

JURNAL

**PENGARUH *PRETREATMENT* INOKULUM
EM4, SUHU, WAKTU DAN TEKANAN
TERHADAP FERMENTASI KELOBOT JAGUNG (*Zea mays* L.)**

Disusun oleh:
Hauw, Angelica Raharjo
NPM: 130801422



**UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
YOGYAKARTA
2017**

**PENGARUH *PRETREATMENT* INOKULUM
EM4, SUHU, WAKTU DAN TEKANAN
TERHADAP FERMENTASI KELOBOT JAGUNG (*Zea mays* L.)**

**Pretreatment Effect with EM4 Inoculum, Temperature, and Pressure to
Corn (*Zea mays* L.) Husk Fermentation**

Hauw, Angelica Raharjo¹, Boy Rahardjo Sidharta², Sinung Pranata³
Universitas Atma Jaya Yogyakarta
Jl. Babarsari no 44 Yogyakarta
abigail.angelicaraharjo@gmail.com

Abstrak

Kelobot jagung (*Zea mays* L.) mengandung 36,81% selulosa, 15,7% lignin, 6,04% kadar abu dan 27,01% hemiselulosa sehingga berpotensi menjadi sumber energi alternatif. Penelitian tentang proses *pretreatment* kelobot jagung ini bertujuan untuk mengetahui kadar gula yang berhasil didapatkan dari pemecahan secara biologi dan fisik pada bahan dasar kelobot jagung, mengetahui waktu inkubasi EM4 dan suhu, tekanan dan waktu pemanasan yang optimum. *Pretreatment* yang dilakukan merupakan *pretreatment* mikrobiologi dan fisik. *Pretreatment* mikrobiologi menggunakan variasi waktu inkubasi EM4 yaitu 0, 12, 24 dan 48 jam dengan kontrol tanpa perlakuan sebagai pembanding sedangkan *pretreatment* fisik menggunakan variasi waktu pemanasan autoklaf dan dengan presto selama 1, 1,5 dan 2 jam. Hasil yang diperoleh dilakukan uji gula reduksi, lignin, selulosa dan selanjutnya dilakukan fermentasi oleh *Saccharomyces cerevisiae*. Hasil penelitian menunjukkan perlakuan mikrobiologi yang paling efektif adalah perlakuan inkubasi EM4 24 jam dengan kadar gula reduksi sebesar 5,8 mg/ml, selulosa 6,7% dan lignin 5,12% dengan kadar alkohol sebesar 1,234%. Hasil penelitian perlakuan fisik diperoleh pada perlakuan pemanasan pada suhu 120°C dengan presto selama 2 jam dengan kadar gula reduksi sebesar 4,18 mg/ml, selulosa 6,43% dan lignin 6,60% dengan kadar alkohol sebesar 1,194%.

Kata kunci: kelobot jagung, *pretreatment* mikrobiologi dan fisik, gula reduksi selulosa, lignin, EM4, fermentasi, etanol

Abstract

Corn husk contain 36,81% cellulose, 15,7% lignin, 6,04% trace elements and 27,01% hemicellulose therefore it is suitable as alternative energy resource. The aim of this study was examining the glucose concentration that had been obtained from microbiology and physical pretreatment, to know the optimum incubation time of microbiology pretreatment and to know the optimum temperature, pressure and time of physical pretreatment. The main ingredients of this study were corn husk that undergo pretreatment process with effective microorganism, temperature and pressure. The microbiology pretreatment incubated with variation of 0, 12, 24 and 48 hours meanwhile the physical pretreatment used autoclave with 2 hours heating time at 121°C/1 atm pressure and pressure cooker with variation of 1, 1,5 and 2 hours heating time at 120°C/1,5 atm. The result analyzed for cellulose, lignin and glucose concentration then fermented using *Saccharomyces cerevisiae*. The experiment showed that the most effective pretreatment was incubation with EM4 for 24 hours with the result of glucose concentration 5,8 mg/ml; cellulose 6,7%, lignin 5,12% and 1,234% alcohol level. Meanwhile the heating process for 2 hours with 120°C atm and 1,5 atm proved as effective pretreatment with the result of glucose concentration 4,18 mg/ml; cellulose 6,43%, lignin 6,60 % and 1,194% alcohol level.

Keyword: corn husk, microbiology and physical pretreatment, glucose, lignin, cellulose, EM4, fermentation, ethanol

I. PENDAHULUAN

Bahan bakar fosil seperti batubara, minyak bumi dan gas alam memasok 86% sumber energi dunia. Salah satu persoalan tentang penggunaan bahan bakar fosil adalah bahan bakar fosil yang bersifat *non-renewable* serta pembakaran yang tidak efisien sehingga banyak menimbulkan masalah lingkungan seperti emisi gas rumah kaca. Oleh sebab itu saat ini upaya untuk menggantikan bahan bakar fosil dengan bahan bakar ramah lingkungan terus dilakukan (Hermiati dkk, 2010).

Salah satu bahan bakar yang saat ini diharapkan dapat mengatasi krisis bahan bakar dunia adalah bioetanol. Bioetanol dapat meningkatkan efisiensi pembakaran sehingga dapat mengurangi emisi gas rumah kaca yang diakibatkan dari pembakaran bahan bakar fosil serta bersifat *renewable* (Hermiati dkk, 2010). Kendala dari penggunaan bioetanol sebagai bahan bakar alternatif adalah biaya produksi yang tinggi serta hasil produksi (5-11%) yang tidak sebanding dengan biaya yang dikeluarkan. Proses produksi bioetanol

seperti proses *pretreatment*, hidrolisis, fermentasi dan destilasi menyebabkan naiknya biaya produksi etanol (Muslihah dan Trihadiningrum, 2013).

