak berwarna biru tua.
15. Mencatat volume titrasi (A ml).
16. Membuat Blanko pengujian yaitu dengan mengganti L1 dengan aquades sebanyak 25 ml, dan mengulangi prosedur No. 8 s/d 15.
17. Mencatat volume titrasi blanko pengujian (8 ml).

18. Menghitung kadar glukosa menggunakan rumus:

- Angka Tabel (AT) = (B ml – A ml) x (Normalitas $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ terstandarisasi / 0,1)
- % Glukosa = (AT x Faktor Pengenceran) / (Bobot Sampel (mg)) x 100%

III.7.3 Analisa Kadar Etanol dengan Alat Refraktometer

Etanol diinjeksikan ke dalam alat refraktometer yang dilengkapi dengan kaca tipis untuk mempolarisasikan cahaya.

Prosedur analisisnya adalah sebagai berikut:

1. Memastikan bahwa alat refraktometer telah berada pada kondisi yang stabil.
2. Mengatur posisi alat pada posisi ND (khusus untuk mengetahui uji etanol).
3. Meneteskan 1-2 ml sampel etanol yang akan diuji ke dalam lapisan kaca polarisasi.
4. Mengatur posisi gelap terang cahaya agar tepat berada di posisi tengah.
5. Mencatat persen absorbansi untuk disesuaikan dengan kurva kalibrasi.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisa komposisi awal dari kulit pisang kepok yang digunakan sebagai bahan baku penelitian ini ditunjukkan pada tabel IV.1

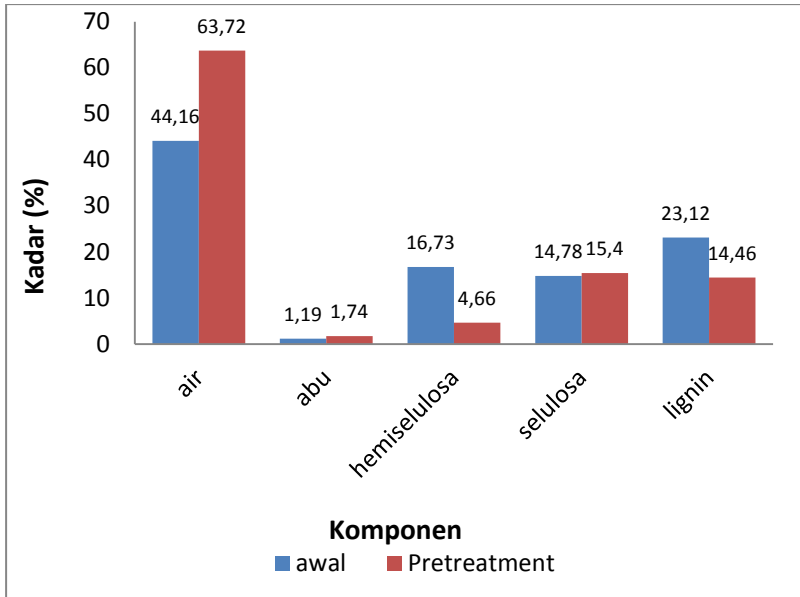
Tabel IV.1 Komposisi awal kulit pisang

Hasil Analisa	Kulit Pisang Kepok (%)
Kadar air	44,16
Kadar abu	1,19
Kadar hemiselulosa	16,73
Kadar selulosa	14,78
Kadar lignin	23,12

Komposisi ini merupakan komposisi kulit pisang kepok yang telah menjadi serbuk dan akan melewati proses *pretreatment* dengan penambahan asam sulfat (H_2SO_4) 2% (v/v). Cara perhitungan, data hasil analisa, dan perhitungan disajikan dalam Appendix.

IV.1 Pengaruh *Pretreatment* dengan Penambahan Asam Sulfat (H_2SO_4) Terhadap Penurunan Kadar Lignin dan Kenaikkan Kadar Selulosa

Pada proses awal dilakukan *pretreatment* dengan penambahan asam sulfat (H_2SO_4) 2% (v/v) yang dimaksudkan untuk membantu menurunkan kadar lignin pada kulit pisang. Asam sulfat yang ditambahkan sebanyak 420 ml dengan dilakukan pengadukan dan penjagaan suhu yang konstan pada 30°C agar memberikan hasil yang optimum.



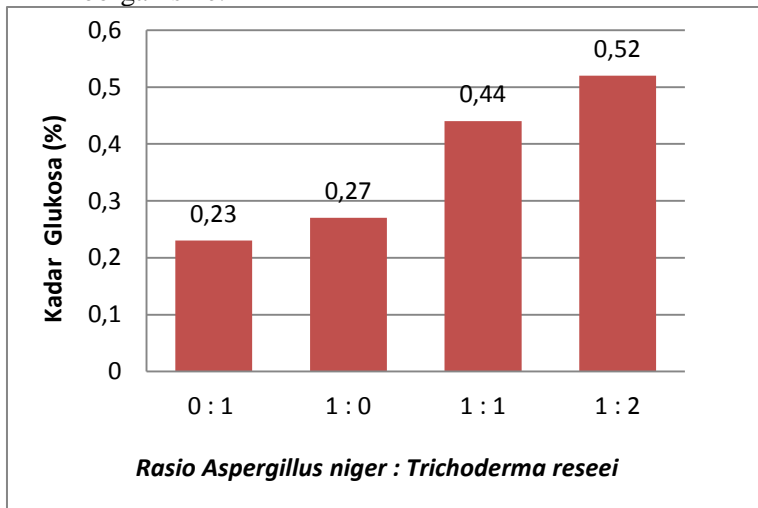
Gambar IV.1 Perubahan kadar selulosa, hemiselulosa, lignin, air, dan abu pada penambahan asam sulfat (H_2SO_4) 2%

Gambar IV.1 menunjukkan bahwa penambahan asam sulfat (H_2SO_4) 2% (v/v) dapat membantu menurunkan kadar lignin pada kulit pisang. Dalam tahap ini, kadar lignin berkurang sebesar 37,45%. Kemudian kadar selulosa meningkat sebesar 4,06%. Hal ini dikarenakan lignin merupakan pelindung dari selulosa, sehingga dengan terdegradasinya lignin maka kadar selulosa akan meningkat. Selain selulosa, kadar air juga mengalami peningkatan. Penggunaan H_2SO_4 dengan konsentrasi hanya 2% menyebabkan kandungan air dalam H_2SO_4 sebanyak 98% meresap ke dalam kulit pisang dan meningkatkan kadar air dalam kulit pisang tersebut. Kadar hemiselulosa setelah *pretreatment* menurun karena hemiselulosa merupakan golongan

zat karbohidrat yang tidak larut dalam air mendidih, tetapi larut dalam alkali encer dan hancur dalam asam encer.

IV.2 Pengaruh *Fungal Treatment* (Hidrolisis Likuifikasi) pada Kulit Pisang dengan Menggunakan *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei*

Proses *fungal treatment* (Hidrolisis Likuifikasi) dengan penambahan *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei* dimaksudkan untuk menghidrolisa kandungan selulosa dalam kulit pisang menjadi glukosa. *Fungal treatment* (Hidrolisis Likuifikasi) dilakukan dengan perbandingan 1:0, 0:1, 1:1, dan 1:2 (v/v) untuk perbandingan *Aspergillus niger* : *Trichoderma reesei*, serta memberikan aerasi dan menjaga suhu konstan pada 50°C. Gambar berikut merupakan hasil kadar glukosa yang diperoleh setelah tahap hidrolisis likuifikasi untuk tiap-tiap variabel mikroorganisme.

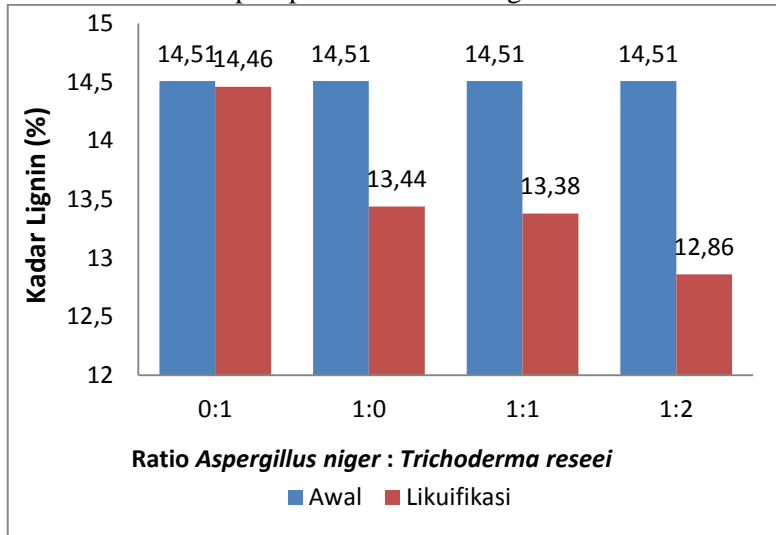


Gambar IV.2 Hasil glukosa setelah tahap hidrolisis likuifikasi pada variabel penambahan *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei*

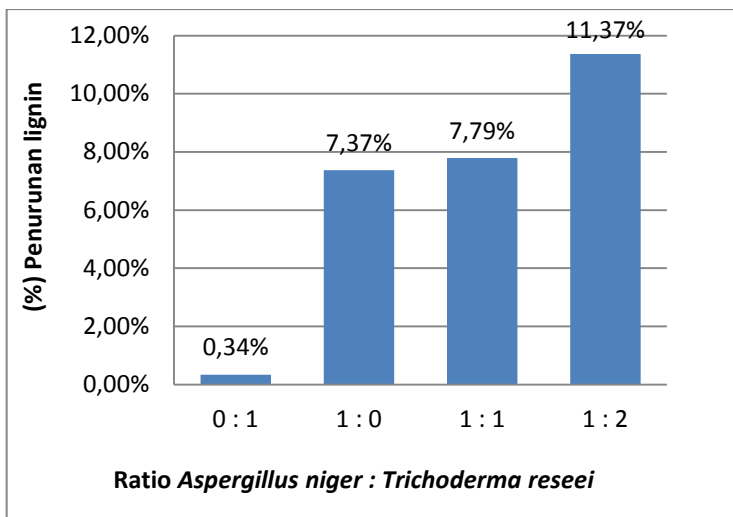
Gambar IV.2 menunjukkan bahwa dalam proses *fungus treatment* dengan penambahan *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei* kadar dari keempat variabel yang berbeda (0:1, 1:0, 1:1, dan 1:2) menghasilkan kadar glukosa yang bervariasi. Kadar glukosa terbaik didapatkan dari penambahan *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei* dengan perbandingan 1 : 2. Turunnya kandungan selulosa menunjukkan bahwa selulosa telah terhidrolisis menjadi glukosa dengan bantuan enzim yang dihasilkan oleh kedua mikroorganisme tersebut. *Aspergillus niger* merupakan jamur yang menghasilkan endo- β -1,4-glukanase dan ekso- β -1,4-glukanase yang rendah tetapi kaya akan β -glukosidase. Sedangkan jamur *Trichoderma reesei* dapat menghasilkan endo- β -1,4-glukanase dan ekso- β -1,4-glukanase sampai dengan 80% tetapi β -glukosidasenya rendah sehingga produk utama hidrolisisnya bukan glukosa melainkan selobiosa (Juhasz dkk, 2003; Martins dkk., 2008; Ahmed dan Vermentte, 2008). *Endoglucanase* berfungsi untuk memecah polisakarida selulosa menjadi rantai yang lebih pendek yaitu oligosakarida. Sedangkan *exoglucanase* berfungsi mengubah satuan oligosakarida menjadi molekul-molekul disakarida. Bagian lain adalah β -glukosidase yang berfungsi untuk mengkonversi atau memecah satuan disakarida menjadi dua molekul glukosa yang merupakan gula sederhana yang dapat diubah menjadi etanol. Sehingga ketiga enzim ini dapat bekerja secara sinergis untuk menghidrolisa selulosa menjadi glukosa. Dengan perbandingan fungi *Trichoderma reesei* yang lebih banyak maka akan terbentuk produk selobiosa yang banyak. Produk samping yang berupa satuan disakarida ini kemudian akan dikonversi atau dipoech oleh enzim β -glukosidase yang dihasilkan lebih banyak oleh *Aspergillus niger* menjadi molekul glukosa. Selain itu hemiselulosa yang mengandung unit-unit lain seperti xylosa, mannososa, dan galaktosa, serta ikatan yang menghubungkan glukosa dengan unit-unit yang lain dapat diputuskan oleh *Aspergillus niger*, sehingga semakin banyak penambahan

Aspergillus niger dan *Trichoderma reesei* maka akan semakin besar glukosa yang dihasilkan.

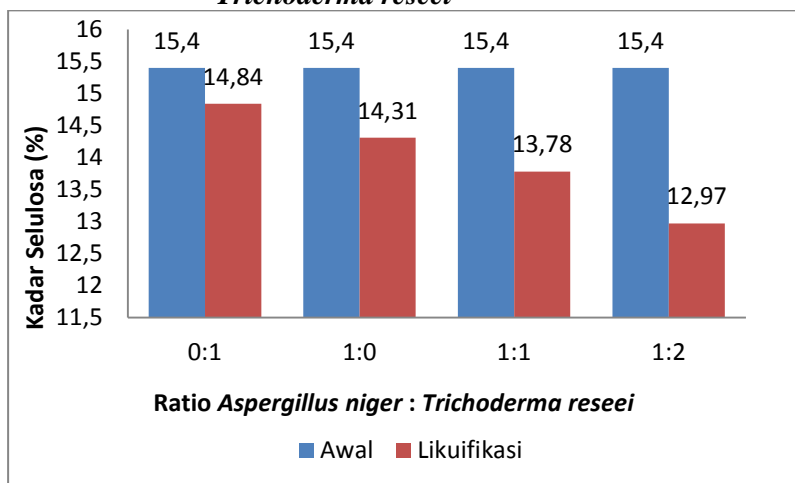
Grafik dibawah ini merupakan hasil kadar selulosa dan lignin beserta grafik penurunan setelah dilakukan proses likuifikasi untuk tiap-tiap variabel mikroorganismenya.



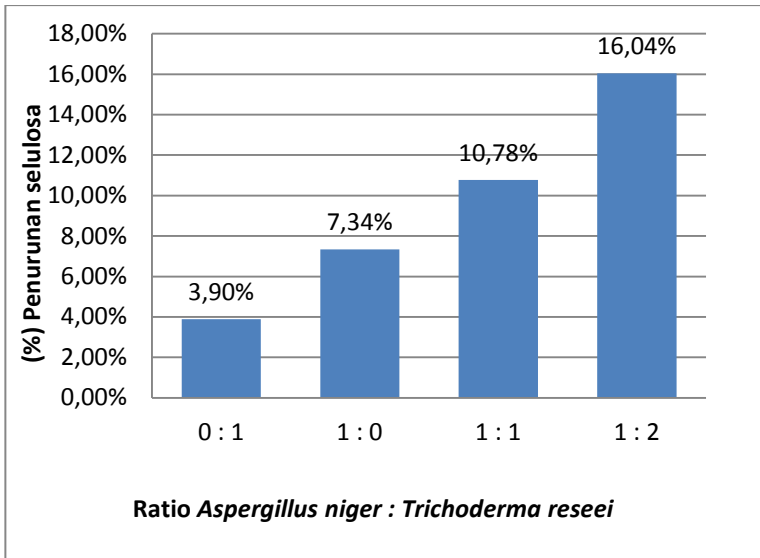
Gambar IV.3 Hasil kadar lignin dalam 4 variabel penambahan *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei*



Gambar IV.4 Persen penurunan kadar lignin dalam 4 variabel penambahan *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei*



Gambar IV.5 Kadar selulosa dalam 4 variabel penambahan *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei*



Gambar IV.6 Persen penurunan kadar selulosa dalam 4 variabel penambahan *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei*

Gambar IV.3 dan gambar IV.4 menunjukkan bahwa pada perbandingan 0:1 (*Aspergillus niger* : *Trichoderma reesei*) menunjukkan bahwa kadar lignin tidak terlalu mengalami perubahan yang signifikan hanya mengalami penurunan sebesar 0,34%. Hasil ini karena *Trichoderma reesei* merupakan mikroorganisme yang tidak terlalu baik dalam mencerna lignin. Sedangkan pada perbandingan 1:0 (*Aspergillus niger* : *Trichoderma reesei*) menghasilkan penurunan kadar lignin yang lebih banyak dengan persen penurunan sebesar 7,37%. Hal ini disebabkan *Aspergillus niger* menghasilkan enzim *cellulolytic* yang bekerja efektif untuk mendegradasi lignin. Perbandingan 1:1 (*Aspergillus niger* : *Trichoderma reesei*) memiliki hasil yang tidak jauh berbeda dengan perbandingan 1:0, kadar lignin menjadi 13,38% dengan persen penurunan sebesar 7,79%. Hal ini

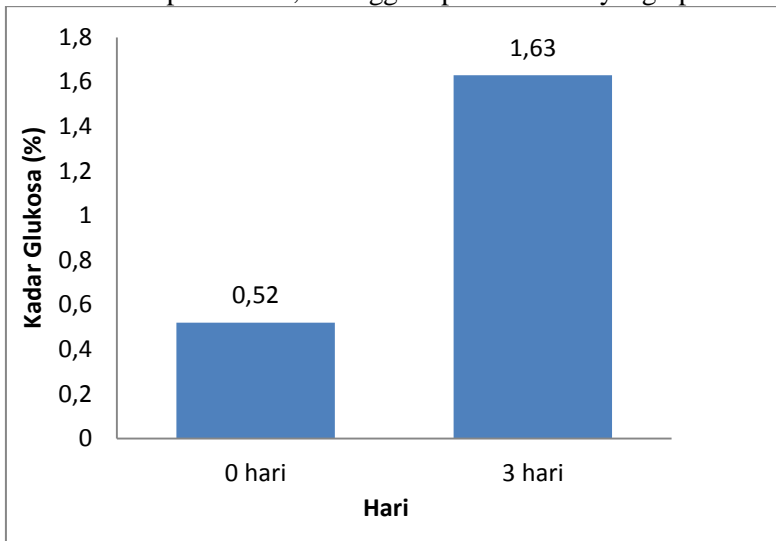
dikarenakan pada variabel ini *Aspergillus niger* masih lebih efektif mendegradasi lignin. Kemudian dengan perbandingan 1:2 dapat menurunkan kadar lignin jauh lebih besar menjadi 12,86% karena dengan jumlah perbandingan *Trichoderma reesei* yang lebih banyak, kedua mikroorganisme tersebut dapat bekerja secara sinergis menurunkan kadar lignin dengan persen penurunan sebesar 11,37%.

