

**PRODUKSI ENZIM SELULASE DARI KAPANG
Trichoderma reesei dan *Aspergillus niger* MENGGUNAKAN
SUBSTRAT AMPAS TEBU UNTUK PEMBUATAN BIOETANOL**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu untuk memperoleh gelar Sarjana Sains
di bidang studi Kimia pada Fakultas MIPA**

Oleh :

NURUL RAMADHAN

08091003011



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA**

2014

25981/26542

S
592.9907

Nur

f

2013

**PRODUKSI ENZIM SELULASE DARI KAPANG
Trichoderma reesei dan *Aspergillus niger* MENGGUNAKAN
SUBSTRAT AMPAS TEBU UNTUK PEMBUATAN BIOETANOL**

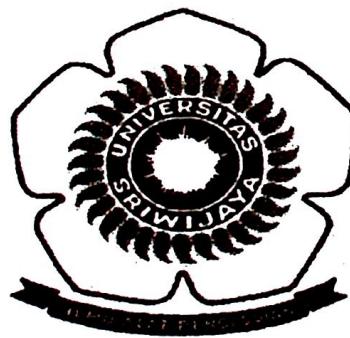
SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu untuk memperoleh gelar Sarjana Sains
di bidang studi Kimia pada Fakultas MIPA**

Oleh :

NURUL RAMADHAN

08091003011



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA**

2014

HALAMAN PERSETUJUAN SKRIPSI

Judul Skripsi : Produksi Enzim Selulase Dari Kapang *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* Menggunakan Substrat Ampas Tebu Untuk Pembuatan Bioetanol.

Nama Mahasiswa : Nurul Ramadhan

NIM : 08091003011

Jurusan : Kimia

Telah disetujui untuk disidangkan pada tanggal 23 Januari 2014

Indralaya, 16 Januari 2014

Pembimbing:

1. Hermansyah, Ph.D

(.....) 

2. Dra. Julinar, M.Si

(.....) 

Mengetahui,
a.n. Ketua Jurusan Kimia
Seketaris Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Skripsi : Produksi Enzim Selulase Dari Kapang *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* Menggunakan Substrat Ampas Tebu Untuk Pembuatan Bioetanol.

Nama Mahasiswa : Nurul Ramadhan

NIM : 08091003011

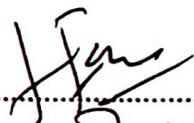
Jurusan : Kimia

Telah dipertahankan dihadapan Panitia Sidang Ujian Skripsi Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya pada tanggal 23 Januari 2014. Dan telah diperbaiki, diperiksa, serta disetujui sesuai dengan masukan panitia sidang ujian skripsi.

Indralaya, 24 Januari 2014

Pembimbing:

1. Hermansyah, Ph.D

(.....)


2. Dra. Julinar, M.Si

(.....)


Pembahas:

3. Drs. Dasril Basir, M.Si

(.....)


4. Dr. Miksusanti, M.Si

(.....)


5. Fahma Riyanti, S.Si., M.Si

(.....)


Mengetahui,

a.n. Ketua Jurusan Kimia

Seketaris Jurusan Kimia

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Sriwijaya




Widia Purwaningrum, M.Si

NIP. 197304031999032001

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama mahasiswa : Nurul Ramadhan

NIM : 08091003011

Fakultas/Jurusan : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam/Kimia

Menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri dan karya ilmiah ini belum pernah diajukan sebagai pemenuhan persyaratan untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata satu (S1) dari Universitas Sriwijaya maupun perguruan tinggi lain.

Semua informasi yang dimuat dalam skripsi ini yang berasal dari penulis lain baik yang dipublikasikan atau tidak telah diberikan penghargaan dengan mengutip nama sumber penulis secara benar. Semua isi dari skripsi ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya sebagai penulis.

Demikianlah surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Indralaya, 26 Januari 2014
Penulis,

Nurul Ramadhan
NIM. 08091003011

HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademik Universitas Sriwijaya, yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama Mahasiswa : Nurul Ramadhan

NIM : 08091003011

Fakultas/Jurusan : MIPA/Kimia

Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Sriwijaya “hak bebas royalti non-ekslusif (*non-exclusively royalty-free right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul:

“Produksi Enzim Selulase dari Kapang *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* Menggunakan Substrat Ampas Tebu Untuk Pembuatan Bioetanol”.

Dengan hak bebas royalti non-ekslusife ini Universitas Sriwijaya berhak menyimpan, mengalih media/memformatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan tuga akhir atau skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik hak cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan seseungguhnya.