Menurut Darwin dkk. (2016), tanaman jagung terutama kelobot jagung mengandung karbohidrat >30% sehingga ideal untuk produksi bioetanol. Sisa pengolahan pertanian jagung mencapai 2,29 juta ton/tahun di Indonesia (Muslihah dan Trihadiningrum, 2013). Pemanfaatan sisa pertanian jagung seperti daun, kelobot, tongkol ataupun sisa batang jagung saat ini sebatas digunakan sebagai pakan ternak, bahan bakar sederhana dan kerajinan tangan (Darwin dkk, 2016).

Pemilihan kelobot jagung dilakukan karena jumlahnya yang mudah didapat serta nilai ekonomis yang rendah. Komposisi lignoselulosa dalam kelobot jagung berupa 27% hemiselulosa, 15% lignin dan 35-44% selulosa sehingga lebih tinggi dibandingkan dengan kandungan dalam tongkol jagung yang meliputi 15% lignin, 30% hemiselulosa dan 26% selulosa (Prasetyawati, 2015). Akan tetapi bahan utama dari proses produksi bioetanol merupakan gula sehingga diperlukan proses *pretreatment* untuk melakukan pemecahan komponen lignoselulosa menjadi gula sederhana karena kandungan gula dalam kelobot jagung tidak ada.

Metode *pretreatment* yang umum ditemui adalah metode kimiawi, biologis dan fisik. Metode kimiawi meliputi penggunaan asam dan basa serta larutan organik maupun anorganik, metode fisik meliputi penggunaan panas serta pengecilan ukuran sedangkan metode biologis menitikberatkan pada peran enzim baik itu penggunaan enzim secara langsung atau tidak langsung melalui penggunaan organisme penghasil enzim (Darwin dkk, 2016).

EM4 merupakan kultur campuran dari berbagai macam mikrobia yang berfungsi untuk meningkatkan transformasi kimia dalam proses dekomposisi, menghidrolisis polisakarida menjadi monomernya serta merangsang pelapukan sisa-sisa tanaman. Penggunaan EM4 dalam proses *pretreatment* akan meningkatkan kadar gula dalam sampel sekaligus meminimalisir kadar lignoselulosa dalam sampel. EM4 akan bekerja dengan menghasilkan enzim pengurai selulosa dan lignin sehingga terpecah menjadi gula. Kelebihan dari

penggunaan EM4 untuk proses *pretreatment* dibandingkan dengan metode biologi lainnya adalah mudah didapat serta harga yang terjangkau dan proses pemakaian yang mudah (Tifani dkk, 2010).

Penelitian ini menggunakan EM4 dengan variasi waktu inkubasi 0, 12, 24 dan 48 jam serta perlakuan suhu tinggi dan tekanan dengan variasi waktu pemanasan 60, 90 dan 120 menit dengan variasi alat presto dan autoklaf untuk *pretreatment* kelobot jagung. Melalui pengujian ini dapat diketahui kadar lignin dan selulosa yang berhasil terhidrolisis serta kadar gula yang dihasilkan. Proses *pretreatment* dilanjutkan dengan proses fermentasi untuk mengetahui kadar etanol yang berhasil diperoleh dari fermentasi gula hasil *pretreatment*.

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui kadar gula yang berhasil didapatkan dari pemecahan oleh *effective micrroganism* (EM4) dan pemanasan pada bahan dasar kelobot jagung (*Zea mays*), mengetahui waktu inkubasi *effective micrroganism* (EM4) yang optimum untuk memperoleh kadar gula yang paling besar dari *pretreatment* kelobot jagung dan mengetahui suhu, tekanan dan waktu pemanasan yang optimum untuk memperoleh kadar gula yang paling besar dari *pretreatment* kelobot jagung.

II. METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah erlenmeyer, kantong plastik, timbangan analitik, lampu spiritus, label, oven, tabung reaksi, kertas saring, corong, loyang, gelas beker, gelas ukur, autoklaf, ose, pipet ukur, pro pipet, spektrofotometer, inkubator shaker, alkoholmeter, *Laminair Air Flow*, blender, selang, panci presto, *microwave*, sentrifugasi, mikroskop, plastik wrap, *alluminium foil*, *vortex*, karet gelang, panci, toples plastik, botol kaca, silikon, *waterbath*, timbangan, tabung falkon, gelas pengaduk, penjepit, rak tabung reaksi, kuvet, petri, gelas benda, gelas penutup, gunting, pisau, alas kasa, korek api, tissue, sarung tangan, masker, karet gelang, kapas, kertas payung, kompor Rinnai, dan kamera.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kelobot jagung sebanyak 5 kilogram, *Saccharomyces cerevisiae*, medium PDA (*potato dextrose agar*), kentang, *dextrose*, asam sulfat 72%, aquades, asam sulfat 1 N, etanol 70%, reagen Nelson A, reagen Nelson B, *phenol red*, air panas, glukosa monohidrat, sukrosa monohidrat, laktosa monohidrat, larutan *methylene blue*, larutan *Zienhl Neelsen* (Zn) A, larutan Zn B, larutan Zn C, reagen arsenomolibdat, EM4 pertanian, dan *silica gel*.

Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan variasi waktu inkubasi 0, 12, 24 dan 48 jam dan variasi suhu, waktu dan tekanan pemanasan 121°C pada 1 atm selama 2 jam, 120°C pada 1,5 atm selama 1 jam, 120°C pada 1,5 atm selama 1,5 jam, 120°C pada 1,5 atm selama 2 jam. Semua percobaan dilakukan pengulangan sebanyak 5 kali.

Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian meliputi preparasi sampel, uji kemurnian *Saccharomyces cerevisiae*, uji kadar selulosa, uji kadar lignin, uji kadar gula reduksi, hidrolisis mikrobiologi, hidrolisis fisik, fermentasi etanol, pengukuran kadar alkohol dengan alkoholmeter dan kromatografi gas. Selanjutnya dilakukan analisis data menggunakan ANAVA lalu untuk mengetahui letak beda nyata antarperlakuan digunakan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) dengan tingkat kepercayaan 95%.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hidrolisis Mikrobiologi dan Fisik

Penelitian ini menggunakan dua perlakuan untuk melakukan hidrolisis lignin dan selulosa pada sampel kelobot jagung. Menurut Darwin dkk. (2016), pengecilan ukuran secara mekanis akan meningkatkan proses biodegradasi oleh mikrobia karena terjadinya sakarifikasi dinding sel sehingga komponen-komponen organik di dalam sampel akan lebih mudah terurai.

Perlakuan yang pertama merupakan hidrolisis dengan kultur campuran mikrobia EM4 dengan variasi waktu inkubasi. Menurut Tifani dkk (2010), enzim yang dihasilkan oleh mikrobia dalam EM4 mampu menghidrolisis polisakarida, menurunkan kadar serat bahan serta merangsang pelapukan sisa tanaman. Perlakuan hidrolisis yang kedua merupakan perlakuan pemanasan dengan autoklaf digunakan sebagai pembanding karena suhu dan tekanan antara panci presto dan autoklaf tidak berbeda jauh yaitu suhu 121°C dan tekanan 1 atm pada autoklaf sedangkan panci presto menggunakan suhu 120°C dengan tekanan 1,5 atm (Arista, 2011). Hasil hidrolisis diambil sebagian untuk dilakukan analisis selulosa, lignin dan glukosa serta sisa hasil hidrolisis dilakukan fermentasi.

Analisis kadar selulosa dan lignin penting dilakukan karena selulosa dan lignin lebih sulit dilakukan degradasi dan lebih mudah larut dibandingkan dengan hemiselulosa. Hemiselulosa lebih mudah terdegradasi karena strukturnya yang bercabang dengan rantai molekul yang lebih pendek. Lignin dan selulosa yang lebih sulit dilakukan degradasi dapat menjadi faktor penghambat pada proses fermentasi sehingga perlu dipantau kadarnya (Agustini dan Efiyanti, 2015; Putera, 2012).

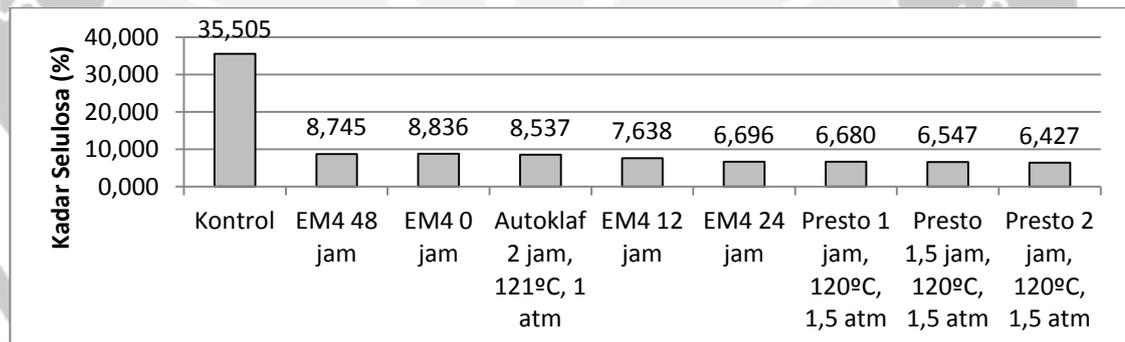
1. Analisis Kadar Selulosa

Analisis kadar selulosa dilakukan sebelum dan sesudah perlakuan untuk melihat besarnya pengaruh perlakuan terhadap kadar selulosa sampel. Kadar selulosa dalam sampel erat hubungannya dengan kadar lignin serta kadar glukosa. Semakin banyak selulosa yang terhidrolisis maka akan semakin tinggi kadar glukosa yang terdeteksi pada sampel. Semakin banyak lignin yang terhidrolisis maka selulosa yang mengalami hidrolisis semakin banyak.

Mekanisme hidrolisis pada perlakuan inkubasi EM4, selulosa dihidrolisis melalui kerja enzim-enzim yang dihasilkan oleh mikrobia di dalam EM4 seperti enzim selulase (Joshi dkk, 2011). Aktifitas enzim yang dihasilkan dari *Acetobacter*, *Bacillus*, *Lactobacillus*, fungi seperti *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, dan *Cladosporium* dalam kultur EM4 akan menghidrolisis

selulosa dalam sampel dengan memutus ikatan pada selulosa hingga menjadi glukosa (Rahmadini, 2012). Metode hidrolisis EM4 tidak menghasilkan produk samping berupa mikrobia maupun bahan berbahaya lainnya karena EM4 yang langsung dilakukan sterilisasi sehingga tidak ada mikrobia yang terlepas ke lingkungan.

Mekanisme pemecahan yang terjadi adalah pemberian tekanan membantu menaikkan suhu dalam waktu singkat sehingga membantu pemecahan selulosa lebih singkat dibandingkan dengan suhu dan waktu yang sama namun tekanan yang lebih kecil. Perlakuan pemanasan akan memecah ikatan-ikatan yang ada pada selulosa termasuk ikatan glikosidik yang menghubungkan antarmonomer selulosa sehingga selulosa akan terpecah menjadi glukosa (Darwin dkk, 2016). Perbedaan kadar selulosa antarperlakuan terlihat pada Gambar 1 tentang kadar selulosa sampel.



Gambar 1. Kadar Selulosa dengan Variasi Waktu Inkubasi EM4 dan Variasi Suhu, Waktu dan Tekanan Pemanasan

Penurunan yang terjadi menunjukkan bahwa semakin lama waktu inkubasi terutama pada jam ke-24 dan semakin lama waktu pemanasan maka kadar selulosa yang ada semakin menurun. Hasil yang didapat yaitu waktu optimum dalam inkubasi oleh EM4 yang dilihat dari kadar selulosa terendah adalah 24 jam.