Selain penurunan kadar lignin, Gambar IV.5 dan gambar IV.6 juga menunjukkan penurunan selulosa karena telah terhidrolisis menjadi glukosa. Pada perbandingan 0:1 (*Aspergillus niger* : *Trichoderma reesei*) menunjukkan bahwa persen penurunan kadar selulosa tidak terlalu signifikan hanya sebesar 3,90% menempati nilai terendah. Hal ini dikarenakan penggunaan dari *Trichoderma reesei* dalam proses hidrolisis memiliki aktivitas spesifik dari enzim selulase yang rendah sehingga kadar selulosa setelah dihidrolisis hanya sebesar 14,84%. Sedangkan pada perbandingan 1:0 (*Aspergillus niger* : *Trichoderma reesei*) menghasilkan penurunan kadar selulosa yang cukup signifikan menjadi 14,31%, hal ini dikarenakan penggunaan *Aspergillus niger* menghasilkan enzim selulase yang banyak mengandung β -glukosidase. Enzim ini bekerja sangat baik dan selektif untuk menghidrolisis selulosa pada region amorf menjadi glukosa. Daerah amorf pada selulosa adalah daerah yang memiliki struktur yang renggang dan tidak teratur sehingga lebih mudah untuk dihidrolisis dengan bantuan enzim yang dihasilkan mikroorganisme. Kemudian pada perbandingan campuran 1:1 dan 1:2 (*Aspergillus niger* : *Trichoderma reesei*) menghasilkan persen penurunan selulosa berturut-turut sebesar 10,78% dan 16,04% dimana kedua nilai ini lebih besar dibandingkan dengan dua variabel sebelumnya. Hal ini dikarenakan kerja kombinasi dari dua jamur tersebut dapat memanfaatkan kandungan selulosa yang bersifat *crystallyn* untuk berubah menjadi selulosa yang *amorf* sehingga lebih mudah dihidrolisis. Penurunan selulosa terbesar terjadi pada penambahan mikroorganisme *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei* dengan perbandingan 1:2 dengan nilai kadar

selulosa menjadi sebesar 12,97%. Hal ini terjadi karena fungi *Trichoderma reseei* menghasilkan enzim endoglukanase dan eksoglukanase yang banyak hingga 80% untuk menghidrolisis selulosa yang bersifat *cristallyne* menjadi bagian yang lebih renggang dan mudah untuk dihidrolisis oleh enzim β -glukosidase.

IV.3 Pengaruh *Fungal Treatment* (Hidrolisis Sakarifikasi) pada Kulit Pisang dengan Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*

Proses *Fungal Treatment* (Hidrolisis Sakarifikasi) ini dilakukan dengan menambahkan *Saccharomyces cerevisiae* ke dalam feed hasil salah satu variabel perbandingan *Fungal Treatment* (Hidrolisis Likuifikasi) yang menghasilkan kadar glukosa terbaik. Proses ini dilakukan untuk meningkatkan kadar glukosa yang dihasilkan dengan memberikan aerasi dan menjaga suhu konstan pada 30°C, sehingga diperoleh hasil yang optimal.



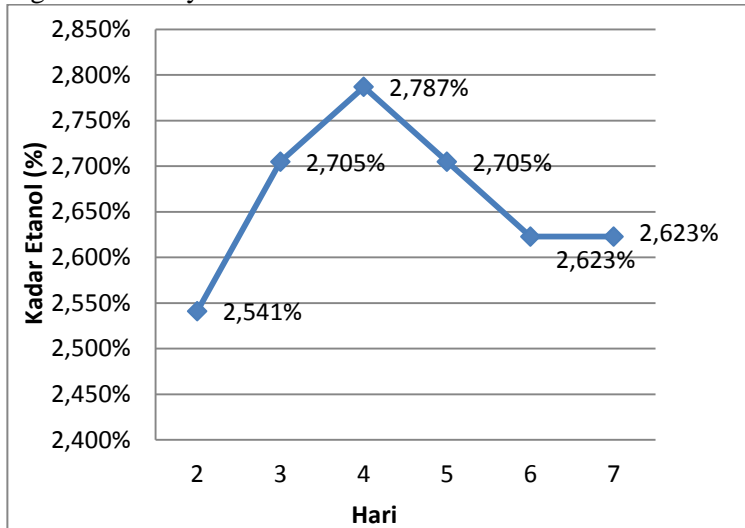
Gambar IV.7 Perubahan kadar glukosa untuk penambahan *Saccharomyces cerevisiae* setelah hidrolisis sakarifikasi

Gambar IV.7 menunjukkan bahwa *Saccharomyces cerevisiae* menghasilkan enzim glukoamilase untuk mengubah polisakarida menjadi gula yang dapat difermentasi (glukosa, galaktosa, manosa, dan sebagainya). Enzim glukoamilase akan memecah ikatan α -1,4 maupun α -1,6 glikosida pada molekul pati menjadi gula reduksi, sehingga menghasilkan gula reduksi yang lebih banyak. Dari hasil proses hidrolisis sakarifikasi ini terlihat bahwa mikroorganisme *Saccharomyces cerevisiae* mampu mengubah zat pati yang ada di dalam kandungan kulit pisang menjadi gula reduksi yang nantinya dapat difermentasi menjadi etanol. Pada tahap hidrolisis sakarifikasi selama 3 hari ini, dengan penambahan *Saccharomyces cerevisiae* sebanyak 10% v/v mampu meningkatkan kadar glukosa menjadi 1,63% dengan peningkatan kenaikan glukosa sebesar 213,46%. Namun demikian, waktu hidrolisis sakarifikasi yang dilakukan lebih lama tidak menunjukkan peningkatan kandungan glukosa yang lebih besar. Hal tersebut dikarenakan mikroorganisme *Saccharomyces cerevisiae* merupakan mikroorganisme yang membutuhkan nutrisi untuk kebutuhan metabolismenya. Nutrisi yang dibutuhkan tersebut banyak mengandung unsure C, H dan O sehingga kadar glukosa yang terbentuk akan semakin menurun ketika proses hidrolisis sakarifikasi ini diperpanjang karena dimungkinkan dimanfaatkan oleh *Saccharomyces cerevisiae* sebagai media untuk memperoleh nutrisi. Hasil kadar glukosa yang semakin turun seiring dengan bertambahnya waktu hidrolisis sakarifikasi dapat dilihat pada Appendiks B.

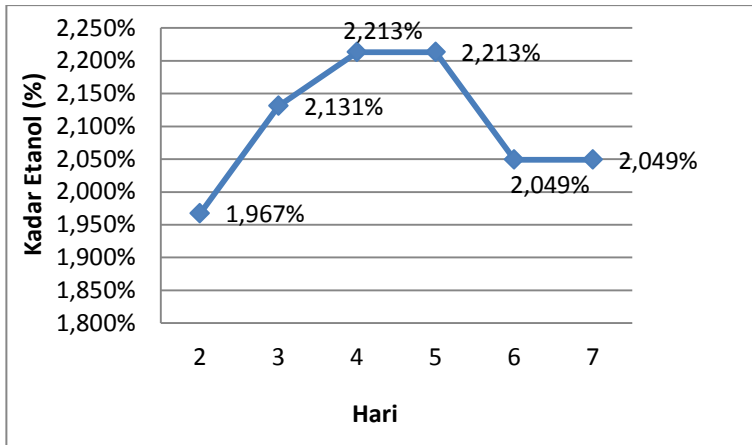
IV.4 Proses Fermentasi dengan Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* dan *Zymomonas mobilis*

Pada proses fermentasi ini bertujuan untuk menguraikan gula menjadi etanol dan karbondioksida yang disebabkan oleh enzim yang dihasilkan mikroorganisme. Proses fermentasi ini menggunakan variabel jenis mikroorganisme yang digunakan, yaitu *Saccharomyces cerevisiae* dan *Zymomonas mobilis*. Proses fermentasi dilakukan dalam kondisi anaerob, serta dijaga pH asam

dan suhu 30°C agar diperoleh kadar etanol yang maksimal. Fermentasi dilakukan sampai dengan 7 hari untuk melihat tren etanol yang dihasilkan. Analisa kadar etanol menggunakan refraktometer dilakukan mulai hari kedua karena diasumsikan pada hari pertama mikroorganisme dalam fasa lag (adaptasi) dengan substratnya.



Gambar IV.8 Kadar etanol setelah fermentasi selama 7 hari dengan penambahan *Saccharomyces cerevisiae*



Gambar IV.9 Kadar etanol setelah fermentasi selama 7 hari dengan penambahan *Zymomonas mobilis*

Pada gambar IV.8 menunjukkan bahwa dalam proses fermentasi ini, kandungan glukosa yang terdapat dalam feed telah diubah menjadi etanol. Berubahnya glukosa menjadi etanol terjadi karena kinerja enzim invertase yang dihasilkan oleh *Saccharomyces cerevisiae*. Dalam proses fermentasi ini, diperoleh kadar etanol tertinggi dengan kadar sebesar 2,787%. Selain itu, dalam gambar IV.8 dapat dilihat bahwa semakin lama waktu fermentasi kadar etanol akan mengalami kenaikan, namun setelah hari kelima kadar etanol pada sampel mengalami penurunan. Hal ini disebabkan karena proses fermentasi telah mencapai optimum, sehingga kadar etanol mengalami penurunan setelah melewati waktu optimalnya. Menurut Admianta (2001), semakin lama proses fermentasi, maka kadar etanol semakin meningkat. Semakin lama waktu fermentasi, maka mikroorganisme berkembang biak dan jumlahnya bertambah sehingga kemampuan untuk memecah glukosa yang ada menjadi etanol semakin besar. Menurut Admianta (2001), semakin lama proses fermentasi maka jumlah mikroorganisme semakin menurun. Hal ini dikarenakan bila fermentasi terlalu lama, nutrisi

dalam substrat akan habis dan *Saccharomyces cerevisiae* tidak lagi dapat memfermentasi bahan.

Gambar IV.9 menunjukkan bahwa *Zymomonas mobilis* juga telah mengubah kandungan glukosa dalam feed menjadi etanol. Fermentasi ini menghasilkan kadar etanol tertinggi dengan kadar etanol sebesar 2,213%. Dalam hasil tersebut juga didapatkan bahwa proses fermentasi berlangsung optimal pada hari ke 4, kemudian kadar etanol menurun.

Dari dua variabel penggunaan mikroorganisme dalam proses fermentasi diperoleh bahwa penggunaan *Saccharomyces cerevisiae* dalam proses fermentasi lebih efektif menghasilkan yield sebesar 0,87 gram etanol/gram glukosa dan 0,17 gram etanol/ gram kulit pisang sedangkan penggunaan *Zymomonas mobilis* dapat menghasilkan yield sebesar 0,69 gram etanol/ gram glukosa dan 0,22 gram etanol/ gram kulit pisang.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

1. Limbah kulit pisang kepok memiliki potensi untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku dalam pembuatan bioetanol.
2. Penambahan variabel jamur *Asperillus niger* dan *Tricoderma reseei* dengan perbandingan 2:1 pada suhu 50°C dan pH 5 selama 64 jam menghasilkan glukosa dengan kandungan terbaik pada proses hidrolisis likuifikasi sebesar 0,52%.
3. Penambahan jamur *Saccaromyces cerevisiae* 10% (v/v) pada proses hidrolisis sakarifikasi selama 3 hari pada suhu 30°C dan pH 5 dapat meningkatkan kandungan glukosa menjadi 1,63% dengan peningkatan sebesar 213,46%.
4. Penggunaan variabel mikroorganisme *Saccaromyces cerevisiae* 20% (v/v) dalam proses fermentasi pada suhu 30°C dan pH 4 menghasilkan kadar etanol terbaik sebesar 2,787% pada hari keempat.
5. Proses fermentasi dengan menggunakan *Saccaromyces cerevisiae* menghasilkan yield sebesar 87,37% sedangkan fermentasi dengan *Zymomonas mobilis* menghasilkan yield sebesar 69,38%.

V.2 Saran

1. Pada penelitian selanjutnya dapat digunakan perbandingan antara *Asperillus niger* dan *Tricoderma reseei* yang lebih tinggi sehingga dapat diketahui kerja fungi yang paling optimal untuk menghidrolisis selulosa.
2. Untuk penelitian selanjutnya perlu dilakukan proses pemurnian sehingga didapatkan peningkatan kandungan etanol.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahamed, A. P. Vermentte. 2008. *Culture-based Strategies to Enhance Cellulase Enzyme Production from Trichoderma reesei RUT-C30 in Bioreactor Culture Conditions*, Biochemical Engineering Journal 40, 399–407.
- Anynomous. 1978. **Statistika Indonesia**, Biro Pusat Statistika, Jakarta
- Asteria Apriliani S. dan Franky Agustinus. 2013. **Pembuatan Etanol dari Kulit Pisang Secara Fermentasi**, Jurnal Teknologi Kimia dan Industri, Vol. 2 No. 2, Halaman 177-180
- Chaudhary, Naureen, and Qazi, Javed I. 2006. **Microbiological Saccharification and Ethanol Production from Sugarcane Bagasse**. *Journal of Biotechnology*. 5. 4. 517-521.
- Bambang Dwi Argo, Rini Yulianingsih. 2013. **Pemanfaatan Enzim Selulase dari Trichoderma Reesei dan Aspergillus Niger sebagai Katalisator Hidrolisis Enzimatik Jerami Padi dengan Pretreatment Microwave**, Jurnal Bioproses Komoditas Tropis, Vol. 1 No. 1
- Demirbas, A., 2005, *Bioethanol from Cellulosic Material : A Renewable Motor Fuel from Biomass*, Energy Source, Vol. 27, 327–337.
- Dyah Tri Retno dan Wasir Nuri. 2011. **Pembuatan Bioetanol dari Kulit Pisang**, Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia “Perjuangan”
- Fitria Merina, Yulinah Trihadiningrum. 2011. **Produksi Bioetanol Dari Eceng Gondok (Eichhornia crassipes) dengan Zymomonas mobilis dan Sccharomyces cerevisiae**, Prosiding Seminar Nasional Manajemen Teknologi XIII

- Fauzi, A.F. 2011. **Pemanfaatan Buah Pepaya (*Carica papaya* L.) Sebagai Bahan Baku Bioetanol dengan Proses Fermentasi dan Distilasi.** (Skripsi). Program Diploma, Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro, Semarang, 75 hlm
- Elevri,P.A. dan S.R.Putra. 2006. **Produksi etanol menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* yang diamobilisasi dengan agar batang.** Akta Kamindo 1(2): 105--114
- Greer, D., ***Creating Cellulosic Ethanol: Spinning Straw into Fuel***, BioCycle eNews Bulletin, May 2005, <http://www.harvestcleanenergy.org>
- Hambali,E., S.Mujdalipah, A.H.Tambunan,A.W.Pattiwiri dan R. Hendroko, 2008. **Teknologi Bioenergi.** Agro Media,Jakarta.
- Judoamijoyo, M., A. A. Darwis dan E. G. Sa'id. 1992. **Teknologi Fermentasi.** Penerbit Rajawali Press dengan Pusat Antar Universitas Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor. Jakarta.
- Kumalasari,I.J. 2011. **Pengaruh Variasi Suhu Inkubasi terhadap Kadar Etanol Hasil Fermentasi Kulit dan Bonggol Nanas (*Ananas sativus*).** Skripsi. Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang.
- Martono, B.; Sasongko, ***Prospek Pengembangan ubi Kayu sebagai Bahan Baku Bioetanol di Propinsi Daerah Istimewa Yogyakarta***, Dinas Pertanian Propinsi DIY, www.distan.pemdadiy.go.id.
- Nowak, J. 2000. **Ethanol Yield And Productivity of *Zymomonas Mobilis* In Various Fermentation Methods.** *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities.*
- Onsoy, T., Thanonkeo, P., Thanonkeo, S., dan Yamada, Mamoru. 2007. **Ethanol Production from Arthichoke by *Zymomonas mobilis* Batch Fermentation.** *KMITL Science Technology Journal.* 7. S1.

- Pandey, A. (ed). (2009). *Handbook of Plant-Based Biofuels*, CRC Press, USA.
- Roukas T. 1994. **Continuous ethanol productions from carob pod extract by immobilized *Saccharomyces cerevisiae* in a packed bed reactor**. J Chem Technol Biotechnol., 59: 387---393.
- Said,E,Gumbira,” **Bio Industry Penerapan Teknologi Fermentasi**”, PT Mediatna Sarana Perkasa , Jakarta.
- Taringan, M., kaban, I. M. Dan Hanum, Farida, (2012), **Ekstraksi Pektin dari Kulit Buah Pisang Kepok (*Musa Paradisiaca*)**, Jurnal Teknik Kimia USU, Article in press. Universitas Sumatra Utara: Medan.
- Wheals, A. E.; Basso, L. C.; Alves, D. M.; Amorim, H. V. 1999. *Fuel Ethanol after 25 Years*, Trends Biotechnology, Vol. 17(12),482-487.
- Zhang, K., Feng, H. 2010. **Fermentation potentials of *Zymomonas mobilis* and its application in ethanol production from low-cost raw sweet potato**. *African Journal of Biotechnology*. **9**. 37. 6122-6128.

RIWAYAT HIDUP PENULIS



Penulis skripsi ini bernama Moch Izati Iwani Masturo Mugara, merupakan anak ke-4 dari 5 bersaudara yang lahir di Surabaya pada tanggal 09 Mei 1992. Penulis memulai pendidikannya di SD Negeri Baratajaya Surabaya, selanjutnya menempuh jenjang menengah pertama di SMP Negeri 1 Surabaya. Setelah menamatkan jenjang tersebut kemudian melanjutkan sekolah ke SMA Negeri 5 Surabaya. Penulis yang tertarik dengan bidang industri memilih melanjutkan studi di S1 Teknik Kimia FTI-ITS melalui jalur SNMPTN. Dalam studinya penulis tertarik dengan bidang pengolahan limbah industri, sehingga akhirnya memilih Laboratorium Pengolahan Limbah Industri. Sebagai tugas untuk memperoleh gelar sarjana, penulis melakukan penelitian yang berjudul **“Pengaruh Fungal Treatment, serta Penambahan *Saccharomyces cerevisiae* dan *Zymomonas mobilis* pada Proses Fermentasi Pembuatan Bioetanol dari Kulit Pisang”**

RIWAYAT HIDUP PENULIS



Penulis dilahirkan di kota Mojokerto pada tanggal 27 Maret 1992. Anak pertama dari dua bersaudara ini, mengawali pendidikan dasarnya di SDN Manukan Kulon IV Surabaya, selanjutnya melanjutkan pendidikan menengahnya di SMP Negeri 1 Surabaya. Setelah berhasil menyelesaikan pendidikan menengahnya, selanjutnya penulis melanjutkan pendidikannya di SMA Negeri 5 Surabaya. Selepas masa SMA, penulis memutuskan untuk memilih Jurusan Teknik Kimia sebagai *background* pendidikan sarjananya pada tahun 2010 dan menjadi bagian dari angkatan K-50. Ketertarikan penulis mengenai masalah lingkungan yang menjadi permasalahan utama saat ini, mendorong penulis untuk menentukan Laboraturium Pengolahan Limbah Industri sebagai Laboraturium untuk melakukan penelitian yang dapat memberikan dampak positif terhadap penyelesaian permasalahan lingkungan belakangan ini melalui penelitian yang berjudul “Pengaruh Fungal Treatment serta Penambahan *Saccaromyces cerevisiae* dan *Zymomonas mobilis* pada Proses Fermentasi Pembuatan Etanol dari Kulit Pisang”.