Indralaya, 26 Januari 2014
Yang menyatakan,

Nurul Ramadhan
NIM. 08091003011

HALAMAN MOTTO DAN PERSEMBAHAN

Motto :

" Allah akan meninggikan orang- orang yang beriman diantaramu dan orang-orang yang berilmu pengetahuan beberapa derajat " (Q.s. Al-Mujadalah ayat 11)

Semangat, sabar, dan doa.
adalah kunci menuju kesuksesan

Alhamdulillah.....

Dengan izin Allah satu tahap telah kulalui

Dalam usaha untuk cita-citaku dan mencari keridhoan-MU

Untuk kupersembahkan kepada:

- ❖ Orang tuaku Bapak Margono, SP dan mamak Murtijah tercinta yang menjadi motivasiku
- ❖ Yuk Indah Kurniati, S.Pd., Adikku Rahmad Apriyansyah dan Keponakanku Tiara jadilah yang terbaik dan kebanggaan Orang tua.
- ❖ Almamaterku
- ❖ Dan pada Seseorang yang menjadi pendamping hidupku kelak

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh.

Alhamdulillah, segala puji bagi Allah SWT, atas limpahan rahmat dan ridho-Nya yang telah diberikan kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini yang berjudul "**Produksi Enzim Selulase dari Kapang *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* Menggunakan Substrat Ampas Tebu Untuk Pembuatan Bioetanol**". Shalawat serta salam semoga selalu tercurah kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW, keluarga, sahabat dan umatnya hingga akhir zaman yang telah membawa kia dari zaman kegelapan ke alam berilmu seperti sekarang ini.

Dalam penelitian dan penulisan skripsi ini, penulis menghaturkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada **Bapak Hermansyah, Ph.D** dan **Ibu Dra. Julinar, M.Si**, yang selalu memberikan bimbingan, arahan dan waktu yang diluangkan kepada penulis selama menjalankan penelitian dan penyusunan skripsi ini hingga selesai.

Selain itu penulis juga mengucapkan terima kasih kepada:

1. Drs. Muhammad Irfan M.T, selaku Dekan FMIPA Universitas Sriwijaya
2. Ketua Jurusan Kimia Fakultas MIPA UNSRI Bapak Dr. Suheryanto, M.Si
3. Pembimbing Akademik Ibu Dr. Elfita, M.Si terimakasih atas bimbingan dan nasehat-nasehatnya.
4. Seluruh Staf, Analis dan Dosen Jurusan Kimia Fakultas MIPA UNSRI.
5. Kedua orang tuaku Bapak Margono, SP dan Mamak Murtijah, Ayukku Indah Kurniati, S.Pd., adikku Rahmad Apriyansyah dan Keponakanku Tiara terimakasih

telah mau mendengarkan keluhanku dan terimakasih atas motivasi, kesabaran, usaha, materi, nasehat dan doanya. Love you So much..

6. Sahabatku Ida Hariroh, Reni Oktasari, Mega Setiawati dan Pusphita Loka Putri Wibisono terimakasih buat kebersamaannya selama ini, semoga kita tetap bisa selalu bersama.
7. Teman-teman seperjuangan di Lab Biokimia Cek Heli, Iis, Dedet, Yunicong, Ines, Mbak Tami, Mbak Kiki terima kasih atas segala bantuan dan kebersamaannya.
8. Buat teman-temanku terimakasih semuanya atas segala bantuan dan kebersamaanya khususnya cek heli, jojo, elyn, umi, mb winda, ricce, iis, tina, dedet, yunicong, ines, okta, yosi, fitri, ty, yuni, rini, vide, angel, barus, winda mbul, idud, dina, euis, iip, caca, puspa, astri, siska, lian, laura, desy, mastur, frenky, tri, daus, moci, bang adi, abi, cek gu dan semua angkatan 2009.
9. Kakak tingkatku 2008 mbak silvi, mbak linggar dan adik tingkatku 2010 sari, uli, eva, yogi, odi, angga, anna maratussoliha, masyita, aam, hari, selly dan titin terimakasih atas bantuan, kecerian dan kebersamaanya.
10. Terimakasih untuk mbak novi, roni dan yuk nur atas bantuannya.

Demikianlah, semoga karya kecil ini dapat bermanfaat dalam menunjang perkembangan ilmu pengetahuan, khususnya biokimia dikemudian hari.

Wassalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh.