Penurunan kadar selulosa dalam sampel pada perlakuan EM4 disebabkan karena adanya aktifitas enzim selulase dari kultur EM4. Semakin banyak enzim selulase yang berikatan dengan substrat berupa selulosa yang terdapat dalam sampel, maka semakin banyak kadar selulosa yang menurun. Aktifnya

enzim selulase juga diikuti dengan aktifnya enzim lain seperti enzim selubiase dan β -glukosidase yang bekerja secara sinergi dengan enzim selulase untuk memecah selulosa dalam sampel (Rahmadini, 2012).

Selain itu, penurunan kadar selulosa pada perlakuan presto disebabkan oleh pecahnya ikatan glikosidik pada selulosa dalam sampel akibat suhu tinggi. Kenaikan suhu yang terjadi menyebabkan terpecahnya ikatan glikosidik sehingga selulosa dalam sampel terhidrolisis menjadi glukosa. Semakin banyak selulosa yang terhidrolisis maka glukosa yang dihasilkan akan semakin meningkat sehingga dapat dimanfaatkan oleh *Saccharomyces* pada tahap fermentasi (Darwin, 2016).

Degradasi selulosa oleh selulase dipengaruhi oleh faktor pH, suhu, ion logam, dan zat penghambat. Zat penghambat yang dapat menghambat kerja selulase adalah glukosa atau monomer dari selulosa itu sendiri. Hal ini dikarenakan tingginya kadar glukosa dalam medium menyebabkan mikrobia akan fokus ke perbanyakan sel sehingga secara otomatis mengurangi produksi enzim selulase yang dibutuhkan untuk merombak substrat (Rahmadini, 2012). Hal ini menjelaskan pada inkubasi EM4 selama 48 jam, hasil hidrolisis selulosa menjadi glukosa lebih rendah dibandingkan perlakuan 24 jam karena konsentrasi glukosa sebagai zat penghambat semakin tinggi sehingga menurunkan aktivitas enzim selulase (Tifani dkk, 2010; Rahmadini, 2012). Menurut Orchidea dkk (2010), glukosa dapat menjadi zat penghambat karena tingginya kadar glukosa dalam medium menyebabkan mikrobia akan fokus ke perbanyakan sel dan mengurangi produksi enzim selulase. Penyebab lain dari adanya kenaikan kadar selulosa yang terjadi pada jam ke-48 adalah menurunnya kemampuan fermentasi pada jam ke-48 yang disebabkan karena turunnya kemampuan bahan dalam mempertahankan air sehingga kadar air bahan menurun (Tifani dkk, 2010).

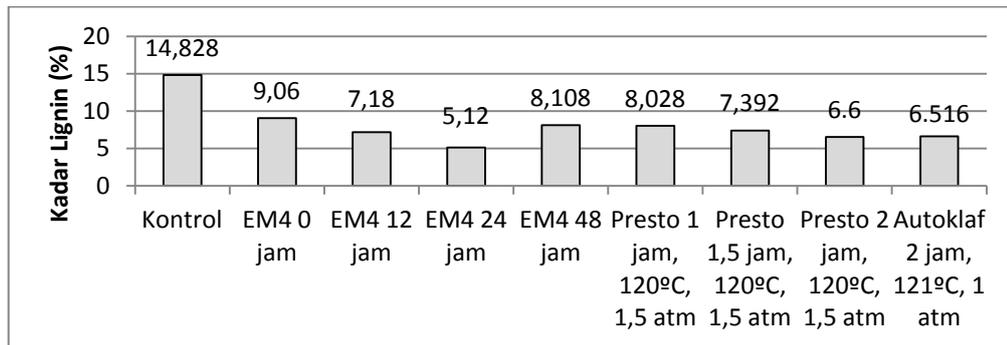
Kemampuan penurunan selulosa pada perlakuan autoklaf yang menggunakan suhu 121°C tekanan 1 atm selama 2 jam lebih kecil jika dibandingkan dengan perlakuan presto pada suhu 120°C selama 2 jam pada tekanan 1,5 atm yang dilihat dari banyaknya selulosa yang terhidrolisis. Hal

itu terjadi karena metode perlakuan dengan presto menggunakan air sebagai pelarut sehingga selulosa yang terhidrolisis ikut terlarut dalam air yang kemudian dibuang (Orchidea dkk, 2010). Metode hidrolisis dengan autoklaf dilakukan dengan cara membungkus sampel dalam kertas payung lalu diletakkan ke dalam gelas beker. Metode hidrolisis tersebut menggunakan metode panas basah dengan uap sehingga selulosa tidak sepenuhnya terlarut dalam air (Orchidea dkk, 2010). Tekanan dalam autoklaf (1 atm) sekalipun lebih kecil daripada panci presto (1,5 atm) tidak memberikan banyak perbedaan karena kedua perlakuan tersebut bukan kondisi optimal untuk hidrolisis (Agustini dan Efiyanti, 2015). Menurut Agustini dan Efiyanti (2015), kondisi optimal untuk hidrolisis adalah 160-260°C pada tekanan 6,8-47,7 atm atau 270°C selama 1 menit atau 190°C selama 10 menit.

2. Analisis Kadar Lignin

Analisis kadar lignin dilakukan sebelum dan sesudah perlakuan untuk melihat besarnya pengaruh perlakuan terhadap sampel. Struktur lignin bersifat melingkupi selulosa dalam sel tumbuhan sehingga mekanisme degradasi selulosa dan lignin dimulai dengan pemisahan lignin dengan selulosa dan hemiselulosa yang terjadi pada suhu >100°C. Setelah terjadi pemisahan, proses degradasi lignin akan berjalan seiring dengan proses degradasi selulosa namun tanpa terpisahnya lignin dengan selulosa maka selulosa tidak akan terhidrolisis (Putera, 2012).

