

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Deskripsi dan Taksonomi Tanaman Jagung

Jagung (*Zea mays*) merupakan tanaman semusim yang termasuk keluarga graminae. Tanaman jagung hidup di daerah tropis maupun subtropis dengan suhu tumbuh optimum berkisar antara 30-32°C namun dapat hidup pada suhu terendah pada 9°C dan suhu tertinggi pada 44°C. Tanaman ini tidak memiliki cabang kecuali pada varietas jagung manis. Masa berbunga jagung berada sekitar 50 hari setelah penanaman (Ariyanti, 2015).

Batang jagung tidak bercabang, berbentuk silinder yang terdiri dari 10-40 ruas dan buku ruas dengan warna lamina dan pelepah berwarna hijau hingga hijau tua. Tinggi batang bervariasi dari 90 cm-3 meter dengan diameter 3-4 cm tergantung dari varietas dan lokasi penanaman. Pada buku ruas akan muncul tunas jagung yang kemudian berkembang menjadi tongkol. Setiap buku ruas memiliki satu daun dengan kelopak daunnya. Daun tersebut membungkus sebagian atau seluruh ruas batang yang terdapat di atas buku tersebut (Purwono dan Hartono, 2005).

Jagung merupakan salah satu bahan pangan penting di Indonesia karena kandungan karbohidrat yang mencapai 30%. Selain penggunaan sebagai bahan pangan jagung banyak dimanfaatkan sebagai pakan ternak dan bahan baku industri pangan. Kebutuhan jagung di Indonesia setiap tahun meningkat sebanyak 5,1% sedangkan kebutuhan jagung untuk pakan ternak dan bahan baku industri mengalami

peningkatan sebesar 10,87% per tahunnya (Ekowati dan Nasir, 2011). Klasifikasi tanaman jagung menurut Purseglove (1972) adalah

Kerajaan : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Sub Divisi : Angiospermae
Kelas : Monocotyledoneae
Bangsa : Poales
Suku : Poaceae
Marga : *Zea*
Spesies : *Zea mays* L.

Menurut Purseglove (1972) jagung merupakan tanaman semusim yang memiliki daur hidup antara 80-150 hari. Paruh pertama siklus hidup jagung merupakan tahap pertumbuhan vegetatif dan paruh kedua untuk tahap pertumbuhan generatif. Jagung merupakan komoditas pangan yang sangat dibutuhkan di Indonesia dan termasuk salah satu komoditas strategis dan bernilai ekonomis serta mempunyai peluang untuk dikembangkan (Mahdi, 2009).

Menurut Purseglove (1972), jagung merupakan sumber karbohidrat utama di Amerika Tengah dan Selatan, jagung juga menjadi alternatif sumber pangan di Amerika Serikat. Penduduk beberapa daerah di Indonesia (misalnya di Madura dan Nusa Tenggara) juga menggunakan jagung sebagai pangan pokok. Selain sebagai sumber karbohidrat, jagung ditanam sebagai penghasil kerajinan tangan seperti anyaman dan dekorasi rumah tangga. Gambar tanaman jagung dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Bagian Tanaman Jagung (Sumber: Bunyamin dkk, 2013; Aak, 2013)

- Keterangan: A. Daun Jagung
 B. Batang jagung
 C. Kelobot jagung
 D. Tongkol jagung

B. Kandungan Gizi Kelobot Jagung

Tanaman jagung setiap kali panen akan menghasilkan limbah sebagai hasil sampingan (Ariyanti, 2015). Limbah tanaman jagung merupakan limbah hasil panen tanaman jagung yang ditinggalkan setelah jagung dipanen dari tanaman induk. Limbah tanaman jagung meliputi batang, daun, tongkol dan kulit atau kelobot jagung (Purwanto, 2010).

Limbah tanaman jagung terutama batang, daun, klobot dan tongkol mencapai 1,5 kali bobot buah sehingga jika dihasilkan 8 ton buah per ha maka akan menghasilkan 12 ton limbah jagung (Ariyanti, 2015). Pada umumnya jagung terdiri dari 12% kelobot jagung, 28% biji, 17% tongkol, 13% daun dan 30% batang. Limbah jagung merupakan bahan potensial untuk sumber bioetanol. Limbah jagung mengandung

banyak lignoselulosa yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber potensial dalam pembuatan bioetanol (Purwanto, 2010).

Kelobot jagung merupakan bagian daun jagung yang membungkus tongkol jagung. Adapun kandungan nutrisi dalam kelobot jagung adalah bahan kering 42,56%, protein 3,4%, lemak 2,55%, serat kasar 23,32% dan substansi lainnya 28,17% (Pratiwi, 2015). Kulit jagung mengandung 36,81% selulosa, 15,7% lignin, 6,04% kadar abu dan 27,01% hemiselulosa (Purwono dan Hartono, 2005). Menurut Daniarti (2015), kelobot jagung memiliki kandungan serat total sebesar 38-50% dengan kadar karbohidrat antara 38-55%. Menurut Ariyanti (2015), nilai protein, lemak, serat kasar, abu dan tannin meningkat akibat perlakuan fermentasi sedangkan zat anti nutrisi seperti xilane dan phytate akan mengalami penurunan. Hal itu terjadi seiring dengan adanya aktifitas mikrobia.