APPENDIKS A CARA PERHITUNGAN

1. Perhitungan kandungan awal kulit pisang dengan menggunakan metode Cheson

- Perhitungan kadar air
Kadar air $= \frac{(a-b)}{a} \times 100\%$
- Perhitungan hemiselulosa
Kadar hemiselulosa $= \frac{(b-c)}{a} \times 100\%$
- Perhitungan selulosa
Kadar selulosa $= \frac{(c-d)}{a} \times 100\%$
- Perhitungan lignin
Kadar lignin $= \frac{(d-e)}{a} \times 100\%$
- Perhitungan abu
Kadar abu $= \frac{(e)}{a} \times 100\%$

Keterangan :

- a : massa kering sampel awal
- b : massa kering sampel setelah reflux pertama dengan aquadest
- c : massa kering sampel setelah reflux kedua dengan H₂SO₄ 1 %
- d : massa kering sampel setelah perendaman H₂SO₄ 72 % dan reflux kedua dengan H₂SO₄ 1 %
- e : massa kering sampel setelah di furnace dengan suhu 600° C

1.1 Perhitungan kadar air

Diketahui :

Massa a = 1,019gram

Massa b = 0,569 gram

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar air} &= \frac{(a-b)}{a} \times 100\% \\
 &= \frac{(1,019-0,569)}{1,019} \times 100\% \\
 &= 44,16\%
 \end{aligned}$$

1.2 Perhitungan kadar hemiselulosa

Diketahui :

$$\text{Massa b} = 0,569 \text{ gram}$$

$$\text{Massa c} = 0,3985 \text{ gram}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar hemiselulosa} &= \frac{(b-c)}{a} \times 100\% \\
 &= \frac{(0,569-0,3985)}{1,019} \times 100\% \\
 &= 16,73\%
 \end{aligned}$$

1.3 Perhitungan kadar selulosa

Diketahui :

$$\text{Massa c} = 0,3985 \text{ gram}$$

$$\text{Massa d} = 0,2478 \text{ gram}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar selulosa} &= \frac{(c-d)}{a} \times 100\% \\
 &= \frac{(0,3985-0,2478)}{1,019} \times 100\% \\
 &= 14,78\%
 \end{aligned}$$

1.4 Perhitungan kadar lignin

Diketahui :

$$\text{Massa d} = 0,2478 \text{ gram}$$

$$\text{Massa e} = 0,0122 \text{ gram}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar lignin} &= \frac{(d-e)}{a} \times 100\% \\
 &= \frac{(0,2478-0,0122)}{1,019} \times 100\% \\
 &= 23,12\%
 \end{aligned}$$

1.5 Perhitungan kadar abu

Diketahui :

$$\text{Massa e} = 0,0122 \text{ gram}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar abu} &= \frac{(e)}{a} \times 100\% \\
 &= \frac{(0,0122)}{1,019} \times 100\% \\
 &= 1,1972\%
 \end{aligned}$$

2. Perhitungan kandungan kulit pisang setelah pre-treatment asam sulfat (H₂SO₄) 2% dengan menggunakan metode cheson

- Perhitungan kadar air
Kadar air $= \frac{(a-b)}{a} \times 100\%$
- Perhitungan hemiselulosa
Kadar hemiselulosa $= \frac{(b-c)}{a} \times 100\%$
- Perhitungan selulosa
Kadar selulosa $= \frac{(c-d)}{a} \times 100\%$
- Perhitungan lignin
Kadar lignin $= \frac{(d-e)}{a} \times 100\%$
- Perhitungan abu
Kadar abu $= \frac{(e)}{a} \times 100\%$

Keterangan :

- a : massa kering sampel awal
b : massa kering sampel setelah reflux pertama dengan aquadest
c : massa kering sampel setelah reflux kedua dengan H₂SO₄ 1 %
d : massa kering sampel setelah perendaman H₂SO₄ 72 % dan reflux kedua dengan H₂SO₄ 1 %
e : massa kering sampel setelah di furnace dengan suhu 600° C

2.1 Perhitungan kadar air

Diketahui :

Massa a = 1,0061 gram

Massa b = 0,3650 gram

Kadar air $= \frac{(a-b)}{a} \times 100\%$
 $= \frac{(1,0061-0,3650)}{1,0061} \times 100\%$
 $= 63,72\%$

2.2 Perhitungan kadar hemiselulosa

Diketahui :

$$\text{Massa b} = 0,3650 \text{ gram}$$

$$\text{Massa c} = 0,3181 \text{ gram}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar hemiselulosa} &= \frac{(b-c)}{a} \times 100\% \\ &= \frac{(0,3650-0,3181)}{1,0061} \times 100\% \\ &= 4,661\% \end{aligned}$$

2.3 Perhitungan kadar selulosa

Diketahui :

$$\text{Massa c} = 0,3181 \text{ gram}$$

$$\text{Massa d} = 0,1631 \text{ gram}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar selulosa} &= \frac{(c-d)}{a} \times 100\% \\ &= \frac{(0,3181-0,1631)}{1,0061} \times 100\% \\ &= 15,406\% \end{aligned}$$

2.4 Perhitungan kadar lignin

Diketahui :

$$\text{Massa d} = 0,1631 \text{ gram}$$

$$\text{Massa e} = 0,0176 \text{ gram}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar lignin} &= \frac{(d-e)}{a} \times 100\% \\ &= \frac{(0,1631-0,0176)}{1,0061} \times 100\% \\ &= 14,462\% \end{aligned}$$

2.5 Perhitungan kadar abu

Diketahui :

$$\text{Massa e} = 0,0176 \text{ gram}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar abu} &= \frac{(e)}{a} \times 100\% \\ &= \frac{(0,0176)}{1,0061} \times 100\% \\ &= 1,7493\% \end{aligned}$$

3. Perhitungan penurunan lignin setelah proses pre-treatment asam sulfat H₂SO₄ 2%

Penurunan kadar lignin dapat dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$\text{Penurunan kadar lignin} = \frac{L_0 - L_1}{L_0} \times 100\%$$

Keterangan :

L₀ = persen kandungan awal lignin pada kulit pisang

L₁ = persen lignin setelah proses pre-treatment

Contoh perhitungan :

$$L_0 = 23,12\%$$

$$L_1 = 14,46\%$$

$$\begin{aligned} \text{Penurunan kadar lignin} &= \frac{23,12 - 14,46}{23,12} \times 100\% \\ &= 37,45\% \end{aligned}$$

4. Perhitungan kenaikan kadar selulosa setelah proses pre-treatment asam sulfat H₂SO₄ 2%

Kenaikan kadar selulosa dapat dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut :

$$\text{Kenaikan kadar Selulosa} = \frac{S_0 - S_1}{S_0} \times 100\%$$

Keterangan :

S₁ = persen kandungan selulosa setelah proses pre-treatment

S₀ = persen kandungan selulosa awal kulit pisang

Contoh perhitungan :

$$S_1 = 15,41\%$$

$$S_0 = 14,78\%$$

$$\begin{aligned} \text{Kenaikan kadar selulosa} &= \frac{15,41 - 14,78}{15,41} \times 100\% \\ &= 4,06\% \end{aligned}$$

5. Perhitungan penurunan hemiselulosa setelah proses pre-treatment asam sulfat H₂SO₄ 2%

Penurunan kadar hemiselulosa dapat dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$\text{Penurunan kadar hemiselulosa} = \frac{H_0 - H_1}{H_0} \times 100\%$$

Keterangan :

H_0 = persen kandungan awal hemiselulosa pada kulit pisang

H_1 = persen hemiselulosa setelah proses pre-treatment

Contoh perhitungan :

$H_0 = 16,73\%$

$H_1 = 4,66\%$

$$\begin{aligned} \text{Penurunan kadar hemiselulosa} &= \frac{16,73-4,66}{16,73} \times 100\% \\ &= 72,14\% \end{aligned}$$

6. Perhitungan jumlah sel mikroorganisme yang digunakan dalam tahap hidrolisis likuifikasi

6.1 Jumlah *Trichoderma reesei* yang digunakan

- a. Jumlah *Trichoderma reesei* (variabel *Aspergillus niger* : *Trichoderma reesei* = 0 : 1)

Daerah		Waktu Pengamatan (3 hari)		
		Run 1	Run 2	Run 3
A		18	25	25
B		9	23	7
C		20	20	9
D		5	3	26
E		3	8	18
Jumlah sel	(sel / 5 kotak)	55	79	85
	(sel / kotak)	11	15.8	17

Jumlah sel *Trichoderma reesei* (variabel *Aspergillus niger* : *Trichoderma reesei* = 0 : 1)

$$\text{rata-rata (sel/kotak)} = (11 + 15,8 + 17)/3 = 14,6 \text{ sel/kotak}$$

$$= 14,6 \text{ sel/kotak} \times \frac{25 \text{ kotak}}{1 \text{ mm}^2} \times$$

$$\frac{1}{10 \text{ mm}} \times \frac{1 \text{ mm}^3}{\text{mL}}$$

$$= 36,5 \times 10^6 \text{ sel / mL}$$

Trichoderma reesei

- b. Jumlah *Trichoderma reseei* (variabel *Aspergillus niger* :
Trichoderma reseei = (1:1)

Daerah		Waktu Pengamatan (3 hari)		
		Run 1	Run 2	Run 3
A		10	14	13
B		4	9	4
C		9	11	4
D		2	0	10
E		1	5	9
Jumlah sel	(sel / 5 kotak)	26	39	40
	(sel / kotak)	5.2	7.8	8

Jumlah sel *Trichoderma reseei* (variabel *Aspergillus niger* :
Trichoderma reseei = 1 : 1)

$$\text{rata-rata (sel/kotak)} = (5,2 + 7,8 + 8) / 3 = 7 \text{ sel/kotak}$$

$$= 7 \text{ sel /kotak} \times \frac{25 \text{ kotak}}{1 \text{ mm}^2} \times \frac{1}{10 \text{ mm}}$$

$$\times \frac{1 \text{ mm}^3}{\text{mL}}$$

$$= 17,5 \times 10^6 \text{ sel / mL}$$

Trichoderma reseei

- c. Jumlah *Trichoderma reseei* (variabel *Aspergillus niger* :
Trichoderma reseei = 1 : 2)

Daerah		Waktu Pengamatan (3 hari)		
		Run 1	Run 2	Run 3
A		15	18	16
B		6	17	5
C		14	14	4
D		4	3	18
E		2	6	11
Jumlah sel	(sel / 5 kotak)	41	58	54
	(sel / kotak)	8.2	11.6	10.8

Jumlah sel *Trichoderma reseei* (variabel *Aspergillus niger* :
Trichoderma reseei = 1 : 2)

$$\begin{aligned} \text{rata-rata (sel/kotak)} &= (8,2 + 11,6 + 10,8)/3 = 10.2 \text{ sel/kotak} \\ &= 10.2 \text{ sel /kotak} \times \frac{25 \text{ kotak}}{1\text{mm}^2} \times \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &\frac{1}{10 \text{ mm}} \times \frac{1 \text{ mm}^3}{\text{mL}} \\ &= 25,5 \times 10^6 \text{ sel / mL} \end{aligned}$$

Trichoderma reseei

6.2 Jumlah *Aspergillus niger* yang digunakan

- a. Jumlah *Aspergillus niger* (variabel *Aspergillus niger* : *Trichoderma reesei* = 1 : 0)

Daerah		Waktu Pengamatan		
		RUN 1	RUN 2	RUN 3
A		35	19	16
B		21	8	27
C		4	6	10
D		3	22	8
E		27	38	40
Jumlah sel	(sel / 5 kotak)	90	93	101
	(sel / kotak)	18	18.6	20.2

Jumlah sel *Aspergillus niger* (variabel *Aspergillus niger* : *Trichoderma reesei* = 1 : 0)

$$\text{rata-rata (sel/kotak)} = (18 + 18,6 + 20,2)/3 = 18,27 \text{ sel/kotak}$$

$$= 18,27 \text{ sel /kotak} \times \frac{25 \text{ kotak}}{1 \text{ mm}^2} \times$$

$$\frac{1}{10 \text{ mm}} \times \frac{1 \text{ mm}^3}{\text{mL}}$$

$$= 47,33 \times 10^6 \text{ sel / mL}$$

Aspergillus niger

- b. Jumlah *Aspergillus niger* (variabel *Aspergillus niger* : *Trichoderma reesei* = 1 : 1)

Daerah		Waktu Pengamatan		
		RUN1	RUN2	RUN 3
A		16	10	6
B		10	3	12
C		2	4	6
D		1	9	7
E		12	18	18
Jumlah sel	(sel / 5 kotak)	41	44	49
	(sel / kotak)	8.2	8.8	9.8

Jumlah sel *Aspergillus niger* (variabel *Aspergillus niger* : *Trichoderma reesei* = 1 : 1)

$$\begin{aligned} \text{rata-rata (sel/kotak)} &= (8,2 + 8,8 + 9,8)/3 = 8,93 \text{ sel/kotak} \\ &= 8,93 \text{ sel /kotak} \times \frac{25 \text{ kotak}}{1\text{mm}^2} \times \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &\frac{1}{10 \text{ mm}} \times \frac{1 \text{ mm}^3}{\text{mL}} \\ &= 22,3 \times 10^6 \text{ sel / mL } \textit{Aspergillus} \end{aligned}$$

niger

- c. Jumlah *Aspergillus niger* (variabel *Aspergillus niger* : *Trichoderma reesei* = 1 : 2)

Daerah		Waktu Pengamatan		
		RUN1	RUN2	RUN 3
A		11	7	5
B		7	2	8
C		2	2	5
D		0	6	5
E		8	15	15
Jumlah sel	(sel / 5 kotak)	28	32	38
	(sel / kotak)	5.6	6.4	7.6

Jumlah sel *Aspergillus niger* (variabel *Aspergillus niger* : *Trichoderma reesei* = 1 : 2)

$$\begin{aligned} \text{rata-rata (sel/kotak)} &= (5,6 + 6,4 + 7,6)/3 = 6,5 \text{ sel/kotak} \\ &= 6,5 \text{ sel /kotak} \times \frac{25 \text{ kotak}}{1 \text{ mm}^2} \times \\ &\quad \frac{1}{10 \text{ mm}} \times \frac{1 \text{ mm}^3}{\text{mL}} \\ &= 16,25 \times 10^6 \text{ sel / mL} \end{aligned}$$

Aspergillus niger

7. Perhitungan kandungan kulit pisang dengan menggunakan metode cheson setelah proses hidrolisis likuifikasi untuk penggunaan tiap variabel mikroorganisme

- Perhitungan kadar air
Kadar air $= \frac{(a-b)}{a} \times 100\%$
- Perhitungan hemiselulosa
Kadar hemiselulosa $= \frac{(b-c)}{a} \times 100\%$
- Perhitungan selulosa
Kadar selulosa $= \frac{(c-d)}{a} \times 100\%$

- Perhitungan lignin
Kadar lignin $= \frac{(d-e)}{a} \times 100\%$
- Perhitungan abu
Kadar abu $= \frac{(e)}{a} \times 100\%$

Keterangan :

- a : massa kering sampel awal
 b : massa kering sampel setelah reflux pertama dengan aquadest
 c : massa kering sampel setelah reflux kedua dengan H₂SO₄ 1 %
 d : massa kering sampel setelah perendaman H₂SO₄ 72 % dan reflux kedua dengan H₂SO₄ 1 %
 e : massa kering sampel setelah di furnace dengan suhu 600° C

7.1 Perhitungan kadar air

7.1.1 Kadar air setelah hidrolisis likuifikasi dengan variable perbandingan

Aspergillus niger : *Trichoderma reseei* = 1 : 0

Diketahui :

Massa a = 1,0578gram

Massa b = 0,3568 gram

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{(a-b)}{a} \times 100\% \\ &= \frac{(1,0578-0,3568)}{1,0578} \times 100\% \\ &= 66,27\% \end{aligned}$$

7.1.2 Kadar air setelah hidrolisis likuifikasi dengan variable perbandingan

Aspergillus niger : *Trichoderma reseei* = 0 : 1

Diketahui :

Massa a = 1,062gram

Massa b = 0,372 gram

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

$$= \frac{(1,062-0,372)}{1,062} \times 100\%$$

$$= 64,97\%$$

7.1.3 Kadar air setelah hidrolisis likuifikasi dengan variable perbandingan

Aspergillus niger : *Trichoderma reseei* = 1 : 1

Diketahui :

Massa a = 1,0695gram

Massa b = 0,3512 gram

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

$$= \frac{(1,0695-0,3512)}{1,0695} \times 100\%$$

$$= 67,16\%$$

7.1.4 Kadar air setelah hidrolisis likuifikasi dengan variable perbandingan

Aspergillus niger : *Trichoderma reseei* = 1 : 2

Massa a = 1,0563gram

Massa b = 0,321 gram

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

$$= \frac{(1,0563-0,321)}{1,0563} \times 100\%$$

$$= 69,61\%$$

7.2 Perhitungan kadar hemiselulosa

7.2.1 Kadar hemiselulosa setelah hidrolisis likuifikasi dengan variable perbandingan *Aspergillus niger* : *Trichoderma reseei* = 1 : 0

Diketahui :

Massa b = 0,3568gram

Massa c = 0,309 gram

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

$$= \frac{(0,3568-0,309)}{1,0578} \times 100\%$$

$$= 4,52\%$$

7.2.2 Kadar hemiselulosa setelah hidrolisis likuifikasi dengan variable perbandingan *Aspergillus niger* : *Trichoderma reseei* = 0 : 1

Diketahui :

Massa b = 0,372gram

Massa c = 0,323 gram

$$\begin{aligned}\text{Kadar hemiselulosa} &= \frac{(b-c)}{a} \times 100\% \\ &= \frac{(0,372-0,323)}{1,062} \times 100\% \\ &= 4,619\%\end{aligned}$$

7.2.3 Kadar hemiselulosa setelah hidrolisis likuifikasi dengan variable perbandingan *Aspergillus niger* : *Trichoderma reseei* = 1 : 1

Diketahui :

Massa b = 0,3512gram

Massa c = 0,305 gram

$$\begin{aligned}\text{Kadar hemiselulosa} &= \frac{(b-c)}{a} \times 100\% \\ &= \frac{(0,3512-0,305)}{1,0695} \times 100\% \\ &= 4,319\%\end{aligned}$$

7.2.4 Kadar hemiselulosa setelah hidrolisis likuifikasi dengan variable perbandingan *Aspergillus niger* : *Trichoderma reseei* = 1 : 2

Diketahui :

Massa b = 0,321gram

Massa c = 0,286 gram

$$\begin{aligned}\text{Kadar hemiselulosa} &= \frac{(b-c)}{a} \times 100\% \\ &= \frac{(0,321-0,286)}{1,0563} \times 100\% \\ &= 3,313\%\end{aligned}$$

7.3 Perhitungan kadar selulosa

7.3.1 Kadar selulosa setelah hidrolisis likuifikasi dengan variable perbandingan *Aspergillus niger* : *Trichoderma reseei* = 1:0

Diketahui :

Massa c = 0,309gram

Massa d = 0,1576 gram

$$\begin{aligned}\text{Kadar selulosa} &= \frac{(c-d)}{a} \times 100\% \\ &= \frac{(0,309-0,1576)}{1,0578} \times 100\% \\ &= 14,31\%\end{aligned}$$

7.3.2 Kadar selulosa setelah hidrolisis likuifikasi dengan variabel perbandingan *Aspergillus niger* : *Trichoderma reseei* = 0:1

Diketahui :

Massa c = 0,323gram

Massa d = 0,1654 gram

$$\begin{aligned}\text{Kadar selulosa} &= \frac{(c-d)}{a} \times 100\% \\ &= \frac{(0,323-0,1654)}{1,062} \times 100\% \\ &= 14,839\%\end{aligned}$$

7.3.3 Kadar selulosa setelah hidrolisis likuifikasi dengan variable perbandingan *Aspergillus niger* : *Trichoderma reseei* = 1:1

Diketahui :