Indralaya, 26 Januari 2014

Penulis,

**PRODUCTION OF CELLULASE ENZYMES FROM *Trichoderma reesei* and
Aspergillus niger USING BAGASSE IN BIOETHANOL PRODUCTION**

NURUL RAMADHAN

NIM : 08091003011

ABSTRACT

It has been conducted a research about bioethanol production from bagasse. Cellulose content in bagasse can be used as substrate in production of cellulase enzyme by using *A. niger* and *T. reesei* with solid state fermentation. It was carried out by variation of fermentation time at 27°C for 1, 3, 5 and 7 days. Concentration cellulase enzymes extract were analyzed by Lowry method. Whereas enzyme activities were analyzed by DNS method. This research was done in five steps; delignification, production of cellulase, hydrolysis, fermentation and distillation. The results of research showed that delignification with 4% NaOH concentration could reduce lignin as much as 25,21%. The highest protein content and enzyme activities were produced by *A. niger* as much as 0,304 mg/mL and 2,99 IU/mL for 5 days fermentation time and the highest protein content and enzyme activities were produced by *T. reesei* as much as 0,278 mg/mL and 2,31 IU/mL for 3 days fermentation time. The highest glucose concentration content of hydrolysis for 3 days incubation time which were produced by *T. reesei* as much as 8,367 mg/mL. The highest ethanol content (distillation boiling point 78°C) of fermentation with anaerob facultative were produced by hydrolysis with cellulase enzyme from *T. reesei* as much as 17,613 % for 3 days fermentation time.

Keywords : Bagasse, *A. niger*, *T. reesei*, Cellulase Enzyme, Bioethanol

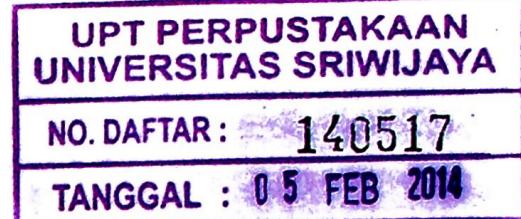
**PRODUKSI ENZIM SELULASE DARI KAPANG *Trichoderma reesei* dan
Aspergillus niger MENGGUNAKAN SUBSTRAT AMPAS TEBU UNTUK
PEMBUATAN BIOETANOL**

NURUL RAMADHAN
NIM : 08091003011

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian mengenai pembuatan bioetanol dari ampas tebu. Kandungan selulosa dalam ampas tebu dimanfaatkan sebagai substrat dalam produksi enzim selulase menggunakan *A. niger* dan *T. reesei* dengan sistem fermentasi padat pada variasi waktu fermentasi selama 1, 3, 5 dan 7 hari. Ekstrak enzim selulase dianalisis kadar protein dengan metode Lowry, sedangkan aktivitas enzim dianalisis dengan metode DNS. Penelitian ini dilakukan dalam 5 tahap yaitu delignifikasi, produksi enzim selulase, hidrolisis, fermentasi dan distilasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa delignifikasi menggunakan NaOH 4% dapat mengurangi lignin sebanyak 25,21%. Kadar protein dan aktivitas enzim tertinggi dari *A. niger* dihasilkan sebanyak 0,304 mg/mL dan 2,99 IU/mL pada lama fermentasi 5 hari, sedangkan kadar protein dan aktivitas enzim tertinggi dari *T. reesei* dihasilkan sebanyak 0,278 mg/mL dan 2,31 IU/mL pada lama fermentasi 3 hari. Konsentrasi glukosa hasil hidrolisis tertinggi terjadi pada hari ketiga inkubasi dengan menggunakan *T. reesei* yaitu 8,367 mg/mL. Kadar etanol tertinggi (titik didih destilasi 78°C) dari fermentasi secara fakultatif anaerob hasil hidrolisis 3 hari menggunakan enzim selulase *T. reesei* yaitu 17,613 %.

Kata kunci : Ampas Tebu, *A. niger*, *T. reesei*, Enzim selulase, Bioetanol



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN SKRIPSI.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH	iv
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	v
HALAMAN MOTTO DAN PERSEMBAHAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
ABSTRACT	ix
ABSTRAK	x
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tanaman Tebu (<i>Saccharum officinarum</i> L).....	5
2.2 Lignoselulosa	7
2.3 Komponen Lignoselulosa	7
2.3.1 Lignin	7
2.3.2 Hemiselulosa	8
2.3.3 Selulosa	8
2.4 Enzim Selulase	9
2.5 <i>Aspergillus niger</i>	10
2.6 <i>Trichoderma reesei</i>	11
2.7 Delignifikasi Ampas tebu	12
2.8 Hidrolisis Enzimatik	13
2.9 Fermentasi Padat	15
2.10 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	16