C. Sifat dan Karakteristik Etanol

Etanol (C_2H_5OH) merupakan senyawa organik alkohol primer dengan sifat umum berupa cairan tidak berwarna dan tidak berasa, mudah terbakar, mudah larut dalam air dan mudah menguap dengan titik didih $78,4^{\circ}C$ (Kartika dkk., 1997). Etanol terbagi dalam beberapa konsentrasi tergantung dengan penggunaannya. Konsentrasi etanol berpengaruh terhadap proses penggunaannya. Etanol dengan konsentrasi 90-96,5% digunakan pada industri sedangkan pada campuran minuman beralkohol dan farmasi menggunakan konsentrasi 96-99,5%. Etanol yang digunakan sebagai campuran bahan bakar kendaraan memiliki konsentrasi 99,5-100% (Crueger dan Crueger, 1990).

Saat ini 68% etanol di dunia digunakan sebagai bahan bakar. Saat ini produksi etanol dikembangkan dari proses fermentasi komoditas pertanian atau melalui proses kimiawi. Meskipun begitu di Indonesia sendiri pemanfaatan etanol sebagai bahan bakar kurang dimanfaatkan karena kurangnya kendaraan dengan bahan bakar etanol serta pengetahuan masyarakat tentang bahan bakar alternatif seperti etanol. Hal itu tidak sebanding dengan meningkatnya konsumsi bahan bakar minyak (BBM) di tengah masalah kelangkaan BBM akibat pasokan yang terus berkurang (Suhariati, 2015). Sifat fisika dan kimia etanol absolut dan etanol teknis dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Sifat Fisika dan Kimia Etanol Absolut dan Etanol Teknis

Parameter	Etanol absolut	Etanol teknis
Titik beku (°C)	-112,4	-
Titik didih (°C)	78,4	-
<i>Specific gravity</i>	0,7851	-
Indek bias n_{D20}	1,3633	1,3651
Viskositas pada 20°C (P)	0,0122	0,0141
Tegangan permukaan (dyne/cm)	22,3	22,8
Panas spesifik	0,581	0,618
Panas fusi (kal/gram)	24,9	-
Panas evaporasi (kal/gram)	204	-
Konduktivitas elektrik pada 25°C (ohm ⁻¹ /cm)	1,35 x 10 ⁻⁹	-

(Sumber: Suhariati, 2015)

Menurut Suhariati (2015), terdapat 2 macam etanol berdasarkan cara pembuatannya yaitu etanol sintesis dan bioetanol. Etanol sintesis terbuat dari derivat minyak bumi atau batu bara yang diproses secara kimiawi sedangkan bioetanol diperoleh dari proses biologis melalui fermentasi mikrobia pada komoditas pertanian seperti tetes tebu, jagung dan singkong. Kelebihan bioetanol dibandingkan etanol

sintetis adalah biaya produksi yang rendah, persentase rendemen tinggi, proses yang relatif cepat, penanganan yang sederhana, serta produk samping yang ramah lingkungan. Bioetanol dapat digunakan sebagai bahan baku pada industri minuman, farmasi, bahan bakar dan minuman (Kadam dkk., 2000).

Bioetanol dapat dibuat dari bahan yang mengandung gula sederhana, pati, maupun bahan berserat melalui proses fermentasi. Masing-masing bahan berbeda cara pengolahannya untuk bisa dijadikan bioetanol. Produksi bioetanol dengan menggunakan bahan berpati seperti kelobot, tongkol dan batang jagung, singkong dan umbi lainnya harus diawali dengan proses pemecahan pati menjadi gula sederhana atau glukosa melalui metode hidrolisis asam atau enzimatis (Azizah dkk, 2012).

D. Mekanisme Fermentasi Etanol

Proses produksi bioetanol pada umumnya meliputi tiga rangkaian proses utama yaitu hidrolisis (tahap pertama), fermentasi (tahap kedua) dan pemurnian atau destilasi (tahap ketiga). Tahap pertama yaitu tahap hidrolisis dibagi menjadi 2 tahap yaitu liquidikasi dan sakarifikasi. Prinsip utama tahap hidrolisis adalah pemutusan rantai polimer pati menjadi unit glukosa (Firmana dan Tjahjani, 2014).

Liquidikasi merupakan pemecahan pati menjadi dekstrin pada ikatan α -1,4 glikosidik dengan bantuan enzim α -amilase pada bagian dalam rantai polisakarida sehingga dihasilkan produk berupa glukosa, maltosa, maltodekstrin dan α -limit dekstrin. Tahap ini lalu dilanjutkan dengan tahap sakarifikasi. Sakarifikasi merupakan penguraian dekstrin menjadi glukosa dengan bantuan enzim amylase. Enzim

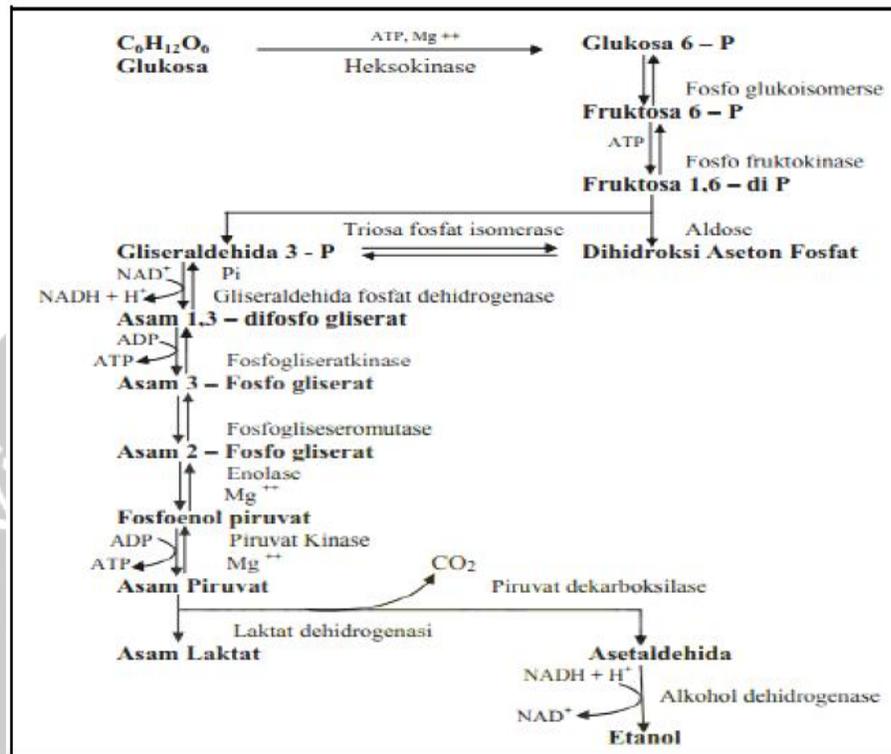
glukoamilase merupakan eksoenzim yang memecah ikatan α -1,4 melalui pemecahan unit glukosa dari ujung molekul amilosa dan amilopektin sehingga dihasilkan β -D-glukosa (Nikolov dan Reilly, 1991).