Massa c = 0,305gram

Massa d = 0,1576 gram

$$\begin{aligned}\text{Kadar selulosa} &= \frac{(c-d)}{a} \times 100\% \\ &= \frac{(0,305-0,1576)}{1,0695} \times 100\% \\ &= 13,78\%\end{aligned}$$

7.3.4 Kadar selulosa setelah hidrolisis likuifikasi dengan variable perbandingan *Aspergillus niger* : *Trichoderma reseei* = 1:2

Diketahui :

Massa c = 0,286gram

Massa d = 0,149 gram

$$\begin{aligned}\text{Kadar selulosa} &= \frac{(c-d)}{a} \times 100\% \\ &= \frac{(0,286-0,149)}{1,0563} \times 100\% \\ &= 12,96\%\end{aligned}$$

7.4 Perhitungan kadar lignin

7.4.1 Kadar lignin setelah hidrolisis likuifikasi dengan variable perbandingan *Aspergillus niger* : *Trichoderma reseei* = 1:1

Diketahui :

Massa d = 0,1576gram

Massa e = 0,0154 gram

$$\begin{aligned}\text{Kadar lignin} &= \frac{(d-e)}{a} \times 100\% \\ &= \frac{(0,1576-0,0154)}{1,0578} \times 100\% \\ &= 13,44\%\end{aligned}$$

7.4.2 Kadar lignin setelah hidrolisis likuifikasi dengan variable perbandingan *Aspergillus niger* : *Trichoderma reseei* = 0:1

Diketahui :

Massa d = 0,1654gram

Massa e = 0,0113 gram

$$\begin{aligned}\text{Kadar lignin} &= \frac{(d-e)}{a} \times 100\% \\ &= \frac{(0,1654-0,0113)}{1,062} \times 100\% \\ &= 14,51\%\end{aligned}$$

7.4.3 Kadar lignin setelah hidrolisis likuifikasi dengan variable perbandingan *Aspergillus niger* : *Trichoderma reseei* = 1:1

Diketahui :

Massa d = 0,1576gram

Massa e = 0,0145 gram

$$\begin{aligned}\text{Kadar lignin} &= \frac{(d-e)}{a} \times 100\% \\ &= \frac{(0,1576-0,0145)}{1,0695} \times 100\% \\ &= 13,38\%\end{aligned}$$

7.4.4 Kadar lignin setelah hidrolisis likuifikasi dengan variable perbandingan *Aspergillus niger* : *Trichoderma reseei* = 1:2

Diketahui :

Massa d = 0,1631gram

Massa e = 0,0176 gram

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

$$= \frac{(0,1631-0,0176)}{1,0061} \times 100\%$$

$$= 14,462\%$$

8. Perhitungan penurunan lignin setelah proses hidrolisis likuifikasi

Penurunan kadar lignin dapat dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$\text{Penurunan kadar lignin} = \frac{L_0 - L_1}{L_0} \times 100\%$$

Keterangan :

L_0 = persen kandungan lignin setelah proses pre-treatment asam H_2SO_4 2%

L_1 = persen lignin setelah proses hidrolisis likuifikasi

a. Variabel (*Aspergillus niger* : *Trichoderma reesei* = 0:1)

Contoh perhitungan :

$$L_0 = 14,51\%$$

$$L_1 = 14,46\%$$

$$\text{Penurunan kadar lignin} = \frac{14,51 - 14,46}{14,51} \times 100\%$$

$$= 0,34\%$$

b. Variabel (*Aspergillus niger* : *Trichoderma reesei* = 1:0)

Contoh perhitungan :

$$L_0 = 14,51\%$$

$$L_1 = 13,44\%$$

$$\text{Penurunan kadar lignin} = \frac{14,51 - 13,44}{14,51} \times 100\%$$

$$= 7,37\%$$

c. Variabel (*Aspergillus niger* : *Trichoderma reesei* = 1:1)

Contoh perhitungan :

$$L_0 = 14,51\%$$

$$L_1 = 13,38\%$$

$$\text{Penurunan kadar lignin} = \frac{14,51 - 13,38}{14,51} \times 100\%$$

$$= 7,79\%$$

d. Variabel (*Aspergillus niger* : *Trichoderma reesei* = 1:2)

Contoh perhitungan :

$$L_0 = 14,51\%$$

$$L_1 = 12,86\%$$

$$\begin{aligned}\text{Penurunan kadar lignin} &= \frac{14,51-12,86}{14,51} \times 100\% \\ &= 11,37\%\end{aligned}$$

9. Perhitungan penurunan selulosa setelah proses hidrolisis likuifikasi

Penurunan kadar selulosa dapat dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$\text{Penurunan kadar selulosa} = \frac{S_0 - S_1}{S_0} \times 100\%$$

Keterangan :

S_0 = persen kandungan awal selulosa setelah proses pre-treatment asam H_2SO_4 2%

S_1 = persen selulosa setelah hidrolisis likuifikasi

a. Variabel (*Aspergillus niger* : *Trichoderma reseei* = 0:1)

Contoh perhitungan :

$$S_0 = 15,40\%$$

$$S_1 = 14,84\%$$

$$\begin{aligned}\text{Penurunan kadar selulosa} &= \frac{15,40-14,84}{15,40} \times 100\% \\ &= 3,90\%\end{aligned}$$

b. Variabel (*Aspergillus niger* : *Trichoderma reseei* = 1:0)

Contoh perhitungan :

$$S_0 = 15,40\%$$

$$S_1 = 14,31\%$$

$$\begin{aligned}\text{Penurunan kadar selulosa} &= \frac{15,40-14,31}{15,40} \times 100\% \\ &= 7,34\%\end{aligned}$$

c. Variabel (*Aspergillus niger* : *Trichoderma reseei* = 1:1)

Contoh perhitungan :

$$S_0 = 15,40\%$$

$$S_1 = 13,78\%$$

$$\begin{aligned}\text{Penurunan kadar selulosa} &= \frac{15,40-13,78}{15,40} \times 100\% \\ &= 10,78\%\end{aligned}$$

d. Variabel (*Aspergillus niger* : *Trichoderma reesei* = 1:2)

Contoh perhitungan :

$$S_0 = 15,40\%$$

$$S_1 = 12,97\%$$

$$\begin{aligned} \text{Penurunan kadar selulosa} &= \frac{15,40 - 12,97}{15,40} \times 100\% \\ &= 16,04\% \end{aligned}$$

10. Jumlah *Saccharomyces cerevisiae* yang digunakan pada tahap hidrolisis sakarifikasi

Daerah		Waktu Pengamatan		
		RUN1	RUN 2	RUN 3
A		9	6	18
B		7	18	10
C		9	12	7
D		5	9	8
E		14	11	14
Jumlah sel	(sel / 5 kotak)	44	56	57
	(sel / kotak)	8.8	11.2	11.4

Jumlah sel *Saccharomyces cerevisiae*

rata-rata (sel/kotak) = $(8,8 + 11,2 + 11,4)/3 = 10,47$ sel/kotak

$$\begin{aligned} &= 10,47 \text{ sel /kotak} \times \frac{25 \text{ kotak}}{1 \text{ mm}^2} \times \\ &\frac{1}{10 \text{ mm}} \times \frac{1 \text{ mm}^3}{\text{mL}} \\ &= 26,17 \times 10^6 \text{ sel / mL} \end{aligned}$$

Saccharomyces cerevisiae

11. Perubahan kadar glukosa setelah proses hidrolisis sakarifikasi

11.1 Peningkatan kadar glukosa setelah proses sakarifikasi (3hari)

Kenaikan kadar glukosa dapat dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut :

$$\text{Kenaikan kadar glukosa} = \frac{G_1 - G_0}{G_0} \times 100\%$$

Keterangan :

G_1 = persen kandungan glukosa setelah proses pre-treatment

G_0 = persen kandungan glukosa awal kulit pisang

Contoh perhitungan :

$$G_1 = 1,63\%$$

$$G_0 = 0,52\%$$

$$\begin{aligned} \text{Kenaikan kadar glukosa} &= \frac{1,63 - 0,52}{0,52} \times 100\% \\ &= 213,46\% \end{aligned}$$

11.2 Penurunan kadar glukosa setelah proses sakarifikasi (6hari)

Penurunan kadar glukosa dapat dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut :

$$\text{Penurunan kadar glukosa} = \frac{G_0 - G_1}{G_0} \times 100\%$$

Keterangan :

G_1 = persen kandungan glukosa setelah proses pre-treatment

G_0 = persen kandungan glukosa awal kulit pisang

Contoh perhitungan :

$$G_0 = 0,52\%$$

$$G_1 = 0,47\%$$

$$\begin{aligned} \text{Penurunan kadar glukosa} &= \frac{0,52 - 0,47}{0,52} \times 100\% \\ &= 9,61\% \end{aligned}$$

11.3 Penurunan kadar glukosa setelah proses sakarifikasi (9hari)

Penurunan kadar glukosa dapat dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut :

$$\text{Penurunan kadar glukosa} = \frac{G_0 - G_1}{G_0} \times 100\%$$

Keterangan :

G_1 = persen kandungan glukosa setelah proses pre-treatment

G_0 = persen kandungan glukosa awal kulit pisang

Contoh perhitungan :

$G_0 = 0,52\%$

$G_1 = 0\%$

$$\begin{aligned} \text{Penurunan kadar glukosa} &= \frac{0,52-0}{0,52} \times 100\% \\ &= 100\% \end{aligned}$$

12. Jumlah Mikroorganisme yang digunakan pada tahap fermentasi

a. Jumlah *Zymomonas mobilis* yang digunakan

Daerah	Waktu Pengamatan			
	RUN 1	RUN 2	RUN 3	
A	28	10	6	
B	15	21	24	
C	32	39	17	
D	7	25	36	
E	5	6	45	
Jumlah sel	(sel / 5 kotak)	87	101	128
	(sel / kotak)	17.4	20.2	25.6

Jumlah sel *Zymomonas mobilis*

rata-rata (sel/kotak) = $(17,4 + 20,2 + 25,6)/3 = 21,07$ sel/kotak

$$= 21,07 \text{ sel /kotak} \times \frac{25 \text{ kotak}}{1\text{mm}^2} \times$$

$$\frac{1}{10 \text{ mm}} \times \frac{1 \text{ mm}^3}{\text{mL}}$$

$$= 52,68 \times 10^6 \text{ sel / mL}$$

Zymomonas mobilis

b. Jumlah *Saccharomyces cerevisiae* yang digunakan

Daerah		Waktu Pengamatan		
		RUN1	RUN 2	RUN 3
A		21	20	17
B		15	36	25
C		18	12	32
D		14	37	16
E		38	10	42
Jumlah sel	(sel / 5 kotak)	106	115	132
	(sel / kotak)	21.2	23	26.4

Jumlah sel *Saccharomyces cerevisiae*

rata-rata (sel/kotak) = $(21,2 + 23 + 26,4)/3 = 23,53$ sel/kotak

$$= 23,53 \text{ sel /kotak} \times \frac{25 \text{ kotak}}{1\text{mm}^2} \times$$

$$\frac{1}{10 \text{ mm}} \times \frac{1 \text{ mm}^3}{\text{mL}}$$

$$= 58,83 \times 10^6 \text{ sel / mL}$$

Saccharomyces cerevisiae

13. Penentuan waktu log phase mikroorganisme yang digunakan pada tahap hidrolisis likuifikasi

a. Penentuan waktu Log Phase *Trichoderma reesei*

Tabel 11.1 Data pertumbuhan jumlah sel *Trichoderma reesei* selama 120 jam

Daerah		Waktu Pengamatan				
		24 jam	48 jam	72 jam	96 jam	120 jam
A		9	12	11	20	27
B		4	12	3	25	28
C		10	10	5	21	28
D		2	0	12	35	29
E		1	4	9	30	25
Jumlah sel	(sel / 5 kotak)	26	38	40	131	137
	(sel / kotak)	5.2	7.6	8	26.2	27.4

Contoh perhitungan sel *Trichoderma reesei* dalam satuan (sel/mL)

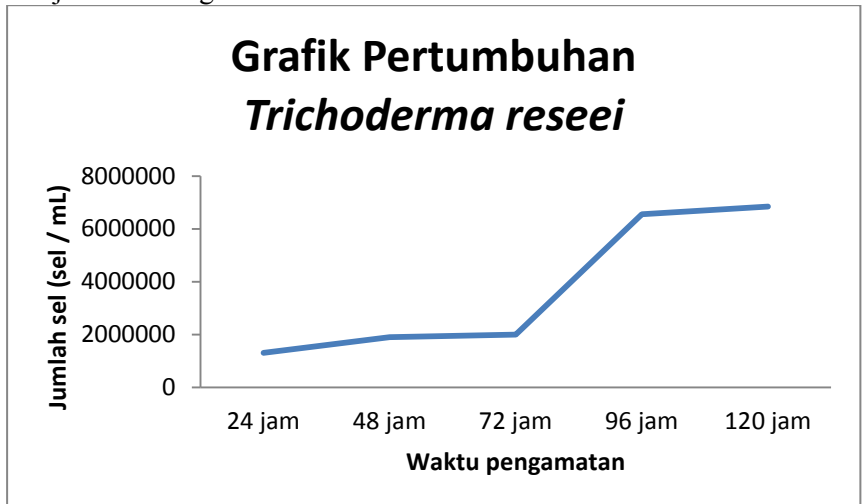
$$\begin{aligned}
 &\text{Untuk waktu 24 jam} &&= 5,2 \text{ sel/kotak} \times \frac{25 \text{ kotak}}{1\text{mm}^2} \times \frac{1}{10 \text{ mm}} \\
 &\times \frac{1 \text{ mm}^3}{\text{mL}} &&= 1,3 \times 10^6 \text{ sel / mL}
 \end{aligned}$$

Tabel pertumbuhan jumlah sel *Trichoderma reesei* selama 120 jam disajikan dalam tabel berikut:

Tabel 11.2 Jumlah sel *Trichoderma reesei* selama 120 jam dalam sel/mL

Waktu	Jumlah sel mikroorganisme (sel/mL)
24 jam	$1,3 \times 10^6$
48 jam	$1,9 \times 10^6$
72 jam	$2,0 \times 10^6$
96 jam	$6,55 \times 10^6$
120 jam	$6,85 \times 10^6$

Grafik pertumbuhan sel *Trichoderma reesei* selama 120 jam disajikan dalam grafik berikut:



Gambar 11.1 Grafik pertumbuhan *Trichoderma reesei*

Berdasarkan grafik diatas dapat diketahui bahwa waktu log phase *Trichoderma reseei* yaitu pada jam ke 72 atau pada hari ketiga.

b. Penentuan waktu Log Phase *Aspergillus niger*

Tabel 11.3 Data pertumbuhan jumlah sel *Aspergillus niger* selama 120 jam

Daerah		Waktu Pengamatan				
		24 jam	48 jam	72 jam	96 jam	120 jam
A		18	10	7	33	21
B		10	4	13	30	24
C		0	2	4	27	27
D		0	10	3	9	13
E		13	18	20	11	20
Jumlah sel	(sel / 5 kotak)	41	44	47	110	105
	(sel / kotak)	8.2	8.8	9.4	22	21

Contoh perhitungan sel *Aspergillus niger* dalam satuan (sel/mL)

$$\text{Untuk waktu 24 jam} = 8,2 \text{ sel /kotak} \times \frac{25 \text{ kotak}}{1 \text{ mm}^2} \times \frac{1}{10 \text{ mm}} \times \frac{1 \text{ mm}^3}{\text{mL}}$$

$$= 5,25 \times 10^6 \text{ sel / mL}$$

Tabel pertumbuhan jumlah sel *Aspergillus niger* selama 120 jam disajikan dalam tabel berikut:

Tabel 11.4 Jumlah sel *Aspergillus niger* selama 120 jam dalam sel/mL

Waktu	Jumlah sel mikroorganisme (sel/mL)
24 jam	$2,05 \times 10^6$
48 jam	$2,20 \times 10^6$
72 jam	$2,35 \times 10^6$
96 jam	$5,50 \times 10^6$
120 jam	$5,25 \times 10^6$

14. Penentuan waktu log phase mikroorganismen yang digunakan pada tahap fermentasi dan hidrolisis sakarifikasi

a. Penentuan waktu Log Phase *Zymomonas mobilis*

Tabel 12.1 Data pertumbuhan jumlah sel *Zymomonas mobilis* selama 12 jam

Daerah		Waktu Pengamatan					
		2 jam	4 jam	6 jam	8 jam	10 jam	12 jam
A		2	4	1	6	4	5
B		4	3	5	5	19	12
C		2	4	0	10	8	15
D		1	2	8	16	11	6
E		3	6	10	9	4	2
Jumlah sel	(sel / 5 kotak)	12	19	24	46	46	40
	(sel / kotak)	2.4	3.8	4.8	9.2	9.2	8

Contoh perhitungan sel *Zymomonas mobilis* dalam satuan (sel/mL)

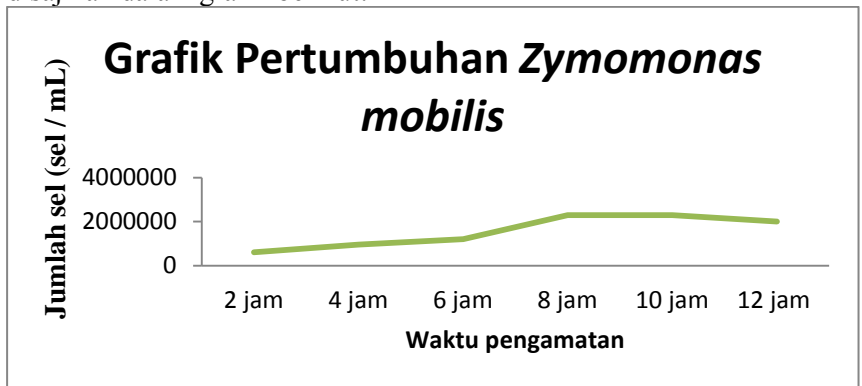
$$\begin{aligned}
 \text{Untuk waktu 2 jam} \quad &= 2,4 \text{ sel /kotak} \times \frac{25 \text{ kotak}}{1 \text{ mm}^2} \times \frac{1}{10 \text{ mm}} \times \frac{1 \text{ mm}^3}{\text{mL}} \\
 &= 6,00 \times 10^5 \text{ sel / mL}
 \end{aligned}$$

Tabel pertumbuhan jumlah sel *Zymomonas mobilis* selama 12 jam disajikan dalam tabel berikut:

Tabel 12.2 Jumlah sel *Zymomonas mobilis* selama 12 jam dalam sel/mL

Waktu	Jumlah sel mikroorganisme (sel/mL)
2 jam	$6,00 \times 10^5$
4 jam	$9,50 \times 10^6$
6 jam	$1,20 \times 10^6$
8 jam	$2,30 \times 10^6$
10 jam	$2,30 \times 10^6$
12 jam	$2,00 \times 10^6$

Grafik pertumbuhan sel *Zymomonas mobilis* selama 12 jam disajikan dalam grafik berikut:



Gambar 12.1 Grafik pertumbuhan *Zymomonas mobilis*

Berdasarkan grafik diatas dapat diketahui bahwa waktu log phase *Zymomonas mobilis* yaitu sekitar pada jam ke 6.