2.11 Bioetanol	17
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	21
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	21
3.2 Alat dan Bahan	21
3.2.1 Alat	21
3.2.2 Bahan	21
3.3 Prosedur Kerja	22
3.3.1 Persiapan Sampel	22
3.3.2 Delignifikasi Ampas Tebu	22
3.3.3 Penentuan Kadar Lignin.....	23
3.3.4 Persiapan Media Inokulasi <i>T. reesei</i> dan <i>A. niger</i>	23
3.3.4.1 Pembuatan Media Padat PDA	23
3.3.4.2 Pembuatan Media Cair	24
3.3.5 Produksi Enzim Selulase	24
3.3.5.1 Peremajaan <i>T. reesei</i> dan <i>A. niger</i>	24
3.3.5.2 Penyiapan Inokulum <i>T. reesei</i> dan <i>A. niger</i>	24
3.3.5.3 Produksi Enzim Selulase	24
3.3.5.4 Penentuan Kadar protein	25
3.3.5.5 Uji Aktivitas Enzim	26
3.3.5.5.1 Uji Aktivitas Enzim Selulase	26
3.3.5.5.2 Pembuatan Kurva Standart	26
3.3.6 Proses Hidrolisis	27
3.3.6.1 Hidrolisis Enzimatik dengan <i>T. reesei</i> dan <i>A. niger</i> ..	27
3.3.6.2 Hidrolisis Kombinasi <i>T. reesei</i> dan <i>A. niger</i>	28
3.3.6.2 Analisa Glukosa	28
3.3.7 Proses Fermentasi	29
3.3.7.1 Persiapan Media YPAD	29
3.3.7.2 Persiapan Media YPD	29
3.3.7.3 Peremajaan <i>S.cerevisiae</i> dengan Media YPAD.....	29
3.3.7.4 Pembuatan Inokulum	29
3.3.7.5 Fermentasi	30

3.3.8. Proses Distilasi.....	30
3.3.9 Penentuan Kadar etanol.....	30
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	31
4.1 Delignifikasi Ampas Tebu dengan Menggunakan NaOH	31
4.2 Produksi Enzim Selulase dari Kapang <i>T. reesei</i> dan <i>A. niger</i>	32
4.2.1 Penentuan Kadar Protein.....	32
4.2.2 Aktivitas Enzim Selulase dari Kapang <i>T. reesei</i> dan <i>A. niger</i>	34
4.3 Hidrolisis Enzimatik dari Kapang <i>T. reesei</i> dan <i>A. niger</i>	36
4.4 Hidrolisis Enzimatik dari Kombinasi Kapang <i>T. reesei</i> dan <i>A. niger</i>	38
4.5 Kadar Etanol.....	39
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	41
5.1 KESIMPULAN	41
5.2 SARAN	41
DAFTAR PUSTAKA	42
DAFTAR RIWAYAT HIDUP.....	63

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1. Komposisi Kimia Ampas Tebu	6
Tabel 2. Hasil analisis kadar lignin dengan metode Kappa.....	31
Tabel 3. Glukosa hasil hidrolisis kombinasi <i>T. reesei</i> dan <i>A. niger</i>	38
Tabel 4. Kadar etanol hasil fermentasi selama tiga hari.....	39
Tabel 5. Data hasil konsentrasi standar protein	52
Tabel 6. Kadar protein <i>A. niger</i> menggunakan metode Lowry.....	54
Tabel 7. Kadar protein <i>T. reesei</i> menggunakan metode Lowry.....	54
Tabel 8. Konsentrasi larutan standar glukosa dengan metode DNS	55
Tabel 9. Aktivitas enzim selulase dari <i>A. niger</i>	56
Tabel 10. Aktivitas enzim selulase dari <i>T. reesei</i>	56
Tabel 11. Glukosa hasil hidrolisis dari <i>A. niger</i> yang diinkubasi 5 hari	57
Tabel 12. Glukosa hasil hidrolisis dari <i>T. reesei</i> yang diinkubasi 3 hari	58
Tabel 13. Glukosa hasil hidrolisis kombinasi kapang <i>A. niger</i> dan <i>T. reesei</i> ..	58
Tabel 14. Kadar etanol hasil fermentasi selama tiga hari.....	59

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Tanaman tebu.....	5
Gambar 2. Struktur selulosa.....	9
Gambar 3. Tahap hidrolisis selulosa menjadi glukosa	14
Gambar 4. Tahap glikolisis glukosa menjadi etanol	19
Gambar 5. Konsentrasi protein terhadap lama fermentasi kapang <i>A. niger</i>	33
Gambar 6. Konsentrasi protein terhadap lama fermentasi kapang <i>T. reesei</i>	33
Gambar 7. Aktivitas enzim selulase dari kapang <i>A. niger</i>	35
Gambar 8. Aktivitas enzim selulase dari kapang <i>T. reesei</i>	35
Gambar 9. Kadar glukosa hasil hidrolisis dari kapang <i>A. niger</i>	37
Gambar 10. Kadar glukosa hasil hidrolisis dari kapang <i>T. reesei</i>	37