Menurut Binta dkk. (2013), mikrobia yang berperan dalam proses degradasi lignin yaitu *Actinomycetes* dan *Streptomyces* yang terdapat dalam kultur campuran EM4. Mekanisme degradasi lignin oleh mikrobia melalui penggunaan polisakarida dari lignin sebagai sumber karbon dan sumber energi. Peran enzim peroksidase dan xylanase akan memecah ikatan lignin sehingga terdegradasi menjadi gula (Binta dkk, 2013). Perbedaan kadar lignin antarperlakuan terlihat pada Gambar 2.



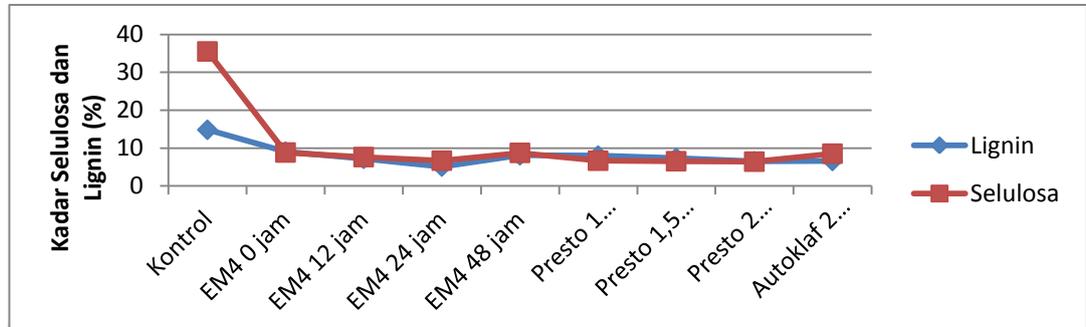
Gambar 2. Kadar Lignin Variasi Waktu Inkubasi EM4 dan Variasi Suhu, Waktu dan Tekanan Pemanasan

Tren yang dilihat pada Gambar 11 adalah kadar lignin semakin menurun seiring dengan lamanya waktu inkubasi dan semakin lama waktu pemanasan. Penurunan yang terjadi disebabkan karena reaksi enzimatik dari perlakuan inkubasi dan pemecahan struktur lignin dari perlakuan pemanasan sehingga semakin lama waktu inkubasi maka semakin banyak lignin yang terhidrolisis. Pada jam ke-24 proses hidrolisis berjalan optimum dan pada jam ke-48 terjadi kenaikan kadar lignin karena perkembangan kapang *Aspergillus* yang menyumbang lignin melalui dinding sel dan miseliumnya (Tifani dkk, 2010).

Menurut Tifani dkk (2010), menurunnya kemampuan fermentasi pada jam ke-48 yang disebabkan karena turunnya kadar air yang menghambat proses degradasi lignin oleh mikrobia sehingga kadar lignin tidak mampu menurun sebaik perlakuan inkubasi jam ke-24. Turunnya kadar air menyebabkan mikrobia mulai memanfaatkan hasil fermentasi berupa gula untuk memperbanyak diri sehingga proses fermentasi menurun. Hal tersebut juga menyebabkan kadar serat bahan meningkat menurut Tifani dkk (2010) akibat adanya miselium yang tumbuh dari kapang di EM4.

Kadar lignin dan selulosa pada perlakuan pemanasan tidak mampu menurun sebaik perlakuan inkubasi EM4. Hal itu dikarenakan mekanisme pemecahan lignin terpecah sempurna pada suhu 180°C oleh karena itu pada suhu 120-121°C lignin mampu terpisah dari selulosa namun tidak terpecah sempurna (Putera, 2012). Mekanisme pada perlakuan inkubasi dengan EM4 secara tidak langsung menggunakan enzim yang dihasilkan oleh mikrobia

sehingga perlakuan inkubasi dengan EM4 mampu menurunkan kadar lignin dan selulosa lebih baik dibandingkan perlakuan pemanasan (Putera, 2012).

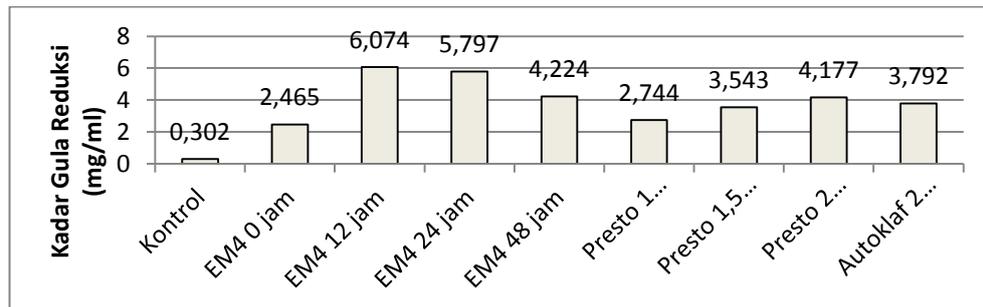


Gambar 12. Grafik Hubungan Kadar Selulosa dan Lignin

Suhu, tekanan, waktu dan konsentrasi pelarut merupakan faktor yang mempengaruhi reaksi pelarutan lignin dan selulosa. Pada perlakuan pemanasan menggunakan suhu 120-121°C sehingga lignin belum terpecah sempurna karena lignin akan terdegradasi sempurna pada suhu 180°C menurut penemuan oleh Putera (2012). Pada perlakuan EM4 kerja enzim peroksidase dan xylanase yang memecah ikatan C α dan C β pada lignin tidak dapat memecah lignin secara sempurna dan menyebabkan kadar lignin yang ditunjukkan oleh Gambar 3 masih cukup tinggi (7-8%). Seharusnya diperlukan perlakuan awal berupa penambahan NH₄OH. Kelebihan dari NH₄OH adalah dapat mempercepat kelarutan lignin dan menjadi sumber N tambahan untuk mikrobial (Putera, 2012; Wiranto, 1997).