b. Penentuan waktu Log Phase *Saccharomyces cerevisiae*

Tabel 12.3 Data pertumbuhan jumlah sel *Saccharomyces cerevisiae* selama 12 jam

Daerah		Waktu Pengamatan					
		2 jam	4 jam	6 jam	8 jam	10 jam	12 jam
A		1	2	3	6	10	2
B		0	6	5	8	9	7
C		0	3	5	9	7	6
D		0	2	3	6	4	2
E		1	3	9	3	12	9
Jumlah sel	(sel / 5 kotak)	2	16	25	32	42	26
	(sel / kotak)	0.4	3.2	5	6.4	8.4	5.2

Contoh perhitungan sel *Saccharomyces cerevisiae* dalam satuan (sel/mL)

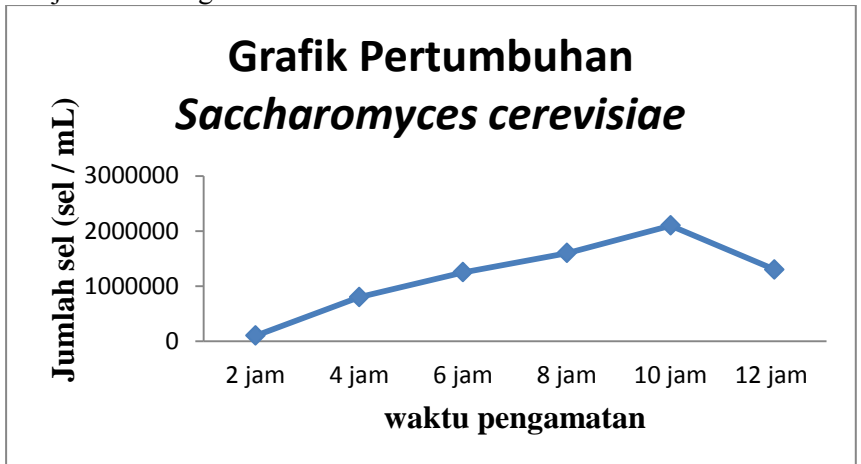
$$\begin{aligned}
 \text{Untuk waktu 2 jam} &= 0,4 \text{ sel /kotak} \times \frac{25 \text{ kotak}}{1\text{mm}^2} \times \frac{1}{10 \text{ mm}} \times \\
 &\frac{1 \text{ mm}^3}{\text{mL}} \\
 &= 1,00 \times 10^5 \text{ sel / mL}
 \end{aligned}$$

Tabel pertumbuhan jumlah sel *Saccharomyces cerevisiae* selama 12 jam disajikan dalam tabel berikut:

Tabel 12.4 Jumlah sel *Saccharomyces cerevisiae* selama 12 jam dalam sel/mL

Waktu	Jumlah sel mikroorganisme (sel/mL)
2 jam	$1,00 \times 10^5$
4 jam	$8,00 \times 10^5$
6 jam	$1,25 \times 10^6$
8 jam	$1,60 \times 10^6$
10 jam	$2,10 \times 10^6$
12 jam	$1,30 \times 10^6$

Grafik pertumbuhan sel *Saccharomyces cerevisiae* selama 12 jam disajikan dalam grafik berikut:



Gambar 12.2 Grafik pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae*

Berdasarkan grafik diatas dapat diketahui bahwa waktu log phase *Saccharomyces cerevisiae* yaitu pada jam ke 5.

15. Perhitungan kadar yield etanol terhadap glukosa dari penggunaan *Zymomonas mobilis* pada fermentasi

Untuk mencari kadar yield etanol dapat dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut :

$$Y = \frac{E_1}{S_0}$$

Dimana :

E_1 = konsentrasi etanol yang terbentuk

S_0 = konsentrasi substrat awal (glukosa)

- Menghitung konsentrasi substrat awal S_0
konsentrasi glukosa (S_0) = % glukosa (w/w) x ρ glukosa
 $= 1,63\% \times 1544 \text{ g/L}$
 $= 25,16 \text{ g/L}$
- Menghitung konsentrasi etanol yang terbentuk E_1
konsentrasi etanol (E_1) = % etanol (w/w) x ρ etanol
 $= 2,213\% \times 789 \text{ g/L}$
 $= 17,460 \text{ g/L}$

Sehingga yield etanol yang terbentuk dengan memanfaatkan mikroorganismenya *Zymomonas mobilis* :

$$\begin{aligned} Y &= \frac{E_1}{S_0} \\ &= \frac{17,46 \text{ gram etanol}}{25,16 \text{ gram glukosa}} \\ &= 0,69 \text{ gram etanol/ gram glukosa} \end{aligned}$$

16. Perhitungan kadar yield etanol terhadap glukosa dari penggunaan *Saccharomyces cerevisiae* pada fermentasi

Untuk mencari kadar yield etanol dapat dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut :

$$Y = \frac{E_1}{S_0}$$

Dimana :

E_1 = konsentrasi etanol yang terbentuk

S_0 = konsentrasi substrat awal (glukosa)

- Menghitung konsentrasi substrat awal S_0
 konsentrasi glukosa (S_0) = % glukosa (w/w) x ρ glukosa

$$= 1,63\% \times 1544 \text{ g/L}$$

$$= 25,16 \text{ g/L}$$
- Menghitung konsentrasi etanol yang terbentuk E_1
 konsentrasi etanol (E_1) = % etanol (w/w) x ρ etanol

$$= 2,787\% \times 789 \text{ g/L}$$

$$= 21,989 \text{ g/L}$$

Sehingga yield etanol yang terbentuk dengan memanfaatkan mikroorganisme *Saccharomyces cerevisiae*:

$$Y = \frac{E_1}{S_0}$$

$$= \frac{21,989 \text{ gram etanol}}{25,16 \text{ gram glukosa}}$$

$$= 0,87 \text{ gram etanol / gram glukosa}$$

17. Perhitungan kadar yield etanol terhadap kulit pisang dari penggunaan *Zymomonas mobilis* pada fermentasi

Untuk mencari kadar yield etanol dapat dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut :

$$Y = \frac{E_1}{S_0}$$

Dimana :

E_1 = konsentrasi etanol yang terbentuk

S_0 = konsentrasi kulit pisang

- Menghitung konsentrasi substrat awal S_0
 konsentrasi kulit pisang (S_0) = 100 g/L
- Menghitung konsentrasi etanol yang terbentuk E_1
 konsentrasi etanol (E_1) = % etanol (w/w) x ρ etanol

$$= 2,213\% \times 789 \text{ g/L}$$

$$= 17,460 \text{ g/L}$$

Sehingga yield etanol yang terbentuk dengan memanfaatkan mikroorganismenya *Zymomonas mobilis*:

$$\begin{aligned}
 Y &= \frac{E_1}{S_0} \\
 &= \frac{17,46 \text{ gram etanol}}{100 \text{ gram kulit pisang}} \\
 &= 0,17 \text{ gram etanol/ gram kulit pisang}
 \end{aligned}$$

18. Perhitungan kadar yield etanol terhadap kulit pisang dari penggunaan *Saccharomyces cerevisiae* pada fermentasi

Untuk mencari kadar yield etanol dapat dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut :

$$Y = \frac{E_1}{S_0}$$

Dimana :

E_1 = konsentrasi etanol yang terbentuk

S_0 = konsentrasi kulit pisang

- Menghitung konsentrasi substrat awal S_0
 konsentrasi kulit pisang (S_0) = 100 g/L
- Menghitung konsentrasi etanol yang terbentuk E_1
 konsentrasi etanol (E_1) = % etanol
 (w/w) x ρ etanol
 = 2,787% x 789
 g/L
 = 21,989 g/L

Sehingga yield etanol yang terbentuk dengan memanfaatkan mikroorganismenya *Saccharomyces cerevisiae*:

$$\begin{aligned}
 Y &= \frac{E_1}{S_0} \\
 &= \frac{21,989 \text{ gram etanol}}{100 \text{ gram kulit pisang}} \\
 &= 0,22 \text{ gram etanol / gram kulit pisang}
 \end{aligned}$$

APPENDIKS B

HASIL ANALISA DAN PERHITUNGAN

1. Hasil Analisa Kandungan Awal Kulit Pisang

Hasil Analisa	Kandungan (%)
Kadar air	44,16
Kadar abu	1,19
Kadar hemiselulosa	16,73
Kadar selulosa	14,78
Kadar lignin	23,12

2. Hasil Analisa Kandungan Kulit Pisang setelah Pre-Treatment Asam Sulfat (H₂SO₄) 2%

Hasil Analisa	Kandungan (%)
Kadar air	63,72
Kadar abu	1,74
Kadar hemiselulosa	4,66
Kadar selulosa	15,40
Kadar lignin	14,46

3. Hasil Removal Kandungan Kulit Pisang setelah Proses Pre-Treatment dengan Asam Sulfat (H₂SO₄) 2%

Hasil Analisa	% Removal
Kadar lignin	37,45
Kadar selulosa	4,06
Kadar hemiselulosa	72,14

4. Hasil Analisa Kandungan Glukosa setelah Proses Hidrolisis Likuifikasi dengan empat variabel berbeda

Variabel	Kadar Glukosa (%)
Penambahan <i>Aspergillus niger</i> : <i>Trichoderma reseei</i> = 0 : 1	0,23
Penambahan <i>Aspergillus niger</i> : <i>Trichoderma reseei</i> = 1 : 0	0,27
Penambahan <i>Aspergillus niger</i> : <i>Trichoderma reseei</i> = 1 : 1	0,44
Penambahan <i>Aspergillus niger</i> : <i>Trichoderma reseei</i> = 1 : 2	0,52

5. Hasil Analisa Kandungan Lignin setelah Proses Hidrolisis Likuifikasi dengan empat variabel berbeda

Variabel	Kadar Lignin (%)
Penambahan <i>Aspergillus niger</i> : <i>Trichoderma reseei</i> = 0 : 1	14,51
Penambahan <i>Aspergillus niger</i> : <i>Trichoderma reseei</i> = 1 : 0	13,44
Penambahan <i>Aspergillus niger</i> : <i>Trichoderma reseei</i> = 1 : 1	13,38
Penambahan <i>Aspergillus niger</i> : <i>Trichoderma reseei</i> = 1 : 2	14,46

6. Hasil Analisa Kandungan Selulosa setelah Proses Hidrolisis Likuifikasi dengan empat variabel berbeda

Variabel	Kadar Selulosa (%)
Penambahan <i>Aspergillus niger</i> : <i>Trichoderma reesei</i> = 0 : 1	14,83
Penambahan <i>Aspergillus niger</i> : <i>Trichoderma reesei</i> = 1 : 0	14,31
Penambahan <i>Aspergillus niger</i> : <i>Trichoderma reesei</i> = 1 : 1	13,78
Penambahan <i>Aspergillus niger</i> : <i>Trichoderma reesei</i> = 1 : 2	12,96

7. Hasil Analisa Kandungan Hemiselulosa setelah Proses Hidrolisis Likuifikasi dengan empat variabel berbeda

Variabel	Kadar Hemiselulosa (%)
Penambahan <i>Aspergillus niger</i> : <i>Trichoderma reesei</i> = 0 : 1	4,62
Penambahan <i>Aspergillus niger</i> : <i>Trichoderma reesei</i> = 1 : 0	4,52
Penambahan <i>Aspergillus niger</i> : <i>Trichoderma reesei</i> = 1 : 1	4,32
Penambahan <i>Aspergillus niger</i> : <i>Trichoderma reesei</i> = 1 : 2	3,31

8. Hasil Analisa Kandungan Air setelah Proses Hidrolisis Likuifikasi dengan empat variabel berbeda

Variabel	Kadar Air (%)
Penambahan <i>Aspergillus niger</i> : <i>Trichoderma reesei</i> = 0 : 1	64,97
Penambahan <i>Aspergillus niger</i> : <i>Trichoderma reesei</i> = 1 : 0	66,27
Penambahan <i>Aspergillus niger</i> : <i>Trichoderma reesei</i> = 1 : 1	67,16
Penambahan <i>Aspergillus niger</i> : <i>Trichoderma reesei</i> = 1 : 2	69,61

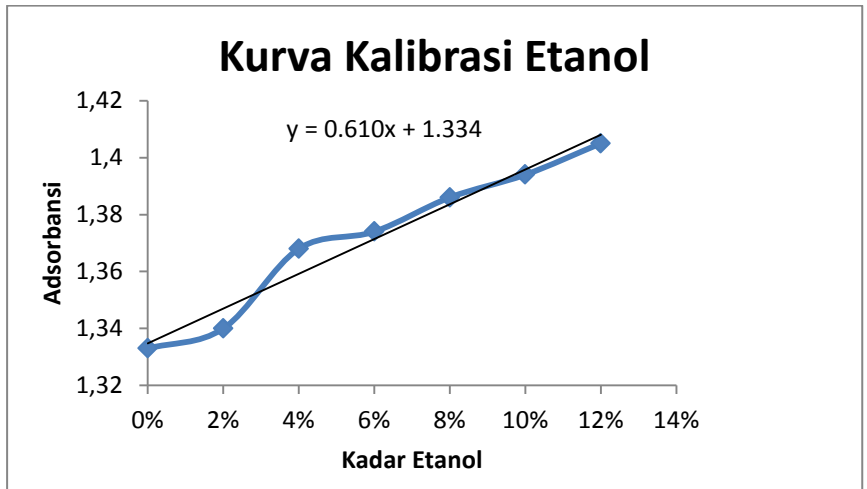
9. Hasil Analisa Kandungan Glukosa setelah Proses Hidrolisis Sakarifikasi

Variabel (waktu)	Kadar Glukosa (%)
Penambahan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (3 hari)	1,63
Penambahan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (6 hari)	0,47
Penambahan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (9 hari)	0

10. Hasil Perubahan Kadar Glukosa setelah Proses Hidrolisis Sakarifikasi

Variabel (waktu)	Kadar Glukosa (%)
Penambahan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (3 hari)	213,46 (+)
Penambahan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (6 hari)	9,61 (-)
Penambahan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (9 hari)	100 (-)

11. Hasil Perhitungan Analisa Etanol dengan Menggunakan Alat Refraktometer



Grafik Kaliberasi Etanol dengan kadar 0-12%

Grafik diatas merupakan grafik kalibrasi untuk etanol dengan kadar 0-12%, dengan mendapatkan persamaan linier dari grafik tersebut maka dapat ditentukan kadar etanolnya dengan menggunakan alat refraktometer sehingga didapatkan nilai adsorbansinya. Dengan didapatkan nilai adsorbansi maka kadar etanol dapat diketahui dengan memasukkan nilai adsorbansi tersebut kedalam persamaan yang didapatkan dari grafik, yaitu :

$$y = 0,610 x + 1,334$$

Keterangan :

x : kadar etanol

y : nilai adsorbansi

Berikut merupakan nilai adsorbansi hasil rata-rata fermentasi untuk tiap-tiap variabel mikroorganismenya :

Variabel	Hari	Adsorbansi Run 1	Adsorbansi Run 2	Adsorbansi Rata-rata
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2	1.3490	1.3500	1.3495
	3	1.3500	1.3510	1.3505
	4	1.3510	1.3510	1.3510
	5	1.3500	1.3510	1.3505
	6	1.3500	1.3500	1.3500
	7	1.3500	1.3500	1.3500
<i>Zymomonas mobilis</i>	2	1.3480	1.3460	1.3470
	3	1.3490	1.3470	1.3480
	4	1.3500	1.3475	1.3488
	5	1.3480	1.3475	1.3478
	6	1.3480	1.3465	1.3473
	7	1.3480	1.3465	1.3473

contoh perhitungan :

Untuk variabel penggunaan *Saccharomyces cerevisiae* pada hari ke 4 secara rata-rata

Nilai adsorbansinya (y) rata-rata = 1,358, maka :

$$y = 0,610 x + 1,334$$

$$1,351 = 0,610 (x) + 1,334$$

$$x = 2,787\%$$

Sehingga didapatkan kadar etanol (x) sebesar 2,787%.

Hasil perhitungan dengan variabel yang lain disajikan dalam tabel-tabel dibawah ini :

Tabel Hasil Perhitungan Kandungan Ethanol setelah Proses Fermentasi

- Penambahan *Saccharomyces cerevisiae* 20% (v/v) RUN 1

Variabel	Hari	Kandungan Etanol
Penambahan <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2	2,46%
	3	2,62%
	4	2,79%
	5	2,62%
	6	2,62%
	7	2,62%

- Penambahan *Saccharomyces cerevisiae* 20% (v/v) RUN 2

Variabel	Hari	Kandungan Etanol
Penambahan <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2	2,62%
	3	2,79%
	4	2,79%
	5	2,79%
	6	2,62%
	7	2,62%

- Penambahan *Saccharomyces cerevisiae* 20% (v/v)
Rata-Rata

Variabel	Hari	Kandungan Etanol
Penambahan <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2	2,541%
	3	2,705%
	4	2,787%
	5	2,705%
	6	2,623%
	7	2,623%

Tabel Hasil Perhitungan Kandungan Ethanol setelah Proses Fermentasi

- Penambahan *Zymomonas mobilis* 20% (v/v) RUN 1

Variabel	Hari	Kandungan Etanol
Penambahan <i>Zymomonas mobilis</i>	2	2,30%
	3	2,46%
	4	2,62%
	5	2,30%
	6	2,30%
	7	2,30%

- Penambahan *Zymomonas mobilis* 20% (v/v) RUN 2

Variabel	Hari	Kandungan Etanol
Penambahan <i>Zymomonas mobilis</i>	2	1,64%
	3	1,80%
	4	1,80%
	5	2,13%
	6	1,80%
	7	1,80%

- Penambahan *Zymomonas mobilis* 20% (v/v) Rata-Rata

Variabel	Hari	Kandungan Etanol
Penambahan <i>Zymomonas mobilis</i>	2	1,967%
	3	2,131%
	4	2,213%
	5	2,213%
	6	2,049%
	7	2,046%

12. Hasil perhitungan nilai yield

Variabel	Nilai Yield
Penambahan <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0,87 gram etanol/ gram glukosa
	0,17 gram etanol/ gram kulit pisang
Penambahan <i>Zymomonas mobilis</i>	0,69 gram etanol/ gram glukosa
	0,22 gram etanol/ gram kulit pisang

13. Jumlah mikroorganisme yang digunakan tiap tahapan

Mikroorganisme dan tahapan proses	Jumlah sel mikroorganisme
Hidrolisis Likufikasi	
<i>Trichoderma reesei</i> (variabel 0 AN : 1 TR)	36,5 x 10 ⁶ sel / mL
<i>Trichoderma reesei</i> (variabel 1 AN : 1 TR)	17,5 x 10 ⁶ sel / mL
<i>Trichoderma reesei</i> (variabel 1 AN : 2 TR)	25,5 x 10 ⁶ sel / mL
<i>Aspergillus niger</i> (variabel 1 AN : 0 TR)	47,33 x 10 ⁶ sel / mL
<i>Aspergillus niger</i> (variabel 1 AN : 1 TR)	22,3 x 10 ⁶ sel / mL
<i>Aspergillus niger</i> (variabel 1 AN : 2 TR)	16,25 x 10 ⁶ sel / mL
Hidrolisis Sakarifikasi	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (10% v/v)	26,17 x 10 ⁶ sel / mL
Fermentasi	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (20% v/v)	58,83 x 10 ⁶ sel / mL
<i>Zymomonas mobilis</i> (20% v/v)	52,68 x 10 ⁶ sel / mL