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1.	Skema kerja	48
Lampiran 2.	Perhitungan penurunan kadar lignin dengan metode Kappa....	49
Lampiran 3.	Tabel faktor "p" koreksi pemakaian persentase KMnO ₄	51
Lampiran 4.	Contoh perhitungan dan data hasil kadar protein	52
Lampiran 5.	Contoh perhitungan dan data hasil aktivitas enzim	55
Lampiran 6.	Contoh perhitungan dan data kadar glukosa hasil hidrolisis....	57
Lampiran 7.	Contoh perhitungan dan data kadar etanol hasil fermentasi.....	59
Lampiran 8.	Gambar hasil penelitian.....	60
Lampiran 9.	Kromatogram standar etanol 100%	61
Lampiran 10.	Kromatogram sampel <i>A. niger</i> 3 hari.....	61
Lampiran 11.	Kromatogram sampel <i>T. reesei</i> 3 hari	62
Lampiran 12.	Kromatogram sampel <i>T. reesei</i> : <i>A. niger</i> = 7 : 3	62
Lampiran 13.	Kadar etanol hasil uji menggunakan GC 2010 Plus	63

BAB I

PENDAHULUAN



1.1 Latar Belakang

Bioetanol merupakan etanol hasil fermentasi biomassa. Etanol merupakan senyawa yang digunakan dalam berbagai industri kimia antara lain sebagai pelarut (40%), untuk membuat asetaldehid (36%), eter, glikol eter, etil asetat dan kloral (9%) (Anshory. 2004). Beberapa komoditas pertanian yang mengandung karbohidrat seperti gula sederhana, pati dan selulosa merupakan sumber energi penting untuk fermentasi etanol. Sumber karbohidrat tersebut dapat diperoleh dari kultivasi tanaman sumber energi misalnya mikroalga, tanaman potensial yang tumbuh secara alami misalnya alang-alang, maupun limbah hasil pertanian (Putri dkk. 2008). Pembuatan bioetanol dari limbah hasil pertanian akan sangat menguntungkan sebagai contoh adalah ampas tebu. Ampas tebu merupakan hasil samping dari proses ekstraksi tebu dan merupakan bahan lignoselulosa yang terdiri atas tiga komponen utama yaitu selulosa, hemiselulosa dan lignin. Konversi bahan lignoselulosa menjadi etanol pada dasarnya melibatkan tahapan - tahapan perlakuan pendahuluan (delignifikasi), hidrolisis selulosa menjadi gula dan fermentasi glukosa menjadi etanol menggunakan khamir *Saccharomyces cerevisiae* (Hermiati dkk. 2010).

Perlakuan pendahuluan (delignifikasi) merupakan langkah untuk menghilangkan atau mengurangi kadar lignin. Hidrolisis merupakan proses sakarifikasi untuk menghasilkan gula sederhana berupa monomer glukosa, xilosa, dan arabinosa. Hidrolisis selulosa secara enzimatis memiliki beberapa keuntungan

dibandingkan hidrolisis asam antara lain tidak terjadi degradasi gula hasil hidrolisis dan proses hidrolisis enzimatis merupakan proses yang ramah lingkungan (Gunam dkk. 2011a). Enzim yang dapat menghidrolisis selulosa adalah selulase. Enzim selulase merupakan enzim yang dapat dihasilkan oleh mikroorganisme seperti fungi atau bakteri (Thresia dkk. 2012). Beberapa jenis kapang (misalnya *Trichoderma sp* dan *Aspergillus sp*) dan bakteri (misalnya *Cellulomonas* dan *Cytophaga*) penghasil selulase yang potensial untuk dikembangkan dalam pembuatan enzim selulase adalah kapang *Trichoderma reesei* dan *Aspergilus niger* (Gunam dkk. 2011a).