Fermentasi merupakan proses produksi energi dalam sel dalam keadaan anaerob. Ragi merupakan zat yang menyebabkan terjadinya fermentasi. Ragi biasanya mengandung mikrobia yang melakukan fermentasi dan medium untuk pertumbuhan mikrobia tersebut. Fermentasi etanol adalah perubahan 1 mol gula menjadi 2 mol etanol dan 2 mol CO_2 (Sebayang, 2006). Pada proses fermentasi etanol, khamir akan memetabolisme glukosa dan fruktosa membentuk asam piruvat melalui jalur *Embden-Meyerhof-Parnas*. Asam piruvat yang dihasilkan akan didekarboksilasi menjadi asetaldehid yang kemudian akan didehidrogenasi menjadi etanol. Proses fermentasi dipengaruhi oleh banyak faktor seperti suhu, pH, konsentrasi ragi dan waktu fermentasi. Pada umumnya, etanol yang dihasilkan melalui proses fermentasi hanya sebesar 10-14% (Firmana dan Tjahjani, 2014). Jalur bioproses etanol dapat dilihat pada Gambar 2.

Faktor-faktor yang berpengaruh terhadap fermentasi etanol antara lain sumber karbon, pH, suhu, sumber nitrogen, faktor tumbuh, oksigen, kadar etanol dan CO_2 . Kondisi fisiologi inokulum dan kualitas substrat juga berpengaruh terhadap hasil fermentasi etanol. Adapun kondisi fisiologi inokulum dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti ketersediaan oksigen, suhu dan nutrisi pada medium. Adanya mikrobia kontaminan akan menghambat proses fermentasi sehingga berpengaruh terhadap metabolit yang dihasilkan (Najafpour dkk, 2004).

Menurut Najafpour dkk. (2004), pengaruh faktor-faktor di atas terhadap fermentasi etanol adalah sebagai berikut:

1. Jenis substrat akan berpengaruh terhadap ketersediaan nutrisi yang dibutuhkan oleh mikrobia fermentor untuk pertumbuhan sel. Semakin kaya nutrisi dalam suatu substrat akan mendukung pertumbuhan mikrobia fermentor. Selain itu substrat juga berfungsi sebagai sumber karbon dan nitrogen untuk metabolisme mikrobia fermentor.
2. Jenis mikrobia yang digunakan memengaruhi kecepatan fermentasi, lama waktu fermentasi serta produk yang dihasilkan.
3. Suhu optimum untuk pertumbuhan khamir adalah 25-30°C dengan suhu maksimum 35-47°C.
4. pH medium berpengaruh terhadap pertumbuhan khamir. pH 4-4,5 merupakan pH optimum untuk pertumbuhan khamir
5. Waktu fermentasi berhubungan dengan jenis khamir yang dipakai, suhu, pH dan konsentrasi gula dalam substrat.
6. Oksigen dan CO₂ berpengaruh terhadap proses fermentasi karena fermentasi etanol oleh *Saccharomyces cerevisiae* berlangsung dalam kondisi anaerob.
7. Kadar etanol atau produk yang terbentuk selama fermentasi dapat berpengaruh terhadap jalannya fermentasi. Hal itu disebabkan karena beberapa jenis khamir tidak tahan terhadap kadar alkohol tinggi sehingga jika kadar alkohol sudah mencapai batas tertentu maka khamir jenis tertentu akan mati akibat tingginya kadar alkohol.



Gambar 2. Reaksi bioproses etanol (Sumber: Sebayang, 2006)

Keterangan: Glukosa dan fruktosa dengan bantuan enzim heksokinase dikonversi membentuk asam piruvat melalui jalur *Embden-Meyerhof-Parnas*. Asam piruvat yang dihasilkan akan didekarboksilasi menjadi asetaldehid yang kemudian akan didehidrogenasi menjadi etanol (Sebayang, 2006)

E. Sifat dan Karakteristik *Saccharomyces cerevisiae*

Fermentasi gula sederhana menjadi etanol dilakukan dengan bantuan khamir. Salah satu khamir yang berperan penting dalam fermentasi etanol adalah *Saccharomyces* sp (Zahara, 2011). Khamir ini bersifat fakultatif anaerob dengan suhu optimum 27°C. Pertumbuhan maksimum *Saccharomyces* sp. terjadi pada hari ke-3 dan mengalami penurunan setelah hari ke-7. *Saccharomyces cerevisiae* merupakan organisme uniseluler dan berreproduksi secara seksual serta memiliki koloni

berwarna putih susu, permukaan mengkilat, cembung dengan tepian *entire*. Sel *Saccharomyces cerevisiae* memiliki panjang 3-30 μ m dan lebar 1-5 μ m. Sel khamir *Saccharomyces cerevisiae* berbentuk bulat telur atau memanjang tanpa flagella (Madigan dkk, 2012). Klasifikasi *Saccharomyces cerevisiae* adalah sebagai berikut:

Kerajaan : Fungi
Filum : Ascomycetes
Kelas : Hemiascomycetes
Ordo : Saccharomycetales
Famili : Saccharomycetaceae
Genus : Saccharomyces
Spesies : *Saccharomyces cerevisiae* (Madigan dkk, 2012)

Saccharomyces cerevisiae memiliki dinding yang tebal dan berbentuk oval yang bermanfaat untuk pembuatan roti, tape, peyem, minuman beralkohol seperti anggur, bir, dan sake karena proses fermentasi. *Saccharomyces cerevisiae* merupakan khamir berspora yang paling umum digunakan untuk pembuatan roti dan fermentasi bir. Proses fermentasi oleh *Saccharomyces cerevisiae* terjadi akibat *Saccharomyces cerevisiae* memecah glukosa untuk mendapatkan energi. Pemecahan karbohidrat seperti glukosa dan sukrosa oleh *Saccharomyces cerevisiae* menghasilkan karbondioksida. Karbondioksida yang dihasilkan akan terperangkap di dalam adonan sehingga adonan dapat mengembang (Madigan dkk, 2012).

Saccharomyces cerevisiae dapat mengkonversi gula menjadi etanol karena adanya enzim invertase dan zimase. Adanya enzim-enzim ini menyebabkan *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 zimase akan mengubah monosakarida tersebut menjadi alkohol dan CO₂ (Azizah dkk, 2012).

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. Lama fermentasi pada proses produksi bioetanol sangat memengaruhi kadar bioetanol yang dihasilkan. Semakin lama waktu fermentasi maka semakin tinggi kadar bioetanol yang dihasilkan (Azizah dkk, 2012).

Kelemahan dari *Saccharomyces cerevisiae* adalah pertumbuhannya yang akan terhambat pada konsentrasi alkohol 2,5% karena tingkat toleransi terhadap etanol kurang dari 2,5%. Hanya *Saccharomyces cerevisiae* strain tertentu saja yang dapat bertahan pada kadar alkohol 2,5-5%. Oleh karena itu dibutuhkan lama fermentasi yang tepat untuk proses fermentasi bioetanol agar didapatkan kadar etanol dalam jumlah yang tinggi (10-11%), nilai pH rendah (4-5), dan produksi gas yang tinggi tetapi tidak mengganggu pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* (Azizah dkk, 2012).

F. Jenis-Jenis Metode Hidrolisis

Proses hidrolisis sebagai perlakuan awal sangat penting untuk memecahkan pati dan selulosa menjadi glukosa (Firmana dan Tjahjani, 2014). Hidrolisis lignoselulosa

harus dilakukan untuk meningkatkan kadar gula yang terkandung dalam suatu bahan. Gula yang diperoleh tanpa sakarifikasi sebesar 20% sedangkan dengan proses hidrolisis dapat meningkat hingga 90%. Hidrolisis juga membantu pemecahan struktur lignoselulosa sehingga pemecahan selulosa dan komponen lainnya mudah dilakukan (Wiratmaja dkk, 2011).

Menurut Joshi dkk, (2011), metode hidrolisis merupakan metode pemecahan selulosa dan hemiselulosa dalam upaya menghasilkan gula sebagai sumber energi mikrobia fermentor seperti *Saccharomyces cerevisiae*. Tujuan utama dari proses ini meliputi pemecahan lignin, selulosa, pektin dan hemiselulosa dari massa lignoselulosa hingga menghasilkan monomer gula seperti D-xilosa dan D-arabinosa. Metode hidrolisis meliputi penggunaan asam, basa dan/atau pelarut organik.

Pada proses hidrolisis, sampel yang sudah diberi perlakuan difiltrasi untuk memisahkan larutan dengan padatan. Filtrat akan difermentasi untuk menghasilkan etanol sedangkan ampasnya dihidrolisis menggunakan enzim selulase atau asam sulfat (Joshi dkk., 2011). Hasil hidrolisis berupa D-glukosa, D-galaktosa dan D-mannosa siap difermentasi menggunakan mikrobia strain *Saccharomyces*. Metode hidrolisis secara umum meliputi metode fisik, kimiawi dan biologi (Joshi dkk., 2011).

Metode kimiawi merupakan metode yang paling sering digunakan untuk proses sakarifikasi karena proses pemecahan yang efisien dan tidak memerlukan waktu yang lama. Metode ini pada umumnya menggunakan asam organik kuat atau lemah serta menggunakan larutan basa. Kelemahan dari metode ini adalah residu sisa sakarifikasi seperti HCl, H₂SO₄, NaOH yang bersifat korosif serta sulit dilakukan pemisahan

produk. Adapun kelebihanannya adalah metode ini cukup menjanjikan karena dapat memberikan hasil pemecahan hingga 60% dan cepat dilakukan (<1 jam). Pada umumnya, penggunaan bahan kimia untuk proses sakarifikasi digunakan bersamaan dengan metode fisik berupa panas (Joshi dkk, 2011).