APPENDIKS A CARA PERHITUNGAN

1. Perhitungan kandungan awal kulit pisang dengan menggunakan metode Cheson

- Perhitungan kadar air
Kadar air $= \frac{(a-b)}{a} \times 100\%$
- Perhitungan hemiselulosa
Kadar hemiselulosa $= \frac{(b-c)}{a} \times 100\%$
- Perhitungan selulosa
Kadar selulosa $= \frac{(c-d)}{a} \times 100\%$
- Perhitungan lignin
Kadar lignin $= \frac{(d-e)}{a} \times 100\%$
- Perhitungan abu
Kadar abu $= \frac{(e)}{a} \times 100\%$

Keterangan :

- a : massa kering sampel awal
- b : massa kering sampel setelah reflux pertama dengan aquadest
- c : massa kering sampel setelah reflux kedua dengan H₂SO₄ 1 %
- d : massa kering sampel setelah perendaman H₂SO₄ 72 % dan reflux kedua dengan H₂SO₄ 1 %
- e : massa kering sampel setelah di furnace dengan suhu 600° C

1.1 Perhitungan kadar air

Diketahui :

Massa a = 1,019gram

Massa b = 0,569 gram

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{(a-b)}{a} \times 100\% \\ &= \frac{(1,019-0,569)}{1,019} \times 100\% \\ &= 44,16\% \end{aligned}$$

1.2 Perhitungan kadar hemiselulosa

Diketahui :

$$\text{Massa b} = 0,569 \text{ gram}$$

$$\text{Massa c} = 0,3985 \text{ gram}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar hemiselulosa} &= \frac{(b-c)}{a} \times 100\% \\ &= \frac{(0,569-0,3985)}{1,019} \times 100\% \\ &= 16,73\% \end{aligned}$$

1.3 Perhitungan kadar selulosa

Diketahui :

$$\text{Massa c} = 0,3985 \text{ gram}$$

$$\text{Massa d} = 0,2478 \text{ gram}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar selulosa} &= \frac{(c-d)}{a} \times 100\% \\ &= \frac{(0,3985-0,2478)}{1,019} \times 100\% \\ &= 14,78\% \end{aligned}$$

1.4 Perhitungan kadar lignin

Diketahui :

$$\text{Massa d} = 0,2478 \text{ gram}$$

$$\text{Massa e} = 0,0122 \text{ gram}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar lignin} &= \frac{(d-e)}{a} \times 100\% \\ &= \frac{(0,2478-0,0122)}{1,019} \times 100\% \\ &= 23,12\% \end{aligned}$$

1.5 Perhitungan kadar abu

Diketahui :

$$\text{Massa e} = 0,0122 \text{ gram}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar abu} &= \frac{(e)}{a} \times 100\% \\ &= \frac{(0,0122)}{1,019} \times 100\% \\ &= 1,1972\% \end{aligned}$$

2. Perhitungan kandungan kulit pisang setelah pre-treatment asam sulfat (H₂SO₄) 2% dengan menggunakan metode cheson

- Perhitungan kadar air
Kadar air $= \frac{(a-b)}{a} \times 100\%$
- Perhitungan hemiselulosa
Kadar hemiselulosa $= \frac{(b-c)}{a} \times 100\%$
- Perhitungan selulosa
Kadar selulosa $= \frac{(c-d)}{a} \times 100\%$
- Perhitungan lignin
Kadar lignin $= \frac{(d-e)}{a} \times 100\%$
- Perhitungan abu
Kadar abu $= \frac{(e)}{a} \times 100\%$

Keterangan :

- a : massa kering sampel awal
b : massa kering sampel setelah reflux pertama dengan aquadest
c : massa kering sampel setelah reflux kedua dengan H₂SO₄ 1 %
d : massa kering sampel setelah perendaman H₂SO₄ 72 % dan reflux kedua dengan H₂SO₄ 1 %
e : massa kering sampel setelah di furnace dengan suhu 600° C

2.1 Perhitungan kadar air

Diketahui :

$$\text{Massa a} = 1,0061 \text{ gram}$$

$$\text{Massa b} = 0,3650 \text{ gram}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{(a-b)}{a} \times 100\% \\ &= \frac{(1,0061-0,3650)}{1,0061} \times 100\% \\ &= 63,72\% \end{aligned}$$

2.2 Perhitungan kadar hemiselulosa

Diketahui :

$$\text{Massa b} = 0,3650 \text{ gram}$$

$$\text{Massa c} = 0,3181 \text{ gram}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar hemiselulosa} &= \frac{(b-c)}{a} \times 100\% \\ &= \frac{(0,3650-0,3181)}{1,0061} \times 100\% \\ &= 4,661\% \end{aligned}$$

2.3 Perhitungan kadar selulosa

Diketahui :

$$\text{Massa c} = 0,3181 \text{ gram}$$

$$\text{Massa d} = 0,1631 \text{ gram}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar selulosa} &= \frac{(c-d)}{a} \times 100\% \\ &= \frac{(0,3181-0,1631)}{1,0061} \times 100\% \\ &= 15,406\% \end{aligned}$$

2.4 Perhitungan kadar lignin

Diketahui :

$$\text{Massa d} = 0,1631 \text{ gram}$$

$$\text{Massa e} = 0,0176 \text{ gram}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar lignin} &= \frac{(d-e)}{a} \times 100\% \\ &= \frac{(0,1631-0,0176)}{1,0061} \times 100\% \\ &= 14,462\% \end{aligned}$$

2.5 Perhitungan kadar abu

Diketahui :

$$\text{Massa e} = 0,0176 \text{ gram}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar abu} &= \frac{(e)}{a} \times 100\% \\ &= \frac{(0,0176)}{1,0061} \times 100\% \\ &= 1,7493\% \end{aligned}$$

3. Perhitungan penurunan lignin setelah proses pre-treatment asam sulfat H₂SO₄ 2%

Penurunan kadar lignin dapat dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$\text{Penurunan kadar lignin} = \frac{L_0 - L_1}{L_0} \times 100\%$$

Keterangan :

L₀ = persen kandungan awal lignin pada kulit pisang

L₁ = persen lignin setelah proses pre-treatment

Contoh perhitungan :

$$L_0 = 23,12\%$$

$$L_1 = 14,46\%$$

$$\begin{aligned} \text{Penurunan kadar lignin} &= \frac{23,12 - 14,46}{23,12} \times 100\% \\ &= 37,45\% \end{aligned}$$

4. Perhitungan kenaikan kadar selulosa setelah proses pre-treatment asam sulfat H₂SO₄ 2%

Kenaikan kadar selulosa dapat dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut :

$$\text{Kenaikan kadar Selulosa} = \frac{S_0 - S_1}{S_0} \times 100\%$$

Keterangan :

S₁ = persen kandungan selulosa setelah proses pre-treatment

S₀ = persen kandungan selulosa awal kulit pisang

Contoh perhitungan :

$$S_1 = 15,41\%$$

$$S_0 = 14,78\%$$

$$\begin{aligned} \text{Kenaikan kadar selulosa} &= \frac{15,41 - 14,78}{15,41} \times 100\% \\ &= 4,06\% \end{aligned}$$

5. Perhitungan penurunan hemiselulosa setelah proses pre-treatment asam sulfat H₂SO₄ 2%

Penurunan kadar hemiselulosa dapat dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$\text{Penurunan kadar hemiselulosa} = \frac{H_0 - H_1}{H_0} \times 100\%$$

Keterangan :

H_0 = persen kandungan awal hemiselulosa pada kulit pisang

H_1 = persen hemiselulosa setelah proses pre-treatment

Contoh perhitungan :

$H_0 = 16,73\%$

$H_1 = 4,66\%$

$$\begin{aligned}\text{Penurunan kadar hemiselulosa} &= \frac{16,73-4,66}{16,73} \times 100\% \\ &= 72,14 \%\end{aligned}$$

6. Perhitungan jumlah sel mikroorganismen yang digunakan dalam tahap hidrolisis likuifikasi

6.1 Jumlah *Trichoderma reesei* yang digunakan

- a. Jumlah *Trichoderma reesei* (variabel *Aspergillus niger* : *Trichoderma reesei* = 0 : 1)

Daerah		Waktu Pengamatan (3 hari)		
		Run 1	Run 2	Run 3
A		18	25	25
B		9	23	7
C		20	20	9
D		5	3	26
E		3	8	18
Jumlah sel	(sel / 5 kotak)	55	79	85
	(sel / kotak)	11	15.8	17

Jumlah sel *Trichoderma reesei* (variabel *Aspergillus niger* : *Trichoderma reesei* = 0 : 1)

rata-rata (sel/kotak) = $(11 + 15,8 + 17)/3 = 14,6$ sel/kotak

$$= 14,6 \text{ sel/kotak} \times \frac{25 \text{ kotak}}{1 \text{ mm}^2} \times$$

$$\frac{1}{10 \text{ mm}} \times \frac{1 \text{ mm}^3}{\text{mL}}$$

$$= 36,5 \times 10^6 \text{ sel / mL}$$

Trichoderma reesei

- b. Jumlah *Trichoderma reseei* (variabel *Aspergillus niger* :
Trichoderma reseei = (1:1)

Daerah		Waktu Pengamatan (3 hari)		
		Run 1	Run 2	Run 3
A		10	14	13
B		4	9	4
C		9	11	4
D		2	0	10
E		1	5	9
Jumlah sel	(sel / 5 kotak)	26	39	40
	(sel / kotak)	5.2	7.8	8

Jumlah sel *Trichoderma reseei* (variabel *Aspergillus niger* :
Trichoderma reseei = 1 : 1)

$$\text{rata-rata (sel/kotak)} = (5,2 + 7,8 + 8) / 3 = 7 \text{ sel/kotak}$$

$$= 7 \text{ sel/kotak} \times \frac{25 \text{ kotak}}{1 \text{ mm}^2} \times \frac{1}{10 \text{ mm}}$$

$$\times \frac{1 \text{ mm}^3}{\text{mL}}$$

$$= 17,5 \times 10^6 \text{ sel / mL}$$

Trichoderma reseei

- c. Jumlah *Trichoderma reesei* (variabel *Aspergillus niger* :
Trichoderma reesei = 1 : 2)

Daerah		Waktu Pengamatan (3 hari)		
		Run 1	Run 2	Run 3
A		15	18	16
B		6	17	5
C		14	14	4
D		4	3	18
E		2	6	11
Jumlah sel	(sel / 5 kotak)	41	58	54
	(sel / kotak)	8.2	11.6	10.8

Jumlah sel *Trichoderma reesei* (variabel *Aspergillus niger* :
Trichoderma reesei = 1 : 2)

$$\begin{aligned} \text{rata-rata (sel/kotak)} &= (8,2 + 11,6 + 10,8)/3 = 10.2 \text{ sel/kotak} \\ &= 10.2 \text{ sel /kotak} \times \frac{25 \text{ kotak}}{1\text{mm}^2} \times \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &\frac{1}{10 \text{ mm}} \times \frac{1 \text{ mm}^3}{\text{mL}} \\ &= 25,5 \times 10^6 \text{ sel / mL} \end{aligned}$$

Trichoderma reesei

6.2 Jumlah *Aspergillus niger* yang digunakan

- a. Jumlah *Aspergillus niger* (variabel *Aspergillus niger* : *Trichoderma reseei* = 1 : 0)

Daerah		Waktu Pengamatan		
		RUN 1	RUN 2	RUN 3
A		35	19	16
B		21	8	27
C		4	6	10
D		3	22	8
E		27	38	40
Jumlah sel	(sel / 5 kotak)	90	93	101
	(sel / kotak)	18	18.6	20.2

Jumlah sel *Aspergillus niger* (variabel *Aspergillus niger* : *Trichoderma reseei* = 1 : 0)

rata-rata (sel/kotak) = $(18 + 18,6 + 20,2)/3 = 10.2$ sel/kotak

$$\begin{aligned}
 &= 18,93 \text{ sel /kotak} \times \frac{25 \text{ kotak}}{1 \text{ mm}^2} \times \\
 &\frac{1}{10 \text{ mm}} \times \frac{1 \text{ mm}^3}{\text{mL}} \\
 &= 47,33 \times 10^6 \text{ sel / mL}
 \end{aligned}$$

Aspergillus niger

- b. Jumlah *Aspergillus niger* (variabel *Aspergillus niger* : *Trichoderma reesei* = 1 : 1)

Daerah		Waktu Pengamatan		
		RUN1	RUN2	RUN 3
A		16	10	6
B		10	3	12
C		2	4	6
D		1	9	7
E		12	18	18
Jumlah sel	(sel / 5 kotak)	41	44	49
	(sel / kotak)	8.2	8.8	9.8

Jumlah sel *Aspergillus niger* (variabel *Aspergillus niger* : *Trichoderma reesei* = 1 : 1)

$$\text{rata-rata (sel/kotak)} = (8,2 + 8,8 + 9,8)/3 = 8,93 \text{ sel/kotak}$$

$$= 8,93 \text{ sel /kotak} \times \frac{25 \text{ kotak}}{1\text{mm}^2} \times$$

$$\frac{1}{10 \text{ mm}} \times \frac{1 \text{ mm}^3}{\text{mL}}$$

$$= 22,3 \times 10^6 \text{ sel / mL } \textit{Aspergillus}$$

niger

- c. Jumlah *Aspergillus niger* (variabel *Aspergillus niger* : *Trichoderma reesei* = 1 : 2)

Daerah		Waktu Pengamatan		
		RUN1	RUN2	RUN 3
A		11	7	5
B		7	2	8
C		2	2	5
D		0	6	5
E		8	15	15
Jumlah sel	(sel / 5 kotak)	28	32	38
	(sel / kotak)	5.6	6.4	7.6

Jumlah sel *Aspergillus niger* (variabel *Aspergillus niger* : *Trichoderma reesei* = 1 : 2)

$$\begin{aligned}
 \text{rata-rata (sel/kotak)} &= (5,6 + 6,4 + 7,6)/3 = 6,5 \text{ sel/kotak} \\
 &= 6,5 \text{ sel /kotak} \times \frac{25 \text{ kotak}}{1 \text{ mm}^2} \times \\
 &\quad \frac{1}{10 \text{ mm}} \times \frac{1 \text{ mm}^3}{\text{mL}} \\
 &= 16,25 \times 10^6 \text{ sel / mL}
 \end{aligned}$$

Aspergillus niger

7. Perhitungan kandungan kulit pisang dengan menggunakan metode cheson setelah proses hidrolisis likuifikasi untuk penggunaan tiap variabel mikroorganisme

- Perhitungan kadar air

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

- Perhitungan hemiselulosa

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

- Perhitungan selulosa

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

- Perhitungan lignin
Kadar lignin $= \frac{(d-e)}{a} \times 100\%$
- Perhitungan abu
Kadar abu $= \frac{(e)}{a} \times 100\%$

Keterangan :

- a : massa kering sampel awal
 b : massa kering sampel setelah reflux pertama dengan aquadest
 c : massa kering sampel setelah reflux kedua dengan H₂SO₄ 1 %
 d : massa kering sampel setelah perendaman H₂SO₄ 72 % dan reflux kedua dengan H₂SO₄ 1 %
 e : massa kering sampel setelah di furnace dengan suhu 600° C

7.1 Perhitungan kadar air

7.1.1 Kadar air setelah hidrolisis likuifikasi dengan variable perbandingan

Aspergillus niger : *Trichoderma reseei* = 1 : 0

Diketahui :

Massa a = 1,0578gram

Massa b = 0,3568 gram

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{(a-b)}{a} \times 100\% \\ &= \frac{(1,0578-0,3568)}{1,0578} \times 100\% \\ &= 66,27\% \end{aligned}$$

7.1.2 Kadar air setelah hidrolisis likuifikasi dengan variable perbandingan

Aspergillus niger : *Trichoderma reseei* = 0 : 1

Diketahui :

Massa a = 1,062gram

Massa b = 0,372 gram

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

$$= \frac{(1,062-0,372)}{1,062} \times 100\%$$

$$= 64,97\%$$

7.1.3 Kadar air setelah hidrolisis likuifikasi dengan variable perbandingan

Aspergillus niger : *Trichoderma reseei* = 1 : 1

Diketahui :

Massa a = 1,0695gram

Massa b = 0,3512 gram

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

$$= \frac{(1,0695-0,3512)}{1,0695} \times 100\%$$

$$= 67,16\%$$

7.1.4 Kadar air setelah hidrolisis likuifikasi dengan variable perbandingan

Aspergillus niger : *Trichoderma reseei* = 1 : 2

Massa a = 1,0563gram

Massa b = 0,321 gram

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

$$= \frac{(1,0563-0,321)}{1,0563} \times 100\%$$

$$= 69,61\%$$

7.2 Perhitungan kadar hemiselulosa

7.2.1 Kadar hemiselulosa setelah hidrolisis likuifikasi dengan variable perbandingan *Aspergillus niger* : *Trichoderma reseei* = 1 : 0

Diketahui :

Massa b = 0,3568gram

Massa c = 0,309 gram

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

$$= \frac{(0,3568-0,309)}{1,0578} \times 100\%$$

$$= 4,52\%$$

7.2.2 Kadar hemiselulosa setelah hidrolisis likuifikasi dengan variable perbandingan *Aspergillus niger* : *Trichoderma reseei* = 0 : 1

Diketahui :

Massa b = 0,372gram

Massa c = 0,323 gram

$$\begin{aligned}\text{Kadar hemiselulosa} &= \frac{(b-c)}{a} \times 100\% \\ &= \frac{(0,372-0,323)}{1,062} \times 100\% \\ &= 4,619\%\end{aligned}$$

7.2.3 Kadar hemiselulosa setelah hidrolisis likuifikasi dengan variable perbandingan *Aspergillus niger* : *Trichoderma reseei* = 1 : 1

Diketahui :

Massa b = 0,3512gram

Massa c = 0,305 gram

$$\begin{aligned}\text{Kadar hemiselulosa} &= \frac{(b-c)}{a} \times 100\% \\ &= \frac{(0,3512-0,305)}{1,0695} \times 100\% \\ &= 4,319\%\end{aligned}$$

7.2.4 Kadar hemiselulosa setelah hidrolisis likuifikasi dengan variable perbandingan *Aspergillus niger* : *Trichoderma reseei* = 1 : 2

Diketahui :

Massa b = 0,321gram

Massa c = 0,286 gram

$$\begin{aligned}\text{Kadar hemiselulosa} &= \frac{(b-c)}{a} \times 100\% \\ &= \frac{(0,321-0,286)}{1,0563} \times 100\% \\ &= 3,313\%\end{aligned}$$

7.3 Perhitungan kadar selulosa

7.3.1 Kadar selulosa setelah hidrolisis likuifikasi dengan variable perbandingan *Aspergillus niger* : *Trichoderma reseei* = 1:0

Diketahui :

Massa c = 0,309gram

Massa d = 0,1576 gram

$$\begin{aligned}\text{Kadar selulosa} &= \frac{(c-d)}{a} \times 100\% \\ &= \frac{(0,309-0,1576)}{1,0578} \times 100\% \\ &= 14,31\%\end{aligned}$$

7.3.2 Kadar selulosa setelah hidrolisis likuifikasi dengan variabel perbandingan *Aspergillus niger* : *Trichoderma reseei* = 0:1

Diketahui :

Massa c = 0,323gram

Massa d = 0,1654 gram

$$\begin{aligned}\text{Kadar selulosa} &= \frac{(c-d)}{a} \times 100\% \\ &= \frac{(0,323-0,1654)}{1,062} \times 100\% \\ &= 14,839\%\end{aligned}$$