Pada produksi enzim dilakukan dengan metode fermentasi keadaan padat, menurut Utari (1997) berdasarkan mediumnya fermentasi dibedakan menjadi dua yaitu fermentasi medium padat dan fermentasi medium cair. Fermentasi medium padat adalah proses fermentasi yang substratnya tidak larut dan tidak mengandung air bebas, tetapi cukup mengandung air untuk keperluan mikroba sedangkan fermentasi medium cair merupakan proses fermentasi yang substratnya larut atau tersuspensi dalam fase cair (Utari. 1997). *T. reesei* mampu menghasilkan endo-1,4-glukanase dan ekso-1,4-glukanase sampai 80% sedangkan *A. niger* dapat menghasilkan glukosidase tinggi. Penggunaan enzim yang diproduksi oleh *A. niger* dan *T. reesei* secara bersama - sama diharapkan dapat meningkatkan efektivitas pada saat hidrolisis.

Penggunaan biomassa lignoselulosa ampas tebu sebagai bahan baku produksi etanol selain memiliki nilai jual rendah, ketersediaan ampas tebu juga melimpah dan belum banyak dimanfaatkan oleh masyarakat sehingga kegiatan ini dapat memberikan nilai tambah pada ampas tebu dalam peningkatan produksi

campuran bahan bakar yang ramah lingkungan. Selain itu pemanfaatan ampas tebu menjadi sumber bahan energi terbarukan etanol dapat membantu masalah krisis energi fosil.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah yang telah diuraikan di atas, maka permasalahan yang dapat diangkat sebagai berikut:

1. Bagaimana ampas tebu dapat digunakan sebagai substrat pada fermentasi padat untuk menghasilkan glukosa.
2. Bagaimana ekstrak enzim selulase yang dihasilkan dapat digunakan pada proses hidrolisis selulosa pada ampas tebu menjadi glukosa.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah :

1. Mengurangi kadar lignin ampas tebu dengan metoda *Steam Explosion* menggunakan NaOH 4% pada suhu 121°C.
2. Memproduksi enzim selulase dari *T. reesei* dan *A. niger* dengan fermentasi padat menggunakan substrat ampas tebu dengan variasi lama fermentasi 1, 3, 5 dan 7 hari.
3. Menentukan kadar protein dengan metode Lowry dan aktivitas enzim yang dihasilkan dari *T. reesei* dan *A. niger* dengan metode Dinitrosalisilat (DNS).
4. Menghidrolisis ampas tebu menggunakan ekstrak enzim selulase dengan variasi lama inkubasi 0, 1, 2, 3, 4 dan 5 hari dan menggunakan kombinasi

ekstrak enzim selulase dengan lama inkubasi 3 hari serta menentukan kadar glukosa yang dihasilkan dengan metode Dinitrosalisilat (DNS).

5. Menentukan kadar etanol yang dihasilkan dari fermentasi *Saccharomyces cerevisiae* selama 3 hari terhadap hidrolisat ampas tebu.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan sumbangan informasi tentang produksi ekstrak enzim selulase oleh *T. reesei* dan *A. niger* dan dapat memberikan sumbangan informasi tentang kemungkinan penggunaan ampas tebu sebagai bahan baku ramah lingkungan yang akan dikonversi menjadi bioetanol sehingga diharapkan dapat mengatasi permasalahan limbah ampas tebu.

DAFTAR PUSTAKA

- Anshory. (2004). *Etanol Sebagai Bahan Bakar Alternatif*. Jakarta: Erlangga.
- Anwar, N., Arief Widjaja., dan Sugeng Winardi. (2010). Peningkatan Unjuk Kerja Hidrolisis Enzimatik Jerami Padi Menggunakan Campuran Selulase Kasar dari *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger*. *SAINS*, 14, 113-116
- Adams MR. (1985). *The Small Scale Production of Vinegar From Bananas*. Tropical Products Institut. London.
- Ceirwyn, S.J. (1995). *Analytical Chemistry of Food*. Blackie Academic & Professional. London. pp. 84-125.
- Coral, G., Arikan, B., M. Nisa Unaldi., Guvenmez, Hatice. 2002. Some Properties of Crude Carboxymethyl Cellulase of *Aspergillus niger* Z10 Wild-Type Strain. *Turk J Biol* 26(2002) : 209-213.
- Devis, F. H. (2008). *Bioetanol Berbahan Dasar Ampas Rumput Laut (*Kappaphycus alvarezii*)*. Skripsi Jurusan Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Pertanian dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Fardiaz, S. (1989). Mikrobiologi Pangan. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas. Institut Pertanian Bogor.
- Fardiaz, S. (1992). Mikrobiologi Pengolahan Pangan Lanjut. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor .
- Gunam, I.B.W., Aryanta, W.R., N. Surya Darma, I.B. (2011a). Produksi selulase kasar dari kapang *Trichoderma viride* dengan perlakuan konsentrasi substrat ampas tebu dan lama fermentasi. *Jurnal Biologi*, XV(2) : 29-33.
- Gunam, I.B.W. (2011b). Delignifikasi Ampas Tebu dengan Larutan Natrium Hidroksida Sebelum Proses Sakarifikasi Secara Enzimatis Menggunakan Enzim Selulase Kasar dari *Aspergillus niger* FNU 6018. *Teknologi Indonesia LIPI*, Vol. 34.