3. Analisis Kadar Gula Reduksi

Hasil yang diperoleh dari pengujian gula reduksi dilakukan dianalisis variasi (ANOVA) dengan SPSS dengan tingkat kepercayaan 95%. Hasil yang didapat adalah terdapat beda nyata dari variasi perlakuan yang ada baik perlakuan fisik maupun mikrobiologi. Perbedaan kadar gula reduksi antarperlakuan terlihat pada Gambar 4 tentang kadar gula reduksi sampel.



Gambar 4. Kadar Gula Reduksi Variasi Waktu Inkubasi EM4 dan Variasi Suhu, Tekanan dan Waktu Pemanasan

Tren yang terlihat pada Gambar 4 adalah semakin lama waktu inkubasi serta kombinasi antara suhu, tekanan dan waktu pemanasan akan menyebabkan naiknya kadar gula reduksi. Kenaikan tersebut terjadi karena terpecahnya lignin dan selulosa menjadi glukosa sehingga kadar gula reduksi akan meningkat.

Gula merupakan hasil dari degradasi lignin dan selulosa sehingga semakin banyak lignin dan selulosa yang terpecah maka semakin banyak gula yang terkandung dalam sampel. Glukosa merupakan monomer dari selulosa dan lignin sekaligus merupakan sumber energi yang dibutuhkan oleh mikrobia dalam produksi etanol. Seiring turunnya kadar selulosa maupun lignin maka kadar glukosa dalam sampel akan meningkat seperti yang dapat dilihat pada Tabel 1 tentang hubungan antara kadar gula reduksi, selulosa dan lignin sampel (Wiratmaja dkk, 2011).

Tabel 1. Hubungan antara Kadar Gula Reduksi, Selulosa dan Lignin

Perlakuan	Kadar Gula Reduksi (mg/ml)	Selulosa (%)	Lignin (%)
Kontrol	0,304	35,505	14,828
EM4 0 jam	2,465	8,836	9,06
EM4 12 jam	6,074	7,638	7,18
EM4 24 jam	5,797	6,696	5,12
EM4 48 jam	4,224	8,745	8,108
Presto 1 jam, 120°C, 1,5 atm	2,744	6,680	8,028
Presto 1,5 jam, 120°C, 1,5 atm	3,543	6,547	7,392
Presto 2 jam, 120°C, 1,5 atm	4,177	6,427	6,60
Autoklaf 2 jam, 121°C, 1 atm	3,792	8,537	6,516

Pada Tabel 1 dapat dilihat bahwa hasil yang diperoleh dari kadar selulosa dan lignin sebanding dengan kadar gula reduksi yang dihasilkan. Akan tetapi pada perlakuan inkubasi EM4 24 jam kadar gula reduksi yang dihasilkan lebih rendah dibandingkan kadar gula reduksi pada perlakuan EM4 12 jam. Hal ini terjadi karena karena gula reduksi yang dihasilkan pada jam ke-24 terpakai oleh kultur mikrobia EM4 sehingga menurunkan kadarnya. Menurut Tifani dkk (2010) dan Madigan dkk (2012), pada jam ke-12 mikrobia dalam EM4 seperti *Aspergillus* dan *Lactobacillus* masih berada pada fase *lag* sehingga konsumsi gula reduksi lebih sedikit dibandingkan konsumsi gula reduksi pada jam ke-24 ketika mikrobia memasuki fase *log*. Berdasarkan hasil yang didapat dari analisis kadar lignin, selulosa dan gula reduksi dapat diketahui bahwa perlakuan pemanasan dengan autoklaf sama baiknya dengan perlakuan pemanasan menggunakan presto selama 2 jam sehingga proses presto dapat menggantikan penggunaan autoklaf untuk degradasi lignin dan selulosa.

Fermentasi dan Kadar Etanol Hasil Fermentasi

Tabel 2. Hasil Fermentasi Kelobot Jagung

No.	Perlakuan	Warna	Bau	Kadar Etanol	Hasil GC
1	Kontrol	Kuning tua bening	+	1%	0,804%
2	EM4 0 jam	Coklat tua bening	+++	1%	0,884%
3	EM4 12 jam	Coklat tua bening	+++	1%	0,967%
4	EM4 24 jam	Coklat tua bening	+++	1%	1,234%
5	EM4 48 jam	Coklat tua bening	++	1%	0,820%
6	Presto 1 jam, 120°C, 1,5 atm	Kuning pucat bening	+	1%	0,884%
7	Presto 1,5 jam, 120°C, 1,5 atm	Kuning pucat bening	++	1%	0,809%
8	Presto 2 jam, 120°C, 1,5 atm	Kuning pucat bening	+++	1%	1,194%
9	Autoklaf 2 jam, 121°C, 1 atm	Kuning pucat bening	+++	1%	0,836%

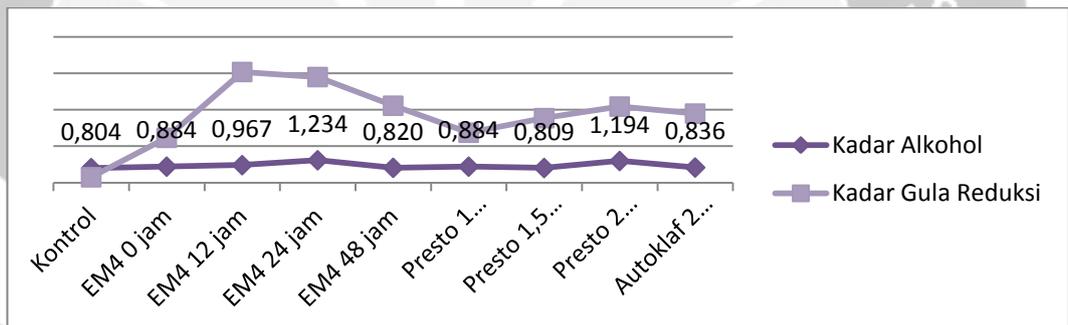
Keterangan: + = berbau etanol lemah, ++ = berbau etanol sedang, +++ = berbau etanol kuat