7.3.3 Kadar selulosa setelah hidrolisis likuifikasi dengan variable perbandingan *Aspergillus niger* : *Trichoderma reseei* = 1:1

Diketahui :

Massa c = 0,305gram

Massa d = 0,1576 gram

$$\begin{aligned}\text{Kadar selulosa} &= \frac{(c-d)}{a} \times 100\% \\ &= \frac{(0,305-0,1576)}{1,0695} \times 100\% \\ &= 13,78\%\end{aligned}$$

7.3.4 Kadar selulosa setelah hidrolisis likuifikasi dengan variable perbandingan *Aspergillus niger* : *Trichoderma reseei* = 1:2

Diketahui :

Massa c = 0,286gram

Massa d = 0,149 gram

$$\begin{aligned}\text{Kadar selulosa} &= \frac{(c-d)}{a} \times 100\% \\ &= \frac{(0,286-0,149)}{1,0563} \times 100\% \\ &= 12,96\%\end{aligned}$$

7.4 Perhitungan kadar lignin

7.4.1 Kadar lignin setelah hidrolisis likuifikasi dengan variable perbandingan *Aspergillus niger* : *Trichoderma reseei* = 1:0

Diketahui :

Massa d = 0,1576gram

Massa e = 0,0154 gram

$$\begin{aligned}\text{Kadar lignin} &= \frac{(d-e)}{a} \times 100\% \\ &= \frac{(0,1576-0,0154)}{1,0578} \times 100\% \\ &= 13,44\%\end{aligned}$$

7.4.2 Kadar lignin setelah hidrolisis likuifikasi dengan variable perbandingan *Aspergillus niger* : *Trichoderma reseei* = 0:1

Diketahui :

Massa d = 0,1654gram

Massa e = 0,0113 gram

$$\begin{aligned}\text{Kadar lignin} &= \frac{(d-e)}{a} \times 100\% \\ &= \frac{(0,1654-0,0113)}{1,062} \times 100\% \\ &= 14,51\%\end{aligned}$$

7.4.3 Kadar lignin setelah hidrolisis likuifikasi dengan variable perbandingan *Aspergillus niger* : *Trichoderma reseei* = 1:1

Diketahui :

Massa d = 0,1576gram

Massa e = 0,0145 gram

$$\begin{aligned}\text{Kadar lignin} &= \frac{(d-e)}{a} \times 100\% \\ &= \frac{(0,1576-0,0145)}{1,0695} \times 100\% \\ &= 13,38\%\end{aligned}$$

7.4.4 Kadar lignin setelah hidrolisis likuifikasi dengan variable perbandingan *Aspergillus niger* : *Trichoderma reseei* = 1:2

Diketahui :

Massa d = 0,1631gram

Massa e = 0,0176 gram

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

$$= \frac{(0,1631-0,0176)}{1,0061} \times 100\%$$

$$= 14,462\%$$

8. Perhitungan penurunan lignin setelah proses hidrolisis likuifikasi

Penurunan kadar lignin dapat dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$\text{Penurunan kadar lignin} = \frac{L_0 - L_1}{L_0} \times 100\%$$

Keterangan :

L_0 = persen kandungan lignin setelah proses pre-treatment asam H_2SO_4 2%

L_1 = persen lignin setelah proses hidrolisis likuifikasi

a. Variabel (*Aspergillus niger* : *Trichoderma reesei* = 0:1)

Contoh perhitungan :

$$L_0 = 14,51\%$$

$$L_1 = 14,46\%$$

$$\text{Penurunan kadar lignin} = \frac{14,51 - 14,46}{14,51} \times 100\%$$

$$= 0,34\%$$

b. Variabel (*Aspergillus niger* : *Trichoderma reesei* = 1:0)

Contoh perhitungan :

$$L_0 = 14,51\%$$

$$L_1 = 13,44\%$$

$$\text{Penurunan kadar lignin} = \frac{14,51 - 13,44}{14,51} \times 100\%$$

$$= 7,37\%$$

c. Variabel (*Aspergillus niger* : *Trichoderma reesei* = 1:1)

Contoh perhitungan :

$$L_0 = 14,51\%$$

$$L_1 = 13,38\%$$

$$\text{Penurunan kadar lignin} = \frac{14,51 - 13,38}{14,51} \times 100\%$$

$$= 7,79\%$$

d. Variabel (*Aspergillus niger* : *Trichoderma reesei* = 1:2)

Contoh perhitungan :

$$L_0 = 14,51\%$$

$$L_1 = 12,86\%$$

$$\begin{aligned}\text{Penurunan kadar lignin} &= \frac{14,51-12,86}{14,51} \times 100\% \\ &= 11,37\%\end{aligned}$$

9. Perhitungan penurunan selulosa setelah proses hidrolisis likuifikasi

Penurunan kadar selulosa dapat dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$\text{Penurunan kadar selulosa} = \frac{S_0-S_1}{S_0} \times 100\%$$

Keterangan :

S_0 = persen kandungan awal selulosa setelah proses pre-treatment asam H_2SO_4 2%

S_1 = persen selulosa setelah hidrolisis likuifikasi

a. Variabel (*Aspergillus niger* : *Trichoderma reesei* = 0:1)

Contoh perhitungan :

$$S_0 = 15,40\%$$

$$S_1 = 14,84\%$$

$$\begin{aligned}\text{Penurunan kadar selulosa} &= \frac{15,40-14,84}{15,40} \times 100\% \\ &= 3,90\%\end{aligned}$$

b. Variabel (*Aspergillus niger* : *Trichoderma reesei* = 1:0)

Contoh perhitungan :

$$S_0 = 15,40\%$$

$$S_1 = 14,31\%$$

$$\begin{aligned}\text{Penurunan kadar selulosa} &= \frac{15,40-14,31}{15,40} \times 100\% \\ &= 7,34\%\end{aligned}$$

c. Variabel (*Aspergillus niger* : *Trichoderma reesei* = 1:1)

Contoh perhitungan :

$$S_0 = 15,40\%$$

$$S_1 = 13,78\%$$

$$\begin{aligned}\text{Penurunan kadar selulosa} &= \frac{15,40-13,78}{15,40} \times 100\% \\ &= 10,78\%\end{aligned}$$

d. Variabel (*Aspergillus niger* : *Trichoderma reesei* = 1:2)

Contoh perhitungan :

$$S_0 = 15,40\%$$

$$S_1 = 12,97\%$$

$$\begin{aligned} \text{Penurunan kadar selulosa} &= \frac{15,40 - 12,97}{15,40} \times 100\% \\ &= 16,04\% \end{aligned}$$

10. Jumlah *Saccharomyces cerevisiae* yang digunakan pada tahap hidrolisis sakarifikasi

Daerah		Waktu Pengamatan		
		RUN1	RUN 2	RUN 3
A		9	6	18
B		7	18	10
C		9	12	7
D		5	9	8
E		14	11	14
Jumlah sel	(sel / 5 kotak)	44	56	57
	(sel / kotak)	8.8	11.2	11.4

Jumlah sel *Saccharomyces cerevisiae*

rata-rata (sel/kotak) = $(8,8 + 11,2 + 11,4)/3 = 10,47$ sel/kotak

$$= 10,47 \text{ sel /kotak} \times \frac{25 \text{ kotak}}{1\text{mm}^2} \times$$

$$\frac{1}{10 \text{ mm}} \times \frac{1 \text{ mm}^3}{\text{mL}}$$

$$= 26,17 \times 10^6 \text{ sel / mL}$$

Saccharomyces cerevisiae

11. Perubahan kadar glukosa setelah proses hidrolisis sakarifikasi

11.1 Peningkatan kadar glukosa setelah proses sakarifikasi (3hari)

Kenaikan kadar glukosa dapat dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut :

$$\text{Kenaikan kadar glukosa} = \frac{G_1 - G_0}{G_0} \times 100\%$$

Keterangan :

G_1 = persen kandungan glukosa setelah proses pre-treatment

G_0 = persen kandungan glukosa awal kulit pisang

Contoh perhitungan :

$$G_1 = 1,63\%$$

$$G_0 = 0,52\%$$

$$\begin{aligned} \text{Kenaikan kadar glukosa} &= \frac{1,63 - 0,52}{1,63} \times 100\% \\ &= 213,46\% \end{aligned}$$

11.2 Penurunan kadar glukosa setelah proses sakarifikasi (6hari)

Penurunan kadar glukosa dapat dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut :

$$\text{Penurunan kadar glukosa} = \frac{G_0 - G_1}{G_0} \times 100\%$$

Keterangan :

G_1 = persen kandungan glukosa setelah proses pre-treatment

G_0 = persen kandungan glukosa awal kulit pisang

Contoh perhitungan :

$$G_0 = 0,52\%$$

$$G_1 = 0,47\%$$

$$\begin{aligned} \text{Penurunan kadar glukosa} &= \frac{0,52 - 0,47}{0,52} \times 100\% \\ &= 9,61\% \end{aligned}$$

11.3 Penurunan kadar glukosa setelah proses sakarifikasi (9hari)

Penurunan kadar glukosa dapat dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut :

$$\text{Penurunan kadar glukosa} = \frac{G_0 - G_1}{G_0} \times 100\%$$

Keterangan :

G_1 = persen kandungan glukosa setelah proses pre-treatment

G_0 = persen kandungan glukosa awal kulit pisang

Contoh perhitungan :

$G_0 = 0,52\%$

$G_1 = 0\%$

$$\begin{aligned} \text{Penurunan kadar glukosa} &= \frac{0,52-0}{0,52} \times 100\% \\ &= 100\% \end{aligned}$$

12. Jumlah Mikroorganisme yang digunakan pada tahap fermentasi

a. Jumlah *Zymomonas mobilis* yang digunakan

Daerah	Waktu Pengamatan			
	RUN 1	RUN 2	RUN 3	
A	28	10	6	
B	15	21	24	
C	32	39	17	
D	7	25	36	
E	5	6	45	
Jumlah sel	(sel / 5 kotak)	87	101	128
	(sel / kotak)	17,4	20,2	25,6

Jumlah sel *Zymomonas mobilis*

rata-rata (sel/kotak) = $(17,4 + 20,2 + 25,6)/3 = 21,07$ sel/kotak

$$= 21,07 \text{ sel /kotak} \times \frac{25 \text{ kotak}}{1\text{mm}^2} \times$$

$$\frac{1}{10 \text{ mm}} \times \frac{1 \text{ mm}^3}{\text{mL}}$$

$$= 52,68 \times 10^6 \text{ sel / mL}$$

Zymomonas mobilis

b. Jumlah *Saccharomyces cerevisiae* yang digunakan

Daerah		Waktu Pengamatan		
		RUN1	RUN 2	RUN 3
A		21	20	17
B		15	36	25
C		18	12	32
D		14	37	16
E		38	10	42
Jumlah sel	(sel / 5 kotak)	106	115	132
	(sel / kotak)	21.2	23	26.4

Jumlah sel *Saccharomyces cerevisiae*

rata-rata (sel/kotak) = $(21,2 + 23 + 26,4)/3 = 23,53$ sel/kotak

$$= 23,53 \text{ sel /kotak} \times \frac{25 \text{ kotak}}{1\text{mm}^2} \times$$

$$\frac{1}{10 \text{ mm}} \times \frac{1 \text{ mm}^3}{\text{mL}}$$

$$= 58,83 \times 10^6 \text{ sel / mL}$$

Saccharomyces cerevisiae

13. Penentuan waktu log phase mikroorganisme yang digunakan pada tahap hidrolisis likuifikasi

a. Penentuan waktu Log Phase *Trichoderma reesei*

Tabel 11.1 Data pertumbuhan jumlah sel *Trichoderma reesei* selama 120 jam

Daerah		Waktu Pengamatan				
		24 jam	48 jam	72 jam	96 jam	120 jam
A		9	12	11	20	27
B		4	12	3	25	28
C		10	10	5	21	28
D		2	0	12	35	29
E		1	4	9	30	25
Jumlah sel	(sel / 5 kotak)	26	38	40	131	137
	(sel / kotak)	5.2	7.6	8	26.2	27.4

Contoh perhitungan sel *Trichoderma reesei* dalam satuan (sel/mL)

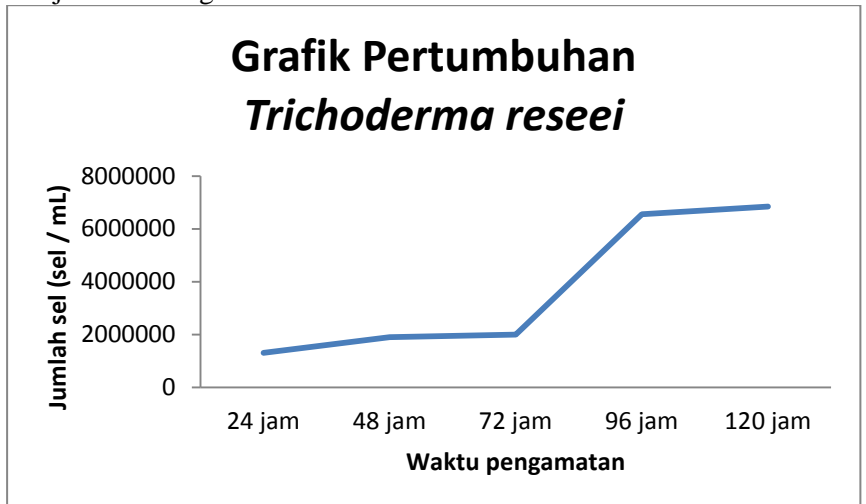
$$\begin{aligned}
 &\text{Untuk waktu 24 jam} &&= 5,2 \text{ sel/kotak} \times \frac{25 \text{ kotak}}{1\text{mm}^2} \times \frac{1}{10 \text{ mm}} \\
 &\times \frac{1 \text{ mm}^3}{\text{mL}} &&= 1,3 \times 10^6 \text{ sel / mL}
 \end{aligned}$$

Tabel pertumbuhan jumlah sel *Trichoderma reesei* selama 120 jam disajikan dalam tabel berikut:

Tabel 11.2 Jumlah sel *Trichoderma reesei* selama 120 jam dalam sel/mL

Waktu	Jumlah sel mikroorganisme (sel/mL)
24 jam	$1,3 \times 10^6$
48 jam	$1,9 \times 10^6$
72 jam	$2,0 \times 10^6$
96 jam	$6,55 \times 10^6$
120 jam	$6,85 \times 10^6$

Grafik pertumbuhan sel *Trichoderma reesei* selama 120 jam disajikan dalam grafik berikut:



Gambar 11.1 Grafik pertumbuhan *Trichoderma reesei*

Berdasarkan grafik diatas dapat diketahui bahwa waktu log phase *Trichoderma reseei* yaitu pada jam ke 72 atau pada hari ketiga.

b. Penentuan waktu Log Phase *Aspergillus niger*

Tabel 11.3 Data pertumbuhan jumlah sel *Aspergillus niger* selama 120 jam

Daerah		Waktu Pengamatan				
		24 jam	48 jam	72 jam	96 jam	120 jam
A		18	10	7	33	21
B		10	4	13	30	24
C		0	2	4	27	27
D		0	10	3	9	13
E		13	18	20	11	20
Jumlah sel	(sel / 5 kotak)	41	44	47	110	105
	(sel / kotak)	8.2	8.8	9.4	22	21

Contoh perhitungan sel *Aspergillus niger* dalam satuan (sel/mL)

$$\text{Untuk waktu 24 jam} = 8,2 \text{ sel /kotak} \times \frac{25 \text{ kotak}}{1\text{mm}^2} \times \frac{1}{10 \text{ mm}} \times \frac{1 \text{ mm}^3}{\text{mL}}$$

$$= 5,25 \times 10^6 \text{ sel / mL}$$

Tabel pertumbuhan jumlah sel *Aspergillus niger* selama 120 jam disajikan dalam tabel berikut:

Tabel 11.4 Jumlah sel *Aspergillus niger* selama 120 jam dalam sel/mL

Waktu	Jumlah sel mikroorganism (sel/mL)
24 jam	$2,05 \times 10^6$
48 jam	$2,20 \times 10^6$
72 jam	$2,35 \times 10^6$
96 jam	$5,50 \times 10^6$
120 jam	$5,25 \times 10^6$

14. Penentuan waktu log phase mikroorganismen yang digunakan pada tahap fermentasi dan hidrolisis sakarifikasi

a. Penentuan waktu Log Phase *Zymomonas mobilis*

Tabel 12.1 Data pertumbuhan jumlah sel *Zymomonas mobilis* selama 12 jam

Daerah		Waktu Pengamatan					
		2 jam	4 jam	6 jam	8 jam	10 jam	12 jam
A		2	4	1	6	4	5
B		4	3	5	5	19	12
C		2	4	0	10	8	15
D		1	2	8	16	11	6
E		3	6	10	9	4	2
Jumlah sel	(sel / 5 kotak)	12	19	24	46	46	40
	(sel / kotak)	2.4	3.8	4.8	9.2	9.2	8

Contoh perhitungan sel *Zymomonas mobilis* dalam satuan (sel/mL)

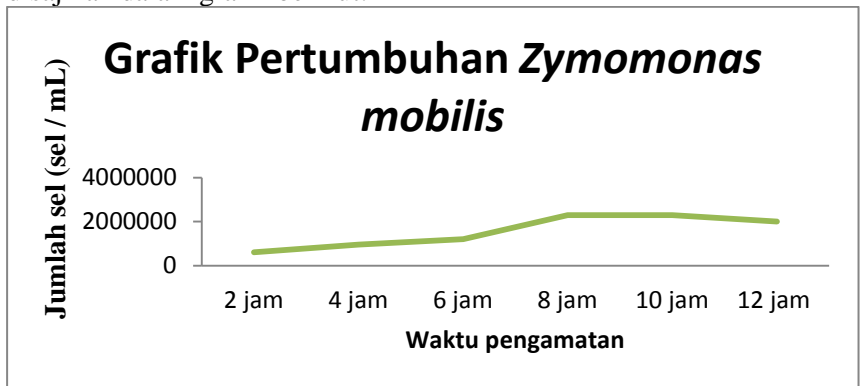
$$\begin{aligned}
 \text{Untuk waktu 2 jam} &= 2,4 \text{ sel /kotak} \times \frac{25 \text{ kotak}}{1 \text{ mm}^2} \times \frac{1}{10 \text{ mm}} \times \frac{1 \text{ mm}^3}{\text{mL}} \\
 &= 6,00 \times 10^5 \text{ sel / mL}
 \end{aligned}$$

Tabel pertumbuhan jumlah sel *Zymomonas mobilis* selama 12 jam disajikan dalam tabel berikut:

Tabel 12.2 Jumlah sel *Zymomonas mobilis* selama 12 jam dalam sel/mL

Waktu	Jumlah sel mikroorganisme (sel/mL)
2 jam	$6,00 \times 10^5$
4 jam	$9,50 \times 10^6$
6 jam	$1,20 \times 10^6$
8 jam	$2,30 \times 10^6$
10 jam	$2,30 \times 10^6$
12 jam	$2,00 \times 10^6$

Grafik pertumbuhan sel *Zymomonas mobilis* selama 12 jam disajikan dalam grafik berikut:



Gambar 12.1 Grafik pertumbuhan *Zymomonas mobilis*

Berdasarkan grafik diatas dapat diketahui bahwa waktu log phase *Zymomonas mobilis* yaitu sekitar pada jam ke 6.