- Gihon (2012). *Penggunaan Isolat Khamir dari Tuak Pada Fermentasi Bioetanol dari Tandan Kosong Kelapa Sawit (Elaeis guineensis)*. Skripsi Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Sriwijaya. Palembang.
- Habibah, U. (2013). *Konversi Selulosa dari Biomassa Batang Pisang Menjadi Asam Levulinat Melalui Reaksi Katalik dengan Katalis Kromium*. Skripsi Universitas Pendidikan Indonesia.
- Handayani. (2002). *Pengaruh suhu inkubasi terhadap aktifitas enzim selulase isolat bakteri selulolitik dari komunitas mangrove teluk awur Jepara Jawa Tengah*. Undergraduate thesis, FMIPA Undip.
- Hardjo, S., N. S., Indrasti, B. Tajuddin. (1989). Biokonveksi : Pemanfaatan Limbah Industri Pertanian. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. IPB.
- Hawab. (2004). *Pengantar Biokimia*. Malang: Bayumedia
- Hermiati, E., Mangunwidjaja, D., Sunarti, T.C., Suparno, O., Prasetya, B. (2010). Pemanfaatan biomassa lignoselulosa ampas tebu untuk produksi bioetanol. *Jurnal Litbang Pertanian*, 29(4).
- Hidayat, I. (2005). *Pengaruh pH terhadap Aktivitas Endo-1,4- β -Glucanase Basillus sp.* AR 009. Vol. 2 No. 4. Bidang Mikrobiologi. Bogor : Pusat penelitian Biologi
- Hisyam. (2012). *Isolasi Selulosa Ampas Sagu dengan Delignifikasi Menggunakan Hidrogen Peroksida*. Skripsi Jurusan Kimia Fakultas MIPA Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Ikram-ul-haq., Muhammad Mohsin Javed., Tehmina Saleem Khan and Zafar Siddiq. 2005. Cotton Saccharifying Activity of Cellulases Produced by Co-culture of Aspergillus niger and Trichoderma viride. *Res. J. Agric & Biol. Sci*, 1(3):241-245.
- Isroi, (2008). Produksi bioetanol berbahan baku biomassa lignoselulosa: Pretreatment, Hidrolisis, Fermentasi, Purifikasi. <http://isroi.wordpress.com>.
- Judoamidjojo, R.M., A.A.Darwis, dan E.G. Sa'id. (1992). *Teknologi Fermentasi*. Bogor: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Pusat Antar Universitas Bioteknologi Institut Pertanian Bogor.

- Kholisoh, S. D., & Sukadarti, S. (2011, Juli 26). *Delignifikasi Sabut Kelapa dengan NaOH Untuk Produksi Gula Pereduksi Secara Enzimatik*. Seminar Rekayasa Kimia dan Proses di Yogyakarta.
- Kodri, dkk. (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.
- Lehninger, A. (1982). *Dasar-Dasar Biokimia jilid 2*. Erlangga: Jakarta
- Maria Bintang, Prof. Dr. drh. M.S. (2010). *Biokimia Teknik Penelitian*. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Martins, L.F, Kolling., D, Camassola., M, Dillon., A. J. P, Ramos. L.P. (2008). Comparison of *Penicillium echinulatum* and *Trichoderma reesei* Cellulases in Relation to Their Activity Against Various Cellulosic Substrates. *Bioresource Technology*. 99, 1417–1424.
- Mulyono M. (1991). *Hidrokarbon di dalam Lingkungan Perairan*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Teknologi Minyak dan Gas Bumi. Lemigas. Jakarta.
- Paramanova, S. (2010). *Extraction and Examination of Residual Lignin From Sulphate Pulp*. D Master Thesis. Chemical Technology Departement of Chemycal Engineering and Geosciences Luleå University of Technology
- Prasetyani, S. R. (2009). *Keteguhan Rekat Internal Papan Partikel Ampas Tebu dengan Swa Adhesi dan Perekat Urea Formaldehida*. Skripsi Jurusan Hasil Hutan Fakultas Kehutanan Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Putri, L.S.E., & Sukandar, D. (2008). Konversi pati ganyong (*Canna edulis Ker.*) menjadi bioetanol melalui hidrolisis asam dan fermentasi. *Biodiversitas*, 9(2), 112-116.
- Putro, A. N. H., Ardhiandy, S. A. (2010). *Proses Pengambilan Kembali Bioetanol Hasil Fermentasi dengan Metode Adsorpsi Hidrophobik*. Skripsi Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Diponegoro. Semarang.