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada Tabel 1, kadar tertinggi etanol yang diperoleh dari perlakuan mikrobiologi adalah 1,234% yaitu perlakuan inkubasi EM4 24 jam sedangkan pada perlakuan fisik menghasilkan kadar tertinggi sebesar 1,194% pada perlakuan presto 2 jam. Perlakuan Kontrol menghasilkan kadar etanol sebesar 0,804% dengan warna larutan kuning tua bening. Pada kadar etanol yang diperoleh dari alkoholmeter, hasil yang didapat sama untuk setiap perlakuan (kadar etanol = 1%) karena alkoholmeter hanya dapat membaca kadar alkohol minimal 1%. Hasil GC 1 menunjukkan rata-rata hasil fermentasi pada semua perlakuan menghasilkan kadar etanol sebesar $\pm 1\%$.

Pengaruh kadar gula reduksi terhadap kadar etanol yang dihasilkan dapat dilihat pada Gambar 5. Tren yang dapat dilihat pada Gambar 5 adalah semakin tinggi kadar gula maka akan semakin tinggi kadar etanol yang dihasilkan karena gula berfungsi sebagai sumber karbon utama bagi jalannya fermentasi (Najafpour dkk, 2004). Perlakuan jam ke-24 menghasilkan kadar etanol lebih tinggi daripada perlakuan jam ke-12 karena pada jam ke-24 mikrobia memasuki fase *log* sehingga produksi etanol optimum pada jam ke-24. Pada

perlakuan pemanasan 120°C pada 1,5 atm selama 1,5 dan 1 jam serta inkubasi EM4 0 jam hasil yang didapat tidak sesuai dengan temuan Najafpour dkk. (2004) karena produksi etanol yang cenderung menurun dan tidak sebanding dengan kadar gula reduksi. Hal tersebut dapat dipengaruhi oleh kadar gula dalam nutrisi yang tidak mencapai 10% karena proses pemecahan lignin yang kurang sempurna sehingga proses fermentasi tidak berjalan dengan optimum (Wignyanto dkk, 2001).

Kadar etanol yang dihasilkan pada semua perlakuan hanya mencapai 1%. Hasil tersebut sangat kecil ($\pm 1\%$) jika dibandingkan dengan penelitian sejenis seperti penelitian Muslihah dan Trihadiningrum (2013) yang mampu menghasilkan etanol sebesar 12%. Faktor yang mempengaruhi terjadi hal itu menurut Najafpour dkk. (2004) yaitu medium pertumbuhan mikrobia, jumlah mikrobia, konsentrasi gula dalam substrat dan waktu fermentasi.



Gambar 14. Hubungan antara Kadar Gula Reduksi terhadap Hasil Fermentasi

Konsentrasi gula dalam substrat yang kurang dari 10% memengaruhi kadar etanol yang dihasilkan. Hal ini dikarenakan konsentrasi gula $<10\%$ bersifat hipotonis pada mikrobia sehingga aktifitasnya terhambat untuk produksi etanol sehingga proses fermentasi tidak terjadi secara optimum (Wignyanto dkk, 2001). Selain itu kadar gula yang dihasilkan dari proses *pretreatment* sangat kecil akibat minimnya substrat yang dapat dihidrolisis melalui perlakuan *pretreatment*. Hal tersebut berpengaruh terhadap kadar etanol yang hasil fermentasi sehingga kadarnya sangat kecil. Menurut Wignyanto dkk. (2001), konsentrasi gula reduksi medium sebesar 10%

merupakan konsentrasi optimum untuk aktifitas *Saccharomyces* sehingga menghasilkan kadar etanol paling optimum. Pada konsentrasi gula reduksi kurang atau lebih dari 10%, aktifitas mikrobia akan terhambat dari hari pertama sampai terakhir sehingga berpengaruh terhadap kadar etanol yang dihasilkan.

Selain faktor-faktor di atas, faktor lain yang berpengaruh adalah kadar selulosa dan lignin yang terdapat pada medium. Pada tahap fermentasi, mikrobia cenderung menggunakan gula hasil pemecahan selulosa lebih dahulu dibandingkan gula pada pemecahan lignin. Hal tersebut dipengaruhi oleh proses pemecahan lignin dan selulosa. Lignin akan habis terhidrolisis pada suhu 180°C sedangkan pada saat proses pemecahan itu sendiri suhu yang digunakan tidak mampu mencapai suhu setinggi itu sehingga proses pemecahan lignin terhambat. Hal itu menyebabkan lignin berhasil terpecah dari selulosa sehingga selulosa dapat terhidrolisis namun lignin tidak dapat terhidrolisis sempurna. Pemecahan selulosa yang lebih banyak dibandingkan dengan pemecahan lignin menyebabkan penggunaan gula dari hasil pemecahan selulosa digunakan lebih dahulu daripada hasil pemecahan lignin (Putera, 2012).

Ketersediaan lignin yang belum terpecah sempurna pada saat dilakukan fermentasi menyebabkan terhambatnya proses fermentasi oleh mikrobia. Hal itu disebabkan karena lignin yang tidak dapat dimanfaatkan oleh *Saccharomyces cerevisiae*. Hal tersebut pada akhirnya berpengaruh pada kadar etanol hasil fermentasi yang rendah (Putera, 2012).

IV. SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian pengaruh *pretreatment* inokulum EM4, suhu, waktu dan tekanan terhadap fermentasi kelobot jagung (*Zea mays*) dapat disimpulkan bahwa:

1. Kadar gula yang didapatkan dari pemecahan secara mikrobiologi oleh EM4 yang optimum adalah waktu inkubasi 24 jam yaitu sebesar 5,80 mg/ml. Kadar gula yang didapatkan dari perlakuan suhu, tekanan dan

waktu pemanasan yang optimum yaitu pada pemanasan 2 jam sebesar 4,18 mg/ml.