Metode fisik pada umumnya menggunakan bantuan panas untuk memecahkan komponen lignoselulosa dalam suatu bahan. Contoh-contoh metode fisik menurut Darwin dkk. (2016) antara lain pengeringan, pengukusan, pemotongan, pembuatan *pellet*, penggilingan dan perendaman. Menurut Darwin dkk. (2016), metode fisik seperti *thermal pretreatment* merupakan metode yang cukup diandalkan untuk memecah kandungan lignoselulosa dalam suatu bahan. Keuntungan metode ini adalah tidak adanya bahan kimia tambahan yang diperlukan sehingga metode ini cukup ekonomis.

Thermal pretreatment dengan air panas mampu mengubah struktur fisik dari suatu bahan serta memecahkan senyawa kristal yang ada dalam suatu sampel sehingga dapat mengoptimalkan proses hidrolisis. Suhu pemanasan di atas 90°C mampu memecahkan struktur kristal yang ada dalam suatu senyawa sedangkan semakin lama waktu pemanasan (> 1 jam) maka semakin banyak struktur kristal yang terhidrolisis (Darwin dkk, 2016).

Selain metode *thermal pretreatment*, pengecilan ukuran dapat membantu sakarifikasi lignoselulosa dalam suatu bahan. Menurut Darwin dkk. (2016), pengecilan ukuran secara mekanis mampu meningkatkan proses biodegradasi oleh

mikrobia. Hal itu terjadi karena terjadi sakarifikasi dinding sel sehingga komponen-komponen organik di dalamnya lebih mudah diuraikan.

Metode biologis meliputi metode pemecahan dengan enzim secara langsung atau tidak langsung. Metode pemecahan secara langsung pada umumnya menggunakan enzim endoglukanase, eksoglukanase dan selubiasase (Joshi dkk, 2011). Kelemahan metode enzimatik secara langsung adalah enzim yang digunakan cukup mahal yaitu berkisar antara 350 ribu rupiah per gram namun kelebihan adalah pemecahannya cukup efisien serta cepat (2-3 jam). Ada pun faktor-faktor yang berpengaruh pada hasil pemecahan secara enzimatik adalah sumber enzim serta konsentrasi enzim yang digunakan. Konsentrasi enzim yang optimum untuk pemecahan pada umumnya berkisar dari 10-60 FPU/gram (Joshi dkk, 2011).

Metode pemecahan dengan enzim secara tidak langsung menggunakan mikrobia atau organisme penghasil enzim. Enzim tersebut biasanya dihasilkan seiring dengan pertumbuhan organisme tersebut. Organisme penghasil enzim yang sering digunakan adalah fungi dan beberapa jenis bakteri penghasil enzim selulase. Pada umumnya semakin lama waktu inkubasi maka enzim yang dihasilkan semakin banyak sehingga mampu menghidrolisis lignoselulosa lebih efisien (Joshi dkk, 2011).

Metode biologi dengan menggunakan jamur *Pleurotus flabelatus* akan memecah selulosa dan lignin limbah jagung. Jamur *Pleurotus flaberatus* merupakan jamur pembusuk putih yang bekerja dengan cara menghasilkan enzim pemecah selulosa dan lignin. Selain *Pleurotus flabelatus*, *Trichoderma viridae* merupakan organisme penghasil enzim selulase untuk menurunkan kadar selulosa. Metode lain yang dapat

digunakan adalah penggunaan asam sulfat untuk memecahkan lignin dan selulosa (Bunyamin dkk, 2013).

G. Kultur Campuran *Effective Microorganism* EM4

EM4 atau *effective microorganism* merupakan kultur campuran berbagai macam mikrobia yang pada umumnya digunakan dalam usaha pengolahan pertanian untuk mengurangi dampak buruk pada lingkungan akibat penggunaan pupuk kimia berlebihan. EM4 diketahui dapat meningkatkan kualitas pakan ternak serta mampu meningkatkan kesuburan tanah melalui pemberian kompos yang telah ditambahkan EM4 (Syafuruddin dan Safrizal, 2013). Menurut BPTP Kalimantan Tengah (2013), kompos yang diberi penambahan EM4 dinamakan 'bokashi' atau bahan organik kaya akan sumber kehidupan. Keunggulan bokashi dari kompos biasa adalah dapat digunakan dalam waktu yang relatif singkat (7-14 hari setelah pemrosesan), tidak panas, tidak berbau busuk, tidak mengandung hama ataupun penyakit serta tidak membahayakan pertumbuhan atau produksi tanaman.

Menurut Tifani dkk. (2010), EM4 terdiri dari kultur mikrobia hidup yang efektif untuk meningkatkan transformasi kimia dalam proses dekomposisi, menghidrolisis polisakarida menjadi monomernya serta merangsang pelapukan sisa-sisa tanaman. Mikrobia yang terdapat dalam EM4 bersifat fermentasi dan sintesis, terdiri dari *Actinomycetes*, *Lactobacillus* sp., jamur pengurai selulosa, bakteri fotosintetik *Streptomyces* sp., dan ragi. Bakteri penghasil enzim selulase yang terdapat di dalam kultur EM4 adalah *Acetobacter*, *Bacillus*, fungi seperti *Aspergillus*, *Penicillium*,

Trichoderma, dan *Cladosporium*. Penambahan EM4 sebanyak 10% (v/b) pada substrat mampu menurunkan kadar serat bahan, meningkatkan daya cerna dan kandungan protein bahan pada pakan (Tifani dkk, 2010).

EM4 dalam pengolahan limbah mampu meningkatkan dekomposisi limbah dan sampah organik, meningkatkan ketersediaan fungsi tanaman dan menekan aktivitas serangga hama dan mikrobia patogen. Keberadaan mikrobia penghasil enzim selulase mampu menghidrolisis selulosa yang terdapat dalam limbah kelobot jagung. Hal itu menyebabkan pelunakan pada struktur kelobot jagung (Tifani dkk, 2010).