- Rahim, Ar. D. (2009). *Produksi Etanol Oleh Saccharomyces cerevisiae var. Ellipsoideus dari Sirup Dekstrin Pati Sagu (Metroxylon sp.) Menggunakan Metode Aerasi Penuh dan Aerasi Dihentikan*. Skripsi Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Rohana, A. N, dkk (2013). Produksi Selulase Dari *Aspergillus niger* Dan Kemampuannya Menghidrolisis Ampas Tebu. *Jurnal Kimia Unand (ISSN No. 2303-3401)*, Volume 2 Nomor 2.
- Rosalia, D. (1998). *Pengaruh Lama Fermentasi pada Ampas Tebu Pasaran Terhadap Kadar Asam Laktat yang dihasilkan*. Skripsi Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sriwijaya. Tidak dipublikasikan.
- Safaria, dkk. (2013). Efektivitas Campuran Enzim Selulase dari *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei* dalam Menghidrolisis Substrat Sabut Kelapa. *JKK, Vol. 2(1)*, halaman 45-61.
- Sari, dkk. (2008). Pemanfaatan Jerami Padi dan Alang-Alang dalam Fermentasi Etanol Menggunakan Kapang *Trichoderma viride* dan Khamir *Saccharomycess cerevisiae*. *VIS VITALIS, Vol. 01 No. 2*.
- Saropah, Ayu Dyah., dkk. (2012). Kinetika Reaksi Enzimatis Ekstrak Kasar Enzim Selulase Bakteri Selulolitik Hasil Isolasi Dari Bekatul. *ALCHEMY, Vol. 2 No. 1*, hal 34-45.
- Sa'adah, Z. (2010). *Produksi Enzim Selulase oleh Aspergillus niger Menggunakan Substrat Jerami dengan Sistem Fermentasi Padat*. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Siregar, Z., Mirwandhono, E. (2004). *Evaluasi Pemanfaatan Bungkil Inti Sawit Yang Difermentasi Aspergillus niger Hidrolisat Tepung Bulu Ayam dan Suplementasi Mineral Zn dalam Ransum Ayam*. Skripsi Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara. Medan.
- SNI. (2008). Pulp-Cara Uji Bilangan Kappa. *Badan Standarisasi Nasional, 0494:2008 ICS 85.040*.
- Tangkuman, Herling D. (2010). Produksi Bioetanol dari Nira Aren Menggunakan Energi Geothermal. *Chem. Prog, Vol. 3 No. 1*.

- Thresia, F., Ristikasari, S.E., Hartanto, G., Widjaja, A. (2012, Juni 21). *Produksi Etanol dari Jerami Padi Melalui Hidrolisa Enzimatik dan Fermentasi*. Seminar Nasional Teknik Kimia Soebardjo Brotohardjono IX di Jawa Timur.
- Utari, R. (1997). *Seleksi Kapang Mucor Untuk Produksi Minyak Mengandung Asam Gamma Linolenat dengan Sistem Fermentasi Padat pada Media Onggok Ampas Tahu dan Onggok Dedak Padi*. Skripsi Jurusan Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Wahyudi, B. (2006). Pembuatan etanol dari sari sabut buah Siwalan dengan proses hidrolisis fermentasi. *Jurnal kima dan teknologi*. ISSN 0216-163X.
- Wardhani, D. S. (2012). *Evaluasi Stabilitas Aktivitas Enzim Selulase Cairan Rumen Domba*. Skripsi Jurusan Kimia FMIPA Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Wartini. (2011). *Delignifikasi Jerami Padi dengan Menggunakan NaOH Pada Suasana Alkali*. Skripsi Jurusan Kimia FMIPA Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Wita, N. (2006). *Produksi β -Glukan dari Saccharomyces cerevisiae dengan Variasi Sumber Nitrogen*. Skripsi Jurusan Biokimia FMIPA Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Yang, J., Zhang, X., Yong, Q., Yu, S. (2011). Three-stage enzymatic hydrolysis of steam-exploded corn stover at high substrate concentration. *Bioresour. Technol.*, 102(7): 4905-4908.
- Yogamina, D. (2011). *Pembuatan Bioetanol dari TKKS Menggunakan Metode Hidrolisis Enzimatik dan Fermentasi*, Skripsi: Universitas Sriwijaya: Indralaya.