b. Penentuan waktu Log Phase *Saccharomyces cerevisiae*

Tabel 12.3 Data pertumbuhan jumlah sel *Saccharomyces cerevisiae* selama 12 jam

Daerah		Waktu Pengamatan					
		2 jam	4 jam	6 jam	8 jam	10 jam	12 jam
A		1	2	3	6	10	2
B		0	6	5	8	9	7
C		0	3	5	9	7	6
D		0	2	3	6	4	2
E		1	3	9	3	12	9
Jumlah sel	(sel / 5 kotak)	2	16	25	32	42	26
	(sel / kotak)	0.4	3.2	5	6.4	8.4	5.2

Contoh perhitungan sel *Saccharomyces cerevisiae* dalam satuan (sel/mL)

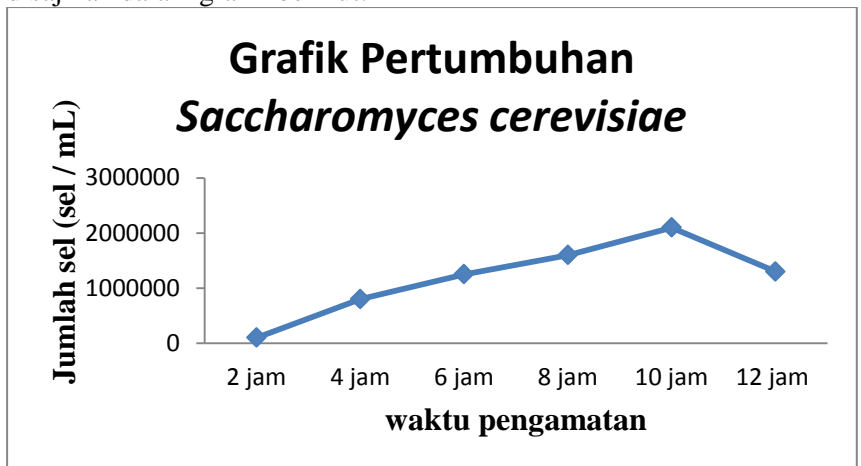
$$\begin{aligned}
 \text{Untuk waktu 2 jam} &= 0,4 \text{ sel /kotak} \times \frac{25 \text{ kotak}}{1 \text{ mm}^2} \times \frac{1}{10 \text{ mm}} \times \\
 &\frac{1 \text{ mm}^3}{\text{mL}} \\
 &= 1,00 \times 10^5 \text{ sel / mL}
 \end{aligned}$$

Tabel pertumbuhan jumlah sel *Saccharomyces cerevisiae* selama 12 jam disajikan dalam tabel berikut:

Tabel 12.4 Jumlah sel *Saccharomyces cerevisiae* selama 12 jam dalam sel/mL

Waktu	Jumlah sel mikroorganisme (sel/mL)
2 jam	$1,00 \times 10^5$
4 jam	$8,00 \times 10^5$
6 jam	$1,25 \times 10^6$
8 jam	$1,60 \times 10^6$
10 jam	$2,10 \times 10^6$
12 jam	$1,30 \times 10^6$

Grafik pertumbuhan sel *Saccharomyces cerevisiae* selama 12 jam disajikan dalam grafik berikut:



Gambar 12.2 Grafik pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae*

Berdasarkan grafik diatas dapat diketahui bahwa waktu log phase *Saccharomyces cerevisiae* yaitu pada jam ke 5.

15. Perhitungan kadar yield etanol terhadap glukosa dari penggunaan *Zymomonas mobilis* pada fermentasi

Untuk mencari kadar yield etanol dapat dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut :

$$Y = \frac{E_1}{S_0}$$

Dimana :

E_1 = konsentrasi etanol yang terbentuk

S_0 = konsentrasi substrat awal (glukosa)

- Menghitung konsentrasi substrat awal S_0
konsentrasi glukosa (S_0) = % glukosa (w/w) x ρ glukosa
 $= 1,63\% \times 1544 \text{ g/L}$
 $= 25,16 \text{ g/L}$
- Menghitung konsentrasi etanol yang terbentuk E_1
konsentrasi etanol (E_1) = % etanol (w/w) x ρ etanol
 $= 2,213\% \times 789 \text{ g/L}$
 $= 17,460 \text{ g/L}$

Sehingga yield etanol yang terbentuk dengan memanfaatkan mikroorganismenya *Zymomonas mobilis* :

$$\begin{aligned} Y &= \frac{E_1}{S_0} \\ &= \frac{17,46 \text{ gram etanol}}{25,16 \text{ gram glukosa}} \\ &= 0,69 \text{ gram etanol/ gram glukosa} \end{aligned}$$

16. Perhitungan kadar yield etanol terhadap glukosa dari penggunaan *Saccharomyces cerevisiae* pada fermentasi

Untuk mencari kadar yield etanol dapat dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut :

$$Y = \frac{E_1}{S_0}$$

Dimana :

E_1 = konsentrasi etanol yang terbentuk

S_0 = konsentrasi substrat awal (glukosa)

- Menghitung konsentrasi substrat awal S_0
 konsentrasi glukosa (S_0) = % glukosa (w/w) x ρ glukosa

$$= 1,63\% \times 1544 \text{ g/L}$$

$$= 25,16 \text{ g/L}$$
- Menghitung konsentrasi etanol yang terbentuk E_1
 konsentrasi etanol (E_1) = % etanol (w/w) x ρ etanol

$$= 2,787\% \times 789 \text{ g/L}$$

$$= 21,989 \text{ g/L}$$

Sehingga yield etanol yang terbentuk dengan memanfaatkan mikroorganismenya *Saccharomyces cerevisiae*:

$$Y = \frac{E_1}{S_0}$$

$$= \frac{21,989 \text{ gram etanol}}{25,16 \text{ gram glukosa}}$$

$$= 0,87 \text{ gram etanol / gram glukosa}$$

17. Perhitungan kadar yield etanol terhadap kulit pisang dari penggunaan *Zymomonas mobilis* pada fermentasi

Untuk mencari kadar yield etanol dapat dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut :

$$Y = \frac{E_1}{S_0}$$

Dimana :

E_1 = konsentrasi etanol yang terbentuk

S_0 = konsentrasi kulit pisang

- Menghitung konsentrasi substrat awal S_0
 konsentrasi kulit pisang (S_0) = 100 g/L
- Menghitung konsentrasi etanol yang terbentuk E_1
 konsentrasi etanol (E_1) = % etanol (w/w) x ρ etanol

$$= 2,213\% \times 789 \text{ g/L}$$

$$= 17,460 \text{ g/L}$$

Sehingga yield etanol yang terbentuk dengan memanfaatkan mikroorganismenya *Zymomonas mobilis*:

$$\begin{aligned}
 Y &= \frac{E_1}{S_0} \\
 &= \frac{17,46 \text{ gram etanol}}{100 \text{ gram kulit pisang}} \\
 &= 0,17 \text{ gram etanol/ gram kulit pisang}
 \end{aligned}$$

18. Perhitungan kadar yield etanol terhadap kulit pisang dari penggunaan *Saccharomyces cerevisiae* pada fermentasi

Untuk mencari kadar yield etanol dapat dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut :

$$Y = \frac{E_1}{S_0}$$

Dimana :

E_1 = konsentrasi etanol yang terbentuk

S_0 = konsentrasi kulit pisang

- Menghitung konsentrasi substrat awal S_0
 konsentrasi kulit pisang (S_0) = 100 g/L
- Menghitung konsentrasi etanol yang terbentuk E_1
 konsentrasi etanol (E_1) = % etanol
 (w/w) x ρ etanol
 = 2,787% x 789
 g/L
 = 21,989 g/L

Sehingga yield etanol yang terbentuk dengan memanfaatkan mikroorganismenya *Saccharomyces cerevisiae*:

$$\begin{aligned}
 Y &= \frac{E_1}{S_0} \\
 &= \frac{21,989 \text{ gram etanol}}{100 \text{ gram kulit pisang}} \\
 &= 0,22 \text{ gram etanol / gram kulit pisang}
 \end{aligned}$$

APPENDIKS B

HASIL ANALISA DAN PERHITUNGAN

1. Hasil Analisa Kandungan Awal Kulit Pisang

Hasil Analisa	Kandungan (%)
Kadar air	44,16
Kadar abu	1,19
Kadar hemiselulosa	16,73
Kadar selulosa	14,78
Kadar lignin	23,12

2. Hasil Analisa Kandungan Kulit Pisang setelah Pre-Treatment Asam Sulfat (H₂SO₄) 2%

Hasil Analisa	Kandungan (%)
Kadar air	63,72
Kadar abu	1,74
Kadar hemiselulosa	4,66
Kadar selulosa	15,40
Kadar lignin	14,46

3. Hasil Removal Kandungan Kulit Pisang setelah Proses Pre-Treatment dengan Asam Sulfat (H₂SO₄) 2%

Hasil Analisa	% Removal
Kadar lignin	37,45
Kadar selulosa	4,06
Kadar hemiselulosa	72,14

4. Hasil Analisa Kandungan Glukosa setelah Proses Hidrolisis Likuifikasi dengan empat variabel berbeda

Variabel	Kadar Glukosa (%)
Penambahan <i>Aspergillus niger</i> : <i>Trichoderma reseei</i> = 0 : 1	0,23
Penambahan <i>Aspergillus niger</i> : <i>Trichoderma reseei</i> = 1 : 0	0,27
Penambahan <i>Aspergillus niger</i> : <i>Trichoderma reseei</i> = 1 : 1	0,44
Penambahan <i>Aspergillus niger</i> : <i>Trichoderma reseei</i> = 1 : 2	0,52

5. Hasil Analisa Kandungan Lignin setelah Proses Hidrolisis Likuifikasi dengan empat variabel berbeda

Variabel	Kadar Lignin (%)
Penambahan <i>Aspergillus niger</i> : <i>Trichoderma reseei</i> = 0 : 1	14,51
Penambahan <i>Aspergillus niger</i> : <i>Trichoderma reseei</i> = 1 : 0	13,44
Penambahan <i>Aspergillus niger</i> : <i>Trichoderma reseei</i> = 1 : 1	13,38
Penambahan <i>Aspergillus niger</i> : <i>Trichoderma reseei</i> = 1 : 2	14,46

6. Hasil Analisa Kandungan Selulosa setelah Proses Hidrolisis Likuifikasi dengan empat variabel berbeda

Variabel	Kadar Selulosa (%)
Penambahan <i>Aspergillus niger</i> : <i>Trichoderma reesei</i> = 0 : 1	14,83
Penambahan <i>Aspergillus niger</i> : <i>Trichoderma reesei</i> = 1 : 0	14,31
Penambahan <i>Aspergillus niger</i> : <i>Trichoderma reesei</i> = 1 : 1	13,78
Penambahan <i>Aspergillus niger</i> : <i>Trichoderma reesei</i> = 1 : 2	12,96

7. Hasil Analisa Kandungan Hemiselulosa setelah Proses Hidrolisis Likuifikasi dengan empat variabel berbeda

Variabel	Kadar Hemiselulosa (%)
Penambahan <i>Aspergillus niger</i> : <i>Trichoderma reesei</i> = 0 : 1	4,62
Penambahan <i>Aspergillus niger</i> : <i>Trichoderma reesei</i> = 1 : 0	4,52
Penambahan <i>Aspergillus niger</i> : <i>Trichoderma reesei</i> = 1 : 1	4,32
Penambahan <i>Aspergillus niger</i> : <i>Trichoderma reesei</i> = 1 : 2	3,31

8. Hasil Analisa Kandungan Air setelah Proses Hidrolisis Likuifikasi dengan empat variabel berbeda

Variabel	Kadar Air (%)
Penambahan <i>Aspergillus niger</i> : <i>Trichoderma reesei</i> = 0 : 1	64,97
Penambahan <i>Aspergillus niger</i> : <i>Trichoderma reesei</i> = 1 : 0	66,27
Penambahan <i>Aspergillus niger</i> : <i>Trichoderma reesei</i> = 1 : 1	67,16
Penambahan <i>Aspergillus niger</i> : <i>Trichoderma reesei</i> = 1 : 2	69,61

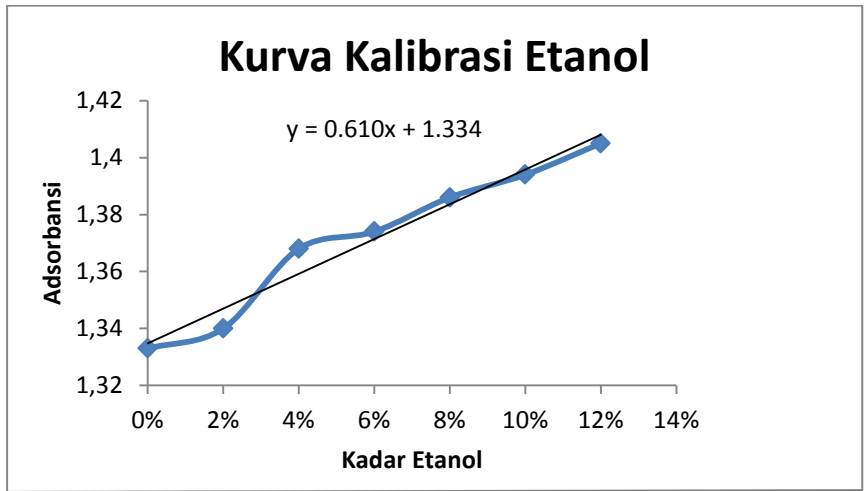
9. Hasil Analisa Kandungan Glukosa setelah Proses Hidrolisis Sakarifikasi

Variabel (waktu)	Kadar Glukosa (%)
Penambahan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (3 hari)	1,63
Penambahan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (6 hari)	0,47
Penambahan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (9 hari)	0

10. Hasil Perubahan Kadar Glukosa setelah Proses Hidrolisis Sakarifikasi

Variabel (waktu)	Kadar Glukosa (%)
Penambahan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (3 hari)	213,46 (+)
Penambahan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (6 hari)	9,61 (-)
Penambahan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (9 hari)	100 (-)

11. Hasil Perhitungan Analisa Etanol dengan Menggunakan Alat Refraktometer



Grafik Kaliberasi Etanol dengan kadar 0-12%

Grafik diatas merupakan grafik kalibrasi untuk etanol dengan kadar 0-12%, dengan mendapatkan persamaan linier dari grafik tersebut maka dapat ditentukan kadar etanolnya dengan menggunakan alat refraktometer sehingga didapatkan nilai adsorbansinya. Dengan didapatkan nilai adsorbansi maka kadar etanol dapat diketahui dengan memasukkan nilai adsorbansi tersebut kedalam persamaan yang didapatkan dari grafik, yaitu :

$$y = 0,610 x + 1,334$$

Keterangan :

x : kadar etanol

y : nilai adsorbansi

Berikut merupakan nilai adsorbansi hasil rata-rata fermentasi untuk tiap-tiap variabel mikroorganismenya :

Variabel	Hari	Adsorbansi Run 1	Adsorbansi Run 2	Adsorbansi Rata-rata
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2	1.3490	1.3500	1.3495
	3	1.3500	1.3510	1.3505
	4	1.3510	1.3510	1.3510
	5	1.3500	1.3510	1.3505
	6	1.3500	1.3500	1.3500
	7	1.3500	1.3500	1.3500
<i>Zymomonas mobilis</i>	2	1.3480	1.3460	1.3470
	3	1.3490	1.3470	1.3480
	4	1.3500	1.3475	1.3488
	5	1.3480	1.3475	1.3478
	6	1.3480	1.3465	1.3473
	7	1.3480	1.3465	1.3473

contoh perhitungan :

Untuk variabel penggunaan *Saccharomyces cerevisiae* pada hari ke 4 secara rata-rata

Nilai adsorbansinya (y) rata-rata = 1,358, maka :

$$y = 0,610 x + 1,334$$

$$1,351 = 0,610 (x) + 1,334$$

$$x = 2,787\%$$

Sehingga didapatkan kadar etanol (x) sebesar 2,787%.

Hasil perhitungan dengan variabel yang lain disajikan dalam tabel-tabel dibawah ini :

Tabel Hasil Perhitungan Kandungan Ethanol setelah Proses Fermentasi

- Penambahan *Saccharomyces cerevisiae* 20% (v/v) RUN 1

Variabel	Hari	Kandungan Etanol
Penambahan <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2	2,46%
	3	2,62%
	4	2,79%
	5	2,62%
	6	2,62%
	7	2,62%

- Penambahan *Saccharomyces cerevisiae* 20% (v/v) RUN 2

Variabel	Hari	Kandungan Etanol
Penambahan <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2	2,62%
	3	2,79%
	4	2,79%
	5	2,79%
	6	2,62%
	7	2,62%

- Penambahan *Saccharomyces cerevisiae* 20% (v/v)
Rata-Rata

Variabel	Hari	Kandungan Etanol
Penambahan <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2	2,541%
	3	2,705%
	4	2,787%
	5	2,705%
	6	2,623%
	7	2,623%

Tabel Hasil Perhitungan Kandungan Ethanol setelah Proses Fermentasi

- Penambahan *Zymomonas mobilis* 20% (v/v) RUN 1

Variabel	Hari	Kandungan Etanol
Penambahan <i>Zymomonas mobilis</i>	2	2,30%
	3	2,46%
	4	2,62%
	5	2,30%
	6	2,30%
	7	2,30%

- Penambahan *Zymomonas mobilis* 20% (v/v) RUN 2

Variabel	Hari	Kandungan Etanol
Penambahan <i>Zymomonas mobilis</i>	2	1,64%
	3	1,80%
	4	1,80%
	5	2,13%
	6	1,80%
	7	1,80%

➤ Penambahan *Zymomonas mobilis* 20% (v/v) Rata-Rata

Variabel	Hari	Kandungan Etanol
Penambahan <i>Zymomonas mobilis</i>	2	1,967%
	3	2,131%
	4	2,213%
	5	2,213%
	6	2,049%
	7	2,046%

12. Hasil perhitungan nilai yield

Variabel	Nilai Yield
Penambahan <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0,87 gram etanol/ gram glukosa
	0,17 gram etanol/ gram kulit pisang
Penambahan <i>Zymomonas mobilis</i>	0,69 gram etanol/ gram glukosa
	0,22 gram etanol/ gram kulit pisang

13. Jumlah mikroorganisme yang digunakan tiap tahapan

Mikroorganisme dan tahapan proses	Jumlah sel mikroorganisme
Hidrolisis Likufikasi	
<i>Trichoderma reesei</i> (variabel 0 AN : 1 TR)	36,5 x 10 ⁶ sel / mL
<i>Trichoderma reesei</i> (variabel 1 AN : 1 TR)	17,5 x 10 ⁶ sel / mL
<i>Trichoderma reesei</i> (variabel 1 AN : 2 TR)	25,5 x 10 ⁶ sel / mL
<i>Aspergillus niger</i> (variabel 1 AN : 0 TR)	47,33 x 10 ⁶ sel / mL
<i>Aspergillus niger</i> (variabel 1 AN : 1 TR)	22,3 x 10 ⁶ sel / mL
<i>Aspergillus niger</i> (variabel 1 AN : 2 TR)	16,25 x 10 ⁶ sel / mL
Hidrolisis Sakarifikasi	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (10% v/v)	26,17 x 10 ⁶ sel / mL
Fermentasi	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (20% v/v)	58,83 x 10 ⁶ sel / mL
<i>Zymomonas mobilis</i> (20% v/v)	52,68 x 10 ⁶ sel / mL