Faktor-faktor yang memengaruhi fermentasi oleh EM4 antara lain yaitu pH, suhu, waktu, kandungan oksigen dan ketersediaan mikrobia. Campuran mikrobia pada EM4 menyebabkan terjadinya variasi pH yang memengaruhi waktu fermentasi. Semakin lama waktu fermentasi maka kadar air bahan akan semakin menurun sehingga meningkatkan kandungan serat kasar. pH yang terlalu tinggi atau rendah menyebabkan mikrobia dalam EM4 tidak mampu bekerja secara optimal (Tifani dkk, 2010).

Menurut Tifani dkk. (2010), pH terbaik untuk fermentasi pakan oleh EM4 berada pada pH awal 6 dan waktu fermentasi terbaik merupakan waktu 12 jam dengan parameter kadar serat kasar, kadar air, kadar protein kasar dan rendemen. Perlakuan 24 jam menurunkan kadar serat kasar lebih banyak dibandingkan dengan perlakuan 12 jam. Akan tetapi perlakuan 48 jam tidak mampu menurunkan kadar serat kasar lebih lagi karena waktu fermentasi yang terlalu lama dapat menurunkan kadar air sehingga menaikkan kadar serat kasar.

H. Sifat dan Karakteristik Lignoselulosa yaitu Selulosa, Hemiselulosa dan Lignin

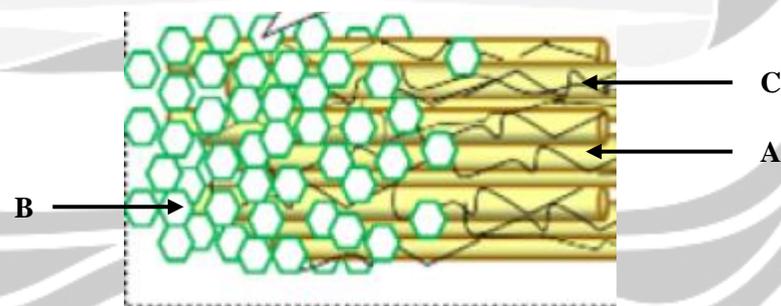
Lignoselulosa merupakan biomassa yang berasal dari tanaman dengan komponen utama berupa lignin, selulosa dan hemiselulosa. Lignoselulosa tersedia secara melimpah dalam tanaman sehingga terkandung cukup banyak pada limbah pertanian, perkebunan dan kehutanan. Bahan ini berpotensi sebagai salah satu sumber energi setelah melalui proses konversi. Lignoselulosa tersusun atas 30-50% selulosa, 15-35% hemiselulosa dan 13-30% lignin. Kandungan lignoselulosa dalam suatu bahan dapat dianalisis secara kuantitatif melalui berbagai metode seperti metode Cheeson dan Klason (Wardani dan Kusumawardini, 2015; Wiratmaja dkk, 2011).

Selulosa merupakan komponen utama dalam lignoselulosa yang menyusun bagian kayu dalam bentuk mikrofibril. Selulosa merupakan homopolisakarida yang tersusun dari unit β -D-glukopiranosida berulang. Derajat polimerisasi dan kekrystalan dari selulosa bervariasi antar spesies. Perbedaan tersebut menyebabkan pembuatan standar utama untuk memecahkan selulosa sulit dibuat (Joshi dkk, 2011).

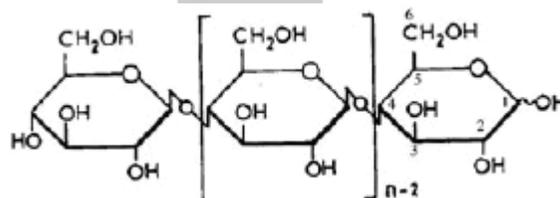
Menurut Fachry dkk, (2013), selulosa murni $(C_6H_{10}O_5)_{87}$ mengandung 44,4% C, 6,2% H dan 49,3% O. Selulosa terdiri dari molekul glukosa yang saling tersambung menjadi molekul besar dan panjang yang membentuk rantai dengan panjang molekul sebesar 500 nm. Struktur selulosa berkrystal dan dikelilingi oleh lignin dan hemiselulosa yang dapat dilihat pada Gambar 3a. Selulosa bersifat tidak larut air dan tidak dapat dicerna oleh tubuh manusia namun larut dalam larutan asam. Semakin panjang suatu rangkaian selulosa, maka rangkaian selulosa tersebut memiliki serat

yang lebih kuat dan lebih tahan terhadap pengaruh bahan kimia, cahaya dan mikroorganisme (Putera, 2012).

Kayu-kayuan terdiri dari 50% selulosa, daun kering 10-20% selulosa dan batang 90% selulosa sedangkan kelobot jagung sendiri terdiri dari 36,81% selulosa. Ketersediaan selulosa dalam jumlah besar akan membentuk serat yang kuat, tidak larut dalam air dan pelarut organik serta berwarna putih. Pada umumnya selulosa merupakan bahan dasar bagi industri kertas dan sutra tiruan (Putera, 2012). Selulosa yang terhidrolisis sempurna akan terpecah menjadi monomernya yaitu glukosa sedangkan proses hidrolisis tidak sempurna maka akan terbentuk disakarida selubiosa (Wiratmaja dkk, 2011). Menurut Putera (2012), struktur selulosa dapat dilihat pada Gambar 3b.