2. Waktu inkubasi yang optimum untuk memperoleh kadar gula yang paling besar dari *pretreatment* kelobot jagung adalah 24 jam.
3. Suhu, tekanan dan waktu pemanasan yang optimum untuk memperoleh kadar gula yang paling besar dari *pretreatment* kelobot jagung waktu pemanasan selama 2 jam menggunakan presto.
4. Kadar etanol yang dihasilkan pada hasil *pretreatment* inkubasi dan kombinasi suhu, tekanan dan waktu pemanasan yaitu 1%.

Berdasarkan hasil penelitian pengaruh *pretreatment* inokulum EM4, suhu, waktu dan tekanan terhadap fermentasi kelobot jagung (*Zea mays*) saran untuk penelitian selanjutnya yaitu:

1. EM4 dapat diganti dengan inokulum mikrobia pengurai selulosa dan lignin
2. Pada proses *pretreatment* sampel kulit jagung yang digunakan diperbanyak jumlahnya untuk optimalisasi proses *pretreatment* sehingga menghasilkan kadar gula reduksi yang lebih tinggi
3. Konsentrasi gula pada medium starter dibuat konsentrasi 10% sebagai konsentrasi optimum untuk fermentasi etanol

DAFTAR PUSTAKA

- Agustini, L. dan Efiyanti, L. 2015. Pengaruh perlakuan delignifikasi terhadap hidrolisis selulosa dan produksi etanol dari limbah berlignoselulosa. *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*. 33(1): 69-80
- Arista, D. 2011. Pengaruh tekanan dan waktu terhadap kualitas bandeng presto dengan menggunakan LTHPC (*low temperature high pressure cooker*). *Skripsi*. Fakultas Teknik Universitas Negeri Semarang
- Binta, O., Wijana, S. dan Febrianto, A. M. 2013. Pengaruh lama pemeraman terhadap kadar lignin dan selulosa pulp (kulit buah dan pelepah nipah) menggunakan biodegradator EM4. *Jurnal Industria*. 2(1): 75-83
- Darwin, Yusmanizar, Ilham, M., Fazil, A., Purwanto, S., Sarbaini dan Dhiauddin, F. 2016. Aplikasi *thermal pretreatment* limbah tanaman jagung (*Zea mays*) sebagai co-substrat pada proses anaerobik digesti untuk produksi biogas. *Agritech*. 36(1):79-88

- Hermiati, E., Mangunwidjaja, D., Sunarti, T. C., Suparno, O. dan Prasetya, B. 2010. Pemanfaatan biomassa lignoselulosa ampas tebu untuk produksi bioetanol. *Jurnal Litbang Pertanian*. 29(4): 121-130
- Joshi, B., Bhatt., M. R., Sharma, D., Joshi, J., Malla, R. dan Sreerama, L. 2011. Lignocellulosic ethanol production: Current practices and recent developments. *Biotechnology and Molecular Biology Review*. 6(8):172-182
- Muslihah, S. dan Trihadiningrum, Y. 2013. Produksi bioetanol dari limbah tongkol jagung sebagai energi alternatif terbarukan. *Prosiding Seminar Nasional Manajemen Teknologi XVIII*. ISBN: 978-602-97491-7-5
- Muslihah, S. dan Trihadiningrum, Y. 2013. Produksi bioetanol dari limbah tongkol jagung sebagai energi alternatif terbarukan. *Prosiding Seminar Nasional Manajemen Teknologi XVIII*. ISBN: 978-602-97491-7-5
- Najafpour, G., Younesi, H., Syahidah dan Ismail, K. 2004. Etanol fermentation in an immobilized cell reactor using *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Bioresources Technology*. 92(3):251-260
- Orchidea, R., Krishnanta, A. W., Ricardo, D. P., Febriyanti, L. S., Lazuardi, K., Pahlevi, R. dan Mendila, C. D. 2010. Pengaruh metode *pretreatment* pada bahan lignoselulosa terhadap kualitas hidrolisat yang dihasilkan. *Makalah Seminar Nasional Teknik Kimia Soerbardjo Brotohardjono "Ketahanan Pangan dan Energi" ISSN 1978-0427*. Halaman 1-12
- Prasetyawati, D. P. 2015. Pemanfaatan kulit jagung dan tongkol jagung (*Zea mays*) sebagai bahan dasar pembuatan kertas seni dengan penambahan natrium hidroksida (NaOH) dan pewarna alami. *Skripsi*. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Putera, R. O. H. 2012. Ekstraksi serat selulosa dari tanaman enceng gondok (*Eichornia orassipes*) dengan variasi pelarut. *Skripsi*. Fakultas Teknik Universitas Indonesia
- Rahmadini, I. 2012. Pemurnian dan karakterisasi enzim selulase dari bakteri yang diisolasi dari limbah rumput laut. *Thesis*. Fakultas Biologi, Institut Pertanian Bogor
- Tifani, A. M., Kumalaningsih, S. dan Mulyadi, A. 2010. Produksi bahan pakan ternak dari ampas tahu dengan fermentasi menggunakan EM4 (Kajian pH awal dan lama waktu fermentasi). *Jurnal Ilmiah Peternakan*. 5(1)-78-88
- Wignyanto, Suharjono, dan Novita. 2001. Pengaruh konsentrasi gula reduksi sari hati nanas dan inokulum *Saccharomyces cerevisiae* pada fermentasi etanol. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 2(1):68-77

Wiratmaja, I. G., Kusuma, I. G. B. W. dan Winaya, I. N. S. 2011. Pembuatan etanol generasi kedua dengan memanfaatkan limbah rumput laut *Eucheuma cottonii* sebagai bahan baku. *Jurnal Ilmiah Teknik Mesin Cakram*. 5(1):75-84