Gambar 3b. Struktur Selulosa dan Lignin dalam Sel (Sumber: Putera, 2012)
Keterangan: Selulosa (A) dikelilingi oleh lignin (B) dan hemiselulosa (C)



Gambar 3b. Struktur Selulosa (Sumber: Putera, 2012)
Keterangan: Rangkaian glukosa tunggal akan membentuk rangkaian selulosa hingga mencapai panjang 500 nm (Putera, 2012)

Hemiselulosa merupakan polisakarida dengan sifat larut dalam alkali, mudah menyerap air, bersifat plastis dan memiliki permukaan kontak antarmolekul yang lebih luas dibandingkan dengan selulosa. Polimer hemiselulosa berbentuk tidak lurus namun merupakan polimer bercabang dan tidak berbentuk kristal. Hemiselulosa bersifat lebih mudah larut dalam larutan alkali namun sukar larut dalam larutan asam. Hemiselulosa lebih mudah mengalami reaksi oksidasi dan degradasi dibandingkan dengan selulosa karena rantai molekul yang lebih pendek dan tidak bercabang (Putera, 2012).

Rantai molekul hemiselulosa lebih pendek dibandingkan dengan selulosa dan terdiri dari satu monomer (homopolimer) atau dua jenis monomer (heteropolimer) seperti glukomannan. Berbeda dengan selulosa, hemiselulosa terdiri dari berbagai macam komponen gula. Komponen gula yang terkandung dalam hemiselulosa antara lain adalah D-xilosa, pentose dan heksosa lain (Winarno, 1997; Wiratmaja dkk, 2011). Komponen-komponen ini dapat langsung dikonversi menjadi alkohol melalui jalur *Embden-Meyerhorf-Parnas*. Adapun kelobot jagung mengandung 27,01% hemiselulosa (Purwono dan Hartono, 2005).

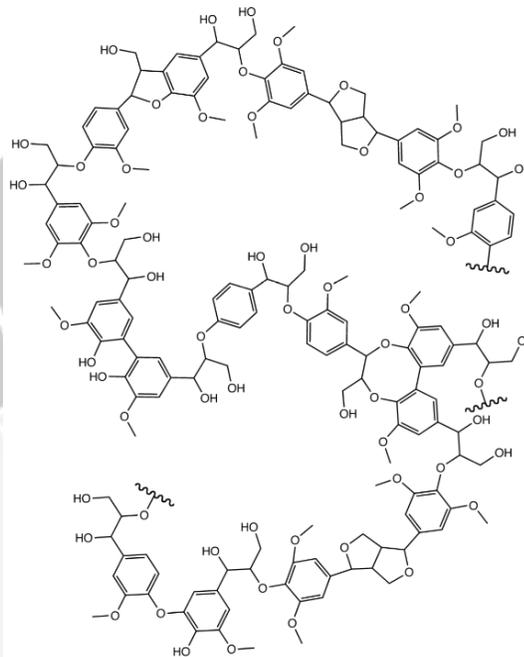
Lignin merupakan senyawa yang bersifat keras dalam lignoselulosa yang memberikan kekerasan pada dinding sel yang terdapat di antara sel dan di dalam dinding sel serta bersifat melingkupi selulosa. Lignin merupakan senyawa kompleks berupa polimer fenil-pronana (*p-coumaryl*, *conferyl* dan *sinapyl alcohol*) yang bertindak sebagai agen pekat dan memperkuat struktur dan penghalang untuk serangan enzimatik. Senyawa ini berperan sebagai resistansi dalam serangan mikrobia

dan stress oksidatif. Sifat-sifat lignin antara lain adalah kedap air, kedap cahaya dan tidak berpori sehingga sulit dipecah oleh mikrobia (Joshi dkk, 2011).

Struktur dasar lignin merupakan polimer tiga dimensi yang terdiri dari unit fenil propane yang terikat oleh ikatan eter (C-O-C) dan ikatan karbon (C-C). Lignin dapat terpecah dari selulosa pada kondisi suhu tinggi (180°C) sedangkan pada kondisi asam lignin akan terkondensasi dan larut pada pelarutnya lalu mengendap. Faktor-faktor yang mempengaruhi kelarutan lignin adalah suhu, tekanan dan konsentrasi pelarut (Putera, 2012).

Komposisi lignin dalam tumbuhan berbeda tergantung jenisnya sebagai contoh lignin yang terkandung dalam kelobot jagung sebesar 15,7% lignin. Lignin tersusun atas jaringan polimer fenolik yang melekatkan serat selulosa dan hemiselulosa. Struktur kimia lignin bereaksi dalam suhu tinggi yang menyebabkan terpecahnya lignin dan terpisah dari selulosa (Wiratmaja dkk, 2011).

Kandungan pada lignin tanpa pemecahan dapat menghalangi biokonversi selulosa menjadi etanol karena fungsinya yaitu melingkupi selulosa (Wiratmaja dkk, 2011). Jaringan polimer fenolik tersebut perlu melalui pemecahan sebelum mampu digunakan oleh mikrobia seperti *Saccharomyces* sp. Proses pemecahan lignin dapat dilakukan dengan bantuan enzim dan pemanasan. Suhu 100-180°C dapat memecahkan lignin menjadi monomernya. Setelah pemecahan, monomer lignin dikonversi menjadi etanol melalui jalur *Embden-Meyerhorf-Parnas* (Sebayang, 2006). Struktur kimia lignin dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Struktur Dasar Lignin (Sumber: Weng dan Chapple, 2010)

Keterangan: Lignin tersusun dari rangkaian tiga dimensi polimer fenil-pronana (*p-coumaryl*, *coniferyl* dan *sinapyl alcohol*) yang terikat oleh ikatan eter (C-O-C) dan ikatan karbon (C-C) (Weng dan Chapple, 2010)

I. Karakteristik dan Pengukuran Kadar Gula Reduksi

Gula reduksi merupakan gula yang memiliki gugus karbonil bebas dan dapat mereduksi ion kupri. Contoh gula reduksi adalah glukosa dan fruktosa. Sukrosa bukan merupakan gula reduksi karena sukrosa tidak memiliki gugus karbonil bebas (Sumardjo, 2009). Analisis gula reduksi dilakukan dengan menggunakan reaksi enzimatik dari ikatan glikosidik di antara dua jenis karbohidrat atau antara karbohidrat dengan non karbohidrat. Metode umum yang digunakan untuk analisis gula reduksi antara lain menggunakan uji Nelson Somogy dan uji dinitrosalicylic (DNS) (Gusakov dkk, 2011).

Pengukuran gula reduksi dilakukan untuk melihat konsentrasi gula reduksi dalam medium setelah inkubasi. Uji pengukuran gula reduksi bertujuan untuk menganalisis gula reduksi secara kuantitatif dalam menentukan konsentrasi suatu larutan berdasarkan absorbansinya. Uji ini menggunakan kombinasi reagen Nelson A dan Nelson B. Reagen Nelson A terbuat dari Na_2CO_3 anhidrat + Na_2SO_4 + KNa tartarat + Na bikarbonat sedangkan reagen Nelson B terbuat dari larutan $\text{CuSO}_4 + \text{H}_2\text{SO}_4$. Pengujian kadar gula reduksi menggunakan spektrofotometer untuk mengukur konsentrasi suatu larutan melalui absorbansinya dengan larutan standar berupa larutan glukosa monohidrat yang digunakan sebagai pembanding. Reagen yang digunakan merupakan reagen arsenomolybdat yang berupa larutan berwarna biru dengan waktu simpan terbatas namun bersifat beracun terhadap manusia (Suryana, 2007; Somogy, 1945).

Prinsip uji Nelson adalah gula reduksi yang dipanaskan dengan KNa tartarat akan mereduksi ion Cu_{2+} menjadi Cu_{+} sehingga terbentuk Cu_2O atau kupri oksida. Kupri oksida akan mereduksi asam molibdat menjadi kompleks yang ditandai dengan adanya warna biru. Pada uji Nelson Somogy, larutan ditambahkan reagen Nelson A (merupakan campuran larutan Na_2CO_3 anhidrat + Na_2SO_4 + KNa tartarat + Na bikarbonat) dan reagen Nelson B (merupakan campuran larutan $\text{CuSO}_4 + \text{H}_2\text{SO}_4$) dengan perbandingan 25:1 (25 Nelson A:1 Nelson B) yang bertindak sebagai oksidator terhadap gula pereduksi dan bertindak sebagai zat yang akan direduksi oleh gula pereduksi sehingga terbentuk kupri oksida yang akan menghasilkan endapan merah bata (Somogy, 1945).

J. Pengujian Kadar Etanol oleh Kromatografi Gas

Kromatografi adalah proses melewati sampel melalui suatu kolom, perbedaan kemampuan adsorpsi terhadap zat-zat yang sangat mirip mempengaruhi resolusi zat terlarut dan menghasilkan apa yang disebut kromatogram. Kromatografi merupakan prosedur pemisahan zat terlarut oleh suatu proses migrasi diferensial dinamis dalam sistem yang terdiri dari 2 fase atau lebih yang salah satu diantaranya, bergerak secara berurutan dalam arah tertentu sehingga menunjukkan perbedaan mobilitas akibat adanya perbedaan dalam adsorpsi, partisi, kelarutan, tekanan uap, ukuran molekul atau kerapatan muatan ion (Khopkar, 2003).

Teknik kromatografi biasanya digunakan untuk memisahkan campuran senyawa organik yang mudah menguap. Salah satu contoh kromatografi adalah kromatografi gas dengan pemisahan yang terjadi karena adanya pembagian fase gas sebagai fase gerak dan lapisan tipis cair yang melingkupi suatu penopang yang bersifat tidak aktif atau tidak bereaksi (Khopkar, 2003).

Kromatografi gas terdiri dari dua komponen utama yaitu kolom dan detektor. Prinsip pengerjaan kromatografi gas adalah senyawa dilewatkan melalui suatu zona reaksi dalam sistem tertutup yang berada di antara tempat injeksi sampel dan detektor. Reaksi berlangsung setelah melalui tempat injeksi sampel sedangkan sistem injeksi sampel pada umumnya menggunakan *syringe* dengan berbagai macam ukuran sesuai dengan ukuran dan jenis sampel (Basset dkk., 1994)

K. Hipotesis

Berdasarkan tinjauan pustaka, rumusan masalah dan tujuan penelitian, maka diajukan hipotesis sebagai berikut

1. Perlakuan *pretreatment* inokulum EM4 yang paling optimum dalam menghidrolisis selulosa dan lignin pada kelobot jagung adalah perlakuan waktu inkubasi 24 jam.
2. Perlakuan *pretreatment* suhu dan tekanan yang paling optimum dalam menghidrolisis selulosa dan lignin pada kelobot jagung adalah perlakuan suhu 120°C dan tekanan 1,5 atm dengan waktu pemanasan 120 menit.
3. Fermentasi hasil *pretreatment* kelobot jagung dari perlakuan *pretreatment* inokulum EM4, suhu dan tekanan mampu menghasilkan kadar etanol >1%.